

BIOMARCADORS DE DIAGNÒSTIC, PRONÒSTIC I PREDICCIÓ DE RESPOSTA A TRACTAMENTS ONCOLÒGICS

MARINA RIGAU, MIREIA OLIVAN, MARTA LLAURADÓ,
EVA COLÁS, ANDREAS DOLL I JAUME REVENTÓS

Institut de Recerca Vall d'Hebron, Departament d'Oncologia Translacional i Pediàtrica

Adreça per a la correspondència: Jaume Reventós. Institut de Recerca Vall d'Hebron.
Edifici Collserola, Laboratori 209. Pg. de la Vall d'Hebron, 119-120. Barcelona 08035.
Tel.: 934 894 052. Adreça electrònica: jaume.reventos@vhir.org.

RESUM

La necessitat d'identificar nous biomarcadors que aportin una millora significativa del diagnòstic, pronòstic i del seguiment de teràpia de moltes malalties fa que avui dia la cerca de nous biomarcadors sigui un camp de la ciència increïblement explorat. Alhora, l'avenç tecnològic en el camp de la biomedicina ha fet que avui, més que mai, el nombre de nous candidats a biomarcadors hagi crescut de manera exponencial. No obstant això, en els últims anys, tot i l'elevat nombre de publicacions en aquest àmbit, només uns pocs marcadors han arribat a ser emprats en la pràctica clínica. Això es deu principalment a dues raons: els biomarcadors validats no compleixen amb les exigències de la clínica, i la fallida de molts d'aquests en la llarga i feixuga etapa de validació. El nou *pipeline* de cerca de biomarcadors, que afegeix etapes intermèdies en aquest procés, comporta que el percentatge d'èxit millori significativament; dit en altres paraules, que les possibilitats que aquestes noves troballes siguin incorporades a la rutina hospitalària i millorin la pràctica clínica siguin més elevades. Aquesta millora en el diagnòstic, pronòstic i seguiment de teràpia, que cada vegada més és específica del pacient que pateix la malaltia, fa que pas a pas ens trobem més a prop del que es coneix com a medicina personalitzada.

Paraules clau: biomarcador, biofluid, diagnòstic, pronòstic i seguiment de teràpia.

BIOMARKERS OF DIAGNOSIS, PROGNOSIS AND TARGETED THERAPY IN ONCOLOGY

SUMMARY

Better biomarkers are urgently needed to improve diagnosis, prognosis, and targeted

therapy across a wide range of diseases. Currently, scientists are moving forward to solve this problem. New developments in research help to discover many more biomarkers than ever before. However, although the number of articles that have been published in this area is increasing, only few biomarkers have been implemented in the clinical practice. This is mainly due to two reasons: biomarkers fail to meet the demands of the clinic; and false discoveries fail during the long way that represents the validation phases. The new biomarker pipeline, which currently includes new phases in the middle of the process, has significantly increased the percentage of success. In other words, the chances that the new findings are incorporated into routine clinical practice and improve the patient care are higher than before. This improvement in diagnosis, prognosis and targeted therapy, which is increasingly more specific for each patient who suffers a certain disease, brings us step by step closer to what is known as personalized medicine.

Key words: biomarker, biofluid, diagnosis, prognosis and target therapy.

QUÈ ÉS UN BIOMARCADOR?

L'Institut Nacional del Càncer defineix el concepte *biomarcador* com a 'una molècula biològica que es pot trobar a la sang, en fluids biològics o en teixits, la presència o absència de la qual és un signe d'un procés normal o anòmal o bé d'una condició de malaltia'. Alhora, un biomarcador ha de poder ser mesurat de manera objectiva com un indicador d'un estat, procés, progrés de malaltia o de resposta a una determinada teràpia (Biomarkers Definition Working Group, 2001).

Els biomarcadors poden agafar diferents formes (DNA, RNA, micro-RNA, proteïna, etc.), i conseqüentment, hi ha un ampli ventall de tecnologies que permeten el descobriment d'aquestes molècules. Clàssicament, els estudis de transcriptòmica i metil·lació han estat els més emprats; no obstant això, avui dia, fruit del gran creixement tecnològic al voltant de totes les «òmiques», la utilització de tècniques d'elevat rendiment, com ara la genòmica, transcriptòmica, proteòmica, metabolòmica, etc., permeten dur a terme anàlisis molt sofisticades amb mostres molt complexes, i alhora, incrementen les possibilitats de cerca de nous biomarcadors.

El descobriment de nous biomarcadors es basa en la comparació d'un estat fisiològic concret, d'un fenotip o de les diferències entre casos i controls per a una malaltia concreta (Gerszten i Wang, 2008). D'aquests mètodes, el més utilitzat és la comparació entre mostres procedents de pacients cas i control; per tant, les molècules que presentin diferències estadísticament significatives capaces d'identificar i prioritzar la malaltia seran considerades biomarcadors potencials. Teòricament cada malaltia ha de poder ser detectada i caracteritzada per un biomarcador únic. No obstant això, atesa l'heterogeneïtat i multifocalitat de les malalties, avui dia hi ha la tendència de cercar panells de biomarcadors sobreexpressats o infraexpressats que difereixin entre l'estat normal i malalt (Boja *et al.*, 2010; Anderson, 2005).

