

El doctorat i el càncer d'ovari, dos reptes apassionants

..... Escrit per

Dámaso Gallardo

Vall d'Hebron Institut de Recerca

La decisió de fer un doctorat en biologia comporta molts esforços en una situació d'inestabilitat laboral. La ciència, malgrat els avenços fets els darrers anys, ens continua plantejant reptes apassionants, interessants i durs. Entre aquests destaca el càncer, una de les principals epidèmies i causes de mort del món desenvolupat. Tot i els avenços realitzats els darrers anys entorn de la dissecció, a escala molecular, de les causes i dels mecanismes que l'envolten, a més de la millora en el tractament d'alguns tipus de tumors, hi ha càncers, com el d'ovari, que continuen sent un gran repte.

LA realització d'un estudi doctoral en el camp de les ciències de la vida és una decisió de la qual s'ha d'estar molt segur. Per damunt de les adversitats econòmiques i laborals, requereix sentir una curiositat innata i una motivació especial per saber més d'algun aspecte, per descobrir coses noves, per estar al límit del coneixement (amb els riscos i les possibilitats de fracàs que això implica), i per sentir que s'està aportant alguna cosa a la societat, que s'està ajudant al progrés de la humanitat i, en el meu cas particular, que estic col·laborant en la detecció precoç i la cura del càncer d'ovari, una de les malalties més temudes, letals i desconegudes d'avui. Per tot això, cal tenir clar l'objectiu i l'impacte dels projectes de recerca en els quals es treballa. En aquest sentit, jo em vaig sentir atret pel projecte proposat pel grup de Jaume Reventós, perquè va despertar en mi tots els sentiments esmentats, i em va crear la necessitat de treballar per indagar i descobrir coses noves.

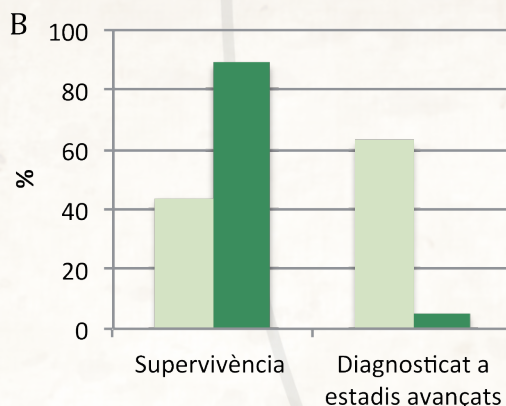
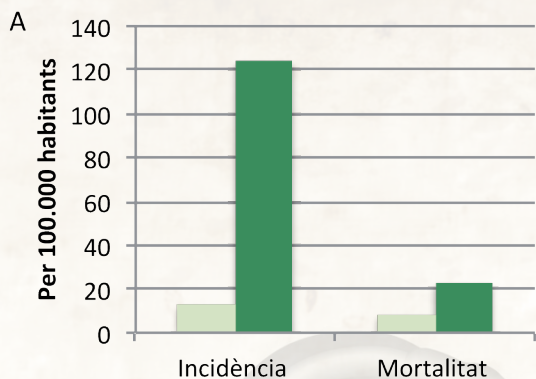
Per entendre el que vol dir tot això, posaré com a exemple alguns dels projectes de recerca en els quals participo, coordinats per Marta Llauredó, dins la Unitat de Recerca Biomèdica i Oncologia Translacional i Pediàtrica de l'Institut de Recerca de l'Hospital Universitari Vall

d'Hebron, unitat dirigida per Jaume Reventós. Per això cal començar amb una petita introducció sobre la biologia i l'epidemiologia del càncer d'ovari, en què veurem que aquest càncer presenta peculiaritats o trets que el diferencien de la resta de tumors.

El càncer d'ovari és una patologia maligna que es pot classificar en diferents subtipus segons el tipus cel·lular que l'origina. En concret, al laboratori s'estudia el càncer d'ovari de tipus epitelial, que representa el 85-95 % de tots els casos (Roett, 2009). Biològicament parlant, aquest tipus de neoplàsia té un comportament especial per diferents motius, entre els quals es poden destacar: l'origen cel·lular, actualment encara desconegut i que es manté en debat segons el subtipus del qual es parla (com és el cas del càncer d'ovari epitelial de tipus serós, que se sospita que podria tenir l'origen cel·lular a les trompes de Fal·lopi);¹ i la manera de disseminar-se, la qual, a diferència de la de la major part dels de tumors humans de tipus epitelial, que es disseminen per via hematògena i per invasió del teixit o òrgan adjacent, es basa principalment en la descamació de les cèl·lules de la superfície ovàrica cap a la cavitat peritoneal (Amadori, 1996).

