

Biomarcadores moleculares y genómica en el cáncer epitelial de ovario de alto grado.

Tomás Pascual Martínez y Ramón Colomer Bosch.

RUTINARIO 	RECOMENDABLE 	EVIDENCIA INSUFICIENTE 
<ul style="list-style-type: none">• Determinación de BRCA en línea germinal.	<ul style="list-style-type: none">• Determinación de p53.	<ul style="list-style-type: none">• Evaluación del déficit de recombinación homóloga.• Biomarcadores inmunológicos.• Células Cancer Stem (CCS)• Receptor del factor de crecimiento epidermoide soluble.• Forma soluble del receptor de folatos alfa. (sRFA).• Antígeno leucocitario humano-G (HLA-G)• 17 beta-hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 12• Peptidasas relacionadas con calicreina (KLK)

RUTINARIO

DETERMINACIÓN DE BRCA EN LÍNEA GERMINAL

La mayoría de los cánceres de ovario hereditarios se relacionan con mutaciones de los genes BRCA1 y BRCA2 en la línea germinal. Estas mutaciones se heredan de modo autosómico dominante con alta penetrancia. Además, una cifra que puede estar alrededor del 5-10% de los cánceres hereditarios de ovario pueden tener una mutación en la línea somática (en el tumor ovárico).

Métodos de medición

Para realizar el estudio genético, lo más habitual es obtener muestra de sangre periférica en tubos con EDTA como anticoagulante. También se pueden utilizar muestras de saliva, aunque es poco habitual. De dichas muestras biológicas se obtiene ADN genómico de una manera sencilla y en cantidad y calidad suficiente para realizar el análisis.

La secuenciación directa del ADN es el método “*gold standard*” para el diagnóstico genético de mutaciones puntuales y pequeñas inserciones o deleciones. Aunque en algunos laboratorios se realiza un cribado genético previo que identifica la presencia de alteraciones en las regiones estudiadas [*High Resolution Melting (HRM)*, *Single Strand Conformational Polymorphism (SSCP)*, *Denaturing High-Performance Liquid Chromatography (DHPLC)*, *Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)*] y se hace la secuenciación solo del fragmento sospechoso. Las técnicas de cribado permiten reducir el número de muestras a secuenciar. El estudio genético diagnóstico en el caso índice debe abarcar la región codificante completa del gen (exones) y sus regiones flanqueantes. Los exones codificantes son amplificados por PCR con cebadores específicos. Los amplicones generados son sometidos a la reacción de secuenciación con dideoxinucleótidos para posteriormente ser analizados por electroforesis capilar. Las alteraciones detectadas son confirmadas con una nueva PCR y reacción de secuenciación en ambos sentidos.

La detección de grandes reordenamientos (deleciones e inserciones) se realiza por métodos cuantitativos como es el *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA)*. En caso de detectarse alguna alteración mediante esta metodología debe confirmarse mediante MLPA, empleando un kit de confirmación cuyo diseño de las sondas sea diferente al empleado para el primer abordaje. Alternativamente, se pueden utilizar otras técnicas como los arrays de CGH o la PCR cuantitativa.

Según la guía clínica de la Sociedad Española de Oncología Médica de Cáncer de mama y ovario hereditario 2015, está justificado el estudio genético de los genes BRCA1 y BRCA2 en los siguientes casos:

- Un único caso de cáncer de ovario serosopapilar de alto grado;
- Un único caso de cáncer de mama en una paciente menor de 30 años o con cáncer de mama y ovario en la misma paciente o con cáncer de mama bilateral cuando uno de los tumores se diagnosticó antes de los 40 años o con cáncer de mama triple negativo diagnosticado antes de los 50 años;
- Dos casos de cáncer en familiares de primer grado cuando 1 de los tumores se diagnosticó antes de los 50 años o un cáncer de mama y un cáncer de ovario o un cáncer de mama en el varón y un cáncer de mama o de ovario en una mujer;
- Tres o más casos de cáncer de mama en la familia donde como mínimo 2 mujeres son familiares de primer grado(1).

Utilidad clínica: valor pronóstico y valor predictivo.

La presencia de mutación en genes BRCA1/BRCA2 es un factor pronóstico de ovario y también predictivo de respuesta a algunos tratamientos oncológicos (quimioterapia o agentes diana específicos), los cuales son más eficaces en presencia de estas mutaciones, suponiendo una ventaja terapéutica para sus portadoras.

Las mutaciones del BRCA 1 están muy asociadas con el cáncer de mama y de ovario, mientras que las mutaciones de BRCA2 también están asociadas a un mayor riesgo no sólo de sufrir estos cánceres sino también cáncer de próstata y de páncreas. Las mujeres con mutaciones del BRCA 1 tienen un riesgo acumulado a lo largo de la vida del 15% al

45% de desarrollar cáncer de ovario; con una mutación del BRCA2, el riesgo oscila del 10 al 20%. En conjunto, las mutaciones de BRCA1/2 se relacionan con alrededor del 15% de los cánceres de ovario, y están asociadas con el comienzo de la enfermedad a edades más tempranas(2, 3).

Las pacientes diagnosticadas de cáncer de ovario con mutación en BRCA presenta mejor supervivencia global con tasas del 61% a los 5 años para mutaciones para BRCA2 y 44% para BRCA 1 frente al 25% de las pacientes sin mutación (4, 5).

Además, con la aprobación reciente, en Europa y EE.UU, de olaparib y otros inhibidores de la poliadenosinadifosfato-ribosa (PARP), las pacientes con cáncer de ovario disponen de una opciones de tratamiento específicas para la mutación de BRCA. Los inhibidores de PARP han demostrado mejorar la supervivencia sin progresión en la terapia de mantenimiento para el cáncer recidivante sensible a platinos(6, 7)

También hay pruebas de respuestas diferenciales a agentes quimioterápicos utilizados normalmente, como carboplatino y doxorubicina, basadas en el estado mutacional de BRCA(8-10).

RECOMENDACIÓN

Se recomienda ofrecer la realización del análisis mutacional de BRCA1 y BRCA2 a mujeres con cancer de ovario epitelial (o cancer de trompa de Falopio o primario peritoneal) de alto grado no mucinoso.