Una de les qüestions clau en l'estudi de biomarcadors és el tipus i accessibilitat d'una matriu d'alta qualitat biològica, la mostra. Els experiments clàssics de cerca de biomarcadors utilitzen els teixits afectats mateixos; no obstant això, l'obtenció d'aquests és sovint complicada i limitant. Avui dia hi ha una tendència envers la utilització de biofluids proximals als òrgans afectats, que també poden proporcionar in-

formació valuosa de la malaltia en qüestió, i alhora, representen un sistema no invasiu per detectar-los. La sang és el fluid biològic més utilitzat, encara que n'hi ha d'altres, com ara l'orina, la saliva, els aspirats uterins, etc. Per contra, l'elevada complexitat d'aquest tipus de mostres, les quals sovint presenten rangs dinàmics molt elevats, elevada heterogeneïtat, una baixa concentració de les molècules d'interès, etc., fa que la utilització sigui encara avui dia limitada. És per això que en la cerca de biomarcadors, els factors preanalítics, com ara la recollida, el processament, l'emmagatzematge i la distribució de les mostres biològiques, tinguin un paper molt important.

La planificació convencional per a la cerca de nous biomarcadors implica una etapa de descobriment en una cohort reduïda i controlada de mostres, seguida d'una etapa de validació en una cohort més àmplia de mostres, per arribar finalment a l'aplicació clínica. Malgrat l'elevat interès i la gran inversió en aquest camp, pocs biomarcadors nous s'han introduït amb èxit en la pràctica clínica (Gutman i Kessler, 2006). Les principals raons d'aquest fracàs són el llarg i difícil camí que hi ha entre la fase de descobriment del biomarcador candidat fins a arribar a l'assaig clínic en què aquest es valida (Rifai *et al.*, 2006).

En els últims anys s'ha plantejat una nova planificació per a la cerca de nous biomarcadors, que representa una millora sobre l'anterior en termes d'èxit, i que es defineix per seguir les etapes que es detallen a continuació (vegeu la figura 1).

a) El procés s'inicia amb l'etapa de descobriment, que és el pas inicial per analitzar semiquantitativament el contingut molecular de les mostres biològiques per tal d'identificar, seleccionar i prioritzar aquells biomarcadors relacionats amb la malaltia (Boja *et al.*, 2010). Aquesta etapa pot emprar diferents sistemes model (models *in vitro* o

in vivo) o una varietat reduïda de mostres humanes, com ara teixits, biofluids, etc., i en general, comprèn una comparació binària entre els estats de malaltia i no malaltia (control), considerant com a factors d'exclusió, entre d'altres, la presència d'estats patològics diferents a l'estudiat en cada cas (Rifai *et al.*, 2006). El producte de la fase de descobriment consisteix en una llista llarga de candidats a biomarcadors, expressats diferencialment, que presenten una taxa de fals descobriment molt elevada, és a dir, que molts no superaran les fases posteriors del procés de confirmació (Rifai *et al.*, 2006). En general, aquests estudis se centren en un sol tipus de comparació, mitjançant un únic tipus de tecnologia, però és també interessant fer comparacions a diferents nivells (RNA, proteïna, etc.) de la mateixa mostra biològica, ja que genera una informació complementària que ajuda molt en la selecció dels millors candidats. Aquesta «llista de possibles biomarcadors», alhora, pot ser complementada amb candidats procedents de la bibliografia. Hi ha bases de dades contrastades i sense contrastar d'experiments de la fase de descobriment ja publicats que amaguen llistes enormes d'aspirants a biomarcadors que poden afegir-se en aquest punt a les fases següents de validació dels candidats.

b) El pas següent, l'etapa de qualificació, s'utilitza per confirmar que els candidats a biomarcadors poden ser detectats utilitzant un mètode objectiu alternatiu, i alhora per confirmar l'expressió diferencial en una comparació simplificada entre mostres cas i control (Rifai *et al.*, 2006).

c) En la fase següent, l'etapa de verificació, l'anàlisi s'estén a un nombre més gran de mostres. L'etapa de verificació es defineix com el pont entre el descobriment i la validació, i és el procés de comprovació dels biomarcadors candidats seleccionats en la fase de descobriment. Per a aquesta etapa

s'utilitzen mètodes analítics robustos, reproductibles i quantitius (com per exemple, la PCR quantitativa —qPCR— per a l'anàlisi de RNA), que permeten una anàlisi dirigida dels biomarcadors candidats en un nombre de mostres amb rellevància clínica. Els biomarcadors acreditats que superin aquesta etapa es consideren biomarcadors verificats, que són de gran valor per a la translació a estudis de validació clínica a gran escala (Boja *et al.*, 2010).

d) Finalment, *l'etapa de validació*, que representa una avaluació exhaustiva dels biomarcadors candidats, i que en permetrà la incorporació a la pràctica clínica. Una vegada s'han identificat uns biomarcadors candidats, els quals han estat verificats, aquests han de ser avaluats per a una indicació clínica específica. Idealment, els biomarcadors han de ser validats de manera anàloga,

en un estudi clínic prospectiu, ben controlat i en una sèrie de pacients de diverses institucions que compleixin els estàndards establerts per a cada una de les etapes del procés (Ludwig i Weinstein, 2005). Malgrat això, aquestes condicions ideals poques vegades s'apliquen.

Abans d'enviar un biomarcador perquè l'aprovi l'EMA (European Medicines Agency) o la FDA (Food and Drug Administration), es necessita la confirmació analítica i clínica del biomarcador. Després de l'aprovació de la FDA, el CMS (Center for Medicare and Medicaid Service) ha de concloure que aquest biomarcador és essencial per a la millora clínica en la cura del pacient (vegeu la figura 1).