Pel que fa a l'epidemiologia, el càncer d'ovari representa el 3 % de tots els casos de càncer diagnosticats en dones del món occidental (Siegel, 2012), i es caracteritza pel fet de no presentar una simptomatologia clara i específica (com, per exemple, increment del volum abdominal, dolor abdominal, cansament general, sensació de sacietat, etc.), que comporta que una gran part de casos (dues tercers parts) siguin detectats en estadis avançats (III i IV) de la malaltia («Ovarian cancer...», 2012). Aquest retard en el diagnòstic

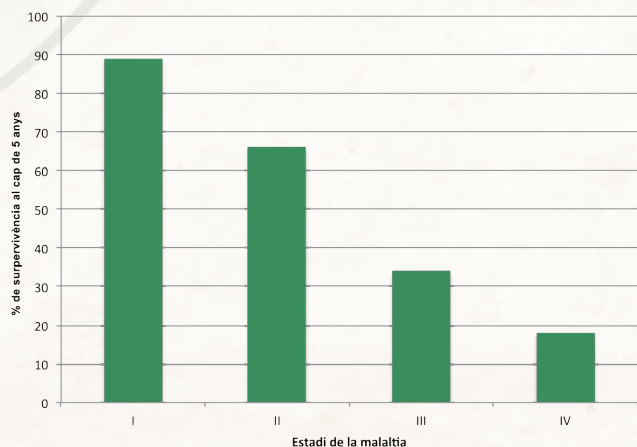
1 <<http://www.uchospitals.edu/online-library/content=CDR62967>> (consulta: 7 maig 2012).



◀ **Figura 1.**
 Ovari
 Mama

inicial de la malaltia, juntament amb la resposta transitòria a la quimioteràpia estàndard (basada en una combinació de taxans i platí), és el que es relaciona amb la pobra taxa de supervivència. Aproximadament, només un 40 % de les pacients diagnosticades amb càncer d'ovari avançat sobreviuen passats cinc anys del diagnòstic inicial de la malaltia (Siegel, 2012) (figura 1).

Tot i els nombrosos esforços fets per diferents grups de recerca i institucions entorn aquesta malaltia, es calcula que la taxa de supervivència mitjana al cap de cinc anys del diagnòstic no ha variat pràcticament gaire els darrers trenta anys («Ovarian cancer...», 2012). Però, no tot són males notícies, ja que els avenços en recerca dels darrers anys han permès l'aparició de noves teràpies, com és el cas del bevacizumab (Avastin®; Genentech, Inc., San Francisco, CA), un anticòs contra la proteïna VEGF que bloqueja l'angiogènesi (un dels processos importants en la progressió tumoral), el qual sembla augmentar uns mesos l'esperança de vida global d'aquestes pacients (Burger, 2011). Un altre aspecte esperançador es basa en el fet que si aquesta malaltia es detecta en estadis inicials, la taxa de supervivència associada és molt elevada (superior al 60-80 % en els casos diagnosticats en l'estadi II i l'estadi I, respectivament) (figura 2).²



◀ **Figura 2.**

Un cop feta aquesta petita introducció, que permet entendre les peculiaritats del càncer d'ovari, explicaré com tractem d'abordar al nostre laboratori l'estudi d'aquesta malaltia, des de dos punts de vista diferents. El diagnòstic precoç, un camp en què necessiten manifestament i urgentment nous biomarcadors que informin sobre la presència de la malaltia en estadis inicials. El control de la metàstasi que, en seguir principalment una via diferent de la d'altres càncers, encara no s'ha estudiat amb deteniment i, per tant, encara no s'han dilucidat totes les molècules que hi intervenen. D'aquesta manera, amb aquestes diferents aproximacions, es pretén tenir una visió global i completa de l'inici i la progressió del càncer d'ovari.