RECOMENDABLE

DETERMINACIÓN DE P53

Esta determinación permite la identificación correcta de los diferentes tipos histológicos, que es muy relevante de cara a la realización de un pronóstico y es en ocasiones compleja.

Junto con la morfología, el uso de la inmunohistoquímica con p53 (y también WT1, Napsina A, beta-catenina y receptor de progesterona) puede ayudar a diagnosticar con exactitud el 95% de los casos (11)

Métodos de medición

- La vida media de la proteína codificada por el gen indemne es muy corta (6-30 minutos), y su nivel medio celular relativamente bajo para ser detectado; sin embargo, la proteína mutante defectuosa es difícilmente degradada, tiene una extensa vida media y su acumulación permite detectarla mediante procedimientos inmunohistoquímicos que cuantifican la cantidad de núcleos teñidos (12). Se asume que una mutación del gen p53 causa una acumulación de la proteína p53 anómala en las células.
- Determinación de mutaciones o deleciones del gen p53 mediante PCR (reacción en cadena de la polimerasa).

Utilidad clínica: valor pronóstico y valor predictivo.

Con base en estudios previos de índole clínica, patológica y de genética molecular, Kurman y Shih propusieron en 2008 un modelo para explicar la patogénesis del cáncer ovárico, según el cual los tumores de este órgano se pueden agrupar en dos tipos. Los tipo I son usualmente estables y de crecimiento lento. Se forman a partir de lesiones precursoras bien definidas conocidas como tumores “borderline” y presentan mutaciones en genes como KRAS, BRAF, PTEN y beta-catenina. Los tipo II por su parte, son los que exhiben mayor agresividad e inestabilidad genética e incluyen los carcinomas indiferenciados, los serosos de alto grado y los carcinosarcomas. Los tipo II, de forma característica, presentan mutaciones de p53, permitiendo su determinación la identificación de los mismos.

	IHC			
	Abnormal p53	WT1	NAPSIN A	PR
HGSC	+	+	-	+
EC	-	-/+	-/+	+
CCC	-	-	+	-/+
LGSC	-	+	-	+
MC	-	-	-	-

HGSC High-grade serous carcinoma, EC endometrioid carcinoma, CCC clear cell carcinoma, LGSC Low-grade serous carcinoma, MC mucinous carcinoma

RECOMENDACIÓN

Junto con la morfología, el uso de la inmunohistoquímica con p53 (y también WT1, Napsina A, beta-catenina y receptor de progesterona) puede ayudar a diagnosticar con exactitud el 95% de los casos (11).

EVIDENCIA INSUFICIENTE

EVALUCIÓN DEL DÉFICIT DE RECOMBINACIÓN HOMÓLOGA (HRD).

La recombinación homóloga (HRR) es un tipo de recombinación genética en la que las secuencias de nucleótidos se intercambian entre dos moléculas similares o idénticas de ADN. Es la más ampliamente utilizada por las células para reparar roturas nocivas que se producen en ambas hebras de ADN, conocidas como rupturas de doble hebra. Los mecanismos moleculares de la recombinación homóloga en humanos aún son complejos, sin embargo, han sido identificadas las proteínas como XRCC2, XRCC3, RAD51B, RAD51C, RAD51, BRCA1, BRCA2 y las que reconocen los DSB conocidas como quinasas ATR y ATM.

La deficiencia en el sistema de recombinación homóloga (HRD) se ha relacionado con un mejor pronóstico y beneficio con el tratamiento con ciertas familias de fármacos.

Métodos de medición

Definir HRD no es sencillo, ya que representa un comportamiento fenotípico de las células tumorales resultantes de una o más anomalías en las muchas proteínas responsables de HRR. Además de las mutaciones BRCA de la línea germinal, otras mutaciones menos frecuentes de la línea germinal y / o somáticas implicadas en HRD y predictivas de una respuesta al platino pueden estar presentes en casi un tercio de los tumores ováricos.

Actualmente no existe un método estandarizado para determinar las alteraciones en la vía de recombinación homóloga, lo que dificulta su puesta en marcha en la práctica clínica. De los diferentes métodos que se han diseñado los más utilizados son los siguientes:

1. Escalas de medición de déficit de recombinación homóloga

Tres escalas métricas cuantitativas han sido desarrolladas basadas en HDR: (HRD-loss of heterozygosity score (LOH), HRD-telomeric allelic imbalance score (TAI), y HRD-large-scale state transition score (LST) y tienen una alta correlación con HDR y la sensibilidad a platinos e inhibidores de PARP en cáncer de ovario. Para determinar cualquiera de los tres scores se realiza NGS en tejido tumoral.

2. Perfil de expresión génica(13)

Diferentes estudios han mostrado que es posible definir un perfil de expresión génica de fenotipo BRCAness o con DRH en cáncer de ovario, asociado con la respuesta a platino y los inhibidores de PARP.

3. Inmunohistoquímica de RAD51(14)

Las pruebas simples, como la inmunohistoquímica para identificar Rad51, implicado en el proceso de HRR han sido difíciles de establecer, y es poco probable que éstos sean fácilmente aplicables a la práctica clínica.

4 Mutaciones puntuales en genes de la vía de recombinación homóloga (15)

Tanto las mutaciones con pérdida de función en la línea germinal y como en línea somática en los genes de la vía de la anemia de fanconi como en el a vía de BRCA vía predicen mayores tasas de sensibilidad al platino y mejor supervivencia global en el carcinoma ovárico.

En general, el 31% de los carcinomas ováricos presentaron una mutación deletérea en línea germinal (24%) y/o una mutación somática (9%) determinada por NGS en uno de los siguientes 13 genes de la vía de reparación del ADN: BRCA1, BRCA2, ATM, BARD1, BRIP1, CHEK1, CHEK2, FAM175A, MRE11A, NBN, PALB2, RAD51C y RAD51D.

Utilidad clínica: valor pronóstico y valor predictivo.

La integridad de las proteínas BRCA es clave para la HRR eficaz, aunque otras proteínas también son importantes para este proceso. Los datos comenzaron a surgir demostrando que las mutaciones somáticas o la metilación de BRCA, así como la disfunción de otras proteínas relacionadas con HRR, podrían estar asociadas con un fenotipo sensible al platino en el cáncer de ovario de alta grado y potencialmente la selección de la sensibilidad a los inhibidores de la PARP. Estos datos sugirieron que HRD podría resultar de lesiones genéticas distintas de las mutaciones BRCA de la línea germinal. Esta observación también implicó fuertemente que los inhibidores de PARP podrían tener utilidad clínica en un grupo más grande de mujeres con cáncer de ovario.

