

ENCUENTRO CIBIC 2017

RESUMEN

Nuevo paradigma en el diagnóstico y seguimiento del cáncer: Biopsia líquida.

Desde que se descubrió, en 1948, la existencia de **ADN libre en sangre (cfDNA)**, de sus siglas en inglés) y posteriormente, en 1987, la existencia de **ADN tumoral circulante (ctDNA)**, por sus siglas en inglés), se han ido desarrollando y perfeccionando distintas técnicas para determinar de forma “no-invasiva” el **perfil genético tumoral** como una alternativa a las biopsias tisulares.

El ADN libre en sangre, habitualmente circula a niveles bajos y estables pero la concentración puede aumentar significativamente en caso de injuria celular y necrosis. Por lo general, los pacientes con cáncer tienen niveles más altos de cfDNA que los individuos sanos, y a medida que el tumor aumenta de tamaño, aumenta la renovación celular y, en consecuencia, la cantidad de células apoptóticas y necróticas que liberan ADN.

La **liberación del ctDNA** al torrente sanguíneo depende del estadio del tumor y de la ubicación, tamaño y nivel de vascularización del mismo. Actualmente se desconoce si el ctDNA es liberado de igual forma en tumores primarios o en metástasis ganglionares o a distancia.

El ctDNA consiste principalmente **en fragmentos de tamaño promedio de 166 pb** y debido al rápido clearance renal y hepático, **presenta una vida media en sangre relativamente corta** (aproximadamente dos horas). Esta característica, asegura que el perfil genético tumoral que se obtiene a partir del análisis de ctDNA sea un perfil en “tiempo real”.

La detección de ADN tumoral circulante (ctDNA) y su diferenciación del cfDNA normal, se basa en que **el ctDNA presenta mutaciones somáticas que están ausentes en la línea germinal** lo que lo hace un biomarcador muy específico. Sin embargo, **la detección de ctDNA es compleja ya que habitualmente representa una pequeña parte del cfDNA (<1%), por lo que la técnica utilizada debe presentar alta sensibilidad y especificidad.**

Se han desarrollado diversas metodologías para detectar ctDNA. Inicialmente, se desarrollaron ensayos de PCR cuantitativa (Taqman, ARMS), aunque sólo son aplicables para casos de altas cargas tumorales debido a limitaciones en sensibilidad (1%) y especificidad analítica. Posteriormente, se introdujeron estrategias basadas en tecnología digital de mayor sensibilidad (0.01%) tales como **PCR digital, BEAMing o PAP**. Si bien estas tecnologías permiten detectar mutaciones somáticas de muy baja frecuencia alélica, están orientadas solamente a un grupo de mutaciones target conocidas. Las aplicaciones basadas en **tecnología de secuenciación masiva (NGS)**, ofrecen una alternativa superadora permitiendo detectar múltiples mutaciones somáticas (nuevas y conocidas) **de forma simultánea** y a la vez incluir todas las mutaciones que tienen aplicaciones

terapéuticas. De esta manera, utilizando NGS se puede obtener **una mirada más completa de la dinámica y el perfil genómico tumoral**.

El uso de muestras de sangre para detectar y analizar **ctDNA** denominado **“biopsia líquida”**, permitiría:

- **Evaluar la dinámica del tumor** en pacientes con enfermedad avanzada: distintos estudios han demostrado que la medición de ctDNA refleja la carga tumoral y tiene correlación con el curso clínico de la enfermedad. Se observan rápidos aumentos en los niveles de ctDNA con la progresión de la enfermedad y a su vez se detectan disminuciones de ctDNA luego de resecciones quirúrgicas o tratamientos farmacológicos efectivos.
- Identificar determinantes genéticos para terapias **dirigidas identificando presencia o ausencia de mutaciones** con implicancias terapéuticas.
- **Evaluar en forma temprana la respuesta al tratamiento de pacientes con cáncer avanzado**, utilizando al ctDNA como marcador farmacodinámico para la eficacia de la terapia dirigida. El estudio permite monitorear la aparición de clones resistentes durante el tratamiento, y detectar la progresión de la enfermedad antes de que haya evidencia en estudios de imágenes.
- **Monitorear la enfermedad mínima residual** luego de la cirugía u otras terapias curativas. El ctDNA es un potencial marcador de enfermedad residual y puede ayudar a determinar cuáles pacientes tendrán recurrencias.
- **Evaluar la heterogeneidad en la genética del tumor**, y así anticipar posibles fallas en el tratamiento por efectos de presión selectiva.
- **Realizar ensayos de screening** en pacientes sin evidencia de cáncer, **vigilancia de recurrencia** en pacientes con historia oncológica como hoy se utilizan otros marcadores tumorales.

Referencias:

- Richard B. Lanman y cols. Analytical and Clinical Validation of a Digital Sequencing Panel for Quantitative, Highly Accurate Evaluation of Cell-Free Circulating Tumor DNA. PLOS ONE | DOI:10.1371/journal.pone.0140712 October 16, 2015.
- Hatim Husain, MD; Victor E. Velculescu, MD, PhD. Cancer DNA in the Circulation. The Liquid Biopsy. JAMA October 3, 2017 Volume 318, Number 13 (Reprinted)
- Luis Diaz, Alberto Bardelli. Liquid Biopsies: Genotyping Circulating Tumor DNA. J Clin Oncol. 2014 February 20; 32(6): 579–586. doi:10.1200/JCO.2012.45.2011.
- Jeffrey Gagan and Eliezer M. Van Allen. Next-generation sequencing to guide cancer therapy. Genome Medicine (2015) 7:80.
- Marina N. Nikiforova. Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer. The Journal of Molecular Diagnostics, Vol. 19, No. 1, January 2017.