



Biopsia Líquida

Bioinformática

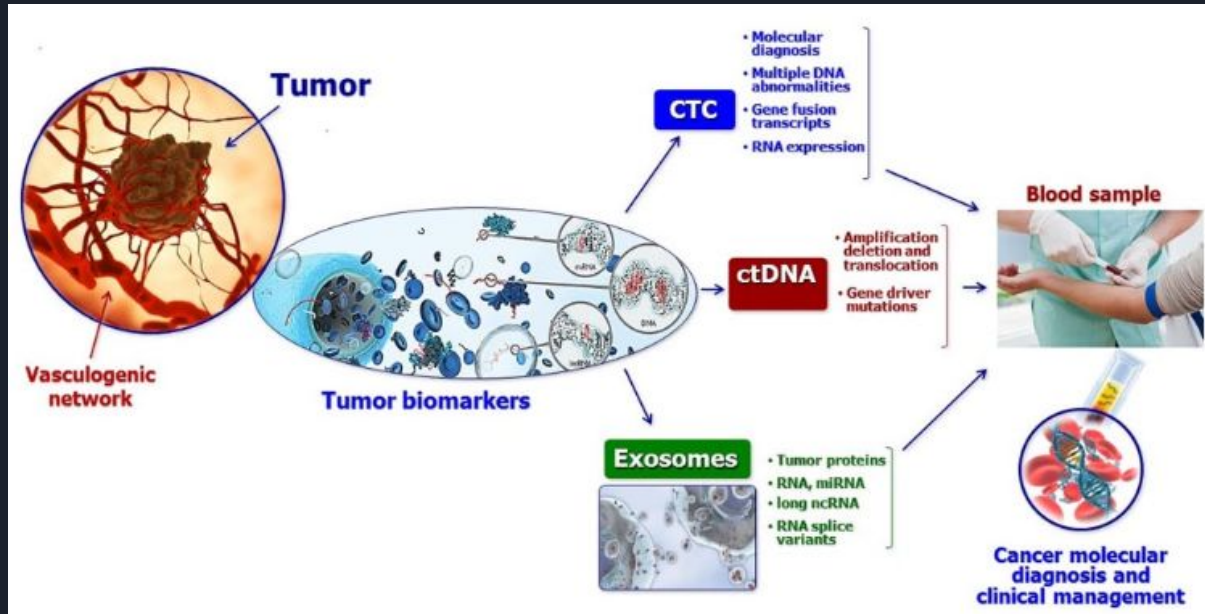
Mario Tapia López - 720159
Jaime Meléndez Cardiel - 718929



¿Qué es la biopsia líquida?

- Alternativa simple y no invasiva a las biopsias tradicionales.
- Permite descubrir información sobre un tumor a través de una muestra de sangre.
- Investigación inicial sobre biopsias líquidas en cánceres de pulmón, seno y próstata.
- Beneficio: poder detectar la progresión de la enfermedad antes de que desencadenen síntomas clínicos, y de forma mucho más segura.

