

Estudio molecular del cáncer de pulmón: De los métodos convencionales a la NGS

Yolanda Ruano Domínguez
Hospital 12 de Octubre

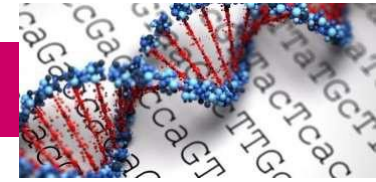
DISCLAIMER

Thermo Fisher Scientific and its affiliates are not endorsing, recommending or promoting any use or application of Thermo Fisher Scientific products by third parties during this seminar. Information and materials presented or provided by third parties as-is and without warranty of any kind, including regarding intellectual property rights and reported results. Parties presenting images, text and material represent they have the right to do so.

The products from Thermo Fisher Scientific displayed in this presentation are labeled as follows: "For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures"

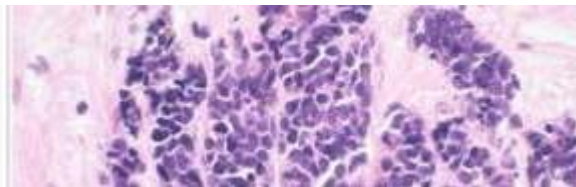
Speaker is provided honorarium for this presentation.

CÁNCER DE PULMÓN



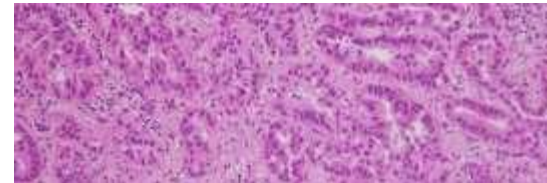
Carcinoma de célula pequeña

15%



Carcinoma de célula no pequeña NSCLC

85%

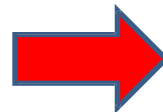


75% de los casos en etapas avanzadas, localmente inoperables o metastásicos



Tipología de testing:

1. Histológico
2. **Molecular**
3. Estado de PDL1

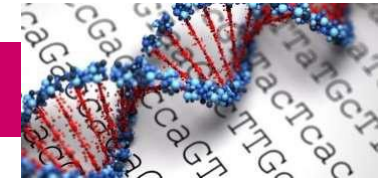


Tratamientos posibles:

1. **Terapias dirigidas**
2. Inmunoterapia
3. Quimioterapia



GUÍAS CONSENSO



Rev Esp Patol. 2020;53(3):167–181

SeAP-IAP

REVISTA ESPAÑOLA DE
Patología

www.elsevier.es/patologia



REVISIÓN

Actualización de las recomendaciones para la determinación de biomarcadores predictivos en el carcinoma de pulmón de célula no pequeña avanzado. Consenso Nacional de la Sociedad Española de Anatomía Patológica y de la Sociedad Española de Oncología Médica



Fernando López-Ríos^{a,*}, Luis Paz-Ares^b, Julián Sanz^c, Dolores Isla^d, Lara Pijuan^e, Enriqueta Felip^f, José Javier Gómez-Román^g, Javier de Castro^h, Esther Conde^a y Pilar Garridoⁱ



COLLEGE of AMERICAN
PATHOLOGISTS



Supplemental Digital Content* | Methodology | January 2018

Updated Molecular Testing Guideline for the Selection of Lung Cancer Patients for Treatment with Targeted Tyrosine Kinase Inhibitors

Clinical and Translational Oncology (2020) 22:989–1003
<https://doi.org/10.1007/s12094-019-02218-4>

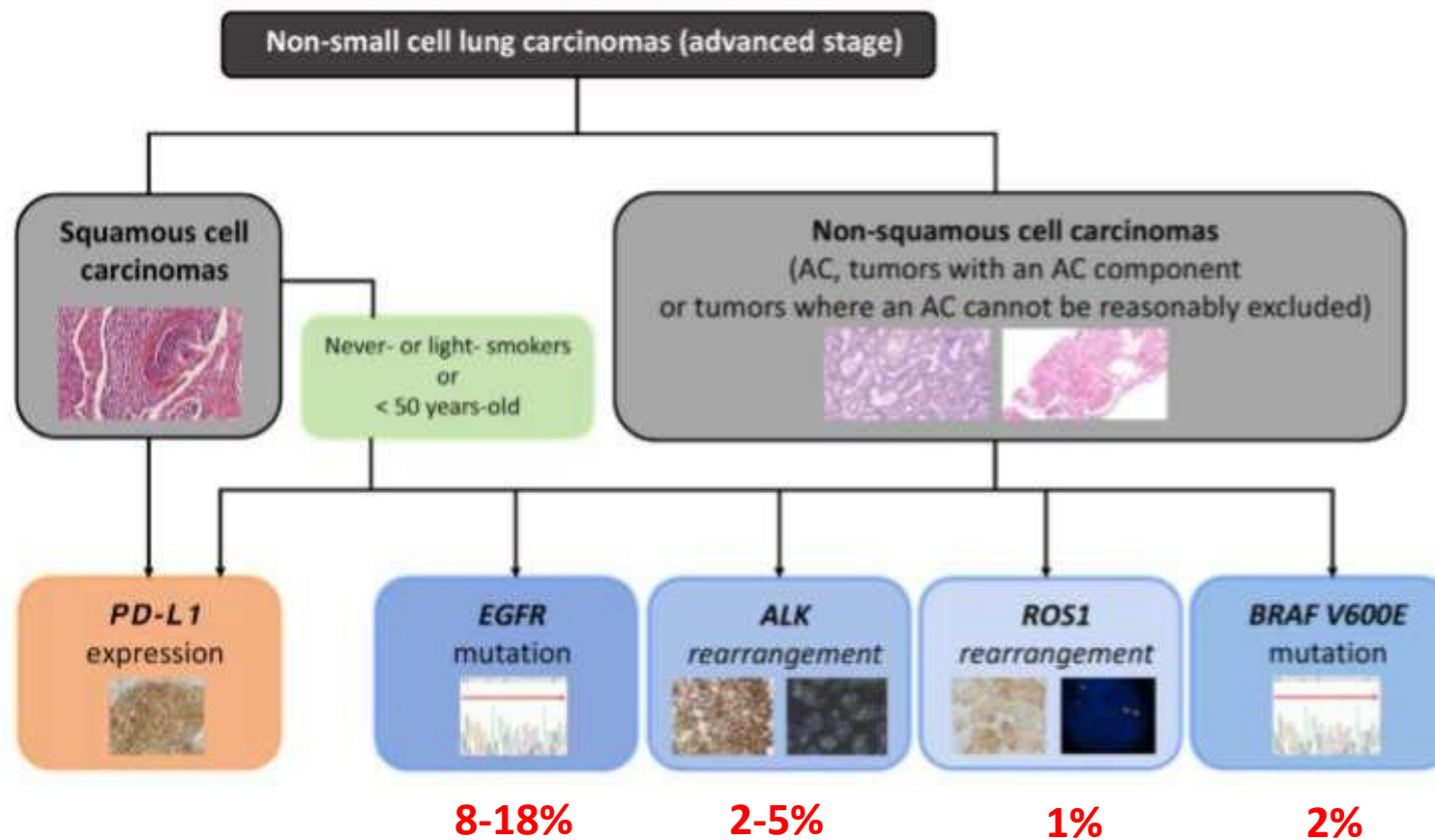
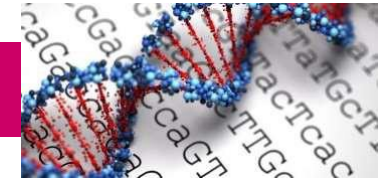
SPECIAL ARTICLE