Los primeros resultados de ARIEL2, un ensayo de rucaparib en tumores predominantemente sensibles al platino del tipo BRCA-wild, fueron capaces de dicotomizar a los pacientes en tumores negativos para BRCAlike y biomarcadores con tasas de respuesta (RECIST / CA125) a rucaparib en 45% y 21 % respectivamente(16).

Más recientemente, el ensayo ENGOT-OV16 / NOVA evaluó la eficacia y la seguridad del inhibidor de PARP niraparib como terapia de mantenimiento en pacientes con cáncer de ovario recurrente que respondieron a la quimioterapia basada en platino. El ensayo incluyó a 553 pacientes, de los cuales 203 tenían mutación BRCA en línea germinal. Niraparib mejoró significativamente la supervivencia libre de progresión en comparación con el placebo en ambas cohortes, así como en todos los subgrupos. La mediana de supervivencia libre de progresión con niraparib comparado con placebo fue de 21,0 frente a 5,5 meses en el grupo de mutación BRCA de la línea germinal; 9,3 frente a 3,9 meses en el grupo de mutación somática de BRCA; y 12,9 vs 3,8 meses en un subgrupo de la cohorte sin mutación de BRCA que presentaban HRD (17).

Está claro que si la indicación para los inhibidores de PARP es expandirse a una población de tipo BRCA-wt, se necesitan pruebas validadas con una alta probabilidad de determinar el estado de HRD.

RECOMENDACIÓN

El déficit de recombinación homóloga, entre los que se encuentran las mutaciones germinales en BRCA1 y BRCA2 y las somáticas posiblemente debidas a pérdida de heterocigosidad, se han relacionado con la sensibilidad a platinos y recientemente a inhibidores de la PARP. Es necesario implementar su determinación para ser utilizado en la practica clínica habitual.

BIOMARCADORES INMUNOLÓGICOS.

Datos recientes indican que el sistema inmune del huésped influye fuertemente en los resultados en pacientes con CEO. Los estudios de las células inmunes que infiltran CEO se indica que la acumulaciones de linfocitos T, las células reguladoras, los macrófagos, las células dendríticas (DC), células supresoras derivadas de mieloides (MDSCs), y células natural killer (NK) pueden determinar el comportamiento biológico del tumor, así como la terapia y pronóstico el pronósticos del cáncer.

Métodos de medición

Los métodos de detección y definición de positividad son variables. Recientemente se ha publicado un artículo que tiene como objetivo estandarizar la definición de TIL y los métodos recomendados para su detección (18).

Utilidad clínica: valor pronóstico y valor predictivo.

Curiosamente, el recuento absoluto de linfocitos en la sangre periférica se encontró que se asocia con supervivencia en CEO independiente de los linfocitos infiltrantes de tumor (TILs)(19).

Los linfocitos T representan una importante población de TILs. Su diversidad hace que sea difícil evaluar la importancia de estas células en el desarrollo del tumor, ya subtipos individuales de las células T podrían tener efectos opuestos en la progresión del tumor. La alta densidad de linfocitos T CD3+ infiltrantes se ha asociado con un pronóstico favorable en varios tipos de cáncer, incluyendo el CEO(20-22). Entre los subtipos específicos de TILs, las células T citotóxicas (CD8+) también se han asociado con una mejor supervivencia en estos pacientes (23).

Los patrones de infiltración de TILs en CEO pueden considerarse desde de células T CD8+ solo para estructuras del folículo a valorar estructuras linfoides que incluyan T CD8 +, T CD4 +, y las células B CD20 +(24). La cooperación entre infiltrantes de tumores, B y las células T conduce a una mayor supervivencia de los pacientes, seguramente porque las células B, que sirven como célula presentadora de antígeno (APC) y secretan citoquinas polarizante, mejorando la inmunidad antitumoral(25). Los análisis de los TILs en CEO seroso de alto grado mostró además que la expresión de CD103 (un α E integrina) por células T CD8 + intraepiteliales está fuertemente correlacionada con el aumento la supervivencia específica de la enfermedad(26). En conjunto, los nuevos conocimientos sobre inmunidad antitumoral en CEO indican que la tasa de supervivencia de los paciente aumentan a medida que aumenta la complejidad y el tamaño del compartimento TILs, lo que sugiere que las interacciones cooperativas entre las diversas células inmunes infiltrantes son importantes para supervivencia.

Otro subconjunto de células T CD4 + dentro de las presentes en el ambiente tumoral del tumor son las células T reguladoras CD4+ CD25+ (Treg). Por lo general, representan una fracción más pequeña de TILs pero puede tener una influencia significativa en el desarrollo de los tumores (27). Se ha demostrado que la frecuencia de Treg es mayor en los tumores que en los tejidos normales debido a un reclutamiento activo de Treg por factores presentes en el microambiente tumoral (MAT) (28). El aumento de porcentajes de Treg también se observan en la circulación periférica de pacientes con cáncer (29, 30). Su potencial para inhibir las respuestas Th1 al interferir con funciones antitumorales de células T efectoras podrían contribuir a un mal resultado, como parece ser el caso en algunos tumores sólidos tumores, incluyendo CEO(28).

Los macrófagos representan una población importante de TILs. Su número se incrementa a menudo en los tumores en comparación con los tejidos sanos. Es bien sabido que macrófagos M1, predominantemente situados dentro de los islotes epiteliales del tumor, tienen efectos antitumorales, mientras que las células M2, situada en el estroma, promueven el crecimiento del tumor. Nuevas evidencias sugieren que los macrófagos asociados a tumores (TAM) muestran un único perfil de activación en CEO y son capaces de crear un microambiente inmunosupresos, lo que permite que los tumores evadan la detección in-

mune y promueve la progresión tumoral. Los estudios que investigan la presencia de TAM en CEO demuestran un aumento significativo en su número en CEO en comparación con los tumores benignos y borderline (31). Sin embargo, la cantidad de macrófagos infiltrante del tumor CD68+ no parece influir en el resultado (32).