Dianas moleculares

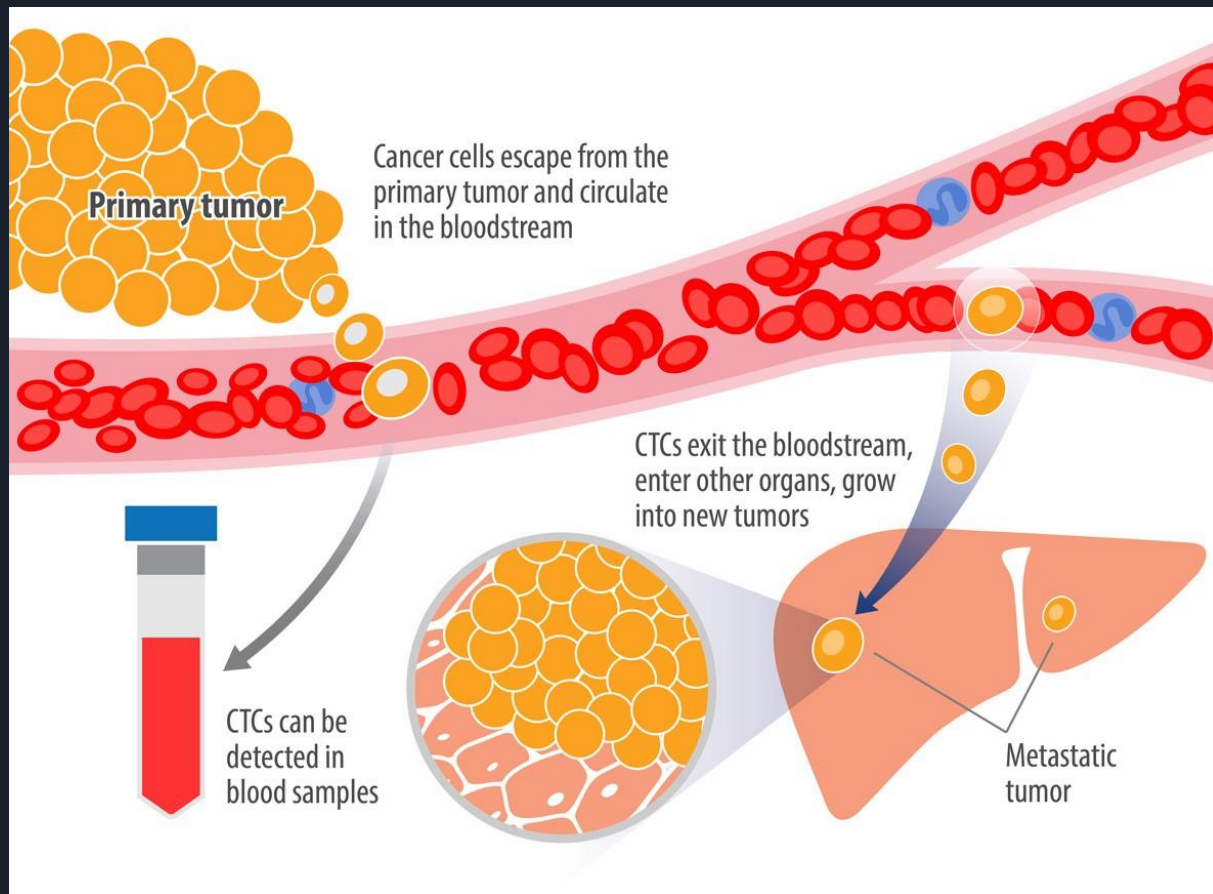




Células tumorales circulantes (CTCs)

Células que migran por el sistema circulatorio y son responsables del desarrollo de la metástasis a distancia.

- Tienen una frecuencia de aparición muy pequeña
- Proporcionan un enfoque ideal para el diagnóstico del cáncer
- Son principalmente grandes, con gran plasticidad y baja conductividad eléctrica
- Su principal biomarcador es el EPCAM (Epithelial Cell Adhesion Molecule)





Métodos de obtención

- ❖ Según propiedades físicas
- ❖ Imágenes de alta calidad
- ❖ Según características funcionales
- ❖ Nanotecnología

La mayoría de ellos incluyen la hemólisis de eritrocitos, la centrifugación de la célula y su lavado, esto supone una gran pérdida de información y una baja calidad de la misma.