Updated guidelines for predictive biomarker testing in advanced non-small-cell lung cancer: a National Consensus of the Spanish Society of Pathology and the Spanish Society of Medical Oncology

P. Garrido¹ · E. Conde² · J. de Castro³ · J. J. Gómez-Román⁴ · E. Felip⁵ · L. Pijuan⁶ · D. Isla⁷ · J. Sanz⁸ · L. Paz-Ares⁹ · F. López-Ríos²

BIOMARCADORES IMPRESCINDIBLES

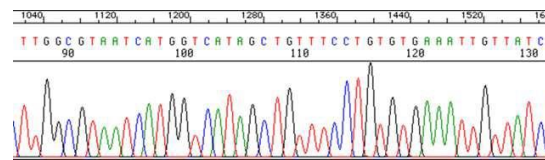
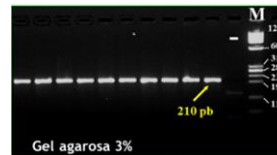


SEAP-SEOM, Clinical Guidelines, 2020

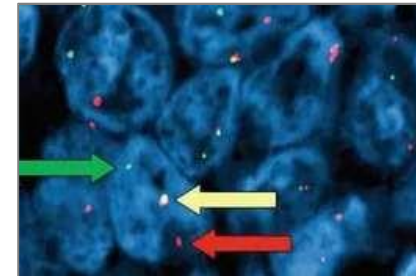
DETERMINACIONES MONOENSAYO



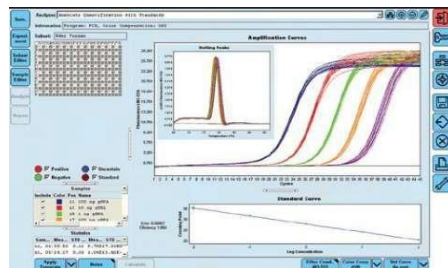
PCR convencional Secuenciación Sanger



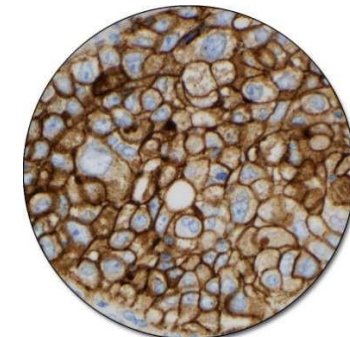
FISH



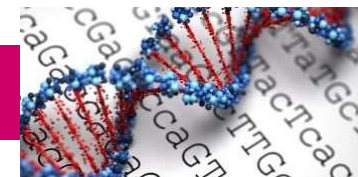
PCR a tiempo real



Inmunohistoquímica



POSIBLES ALGORITMOS DE TRATAMIENTO



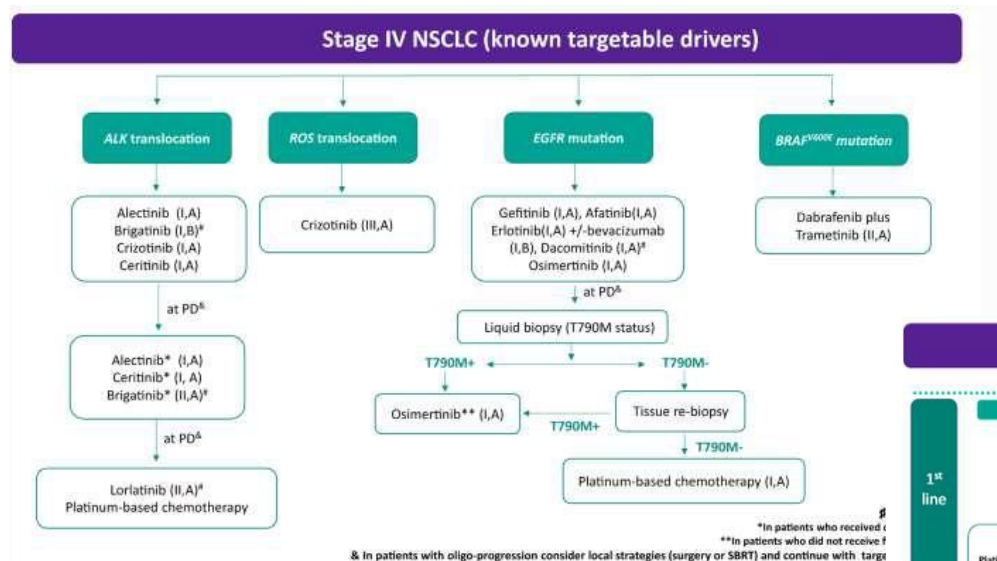
Clinical and Translational Oncology (2019) 21:3–17
https://doi.org/10.1007/s12094-018-1978-1

CLINICAL GUIDES IN ONCOLOGY



SEOM clinical guidelines for the treatment of non-small cell lung cancer (2018)

M. Majem¹ · O. Juan² · A. Insa³ · N. Reguart⁴ · J. M. Trigo⁵ · E. Carcereny⁶ · R. García-Campelo⁷ · Y. García⁸ · M. Guirado⁹ · M. Provencio¹⁰



Treatment algorithm for Stage IV with known targetable drivers

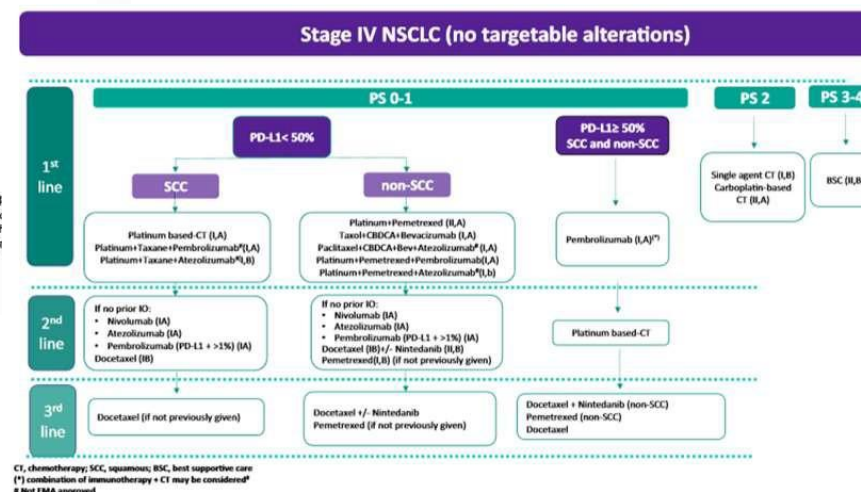
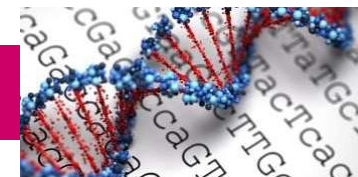