Estudios más detallados utilizando marcadores específicos asociados a M2 em CEO indicó que TAM puede predecir el pronóstico del paciente en ciertos subconjuntos de CEO. Además de células CD68+, Lan et al. también estudiaron la expresión de CD163, un marcador M2, en 110 CEO en estadio avanzado y ha demostrado que tanto la SLP y la SGse redujo significativamente en los pacientes cuyos tumores contenían un alto número de células CD163 + (33). Los niveles séricos de CD163 también se han demostrado para predecir peores pronósticos en pacientes con CEO(34).

Las células dendríticas (CD) son APC profesionales que participan en la regulan el sistema inmune. Los dos principales subgrupos de CD son las CD clásicas y las CD plasmocitoides, y ambas han sido estudiados en CEO (35). A diferencia de otros TILs, la densidad de DC en el sitio del tumor es inferior que en los tejidos sanos correspondientes. Los resultados de varios estudios indicaron que los CD de los pacientes con CEO son funcionalmente defectuosas o inmunosupresora y que el pronóstico del CEO está inversamente relacionado con la presencia de CD infiltrantes de tumor (36, 37).

Las células supresoras de origen mieloide (MDSCs) son un grupo heterogéneo de células mieloides inmaduras conactividad inmunosupresora que contribuyen a la disfunción inmune y la progresión tumoral. MDSCs se acumulan en CEO para inhibir las respuestas de células T, y se correlacionan con más recurrencia y menor tiempo libre de enfermedad en pacientes con CEO(38, 39). Obermajer et al. mostraron que MDSC se acumulan en el líquido ascítico de pacientes con CEO avanzado y que suprimen la proliferación de células T ex vivo (40). Estos hallazgos muestran que MDSCs, que representa una población inmune innata específica, puede servir como un potencial marcador pronóstico con el potencial para predecir la recaída en CEO.

Una amplia investigación de las dos últimas décadas sugiere que tumores son órganos inflamatorios, en la que el MAT ha sido modificado para apoyar el crecimiento del tumor (41). En este contexto, las quimiocinas inflamatorias asumen un papel importante en el cáncer. Se conoce que el CEO produce una serie de quimiocinas que repercuten en el MAT, estas quimiocinas son producidas tanto por las células cancerosas como por las células inmunes. Estos factores que en principio podría haber protegido el individuo contra el desarrollo del tumor están siendo utilizados por el tumor Las células de su propia propagación, la motilidad y la difusión. Un reciente estudio de la progresión en CEO ha demostrado que dos subconjuntos de monocitos distintos estaban presentes en el peritoneo en diferentes etapas de la progresión tumoral. Estas dos poblaciones de monocitos suprimian actividades de células CD8+ y CD4+. CCR2, una citoquina que media específicamente en la quimiotaxis de monocito, fue un factor crítico en el reclutamiento de estas células supresoras a la MAT de ovario(42). Por otra parte, CCR2 expresanda por MDSCs limita la eficacia de la terapia inmune mediante la regulación negativa de la migración de

las células T CD8+ al tumor (43). Otra citocina producida por las células, macrófagos asociada al tumor, es la CCL22, que media el tráfico de Treg al tumor. Esta contratación específica de Treg representa un mecanismo por el que los tumores pueden fomentar la evasión inmune.

RECOMENDACIÓN

La presencia de TILs en el estroma tumoral está relacionados con el pronóstico en cáncer de ovario. El empleo de TIL como biomarcador pronóstico de cáncer de ovario presenta numerosas variabilidades en su evaluación, por lo que puede representar una valiosas herramienta para el futuro, pero aún está en fase de desarrollo. Por lo cual, aún no se puede recomendar en la práctica clínica habitual.

CELULAS MADRE DEL CANCER (CSC)

Las células madre del cáncer (CSC) son una pequeña población de células malignas dentro de un tumor (entre 0,01 al 1% de las células) que tienen un aumento de la tumorigenicidad y una capacidad de autorrenovación ilimitada. El concepto CSC en el CEO ha ido ganando credibilidad en los últimos años.

Métodos de medición

Se han utilizado multitud de marcadores para identificarlas, por ejemplo, un número de estos marcadores de superficie celular son CD133 (prominina), CD44 (receptor de ácido hialurónico), CD24 (glicoproteína marcador similar a la mucina de la superficie celular), ALDH (aldehído deshidrogenasa), CD117 (receptor del factor de crecimiento de las células), EpCAM (transductor de señal de calcio asociado a tumor 1), y ABCG2, éstos se utilizan solos o en combinación para identificar y aislar CSC de los cánceres humanos. Normalmente estos marcadores se identifican por IHQ.

Utilidad clínica: valor pronóstico y valor predictivo.

Las CSC son importantes impulsores de la carcinogénesis, la metástasis, la recidiva tumoral y la resistencia a los medicamentos. En este contexto, los CSC están vistas como predictores de mal pronóstico (44, 45). Sin embargo, existe una controversia significativa en lo que respecta a marcadores que definen CSC en CEO y el significado pronóstico de algunos marcadores(46).

Entre los marcadores utilizados, el CD133 es el más ampliamente utilizado, pero el menos entendido en términos de sus funciones (47). Sin embargo, se ha demostrado que el aumento de expresión de CD133 es un factor negativo pronóstico en CEO (48). La expresión de ALDH individual en CEO correlacionada con mal pronóstico en algunos estudios, pero no en otros. Pero, los pacientes con expresión combinada de CD133 y ALDH dentro del tumor tuvieron resultados significativamente peores que los pacientes negativos para estos marcadores (49-51). Steffensen et al. informó que los pacientes con CEO en etapa temprana cuyo tumor contenida un porcentaje mayor de 20% de CSC CD44+ tenían una PFS más corta en comparación con los pacientes con tumores con un porcentaje menor

de estas células (52). Del mismo modo, la expresión de CD24 se ha correlacionado con mal pronóstico (53). Zhang et al. encontrado que CSC expresan un receptor de tipo I de la tirosina quinasa (ROR1) y que los pacientes con altos niveles de expresión ROR1 tenían alta las tasas de recaídas y la supervivencia media corta (54).

RECOMENDACIÓN

A día de hoy no hay suficiente evidencia como para recomendar la determinación de CSCs de forma rutinaria.

RECEPTOR DEL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMÓIDE SOLUBLE (sEGFR).

