

Rodríguez-Sanz M<sup>1</sup>, Prieto-Alhambra D<sup>1,3,4,5</sup>, Servitja S<sup>6</sup>, García-Giralt N<sup>1</sup>, Garrigos L<sup>6</sup>, Albanell J<sup>6</sup>, Martínez-García M<sup>6</sup>, González I<sup>6</sup>, Martos T<sup>6</sup>, Díez-Pérez A<sup>1,2</sup>, Tusquets I<sup>6</sup>, Nogués X<sup>1,2</sup>

1 IMIM (Instituto Hospital del Mar de Investigaciones Médicas) - Red Temática de Investigación Cooperativa en Envejecimiento y Fragilidad (RETICEF) - Instituto de Salud Carlos III FEDER - Barcelona (España)

2 Departamento de Medicina Interna - Parque de Salud Mar - Universidad Autónoma de Barcelona - Barcelona (España)

3 IDIAP (Instituto de Investigación en Atención Primaria Jordi Gol) - Universidad Autónoma de Barcelona - Barcelona (España)

4 Departamento de Ortopedia - Reumatología y Ciencias Musculoesqueléticas Nuffield - Unidad de Investigación Biomédica y Musculoesquelético de NIHR - Universidad de Oxford - Oxford (Reino Unido)

5 MRC Unidad de Epidemiología del Ciclo Vital de la Universidad de Southampton - Southampton (Reino Unido)

6 IMIM (Instituto Hospital del Mar de Investigaciones Médicas) - Departamento de Oncología Médica - Parque de Salud Mar - Barcelona (España)

## Evolución de la DMO durante el tratamiento con inhibidores de aromatasa y su relación con el gen CYP11A1: estudio prospectivo de la cohorte B-ABLE

Correspondencia: María Rodríguez Sanz - C/ Dr. Aiguàder, 88 - 08003 Barcelona (España)  
Correo electrónico: mrodriguez5@imim.es

Fecha de recepción: 23/09/2015  
Fecha de aceptación: 06/11/2015

*Trabajo becado por la FEIOMM para asistir al 35º Congreso de la ASBMR (Baltimore, 2013).*

### Resumen

**Objetivos:** El objetivo del estudio fue analizar los cambios en la densidad mineral ósea (DMO) a lo largo del tratamiento con inhibidores de aromatasa (IA) en la práctica clínica y evaluar la asociación entre el gen CYP11A1 y la variación de DMO al final del tratamiento.

**Material y métodos:** La cohorte B-ABLE es un estudio prospectivo de mujeres postmenopáusicas con cáncer de mama, en tratamiento con IA. Se analizó la variación de DMO durante todo el tratamiento con IA, así como las diferencias entre las pacientes tratadas y no-tratadas previamente con tamoxifeno (TMX). Tres polimorfismos (rs4077581, rs11632698 y rs900798) del gen CYP11A1, fueron genotipados para su asociación con la variación de DMO.

**Resultados:** Las pacientes tratadas con TMX mostraron pérdidas más aceleradas de DMO que las no tratadas previamente con TMX (60% menos en columna y 46% en fémur a los 2 años y 70% menos en columna y 63% en fémur a los 3 años). No obstante, al final del tratamiento no se detectaron diferencias significativas en la pérdida de DMO entre ambos grupos de pacientes. Los 3 polimorfismos del gen CYP11A1 resultaron significativamente asociados a la variación de DMO en fémur al final del tratamiento.

**Conclusiones:** La DMO disminuyó de forma más acelerada en las pacientes con tratamiento previo con TMX que en las que solo recibieron IA, a pesar de que no se detectaron diferencias significativas al final de tratamiento. Polimorfismos en el gen CYP11A1 están relacionados con la variación de la DMO en respuesta al tratamiento con IA.

**Palabras clave:** *inhibidores de aromatasa, densidad mineral ósea, CYP11A1, polimorfismos genéticos, tamoxifeno.*

## BMD evolution during treatment with aromatase inhibitors and its relation to the CYP11A1 gene: prospective study in the B-ABLE cohort

### Summary

**Objectives:** The aim of this study was to analyze bone mineral density (BMD) changes throughout aromatase inhibitor (AI) treatment in clinical cases and also consider its association with the CYP11A1 gene and the BMD variation after treatment.

**Material and methods:** The B-ABLE cohort is a prospective study of postmenopausal women with breast cancer, in AI treatment. BMD variation was analyzed during AI treatment, as well as the differences those patients who were treated and not treated previously with tamoxifen (TMX). Three polymorphisms (rs4077581, rs11632698 and rs900798) of the CYP11A1 gene were genotyped for their association with BMD variation.

**Results:** TMX-treated patients presented more rapid BMD loss than those who did not undergo prior TMX treatment (60% less in spine and 46% in femur at 2 years and 70% less in the spine and 63% in the femur at 3 years). However, no significant BMD loss was detected after treatment in either group. The 3 CYP11A1 gene polymorphisms were significantly associated with BMD variation in the femur at the end of the treatment.

**Conclusions:** BMD was reduced more rapidly in patients with prior TMX treatment than in those who only received AI, although no significant differences were detected after treatment. The 3 CYP11A1 gene polymorphisms were associated with BMD variation in response to AI treatment.

**Key words:** aromatase inhibitors, bone mineral density, CYP11A1, genetic polymorphisms, tamoxifen.

### Introducción

Los inhibidores de aromatasa (IA) se han convertido en la terapia adyuvante estándar para las pacientes postmenopáusicas con cáncer de mama con expresión de receptores hormonales<sup>1</sup>. Los IA provocan una reducción marcada de los niveles de estrógenos mediante la inhibición de la enzima aromatasa<sup>2</sup>, cuya actividad queda relegada a los tejidos periféricos durante la menopausia<sup>3</sup>. La Sociedad Americana de Oncología Clínica (ASCO) recomienda utilizar los IA durante 5 años, o bien durante 2 ó 3 años, tras la terapia previa con tamoxifeno (TMX)<sup>4</sup>, siendo aconsejada esta última opción para las mujeres pre/perimenopáusicas<sup>5</sup>.