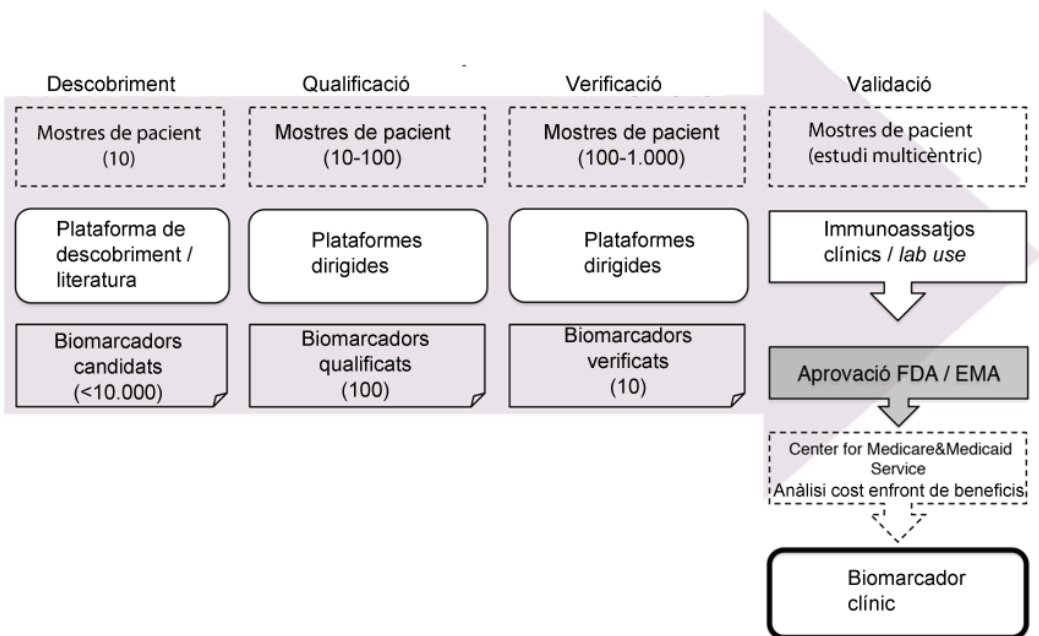


FIGURA 1. Nova planificació per al descobriment de biomarcadors. Adaptat de Rifai *et al.* (2006) i Madu *et al.* (2010).

TIPUS DE BIOMARCADORS

Els biomarcadors són indicadors a escala molecular, bioquímica o celular, que es modifiquen quan s'ha produït una situació concreta. Qualsevol molècula no és vàlida com a biomarcador, sinó que ha de reunir determinades condicions. La majoria dels biomarcadors estudiats actualment es basen en la possibilitat que siguin útils des del punt de vista del diagnòstic/pronòstic, encara que s'ha de tenir en compte que un biomarcador ideal alhora hauria de constituir una diana terapèutica. D'altra banda, hi ha biomarcadors que no tenen un valor diagnòstic ni terapèutic però que proporcionen informació sobre la gènesi del trastorn que observem.

El biomarcador ideal hauria de fer el següent:

- a) Permetre una detecció primerenca de la malaltia.
- b) Fer un cribatge de pacients candidats a rebre tractament.
- c) Identificar subgrups de pacients que puguin respondre al tractament.
- d) Monitorar el tractament.
- e) Avaluar la progressió/regressió de la malaltia.

Hi ha dos grups principals de biomarcadors: *biomarcadors d'exposició*, aquells que s'utilitzen en la predicció del risc, i *biomarcadors de la malaltia*, que s'utilitzen en el cribatge, diagnòstic i el seguiment de la progressió de la malaltia; conseqüentment, la classificació dels biomarcadors és variable segons diferents paràmetres.

Tenint en compte l'aplicació es poden classificar en els tipus següents:

Biomarcadors de cribatge: s'utilitzen per predir l'aparició potencial d'una malaltia concreta en pacients asimptomàtics.

Biomarcadors de diagnòstic: s'utilitzen per fer prediccions en pacients en què hi ha sospita d'una malaltia. Un biomarcador de

diagnòstic ha de ser capaç de determinar una malaltia concreta de manera inequívoca, particularment en aquells pacients que no presenten símptomes. Els biomarcadors de diagnòstic han de complir els criteris exposats a la taula 1.

Biomarcadors de pronòstic: s'utilitzen per preveure l'evolució d'un pacient que pateix una malaltia concreta; per tant, indica el curs clínic futur del pacient pel que fa a algun resultat clínic específic en absència d'intervenció terapèutica.

Biomarcadors de resposta a teràpia: s'utilitzen per preveure la reacció d'un pacient que pateix una malaltia concreta quan se li administra un fàrmac determinat contra aquesta malaltia. Identifica els pacients que són relativament susceptibles a un efecte específic del fàrmac, enfront dels pacients menys susceptibles.

Actualment disposem de diferents tipus de marcadors, com ara biomarcadors cardiovasculars, fonamentalment relacionats amb el desenvolupament i ruptura de la placa arterioscleròtica, la isquèmia cardíaca o l'infart; biomarcadors tumorals per al diagnòstic primerenc, resultat del tractament i seguiment de la malaltia en el càncer de mama, pulmó, còlon, ovari, fetge, tiroide, bufeta, etc. També hi ha biomarcadors vinculats amb la remodelació òssia relacionats amb l'osteoporosi o la reabsorció òssia; vinculats a la funció muscular per a miositis o malalties degeneratives; al dany cerebral (demència, Alzheimer, trombosi...) o al metabolisme de la glucosa útil en pacients diabètics.