El EGFR se sobreexpresa entre el 30-98% de los cánceres epiteliales de ovario (CEO), y las cascadas de señalización que activa impacta en proliferación, migración, invasión, y la resistencia a la quimioterapia de las células tumorales. Mientras EGFR surge como una atractiva diana terapéutica en CEO(55), sEGFR ha sido de interés como un biomarcador potencial para diagnóstico CEO y/o resistencia a la terapia de platino(56).

Métodos de medición

El sEGFR es una isoforma de 90 a 110 kD de EGFR fácilmente detectable en suero mediante técnicas de inmunoensayos tipo ELISA.

Utilidad clínica: valor pronóstico y valor predictivo.

Las concentraciones de sEGFR son más bajas en pacientes con CEO en comparación con las mujeres sanas o tumores ováricos benignos u otras condiciones ginecológicas(57, 58). Esto sugiere que sEGFR solo o en combinación con CA125 puede ser un biomarcador útil para la evaluación de riesgos, a principios de detección y diagnóstico de CEO. Un estudio reciente ha sugerido que los niveles elevados de sEGFR en pacientes diagnosticados de CEO se correlacionan con una menor supervivencia libre de progresión.

RECOMENDACIÓN

Los datos actuales no son suficientes para emplear la determinación de la sEGFR en la toma de decisiones que se lleva a cabo en la práctica clínica diaria.

FORMA SOLUBLE DEL RECEPTOR DE FOLATOS ALFA (sRFA).

Otro biomarcador en suero prometedor para el diagnóstico CEO es la forma soluble de la alfa del receptor de folato (sRFA). Es una proteína glicosil-fosfatidilinositol anclada a la membrana codificada por el gen FOLR1. La expresión elevada de ALFA se ha observado en diversos tipos de cáncer, incluyendo el de ovario, de útero, endometrio, pulmón, carcinoma de mama, osteosarcoma de alto grado y mesotelioma. RFA puede ser liberado desde de la superficie celular al torrente sanguíneo en forma soluble(59).

Métodos de medición

El sRFA es una isoforma RFA fácilmente detectable en suero mediante técnicas de inmunoensayos tipo ELISA.

Utilidad clínica: valor pronóstico y valor predictivo.

Kurosaki et al. investigo de forma prospectiva los niveles séricos de sFRA en 231 pacientes, encontrando una alta concentración de sRFA en sueros de pacientes con CEO pero no en pacientes con tumores benignos o borderlines, enfermedades ginecológicas o con metástasis ovaricas de cánceres colorrectales. Los niveles séricos de sFRA están altamente correlacionados con el estadiaje clínico, el grado del tumor, y el tipo histológico del tumor, ascitis y tumor residual, y demostró una mayor precisión para la detección de CEO que CA125 en suero(60).

Además, demostró un tiempo más corto de recurrencia para los pacientes que tienen una mayor concentración sRFA, indicativo de un efecto pronóstico. Es importante destacar, puso de manifiesto que los niveles sRFA están correlacionados con la expresión RFA local del tumor, determinado por IHC, lo que sugiere que sRFA puede servir como un biomarcador potencial para el seguimiento de la enfermedad de cáncer de ovario y la selección de pacientes de las terapias dirigidas contra RFA.

RECOMENDACIÓN

A día de hoy, no se recomienda la determinación de forma aislada de este marcador para la toma de decisiones en la práctica diaria.

ANTIGENO LEUCOCITARIO HUMANO-G (HLA-G)

El HLA-G es una clase de molécula de Complejo mayor de histocompatibilidad tipo I no clásica. Su mayor papel biológico es la supresión de la respuesta inmune en curso.

Métodos de medición

Determinación por estudio inmunohistoquímico de la presencia de HLA-G por medio de anticuerpo monoclonal específico, determinando el porcentaje de células tumorales positivas y la intensidad de las mismas. La expresión por inmohistoquímica se correlaciona con la expresión mRNA de HLA-G en tejido tumoral congelado.

Utilidad clínica: valor pronóstico y valor predictivo.

Las mediciones de proteínas o de los niveles de mRNA HLA-G pueden ser un biomarcador prometedor en la detección y el pronóstico del CEO(61).

En este estudio de Rutten et al, analizan la expresión de las moléculas HLA de tipo I clásicas y no clásicas en los carcinomas de ovario de alto grado. La regulación positiva de la expresión de HLA-G era un factor predictor independiente de una mejor supervivencia. Además, en su análisis la expresión HLA-G en estos tumores se correlaciona con la enfermedad residual después de la cirugía y la sensibilidad al platino. En concordancia con

la expresión de la proteína, una elevada expresión de HLA-G se asoció con buen pronóstico.

RECOMENDACIÓN

Con el fin de validar el uso de HLA-G expresión como un marcador predictivo en la selección de pacientes para el tratamiento, cohortes homogéneas, independientes, deben evaluadas para tener conclusiones definitivas sobre el pronóstico de la expresión de HLA en la CEO.

17 BETA-HIDROXIESTEROIDE DESHIDROGENASA TIPO 12 (HSD17B12)

La HSD17B12 es una isoenzima multifuncional que participa en la conversión de la estrona a estradiol (E2), y en el alargamiento de ácidos grasos de cadena larga de, en particular la conversión de ácido palmítico a archadonic (AA), el precursor de los esteroides y el mediador inflamatorio, la prostaglandina E2.

Métodos de medición

Determinación por medio de un análisis inmunohistoquímico de la presencia de HSD17B12 por medio de anticuerpo monoclonal específico.

Utilidad clínica: valor pronóstico y valor predictivo.

Existe una evidencia creciente que sugiere que las hormonas reproductivas pueden afectar la progresión tumoral, la proliferación y las metástasis(62). En el tejido ovarico normal, HSD17B12 se detecta en las células de la granulosa de folículos en desarrollo pero no en el epitelio de la superficie. Por el contrario, CEO es positivo para HSD17B, y su expresión se asocia un peor pronóstico, con tiempos más cortos de SLP y supervivencia global (63).

La sobreexpresión de HSD17B12 en CEO y su papel en la promoción el crecimiento del tumor sugiere que podría servir como un objetivo para intervenciones teraputicas. Además del desarrollo de inhibidores metabólicos de esta isoforma HSD17B, también se podría considerar inmunoterapia basada HSD17B12 en el futuro. En este sentido, HSD17B12 ha sido definida como un antígeno tumoral para células T CD8+(64).