Aplicaciones clínicas

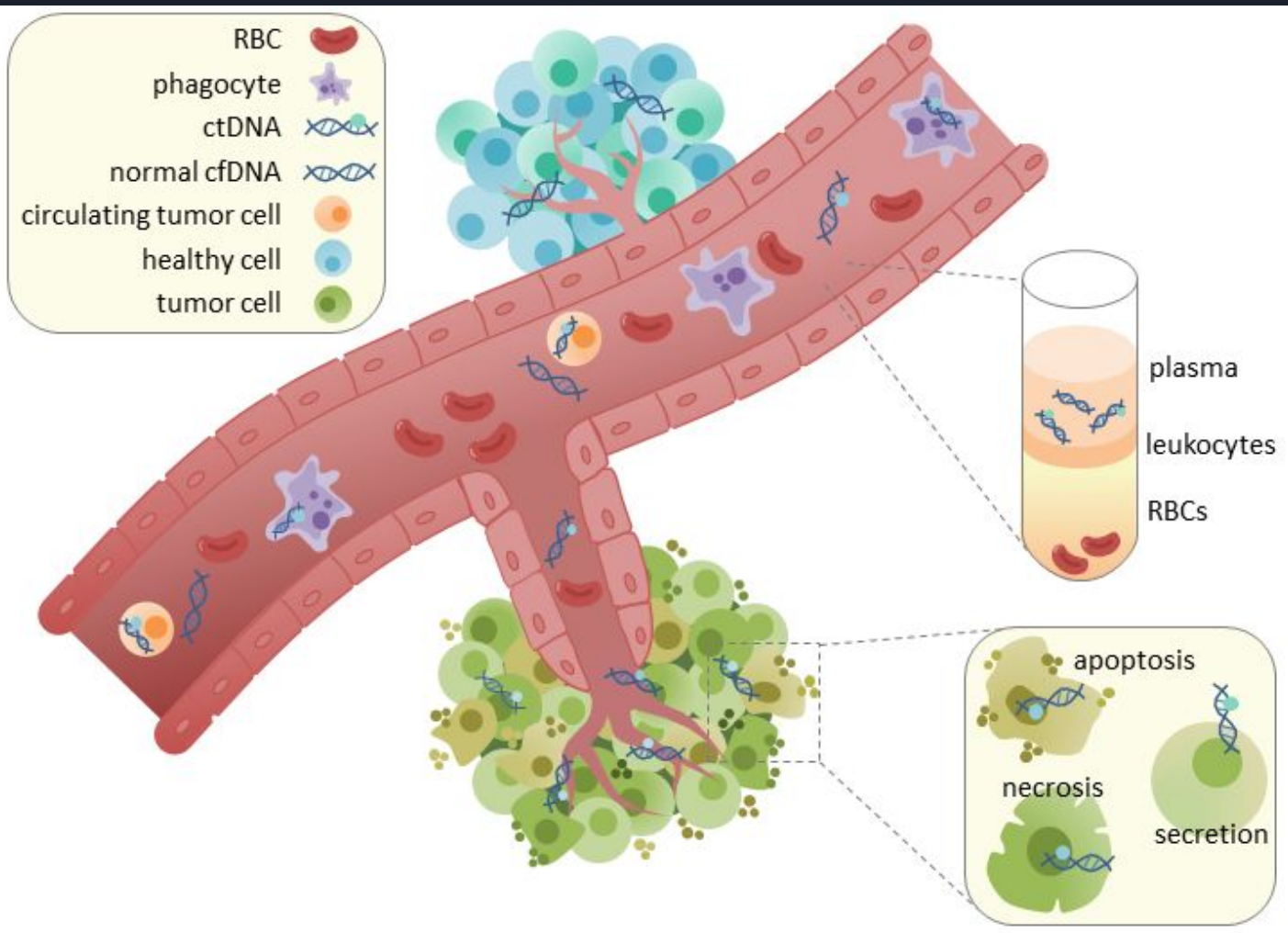
- ❑ **Pronóstico.** Se trata de su rol principal. Su presencia en sangre está directamente ligada a la presencia de algún cáncer.
- ❑ **Diagnóstico.** Sustituto de las biopsias tradicionales para casos concretos. También refleja la respuesta del cuerpo ante diversos tratamientos.
- ❑ **Terapéutica.** Las CTCs reflejan la evolución del cáncer en el paciente. Principalmente la metilación del DNA.



ADN tumoral circulante

Es un tipo de cfDNA (cell-free DNA) que se origina de las células tumorales.

