

Cinética del biomarcador tumoral HE4 como predictor de respuesta a quimioterapia neoadyuvante, en pacientes con cáncer epitelial de ovario avanzado

ALEGRÍA-BAÑOS JORGE ADAN, PRADA-ORTEGA DIDDIER GIOVANNI

Resumen— El cáncer de ovario es una neoplasia con mal pronóstico, que se diagnostica tardíamente, constituyendo el cáncer ginecológico más letal en el mundo. Más del 65% de las pacientes se diagnostican en etapas avanzadas, requiriendo quimioterapia neoadyuvante basada en platinos como estándar de tratamiento. El biomarcador HE4 no ha sido evaluado como herramienta predictiva de respuesta tomográfica para el tratamiento con quimioterapia neoadyuvante. **OBJETIVO:** Evaluar la cinética de los biomarcadores CA-125 y HE4, describiendo su valor predictivo para respuesta tomográfica a quimioterapia neoadyuvante basada en fármacos platinados, en pacientes con cáncer epitelial de ovario avanzado. **METODOLOGÍA:** Se realizó un estudio observacional, prospectivo, longitudinal, analítico, que incluyó a mujeres atendidas en el Instituto Nacional de Cancerología (julio de 2017 a julio de 2018), con diagnóstico de cáncer epitelial de ovario avanzado (etapas clínicas III y IV), tratadas con quimioterapia neoadyuvante basada en platinos. Se obtuvieron muestras séricas para cuantificación de CA-125 y HE4 al inicio de la quimioterapia (basal) y en cada uno de los tres ciclos de tratamiento neoadyuvante, realizando posteriormente una evaluación de la respuesta terapéutica mediante el estándar tomográfico. Se evaluó la asociación entre la cinética de los biomarcadores (variable independiente) y la respuesta tomográfica (variable dependiente). El análisis estadístico se realizó con el programa R Studio. Se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0.05$. **RESULTADOS:** Se incluyeron 53 pacientes, con un rango de edad de 38 a 79 años, media de 57.8 años y desviación estándar (D.E.) de ± 10.3 años. De ellas, 24 (43.4%) presentaban sobrepeso y 18 (34.0%) hipertensión arterial. Los síntomas principales al momento del diagnóstico fueron aumento del perímetro abdominal en 40 pacientes (75.5%) y dolor abdominal difuso en 35 (66.6%). El subtipo histopatológico más frecuente fue seroso papilar con 49 casos (92.4%); la mayoría (52.8%) se encontraba en etapa clínica IVB al diagnóstico. Se observó la presencia de mayores niveles séricos de HE4 en aquellas pacientes sin respuesta tomográfica (6.89 pmol/mL vs 5.19 pmol/mL; $p = 0.031$), particularmente durante

el segundo ($p = 0.039$) y tercer ciclo de quimioterapia ($p = 0.031$). El análisis multivariable, ajustado por edad, ECOG basal, tabaquismo y etapa clínica FIGO, demostró una asociación estadísticamente significativa entre los niveles de HE4 y la respuesta tomográfica, desde el segundo ciclo de tratamiento ($p = 0.042$), manteniéndose hasta el tercer ciclo ($p = 0.033$). También se observó una asociación estadísticamente significativa entre la reducción en los niveles de HE4 basales y los observados durante el primer ciclo de quimioterapia con la respuesta tomográfica. **CONCLUSIONES:** Los niveles de HE4, especialmente durante el segundo y tercer ciclo, están asociados de forma independiente con la respuesta tomográfica en pacientes con cáncer epitelial de ovario avanzado tratadas con quimioterapia neoadyuvante. Una mayor reducción entre los niveles basales de HE4 y los del primer ciclo de quimioterapia también se asoció, de forma independiente, con la respuesta tomográfica, lo cual resulta relevante para predecir al grupo de pacientes que no tendrán respuesta al tratamiento.

I. INTRODUCCIÓN.

El cáncer de ovario es la segunda neoplasia ginecológica más frecuente, solo detrás del cáncer de endometrio, y constituye la neoplasia ginecológica más letal, siendo la cuarta causa de muerte por cáncer en mujeres, tras los tumores malignos de pulmón, mama y colon. Existen tres tipos de cáncer ovárico: epiteliales, germinales y del estroma. El 80-90% de los cánceres de ovario son de tipo epitelial, afectando principalmente a mujeres postmenopáusicas, con media de edad de 63 años al diagnóstico [1].

El cáncer epitelial de ovario es una neoplasia con mal pronóstico debido al retraso en el diagnóstico. La enfermedad pasa inadvertida clínicamente hasta alcanzar etapas avanzadas, correspondiente a los estadios III y IV de Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia (FIGO), en los que se diagnostican hasta el 65-70% de los casos [1], impactando en la supervivencia global (Tabla 1).

II. CONCEPTOS BÁSICOS.

Tratamiento del cáncer epitelial de ovario. El tratamiento actual del cáncer epitelial de ovario avanzado comprende la realización de cirugía de citorreducción primaria seguida de quimioterapia (adyuvancia) con un esquema basado en la combinación de platino y taxano, o bien, la administración inicial de quimioterapia (neoadyuvancia) basada en platino y

ALEGRÍA-BAÑOS JORGE ADAN pertenece a la MAESTRÍA EN FARMACOLOGÍA CLÍNICA de la FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS de la UNIVERSIDAD LA SALLE, y concluyó el proyecto dentro del curso FARMACOEPIDEMIOLOGÍA (email: jorge_vikes@hotmail.com).

El proyecto fue asesorado por el DR. DIDDIER GIOVANNI PRADA ORTEGA y por la DRA. ARELY VERGARA CASTAÑEDA.

Los autores agradecen al Instituto Nacional de Cancerología y a los pacientes, motor de todos los esfuerzos, para la realización del proyecto de investigación.

taxano seguida de cirugía de intervalo y quimioterapia complementaria (Figura 1).

Tabla 1. Frecuencia y mortalidad del cáncer epitelial de ovario.

Estadio clínico (FIGO)	Frecuencia relativa	Supervivencia global a 5 años
I	20 %	IA 88%
		IB 84%
		IC 82%
II	15 %	IIA 69%
		IIB 70%
		IIC 64%
III	50 %	IIIA 52%
		IIIB 45%
		IIIC 32%
IV	15 %	17%

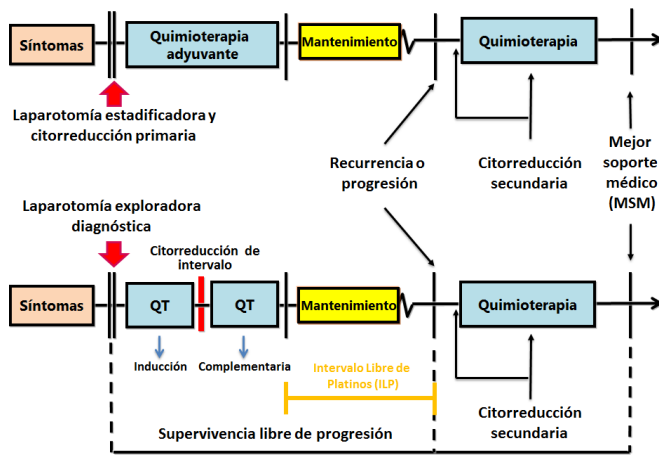


Figura 1. Algoritmo de manejo del cáncer epitelial de ovario avanzado. Basado en las guías de Práctica Clínica en Oncología de la National Comprehensive Cancer Network (NCCN), versión 1.2019 (disponible en www.nccn.org).

