



FACULTAD DE
MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CHILE



Uso de la secuenciación ultraprofunda (NGS) para el diagnóstico y tratamiento del cáncer

Alumno: Carlos Zamorano

Tutora: Katherine Marcelain

Contenidos

Cáncer

- Definición
- Cómo se produce
- Mutaciones somáticas

Diagnóstico

- Técnicas convencionales (H/E, IHQ)

Tratamiento

- Terapias dirigidas
- Nuevas tecnologías (qPCR, NGS)

Conclusiones

Cáncer

National Cancer Institute

«Enfermedades en que las células anormales se dividen sin control y pueden invadir otros tejidos.»

«Las células cancerosas pueden diseminarse a otras partes del cuerpo por el sistema sanguíneo y por el sistema linfático.»



World Health Organization

«Proceso de crecimiento y diseminación incontrolados de células. Puede aparecer prácticamente en cualquier lugar del cuerpo.»

«El tumor suele invadir el tejido circundante y puede provocar metástasis en puntos distantes del organismo.»

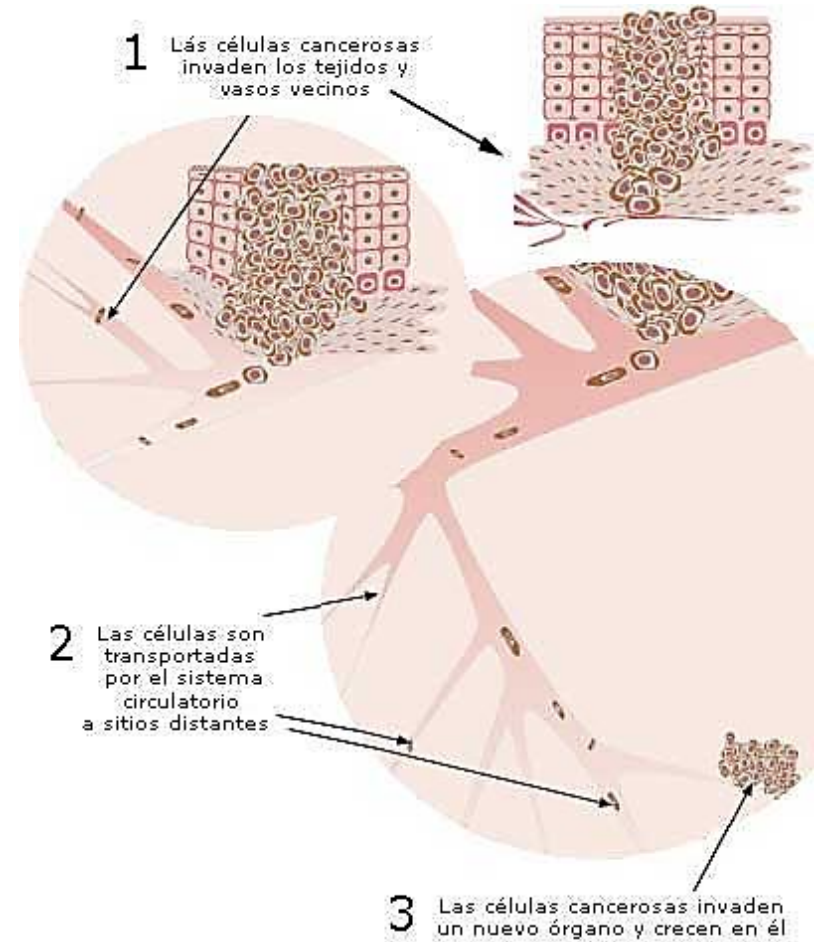
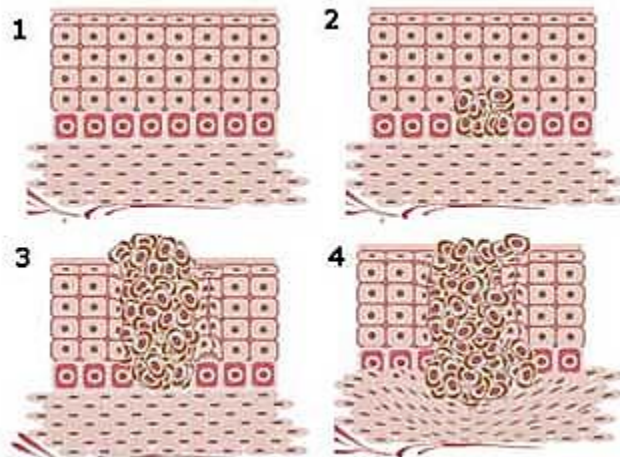


