

“Verificación de un panel NGS de detección de biomarcadores tumorales para apoyar el uso de las terapias oncológicas personalizadas en cánceres prevalentes y de alta mortalidad en Chile” (Proyecto Ministerio de Ciencias)

15 de mayo de 2025

Jorge Fernández Ordenes
Sección Genética Humana
Subdepartamento de Genómica y Genética Molecular
Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia

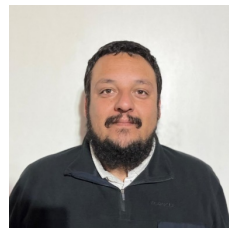
Coinvestigadores y equipo técnico :



Eduardo Durán J. María Ibáñez A. Iván Ponce L. M. Fernanda Valderrama



Sección Genética Humana Subdepto Genómica y Genética Humana



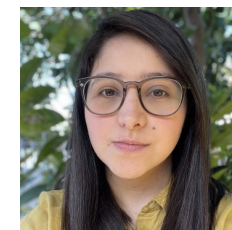
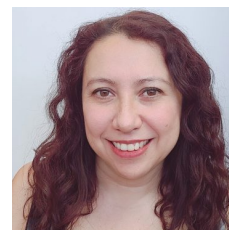
Marcelo Rojas H.

Paulo Covarrubias P.

Bárbara Parra R.



Coinvestigadores externos :



Katherine Marcelain

Jessica Toro C.