Fig. 2 Treatment algorithm for Stage IV with no targetable alterations

BIOMARCADORES ADICIONALES



OTROS BIOMARCADORES DE INTERÉS

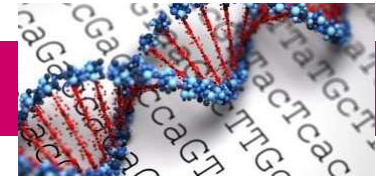
Gen	Alteración predictiva
KRAS	Mutaciones
HER2	Mutaciones Amplificación
MET	Mutaciones Amplificación
RET	Reordenamiento
NTRK	Reordenamiento
TMB	Mutaciones por megabase

SEAP-SEOM, Clinical Guidelines, 2020

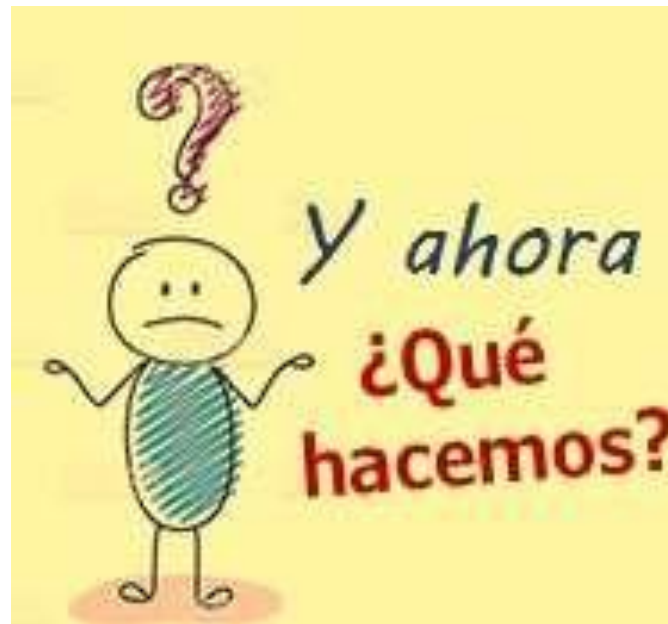
BIOMARCADORES EMERGENTES

Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase 1 (MEK1/MAP2K1)
Fibroblast Growth Factor Receptor 1-4 (FGFR 1-4)
Neurotrophic Tyrosine Kinase, Receptor, Type 1 – 3 (NTRK1-3)
Neuregulin 1 (NRG1)
Ras-Like Without CAAX 1 (RIT1)
Neurofibromin 1 (NF1)
Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Alpha (PIK3CA)
AKT Serine/Threonine Kinase 1 (AKT1)
NRAS Proto-Oncogene, GTPase (NRAS)
Mechanistic Target Of Rapamycin (MTOR)
Tuberous Sclerosis 1 (TSC1)
Tuberous Sclerosis 2 (TSC2)
KIT Proto-Oncogene Receptor Tyrosine Kinase (KIT)
Platelet Derived Growth Factor Receptor Alpha (PDGFRA)
Discoidin Domain Receptor Tyrosine Kinase 2 (DDR2)

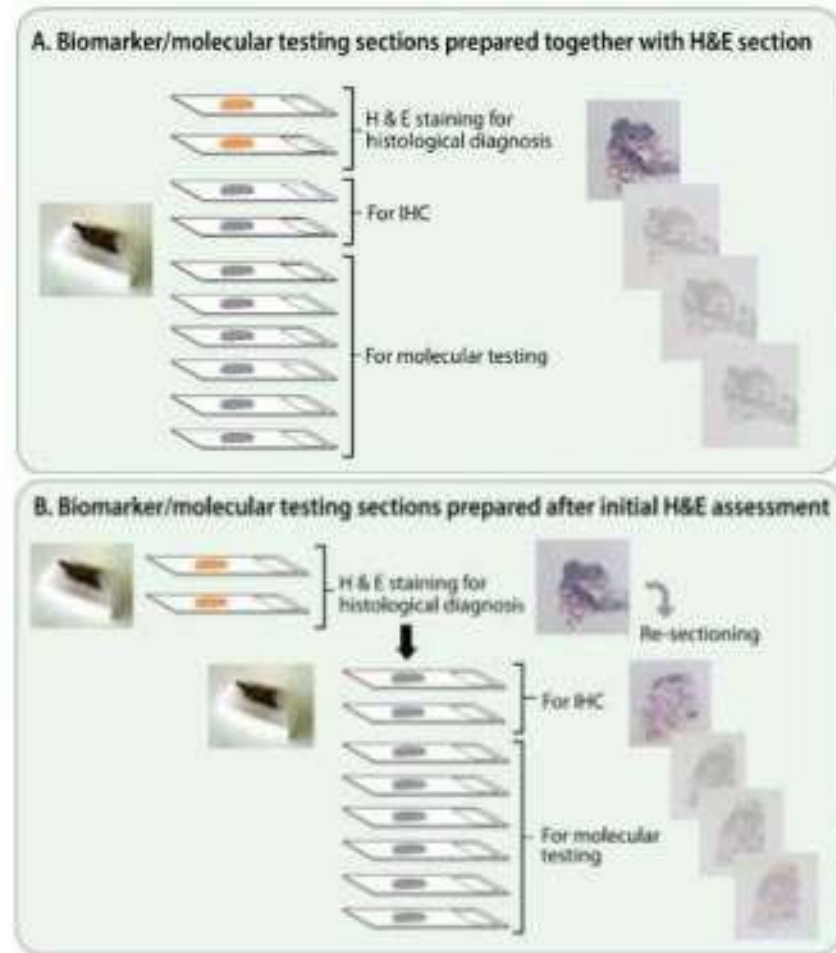
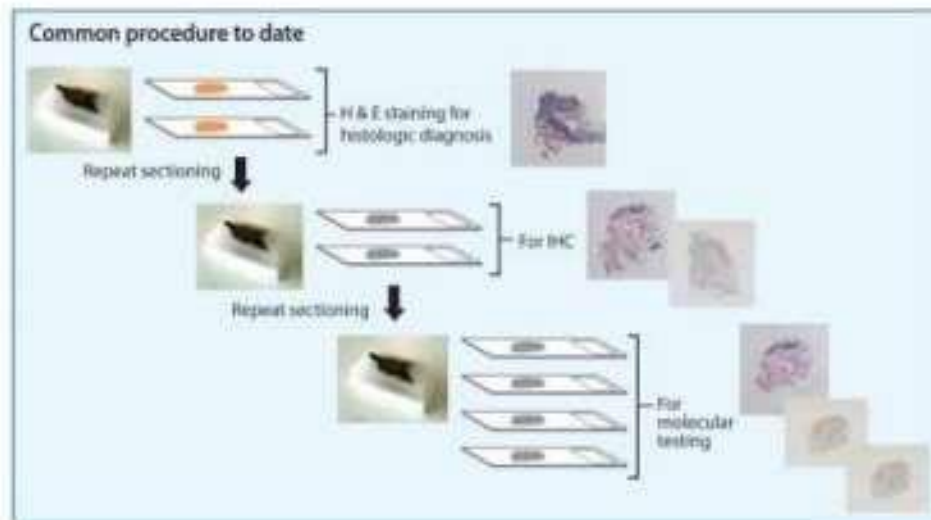
CAP, Clinical Guidelines, 2018