Cáncer

Carcinógenos

Alteración al
material
genético

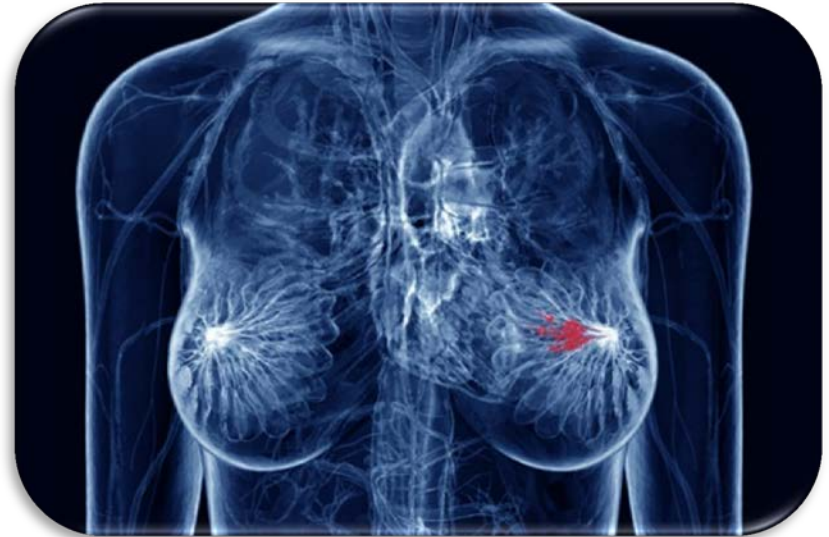
División
descontrolada



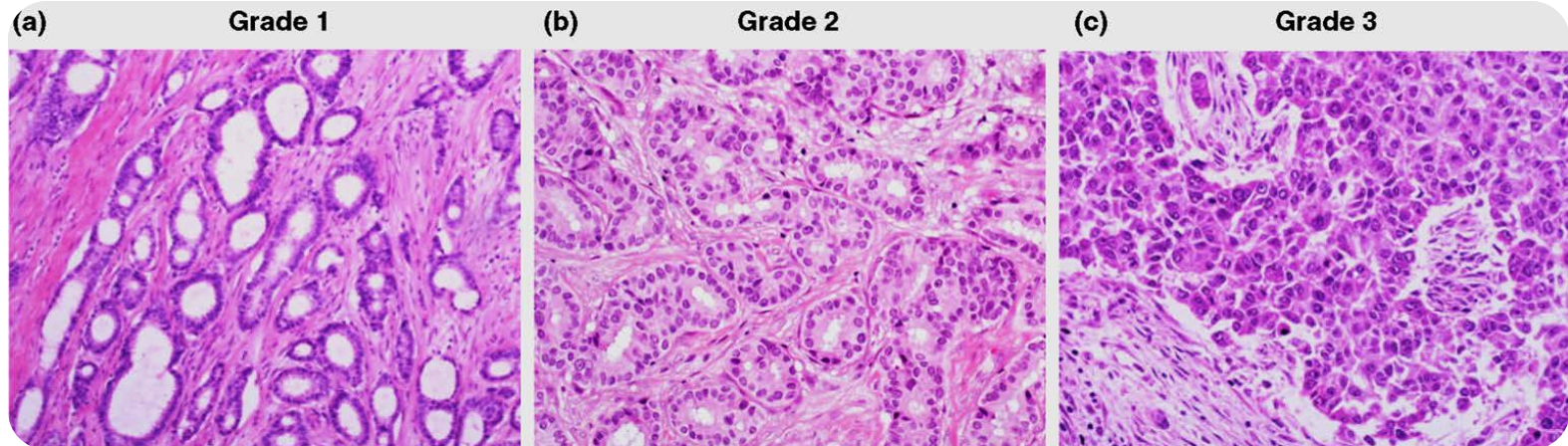
Diagnóstico histopatológico



<http://articles.latimes.com/2011/oct/24/news/la-heb-mammogram-breast-cancer-20111024>