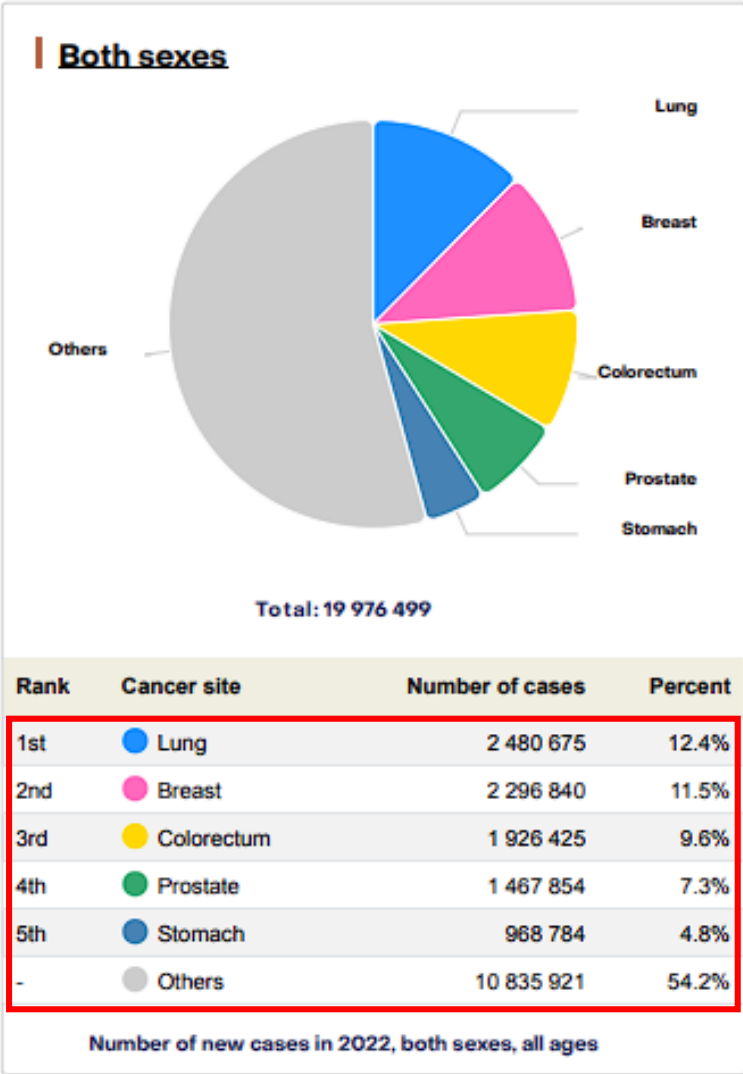
Evelyn González

Alicia Colombo

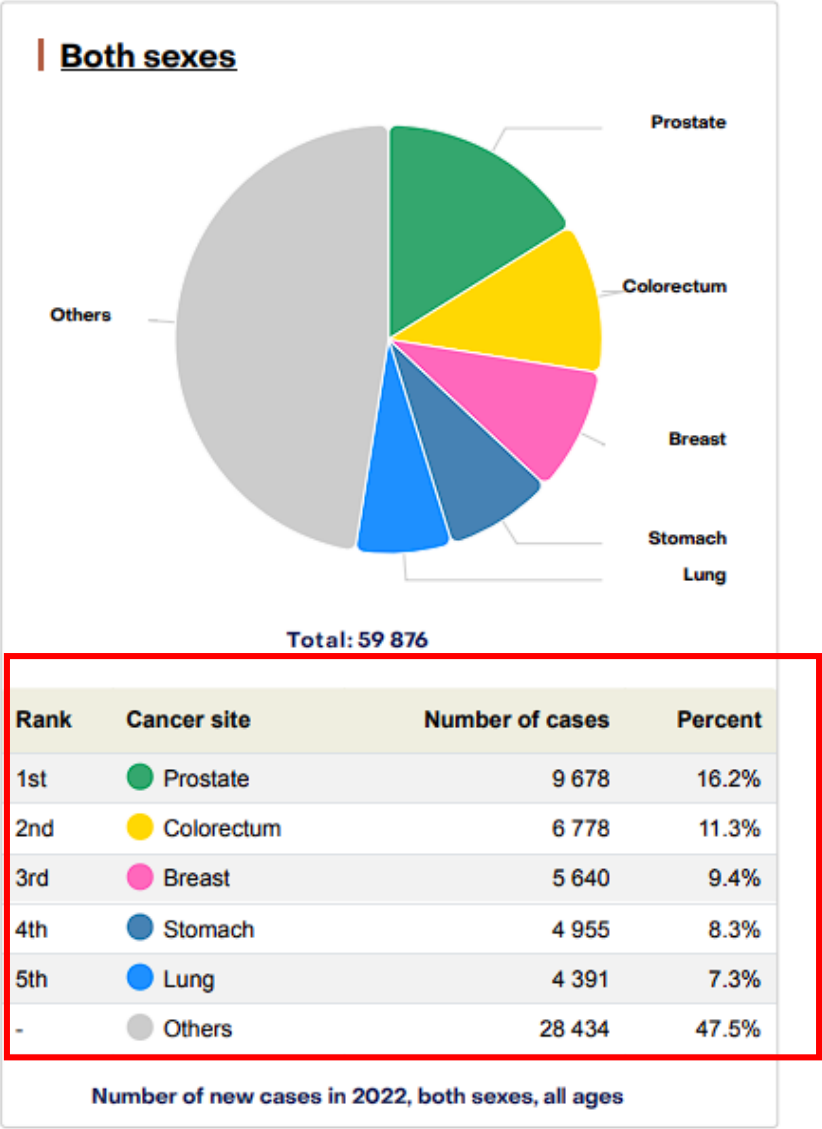
CANCER A NIVEL MUNDIAL

Statistics at a glance, 2022

	Males	Females	Both sexes
Population	3 972 735 747	3 912 335 034	7 885 070 781
Incidence*			
Number of new cancer cases	10 311 610	9 664 889	19 976 499
Age-standardized incidence rate	212.6	186.3	196.9
Risk of developing cancer before the age of 75 years (cum. risk %)	21.8	18.5	20.0
Top 3 leading cancers (ranked by cases)**	Lung Prostate Colorectum	Breast Lung Colorectum	Lung Breast Colorectum
Mortality*			
Number of cancer deaths	5 430 284	4 313 548	9 743 832
Age-standardized mortality rate	109.8	76.9	91.7
Risk of dying from cancer before the age of 75 years (cum. risk %)	11.4	8.0	9.6
Top 3 leading cancers (ranked by deaths)**	Lung Liver Colorectum	Breast Lung Colorectum	Lung Colorectum Liver
Prevalence*			
5-year prevalent cases	25 747 272	27 756 915	53 504 187