Sin embargo, la reducción de los niveles estrogénicos aumenta la resorción ósea y el incremento de riesgo de fractura que se produce tras la menopausia<sup>1,6,9</sup>. Las guías clínicas para el manejo de la pérdida de masa ósea asociada a IA (AIBL; de las siglas en inglés: *Aromatase Inhibitor associated Bone Loss*) recomiendan un estricto seguimiento de la densidad mineral ósea (DMO) y de otros factores de riesgo para evaluar la necesidad de tratamiento con terapias antirresortivas<sup>10</sup>.

A pesar de los datos existentes, que provienen en su mayoría de los ensayos clínicos aleatorizados (ECA), existe poca información del efecto de la terapia con IA en condiciones de práctica clínica habitual, en las que las características de los pacientes, así como la adherencia a la terapia, puede diferir respecto a lo observado en las restrictivas condiciones de los ECA.

Los datos del estudio que se presenta son de la cohorte B-ABLE, una cohorte clínica, prospectiva, de mujeres postmenopáusicas con cáncer de mama en estadios tempranos que reciben terapia adyuvante con IA. Un estudio reciente<sup>11</sup> en esta cohorte ha reportado una gran variabilidad interindividual en la variación de DMO durante el tratamiento con IA: a

los 2 años de terapia, más de un 40% de las pacientes experimenta pérdidas de DMO superiores al 3%, mientras que un 20% de mujeres no experimentan pérdidas significativas o incluso ganan DMO. Además, en este mismo estudio, se encontró una asociación entre polimorfismos del gen CYP11A1 y la pérdida de masa ósea a los 2 años de tratamiento con IA<sup>11</sup>, demostrando así que la variabilidad observada entre las pacientes en la AIBL a 2 años de tratamiento podría estar, en parte, genéticamente determinada.

El objetivo de este estudio es describir los cambios en la DMO a lo largo de toda la duración del tratamiento y hasta su finalización, así como evaluar la posible asociación entre el gen CYP11A1, y la AIBL al final del tratamiento.

### Material y métodos

#### Población de estudio

Los detalles del diseño del estudio, los métodos de reclutamiento y la población de estudio han sido previamente detallados<sup>12</sup>, y se describen brevemente a continuación.

B-ABLE es un estudio clínico de cohorte, prospectivo y observacional, iniciada en enero de 2006 y con inclusión abierta en la actualidad. Se incluyen mujeres postmenopáusicas con cáncer de mama con expresión de receptores hormonales, candidatas a tratamiento con IA y asistentes a la Unidad Ambulatoria de Cáncer de Mama del Hospital del Mar (Barcelona, España). Los criterios de exclusión son: historia clínica de cualquier enfermedad ósea, artritis reumatoide, enfermedades metabólicas o endocrinas y empleo de corticosteroides orales o cualquier otro medicamento con acción ósea, excepto el tamoxifeno.

#### Intervenciones

Las participantes fueron tratadas con IA (letrozol, exemestano o anastrozol) durante 5 años, o de manera alternativa después de 2 ó 3 años de tratamiento con

tamoxifeno (3 y 2 años de IA, respectivamente), de acuerdo a las recomendaciones de la ASCO<sup>4</sup>, empezando dentro de las 6 semanas después de la cirugía ó 1 mes después del último ciclo de quimioterapia.

Todas las participantes recibieron suplementos de calcio y vitamina D (1.000 mg y 800 UI diariamente), y aquéllas con deficiencia de vitamina D en el inicio (<30 ng/ml) recibieron una dosis extra de 16.000 UI de colecalciferol oral cada 2 semanas.

### Mediciones

#### Densidad mineral ósea

Al inicio y anualmente hasta la finalización del tratamiento, se midió la DMO en columna lumbar (CL; L1-L4), cuello de fémur (CF) y cadera total utilizando el densitómetro de energía dual de rayos X (DXA) QDR 4500 SL<sup>®</sup> (Hologic, Waltham, Massachusetts, EE.UU.), siguiendo el protocolo habitual en nuestra unidad. En nuestro departamento, el coeficiente de variación para esta técnica oscila entre el 1% en CL al 1,65% en CF. Las imágenes fueron sometidas a un riguroso escrutinio, especialmente en la interpretación de los escáneres de seguimiento. Aquéllas que presentaban artefactos en la imagen, causando un posible aumento erróneo de la DMO (enfermedad degenerativa del disco con osteofitos, artrosis con hiperostosis de las articulaciones facetarias, fracturas vertebrales y/o calcificaciones aórticas) fueron excluidas del análisis, de acuerdo a la descripción de Blake y cols.<sup>13</sup>.

#### Otras determinaciones

Se recogió información de un gran número de variables clínicas en el momento del reclutamiento, incluyendo la edad, la edad de la menarquia y de la menopausia, tiempo de lactancia, número de partos, quimioterapia y radioterapia previa, tratamientos adyuvantes, peso, altura, niveles plasmáticos de 25-hidroxivitamina D (25(OH)D), ingesta de calcio y tabaquismo.

### Selección de genes candidatos y polimorfismos

Para el estudio de asociación con la AIBL al final del tratamiento seleccionamos los polimorfismos rs4077581 (en la región del promotor), rs11632698 (en el intrón 2) y rs900798 (en la región 3' UTR) del gen CYP11A1, que han sido previamente asociados a la AIBL a los 2 años de tratamiento<sup>11</sup>.