Las pacientes con una citorreducción óptima, definida como ausencia de enfermedad residual macroscópica visible, presentan una mejor supervivencia global. La modalidad de tratamiento con quimioterapia neoadyuvante se prefiere para el grupo de pacientes con baja probabilidad de citorreducción óptima [2-5].

Respuesta terapéutica y recaída. Aunque el porcentaje de respuesta terapéutica favorable con las modalidades de tratamiento que incluyen cirugía y quimioterapia es superior al 80%, con respuestas completas en el 40-60%, la mayoría de las pacientes (70-80%) recaerán, de las cuales 20-35% recurrirán en los primeros 6 meses, 30-35% de los 6 a 12 meses y 30% después del primer año de concluir el tratamiento [6].

Los factores pronósticos para el cáncer epitelial de ovario avanzado incluyen el tumor residual después de la cirugía, el tipo y grado histológico, el estado funcional y la edad [7].

Evaluación tomográfica de la respuesta. La evaluación tomográfica sigue las pautas de los Criterios de Evaluación de Respuesta en Tumores Sólidos, versión 1.1 utilizada para la

evaluación estándar de las neoplasias malignas solidas (Tabla 2).

Tabla 2. Criterios de Evaluación de Respuesta en Tumores Sólidos, versión 1.1. [4,5]

Evaluación de las lesiones diana	
Respuesta completa	Desaparición de todas las lesiones diana. Adenopatías de menos de 10 mm en el eje corto.
Respuesta parcial	Reducción $\geq 30\%$ de la suma de los diámetros mayores de las lesiones diana, con respecto a la obtenida en el estudio basal.
Enfermedad estable	Reducción menor al 30% respecto a la basal, o aumento menor al 20%, respecto al referente con menor suma, incluyendo el basal y el seguimiento. No cumple criterios de las otras tres categorías.
Progresión de la enfermedad	Aumento $\geq 20\%$ de la suma de los diámetros mayores de las lesiones diana, tomando como referencia a la menor suma obtenida durante el seguimiento, incluido el estudio basal si esa es la menor suma. La suma de los diámetros debe haber aumentado al menos 5 mm. Aparición de una o más lesiones nuevas.

Biomarcadores tumorales. Un marcador tumoral, también denominado marcador biológico o biomarcador, se define como una molécula o sustancia que se modifica cualitativa o cuantitativamente como resultado de una condición neoplásica maligna, siendo detectable en fluidos orgánicos o en tejidos [8]. Los marcadores tumorales pueden tener valor predictivo y/o pronóstico. Un marcador tumoral predictivo es aquel que estima la respuesta a un tratamiento específico, siendo muy útiles al seleccionar un tratamiento, en tanto que un marcador tumoral pronóstico es aquel, que estima la progresión o la recaída de la enfermedad, independientemente del resultado del tratamiento [9]. Esta clasificación no es excluyente, pues los marcadores tumorales pueden tener valor pronóstico y predictivo.

Antígeno Carbohidrato 125 (CA-125). El marcador tumoral CA-125 es una glucoproteína de alto peso molecular (>200 kD), expresada en la superficie celular del epitelio celómico durante el desarrollo embrionario. Se pueden detectar niveles séricos elevados en circunstancias fisiológicas como el embarazo y la fase menstrual del ciclo endometrial; en enfermedades ginecológicas benignas como la enfermedad pélvica inflamatoria y la endometriosis; en enfermedades benignas no ginecológicas como la falla renal o la insuficiencia hepática y en diversas entidades malignas como los cánceres de ovario, endometrio, mama y colon [10]. Con un nivel sérico de corte de 35 U/mL, CA-125 muestra valores elevados en un 75% a 90% de las pacientes con cáncer de ovario y tiene un papel claramente reconocido en el diagnóstico, seguimiento de la respuesta al tratamiento y detección de la recidiva [11-13].

Las principales debilidades de CA-125 en cáncer de ovario se deben a su inespecificidad. lo que confiere al biomarcador una sensibilidad del 71 al 78% y una especificidad del 75 al 94% para el diagnóstico de cáncer ovárico [12, 13].

Algunos estudios han analizado el valor predictivo de CA 125, con base en el nivel alcanzado al final de la quimioterapia neoadyuvante, en pacientes con cáncer epitelial de ovario, arrojando diversos puntos de corte [14-17]. Tate y cols. [11] identificaron mediante un modelo matemático, la asociación entre el patrón de disminución de CA 125 y la supervivencia global, encontrando significancia estadística ($p=0.012$). Este tipo de modelo matemático es complejo y difícil de aplicar en la práctica clínica cotidiana. Makar y cols. [18], documentaron que la disminución de CA-125 a menos de 65 UI/ml o una reducción mayor al 50% con respecto al nivel basal (antes de la quimioterapia neoadyuvante) es un factor pronóstico independiente para la supervivencia.

Proteína Epididimal Humana 4 (HE4). La Proteína Epididimal Humana 4 (HE4) es un péptido de 13 kD (20-25 kD en su forma glucosilada madura), que pertenece a la familia de proteínas ácidas séricas con núcleo de 4 enlaces disulfuro (WFDC), grupo con posibles propiedades inhibitoras de la tripsina [19-22]. Se describió por primera vez en el epitelio del epidídimo distal y su función biológica aún no se define claramente. Se le ha propuesto como inhibidor de proteinasa con utilidad en el sistema inmunológico pulmonar y en el proceso de maduración espermática. Se expresa en bajas concentraciones en diversos tejidos normales, incluyendo el epitelio respiratorio y reproductivo. Se sobreexpresa en la mayoría de subtipos de cáncer epitelial de ovario [23,24] y en algunos adenocarcinomas como los de pulmón, endometrio y mama.

La frecuencia de sobreexpresión génica de HE4, descrita en carcinoma de ovario [25,26], se muestran en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Frecuencia de sobreexpresión génica de HE4 en cáncer epitelial de ovario.

Subtipo histológico	Frecuencia de presentación	Frecuencia de sobreexpresión de HE4
Seroso	69-71%	93-100%
Endometriode	9-11 %	50 %
Células claras	12-13 %	0 %
Mucinoso	3 %	-
Transicionales	1 %	-

Sobre su papel en la carcinogénesis, se le ha involucrado en la regulación del ciclo celular y la proliferación de células tumorales, observando que el silenciamiento del gen HE4 provoca arresto del ciclo celular en la fase G0/G1 y bloqueo de la progresión de la fase G1 a la fase de síntesis o fase S [27,28]. La relación de esta regulación con la quimiorresistencia no se ha explorado detalladamente. Con un nivel sérico de corte de 70 pmol/L, HE4 se encuentra sobreexpresada en carcinomas ováricos, con una mayor especificidad, alcanzando un 95% [29,30]. También se puede detectar en orina con un nivel de especificidad del 94.4% [31].

Estrategias para la evaluación de biomarcadores. Diversos estudios han explorado la utilidad de los biomarcadores tumorales como un factor pronóstico capaz de predecir la eficacia terapéutica y el riesgo de recaída o

progresión, antes de ser demostradas por métodos de imagen [32-34]. Se han informado varias metodologías destinadas a evaluar la cinética del marcador durante el tratamiento. Almufti y cols. [35], clasificaron las estrategias y enfoques para evaluar la utilidad pronóstica y predictiva de los biomarcadores tumorales, con base en el número de cuantificaciones realizadas, pudiendo ser estudios con una sola medición, o bien, ensayos con dos o más cuantificaciones en el tiempo, estos últimos son los denominados estudios de cinética (**Figura 2**).