CANCER EN CHILE



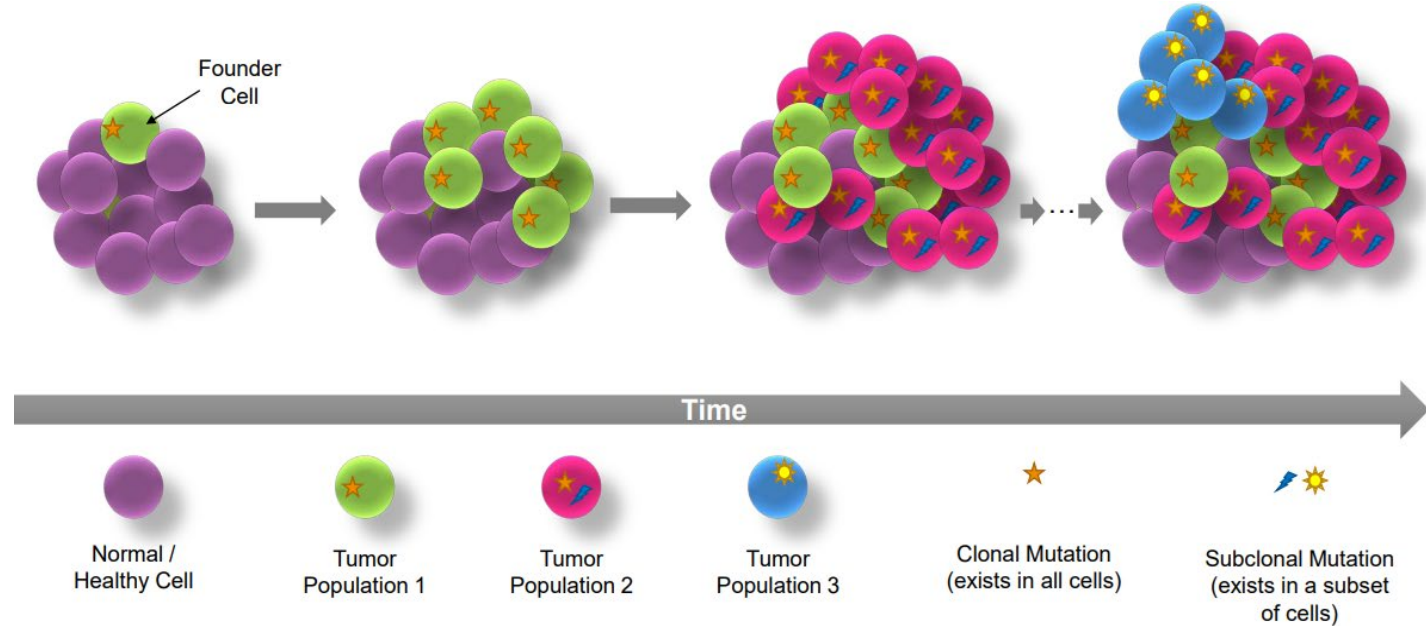
ALTERACIONES GENÉTICAS EN CÁNCER



Composición de una muestra tumoral



**Proyecto Genoma Humano
(2001)**
~20.000 genes codificantes

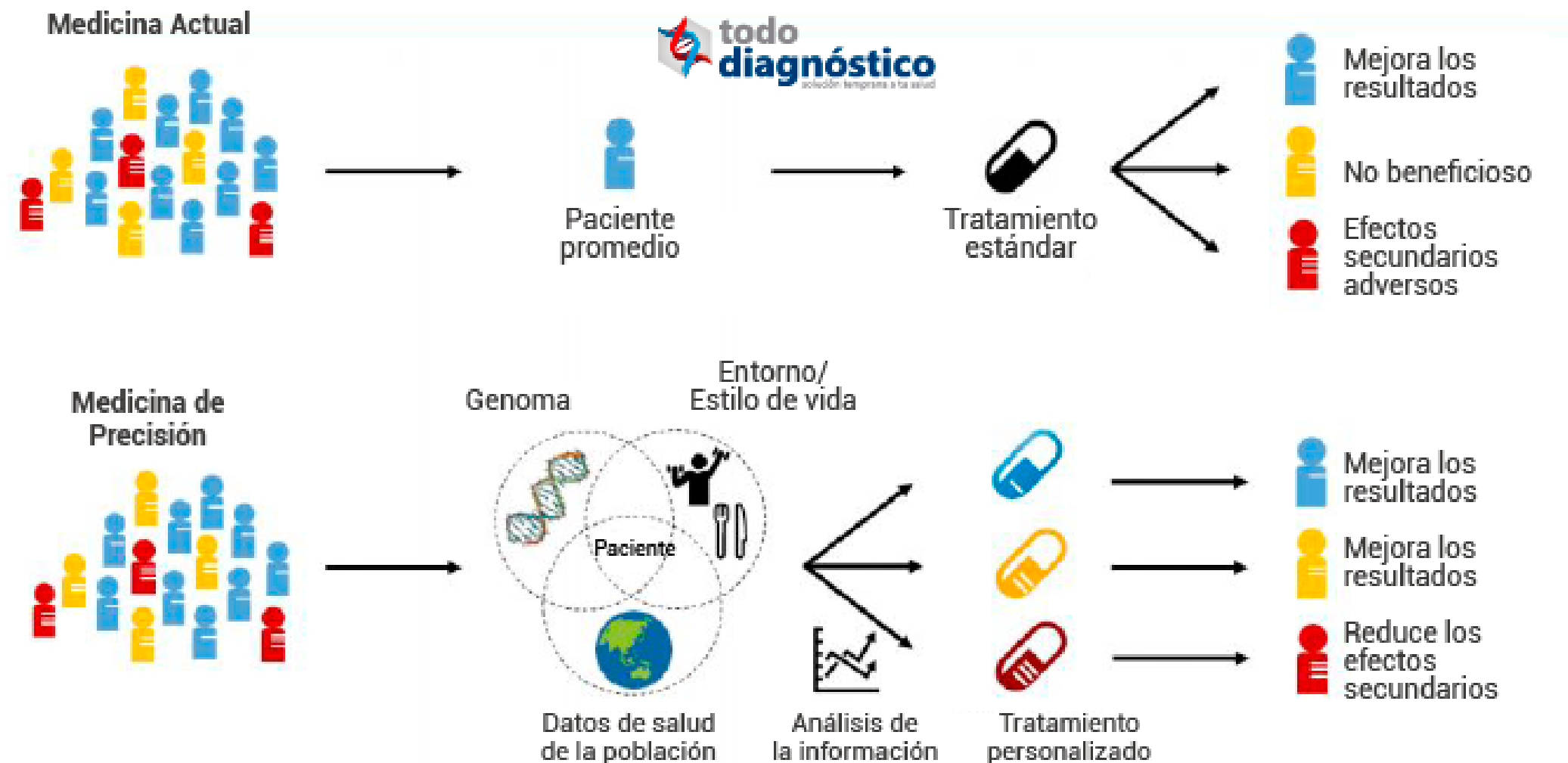


El cáncer es una enfermedad genéticamente heterogénea y dinámica

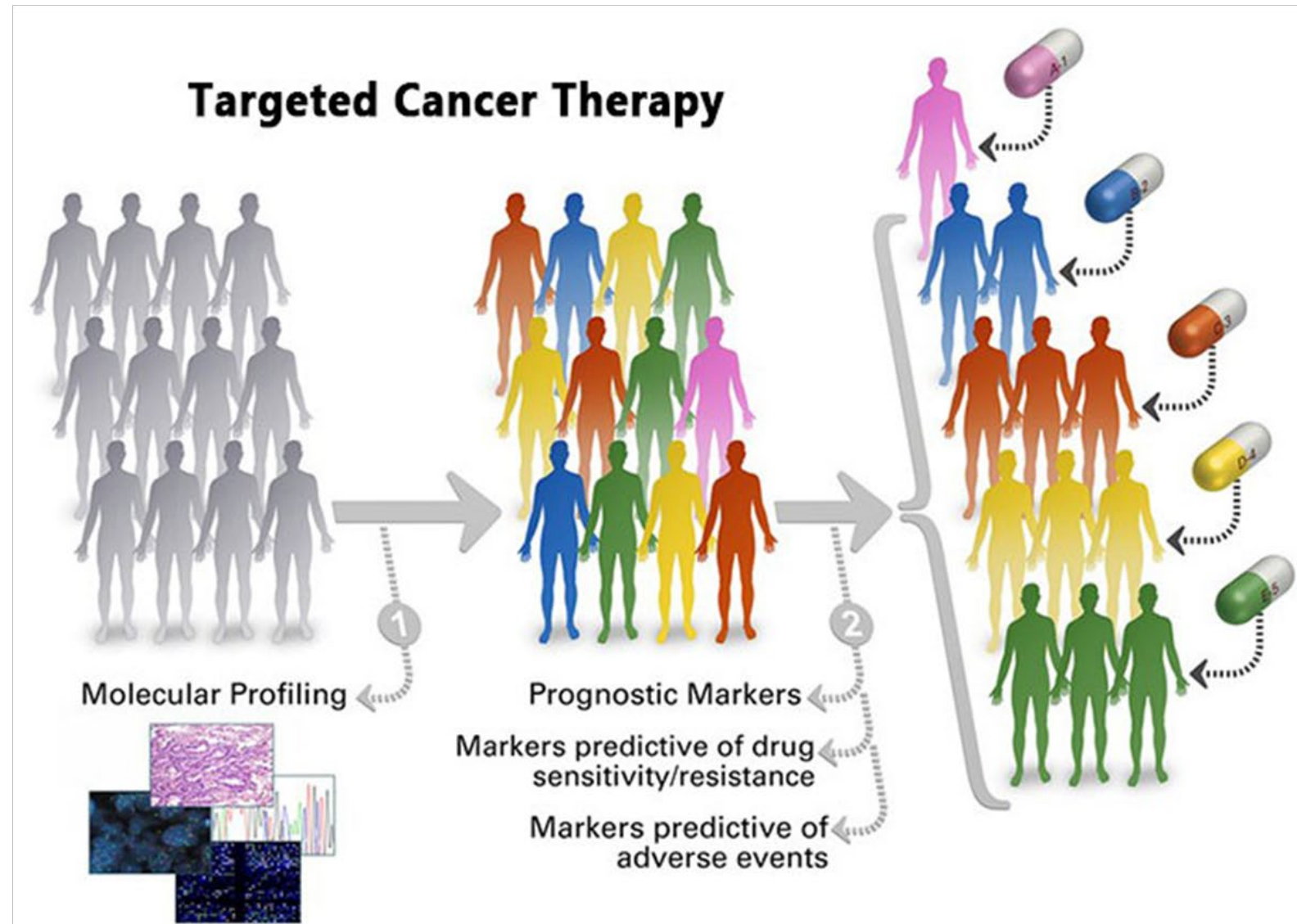
No todas las mutaciones producidas van a dar lugar a cáncer