### Extracción de ADN y genotipado de los polimorfismos

La extracción de ADN de sangre periférica se realizó en los servicios de LGC Genomics. El genotipado de los polimorfismos se llevó a cabo usando el sistema de genotipado KASPar v4.0, en las instalaciones de LGC Genomics. Para comprobar la calidad del servicio, los polimorfismos también fueron genotipados en una placa control, formada por un muestreo al azar que contenía el 5% del número total de muestras. Los resultados mostraron un 100% de concordancia.

### Declaración de ética

Los protocolos del estudio han sido aprobados por el comité ético correspondiente (Comité Ético de Investigación Clínica del Parc de Salut Mar [CEIC-Parc

de Salut Mar]). Los protocolos aprobados para la obtención de DNA de muestras de sangre se explicaron a los participantes, que firmaron un consentimiento informado antes de ser incluidos en el estudio.

### Análisis estadísticos

El equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) se calculó mediante la herramienta *online* de la Universidad Tufts de Somerville/Medford, en Massachusetts, EE.UU [http://www.tufts.edu/~mccourt01/Documents/Court%20lab%20%20HW%20calculator.xls]. La variable resultado fue la pérdida de DMO, calculada como el porcentaje acumulado de variación de DMO en CL y CF en cada visita de seguimiento hasta la finalización del tratamiento (tres o cinco años de tratamiento, según hubieran recibido o no tamoxifeno previo). El grupo de pacientes que finalizó la terapia con IA a 2 años no se tuvo en cuenta de manera aislada al evaluar la evolución de la DMO, ya que el reducido número de pacientes que lo formaba no nos permitiría hacer inferencia estadística en este subconjunto. Los cambios de DMO respecto al inicio se evaluaron mediante t-Student de muestras pareadas.

La asociación entre los polimorfismos elegidos y la AIBL al final del tratamiento se analizó mediante regresión lineal múltiple, contemplando los modelos de herencia genética dominante, recesivo y aditivo. Los análisis se ajustaron por edad, índice de masa corporal, quimioterapia y/o radioterapia previa, terapia con tamoxifeno previo, DMO inicial y años de tratamiento con IA. Además también se estudió la potencial confusión por los niveles de 25(OH)D al inicio y por el tipo de IA. Para minimizar los falsos hallazgos debidos a las comparaciones múltiples se utilizó la corrección FDR<sup>14</sup>, aceptando aquellas predicciones con  $q < 0,05$  como significativas. Los análisis estadísticos fueron realizados mediante R para Windows versión 2.13.2 (*Packages*: SNPAssoc, foreign, multtest, boot y ggplot2).

### Resultados

#### Características basales de los pacientes y estudio de la AIBL

Se reclutaron un total de 529 mujeres desde marzo de 2006 a febrero de 2013, de las cuales el 24,2% presentaron un T-score normal, el 57,3% eran osteopénicas y el 18,5% restante, osteoporóticas. Un total de 388 (73,3%) pacientes no recibieron tratamiento con bifosfonatos, y, por tanto, fueron seleccionadas para el análisis. Un 40,5% de estas pacientes (157) había recibido terapia previa con tamoxifeno (Grupo TMX), mientras que el 60,5% restante no había sido tratado con ningún tipo de terapia hormonal previa (Grupo NO-TMX). Las características clínicas basales de las participantes de acuerdo al tratamiento previo con tamoxifeno se muestran en la tabla 1. Se detectaron diferencias significativas entre ambos grupos en la edad, IMC (índice de masa corporal) y tipo de IA.

La figura 1 muestra el número de pacientes con datos disponibles para CL y CF en cada uno de los tiempos de seguimiento. Las pacientes con artefactos en el escáner lumbar y/o escoliosis (n=97), así como aquéllas con artefactos en el escáner de la

Tabla 1. Características basales de los pacientes de acuerdo al tratamiento previo con TMX

Característica		Grupo NO-TMX n=231	Grupo TMX n=157
Edad (años), media±DE		63,4±7,4	58,2±9,0***
IMC, media±DE		30,2±5,2	28,7±5,5**
Edad inicio de la menopausia (años), media±DE		49,8±4,6	48,8±4,3
Edad de menarquia, mediana (RI)		12 (3)	13 (3)
Tiempo lactancia (meses), mediana (RI)		3 (10,5)	4 (12,0)
Número de hijos, mediana (RI)		2 (1)	2 (2)
Quimioterapia previa, n (%)		234 (60,3%)	234 (60,3%)
Inhibidor de aromatasas, n (%)	Letrozol	227 (98,3%)	35 (22,2%)#
	Exemestano	-	122 (77,7%)#
	Anastrozol	4 (1,7%)	-

TMX: tamoxifeno; DE: desviación estándar; RI: rango intercuartil; IMC: índice de masa corporal. En t-test respecto al grupo sin tamoxifeno previo: \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001. #: indica diferencias significativas en la proporción de pacientes con y sin tamoxifeno previo.

cadere y/o prótesis bilaterales (n=14), fueron excluidas para los análisis relativos a la DMO de CL y CF, respectivamente. De las 388 pacientes incluidas en el análisis, 18 se reclasificaron como osteoporosis al disminuir su DMO durante el tratamiento (7 durante el primer año, 8 durante el segundo año, 1 durante el tercer año y 2 durante el cuarto año) a las cuales se les implantó inmediatamente la terapia con bifosfonatos. A partir de ese momento sus datos fueron excluidos del análisis.

La tabla 2 muestra los valores absolutos de DMO basal y al final del tratamiento (3 ó 5 años en el grupo TMX y NO-TMX, respectivamente). Al inicio del tratamiento las pacientes TMX mostraron una DMO más elevada en CF que las pacientes NO-TMX (+0,021 g/cm<sup>2</sup> [IC 95%: 0,004 - 0,038]; p<0,05). No se detectaron diferencias significativas en la DMO inicial de CL. Tampoco se detectaron diferencias significativas de DMO en CF ni CL entre los valores de 3 años ni entre los valores de final de tratamiento (3 años en el grupo TMX vs. 5 años en el grupo NO-TMX).