A continuació s'exemplifiquen els tipus més comuns de biomarcadors de malaltia, en malalties comunes com són el càncer de pròstata, d'endometri i d'ovari. Tots són càncers hormonodependents que avui dia afecten un elevat percentatge de població i són una causa important de mort per malaltia oncològica.

TAULA 1. Criteris per a biomarcadors de diagnòstic

Específic	Per a una determinada malaltia (baixa taxa de falsos positius)
Sensible	Baixa taxa de falsos positius
Predictiu	Rellevant per a la progressió de la malaltia o el tractament
Estandarditzat	Procés consistent i reproduïble
Sòlid	Procediment ràpid, senzill i econòmic
Estable	Les mateixes concentracions a qualsevol hora del dia
No invasiu	Quantificable en un fluid o mostra biològica fàcilment accessible
Rellevància pre-clínica i clínica	Vàlid en models animals/ cel·lulars i humans

EXEMPLE DE BIOMARCADORS DE CRIBRATGE. EL PSA COM A MARCADOR DE CRIBRATGE EN EL CÀNCER DE PRÒSTATA. NOUS DESCOBRIMENTS

El càncer de pròstata (CP) és la segona causa de mort per malaltia oncològica en els homes del món occidental (Jemal *et al.*, 2011). S'estima que un de cada sis homes desenvoluparà un càncer d'aquest tipus al llarg de la seva vida. El diagnòstic actual del CP es basa en una tríada diagnòstica que consta de l'anàlisi dels nivells de PSA (*prostate specific antigen* o antigen específic de la pròstata) en sèrum, el tacte rectal (TR) i finalment la biòpsia prostàtica (BP). Quan els nivells de PSA en sèrum se situen per sobre de 4 ng/ml o el TR és sospitos, l'uròleg pot estimar quina és la probabilitat que el pacient estigui afectat per un CP, i per tant decidir la necessitat de practicar o no una BP, que permetrà establir el diagnòstic definitiu.

La introducció del test del PSA, a finals

dels anys vuitanta, s'ha traduït en una millora del diagnòstic precoç del CP, moment en el qual les opcions de tractament són eficaçes. No obstant això, i malgrat aquesta detecció primerenca, la mortalitat per CP no ha disminuït significativament en els últims anys. El principal problema del PSA com a marcador de cribratge és que aquest presenta un nivell d'especificitat baix (30 % aproximadament) i alhora, un valor predictiu negatiu baix. Això es tradueix en el fet que al voltant d'un terç de tots els homes sotmesos a una BP seran positius per a CP. Com a resultat dels seus persistents nivells sèrics de PSA, però els resultats negatius de la BP, aquests homes se sotmeten a diverses biòpsies. Tot i els importants avenços en la investigació de biomarcadors de CP, alguns homes encara estan sobrediagnosticats de CP «indolent», mentre que d'altres moren de malaltia agressiva diagnosticada tardanament. Aquesta situació es coneix com el «dilema diagnòstic».

És per tot això que el CP es beneficiaria de l'existència de nous biomarcadors de cribratge més específics i alhora d'un diagnòstic menys invasiu. Aquesta millora evitaria un gran nombre de biòpsies innecessàries i conseqüentment un important estalvi econòmic en el cost sanitari actual. La recerca de nous marcadors en el CP suposa un camp de treball important en la detecció precoç d'aquest tipus de càncer.

Atesa la situació de la pròstata en l'organisme, sota la bufeta i envoltant la uretra, les secrecions i fins i tot les cèl·lules prostàtiques mateixes, ja siguin normals o malignes, poden trobar-se presents en l'orina. És per això que considerem l'orina com una font important d'informació, a través de la qual es podria arribar a determinar quina situació s'està donant en l'òrgan en qüestió. Hi ha estudis que evidencien l'existència de biomarcadors potencials en l'orina que podrien ajudar en la millora del diagnòstic del

CP, com ara PCA3 (*prostate cancer antigen 3*) (Schalken *et al.*, 2003; Hessels *et al.*, 2003; Groskopf *et al.*, 2006). Alhora, en el nostre grup s'han descrit panells de biomarcadors que milloren la detecció del CP en aquest tipus de mostra (Rigau *et al.*, 2010, 2011).

Tal com s'ha comentat anteriorment, atesa la multifocalitat i heterogeneïtat del CP, el fet de multiplexar diferents biomarcadors permet incrementar l'especificitat sense perdre sensibilitat en el diagnòstic del CP. Mitjançant una anàlisi transcriptòmica per qPCR, de 154 (37 % amb CP) mostres de sediments d'orines de pacients obtingudes després d'un massatge prostàtic, vam determinar la utilitat de tres biomarcadors: PSMA (*prostate specific membrane antigen*), PSGR (*prostate specific G-coupled receptor*) i PCA3, per a la detecció de CP en orina utilitzant una anàlisi de *multi receiver operating curve* (multiROC). Els resultats demostren que quan fixem la sensibilitat al 96 %, l'especificitat del model per als tres biomarcadors conjunts (3M) manté una especificitat del 34 %, mentre que aquesta especificitat no supera el 17 % quan mirem els biomarcadors de manera individual. El comportament dels 3M millora notablement quan estudiem una subpoblació de l'estudi que presenta nivells de PSA en sang entre 4-10 ng/ml i no té informació d'una biòpsia prèvia («zona grisa del PSA») on, fixant la sensibilitat al 96 %, l'especificitat és del 50 %.