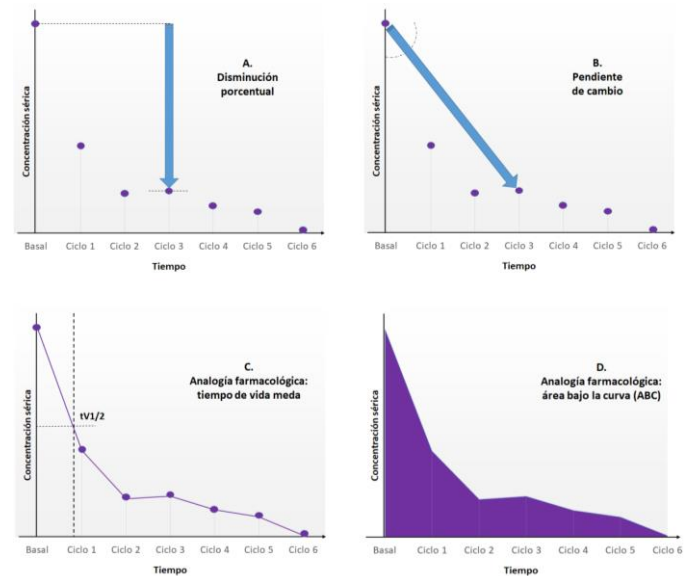


Figura 2. Estrategias de análisis en estudios de cinética de biomarcadores tumorales.

Cada uno de los dos enfoques presenta diversas alternativas para realizar análisis de los datos:

Estudios de una sola medición.

- Concentración basal (medición pretratamiento)
- Normalización en un periodo determinado de tiempo
- Nadir en un periodo determinado de tiempo o eventos
- Corte preestablecido en el tiempo (sin ser necesariamente un valor normal)

Estudios con dos o más mediciones (estudios de cinética).

- Cambio porcentual
- Pendiente de cambio
- Tiempo hasta el evento: al nadir o a la normalización
- Analogía farmacocinética: tiempo de vida media y área bajo la curva
- Modelaje matemático: modelos empíricos y modelos mecanísticos.

III. OBJETIVO

Determinar la cinética de los biomarcadores CA 125 y HE4 y su asociación con la respuesta tomográfica a platinos, en pacientes tratadas con quimioterapia neoadyuvante por cáncer epitelial de ovario avanzadas atendidas en el INCan de julio de 2017 a julio de 2018.

IV. METODOLOGÍA

Se realizó un estudio observacional, prospectivo, longitudinal, analítico, que incluyó a mujeres atendidas en el Instituto Nacional de Cancerología (julio de 2017 a julio de 2018), con edad ≥ 18 años y diagnóstico de cáncer epitelial de ovario avanzado, con enfermedad avanzada, en etapas clínicas III y IV de la clasificación de la FIGO, tratadas con quimioterapia neoadyuvante basada en platinos. Se excluyó del estudio a las pacientes con diagnóstico de doble tumor primario, histología mucinosa y aquellas con tratamiento oncológico previo (quirúrgico o sistémico).

La estimación del tamaño muestral consideró que la quimioterapia neoadyuvante con carboplatino y paclitaxel en pacientes con cáncer epitelial de ovario, tiene reportada un porcentaje de respuesta tomográfica favorable del 60% [8,9]. Estableciendo un alfa de 0.05 con un nivel de confianza del 95% y una épsilon (precisión relativa expresada como porcentaje del valor real esperado para el riesgo) de 0.35. Considerando:

$$n = Z_{1-\alpha/2}^2 \left[\frac{(1-p_1) + (1-p_2)}{\left[\frac{p_1}{\ln(1-\varepsilon)} \right]^2} \right]$$

Donde el valor $Z_{1-\alpha/2}$ se obtiene de la distribución normal estándar en función de la seguridad (1-alfa) elegida para el estudio. En particular, para una seguridad de un 95%, se tiene que $Z_{1-\alpha/2=1.96} = 1.96$. Con un excedente del 15%, debido a los 12 meses de reclutamiento, se calculó un tamaño muestral de 52 pacientes.

Alfa	0.05	0.05	0.05	0.05
Alfa/2	0.025	0.025	0.025	0.025
Confianza	0.975	0.975	0.975	0.975
Z _{1-α/2}	1.95996398	1.95996398	1.95996398	1.95996398
P1	0.6	0.6	0.6	0.6
P2	0.4	0.4	0.4	0.4
RR	1.5	1.5	1.5	1.5
Epsilon	0.5	0.45	0.4	0.35
n_válida	18	24	32	45
Excedente	15%	15%	15%	15%
n_total	21	28	37	52

Se obtuvieron muestras séricas para cuantificación de HE4 al inicio de la quimioterapia (basal) y en cada uno de los tres ciclos de tratamiento neoadyuvante, realizando posteriormente una evaluación de la respuesta terapéutica mediante el estándar tomográfico. Se evaluó la asociación entre la cinética de los biomarcadores (variable independiente) y la respuesta tomográfica (variable dependiente), agrupando a esta última en dos categorías: “con respuesta favorable”, que incluyó respuesta completa o parcial, y “sin respuesta favorable”, que incluyó enfermedad estable y progresión de la enfermedad.

La cuantificación HE4 y CA-125 se llevó a cabo utilizando el ensayo ARCHITECT HE4®, mediante un método de inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (CMIA) para la determinación cuantitativa (Figura 3).

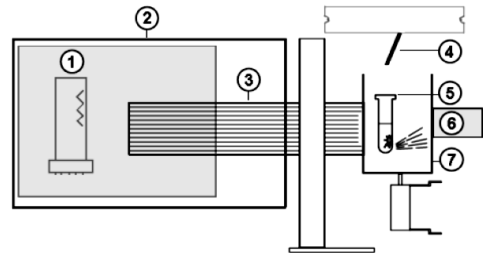


Figura 3. Sistema óptico utilizado en ARCHITECT HE4® para el inmunoensayo. 1. Tubo fotomultiplicador (PMT), 2. Lector de CMIA 3. Haz de luz, 4. Boquilla de entrega de la solución, 5. Recipiente de reacción 6. Imán 7. Montaje del obturador. Tomado de: ARCHITECT® System Operations Manual.

V. CONSIDERACIÓN BIOÉTICA

El estudio fue llevado a cabo siguiendo los lineamientos de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, la Declaración de Helsinki y siguiendo las Buenas Prácticas Clínicas. Se aprobó por el Comité de Ética en Investigación y por el Comité de Investigación (número de aprobación 015/037/ICI) del Instituto Nacional de Cancerología. Previo a su inclusión, a cada paciente se le informó sobre el protocolo y se le solicitó su participación voluntaria mediante explicación verbal y firma de la Carta de Consentimiento Informado.

VI. RESULTADOS

Se evaluaron 198 pacientes con cáncer de ovario durante el periodo del estudio, 116 de ellas (58.9%) con histología epitelial y enfermedad en etapa avanzada, de las cuales, 53 pacientes (26.9%) cumplieron con los criterios de participación en el estudio, siendo la intervención quirúrgica fuera del instituto (15.6%) y la citorreducción primaria (11.6%) las causas más frecuentes de exclusión (Figura 4).

Para las 53 pacientes incluidas, se documentó un rango de edad de 38 a 79 años, con media de 57.8 años (Desviación estándar [D.E.] de 10.3 años). De esta muestra, 24 (43.4%) pacientes presentaban sobrepeso y 18 (34.0%) hipertensión arterial. Los síntomas principales al momento del diagnóstico fueron aumento del perímetro abdominal en 40 pacientes (75.5%) y dolor abdominal difuso en 35 (66.6%). El subtipo histopatológico más frecuente fue el seroso papilar con 49 casos (92.4%), la mayoría (52.8%) se encontraba en la etapa clínica IVB al momento del diagnóstico (Tabla 4).