La figura 2 muestra la variación acumulada de la DMO desde el inicio hasta la finalización del tratamiento. El grupo TMX experimentó una disminución más acelerada de la DMO. Así, a los 2 años de tratamiento, las pacientes TMX perdieron un 60% más en CL (p<0,001) y un 46% más en CF (p<0,001) que las pacientes NO-TMX. Estas diferencias se hacen máximas a 3 años, momento en el que las pacientes TMX finalizan el tratamiento, habiendo perdido 70% más en CL (p<0,05) y 63% más en CF (p<0,01) respecto al grupo NO-TMX a los 3 años de terapia.

Con todo, el grupo TMX experimentó una disminución de la DMO del 5,28% en CL y del 3,66% en CF al final del tratamiento (3 años). Por su parte, la DMO de los individuos NO-TMX se redujo un 3,99% en CL y un 3,43% en CF a los 5 años de terapia con IA. No se detectaron diferencias significativas en la pérdida de DMO a final de tratamiento.

#### Asociación genética con la AIBL al final del tratamiento

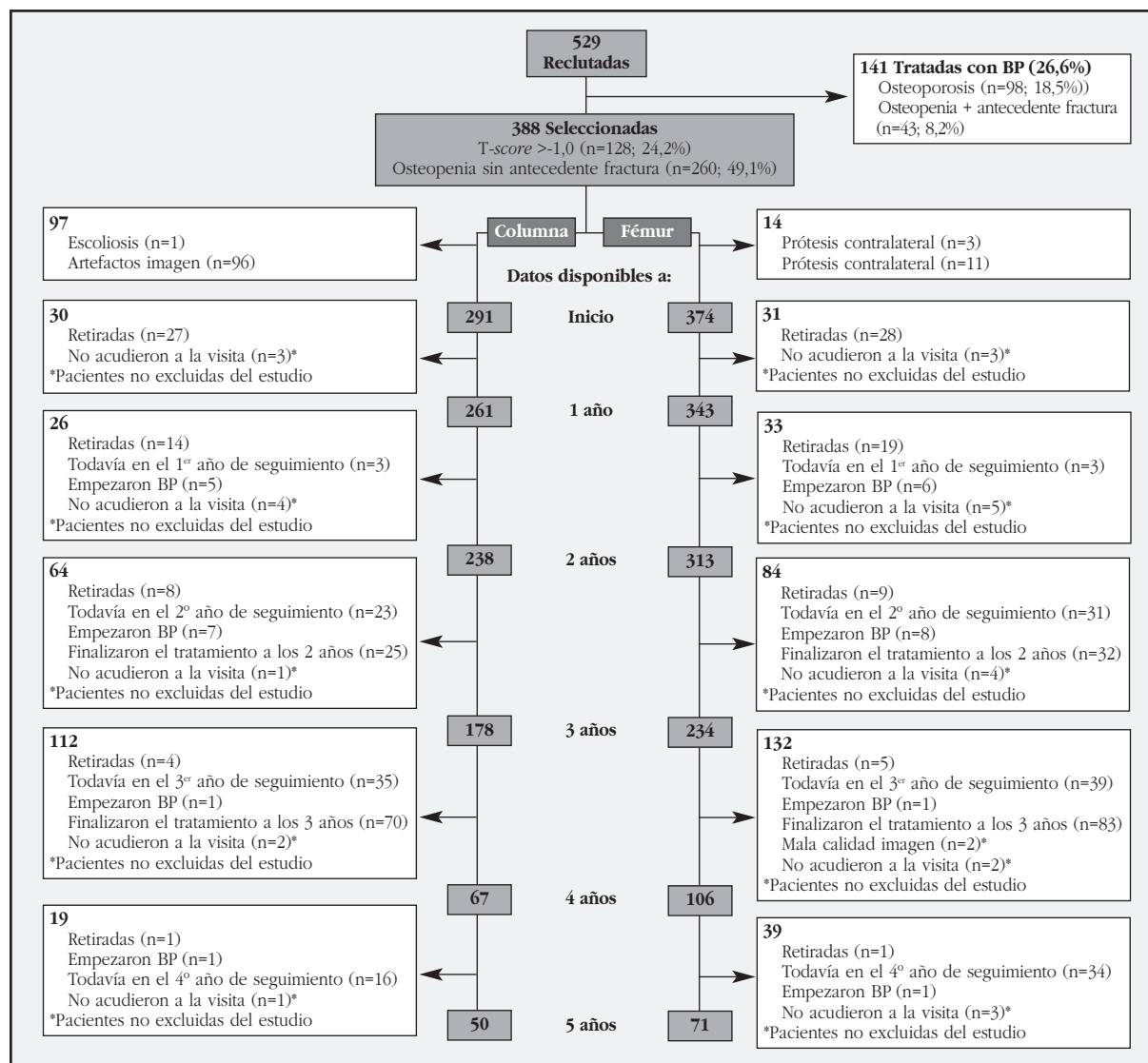
Todos los polimorfismos genotipados estaban dentro del equilibrio Hardy-Weinberg. La eficiencia de genotipado fue superior al 97%. La tabla 3 muestra los resultados del análisis de asociación de los polimorfismos del gen CYP11A1 con la pérdida acumulada de DMO en CL y CF al final del tratamiento. Después de la corrección FDR se obtuvieron resultados significativos para los 3 polimorfismos del gen CYP11A1 con la AIBL de CF (q<0,02). No se obtuvieron resultados significativos para CL.