RECOMENDACIÓN

Los datos actuales no son suficientes para emplear la determinación de la HSD17B12 en la toma de decisiones que se lleva a cabo en la práctica clínica diaria. No se dispone de estudios prospectivos adecuadamente diseñados para su validación.

PEPTIDASAS RELACIONADAS CON CALICREINA (KLK)

EL desarrollo de la proteómica ha permitido introducir otro enfoque poderoso para la detección de proteínas que pueden tener utilidad como biomarcadores en CEO como la KLK. Diferentes KLK se sobreexpresan de forma aberrante en el tejido CEO, en particular, en los tumores tipo II.

Métodos de medición

Las KLK, especialmente la 6 y 7, se sobreexpresan significativamente en relación con los controles normales en la mayoría de las líneas celulares de cáncer de ovarios. La sobreexpresión de KLK6 y KLK7 determinada mediante mRNA, se relaciona directamente con la determinación mediante hibridación in situ o mediante inmunohistoquímica, por lo que cualquiera de los tres medios es válido para su determinación en tejido parafinado. Por último, de KLK están significativamente elevados en el suero de pacientes con CEO de tipo 2(65).

Utilidad clínica: valor pronóstico y valor predictivo.

KLKs juegan un papel en muchos aspectos de la fisiopatología incluyendo hidrólisis de los factores de crecimiento, proteasas, receptores celulares unidos a membrana, proteínas de adhesión y citocinas, y en la regulación intracelular de vías de señalización. Existe una diferenciación diferencial entre el tejido de CEO y el tejido sano.

Los niveles altos de KLK se asocian con el pronóstico de pacientes con cáncer de ovario, por lo que sugiere que no sólo tienen aplicación como marcadores biológicos, sino también median en la progresión de la enfermedad, y por lo tanto son potenciales dianas terapéuticas. Existen estudios recientes que han demostrado la función de estas proteasas en la promoción y/o supresión en el comportamiento invasivo de las células de cáncer de ovario en la metástasis in vitro e in vivo. Ambos métodos de cultivo celular convencionales y plataformas tridimensionales se han aplicado imitar el microambiente del CEO, tales como la matriz sólida estromal y el líquido de ascitis(66).

RECOMENDACIÓN

No se recomienda la determinación de forma aislada de estos marcadores de proliferación para la toma de decisiones en la práctica diaria.

BIBLIOGRAFÍA

1. Llorc G, Chirivella I, Morales R, Serrano R, Sanchez AB, Teule A, et al. SEOM clinical guidelines in Hereditary Breast and ovarian cancer. Clin Transl Oncol. 2015;17(12):956-61.
2. Berliner JL, Fay AM, Cummings SA, Burnett B, Tillmanns T. NSGC practice guideline: risk assessment and genetic counseling for hereditary breast and ovarian cancer. J Genet Couns. 2013;22(2):155-63.

3. Ledermann JA, Raja FA, Fotopoulou C, Gonzalez-Martin A, Colombo N, Sessa C, et al. Newly diagnosed and relapsed epithelial ovarian carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2013;24 Suppl 6:vi24-32.
4. Bolton KL, Chenevix-Trench G, Goh C, Sadetzki S, Ramus SJ, Karlan BY, et al. Association between BRCA1 and BRCA2 mutations and survival in women with invasive epithelial ovarian cancer. *Jama*. 2012;307(4):382-90.
5. Zhong Q, Peng HL, Zhao X, Zhang L, Hwang WT. Effects of BRCA1- and BRCA2-related mutations on ovarian and breast cancer survival: a meta-analysis. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2015;21(1):211-20.
6. Meehan RS, Chen AP. New treatment option for ovarian cancer: PARP inhibitors. *Gynecol Oncol Res Pract*. 2016;3:3.
7. Ledermann J, Harter P, Gourley C, Friedlander M, Vergote I, Rustin G, et al. Olaparib maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed serous ovarian cancer: a preplanned retrospective analysis of outcomes by BRCA status in a randomised phase 2 trial. *The Lancet Oncology*. 2014;15(8):852-61.
8. Adams SF, Marsh EB, Elmasri W, Halberstadt S, Vandecker S, Sammel MD, et al. A high response rate to liposomal doxorubicin is seen among women with BRCA mutations treated for recurrent epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol*. 2011;123(3):486-91.
9. Yang D, Khan S, Sun Y, Hess K, Shmulevich I, Sood AK, et al. Association of BRCA1 and BRCA2 mutations with survival, chemotherapy sensitivity, and gene mutator phenotype in patients with ovarian cancer. *Jama*. 2011;306(14):1557-65.
10. Alsop K, Fereday S, Meldrum C, deFazio A, Emmanuel C, George J, et al. BRCA mutation frequency and patterns of treatment response in BRCA mutation-positive women with ovarian cancer: a report from the Australian Ovarian Cancer Study Group. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2012;30(21):2654-63.
11. Santaballa A, Barretina P, Casado A, Garcia Y, Gonzalez-Martin A, Guerra E, et al. SEOM Clinical Guideline in ovarian cancer (2016). *Clin Transl Oncol*. 2016;18(12):1206-12.
12. Harris CC. Structure and function of the p53 tumor suppressor gene: clues for rational cancer therapeutic strategies. *Journal of the National Cancer Institute*. 1996;88(20):1442-55.
13. Konstantinopoulos PA, Spentzos D, Karlan BY, Taniguchi T, Fountzilas E, Francoeur N, et al. Gene expression profile of BRCAness that correlates with responsiveness to chemotherapy and with outcome in patients with epithelial ovarian cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2010;28(22):3555-61.
14. Mukhopadhyay A, Plummer ER, Elattar A, Soohoo S, Uzir B, Quinn JE, et al. Clinicopathological features of homologous recombination-deficient epithelial ovarian cancers: sensitivity to PARP inhibitors, platinum, and survival. *Cancer research*. 2012;72(22):5675-82.