Muchos biomarcadores y poca muestra



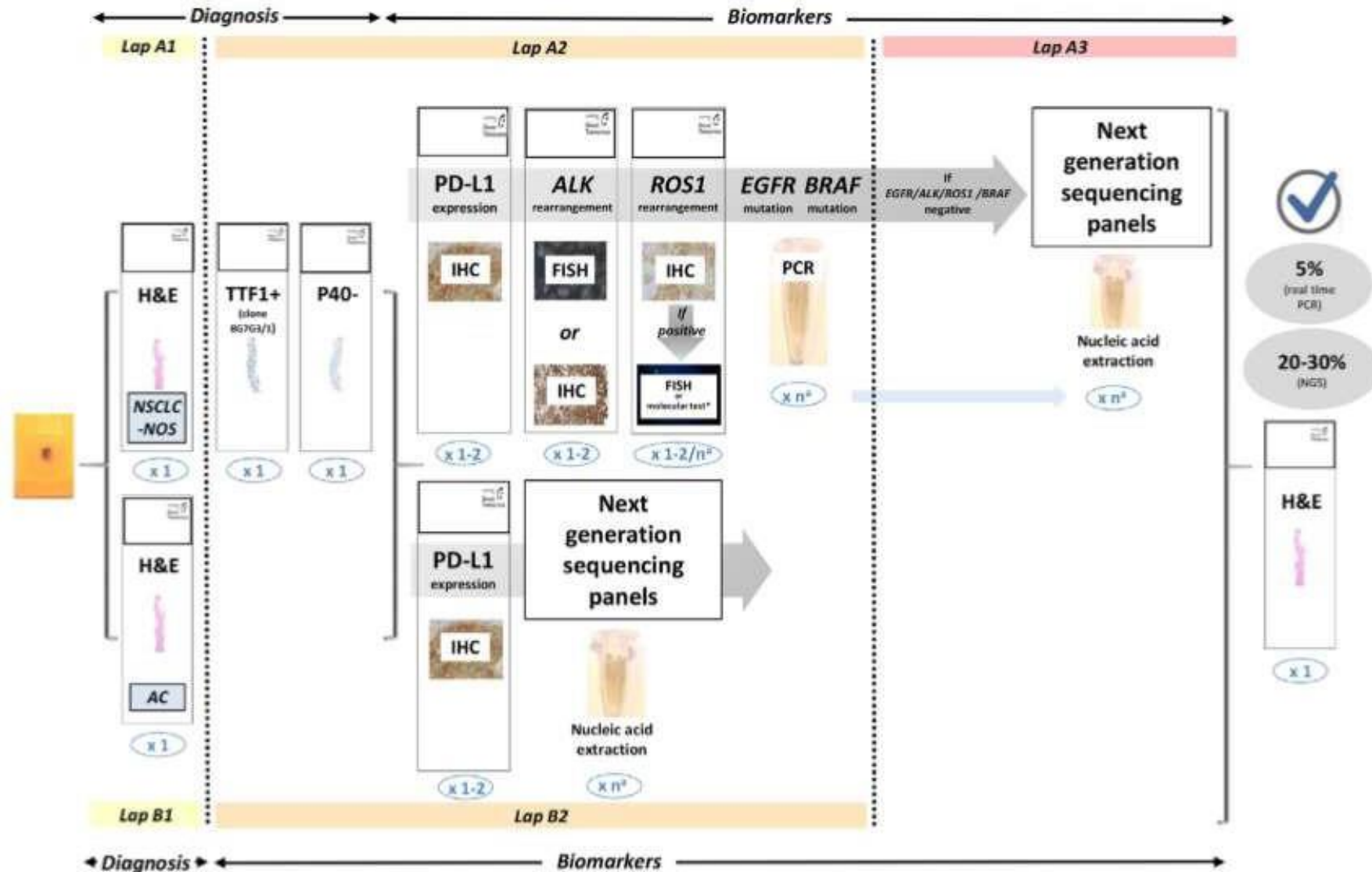
OPTIMIZACIÓN DEL MATERIAL



VARIAR LA METODOLOGÍA DE TRABAJO



1. Análisis de un mayor número de biomarcadores
2. Poco material de partida (10ng ADN y 10ng ARN)
3. Análisis simultáneo de ADN y ARN a partir de muestras parafinadas
4. Identificación de diferentes alteraciones en un solo ensayo: Mutaciones puntuales, INDELS, CNVS, TMB y reordenamientos.



BIOPSIA LÍQUIDA



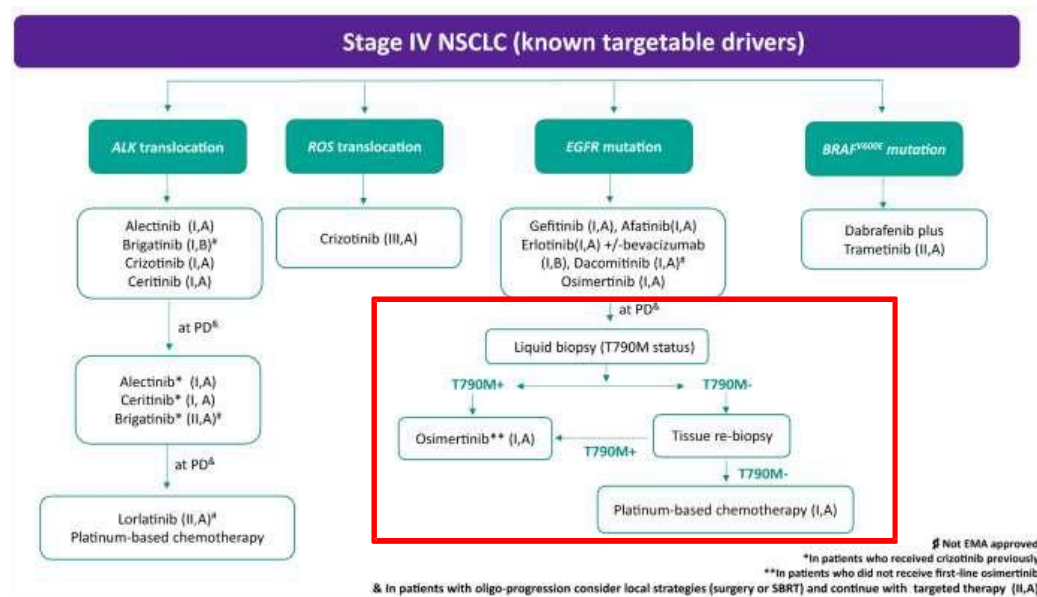
Muestra tumoral insuficiente o imposible de obtener

Ventajas

- Mínimamente invasiva
- Diagnóstico y/o seguimiento
- Disminución de la heterogeneidad tumoral
- Múltiples fluidos: Sangre, líquidos pleurales, orina, saliva, etc.