No todas las variantes son patogénicas y las variantes patogénicas pueden servir como biomarcadores genéticos para el diagnóstico y elección de tratamiento

MEDICINA ACTUAL VS. MEDICINA DE PRECISIÓN



MEDICINA DE PRECISIÓN



TERAPIAS DIRIGIDAS A BIOMARCADORES GENÉTICOS EN ONCOLOGÍA

Según su indicación , pueden ser:

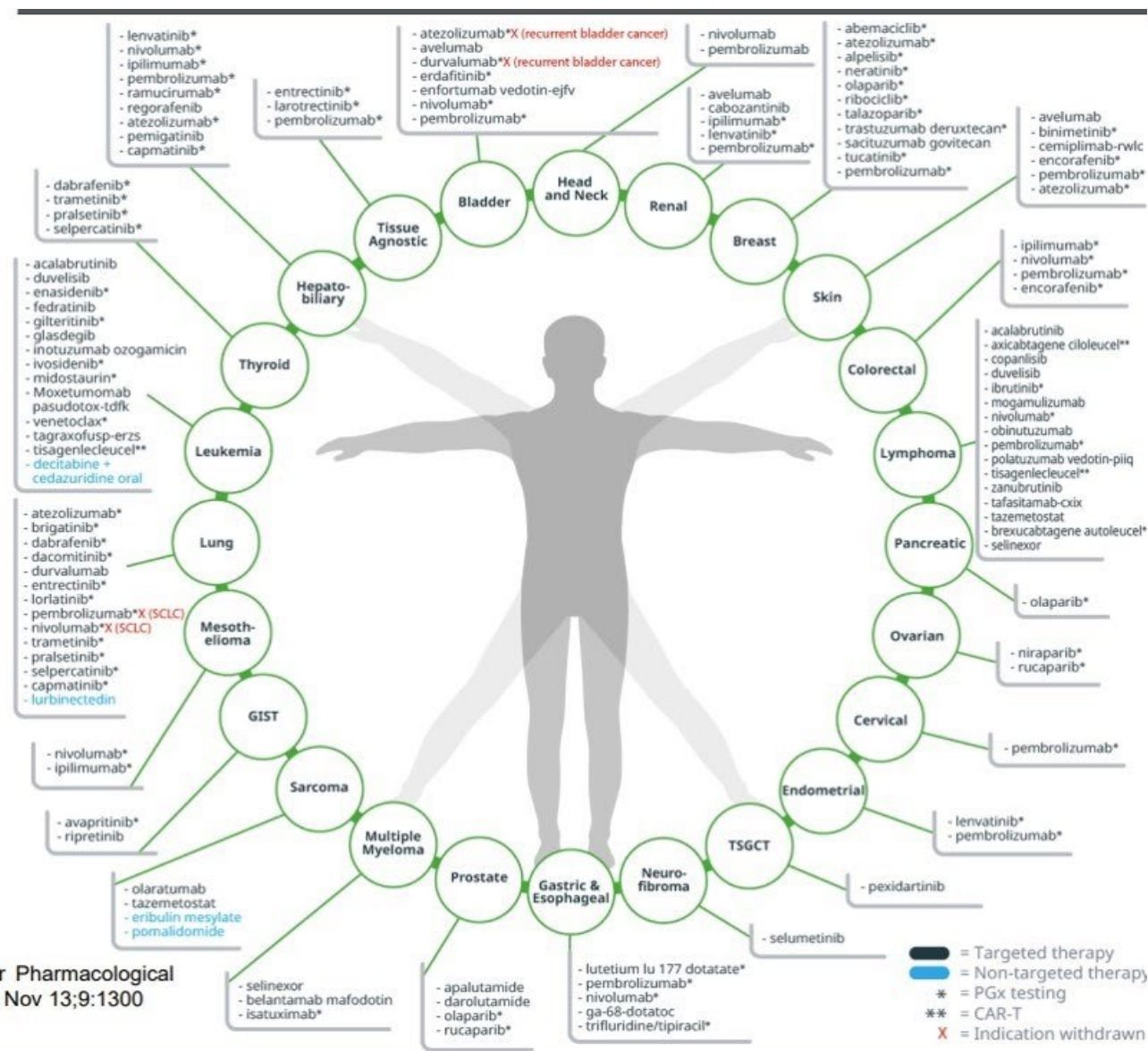
- Terapias dirigidas dependientes del tipo tumoral
- Terapias dirigidas independiente de tumor

