

Ingrés d'Acadèmics corresponents

PREDICCIÓN DE LA RESPUESTA A QUIMIOTERAPIA EN CÁNCER DE OVARIOS

GONZALEZ BOSQUET, Jesús

Division of Gynecology and Oncology. Department of Obstetrics and Gynecology. University of Iowa. Hospitals & Clinics.

Introducción: El cáncer epitelial de ovario tiene mayor mortalidad que ninguna otra neoplasia ginecológica.¹ Una de las razones de esta mortalidad es que la mayoría de las pacientes son diagnosticadas en estadio avanzado de la enfermedad. Pero también puede ser debido a que una tercera parte de las pacientes no responden bien al tratamiento inicial y mueren a causa de la enfermedad poco tiempo después del diagnóstico.^{1,2} A pesar de numerosos esfuerzos para entender la biología del cáncer de ovario, todavía no se sabe con precisión por qué unas pacientes responden al tratamiento y otras no. Estudios publicados con este fin están limitados por el número de pacientes incluidos, o la mezcla de tipos histológicos y estadios, o por la falta de estudios independientes apropiados para validar los hallazgos.^{3,4} En otros cánceres, como el cáncer de mama, se han determinado marcadores y firmas moleculares que son capaces de predecir pacientes con riesgo a recidivas de la enfermedad⁵ o capaces de predecir pacientes que responderán mejor a la quimioterapia.^{6,7} En la actualidad no existe ningún tipo de marcador o test diagnóstico que pueda identificar estas pacientes que no responden al tratamiento inicial del cáncer seroso de ovario.⁸

Objetivos: Nuestro objetivo es crear un modelo estadístico que pueda predecir con cierta precisión quien responderá al tratamiento de este cáncer de ovario. Para alcanzar este objetivo diseñamos un estudio con los siguientes pasos: 1) analizar la asociación entre la respuesta a quimioterapia en el cáncer seroso de ovario y supervivencia de la enfermedad; 2) identificar variables, clínicas o moleculares, asociadas con la respuesta al tratamiento; 3) determinar si este grupo de variables asociadas con la respuesta al tratamiento son capaces de predecir esta respuesta.

Pacientes y Métodos: a) **Pacientes:** Con este propósito, bajamos toda la información clínica y molecular

del cáncer seroso de ovario contenida en *The Cancer Genome Atlas* (o TCGA).⁹ Definimos respuesta a quimioterapia a la no evidencia de enfermedad después de 6 meses de finalizado el tratamiento. Pacientes que no responden a la quimioterapia son aquellas en que: 1) a pesar del tratamiento la enfermedad permanece estable o progresa (o refractarias al tratamiento); 2) la enfermedad reaparece antes de 6 meses de haber finalizado el tratamiento (o resistentes al tratamiento). Las pacientes que no responden al tratamiento también han sido clasificadas como 'resistentes al platino'.¹⁰ Basados en esta clasificación en la TCGA habría 294 pacientes que respondieron a tratamiento y 158 que no respondieron.

b) **Métodos:** Para el análisis de supervivencia utilizamos el modelo de riesgo proporcional de Cox. Para identificar variables clínicas asociadas con la respuesta a la quimioterapia utilizamos modelos de regresión logística. Para la identificación de la asociación de variables biológicas con la respuesta al tratamiento utilizamos múltiples t-test, con correcciones para compensar por comparaciones múltiples. Para construir modelos de predicción de respuesta al tratamiento utilizamos el método *lasso* de regresión (*least absolute shrinkage and selection operator*), que impone una penalización a aquellas variables que no contribuyen al modelo.¹¹ La ventaja de este método con respecto a otros es que el *lasso* selecciona las variables más informativas para el proceso de selección a la vez que calcula los modelos más óptimos para estas variables. Para evaluar el rendimiento de los distintos modelos de predicción utilizamos el área bajo la curva (AUC) y su intervalo de confianza del 95%.

Resultados: En el análisis de supervivencia, la respuesta a la quimioterapia es el factor más significativo estadísticamente, con un valor p de 2×10^{-16} . Pacientes que no responden inicialmente a la quimioterapia tie-

nen un riesgo elevado (4 veces más) de morir debido a la enfermedad que las que responden. Pacientes que responden al tratamiento viven, como media, 2 años más que las que no responden. Estas diferencias se confirmaron en un estudio clínico realizado en la Universidad de Iowa, y es uno de los motivos principales por los que estamos interesados en esta respuesta al tratamiento en el cáncer seroso de ovario.