http://nextnature.net/wp-content/uploads/2009/05/breast_cancer.jpg



Rakha, E. et al. *Breast Cancer Research* 2010 12:207.

Tipificación por Inmunohistoquímica

ESR1

Female, age 68
Breast (T-04000)
Duct carcinoma (M-85003)
Patient id: 159

Antibody staining: High
Intensity: Strong
Quantity: >75%
Location: cytoplasmic/membranous,nuclear

PGR

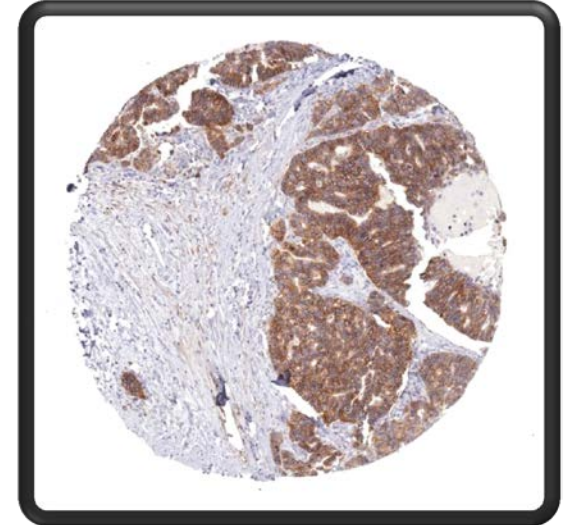
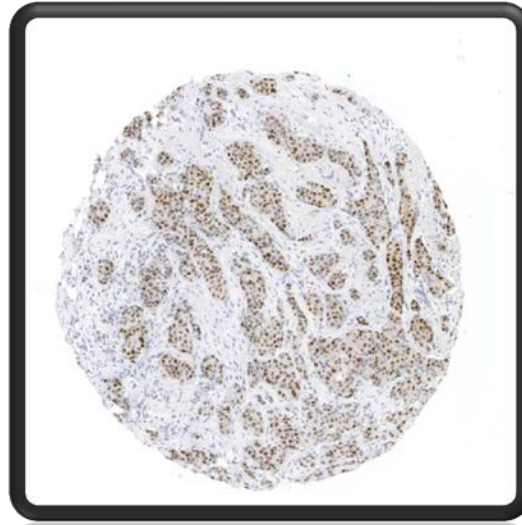
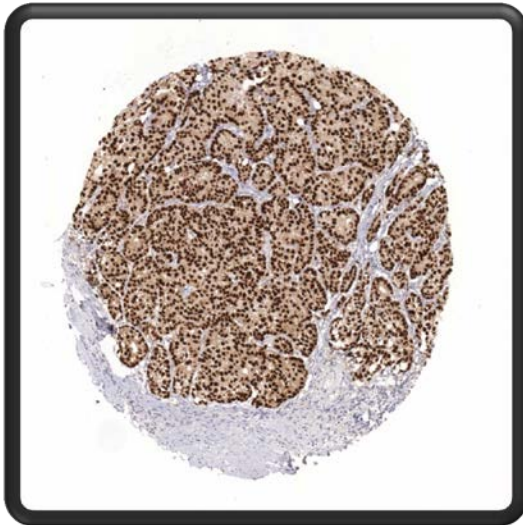
Female, age 68
Breast (T-04000)
Duct carcinoma (M-85003)
Patient id: 261

Antibody staining: High
Intensity: Strong
Quantity: >75%
Location: cytoplasmic/membranous,nuclear