Requisitos

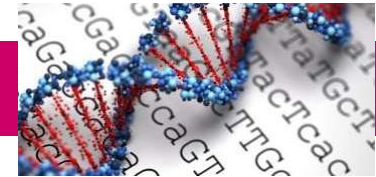
- Técnicas altamente sensibles



Treatment algorithm for Stage IV with known targetable drivers

SEOM, Clinical Guidelines, 2018

EXPERIENCIA HOSPITAL 12 DE OCTUBRE



2011-2018

PCR a tiempo real
IHQ
FISH

2019

PCR a tiempo real
IHQ
FISH
NGS

Librerías manuales



Futuro

NGS

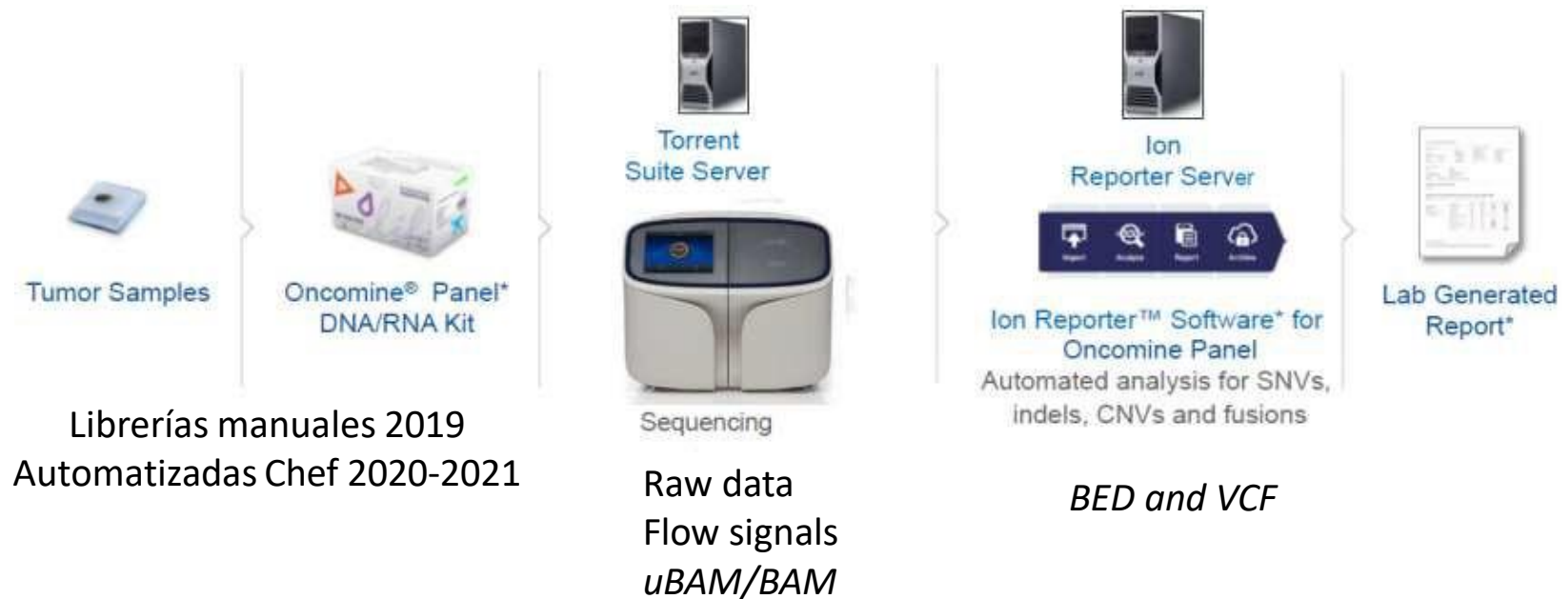
Librerías automatizadas



NGS PLATAFORMA ION TORRENT



ONCOMINE PANEL WORKFLOW



NGS TEJIDO: ONCOMINE FOCUS ASSAY (OFA)



Panel de 52 genes

Hotspot genes, n=35

AKT1	IDH2
ALK	JAK1
AR	JAK2
BRAF	JAK3
CDK4	KIT
CTNNB1	KRAS
DDR2	MAP2K1
EGFR	MAP2K2
ERBB2	MET
ERBB3	MTOR
ERBB4	NRAS
ESR1	PDGFRA
FGFR2	PIK3CA
FGFR3	RAF1
GNA11	RET
GNAQ	ROS1
HRAS	SMO
IDH1	