- Generalmente proviene de la necrosis y apoptosis de las células tumorales, así como de la liberación por parte de estas
- Normalmente fagocitado por los macrófagos que en ocasiones lo liberan cuando carecen de capacidad para fagocitarlo
- Tiene una vida media de entre 16 minutos y las dos horas y media
- Su peso oscila entre los 10 ng/ml y los 100 ng/ml
- Únicamente entre el 0,1-10 % del ctDNA es cfDNA





Métodos de obtención

Según si se buscan genes mutados o cambios cromosómicos concretos se diferencia entre:

- ❖ Enfoque específico
 - PCR (Polymerase Chain Reaction))
 - NGS (Next-Generation Sequencing)
- ❖ Sin enfoque específico
 - WGS (Whole Genome Sequencing))
 - WES (Whole Exome Sequencing))



Aplicaciones clínicas

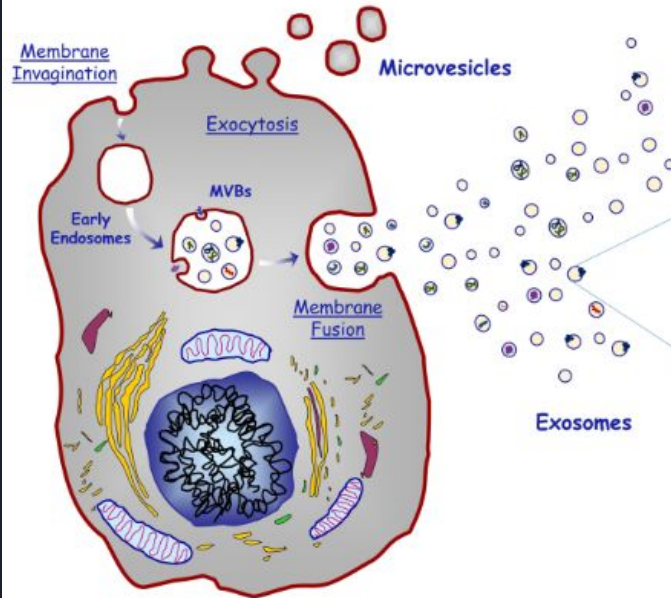
- ❑ **Diagnóstico.** Proporciona información relativa a mutaciones desconocidas debido a su correlación con los cánceres
- ❑ **Monitorización.** La cantidad de ctDNA es directamente proporcional a la carga tumoral tras una operación. Control de la respuesta ante tratamientos
- ❑ **Evolución molecular.** Detectar genes que presentan resistencia ante determinados tratamientos



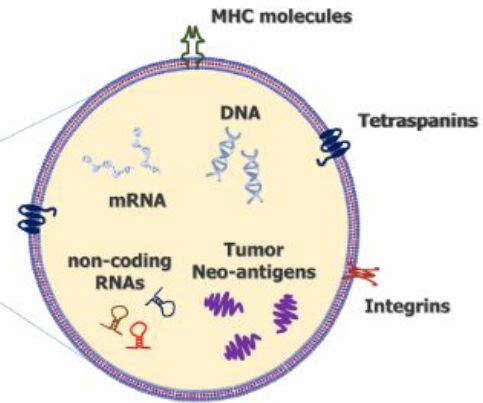
Exosomas

- Nanovesículas de entre 40 y 100 nm
- Liberadas por las células al ser recicladas por los endosomas
- Existentes en la mayor parte de fluidos
- Formados por una bicapa de lípidos
- Contienen proteínas, RNA y DNA

EXOSOME BIOGENESIS



EXOSOME CARGOS





Métodos de obtención

- ❖ Según tamaño, morfología y densidad
- ❖ Ultracentrifugación
- ❖ Precipitación
- ❖ Captura por inmuoafinidad