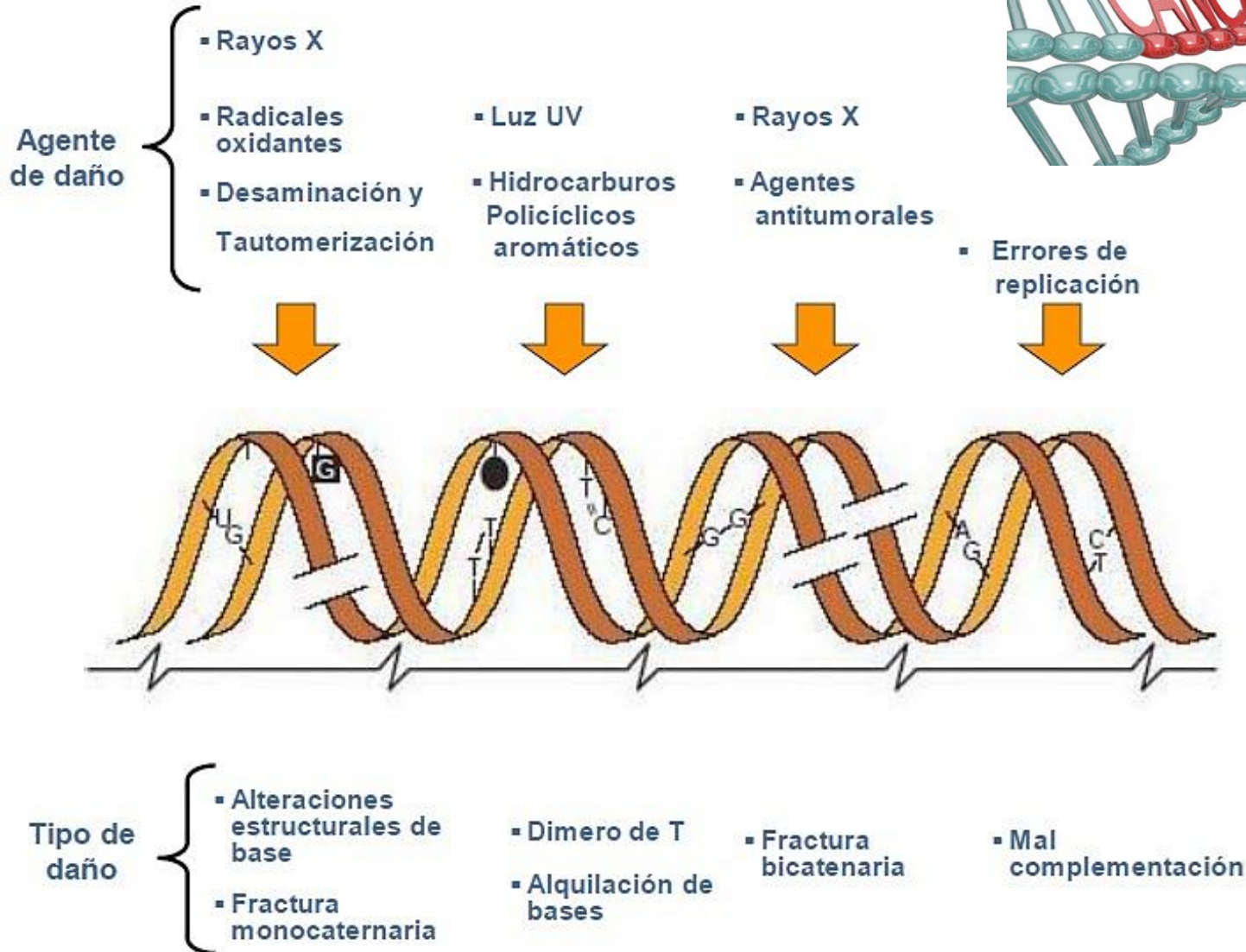
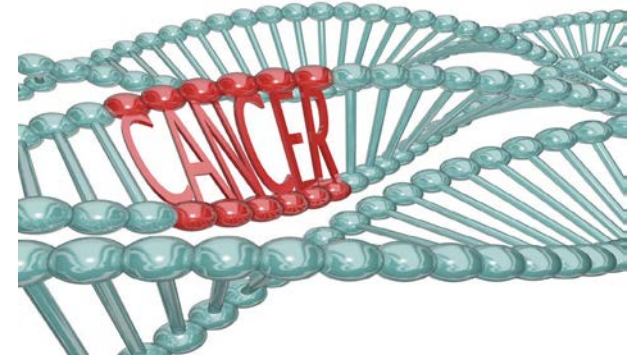
HER2/neu