Copy Number Variants, n=19

ALK	FGFR3
AR	FGFR4
BRAF	KIT
CCND1	KRAS
CDK4	MET
CDK6	MYC
EGFR	MYCN
ERBB2	PDGFRA
FGFR1	PIK3CA
FGFR2	

Fusion drivers, n=23

ABL1	FGFR2
AKT3	FGFR3
ALK	MET
AXL	NTRK1
BRAF	NTRK2
ERG	NTRK3
ETV1	PDGFRA
ETV4	PPARG
ETV5	RAF1
EGFR	RET
ERBB2	ROS1
FGFR1	

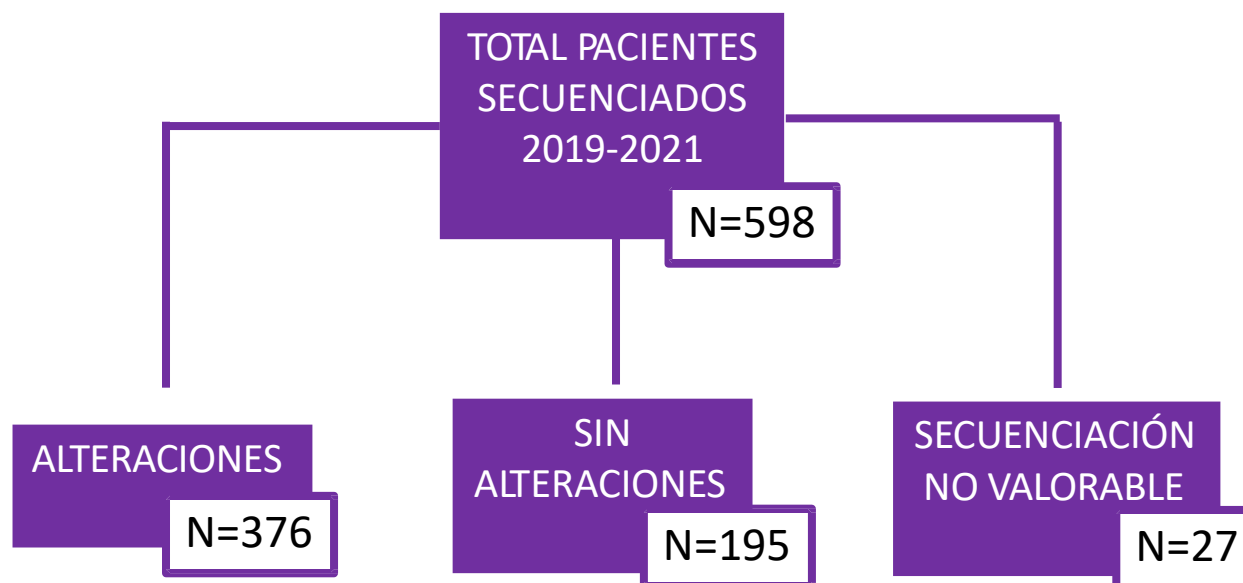
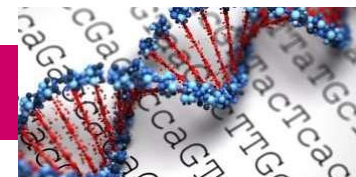
RNA Panel

Note: 52 genes total

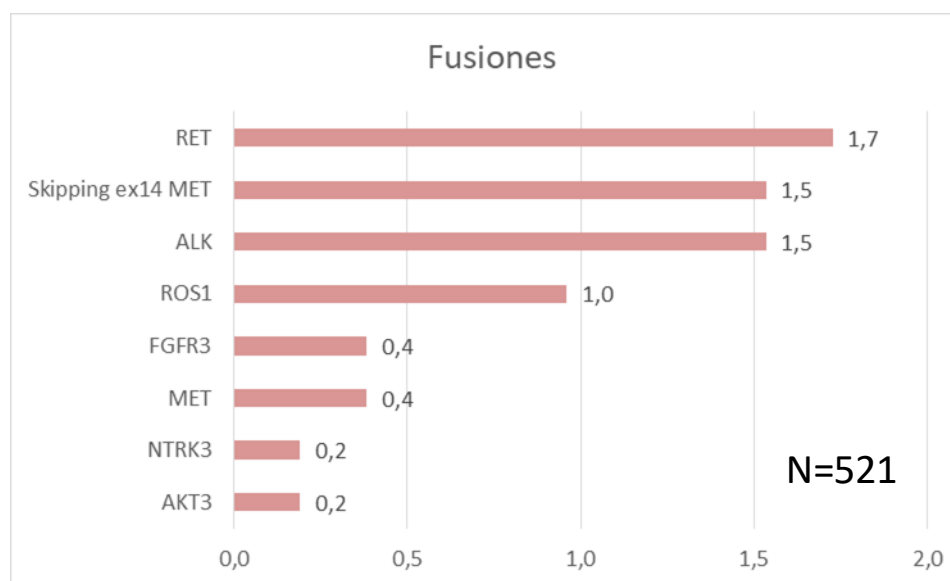
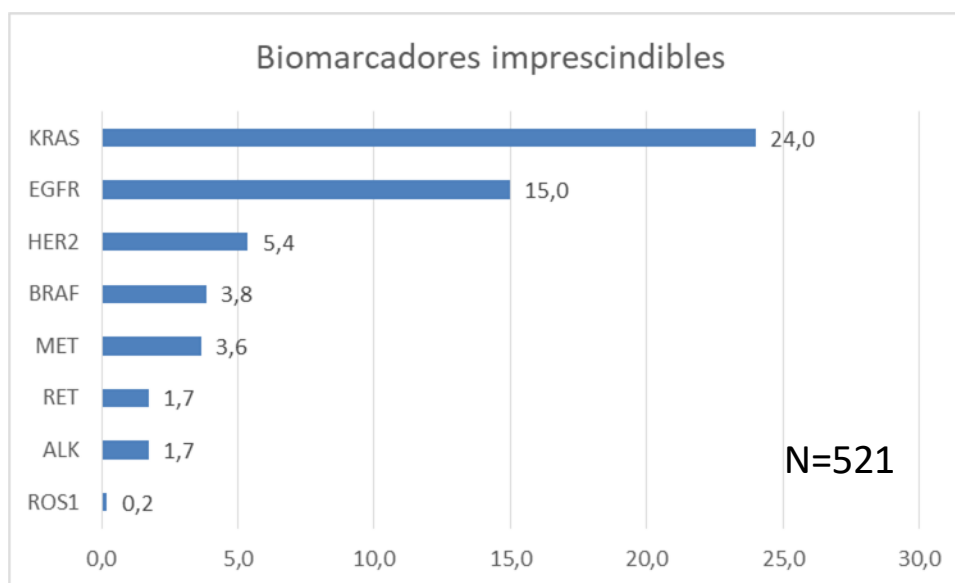
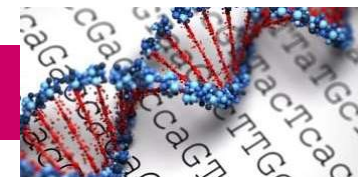
DNA Panel

Hotspot, CNV, Fusion, Hotspot + CNV, Hotspot + CNV + Fusion, Hotspot + Fusion, CNV+ Fusion