Se agrupó la variable “respuesta tomográfica” en dos categorías (Tabla 5): “con respuesta”, que incluyó respuesta completa o parcial, con 32 pacientes (60.4%), y “sin respuesta”, que incluyó enfermedad estable y progresión de la enfermedad, con 21 pacientes (39.6%).

Los niveles de ambos biomarcadores en diferentes momentos del tratamiento, se muestran en la Figura 5 y en la Tabla 6.

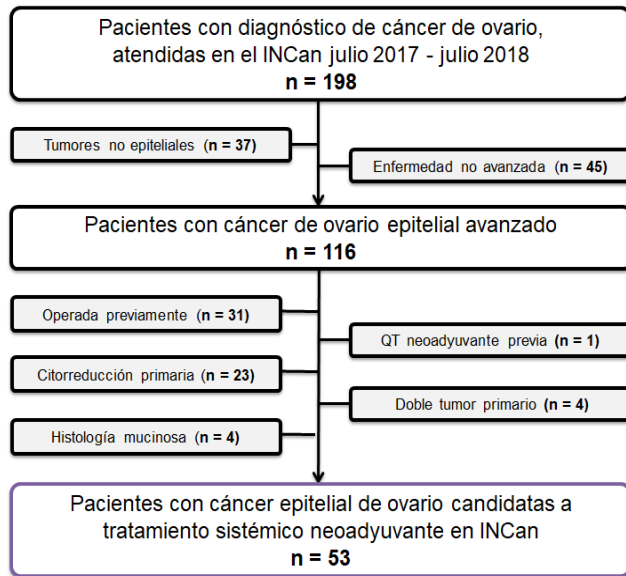


Figura 4. Diagrama de flujo del reclutamiento.

Tabla 4. Características socio-demográficas y clínicas de pacientes con cáncer epitelial de ovario atendidas en el INCan y tratadas con quimioterapia basada en platino, de julio de 2017 a julio de 2018.

Variable	Categoría	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Escolaridad	Bachillerato	15	28.3
	Nula	13	24.5
	Primaria	11	20.8
	Secundaria	11	20.8
	Licenciatura	1	1.9
Residencia	Posgrado	2	3.8
	Ciudad de México	23	32.9
	Edo. México	15	21.4
	Hidalgo	5	7.1
IMC (OMS)	Tlaxcala	4	5.7
	Otros	6	11.3
	Sobrepeso	23	43.4
Anticonceptivos hormonales	Normal	19	35.9
	Obesidad	11	20.7
	Uso por más de un año	31	58.4
Comorbilidades	Diabetes mellitus	8	15.1
	Hipertensión arterial	18	34.0
	Cardiopatía isquémica	2	3.8
Funcional (ECOG)	0-1	48	90.6
	≥ 2	5	9.4
Clínica	Dolor abdominal	35	66.0
	Estreñimiento	2	3.8
	Ascitis	40	75.5
	Pérdida ponderal	16	30.2
Subtipo histológico	Seroso papilar	49	92.4
	Endometrioides	3	5.7
	Células claras	1	1.9
Etapa clínica (FIGO)	IVB	28	52.8
	IVA	16	30.2
	IIIC	7	13.2
	IIIB	1	1.9
	IIIA	1	1.9
Tamaño tumoral	Media (mm)	Rango (mm)	D.E. (±)
	70.4	15.5-140	13.7

Tabla 5. Respuesta tomográfica tras recibir quimioterapia neoadyuvante (RECIST 1.1) (n = 53).

Respuesta tomográfica	n	Porcentaje (%)
Respuesta completa	1	1.9
Respuesta parcial	31	58.5
Enfermedad estable	20	37.7
Progresión de la enfermedad	1	1.9

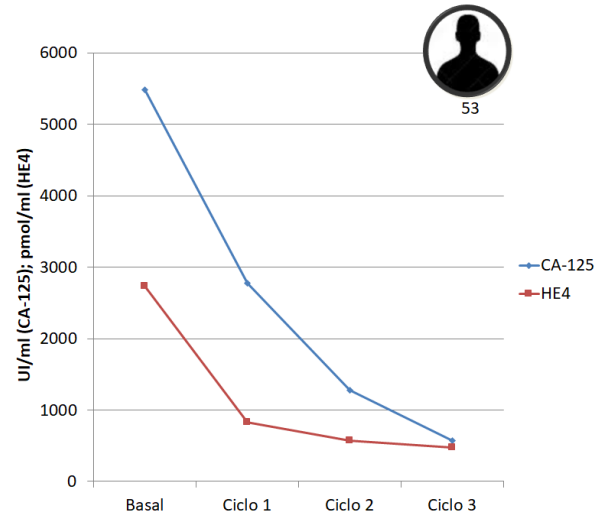


Figura 5. Niveles de CA-125 y HE4 durante el estudio

Tabla 6. Niveles séricos de CA-125 y HE4 cuantificados antes y durante el tratamiento (n = 53)

Momento de la cuantificación	CA-125 (UI/ml)		HE4 (pmol/ml)	
	Media (D.E.)	Rango	Media (D.E.)	Rango
Basal	5367.2 (7044.2)	28.2 – 36262.4	2150.9 (3827.4)	61.5 – 25596.3
Primer ciclo	2647.3 (2953.9)	33.1 – 13887.0	853.5 (1725.2)	53.0 – 11764.0
Segundo ciclo	1072.0 (1493.7)	7.7 – 6981.2	525.1 (1475.9)	36.9 – 10782.7
Tercer ciclo	597.8 (3827.4)	6.0 – 5703.0	408.6 (1395.0)	33.0 – 10216.0

Para estudiar los valores de los dos biomarcadores, se analizó la normalidad con histograma, Shapiro-Wilk y Kolmogorov-Smirnov, observando la no normalidad de los datos, y se realizó una transformación logarítmica de los valores para su análisis (**Apéndice, sección A**).

VARIABLES como el índice de masa corporal, las comorbilidades (diabetes e hipertensión arterial), el tabaquismo, el estado funcional (ECOG) y la etapa clínica (FIGO) no mostraron una distribución diferencial entre aquellos pacientes que respondieron vs. aquellos que no lo hicieron.

La única variable que mostró diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos, fue el subtipo histológico, donde se observó una mayor frecuencia de seroso papilar en el grupo con respuesta (60.3% vs 37.7%) en el grupo sin respuesta tomográfica, así como ausencia de subtipos endometriode y células claras en el grupo con respuesta (Tabla 7).

Tabla 7. Características clínico-patológicas de la muestra de acuerdo a la respuesta tomográfica (n = 53).

Variable	Categoría	Con respuesta n (%)	Sin respuesta n (%)	p
IMC (OMS)	Sobrepeso	12 (37.5)	11 (52.4)	0.934
	Normal	13 (40.6)	6 (28.6)	
	Obesidad	7 (21.9)	4 (19.0)	
Diabetes mellitus	Si	4 (12.5)	2 (9.5)	1.000
	No	28 (87.5)	19 (90.5)	
Hipertensión arterial sistémica	Si	10 (31.2)	7 (33.3)	1.000
	No	22 (68.8)	14 (66.7)	
Tabaquismo	Si	6 (18.7)	2 (9.5)	0.335
	No	26 (81.3)	19 (90.5)	
ECOG	0-1	29 (90.6)	20 (95.2)	0.065
	≥ 2	3 (9.4)	1 (4.8)	
Subtipo histológico	Seroso papilar	32 (100)	17 (81.0)	0.037
	Endometriode	0 (0.0)	3 (14.2)	
	Células claras	0 (0.0)	1 (4.8)	
Etapa clínica (FIGO)	IVB	18 (56.3)	10 (47.6)	0.914
	IVA	7 (21.9)	9 (42.9)	
	IIIC	5 (15.6)	2 (9.5)	
	IIIB	1 (3.1)	0 (0.0)	
	IIIA	1 (3.1)	0 (0.0)	

Se observó que los pacientes sin respuesta tomográfica presentaron un mayor nivel de HE4 [media de 6.19 (IC 95%, 4.92-6.84) pmol/mL] en comparación con el grupo que presentó respuesta tomográfica [media de 5.89 (IC 95%, 5.65-6.78) pmol/mL], con diferencia estadísticamente significativa (p=0.031), observación que se mantiene independientemente del ciclo en dónde se tomó la muestra (Figura 6).