15. Pennington KP, Walsh T, Harrell MI, Lee MK, Pennil CC, Rendi MH, et al. Germline and somatic mutations in homologous recombination genes predict platinum response and survival in ovarian, fallopian tube, and peritoneal carcinomas. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2014;20(3):764-75.
16. McNeish IA, Oza AM, Coleman RL, Scott CL, Konecny GE, Tinker A, et al., editors. Results of ARIEL2: A Phase 2 trial to prospectively identify ovarian cancer patients likely to respond to rucaparib using tumor genetic analysis. *ASCO Annual Meeting Proceedings*; 2015.
17. Mirza MR, Monk BJ, Herrstedt J, Oza AM, Mahner S, Redondo A, et al. Niraparib maintenance therapy in platinum-sensitive, recurrent ovarian cancer. *New England Journal of Medicine*. 2016;375(22):2154-64.
18. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2015;26(2):259-71.
19. Milne K, Alexander C, Webb JR, Sun W, Dillon K, Kalloger SE, et al. Absolute lymphocyte count is associated with survival in ovarian cancer independent of tumor-infiltrating lymphocytes. *J Transl Med*. 2012;10:33.
20. Giannakakis A, Karapetsas A, Dangaj D, Lanitis E, Tanyi J, Coukos G, et al. Overexpression of SMARCE1 is associated with CD8+ T-cell infiltration in early stage ovarian cancer. *Int J Biochem Cell Biol*. 2014;53:389-98.
21. Nelson BH. The impact of T-cell immunity on ovarian cancer outcomes. *Immunol Rev*. 2008;222:101-16.
22. Tomsova M, Melichar B, Sedlakova I, Steiner I. Prognostic significance of CD3+ tumor-infiltrating lymphocytes in ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2008;108(2):415-20.
23. Sato E, Olson SH, Ahn J, Bundy B, Nishikawa H, Qian F, et al. Intraepithelial CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes and a high CD8+/regulatory T cell ratio are associated with favorable prognosis in ovarian cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005;102(51):18538-43.
24. Nielsen JS, Nelson BH. Tumor-infiltrating B cells and T cells: Working together to promote patient survival. *Oncoimmunology*. 2012;1(9):1623-5.
25. Nielsen JS, Sahota RA, Milne K, Kost SE, Nesslinger NJ, Watson PH, et al. CD20+ tumor-infiltrating lymphocytes have an atypical CD27- memory phenotype and together with CD8+ T cells promote favorable prognosis in ovarian cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2012;18(12):3281-92.
26. Webb JR, Milne K, Watson P, Deleeuw RJ, Nelson BH. Tumor-infiltrating lymphocytes expressing the tissue resident memory marker CD103 are associated with increased survival in high-grade serous ovarian cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2014;20(2):434-44.

27. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Shimizu J, Yamazaki S, Sakihama T, Itoh M, et al. Immunologic tolerance maintained by CD25+ CD4+ regulatory T cells: their common role in controlling autoimmunity, tumor immunity, and transplantation tolerance. *Immunol Rev.* 2001;182:18-32.
28. Curiel TJ, Coukos G, Zou L, Alvarez X, Cheng P, Mottram P, et al. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. *Nat Med.* 2004;10(9):942-9.
29. Szajnik M, Czystowska M, Szczepanski MJ, Mandapathil M, Whiteside TL. Tumor-derived microvesicles induce, expand and up-regulate biological activities of human regulatory T cells (Treg). *PLoS One.* 2010;5(7):e11469.
30. Bergmann C, Strauss L, Wang Y, Szczepanski MJ, Lang S, Johnson JT, et al. T regulatory type 1 cells in squamous cell carcinoma of the head and neck: mechanisms of suppression and expansion in advanced disease. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research.* 2008;14(12):3706-15.
31. Kawamura K, Komohara Y, Takaishi K, Katabuchi H, Takeya M. Detection of M2 macrophages and colony-stimulating factor 1 expression in serous and mucinous ovarian epithelial tumors. *Pathol Int.* 2009;59(5):300-5.
32. Le Page C, Marineau A, Bonza PK, Rahimi K, Cyr L, Labouba I, et al. BTN3A2 expression in epithelial ovarian cancer is associated with higher tumor infiltrating T cells and a better prognosis. *PLoS One.* 2012;7(6):e38541.
33. Lan C, Huang X, Lin S, Huang H, Cai Q, Wan T, et al. Expression of M2-polarized macrophages is associated with poor prognosis for advanced epithelial ovarian cancer. *Technol Cancer Res Treat.* 2013;12(3):259-67.
34. No JH, Moon JM, Kim K, Kim YB. Prognostic significance of serum soluble CD163 level in patients with epithelial ovarian cancer. *Gynecol Obstet Invest.* 2013;75(4):263-7.
35. Wilke CM, Kryczek I, Zou W. Antigen-presenting cell (APC) subsets in ovarian cancer. *Int Rev Immunol.* 2011;30(2-3):120-6.
36. Zhang Z, Huang J, Zhang C, Yang H, Qiu H, Li J, et al. Infiltration of dendritic cells and T lymphocytes predicts favorable outcome in epithelial ovarian cancer. *Cancer Gene Ther.* 2015;22(4):198-206.
37. Labidi-Galy SI, Sisirak V, Meeus P, Gobert M, Treilleux I, Bajard A, et al. Quantitative and functional alterations of plasmacytoid dendritic cells contribute to immune tolerance in ovarian cancer. *Cancer research.* 2011;71(16):5423-34.
38. Khan AN, Kolomeyevskaya N, Singel KL, Grimm MJ, Moysich KB, Daudi S, et al. Targeting myeloid cells in the tumor microenvironment enhances vaccine efficacy in murine epithelial ovarian cancer. *Oncotarget.* 2015;6(13):11310-26.
39. Kryczek I, Zou L, Rodriguez P, Zhu G, Wei S, Mottram P, et al. B7-H4 expression identifies a novel suppressive macrophage population in human ovarian carcinoma. *J Exp Med.* 2006;203(4):871-81.
40. Obermajer N, Muthuswamy R, Odunsi K, Edwards RP, Kalinski P. PGE(2)-induced CXCL12 production and CXCR4 expression controls the accumulation of human MDSCs in ovarian cancer environment. *Cancer research.* 2011;71(24):7463-70.
41. Balkwill FR, Capasso M, Hagemann T. The tumor microenvironment at a glance. *J Cell Sci.* 2012;125(Pt 23):5591-6.