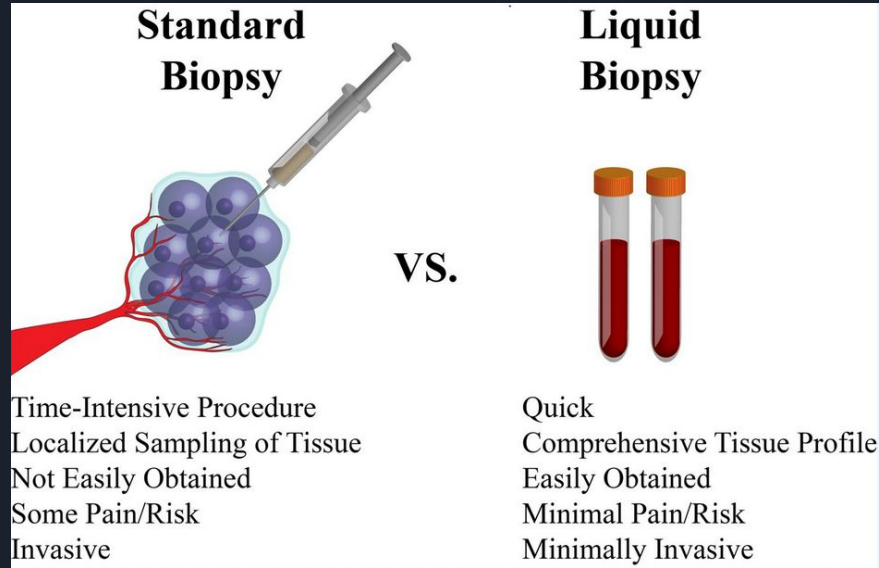


Aplicaciones clínicas

- ❑ Las proteínas presentes en los EXOs sirven tanto para el diagnóstico como el pronóstico.
- ❑ Tanto el RNA como el DNA sirven de complemento al estudio de las proteínas. Asimismo, son útiles a la hora de monitorizar pacientes.
- ❑ En conjunto los EXOs reflejan la respuesta de los enfermos ante las distintas terapias a las que son sometidos.

Sin embargo, el estudio y análisis de los exosomas es el menos avanzado de los tres. Por lo que se requiere de mayores estudios y pruebas para establecer conclusiones definitivas.

Biopsia líquida VS biopsia tradicional



Las biopsias líquidas tienen el potencial de revolucionar la detección del cáncer, pero todavía existen desafíos para su uso generalizado.



Artículo

Introducción

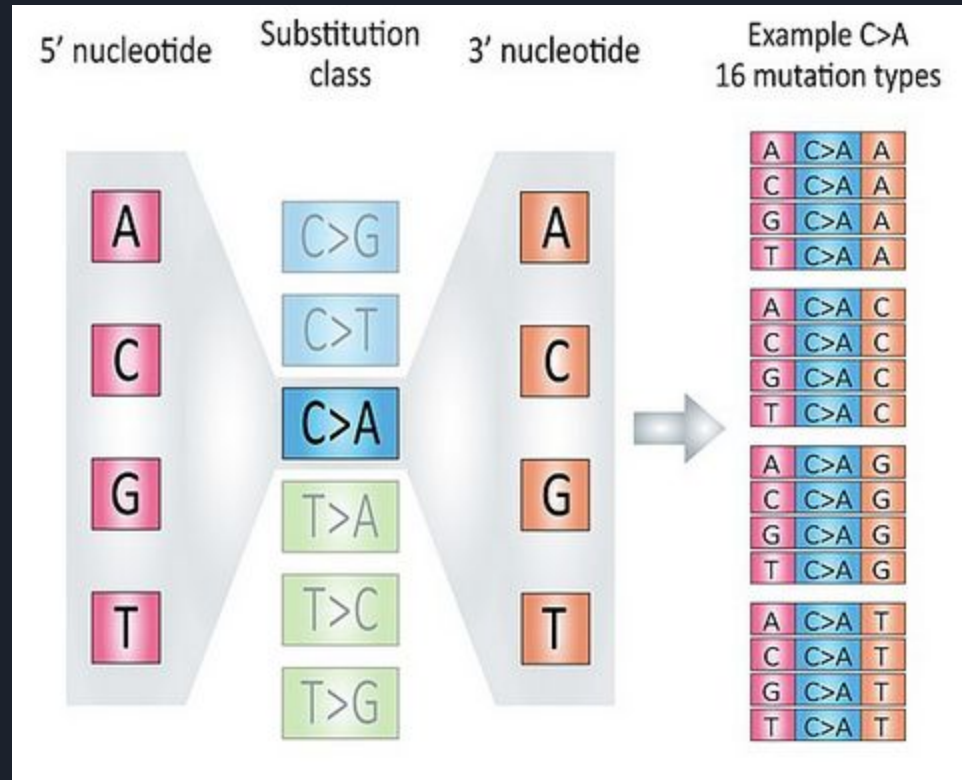
- El ctDNA es una gran promesa como herramienta para la detección temprana del cáncer, así como para monitorizar la progresión de esta enfermedad y sus respuestas terapéuticas.
- La poca abundancia de ctDNA en la sangre junto con los errores técnicos complican la detección de mutaciones.