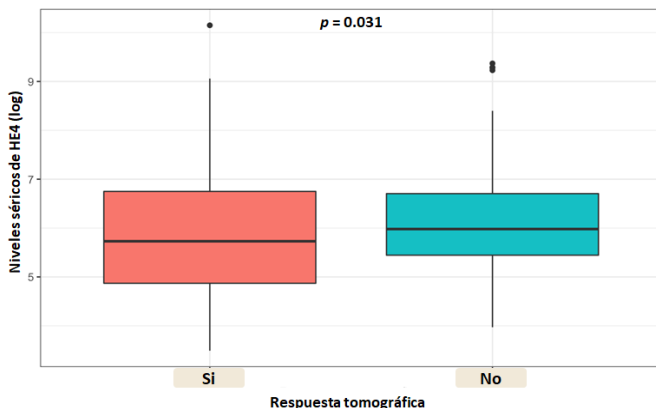


Figura 6. Niveles de HE4 de acuerdo a la respuesta tomográfica. Los puntos hacen referencias a observaciones atípicas (outliers).

Al analizar la asociación entre los niveles séricos de HE4 basal y la respuesta tomográfica, se encontró una concentración mayor en el grupo de pacientes con respuesta tomográfica [7.13 (IC 95%, 6.95-7.31) pmol/mL vs 6.84 (IC 95%, 6.64-7.04) pmol/mL] sin identificar una diferencia estadísticamente significativa (Tabla 8). En cada uno de los ciclos de tratamiento, los valores de HE4 fueron menores en el grupo con respuesta tomográfica con diferencia estadísticamente significativa para el segundo [5.32 (IC 95%, 5.17-5.47) pmol/mL versus 5.93 (IC 95%, 5.74-6.12) pmol/mL; p = 0.039] y tercer ciclo [4.91 (IC 95%, 4.79-5.03) pmol/mL versus 5.56 (IC 95%, 5.44-5.68) pmol/mL; p = 0.031] de tratamiento (Figura 7).

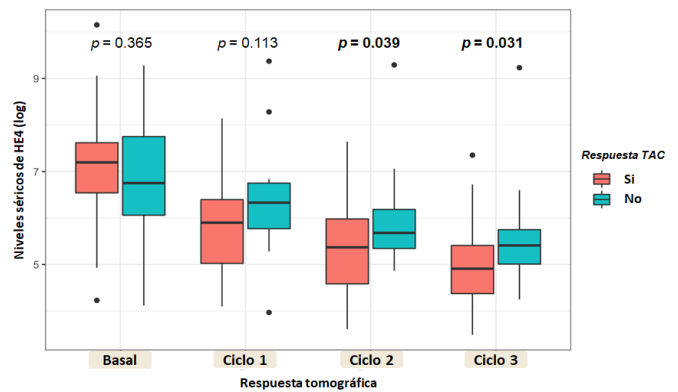


Figura 7. Niveles de HE4 de acuerdo a la respuesta tomográfica y al ciclo de tratamiento (n= 53). Se resaltan aquellas diferencias estadísticamente significativas.

Al realizar un análisis multivariable con un modelo ajustado por edad, ECOG basal, tabaquismo y etapa clínica de la clasificación FIGO, se observó una asociación estadísticamente significativa entre los niveles de HE4 y la respuesta tomográfica, desde el segundo ciclo de tratamiento (p=0.042), manteniéndose hasta el tercer ciclo (p=0.033). Al analizar todos los valores (basal y con cada ciclo de quimioterapia), se observó significancia estadística tanto en el análisis univariable como en el multivariable (Tabla 8).

Se analizó la asociación entre la respuesta tomográfica y la diferencia (delta) entre los niveles de HE4 en diferentes ciclos del tratamiento, observando una relación estadísticamente significativa entre la diferencia de los niveles séricos basales y los obtenidos tras el primer ciclo de quimioterapia, tanto en el análisis univariable como en el modelo multivariable ajustado por edad al diagnóstico, ECOG basal, tabaquismo y etapa FIGO (Tabla 9). De esta manera, se demostró que una mayor reducción entre los niveles basales de HE4 y los del primer ciclo de quimioterapia, se asoció, de forma independiente, con la respuesta tomográfica. No se observó relación estadísticamente significativa con ninguna otra comparación temporal.

Se exploró la correlación entre los niveles séricos de los biomarcadores HE4 y CA-125, demostrando colinearidad, con un comportamiento similar en los diferentes momentos del tratamiento (Tabla 10 y Figura 8).

Tabla 8. Asociación entre los niveles de HE4* y la respuesta tomográfica (n= 53).

HE4	Univariable			Multivariable**		
	Est	IC 95%	valor de p	Est	IC 95%	valor de p
Basal	-0.244	-0.689, 0.151	0.357	-0.262	-0.832, 0.308	0.367
Al primer ciclo	0.444	-0.249, 0.561	0.119	0.524	-0.077, 1.125	0.088
Al segundo ciclo	0.676	0.061, 1.081	0.054	0.752	0.028, 1.475	0.042
Al tercer ciclo	0.766	0.175, 1.181	0.042	0.843	0.068, 1.617	0.033
Todos los valores**	0.241	0.012, 0.352	0.038	0.268	0.030, 0.505	0.027

IC, intervalo de confianza.
 *Transformados mediante logaritmo decimal.
 **Se incluyeron las mediciones de todos los ciclos y los valores basales.
 ***Ajustado por edad al diagnóstico, ECOG basal, tabaquismo, subtipo histológico y etapa FIGO.
 En negrita se marcan aquellos valores de p con significancia estadística (menor a 0.05).

Tabla 9. Asociación entre la respuesta tomográfica y la diferencia (delta) entre los niveles de HE4* (n= 53).

HE4	Univariable			Multivariable**		
	Est	IC 95%	p	Est	IC 95%	p
Entre basal y primer ciclo	0.182	0.033, 0.330	0.017	0.194	0.019, 0.368	0.030
Entre basal y segundo ciclo	0.116	-0.013, 0.245	0.080	0.128	-0.013, 0.269	0.077
Entre basal y tercer ciclo	0.090	0.060, 0.240	0.244	0.108	-0.058, 0.274	0.203
Entre primer y segundo ciclo	0.069	-0.125, 0.263	0.485	0.203	-0.092, 0.498	0.179

IC, intervalo de confianza
 *Transformados mediante logaritmo decimal.
 **Ajustado por edad al diagnóstico, ECOG basal, tabaquismo, subtipo histológico y etapa FIGO.
 En negrita se marcan aquellos valores de p con significancia estadística (menor a 0.05).

