

# Temas actuales: biopsia líquida

Bioinformática

7-3-2019

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.



# Ofertas de empleo

- <https://academicpositions.es/ad/princess-margaret-cancer-centre/2018/bioinformatics-postdoctoral-fellow-and-bioinformatics-research-associate/111241>
- <https://mug.glowbase.com/positions/120>
- [https://www.medunigraz.at/fileadmin/studieren/phd/PhD\\_Call/Position\\_Liquid\\_biopsies\\_for\\_early\\_detection\\_of\\_cancer\\_Kopie.pdf](https://www.medunigraz.at/fileadmin/studieren/phd/PhD_Call/Position_Liquid_biopsies_for_early_detection_of_cancer_Kopie.pdf)



# ¿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

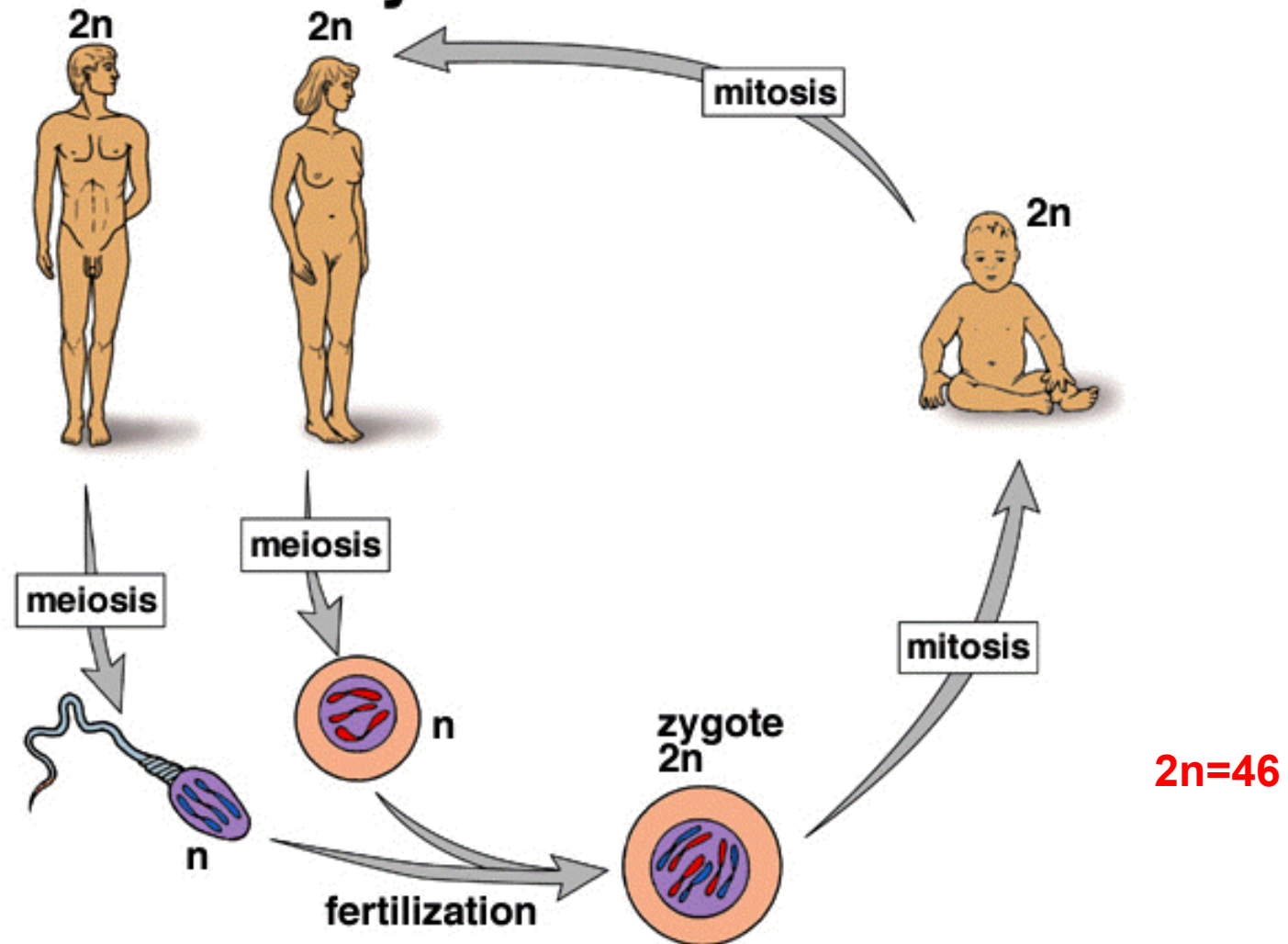
- Técnicas para distinguir el DNA fetal del materno:
  - Técnicas de laboratorio para evitar que al extraer el DNA libre se rompan las células maternas aumentando así el DNA materno
  - Técnicas para seleccionar sobre todo fragmentos pequeños
  - Técnicas para identificar sobre todo el **DNA paterno**