Els resultats obtinguts demostren que la combinació de diferents biomarcadors proporciona més especificitat a la prova diagnòstica sense comprometre el valor de sensibilitat del test. Expressat en el nombre de biòpsies que s'haurien pogut estalviar, els valors se situen al voltant del 34 %. Aquesta prova de cribratge, juntament amb els valors de PSA en sang i del TR, podria ajudar a determinar amb una millor especificitat quins pacients s'hauran de sotmetre al cribratge definitiu de CP, mitjançant la BP, fet

que es traduiria en un cribratge més acurat, que alhora permetria una reducció en el nombre de biòpsies molt important (34 %), cosa que es traduiria en una millora important per a la qualitat de vida del pacient, ja que el procediment de BP és dolorós i provoca un malestar important en el pacient, així com en un estalvi econòmic molt important per al sistema de salut.

EXEMPLE DE BIOMARCADORS DE DIAGNÒSTIC. GynEC-Dx COM A BIOMARCADOR DIAGNÒSTIC EN CÀNCER D'ENDOMETRI

El càncer d'endometri (CE) és el tumor maligne més freqüent del tracte genital femení en els països desenvolupats i el segon més freqüent en països en via de desenvolupament, per sota del càncer de cèrvix. Mundialment es diagnostiquen 287.100 casos anuals, xifra que representa una incidència global de nou casos per cada cent mil dones i un risc de desenvolupar-lo al llarg de la seva vida de l'1,2 % (Jemal *et al.*, 2011). Tot i així, el CE és considerat un càncer de bon pronòstic gràcies al fet que aproximadament el 70 % (Siegel *et al.*, 2011) de les pacients es diagnostiquen en estadis inicials de la malaltia, moment en el qual és altament curable mitjançant tractament quirúrgic. Quan el tumor es diagnostica en estadis avançats i s'ha disseminat, o bé, quan recidiva després del tractament, el pronòstic empitjora de manera considerable. És per això que el diagnòstic precoç del CE és un punt clau a l'hora de millorar la supervivència de les pacients.

Davant d'aquest escenari, en què el 30 % de les pacients es diagnostiquen amb una malaltia avançada, associada a un elevat nombre de recurrències, i en general, a un mal pronòstic, cal destacar que avui dia no

hi ha un mètode de cribratge poblacional a causa de la manca de biomarcadors moleculars suficientment específics i sensibles per al diagnòstic precoç del CE.

Amb l'objectiu de millorar la detecció precoç i el control clínic del CE, hem ampliat recentment el nostre camp d'investigació per desenvolupar noves aproximacions encaminades a la millora dels mètodes actuals de diagnòstic. Des de fa vint anys, el nostre grup s'ha centrat en la identificació de perfils moleculars en el CE (Planaguma *et al.*, 2004, 2005), els quals han donat lloc a extensos treballs en la caracterització dels processos d'invasió miomètrica (Doll *et al.*, 2001; Monge *et al.*, 2007, 2009a, 2009b; Planaguma *et al.*, 2006). Més recentment, hem fet una anàlisi de l'expressió gènica, mitjançant xips de cDNA, en 52 mostres de teixit tumoral i 10 mostres de teixit normal, seguit d'una sèrie de qualificació, mitjançant qPCR, en 19 mostres aparellades de teixit normal i tumoral, i una sèrie de verificació, mitjançant qPCR, en 50 mostres d'aspirats uterins provinents de pacients normals i pacients amb CE. Aquesta anàlisi demostra que les alteracions trobades a escala del teixit extret de la cavitat uterina es correlacionen perfectament amb l'aspirat uterí, i alhora descriuen un total de vint biomarcadors a escala de RNA que permeten diagnosticar el CE en aspirats uterins amb una elevada especificitat i sensibilitat (Colas *et al.*, 2011). Enguany, gràcies al finançament de GEADIC, SA (aliança entre les empreses del món biotecnològic i Farma, Oryzon Genomics i Reig Jofre), aquest estudi es va validar a escala multicèntrica en catorze hospitals del territori espanyol, incloent-hi un total de 514 pacients de manera prospectiva i doble cec. Aquesta última fase de validació ha donat lloc a un perfil de biomarcadors que, en combinació amb el mètode actual de diagnòstic patològic de les biòpsies d'aspirat uterí, permet aconseguir una

sensibilitat (91 %) i especificitat (97 %) millors per diagnosticar aquelles pacients amb CE (Pérez-Sánchez *et al.*, 2013). Aquests resultats han comportat la concessió d'una patent i la sortida al mercat d'un equip comercial, GynDx, que actualment s'està introduint en els hospitals d'Espanya.

Per davant de tot, el resultat perseguit presenta un impacte clínic important, amb l'objectiu d'accelerar el procés de diagnòstic, d'incrementar la sensibilitat i especificitat del procés diagnòstic, i d'evitar l'ús de les costoses i invasives histeroscòpies.