Tabla 10. Asociación entre la respuesta tomográfica y la diferencia en los niveles de HE4 en modelo multivariable

Diferencia de HE4	Multivariable			Multivariable, ajustado por biomarcador CA-125		
	Est	SE	p	Est	SE	p
Basal a primer ciclo	0.194	0.089	0.030	0.182	0.098	0.062

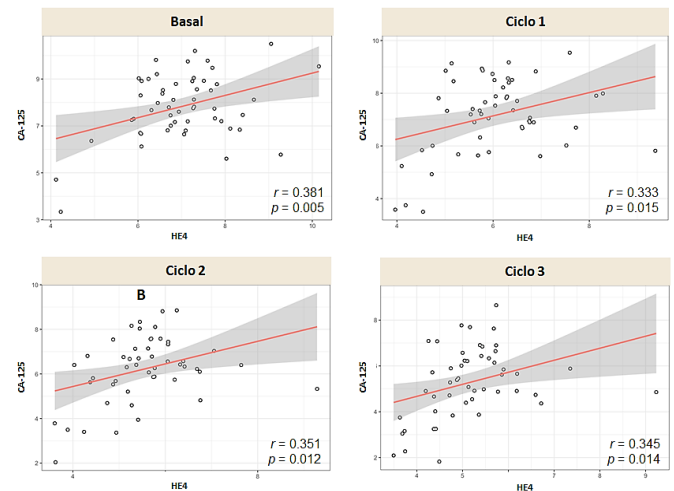


Figura 8. Correlación entre los niveles séricos de los biomarcadores HE4 y CA-125 durante los diferentes ciclos (n= 53).

El evento adverso más frecuente asociada a quimioterapia fue la neutropenia, presente en 39 pacientes (73.6%), siendo grado 3 o mayor en 20 pacientes (37.6%). El resto de toxicidades fueron náusea en 24 pacientes (45.3%), anemia en 22 (41.5%), neuropatía periférica en 16 (30.2), emesis en 12 (22.6%), trombocitopenia en 9 (17.0), diarrea en 6 (11.3%), y nefrotoxicidad y hepatotoxicidad en un paciente (1.9%), sin mostrar una distribución diferencia estadísticamente significativa en relación a la respuesta tomográfica (**Apéndice, sección B**).

VII. CONCLUSIONES

Los niveles de HE4, especialmente durante el segundo y tercer ciclo, están asociados de forma independiente con la respuesta tomográfica en pacientes con cáncer epitelial de ovario avanzados tratadas con quimioterapia neoadyuvante. Una mayor reducción entre los niveles basales de HE4 y los del primer ciclo de quimioterapia también se asoció, de forma independiente, con la respuesta tomográfica, lo cual resulta relevante para predecir al grupo de pacientes que no tendrán respuesta al tratamiento.

A nuestro conocimiento, este es el primer reporte a nivel mundial de HE4 como un predictor de respuesta tomográfica en pacientes con cáncer epitelial de ovario avanzados tratadas con quimioterapia neoadyuvante basada en platinos.

REFERENCIAS

- [1] Mano MS, Awada A, Minisini A, et al. Remaining controversies in upfront management of advanced ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 14: 707-720, 2004.
- [2] Bristow R, Tomacruz, R, Armstrong D, et al. Survival effect of maximal cytoreductive surgery for advanced ovarian carcinoma during the platinum era: a meta-analysis. *J. Clin. Oncol.*, 20 (2002), pp. 1248–1259
- [3] Eisenhauer E, Abu-Rustum N, Sonoda Y, et al. The effect of maximal surgical cytoreduction on sensitivity to platinum-taxane chemotherapy and subsequent survival in patients with advanced ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2008; 108:276-281.
- [4] Mueller J, Zhou Q, Iasonos A, et al. Neoadjuvant chemotherapy and primary debulking surgery utilization for advanced-stage ovarian cancer at a comprehensive cancer center. *Gynecol Oncol* 2016; 140:436-442