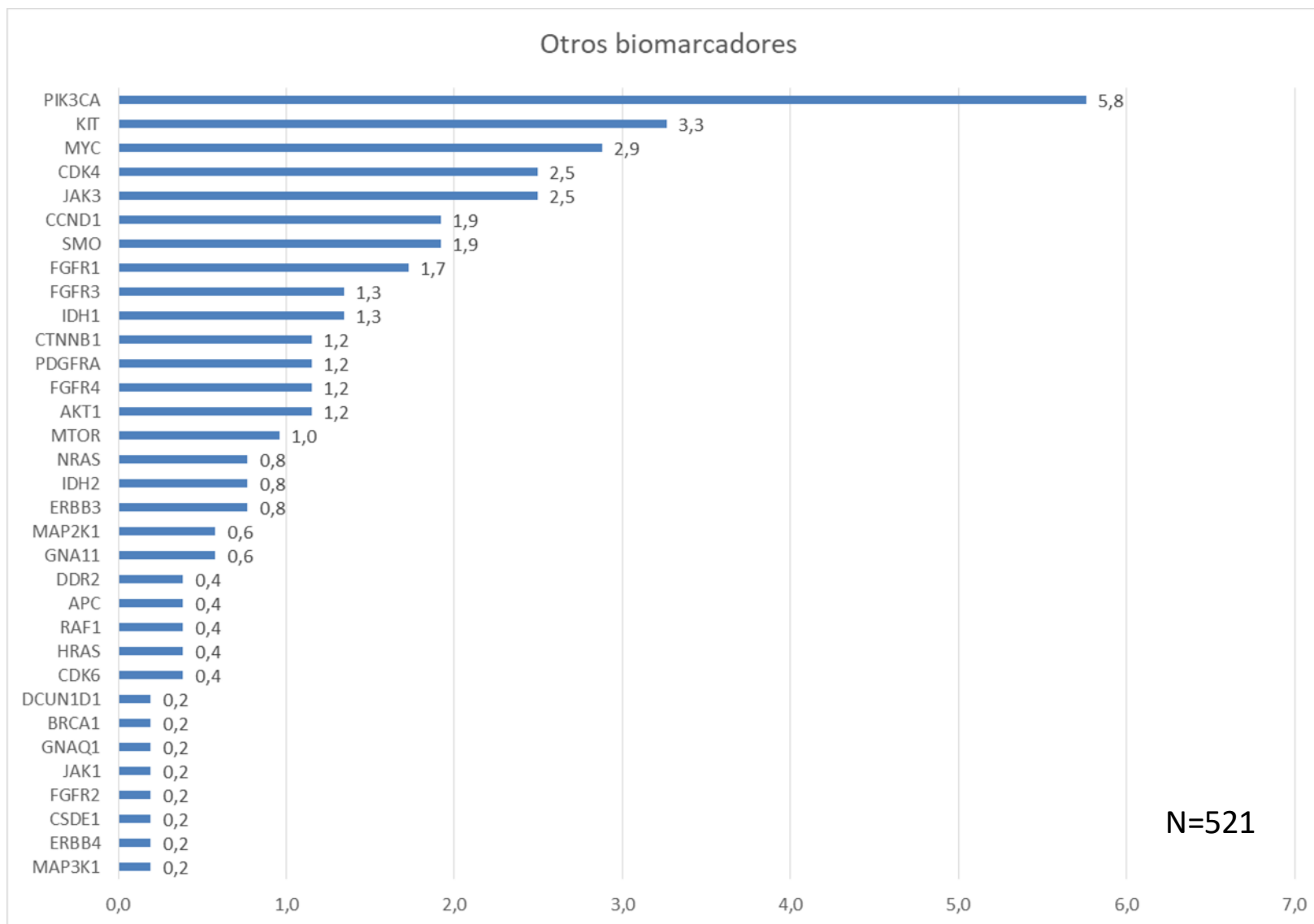
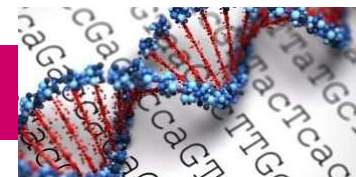
RESULTADOS NGS EN TEJIDO: Enero 2019-Abril 2021



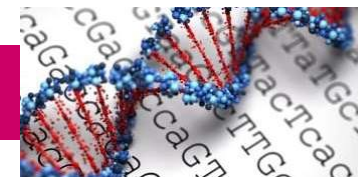
RESULTADOS NGS EN TEJIDO: Enero 2019-Abril 2021



RESULTADOS NGS EN TEJIDO: Enero 2019-Abril 2021



RESULTADOS NGS EN TEJIDO: Enero 2019-Abril 2021



2019

2020

2021

ADN OFA

N=135



ADN OFA

N=325



ADN OFA

N=132



ARN OFA

N=131



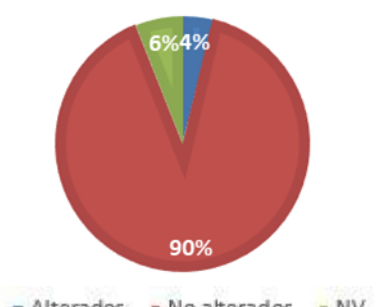
ARN OFA

N=325

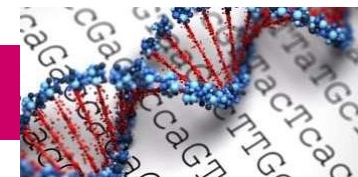


ARN OFA

N=132



RESULTADOS NGS EN TEJIDO: Enero 2019-Abril 2021



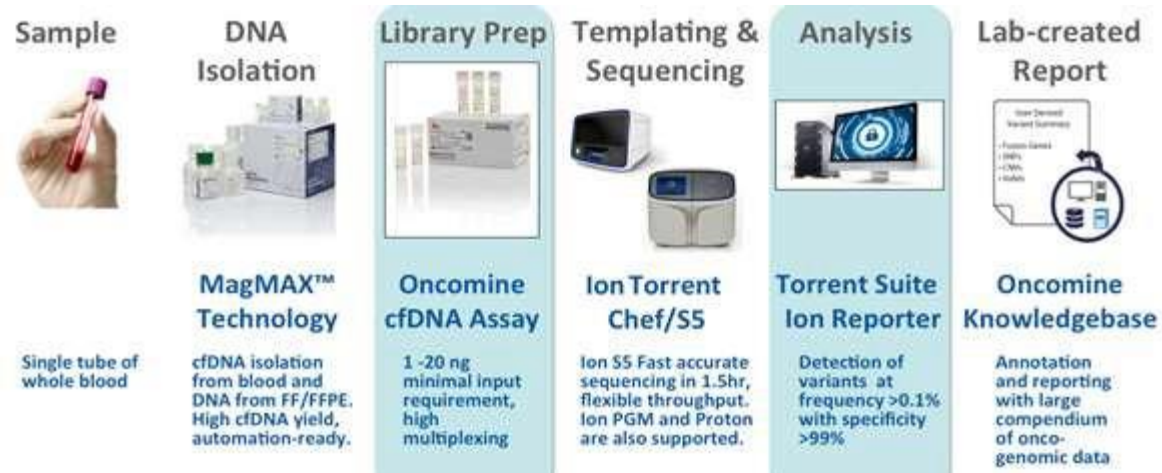
Técnicas convencionales vs NGS

Año/Biomarcador	2015	2016	2017	2018	2019-2021 (n=521)
ALK (IHQ+FISH)	3,66% (n=82)	0% (n=60)	4,47% (n=67)	7,53% (n=53)	1,5%
ROS1 (IHQ + FISH)	2,68% (n=122)	2,21% (n=136)	3,16% (n=95)	0,88% (n=113)	1%
EGFR (PCR)	16,44% (n=170)	12,77% (n=235)	12,50% (n=184)	13,40% (n=194)	15%
BRAF (PCR+IHQ)	33% (n=3)	0% (n=7)	0% (n=3)	20% (n=5)	3,8%