El primer estudi es basa en el descobriment de nous biomarcadors (figura 3) que permetin un diagnòstic precoç de la malaltia i que es puguin aplicar de manera rutinària i generalitzada. Actualment, l'única prova de detecció de càncer d'ovari disponible es basa en el marcador sèric CA-125, descobert a la dècada dels setanta (Osman, 2008; Clarke-Pearson, 2009). Aquest marcador, però, presenta limitacions importants (Li, 2009): una baixa especificitat, perquè els nivells sèrics d'aquest marcador també es troben incrementats en diverses condicions benignes (endometriosis, embaràs, etc.), altres patologies (hepatitis, peritonitis, etc.) i altres tipus de càncers (mama, pulmó, etc.) i una sensibilitat del 62 % quan es fan mesuraments puntuals del marcador i del 86 % quan se'n fan mesures periòdiques. A més a més, els nivells d'aquesta proteïna només es troben augmentats en un 50 % en les pacients en l'estadi I de la malaltia. Aquestes característiques fan que la determinació dels nivells sanguinis d'aquest marcador no es pugui utilitzar preventivament en la població general per a la detecció precoç del càncer d'ovari.

² <<http://www.uchospitals.edu/online-library/content=CDR62967>> (consulta: 7 maig 2012).

Amb la finalitat de trobar nous marcadors complementaris al CA-125, al laboratori hem dissenyat una estratègia basada en l'estudi dels exosomes. Els exosomes són vesícules membranoses, de 30-100 nm de diàmetre, segregades per un gran nombre de tipus cel·lulars, incloent-hi les cèl·lules tumorals (Ogawa, 2011). Aquestes vesícules presenten un contingut proteic similar al de la cèl·lula de la qual provenen. L'estudi dels exosomes ens permetrà conèixer el contingut genòmic i proteic tant de les cèl·lules sanes com de les tumorals i trobar nous biomarcadors que per altres metodologies no s'han pogut identificar (perquè queden emmascarats per altres proteïnes majoritàries o pel fet de ser molt minoritàries). D'aquesta manera, una vegada descobertes aquestes proteïnes, se'n podria determinar la presència en diferents fluids biològics (sang, orina, líquid ascític, etc.) mitjançant l'ús de tècniques alternatives (ELISA, transferència de proteïnes [*Western blot*], etc.), diferents a les utilitzades en la fase inicial d'identificació de marcadors.

L'impacte científic que podria tenir aquest projecte es podria diferenciar en dos nivells. En el nivell tècnic, actualment s'han aconseguit aïllar exosomes tant de cultius cel·lulars com de fluids biològics, però sempre se'n necessiten volums molt grans, com a mínim 30-40 mL (Théry, 2006) i 70 mL respectivament, inviàbles quan les mostres s'obtenen de pacients. Significaria haver aconseguit optimitzar les tècniques actuals d'extracció i quantificació d'exosomes a partir de volums petits de mostra, que permetria l'estudi de marcadors específics d'exosomes procedents de l'ovari sa i del tumoral. En el nivell biomèdic, la influència i la repercussió serien molt importants, ja que permetrien disposar de nous biomarcadors que, per si mateixos o en