EXEMPLE DE BIOMARCADORS DE PROGRESSIÓ TUMORAL (PRONÒSTIC) EN CÀNCER D'OVARI

Actualment, el càncer d'ovari (CO) explica el 3 % dels nous casos de càncer diagnosticats en dones del països occidentals. En termes de mortalitat, aquest esdevé la cinquena causa de mort per càncer i la primera causa de mort per càncer ginecològic (Jemal *et al.*, 2011). Encara que més del 80 % de les pacients presenten algun símptoma, el CO ha estat anomenat «l'assassí silenciós». Això és degut al fet que els seus símptomes són sovint compartits per altres condicions no necessàriament patològiques del tracte gastrointestinal, genitourinari o ginecològic que en dificulten la diagnosi inicial. Per aquest motiu, més del 70 % de les pacients amb CO són diagnosticades en estadis avançats de la malaltia (estadis III-IV).

Com a conseqüència de la falta d'especificitat dels símptomes i de la diagnosi inicial tardana, la supervivència als cinc anys de les pacients diagnosticades amb CO avançat és inferior al 20 % (Aletti *et al.*, 2007). Contràriament a aquests casos, la taxa de curació del CO en pacients diagnosticades en estadis inicials de la malaltia (estadi I) se situa al voltant del 90 %.

Actualment, els mètodes de cribatge que es fan servir per detectar la presència o no de CO són els següents: l'examinació pelviana, l'ecografia abdominal, i l'anàlisi del marcador sèric CA-125. Els dos primers mètodes serveixen per detectar la presència d'una massa ovàrica anormal, i per tant sospitosa, però no permeten discriminar entre una massa ovàrica benigna o maligna. La detecció del marcador CA-125 en sang per a valors superiors a 35 U/ml indica la possible presència de CO; no obstant això, el diagnòstic definitiu es fa mitjançant cirurgia i només una de cada deu pacients operades n'està afectada.

Malauradament, l'ús d'aquest únic marcador, descobert ja fa més de trenta anys, presenta limitacions importants en la detecció del CO, com una baixa sensibilitat en els estadis inicials de la malaltia (menys del 50 % dels casos el sobreexpressen), així com en els estadis avançats de la malaltia (el 20 % de les pacients no el sobreexpressen); i una baixa especificitat, ja que l'augment en sang pot anar associat a altres condicions fisiològiques i patològiques (com embaràs, hepatitis, endometriosis, càncer de mama, etc.) diferents del CO (Huhtinen *et al.*, 2009; Bast *et al.*, 1998). Finalment, els nivells sanguinis de CA-125 no semblen fiables en les dones amb alt risc de desenvolupar CO a causa de la seva història familiar (Amant *et al.*, 2005; American Cancer Society, 2010).

D'altra banda, el fet que inicialment el 80 % de les pacients responguin al tractament quimioterapèutic estàndard (basat en una combinació de paclitaxel i carboplatí), no evita que només el 10-15 % de les pacients aconseguixi mantenir una resposta completa a aquest tipus de quimioteràpia (Aletti *et al.*, 2007).

La presència d'aquest escenari fortament suggereix que la detecció del CO en estadis inicials així com la incorporació de nous

tractaments quimioterapèutics aportaria un gran benefici a la nostra societat.

Amb la intenció d'identificar marcadors associats a la progressió tumoral en CO, necessaris per ser utilitzats en la fase de generació d'una nova teràpia molecular dirigida, vam decidir analitzar una sèrie de mostres aparellades de pacients amb CO avançat (estadi IIIc) que va consistir en: el tumor primari d'ovari (teixit), l'ascites (fluid), i un implant peritoneal o metàstasi (teixit).

L'anàlisi de l'RNA extret de les tres mostres procedents de cinc pacients es va fer mitjançant la tecnologia de microxips de cDNA i va permetre identificar una sèrie de gens significativament alterats en cada tipus de mostra respecte de l'altra, i alhora comuna en totes les pacients analitzades. D'aquesta manera, s'ha aconseguit identificar un perfil gènic propi de cada comparació —ascites respecte a tumors primaris, metàstasi respecte a ascites, i metàstasi respecte a tumors primaris— que facilita la cerca de noves dianes terapèutiques contra la ràpida progressió i disseminació del CO. En aquests moments s'han seleccionat sis possibles marcadors per ser verificats en la fase experimental següent. L'objectiu final és el d'identificar marcadors que indiquin progressió de la malaltia, abans que aquesta sigui no abordable, i marcadors que puguin ser utilitzats com a eines terapèutiques, ja sigui mitjançant el bloqueig de l'expressió o acció (en el cas d'oncògens), o bé a través de la sobreexpressió (en el cas de supressors tumorals).

REFLEXIÓ

Les grans inversions en les tècniques d'elevat rendiment han generat una nova oportunitat per aconseguir avenços significatius en la investigació biomèdica i en especial en el camp del càncer. Alhora, la mi-

llora en el disseny experimental, així com l'estandardització de protocols de recollida i anàlisi de mostres, i no menys important, el creixement de la bioinformàtica que acompanya tot el procés experimental, han permès facilitar el descobriment de nous biomarcadors amb més taxa d'èxit que anys enrere.