Secuenciación Masiva (NGS)

Estudio de perfil genético de cada tumor

Fármacos aprobados en oncología en U.S.A entre 2016 y 2020

Adaptado de: Falzone L, Salomone S, Libra M. Evolution of Cancer Pharmacological Treatments at the Turn of the Third Millennium. Front Pharmacol. 2018 Nov 13;9:1300
doi: 10.3389/fphar.2018.01300. PMID: 30483135.



METODOLOGÍA



Preparación de Muestras tumorales FFPE:

**Recolección de
Muestras Tumorales de
CCR FFPE (BTUCH)
67 muestras**

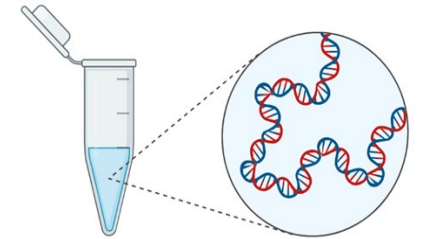
♂ (50,7%) y ♀ (43%)



**Extracción de DNA
desde cortes
histológicos FFPE
(6micras) >20% tejido
tumoral**

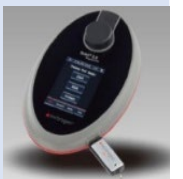


Kit GeneJET



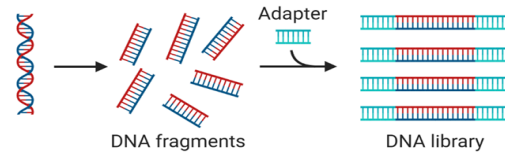
**Cuantificación del
DNA**

Fluorimetría de
alta sensibilidad
(Qubit HS)



METODOLOGÍA

Preparación de Librerías y Secuenciación



TumorSec™

- Basado en sondas de hibridación
- Evalúa 25 genes
- Tiempo de ejecución 24 a 48 hrs
- 200ng DNA inicial

AmpliSeq Cancer HotSpot

- Basado en amplificación de sitios hotspot
- Evalúa 50 genes
- Tiempo de ejecución 8 hrs
- 50ng DNA inicial

Secuenciación

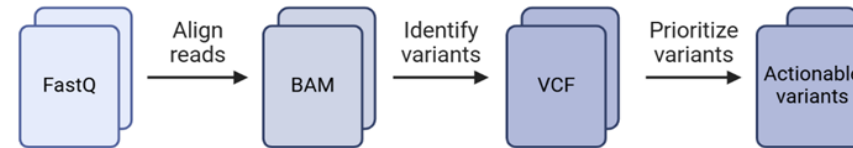


- Librerías de 39 muestras (máximo)
- 1.2 pM en cardtrige V2 de 300 ciclos pair ends (Illumina)
- control de PhiX a concentración final del 5%.
- Se incluyen controles HD200(Horizon)

METODOLOGÍA



Análisis Bioinformático



Datos NGS
(ambas estrategias)

**Pipeline Bioinformático
TumorSec™**
(Desarrollado por inv. de la U de Chile)

**Software CLC
Workbench**
(QIAGEN)

Franklin
(Genoox)