Female, age 69
Breast (T-04000)
Duct carcinoma (M-85003)
Patient id: 659

Antibody staining: High
Intensity: Strong
Quantity: >75%
Location: cytoplasmic/membranous



Mutaciones somáticas

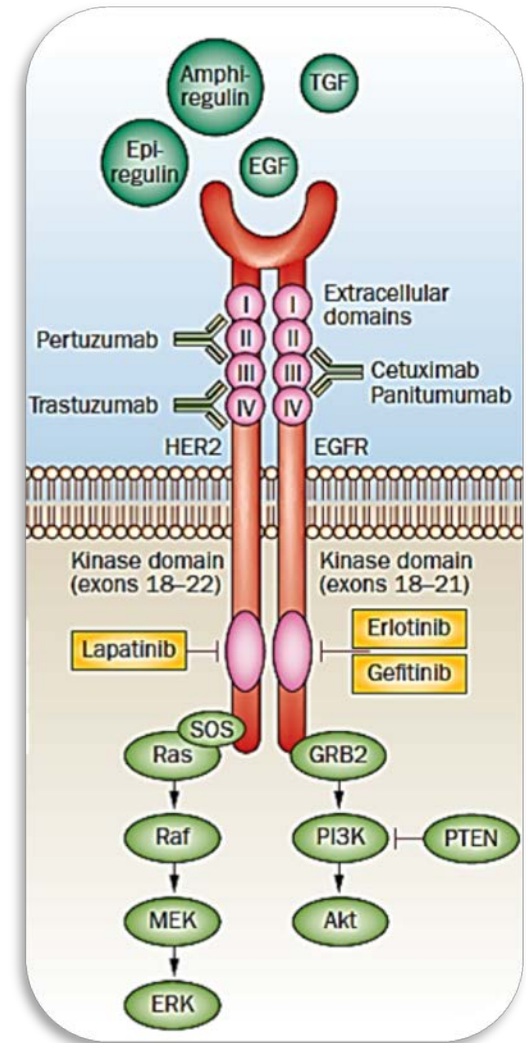


Medicina personalizada contra el cáncer

Mejor comprensión de las bases moleculares del cáncer

Optimización quimioterapia e introducción de nuevos fármacos

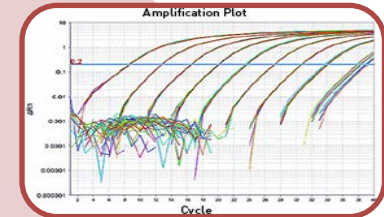
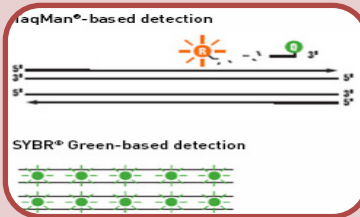
Tumores histológicamente indistinguibles son heterogéneos a nivel molecular



<i>Molecular marker</i>	<i>Drug</i>	<i>Tumor site</i>	<i>Guidelines and Recommendations</i>	<i>FDA label</i>
Estrogen and Progesterone receptors	Tamoxifen	Breast	NCCN, ASCO	Yes
HER2/ERBB2	Trastuzumab	Breast	NCCN, ASCO, NICE	Yes
KRAS	Cetuximab and Panitumumab	Colon	NCCN, ASCO, EGAPP	Yes
cKit	Imatinib	Gastrointestinal stroma	NA	Yes
ALK	Crizotinib	Lung	NCCN	Yes
EGFR	Erlotinib and Afatinib	Lung	NCCN	Yes
BRAF	Vemurafenib, Trametinib and Dabrafenib	Melanoma	NA	Yes