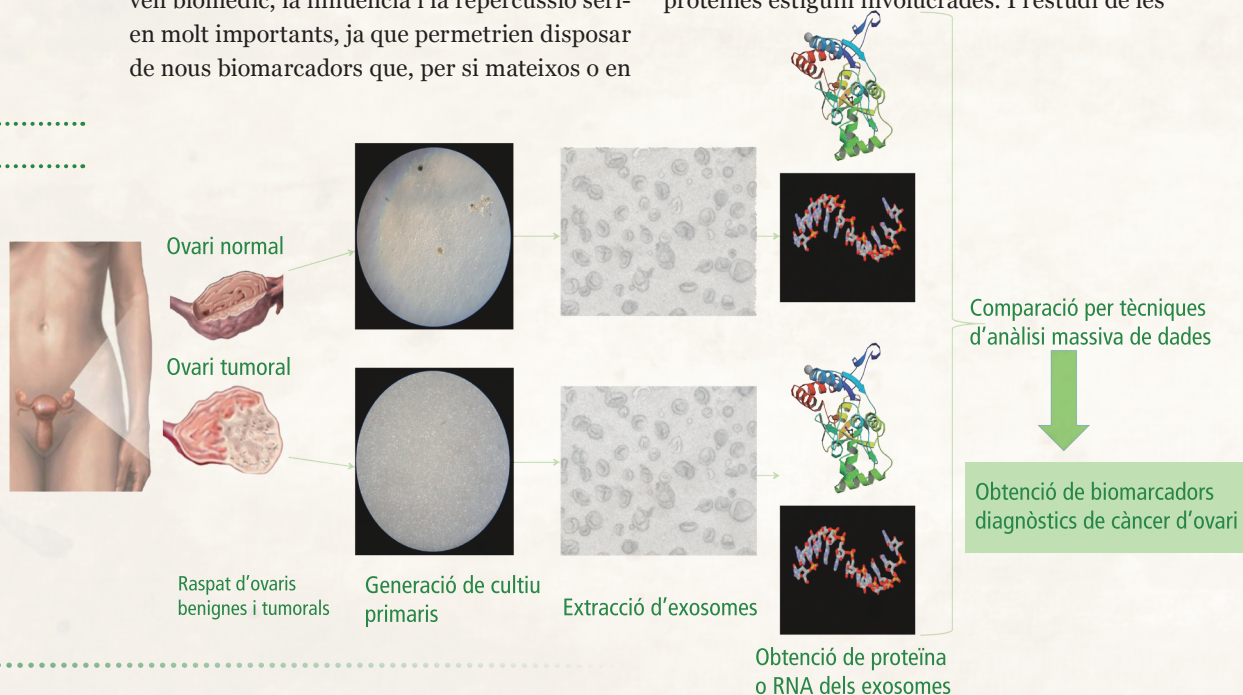
combinació amb el marcador de referència actual (CA-125), permetrien diagnosticar abans el càncer d'ovari i, d'aquesta manera, reduir-ne l'elevada mortalitat. Únicament amb això, sense millorar el tractament actualment establert, s'aconseguiria que la supervivència passés del 30 % actual al 60-80 % esperat (pel fet de poder-la diagnosticar preventivament en els estadis I i II, respectivament).

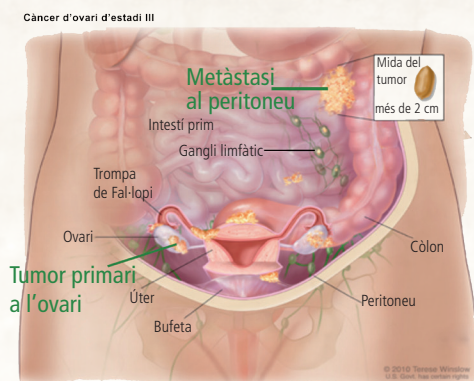
El segon estudi (figura 4) plantejat al laboratori fa referència al procés de metastasi del càncer d'ovari. Estudis previs realitzats pel nostre grup van donar com a resultat la identificació de cinc molècules sobreexpressades diferencialment en les metastasis peritoneals respecte als tumors primaris de cinc pacients amb càncer d'ovari avançat de tipus serós.

Aquests resultats, obtinguts prèviament mitjançant micromatrius de cDNA, es pretenen verificar mitjançant una altra tècnica en un nombre més elevat de mostres (RTqPCR o immunohistoquímica). Els candidats que passen positivament aquesta etapa (que mostrin un increment d'expressió estadísticament significatiu en la metastasi respecte al tumor primari), s'utilitzaran per fer una validació funcional i comprovar quina influència o paper tenen en el procés metastàtic.

Una vegada completat tot aquest procés de validació i caracterització dels marcadors tumorals identificats, les possibilitats futures són múltiples. L'estudi de noves vies que hagin estat descobertes arran de l'estudi d'aquestes cinc proteïnes o de vies en les quals aquestes proteïnes estiguin involucrades. I l'estudi de les

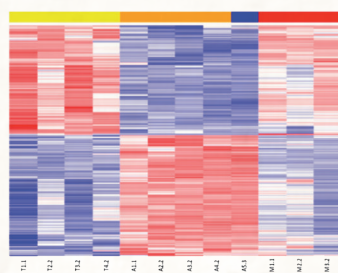
► Figura 3.





Comparació de l'expressió i gènica de les mostres de tumor i metàstasi de les pacients amb càncer d'ovari

◀ Figura 4.



Identificació de cinc possibles candidats a marcadors de progressió de la malaltia

Verificació dels candidats per altres tècniques de laboratori (RTqPCR, IHQ)

- Nous tractaments
- Biomarcadors
- Avenços en mecanismes moleculars

proteïnes amb les quals aquestes interaccionen i que, per tant, poden ser rellevants per entendre el mecanisme peculiar de metàstasi del càncer d'ovari. En el cas que alguna d'aquestes cinc proteïnes presenti una contribució important al procés o a l'establiment de les metàstasis, es podria pensar en el desenvolupament d'alguna aproximació terapèutica per a la prevenció o el tractament de l'avenç del càncer d'ovari.