Para entender mejor cuales son los factores que afectan esta respuesta al tratamiento, realizamos estudios de asociación entre la respuesta a quimioterapia y variables clínicas y biológicas contenidas en la *TCGA*. En cuanto a las variables clínicas, el estadio de la enfermedad, definido por la FIGO (Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia), y tratamiento óptimo son las únicas variables significativas en el estudio multivariante. Pacientes con tratamiento óptimo son aquellas que han recibido citoreducción óptima (enfermedad residual de menos de 1 cm después de la cirugía inicial) y 6 ciclos de quimioterapia basada en el platino. Estos dos factores clínicos se tuvieron en cuenta a la hora de construir el modelo de predicción.

La asociación con variables biológicas se realizó utilizando todo el espectro de información biológica almacenada en el *TCGA*: expresión genética, expresión de micro ARN, metilación del ADN, alteración de copias genéticas y mutaciones somáticas. Cuando se integra toda la información biológica asociada con la respuesta al tratamiento se obtiene una firma genética más robusta que creemos pueden ser mejor validada en experimentos independientes. Así que, primero, identificamos las variables que eran diferentes entre las pacientes con o sin respuesta a tratamiento para cada una de estas dimensiones de información biológica: expresión genética, expresión de micro RNA, metilación del ADN, mutaciones somáticas, alteración de copia de genética. Seguidamente, correlacionamos estas variables con la base de datos de expresión genética para validar nuestros resultados en otras bases de datos públicas e independientes. Como resultado de estos análisis obtuvimos una firma genética de 422 genes con asociación a la respuesta a quimioterapia.

Completamos el estudio de esta firma genética realizando un análisis de *clústeres*. En concreto, utilizamos el análisis de *clústeres* de consenso. Parece ser que este tipo de análisis de *clústeres* permite una clasificación más funcional de estos grupos. El resultado de este análisis fue un modelo con 2 *clústeres*. Cada uno de

estos *clústeres* presentaba un perfil funcional distinto: uno de ellos con elementos de procesos inmunológicos y de señales intracelulares, y el otro con elementos del ciclo celular y reparación del ADN. Para validar la firma genética asociada con la respuesta a quimioterapia, repetimos este análisis de *clústeres* de consenso en 5 experimentos independientes de cáncer seroso de ovario. Estas 5 bases de datos fueron bajadas del *Gene Expression Omnibus* (o GEO) e incluían más de 1.200 pacientes con cáncer de ovario. En todos estos estudios, el modelo con 2 *clústeres* resultó ser el mejor. Estos resultados corroboran la solidez y consistencia de la asociación entre esta firma genética con 422 genes y la respuesta a quimioterapia.¹²

El último objetivo de nuestro estudio fue el crear un modelo de predicción de respuesta a quimioterapia con esta firma genética. Utilizamos un software especializado en construir modelos de predicción con experimentos de expresión genética, *CMA* (o *Classification of Microarrays*).¹³ Esta herramienta informática permite seleccionar variables con más influencia en el proceso de predicción a la vez que construye modelos con una diversidad de métodos estadísticos. Empleando este software, inicialmente realizamos análisis de predicción con 9 métodos diferentes y utilizando toda la firma genética incluyendo los 422 genes. El rendimiento de estos modelos de predicción, basados en el AUC, variaba entre el 53 y el 73%. Este rendimiento era superior a modelos construidos con variables clínicas asociadas con la respuesta al tratamiento (estadio FIGO y tratamiento óptimo, mencionados anteriormente), con un AUC del 58%. Posteriormente, y utilizando los mismos 9 métodos de predicción, utilizamos sólo las 34 variables genéticas más informativas, seleccionadas con el mismo software, *CMA*. El rendimiento de estos nuevos modelos de predicción con los 34 genes seleccionados fue superior al modelo completo con un incremento del AUC entre el 6 y el 10% para los diversos métodos.¹⁴ Las dos estrategias fueron validadas en bases de datos independientes con expresión genética.¹⁵⁻¹⁸

Conclusiones: La respuesta a la quimioterapia está significativamente asociada con supervivencia por el cáncer seroso de ovario. En nuestros análisis con datos de la *TCGA*, hemos identificando variables clínicas (estadio FIGO y tratamiento óptimo) y moleculares, en forma de firma genética, que están consistentemente asociados con esta respuesta a quimioterapia. Esta asociación se validó en varias bases de datos independientes. La firma asociada con la respuesta al tratamiento

puede ser utilizada para predecir qué pacientes responderán a este tratamiento. Un grupo de 34 genes incluidos en esta firma genética, y seleccionados por ser los más informativos en el proceso de predicción, demostró incluso mejor predicción de respuesta con una AUC cercana al 80%.