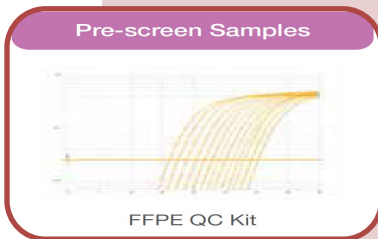
Nuevas tecnologías de diagnóstico

qPCR



<http://www.lifetechnologies.com/cl/es/home/life-science/pcr/real-time-pcr/qpcr-education.html>

NGS

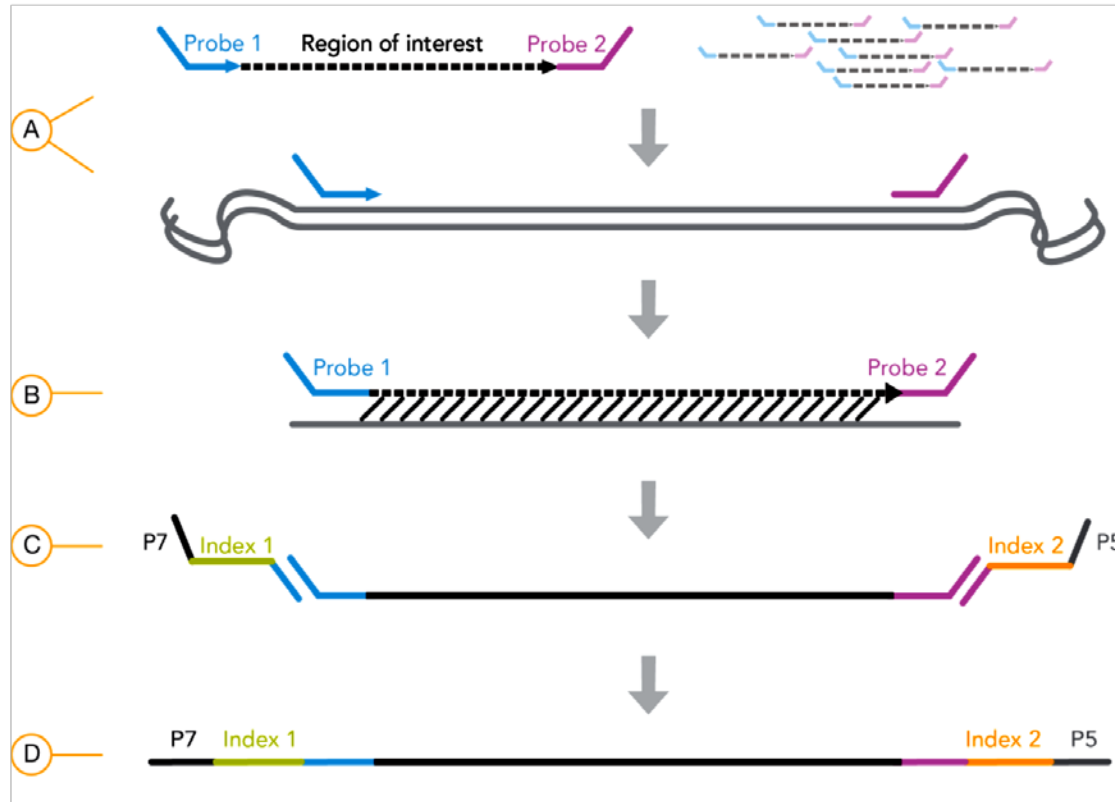


Data Sheet: Sequencing. TruSeq Amplicon - Cancer Panel (Illumina)

Nuevas tecnologías de diagnóstico

	PCR	TruSeq Amplicon
Sensitivity	High	High
Specificity	High	High
Run speed	Small region- high Large region- low	High
Max. Capture Size	Low	384 x 250 bp amplicons
DNA Amount	~5 ng per amplicon	200 ng
Sample Throughput	Moderate	High
Reagent Cost/ Mb	High	Moderate
Company	NA	Illumina