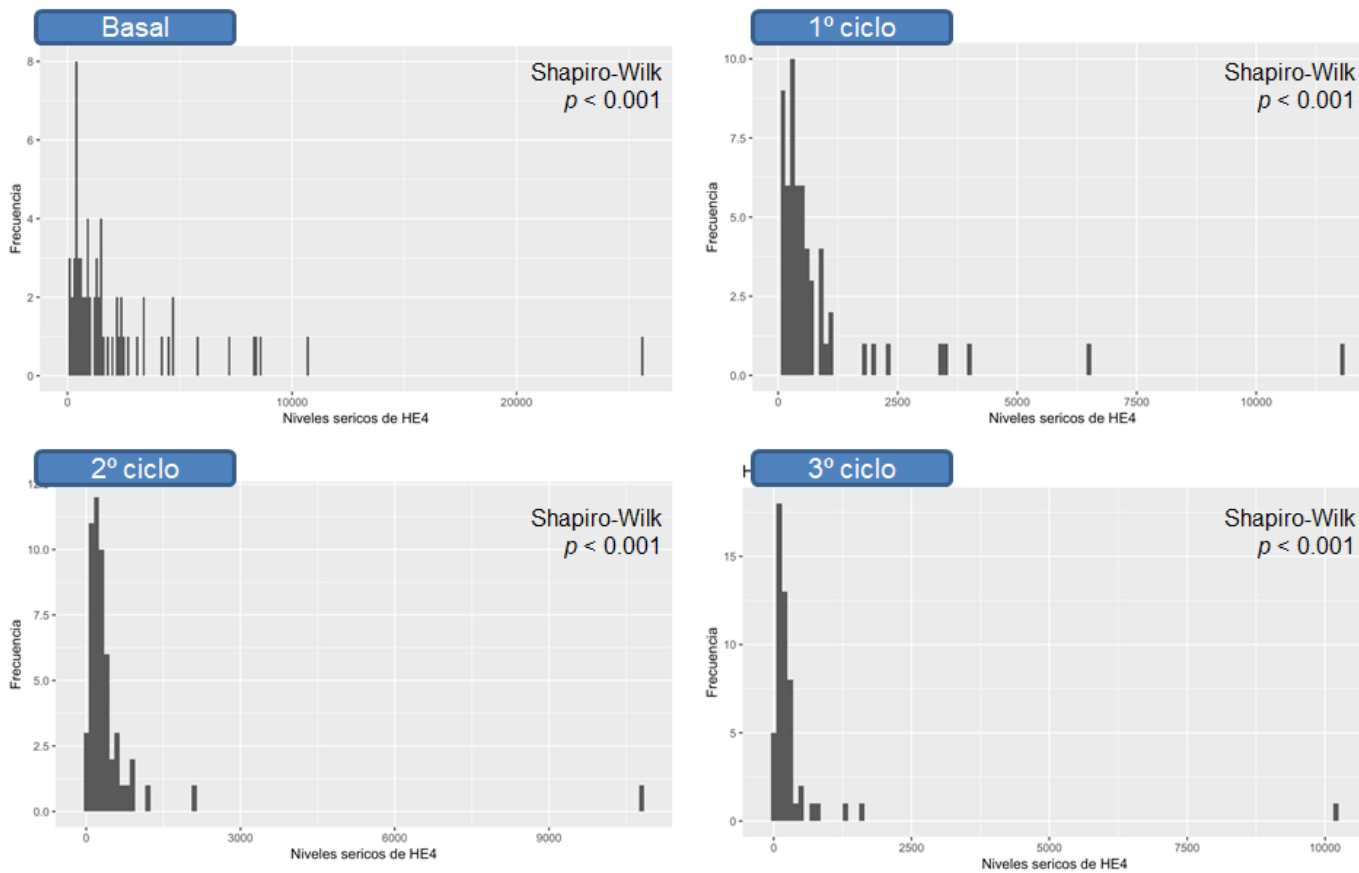
- [5] Gill S, McGree M, Weaver A, et al. Optimizing the treatment of ovarian cancer: Neoadjuvant chemotherapy and interval debulking versus primary debulking surgery for epithelial ovarian cancers likely to have suboptimal resection. *Gynecol Oncol* 2016; In Press, Corrected Proof
- [6] Kyrgiou M, Salanti G, Pavlidis N, Paraskevaides E and Ioannidis JP: Survival benefits with diverse chemotherapy regimens for ovarian cancer: meta-analysis of multiple treatments. *J Natl Cancer Inst* 98: 1655-1663, 2006.
- [7] Mohammad E, Amer A, Ahmad S, et al. Recent Advancements in Prognostic Factors of Epithelial Ovarian Carcinoma. *International Scholarly Research Notices*, vol. 2014, Article ID 953509, 10 pages, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/953509>.
- [8] Chan DW, Schwartz MK. Tumor markers: Introduction and general principles. In: *Tumor Markers: Physiology, Pathobiology, Technology, and Clinical Applications* edited by Diamandis EP, Fritsche HA, Lilja H, Chan DW, Schwartz MK. Washington, D. C.: AACCC Press, 2002, p. 9-17.
- [9] Hayes DF, Bast RC, Desch CE, et al. Tumor marker utility grading system: a framework to evaluate clinical utility of tumor markers. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:1456-1466.
- [10] Morales FM, Santillán A. Antígeno sérico CA-125 en cáncer epitelial de Ovario. *Cancerología* 2007;1:s21-24.
- [11] Tate S, Hirai Y, Takeshima N and Hasumi K: CA125 regression during neoadjuvant chemotherapy as an independent prognostic factor for survival in patients with advanced ovarian serous adenocarcinoma. *Gynecol Oncol* 96: 143-149, 2005.
- [12] Van Altena AM, Kolwijck E, Spanjer MJ, Hendricks JC, Massuger LF and de Hullu JA: CA 125 nadir concentration is an independent predictor of tumor recurrence in patients with ovarian cancer: a population-based study. *Gynecol Oncol* 119: 265-269, 2010.
- [13] Riedinger JM, Wafflart J, Ricolleau G, Eche N, Larbre H, Basuyau JP, Dalifard I, Hacene K and Pichon MF: CA 125 half-life and CA 125 nadir during induction chemotherapy are independent predictors of epithelial ovarian cancer outcome: results of a French multicentric study. *Ann Oncol* 17: 1234-1238, 2006.
- [14] Horowitz NS: Changes in serum CA 125 can predict optimal cytoreduction to no gross residual disease in patients with advanced stage ovarian cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. *Gynecol Oncol* 125(2): 362-366, 2012.
- [15] Kang S, Seo SS and Park SY: Nadir CA 125 level is an independent prognostic factor in advanced epithelial ovarian cancer. *J Surg Oncol* 100: 244-247, 2009.
- [16] Prat A, Parera M, Peralta S, Perz-Benavente MA, Garcia A, Gil-Moreno A, Martínez-Palones JM, Roxana I, Baselga J and Del Campo JM : Nadir CA 125 concentration in the normal range as an independent prognostic factor for optimally treated advanced epithelial ovarian cancer. *Ann Oncol* 19: 327-331, 2008.
- [17] Markman M, Frederico M, Liu PY, Hannigan E and Alberts D: Significance of early changes in the serum CA 125 antigen level on overall survival in advanced ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 103(1): 195-198, 2006.
- [18] Makar AP, Kristensen GB, Bormer OP and Trope CG: Serum CA125 level allows early identification of non-responders during induction chemotherapy. *Gynecol Oncol* 49: 73-79, 1993.
- [19] Bingle L, Singleton V, Bingle CD. The putative ovarian tumour marker gene HE4 (wfdc2), is expressed in normal tissues and undergoes complex alternative splicing to yield multiple protein isoforms. *Oncogene* 2002;21:2768-2773
- [20] Kirchhoff C, Habben I, Ivell R, et al. A major human epididymis-specific cDNA encodes a protein with sequence homology to extracellular protease inhibitors. *Biol Reprod* 1991;45:350-357.
- [21] Kirchhoff C. Molecular characterization of epididymal proteins. *Rev Reprod* 1998;3:86-95.
- [22] Galgano MT, Hampton GM, Frierson HF Jr. Comprehensive analysis of HE4 expression in normal and malignant human tissues. *Mod Pathol* 2006;19:847-853.
- [23] Hellstrom I, Raycraft J, et al. The HE4 (WFDC2) protein is a biomarker for ovarian cancer. *Cancer Res* 2003;63:3695-3700.
- [24] Ganz T. Antimicrobial proteins and peptides in host defense. *Semin Respir Infect* 2001; 16: 4-10.
- [25] Cabrera J, Calderaro D, Franco J, et al. Correlación de biomarcadores (HE4 y CA 125), clínica, Imagenología e histología en cáncer de ovario. *Rev Venez Oncol* 2015; 27(4):207-217.
- [26] Chien J, Fan J, Bell D, et al. Analysis of gene expression in stage I serous tumors identifies critical pathways altered in ovarian cancer. *Gynecol Oncol* . 2009; 114(1):3-11.
- [27] Zou SL, Chang XH, Ye X et al. Effect of human epididymis protein 4 gene silencing on the malignant phenotype in ovarian cancer. *Chin Med J (Engl)* 2011; 124: 3133-3140.
- [28] Zhu YF, Gao GL, Tang SB, Zhang ZD, Huang QS. Effect of WFDC 2 silencing on the proliferation, motility and invasion of human serous ovarian cancer cells in vitro. *Asian Pac J Trop Med* 2013; 6: 265-272.
- [29] Karlsen MA, Sandhu N, Høgdall C, Christensen IJ, Nedergaard L, Lundvall L, et al. Evaluation of HE4, CA125, risk of ovarian malignancy algorithm (ROMA) and risk of malignancy index (RMI) as diagnostic tools of epithelial ovarian cancer in patients with a pelvic mass. *Gynecologic Oncology*. 2012;127(2):379-383.
- [30] Paek J, Lee S-H, Yim G-W, Lee M, Kim Y-J, Nam E-J, et al. Prognostic significance of human epididymis protein 4 in epithelial ovarian cancer. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2011;158(2):338-342.
- [31] Hellstrom I, Heagerty PJ, Swisher EM, Liu P, Jaffar J, Agnew K, et al. Detection of the HE4 protein in urine as a biomarker for ovarian neoplasms. *Cancer letters*. 2010;296(1):43-48.
- [32] Sturgeon CM, Duffy MJ, Stenman UH, et al. National Academy of Clinical. Biochemistry laboratory medicine practice guidelines for use of tumor markers in testicular, prostate, colorectal, breast, and ovarian cancers. *Clin Chem* 2008; 54: e11-e79.
- [33] Danila DC, Fleisher M, Scher HI. Circulating tumor cells as biomarkers in prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 3903-3912.
- [34] Diehl F, Schmidt K, Choti MA, et al. Circulating mutant DNA to assess tumor dynamics. *Nat Med* 2008; 14: 985-990.
- [35] Almufti R, et al. A critical review of the analytical approaches for circulating tumor biomarker kinetics during treatment. *Annals of Oncology* 25: 41-56, 2014 doi:10.1093/annonc/mdt382