TNER (Tri-Nucleotide Error Reducer) -> es un método que ayuda a lograr una mejor precisión y a reducir los errores de secuenciación.

TNER

TNC:

96 sustituciones distintas





TNER

87 genes relacionados con el cáncer -> 147.000 bases de estudio.

tasas de mutación de sujetos sanos -> errores de mutación que no son de origen tumoral.

Para este estudio se utiliza un grupo de 14 sujetos sanos.



TNER

Para un nucleótido en el grupo TNC i ($i = 1, \dots, 96$) en la posición j ($j = 1, \dots, J$), donde J es el total de bases estudiadas (147.000), el número de errores X_{ij} observados en N_j se asume que sigue una distribución binomial.

$$X_{ij} \sim \text{Binom}(N_j, \pi_{ij})$$

La tasa de error de mutación original (BMER en adelante) en la posición j se puede estimar utilizando el promedio de error en dicha posición de todos los sujetos sanos, $\hat{\pi}_{ij}$. Para mejorar la estimación de π , se propone que siga una distribución beta dentro de un TNC.

$$\pi \sim \text{Beta}(\alpha, \beta)$$

Por conveniencia, se reparametriza la distribución beta de la siguiente manera.

$$\pi \sim \text{Beta}(\mu, \nu), \text{ with } \mu = \frac{\alpha}{\alpha + \beta} \text{ and } \nu = \alpha + \beta$$



TNER

Los parámetros anteriores de la distribución beta se pueden estimar en función de la distribución BMER en un TNC utilizando el método de los momentos.

$$\mu' = \frac{\alpha + x}{\alpha + \beta + n} = w\mu + (1 - w)x/n$$

La media posterior de la BMER para la posición j con TNC i se puede estimar de la siguiente forma

$$\tilde{\pi}_{ij} = w_{ij}\hat{\mu}_i + (1 - w_{ij})\hat{\pi}_{ij}$$

Para calcular el peso se adopta un peso modificado que equilibra el tamaño relativo de la tasa de error TNC y la tasa de error específica de la posición.

$$w_{ij} = \frac{\hat{\mu}_i}{\hat{\mu}_i + \hat{\pi}_{ij}}$$



TNER

El umbral para la detección de mutaciones se puede definir en función del límite del intervalo superior posterior de π_{ij} .

$$B_{ij} = \beta \left(1 - \frac{\alpha}{2}, N_j \tilde{\pi}_{ij} + 1, N_j (1 - \tilde{\pi}_{ij}) \right)$$

donde

$\beta ()$ es la función cuantil de la distribución beta.

π_{ij} es la estimación posterior de la tasa de error de mutación.

N_j es el promedio en j de los sujetos sanos.