Next-Generation Sequencing Ultra Deep (Illumina)



- A Hybridization of Cancer Panel oligonucleotide probes
- B Extension and ligation
- C Addition of indices and sequencing adapters by PCR
- D Final amplicon ready for sequencing with MiSeq

TruSeq Amplicon - Cancer Panel

<i>ABL1</i>	<i>EGFR</i>	<i>GNAS</i>	<i>MLH1</i>	<i>RET</i>
<i>AKT1</i>	<i>ERBB2</i>	<i>HNF1A</i>	<i>MPL</i>	<i>SMAD4</i>
<i>ALK</i>	<i>ERBB4</i>	<i>HRAS</i>	<i>NOTCH1</i>	<i>SMARCB1</i>
<i>APC</i>	<i>FBXW7</i>	<i>IDH1</i>	<i>NPM1</i>	<i>SMO</i>
<i>ATM</i>	<i>FGFR1</i>	<i>JAK2</i>	<i>NRAS</i>	<i>SRC</i>
<i>BRAF</i>	<i>FGFR2</i>	<i>JAK3</i>	<i>PDGFRA</i>	<i>STK11</i>
<i>CDH1</i>	<i>FGFR3</i>	<i>KDR</i>	<i>PIK3CA</i>	<i>TP53</i>
<i>CDKN2A</i>	<i>FLT3</i>	<i>KIT</i>	<i>PTEN</i>	<i>VHL</i>
<i>CSF1R</i>	<i>GNA11</i>	<i>KRAS</i>	<i>PTPN11</i>	
<i>CTNNB1</i>	<i>GNAQ</i>	<i>MET</i>	<i>RB1</i>	

Cancer-related genes represented in the TSACP. For a full list of target regions, see the manifest file¹ (MyIllumina login required).

Data Sheet: Sequencing. TruSeq Amplicon - Cancer Panel (Illumina)

TTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAGAGCTACCGTCTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACACACACTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATCTTAAGATTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGACTAAATATTAACGTACCATTAAGAGCTTACTTGATCCACTGATTCAACGTACCGTAACGAACGTATCAATTGAGCTTCTGTTAACCTTAAGATTACTTGATCCACTG

Conclusiones

El cáncer es, en esencia, una enfermedad genética y las alteraciones al ADN generan cambios somáticos que conllevan el proceso oncogénico y manejan la progresión del tumor.

Las nuevas tecnologías (NGS) son un apoyo a la toma de decisiones clínicas en el que cada vez hay más opciones disponibles de tratamiento dirigido.

Para predecir con precisión la respuesta a las terapias dirigidas se necesitan equipos integrados de patólogos moleculares, genetistas, oncólogos y, **BIÓLOGOS DE SISTEMAS Y BIOINFORMÁTICOS (Informático Médico).**

Referencias

- ❖ Rakha, E. *et al.* Breast cancer prognostic classification in the molecular era: the role of histological grade. *Breast Cancer Research* 2010 12:207.
- ❖ Imigo, F. *et al.* Clasificación molecular del cáncer de mama. *Cuad. Cir.* 2011; 25: 67-74.
- ❖ Martini, M. *et al.* Targeted therapies: how personal should we go?. *Nat Rev Clin Oncol.* 2011 Nov 15;9(2):87-97.
- ❖ Harismendy, O. *et al.* Evaluation of ultra-deep targeted sequencing for personalized breast cancer care. *Breast Cancer Res.* 2013;15(6):R115.
- ❖ Meldrum C, Doyle MA, Tothill RW. Next-generation sequencing for cancer diagnostics: a practical perspective. *Clin Biochem Rev.* 2011;32(4):177-95.
- ❖ Marrone, M. *et al.* Multi-marker Solid Tumor Panels Using Next-generation Sequencing to Direct Molecularly Targeted Therapies. *PLoS Currents* 2014;6.



FACULTAD DE
MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CHILE



Uso de la secuenciación ultraprofunda (NGS) para el diagnóstico y tratamiento del cáncer

Alumno: Carlos Zamorano

Tutora: Katherine Marcelain