#### Discusión

Este estudio prospectivo aporta información acerca de la variación de la DMO durante el tratamiento con IA en pacientes con cáncer de mama en la práctica clínica habitual. Los resultados muestran que la disminución de la DMO es más acelerada en pacientes que han recibido terapia previa con tamoxifeno aunque no se detectaron diferencias significativas al final de tratamiento respecto a las que solo recibieron IA. Además, se ha demostrado previamente que existe una gran variabilidad en la pérdida de DMO en respuesta al tratamiento con IA<sup>11</sup>. En este estudio se detecta una asociación estadísticamente significativa entre la disminución de la DMO al final del tratamiento con IA y algunos polimorfismos del gen CYP11A1.

Con respecto a las pacientes que habían recibido terapia previa con tamoxifeno, las diferencias más acusadas en cuanto a disminución de DMO aparecen a los 3 años de tratamiento, momento en el que el grupo TMX ha perdido un 70% más en CL y un 63% más en CF que el grupo NO-TMX. El tamoxifeno actúa como un antagonista competitivo del receptor de estrógenos en el tejido mamario, pero, a su vez, tiene acciones parcialmente agonistas en otros tejidos, como el hueso. Existen evidencias de sus efectos beneficiosos en la reducción de la resorción y de la estimulación de la formación ósea en mujeres postmenopáusicas con cáncer de mama<sup>15</sup>.

Figura 1. Diagrama mostrando el número de pacientes con datos disponibles de DMO en columna lumbar y cuello femoral en cada uno de los tiempos de seguimiento. Abreviaturas: BP (Tratamiento con bifosfonatos orales)



No obstante, el presente análisis está en acuerdo con algunos estudios que indican que la terapia previa con tamoxifeno incrementa considerablemente los efectos de los IA en el remodelado óseo, resultando en una disminución mayor de la DMO<sup>16</sup>. Una posible explicación para este fenómeno sería el efecto “rebote”, es decir, la influencia positiva del tamoxifeno no solo cesa al acabar la terapia con tamoxifeno<sup>16</sup>, sino que además causa una marcada reducción de la DMO cuando se cambia a IA. Así, los osteoclastos aumentarían su acción resorptiva tras haber estado inhibidos. Un hecho a destacar es que el tamoxifeno es el tratamiento preferente para mujeres perimenopáusicas<sup>5</sup>. Esto explicaría la diferencia observada tanto en la edad como en la DMO de CF inicial entre pacientes con y sin TMX previo.

A pesar de lo anterior, al final de los 5 años de terapia con IA, el grupo NO-TMX iguala la pérdida final de DMO a los 3 años del grupo TMX [-3,66% vs. -5,28% en CL; (p=0,1) y -3,43% vs. -3,99% en CF; (p=0,7)], de manera que no se detectan diferencias

estadísticamente significativas entre ambos grupos en los valores absolutos de DMO al final del tratamiento.

Cabe mencionar que las tasas de pérdida de DMO en CL fueron en todo momento superiores a las de CF. En este sentido, se conoce que el hueso trabecular es más lábil que el cortical en respuesta a la terapia con IA<sup>17</sup>.

En términos generales, las pacientes de la cohorte B-ABLE pierden menos DMO en comparación con lo previamente reportado por los ECAs. Así, por ejemplo, el ensayo ATAC<sup>18</sup> reporta pérdidas de 6,08% en CL y 7,24% en cadera total en pacientes tratadas con anastrozol durante 5 años. Las pacientes sin bifosfonatos del ensayo ABCSG-12<sup>8</sup> sufrieron pérdidas del 7,8% y 4,1% en CL y CF, respectivamente, al final de tratamiento, llegando incluso a registrar disminuciones del 13,6% en CL a los 2 años y del 7,3% en CF a los 3 años. El estudio MA-17<sup>7</sup>, por su parte, analizaba pacientes que habían recibido tamoxifeno previo, describiendo pérdidas a los 2 años de 5,35% en CL y 3,6% en cadera total.

Tabla 2. Valores absolutos de DMO a lo largo del tratamiento con IA según TMX previo

Tiempo de seguimiento	TMX previo	Sitio	N	DMO (g/cm <sup>2</sup> ) Media±DE
Basal	Sí	Columna	129	0,953±0,096
		Fémur	151	0,760±0,081
	No	Columna	162	0,969±0,116
		Fémur	223	0,739±0,088*
Año 3	Sí	Columna	75	<b>0,904±0,084</b>
		Fémur	87	<b>0,730±0,080</b>
	No	Columna	103	0,926±0,112
		Fémur	147	0,728±0,089
Año 5	No	Columna	50	<b>0,939±0,116</b>
	No	Fémur	71	<b>0,725±0,090</b>

IA: inhibidores de aromataasa; DMO: densidad mineral ósea; TMX: tamoxifeno; DE: desviación estándar. En t-test en comparación con los pacientes que han tomado tamoxifeno previo: \*p<0,05. En negrita se resaltan los valores de final de tratamiento de las pacientes que han terminado los IA a 3 ó 5 años.

Diferencias en algunas características, como por ejemplo los valores de DMO iniciales, pueden contribuir a este resultado. En este sentido, la mayoría de ECAs mencionados presentaron valores de DMO más elevados que los observados en nuestra cohorte, dando lugar al sesgo por regresión a la media. Además, hemos observado que la prevalencia de la insuficiencia de vitamina D entre los pacientes de la cohorte B-ABLE es un 88,1%<sup>12</sup> en el momento de iniciar la terapia con IA, independientemente de la época del año, lo que explicaría en parte los bajos valores de DMO. La cohorte B-ABLE está sujeta a una estricta evaluación no solo de la DMO sino también de los niveles de vitamina D y calcio. El estatus de vitamina D ha sido relacionado con la DMO<sup>19</sup>, y la mayoría de los ensayos han demostrado que los suplementos de vitamina D son protectores frente a fracturas<sup>20</sup> y caídas<sup>21</sup>. Las pacientes de nuestro estudio recibían un suplemento de vitamina D en cantidades mucho más elevada que la recomendada por el IOM (Institute of Medicine), de manera que a los 3 meses de suplemento se consiguió mejorar los niveles de 25(OH)D, previniendo mayores pérdidas de hueso<sup>22</sup>.