42. Hart KM, Bak SP, Alonso A, Berwin B. Phenotypic and functional delineation of murine CX(3)CR1 monocyte-derived cells in ovarian cancer. *Neoplasia*. 2009;11(6):564-73, 1 p following 73.
43. Lesokhin AM, Hohl TM, Kitano S, Cortez C, Hirschhorn-Cymerman D, Avogadri F, et al. Monocytic CCR2(+) myeloid-derived suppressor cells promote immune escape by limiting activated CD8 T-cell infiltration into the tumor microenvironment. *Cancer research*. 2012;72(4):876-86.
44. Pantic I. Cancer stem cell hypotheses: impact on modern molecular physiology and pharmacology research. *J Biosci*. 2011;36(5):957-61.
45. Tirino V, Desiderio V, Paino F, De Rosa A, Papaccio F, La Noce M, et al. Cancer stem cells in solid tumors: an overview and new approaches for their isolation and characterization. *FASEB J*. 2013;27(1):13-24.
46. Burgos-Ojeda D, Rueda BR, Buckanovich RJ. Ovarian cancer stem cell markers: prognostic and therapeutic implications. *Cancer Lett*. 2012;322(1):1-7.
47. Tirino V, Desiderio V, d'Aquino R, De Francesco F, Pirozzi G, Graziano A, et al. Detection and characterization of CD133+ cancer stem cells in human solid tumours. *PLoS One*. 2008;3(10):e3469.
48. Zhang J, Guo X, Chang DY, Rosen DG, Mercado-Urbe I, Liu J. CD133 expression associated with poor prognosis in ovarian cancer. *Mod Pathol*. 2012;25(3):456-64.
49. Landen CN, Jr., Goodman B, Katre AA, Steg AD, Nick AM, Stone RL, et al. Targeting aldehyde dehydrogenase cancer stem cells in ovarian cancer. *Mol Cancer Ther*. 2010;9(12):3186-99.
50. Deng S, Yang X, Lassus H, Liang S, Kaur S, Ye Q, et al. Distinct expression levels and patterns of stem cell marker, aldehyde dehydrogenase isoform 1 (ALDH1), in human epithelial cancers. *PLoS One*. 2010;5(4):e10277.
51. Chang B, Liu G, Xue F, Rosen DG, Xiao L, Wang X, et al. ALDH1 expression correlates with favorable prognosis in ovarian cancers. *Mod Pathol*. 2009;22(6):817-23.
52. Steffensen KD, Alvero AB, Yang Y, Waldstrom M, Hui P, Holmberg JC, et al. Prevalence of epithelial ovarian cancer stem cells correlates with recurrence in early-stage ovarian cancer. *J Oncol*. 2011;2011:620523.
53. Kristiansen G, Denkert C, Schluns K, Dahl E, Pilarsky C, Hauptmann S. CD24 is expressed in ovarian cancer and is a new independent prognostic marker of patient survival. *Am J Pathol*. 2002;161(4):1215-21.
54. Zhang S, Cui B, Lai H, Liu G, Ghia EM, Widhopf GF, 2nd, et al. Ovarian cancer stem cells express ROR1, which can be targeted for anti-cancer-stem-cell therapy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2014;111(48):17266-71.
55. Gui T, Shen K. The epidermal growth factor receptor as a therapeutic target in epithelial ovarian cancer. *Cancer Epidemiol*. 2012;36(5):490-6.
56. Granados ML, Hudson LG, Samudio-Ruiz SL. Contributions of the Epidermal Growth Factor Receptor to Acquisition of Platinum Resistance in Ovarian Cancer Cells. *PLoS One*. 2015;10(9):e0136893.

57. Baron AT, Boardman CH, Lafky JM, Rademaker A, Liu D, Fishman DA, et al. Soluble epidermal growth factor receptor (sEGFR) [corrected] and cancer antigen 125 (CA125) as screening and diagnostic tests for epithelial ovarian cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005;14(2):306-18.
58. Baron AT, Cora EM, Lafky JM, Boardman CH, Buenafe MC, Rademaker A, et al. Soluble epidermal growth factor receptor (sEGFR/sErbB1) as a potential risk, screening, and diagnostic serum biomarker of epithelial ovarian cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003;12(2):103-13.
59. Basal E, Eghbali-Fatourehchi GZ, Kalli KR, Hartmann LC, Goodman KM, Goode EL, et al. Functional folate receptor alpha is elevated in the blood of ovarian cancer patients. *PLoS One.* 2009;4(7):e6292.
60. Kurosaki A, Hasegawa K, Kato T, Abe K, Hanaoka T, Miyara A, et al. Serum folate receptor alpha as a biomarker for ovarian cancer: Implications for diagnosis, prognosis and predicting its local tumor expression. *International journal of cancer Journal international du cancer.* 2016;138(8):1994-2002.
61. Sheu JJ, Shih le M. Clinical and biological significance of HLA-G expression in ovarian cancer. *Semin Cancer Biol.* 2007;17(6):436-43.
62. Jeon SY, Hwang KA, Choi KC. Effect of steroid hormones, estrogen and progesterone, on epithelial mesenchymal transition in ovarian cancer development. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2016;158:1-8.
63. Szajnik M, Szczepanski MJ, Elishaev E, Visus C, Lenzner D, Zabel M, et al. 17beta Hydroxysteroid dehydrogenase type 12 (HSD17B12) is a marker of poor prognosis in ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol.* 2012;127(3):587-94.
64. Visus C, Ito D, Dhir R, Szczepanski MJ, Chang YJ, Latimer JJ, et al. Identification of Hydroxysteroid (17beta) dehydrogenase type 12 (HSD17B12) as a CD8+ T-cell-defined human tumor antigen of human carcinomas. *Cancer immunology, immunotherapy : CII.* 2011;60(7):919-29.
65. Tamir A, Jag U, Sarojini S, Schindewolf C, Tanaka T, Gharbaran R, et al. Kallikrein family proteases KLK6 and KLK7 are potential early detection and diagnostic biomarkers for serous and papillary serous ovarian cancer subtypes. *J Ovarian Res.* 2014;7:109.
66. Dong Y, Loessner D, Irving-Rodgers H, Obermair A, Nicklin JL, Clements JA. Metastasis of ovarian cancer is mediated by kallikrein related peptidases. *Clin Exp Metastasis.* 2014;31(1):135-47.