**Análisis
comparativo de
regiones
comunes**



**Análisis
Bioinformático**
Servidor BLADE DELL
384 cores. 4 TB RAM

METODOLOGÍA



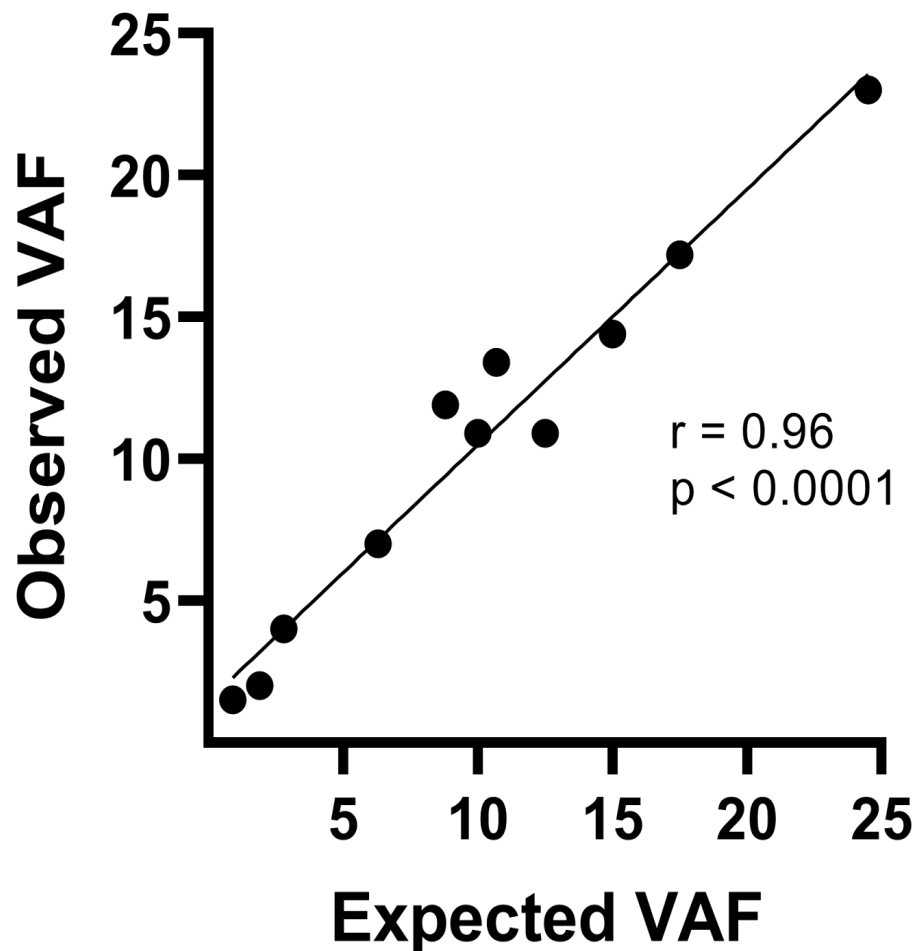
Genes Comunes (15)

AmpliSeq Hotspot v2 panel (Illumina)	TumorSec panel (K. Marcelain)
AKT1	AKT1
ALK	ALK
BRAF*	BRAF
EGFR	EGFR
ERBB2	ERBB2
IDH2	IDH2
KIT	KIT
KRAS*	KRAS
MET	MET
NRAS*	NRAS
PDGFRA	PDGFRA
PIK3CA*	PIK3CA
PTEN	PTEN
SMO	SMO
TP53*	TP53

RESULTADOS



Control analítico: Verificación del rendimiento y sensibilidad analítica del panel