En el presente estudio se ha detectado una asociación entre la pérdida de DMO al final del tratamiento con IA y polimorfismos en el gen CYP11A1. El gen CYP11A1 codifica para el enzima de escisión de la cadena lateral del colesterol (nombre alternativo: P450scc) que cataliza el paso primero y limitante de la esteroidogénesis, convirtiendo el colesterol en pregnenolona. Además de colesterol, la P450scc también puede hidroxilar la vitamina D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> y sus precursores<sup>23-25</sup>, sugiriendo un amplio espectro de funciones en el metabolismo celular. Esta enzima es una proteína unida a la membrana mitocondrial, expresada principalmente en corteza adrenal, ovarios, testículos, y placenta<sup>26</sup>. Además, también se ha demostrado su expresión a nivel de ARN y proteína en el tejido óseo y en los osteoblastos<sup>11</sup>, sugiriendo un papel de esta enzima en el metabolismo óseo.

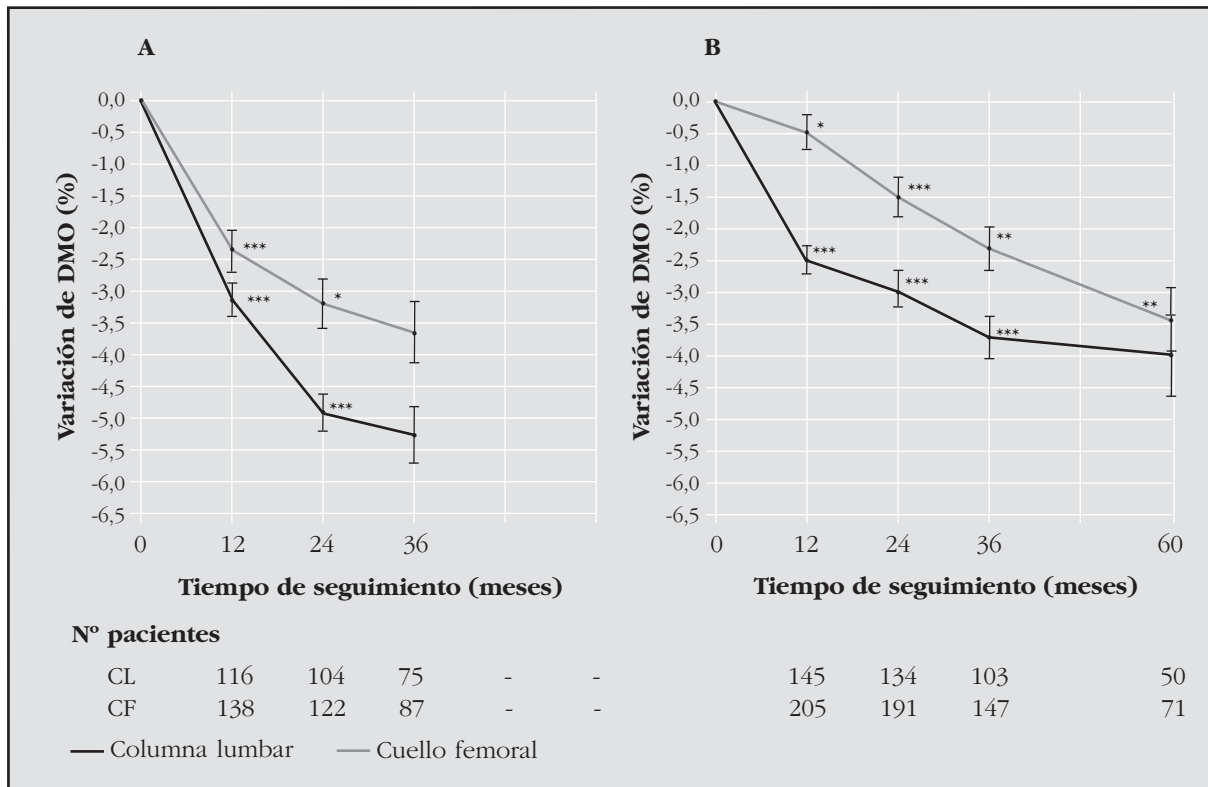
En este estudio, polimorfismos en el gen CYP11A1: rs4077581 (en la región del promotor), rs11632698 (en el intrón 2) y rs900798 (en la región 3' UTR) se asociaron con la pérdida de DMO en cuello femoral al final del tratamiento con IA. No se ha observado una asociación estadísticamente significativa con la pérdida de DMO en columna. Todas las imágenes de la DXA del estudio fueron minuciosamente analizadas con el objetivo de excluir aquellos artefactos y/o cambios estructurales (como, por ejemplo, osteofitos) que pudieran conducir a falsas elevaciones de la DMO. Este procedimiento tiene consecuencias sobre todo para los resultados de columna, ya que los cambios degenerativos en esta región pueden incrementar notablemente la DMO. Como consecuencia, el número de pacientes para esta determinación se redujo de tal forma que podría explicar la falta de significación estadística obtenida en CL. En este sentido, en un estudio previo de nuestro grupo, se observó una tendencia similar para la asociación de estos polimorfismos con la pérdida de DMO a los 2 años de tratamiento, obteniendo resultados nominalmente significativos para la DMO de columna<sup>11</sup>.