APÉNDICE

SECCIÓN A

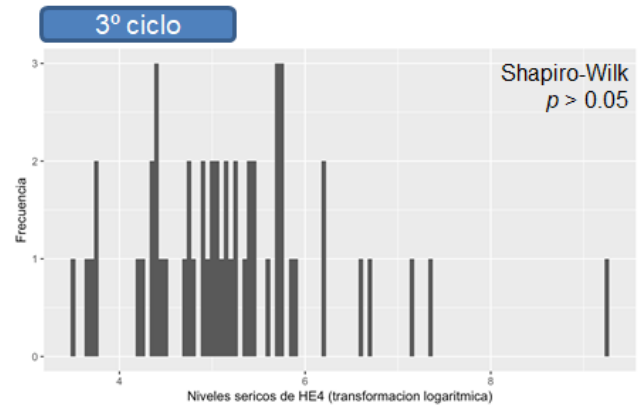
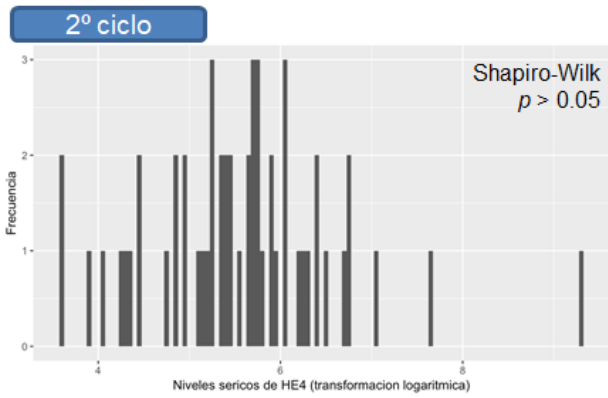
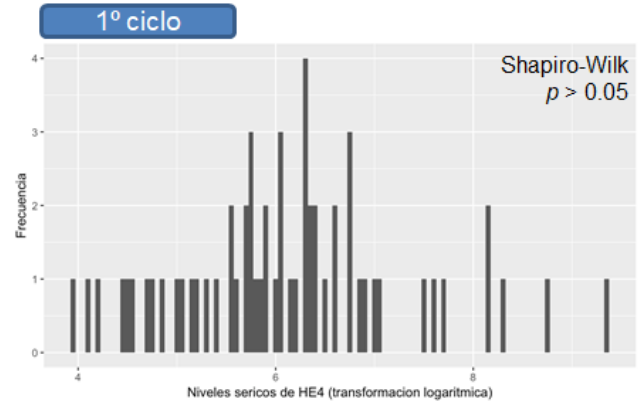
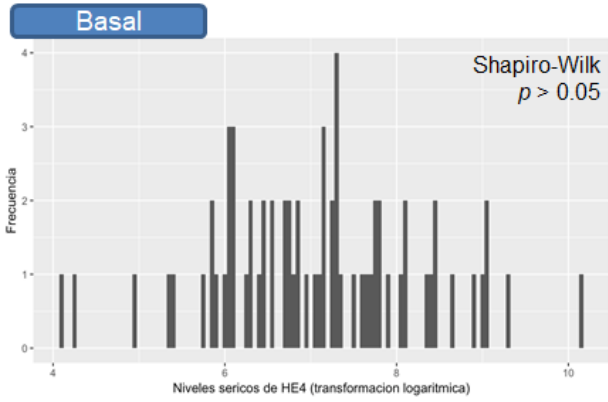
A-1 Niveles séricos de HE4 basal y en cada uno de los tres ciclos de tratamiento con quimioterapia neoadyuvante.

Niveles séricos de HE4



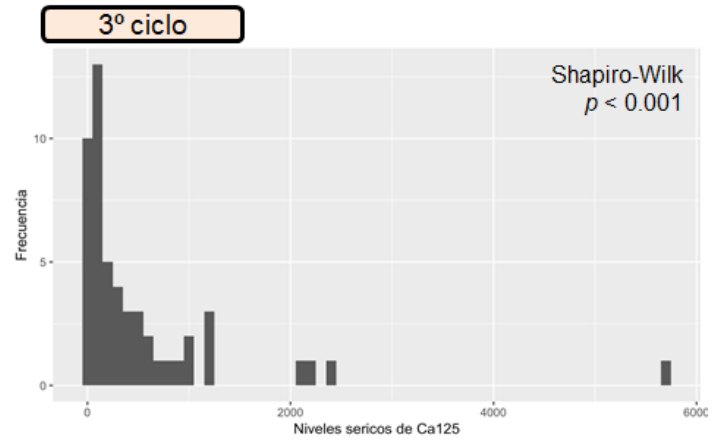
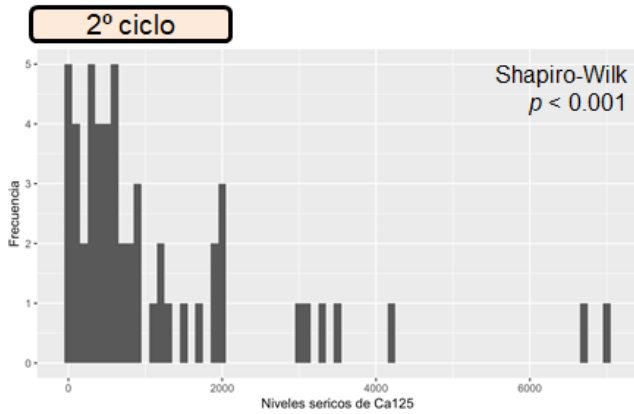
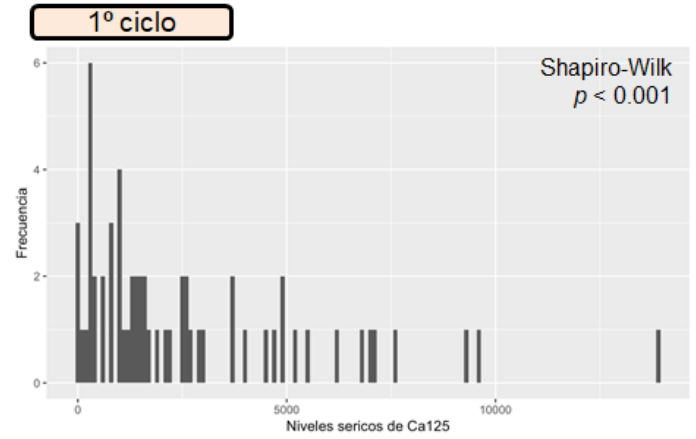
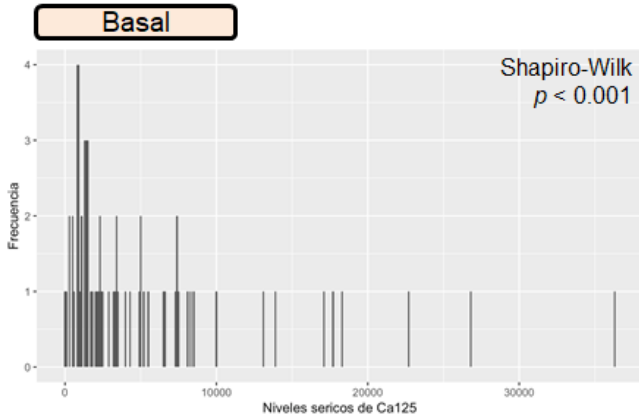
A-2. Transformación logarítmica de los niveles séricos de HE4 basal y en cada uno de los tres ciclos de tratamiento con quimioterapia neoadyuvante.

Niveles séricos de HE4 (transformación logarítmica)



A-3. Niveles séricos de HE4 basal y en cada uno de los tres ciclos de tratamiento con quimioterapia neoadyuvante.

Niveles séricos de CA-125



A-4. Transformación logarítmica de los niveles séricos de CA-125 basal y en cada uno de los tres ciclos de tratamiento con quimioterapia neoadyuvante.

Niveles séricos de CA-125 (transformación logarítmica)