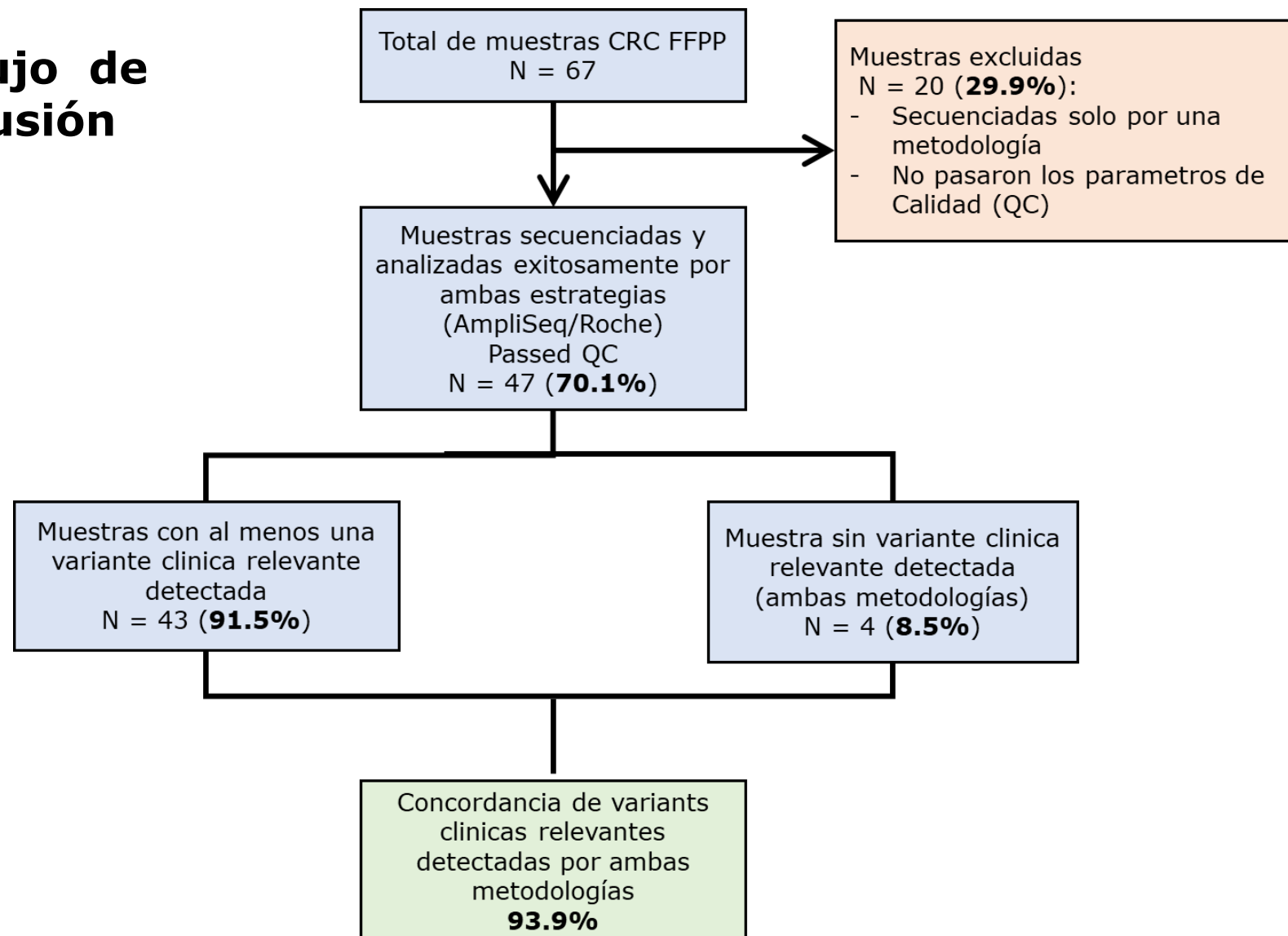


Correlación entre las frecuencias alélicas esperadas (*eje x*) para variantes informadas en una muestra de control FFPE estándar comercial y las observadas por el ensayo (*eje y*). Se utilizó la muestra HD200 FFPE Horizon Discovery. Frecuencias alélicas ~0.8 a ~20%)

RESULTADOS



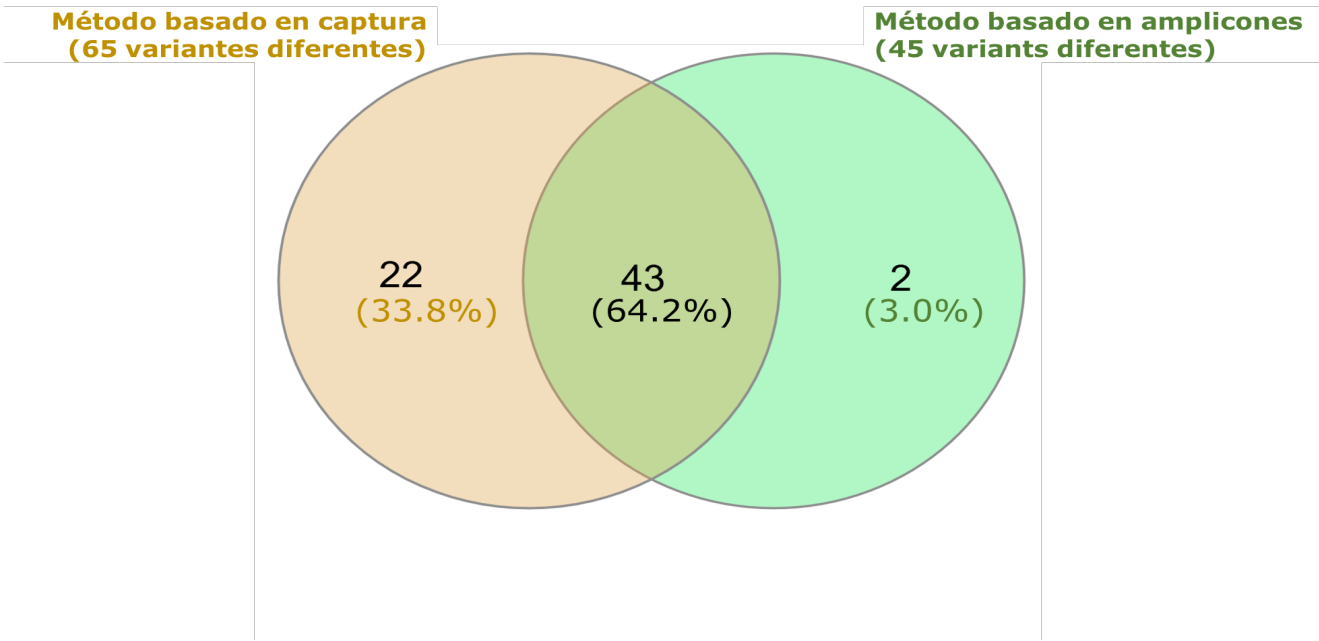
Diagrama de flujo de inclusión/ exclusión de muestras



RESULTADOS



Comparación entre estrategias de preparación de librerías



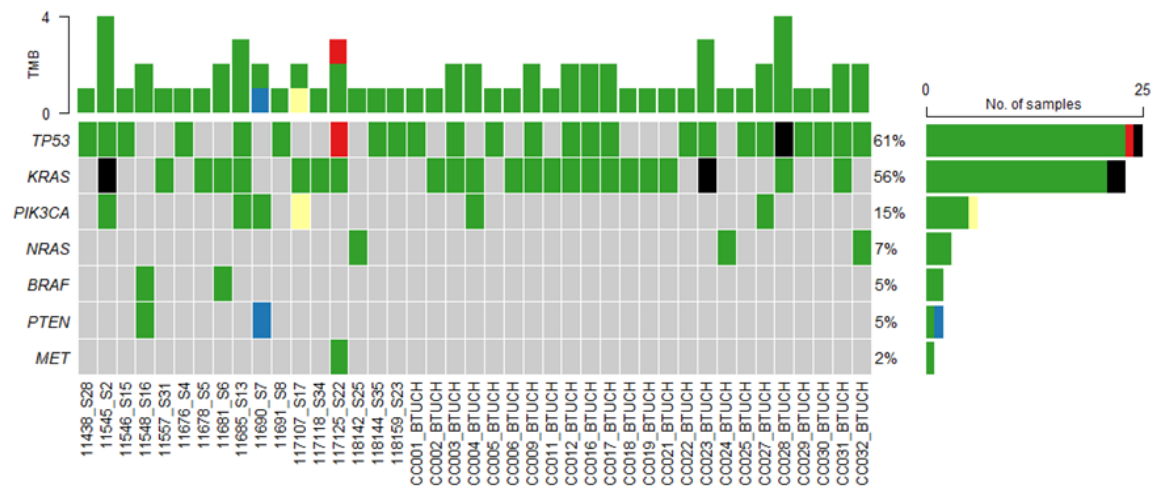
	Nº variantes totales	Nº variantes un método	Nº variantes compartidas
Roche/TumorSec™ (método captura)	83	22	61 (94%) (de las variantes detectadas por Ampliseq)
Ampliseq/TumorSec™ (método amplicones)	65	4	