Variantes genéticas en el CYP11A1 podrían alterar su expresión o actividad, determinando los niveles de hormonas sexuales presentes en un tejido, y ser, por tanto, responsables de diferentes fenotipos. Esta hipótesis se vería respaldada por el hecho de que otras variantes polimórficas en este gen han sido previamente asociadas a la susceptibilidad de cáncer de mama<sup>27</sup> y endometrio<sup>28</sup>, así como al síndrome de ovarios poliquísticos<sup>29</sup>.

De esta manera, la actividad de CYP11A1 puede jugar un papel central en la síntesis local de hormonas esteroideas, siendo en parte responsable de la AIBL.

Nuestro estudio tiene diversas limitaciones. Primero, la evaluación de la adherencia a AI y al tamoxifeno se constató únicamente mediante una pregunta directa del médico. Segundo, la exclusión de los pacientes que reciben tratamiento con

Figura 2. Variación relativa acumulada de la DMO hasta a finalización del tratamiento con IA en pacientes con (A) y sin (B) tamoxifeno previo. En t-test de muestras pareadas respecto al tiempo anterior: \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001



bisfosfonatos establece una selección de mujeres con mejor salud ósea, pudiendo provocar un sesgo en los resultados obtenidos. Tercero, la pérdida de pacientes durante el seguimiento provoca una disminución del poder estadístico más allá de los 3 años de tratamiento. No obstante, el diseño del estudio permite una observación más cercana a las condiciones de la práctica clínica habitual. Además, la implementación de un protocolo específico de manejo de la salud ósea en estas pacientes, mostró mejores resultados en la práctica de la rutina oncológica.

En conclusión, polimorfismos en el gen CYP11A1 están relacionados con la respuesta de la DMO al tratamiento con IA. En nuestra opinión, el estudio de la cohorte B-ABLE permite concluir que el control específico de la salud ósea y el tratamiento con suplementos de calcio y vitamina D en todos los pacientes son intervenciones necesarias durante la terapia con IA, ya que tienen una influencia directa en los cambios de DMO y, probablemente, se traduzcan también en una disminución del riesgo de fractura por fragilidad.

**Financiación:** Este trabajo ha sido financiado por la Red Temática de Investigación Cooperativa en Envejecimiento y Fragilidad (RETICEF; RD12/0043/0022), y las ayudas FIS PI10/01464 y PI13/00444 (Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Ciencia e Innovación). La Generalitat de Catalunya (DIUE 2014 SGR 775) y los fondos FEDER también han contribuido a su financiación.

**Conflicto de intereses:** Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses en relación a este trabajo.

### Bibliografía

1. Howell A, Cuzick J, Baum M, Buzdar A, Dowsett M, Forbes JF, et al. Results of the ATAC (Arimidex, Tamoxifen, Alone or in Combination) trial after completion of 5 years' adjuvant treatment for breast cancer. *Lancet* 2005;365:60-2.
2. Geisler J, Helle H, Ekse D, Duong NK, Evans DB, Nordbo Y, et al. Letrozole is superior to anastrozole in suppressing breast cancer tissue and plasma estrogen levels. *Clin Cancer Res* 2008;14:6330-5.
3. Simpson ER, Mahendroo MS, Means GD, Kilgore MW, Hinshelwood MM, Graham-Lorence S, et al. Aromatase cytochrome P450, the enzyme responsible for estrogen biosynthesis. *Endocr Rev* 1994;15:342-55.
4. Winer EP, Hudis C, Burstein HJ, Wolff AC, Pritchard KI, Ingle JN, et al. American Society of Clinical Oncology technology assessment on the use of aromatase inhibitors as adjuvant therapy for postmenopausal women with hormone receptor-positive breast cancer: status report 2004. *J Clin Oncol* 2005;23:619-29.
5. Burstein HJ, Temin S, Anderson H, Buchholz TA, Davidson NE, Gelmon KE, et al. Adjuvant endocrine therapy for women with hormone receptor-positive breast cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Focused Update. *J Clin Oncol* 2014;32:2255-69.
6. DeCensi A, Sun Z, Guerrieri-Gonzaga A, Thürlimann B, McIntosh C, Tondini C, et al. Bone mineral density and circulating biomarkers in the BIG 1-98 trial comparing adjuvant letrozole, tamoxifen and their sequences. *Breast Cancer Res Treat* 2014;144:321-9.
7. Perez EA, Josse RG, Pritchard KI, Ingle JN, Martino S, Findlay BP, et al. Effect of letrozole versus placebo on bone mineral density in women with primary breast cancer completing 5 or more years of adjuvant tamoxifen: A

Tabla 3. Asociación entre los polimorfismos del gen CYP11A1 y la variación de DMO al finalizar el tratamiento con IA

Locus	ID	Sitio	Grupos genotípicos	N	Coefficiente beta <sup>§</sup> [95% IC]	Valor p nominal*	Valor q FDR	
CYP11A1	rs4077581	Columna	T/T-T/C	116	0,88 [-0,86 a 2,62]	0,324R	0,603	
			C/C	24	-	-		
	rs900798		G/G-T/G	113	0,71 [-0,94 a 2,36]	0,402R	0,603	
			T/T	28	-	-		
	rs11632698		G/G-G/A	101	0,19 [-1,30 a 1,69]	0,796R	0,796	
			A/A	37	-	-		
	rs4077581	Fémur	T/T-T/C	151	2,25 [0,51 a 3,99]	0,012R	<b>0,021</b>	
			C/C	31	-	-		
			rs900798	G/G-T/G	148	2,10 [0,43 a 3,76]	0,014R	<b>0,021</b>
				T/T	35	-	-	
			rs11632698	G/G-G/A	135	1,69 [0,19 a 3,20]	0,028R	<b>0,028</b>
				A/A	45	-	-	

IA: inhibidores de aromatasa; R: modelo recesivo; § ajustado por: edad, IMC, tratamiento previo con quimioterapia y/o tamoxifeno, DMO inicial y años de terapia con IA.