Si tasa de error de mutación observada en la posición j con TNC $i < B_{ij}$

TNC $\leq$ ruido de fondo

else

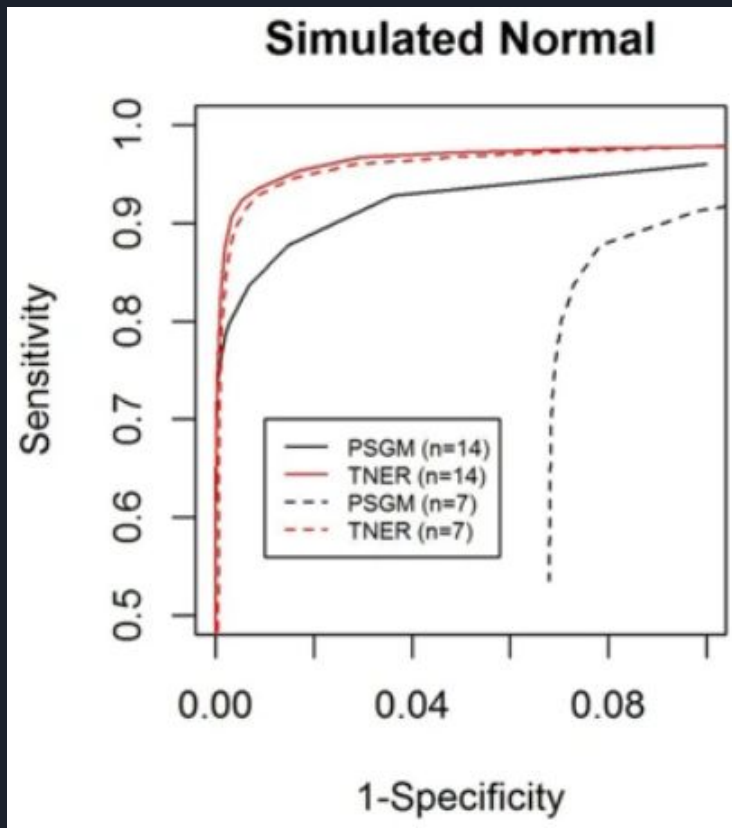
TNC $\leq$ mutación verdadera

TNER

Resultados

PSGM vs TNER

n=7 y n=14





TNER

Otras alternativas:

- Dinucleótidos:
 - Más simple
 - Peores resultados
- Pentanucleótidos o heptanucleótidos:
 - Más complejo
 - Mejores resultados



TNER

Conclusiones

Las biopsias líquidas se están convirtiendo en una herramienta importante como complemento a las biopsias tradicionales.

El método TNER proporciona un enfoque novedoso para conseguir una detección de mutaciones más precisa en las biopsias líquidas.



¿Preguntas?



Bibliografía

Crowley, Emily & Di Nicolantonio, Federica & Loupakis, Fotios & Bardelli, Alberto. (2013). Liquid biopsy: Monitoring cancer-genetics in the blood. *Nature reviews. Clinical oncology*. 10. 10.1038/nrclinonc.2013.110.

https://www.researchgate.net/publication/247772157_Liquid_biopsy_Monitoring_cancer-genetics_in_the_blood/citation/download

Palmirotta, Raffaele & Lovero, Domenica & Cafforio, Paola & Felici, Claudia & Mannavola, Francesco & Pellè, Eleonora & Quaresmini, Davide & Tucci, Marco & Silvestris, Franco. (2018). Liquid biopsy of cancer: a multimodal diagnostic tool in clinical oncology. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*. 10. 175883591879463. 10.1177/1758835918794630.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6116068/>

Deng, S., Lira, M., Huang, D. *et al.* TNER: a novel background error suppression method for mutation detection in circulating tumor DNA. *BMC Bioinformatics* 19, 387 (2018).

<https://bmcbioinformatics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12859-018-2428-3>



Bibliografía

<https://www.cancer.org/latest-news/liquid-biopsies-past-present-future.html>

https://www.roche.com/research_and_development/what_we_are_working_on/oncology/liquid-biopsy.htm

<https://newsnetwork.mayoclinic.org/discussion/mayo-clinic-q-and-a-what-is-a-liquid-biopsy/>

<https://www.mycancergenome.org/content/page/circulating-dna/>

<https://www.healio.com/hematology-oncology/learn-genomics/introduction-to-liquid-biopsies/what-is-a-liquid-biopsy>

<http://liquid-biopsy.gene-quantification.info/>