Les nostres dades demostren que es poden identificar nous biomarcadors per al CP, CE i CO, cosa que constitueix un pas important en l'avenç del diagnòstic específic, no invasiu i també en el pronòstic de la malaltia, que actualment representa un progrés en la nostra capacitat de curar els pacients. Així doncs, la consecució dels projectes presentats i la validació d'aquells resultats més prometedors podria representar una millora important en la pràctica clínica d'aquests càncers, beneficiar els pacients mitjançant la incorporació d'aquests resultats en la rutina hospitalària. A més, en un futur no gaire llunyà, la integració de les dades generades en aquest tipus d'anàlisi juntament amb la combinació de dades clíniques rellevants del pacient ens acostaran encara més al que es coneix com la biomedicina de sistemes, que representa un pas molt important en la curació d'aquests càncers.

Motivats per aquestes noves troballes, animats per l'ànima d'exploració de nous mons i alhora havent viscut ja una experiència d'èxit propera, va sorgir la idea d'un projecte empresarial que va néixer el 2007 amb el nom de TransBioMed, impulsat per quatre emprenedors: el doctor Miguel Abal, Raimon Forés, el doctor Andreas Doll i el doctor Jaume Reventós. TransBioMed sorgeix en el context hospitalari de l'Hospital de la Vall d'Hebron, i és la primera escissió de l'Institut de Recerca Vall d'Hebron de Barcelona amb una clara vocació transla-cional, mitjançant el desenvolupament i la valorització de la investigació en biomedici-

na, i amb la missió de traduir-la en productes diagnòstic i pronòstic de diferents malalties com el CP, CE i CO, així com altres malalties predominants. El valor tecnològic dels projectes de l'empresa se centra principalment a millorar la selectivitat i especificitat dels sistemes de diagnòstic i pronòstic actuals per a aquestes malalties. L'estratègia es basa principalment en la combinació de diferents marcadors, perfils de marcadors, que permeten millorar els nivells d'especificitat mantenint valors de sensibilitat del 95-100 %. Les empreses amb capacitat de desenvolupar i comercialitzar els equips a escala multinacional són els principals clients per llicenciar aquesta propietat industrial.

BIBLIOGRAFIA

- ALETTI, G. D.; LONG, H. J.; PODRATZ, K. C.; CLIBY, W. A. (2007). «Is time to chemotherapy a determinant of prognosis in advanced-stage ovarian cancer?». *Gynecol. Oncol.*, 104: 212-216.
- AMANT, F. [et al.] (2005). «Endometrial cancer». *Lancet*, 366: 491-505.
- AMERICAN CANCER SOCIETY (2010). *Cancer Facts. Figures 2010*. Atlanta: American Cancer Society.
- ANDERSON, L. (2005). «Candidate-based proteomics in the search for biomarkers of cardiovascular disease». *J. Physiol.*, 563: 23-60.
- BAST, R. C., Jr. [et al.] (1998). «CA 125: the past and the future». *Int. J. Biol. Markers*, 13: 179-187.
- BIOMARKERS DEFINITION WORKING GROUP (2001). «Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework». *Clin. Pharmacol. Ther.*, 69: 89-95.
- BOJA, E. [et al.] (2010). «Evolution of Clinical Proteomics and its Role in Medicine». *J. Proteome Res.*, doi:10.1021/pr100532g.
- COLAS, E. [et al.] (2011). «Molecular markers of endometrial carcinoma detected in uterine aspirates». *International Journal of Cancer. Journal International du Cancer*. DOI:10.1002/ijc.25901.
- DOLL, A. [et al.] (2009). «An orthotopic endometrial cancer mouse model demonstrates a role for RUNX1 in distant metastasis». *International Jour-*

- nal of Cancer. Journal International du Cancer*, 125: 257-263.
- GERSZTEN, R. E.; WANG, T. J. (2008). «The search for new cardiovascular biomarkers». *Nature*, 451: 949-952.
- GROSKOPE, J. [et al.] (2006). «APTIMA PCA3 molecular urine test: development of a method to aid in the diagnosis of prostate cancer». *Clin. Chem.*, 52: 1089-1095.
- GUTMAN, S.; KESSLER, L. G. (2006). «The US Food and Drug Administration perspective on cancer biomarker development». *Nat. Rev. Cancer.*, 6: 565-571.
- HESSELS, D. [et al.] (2003). «DD3(PCA3)-based molecular urine analysis for the diagnosis of prostate cancer». *Eur. Urol.*, 44: 8-15. [Discussió: 15-16]
- HUHTINEN, K. [et al.] (2009). «Serum HE4 concentration differentiates malignant ovarian tumours from ovarian endometriotic cysts». *Br. J. Cancer*, 100: 1315-1319.
- JEMAL, A. [et al.] (2011). «Global cancer statistics». *CA Cancer J. Clin.*, 61: 69-90.
- LUDWIG, J. A.; WEINSTEIN, J. N. (2005). «Biomarkers in cancer staging, prognosis and treatment selection». *Nat. Rev. Cancer*, 5: 845-856.
- MADU, C. O.; LU, Y. (2010). «Novel diagnostic biomarkers for prostate cancer». *J. Cancer*, 1: 150-177.
- MONGE, M. [et al.] (2007). «ERM/ETV5 up-regulation plays a role during myometrial infiltration through matrix metalloproteinase-2 activation in endometrial cancer». *Cancer Research*, 67: 6753-6759.
- MONGE, M. [et al.] (2009a). «Proteomic approach to ETV5 during endometrial carcinoma invasion reveals a link to oxidative stress». *Carcinogenesis*, 30: 1288-1297.
- MONGE, M. [et al.] (2009b). «Subtractive proteomic approach to the endometrial carcinoma invasion front». *Journal of Proteome Research*, 8: 4676-4684.
- PLANAGUMA, J. [et al.] (2004). «A differential gene expression profile reveals overexpression of RUNX1/AML1 in invasive endometrioid carcinoma». *Cancer Research*, 64: 8846-8853.
- PLANAGUMA, J. [et al.] (2005). «Up-regulation of ERM/ETV5 correlates with the degree of myometrial infiltration in endometrioid endometrial carcinoma». *The Journal of Pathology*, 207: 422-429.
- PLANAGUMA, J. [et al.] (2006). «The up-regulation profiles of p21WAF1/CIP1 and RUNX1/AML1 correlate with myometrial infiltration in endometrioid endometrial carcinoma». *Human Pathology*, 37: 1050-1057.
- RIFAI, N.; GILLETTE, M. A.; CARR, S. A. (2006). «Protein biomarker discovery and validation: the long and uncertain path to clinical utility». *Nat. Biotechnol.*, 24: 971-983.
- RIGAU, M. [et al.] (2010). «PSGR and PCA3 as biomarkers for the detection of prostate cancer in urine». *Prostate.*, 70: 1760-1767.
- RIGAU, M. [et al.] (2011). «A Three-Gene panel on urine increases PSA specificity in the detection of prostate cancer». *Prostate*. DOI:10.1002/pros.21390.
- SCHALKEN, J. A., HESSELS, D.; VERHAEGH, G. (2003). «New targets for therapy in prostate cancer: differential display code 3 (DD3(PCA3)), a highly prostate cancer-specific gene». *Urology*, 62: 34-43.
- SIEGEL, R.; WARD, E.; BRAWLEY, O.; JEMAL, A. (2011). «Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths». *CA Cancer J. Clin.*, 61: 212-236.