L'impacte d'aquest projecte també presenta una doble vessant. D'una banda permetria, segons els resultats obtinguts i la importància de cadascuna d'aquestes proteïnes en el procés metastàtic, pensar en el desenvolupament de teràpies moleculars dirigides contra aquestes proteïnes, i prevenir, alentir i/o millorar el tractament de la metàstasi. L'impacte sobre la medicina i la societat seria molt important, ja que encara no

hi ha cap tractament efectiu per tractar el càncer quan aquest ja s'ha disseminat cap a diferents parts del cos. Això comportaria, depenent de l'efectivitat i l'aplicabilitat del tractament, una millora en el pronòstic dels estadis avançats de la malaltia, que actualment no tenen cap possibilitat de tractament efectiu ni de curació.

D'altra banda, la realització d'aquests estudis també serviria per avançar en el coneixement del procés metastàtic del càncer d'ovari, tan desconegut avui, i obrir noves vies de recerca que acabaran aportant més comprensió del procés de disseminació d'aquest càncer. Per tant, la realització d'aquests projectes tindrà un clar impacte en el camp mèdic i social, atès que versen sobre els punts febles d'un dels càncers amb una taxa de mortalitat més elevada i un origen força desconegut. |

Referències bibliogràfiques

AMADORI, D. [et al.] (1996). «Ovarian cancer: natural history and metastatic pattern». *Frontiers in Bioscience*, núm. 1, p. 56-59.

BURGER, R. A. [et al.] (2011). «Incorporation of bevacizumab in the primary treatment of ovarian cancer». *The New England Journal of Medicine*, núm. 365, p. 2473-2483.

CLARKE-PEARSON, D. L. (2009). «Screening for ovarian cancer». *The New England Journal of Medicine*, núm. 361, p. 170-177.

KURMAN, R. J.; SHIH, I. M. (2010). «The origin and pathogenesis of epithelial ovarian cancer a proposed unifying theory». *The American Journal of Surgical Pathology*, vol. 34, núm. 3, p. 433-443.

LI, J. [et al.] (2009). «Claudin-containing exosomes in the peripheral circulation of women with ovarian cancer». *BMC Cancer*, vol. 9, núm. 244.

OGAWA, Y. [et al.] (2011). «Proteomic analysis of two types of exosomes in human whole saliva». *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 34, núm. 1, p. 13-23.

OSMAN, N. [et al.] (2008). «Correlation of serum CA125 with stage, grade and survival of patients with epithelial cancer at a single centre». *The Irish Medical Journal*, vol. 101, núm. 8, p. 245-247.

«Ovarian cancer: breaking the silence». *The Lancet Oncology*, vol. 13 (2012), p. 111. [Editorial]

ROETT, M. A.; EVANS, P. (2009). «Ovarian cancer: an overview». *American Family Physician*, vol. 80, núm. 6, p. 609-616.

«SEER stat fact sheets: breast». A: *National Cancer Institut*. <<http://seer.cancer.gov/statfacts/html/breast.html>> [Consulta: 6 maig 2012]

«SEER stat fact sheets: ovary». A: *National Cancer Institut*. <<http://seer.cancer.gov/statfacts/html/ovary.html>> [Consulta: 6 maig 2012]

SIEGEL, R. [et al.] (2012). «Cancer statics, 2012». *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, núm. 62, p. 10-29.

SZYMENDERA, J. J. (1986). «Clinical usefulness of three monoclonal antibody-defined tumor markers: CA 19-9, CA 50, and CA 125». *Tumour Biology*, núm. 7, p. 333-342.

THÉRY, C. [et al.] (2006). «Isolation and characterization of exosomes from cell culture supernatants and biological fluids». *Current Protocols in Cell Biology*, cap. 3.22.1-3.22.29.

Dámaso Gallardo Torres

(Barcelona, 1989)



Llicenciat en biotecnologia per la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB). Actualment cursa el màster

de bioquímica, biologia molecular i biomedicina a la mateixa universitat i col·labora amb el grup de Jaume Reventós en diferents projectes en l'àmbit del càncer d'ovari.