



Temas actuales: biopsia líquida

Bioinformática

2-3-2018

Elvira Mayordomo



Oferta de empleo

- **POSTDOC OR PH.D BIOINFORMATICS:
LIQUID BIOPSIES IN PRENATAL AND
CANCER DIAGNOSIS**
- The Laboratory for Cytogenetics and Genome research at the Center for Human Genetics develops tools for preimplantation, prenatal and cancer diagnosis. Currently, we are developing new approaches to improve non-invasive prenatal and cancer diagnosis.
 - The postdoc/Ph.D will implement and develop bioinformatics tools to improve genome wide haplotyping within liquid biopsies.
 - She/he will develop novel methods enabling epigenetic analysis of liquid biopsy material.
- - She/he will improve proprietary methods to broaden the medical scope of liquid biopsies.



¿Qué es eso de la biopsia líquida?

- Cuando una célula muere (muerte celular programada) su DNA se fragmenta en trozos de 160-180 bp que se lanzan al torrente sanguíneo
- La cantidad de este DNA libre varía mucho de persona a persona
- Se llama cfDNA (cell-free DNA) ó ccfDNA (circulating cell-free DNA)



¿Qué es eso de la biopsia líquida?

- Este DNA libre en sangre se utiliza para varios análisis, los principales:
 - Diagnóstico prenatal no invasivo
 - Biopsia líquida: diagnosis de cáncer mediante análisis de sangre
- En ambos casos la cantidad de DNA “interesante” varía mucho, es decir
 - Del feto
 - De células tumorales



Tres retos

- Separar:
 - DNA fetal de materno
 - DNA tumoral del sano
- Analizar
- Cuantificar



DIAGNÓSTICO GENÉTICO PRENATAL NOINVASIVO



¿DNA fetal en sangre?

- La placenta no es la barrera infranqueable que se creía
- Se sabe hace tiempo que hay células del feto en la sangre de una embarazada, que pasan a través de la placenta
- Se intentaron hacer análisis genéticos a partir de las células fetales en sangre pero no fue posible, hay demasiado pocas



¿DNA fetal libre en sangre?

- Se ha descubierto que existe DNA libre en la sangre de muchas personas
- En el caso de las embarazadas, existe DNA fetal libre en sangre detectable a las 10 semanas de gestación
- Este DNA fetal libre está muy fragmentado (máximo unos 200 bps)
- Para usarlo en un potencial análisis genético prenatal el principal problema es la confusión con el DNA materno, que además de estar presente forma la mitad del DNA fetal



Técnicas nuevas

- Técnicas para distinguir el DNA fetal del materno:
 - Técnicas de laboratorio para evitar que al extraer el DNA libre se rompan las células maternas aumentando así el DNA materno
 - Técnicas para seleccionar sobre todo fragmentos pequeños
 - Técnicas para identificar sobre todo el DNA paterno



bioinformática



Para identificar/cuantificar DNA fetal

- Métodos de aprendizaje que usan:
 - Cromosoma Y (sólo válido para fetos varones)
 - DNA paterno (problemas cuando hay discrepancias o no está disponible)
 - SNPs en los que el padre y la madre difieren (y cada uno es homocigótico)
 - SNPs en los que la madre es homocigótica y el feto heterocigótico



Técnicas nuevas

- Técnicas para pesar (contar) cuántas copias hay de cada cromosoma (para estudio de aneuploidías, por ej., síndrome de Down)
 - Digital PCR, mass spectromy
- Posibilidad de otros análisis genéticos más concretos: un solo gen relacionado con una enfermedad
- En todos los casos estimar la proporción de DNA fetal es crucial para conocer la fiabilidad del análisis



Muchas preguntas

- ¿Cuál es el coste real? ¿Por qué el precio es tan alto?
- ¿Qué se ha patentado exactamente en USA?, ¿qué máquinas se usan?
- ¿Pueden mejorarse las técnicas bioinformáticas usadas? ¿Hasta dónde llegará el análisis genético?
- Cuestiones éticas



DIAGNÓSTICO DE CÁNCER



¿para qué?

- Identificar la heterogenicidad del tumor
- Investigar la evolución del genoma tumoral en el tiempo
- Identificar la recurrencia del tumor y
- Identificar la resistencia adquirida que lleva a cambiar el tratamiento



¿por qué biopsia líquida?

- Porque requiere una pequeña muestra de sangre del paciente que se obtiene fácilmente ←- no invasivo
- Se puede hacer cuando la cirugía es imposible (tumores cerebrales)
- El futuro puede ser análisis periódico de sangre para control TNM en pacientes

TNM= extensión Tumor, Nodos afectados, Metástasis



Pero ...

- Los beneficios se oscurecen por las dificultades inherentes al análisis de datos, que requieren identificar variantes que se dan en menos del 1% de las muestras
- El reto aumenta en al interpretación de los resultados ...



Los datos

- La cantidad de ccfDNA es muy variable:
 - De una persona a otra
 - Según el estadio de la enfermedad
- Limitado a 1–100 ng/ ml plasma
- El ratio entre fragmentos provenientes de tumorales y el DNA normal es muy bajo



Problemas importantes

- Se requieren técnicas especiales de extracción y lectura de fragmentos pequeños
- Cómo identificar el ccfDNA tumoral



Cuantificación de la cantidad de ccfDNA tumoral

- La cantidad puede depender también de:
 - estadio del tumor (“tumor burden”)
 - éxito del tratamiento aplicado
 - pronóstico general
- Cuantificar de forma precisa la cantidad de ccfDNA es esencial para vigilar la evolución de un paciente



Referencias

Hay muchos artículos, de vez en cuando un resumen del estado del arte

- The use of cell-free fetal nucleic acids in maternal blood for non-invasive prenatal diagnosis (C. F. Wright and H. Burton Hum. Reprod. Update 15 (1): 139-151) 2008
- Bioinformatics Approaches for Fetal DNA Fraction Estimation in Noninvasive Prenatal Testing (Int J Mol Sci.; 18(2): 453 X. L. Peng, P. Jiang) 2017
- Incorporating blood-based liquid biopsy information into cancer staging: time for a TNMB system? (Ann Oncol.;29(2):311-323) 2018