Perspectivas: En la actualidad estamos en el proceso de validar estos resultados en las pacientes con cáncer seroso de ovario en la Universidad de Iowa. Hasta el momento hemos recogido información clínica de cerca de 360 pacientes y hemos identificado 9 variables asociadas con la respuesta a quimioterapia. La introducción de estas variables clínicas en un análisis de predicción ha demostrado una AUC de 72%, mejorando la predicción de variables similares realizadas en el TCGA en más de 15 puntos. Seguimos en el proceso de determinar variables moleculares en nuestras pacientes: expresión genética, expresión de micro ARN, metilación de ADN, mutaciones genéticas y alteración de número de copia genética. Creemos que un mejor seguimiento de la enfermedad, mejor información clínica en estas pacientes, y mejor definición de respuesta al tratamiento resultarán en modelos de predicción superiores, con AUC cercanas al 85-90%. Esto puede facilitar la creación de un test diagnóstico que determine qué pacientes responderán a la quimioterapia del cáncer de ovario, incluso antes de empezar el tratamiento.

BIBLIOGRAFÍA

1. American Cancer Society. Cancer Facts & Figures 2016. Atlanta: American Cancer Society; 2016.
2. Friedlander ML, Stockler MR, Butow P, King MT, McAlpine J, Tinker A, et al. Clinical trials of palliative chemotherapy in platinum-resistant or -refractory ovarian cancer: time to think differently? *J Clin Oncol* 2013;31:2362.
3. Zheng Y, Katsaros D, Shan SJ, de la Longrais IR, Porpiglia M, Scorilas A, et al. A multiparametric panel for ovarian cancer diagnosis, prognosis, and response to chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2007;13:6984-92.
4. Oikonomopoulou K, Li L, Zheng Y, Simon I, Wolfert RL, Valik D, et al. Prediction of ovarian cancer prognosis and response to chemotherapy by a serum-based multiparametric biomarker panel. *Br J Cancer* 2008;99:1103-13.
5. Paik S, Shak S, Tang G, Kim C, Baker J, Cronin M, et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N Engl J Med* 2004;351:2817-26.
6. Wan YW, Qian Y, Rathnagiriswaran S, Castranova V, Guo NL. A breast cancer prognostic signature predicts clinical outcomes in multiple tumor types. *Oncol Rep* 2010;24:489-94.
7. Rathnagiriswaran S, Wan YW, Abraham J, Castranova V, Qian Y, Guo NL. A population-based gene signature is predictive of breast cancer survival and chemoresponse. *Int J Oncol* 2010;36:607-16.
8. Lloyd KL, Cree IA, Savage RS. Prediction of resistance to chemotherapy in ovarian cancer: a systematic review. *BMC Cancer* 2015;15:117.
9. Cancer Genome Atlas Research N. Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature* 2011;474:609-15.
10. Cannistra SA. Cancer of the ovary. *N Engl J Med* 2004;351:2519-29.
11. Friedman J, Hastie T, Tibshirani R. Regularization Paths for Generalized Linear Models via Coordinate Descent. *J Stat Softw* 2010;33:1-22.
12. Gonzalez Bosquet J, Marchion DC, Chon H, Lancaster JM, Chanock S. Analysis of chemotherapeutic response in ovarian cancers using publically available high-throughput data. *Cancer Res* 2014.
13. Slawski M, Daumer M, Boulesteix AL. CMA: a comprehensive Bioconductor package for supervised classification with high dimensional data. *BMC Bioinformatics* 2008;9:439.
14. Gonzalez Bosquet J, Newton AM, Chung RK, Thiel KW, Ginader T, Goodheart MJ, et al. Prediction of chemo-response in serous ovarian cancer. *Mol Cancer* 2016:[Accepted for publication; See Appendix].
15. Ferriss JS, Kim Y, Duska L, Birrer M, Levine DA, Moskaluk C, et al. Multi-gene expression predictors of single drug responses to adjuvant chemotherapy in ovarian carcinoma: predicting platinum resistance. *PLoS One* 2012;7:e30550.
16. Tothill RW, Tinker AV, George J, Brown R, Fox SB, Lade S, et al. Novel molecular subtypes of serous and endometrioid ovarian cancer linked to clinical outcome. *Clin Cancer Res* 2008;14:5198-208.
17. Marchion DC, Cottrill HM, Xiong Y, Chen N, Bicaku E, Fulp WJ, et al. BAD phosphorylation determines ovarian cancer chemosensitivity and patient survival. *Clin Cancer Res* 2011;17:6356-66.
18. Bild AH, Yao G, Chang JT, Wang Q, Potti A, Chasse D, et al. Oncogenic pathway signatures in human cancers as a guide to targeted therapies. *Nature* 2006;439:353-7.