En negrita se resaltan aquellos valores de p significativos después de la corrección por comparaciones múltiples (FDR). \*Los resultados muestran los valores de p más bajos, obtenidos para cada una de las hipótesis mediante regresión lineal.

Companion Study to NCIC CTG MA.17. *J Clin Oncol* 2006;24:3629-35.

- Gnant M, Mlineritsch B, Luschin-Ebengreuth G, Kainberger F, Kässmann H, Piswanger-Sölkner JC, et al. Adjuvant endocrine therapy plus zoledronic acid in premenopausal women with early-stage breast cancer: 5-year follow-up of the ABCSG-12 bone-mineral density substudy. *Lancet Oncol* 2008;9:840-9.
- Bouvard B, Soulie P, Hoppe E, Georgin-Mege M, Royer M, Mesgouez-Nebout N, et al. Fracture incidence after 3 years of aromatase inhibitor therapy. *Ann Oncol* 2014.
- Hadjji P, Body JJ, Aapro MS, Brufsky A, Coleman RE, Guise T, et al. Practical guidance for the management of aromatase inhibitor-associated bone loss. *Ann Oncol* 2008;19:1407-16.
- Rodríguez-Sanz M, García-Giralt N, Prieto-Alhambra D, Servitja S, Balcells S, Pecorelli R, et al. CYP11A1 expression in bone is associated with aromatase inhibitor-related bone loss. *J Mol Endocrinol* 2015;55:69-79.
- Nogues X, Servitja S, Pena MJ, Prieto-Alhambra D, Nadal R, Mellibovsky L, et al. Vitamin D deficiency and bone mineral density in postmenopausal women receiving aromatase inhibitors for early breast cancer. *Maturitas* 2010;66:291-7.
- Blake G, Adams JE, Bishop N. DXA in adults and children. In: Clifford J. Rosen, editor. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. 8th ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc; 2013.p.256.
- Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J Roy Statist Soc Ser B (Methodological)* 1995;57:289-300.
- Resch A, Biber E, Seifert M, Resch H. Evidence that tamoxifen preserves bone density in late postmenopausal women with breast cancer. *Acta Oncol* 1998;37:661-4.
- McCaig FM, Renshaw L, Williams L, Young O, Murray J, Macaskill EJ, et al. A study of the effects of the aromatase inhibitors anastrozole and letrozole on bone metabolism in postmenopausal women with estrogen receptor-positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2010;119:643-51.
- Servitja S, Nogues X, Prieto-Alhambra D, Martínez-García M, Garrigos L, Pena MJ, et al. Bone health in a prospective cohort of postmenopausal women receiving aromatase inhibitors for early breast cancer. *Breast* 2012;21:95-101.
- Eastell R, Adams JE, Coleman RE, Howell A, Hannon RA, Cuzick J, et al. Effect of anastrozole on bone mineral density: 5-year results from the anastrozole, tamoxifen, alone or in combination trial 18233230. *J Clin Oncol* 2008;26:1051-7.
- Bischoff-Ferrari HA, Kiel DP, Dawson-Hughes B, Orav JE, Li R, Spiegelman D, et al. Dietary calcium and serum 25-hydroxyvitamin D status in relation to BMD among U.S. adults. *J Bone Miner Res* 2009;24:935-42.
- Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Wong JB, Stuck AE, Staehelin HB, Orav EJ, et al. Prevention of nonvertebral fractures with oral vitamin D and dose dependency: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med* 2009;169:551-61.
- Sanders KM, Stuart AL, Williamson EJ, Simpson JA, Kotowicz MA, Young D, et al. Annual high-dose oral vitamin D and falls and fractures in older women: a randomized controlled trial. *JAMA* 2010; 303:1815-22.
- Prieto-Alhambra D, Servitja S, Javaid MK, Garrigos L, Arden NK, Cooper C, et al. Vitamin D threshold to prevent aromatase inhibitor-related bone loss: the B-ABLE prospective cohort study. *Breast Cancer Res Treat* 2012;133:1159-67.
- Nguyen MN, Slominski A, Li W, Ng YR, Tuckey RC. Metabolism of vitamin d2 to 17,20,24-trihydroxyvitamin d2 by cytochrome p450scc (CYP11A1). *Drug Metab Dispos* 2009;37:761-7.
- Slominski A, Semak I, Wortsman J, Zjawiony J, Li W, Zbytek B, et al. An alternative pathway of vitamin D metabolism. Cytochrome P450scc (CYP11A1)-mediated conversion to 20-hydroxyvitamin D2 and 17,20-dihydroxyvitamin D2. *FEBS J* 2006;273:2891-901.
- Tuckey RC, Li W, Zjawiony JK, Zmijewski MA, Nguyen MN, Sweatman T, et al. Pathways and products for the metabolism of vitamin D3 by cytochrome P450scc. *FEBS J* 2008;275:2585-96.
- Payne AH, Hales DB. Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones. *Endocr Rev* 2004;25:947-70.
- Zheng W, Gao YT, Shu XO, Wen W, Cai Q, Dai Q, et al. Population-based case-control study of CYP11A gene polymorphism and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13:709-14.
- Terry K, McGrath M, Lee IM, Buring J, De Vivo I. Genetic variation in CYP11A1 and STAR in relation to endometrial cancer risk. *Gynecol Oncol* 2010;117:255-9.
- Gao GH, Cao YX, Yi L, Wei ZL, Xu YP, Yang C. [Polymorphism of CYP11A1 gene in Chinese patients with polycystic ovarian syndrome]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi* 2010;45:191-6.