SOBRE ELS AUTORS

Marina Rigau és llicenciada en biologia per la Universitat de Barcelona i doctora en biomedicina per la Universitat Autònoma de Barcelona. Durant la seva tesi va fer una estada de formació internacional, a Luxemburg, en l'àmbit de la proteòmica. D'altra banda, ha participat des de primera línia en la primera empresa d'escissió dintre del sistema públic de salut de Catalunya, Transbiomed, SL. Actualment està duent a terme una formació postdoctoral a la Unitat de Recerca Biomèdica i Oncologia Translacional de l'Institut de Recerca de l'Hospital Vall d'Hebron.

Mireia Olivan, biòloga per la Universitat de Barcelona, va fer la seva tesi doctoral al Departament de Bioquímica i Biologia Molecular de la mateixa universitat. Posteriorment, va treballar com a investigadora durant un any a la Universitat de São Paulo i, actualment, forma part des de fa dos anys del Grup de Càncer de Pròstata de la Unitat de Recerca Biomèdica i Oncologia Translacional de l'Institut de Recerca de l'Hospital Vall d'Hebron.

Marta Llauradó és llicenciada en biologia per la Universitat de Barcelona. Poste-

riorment, es va doctorar en biomedicina per la Universitat Autònoma de Barcelona. Després de fer la tesi i un any de formació postdoctoral a la Unitat de Recerca Biomèdica i Oncologia Translacional de l'Institut de Recerca de l'Hospital Vall d'Hebron, va incorporar-se a la Facultat de Medicina de la Universitat de British Columbia (Vancouver, Canadà), on continua les seves investigacions en càncers hormonodependents.

Eva Colás, biòloga per la Universitat de Barcelona, va fer la seva tesi doctoral a la Unitat de Recerca Biomèdica i Oncologia Translacional de l'Institut de Recerca de l'Hospital Vall d'Hebron. És aquí on va començar els seus estudis en càncer d'endometri, que ara continua com a investigadora postdoctoral del mateix grup. Durant la seva carrera, la doctora Eva Colás ha fet diverses etapes formatives a l'estranger (Noruega, Anglaterra i França) i ha participat en projectes amb empreses (Innovest, SA, Oryzon Genomics, SA i Transbiomed SL).

Andreas Doll, biòleg humà per la Universitat de Marburg, Alemanya, va fer la seva tesi doctoral en genètica humana. Posteriorment va dur a terme una etapa postdoctoral al Departament de Biologia Cel·lular de la Universitat de Marburg. El 2007 va

iniciar la seva carrera com a investigador independent en la Unitat de Recerca Biomèdica i Oncologia Translacional de l'Institut de Recerca de l'Hospital Vall d'Hebron. És soci fundador de l'empresa de biotecnologia Transbiomed, SL, i és professor conferenciant de biologia molecular a la Universitat Internacional de Catalunya (UIC).

Jaume Reventós és doctor en medicina i cirurgia per la Universitat Autònoma de Barcelona. Té experiència de recerca durant tres anys a l'INSERM de Lió, i sis com a postdoctorand, primer a la Universitat Rockefeller, de Nova York, i després com professor associat al Mount Sinai, també de Nova York. Des de 1990 és el director de la Unitat de Recerca Biomèdica i Oncologia Translacional de l'Institut de Recerca de l'Hospital Vall d'Hebron. Dirigeix un grup de recerca de trenta investigadors dedicats a les bases moleculars i al diagnòstic dels càncers d'endometri, d'ovari i de pròstata. És soci fundador de l'empresa de base tecnològica Transbiomed SL, primera empresa d'escissió dintre del sistema públic de salut de Catalunya. És graduat del Programa de Desenvolupament Directiu de l'Escola de Negocis IESE, de la Universitat de Navarra.