bioinformática

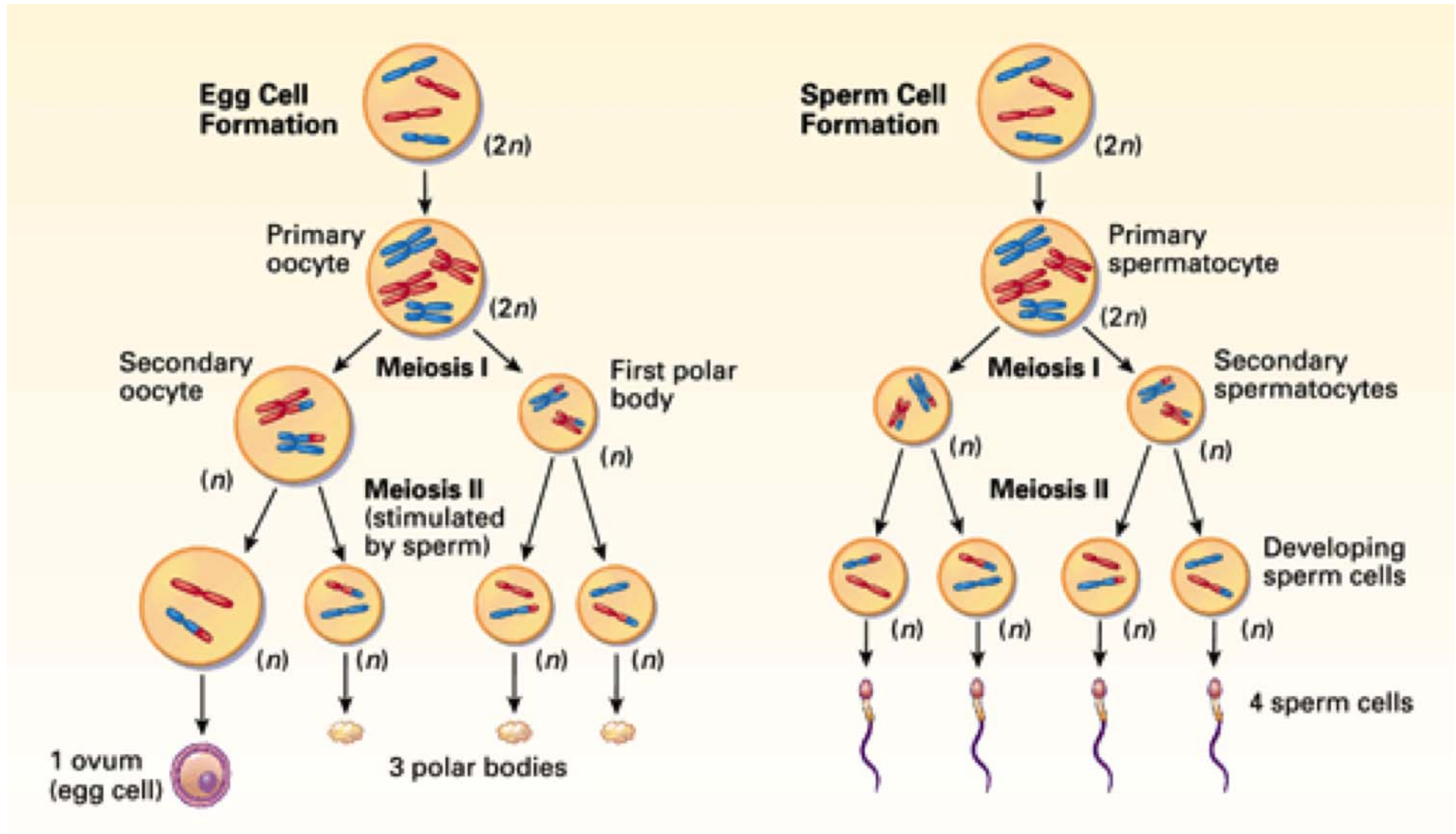
# Genética y reproducción sexual

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

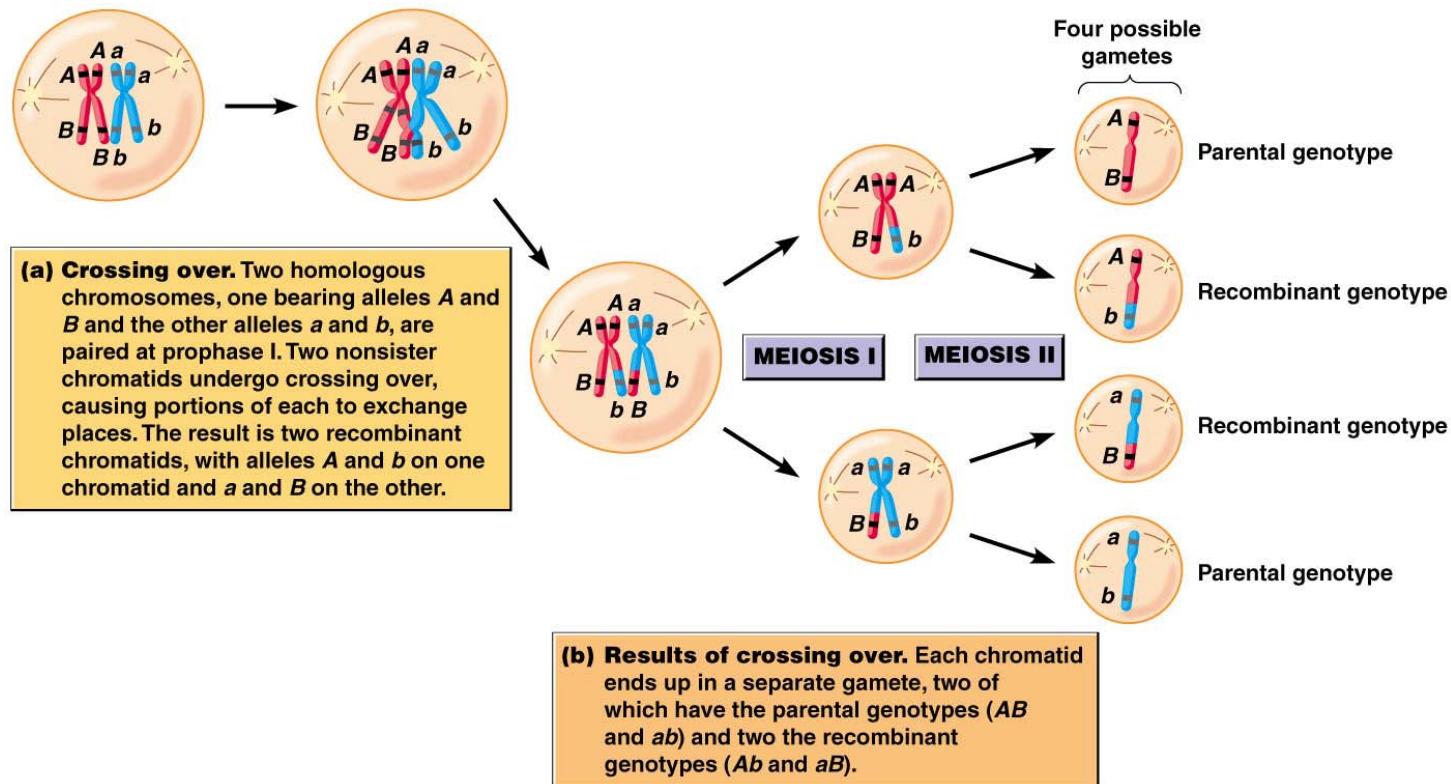
## Life cycle of humans



# Genética y reproducción sexual



# Genética y reproducción sexual





Para distinguir el DNA fetal del materno ...



# 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