NGS BIOPSIA LÍQUIDA: ONCOMINE LUNG CFTNA ASSAY



Panel de 11 genes

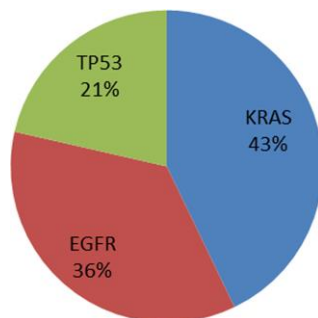
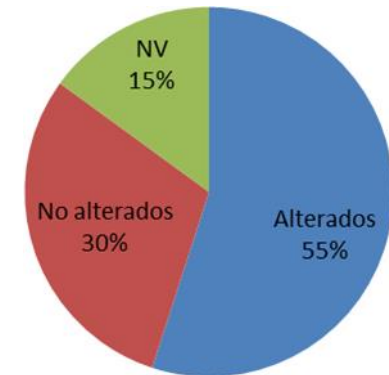
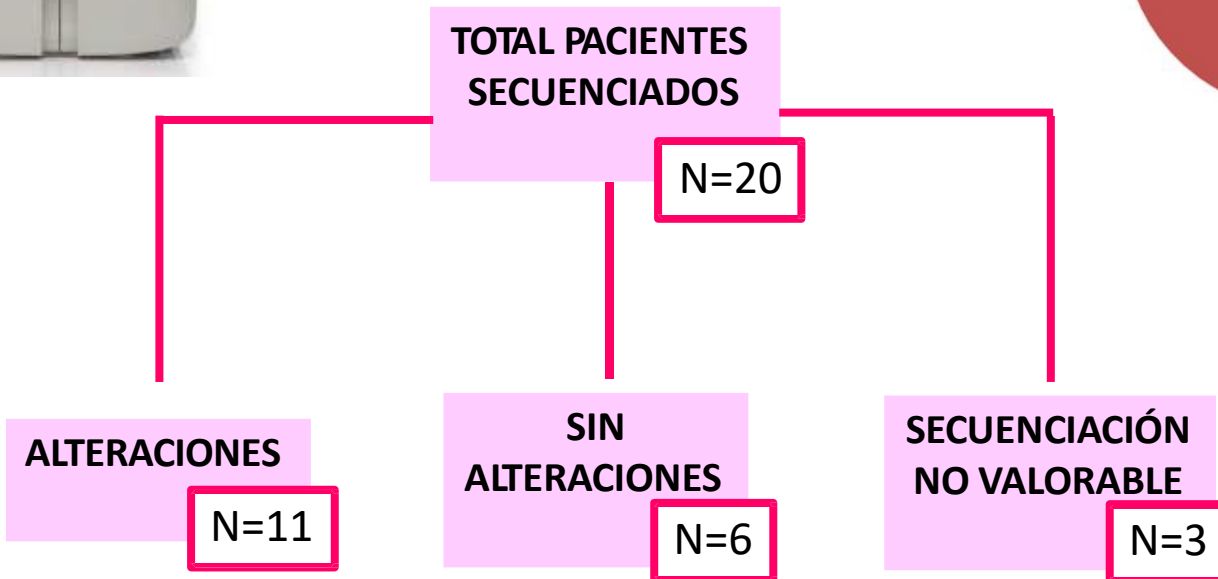


Oncomine™ Lung cell free Total Nucleic Acid Assay

ALK	KRAS	PIK3CA
BRAF	MAP2K1	ROS1
EGFR	MET	TP53
ERBB2	NRAS	RET

Fusiones de ALK, RET y ROS1
CNV y skipping MET

RESULTADOS NGS EN BIOPSIA LÍQUIDA: Dic 2020-Abril 2021



MOLECULAR TUMOR BOARD



Annals of Oncology 28: 3070–3075, 2017
doi:10.1093/annonc/mdx528
Published online: 27 September 2017

ORIGINAL ARTICLE

Molecular Tumor Boards: current practice and future needs

D. L. van der Velden¹, C. M. L. van Herpen², H. W. M. van Laarhoven³, E. F. Smit⁴, H. J. M. Groen⁵, S. M. Willems⁶, P. M. Nederlof⁷, M. H. G. Langenberg⁸, E. Cuppen⁹, S. Sleijfer¹⁰, N. Steeghs¹¹ & E. E. Voest^{1*}



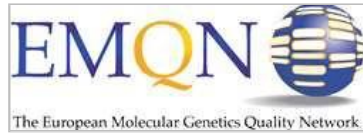
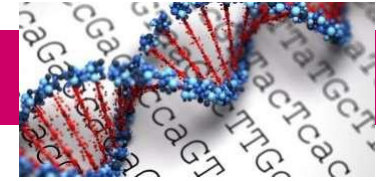
1 sesión/semana

Oncólogos
Patólogos
Biólogos moleculares
Genetistas
Investigadores

PRESENTACIÓN DE CASOS

- Breve resumen historia clínica
- Tratamientos previos
- Discusión resultados moleculares
- Correlación de resultados moleculares:
 - Tejido/biopsia líquida
 - Oncomine vs otras plataformas externas (*Foundation, Guardant,..*)
- Discusión Opciones de tratamiento
- Ensayos clínicos...

CONTROLES DE CALIDAD EXTERNOS



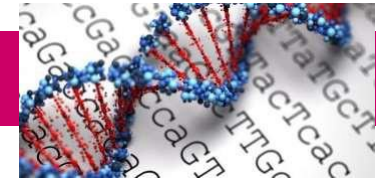
Tipos de controles de calidad:

- Controles internos* (control positivo y negativo en cada determinación)
- Controles externos* (SEAP, EMQN, UK-NEQAS, etc.)
- Control de resultados* con lo descrito en la bibliografía o en bases de datos

Indicadores de calidad:

- Personal involucrado en la técnica (formación, experiencia y procedimientos de trabajo)
- Equipos con certificación CE, uso y mantenimiento
- Lotes de reactivos
- Tiempo de respuesta (7-10 días)
- Resultados de los controles internos
- Análisis de discrepancias o errores (estudios ortogonales), etc.

RETOS EN NGS



1. Reducción de los tiempos de respuesta
2. Automatización del proceso
3. Carreras más versátiles:
 - Número de muestras por carrera
 - Combinación de librerías de tejido y biopsia líquida



GENEXUS

4. Resolución de los problemas de financiación



CONCLUSIONES



1. Las determinaciones obligatorias en pacientes con NSCLC avanzado son las mutaciones de **EGFR** y **BRAF**, reordenamientos de **ALK** y **ROS1**, y la expresión de **PDL1**.

2. La necesidad de estudiar **biomarcadores emergentes** nos obliga a cambiar la metodología de trabajo en el laboratorio.

3. La **NGS dirigida** es la opción más útil y versátil para poder realizar un estudio molecular más exhaustivo con la menor muestra posible.

4. Optimización de los **tiempos de respuesta** y los costes por determinación.

5. Necesidad de **comités multidisciplinares** para entender mejor y encajar los resultados moleculares en el contexto del paciente.

6. **Financiación estable** por parte de la Administración.

Muchas gracias