RESULTADOS

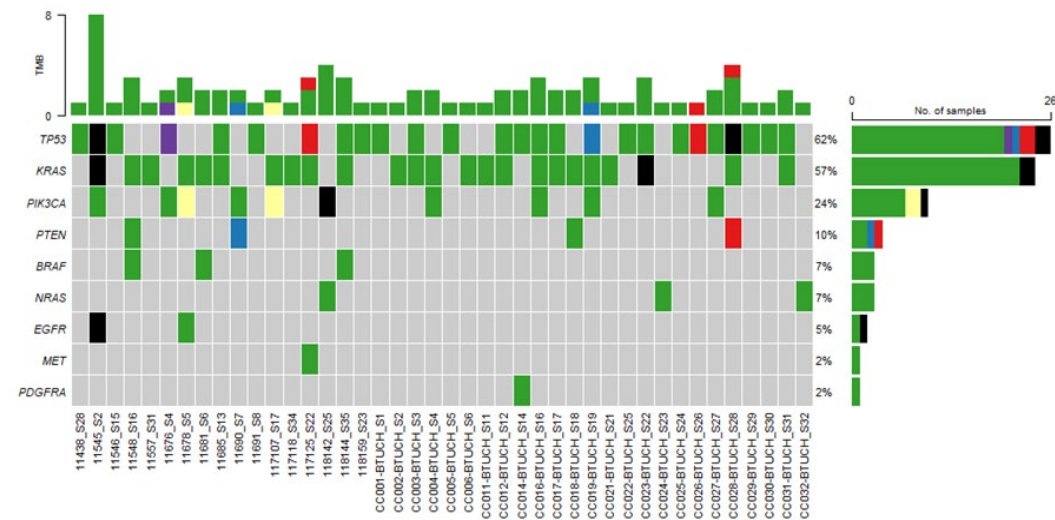


Oncoplots de variantes clínicamente relevantes detectadas por muestra y gen.

AmpliSeq Hotspot Panel



TumorSec-HyperPlus



Missense
FrameShift_Ins
InFrame_Del
FrameShift_Del
Nonsense
Multi Hit

Comparación de metodologías



	TumorSec-HyperPlus	AmpliSec Hotspot Panel
Química de las librerías	Captura por hibridación	Amplificación por PCR
Número de marcadores	25	50
Región del genoma que estudia	Permite la búsqueda de mutaciones críticas en regiones genómicas amplias asociadas al cáncer.	Está orientado a la detección de mutaciones críticas en regiones genómicas más acotadas o específicas asociadas al cáncer.
Regiones de estudio (en los 15 genes compartidos)	333 regiones	210 regiones
Costo por muestra	~\$700.000 CLP	~\$500.000 CLP
Tiempo de preparación	2 días	6 horas
Ventaja principal	Panel optimizado con marcadores relevantes para población chilena	Permite la detección de mutaciones somáticas en genes con relevancia oncológica a nivel mundial.
Desventaja principal	Mayor costo y tiempos prolongados de preparación	Riesgo de sesgos de amplificación inherentes a la técnica de PCR
Muestras por corrida*	60	60
Cantidad de ADN requerida	200 ng	10 ng

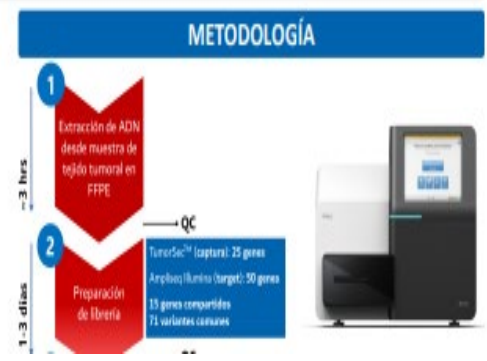


11 Eduardo Durán Jara¹, Iván Ponce López², Jessica Toro Carrasco², María Ibáñez Aravena³, Paulo Covarrubias Pizarro⁴, Marcelo Rojas Herrera¹, Katherine Marcelain Cubillos², Bárbara Parra Rivas^{1*}, Jorge Fernández Ordóñez^{1*}.

¹ Subdepartamento Genómica y Genética Molecular, Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia, Instituto de Salud Pública de Chile. Marathon 1000, Ñuñoa, Santiago, Chile.

² Laboratorio Genómica del Cáncer, Departamento de Oncología Básico-Clinica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Av. Independencia 1027, 8380453, Independencia, Santiago, Chile.

Se ha demostrado que los cánceres, aparentemente homogéneos en histología, pueden adquirir diferentes mutaciones (variantes genéticas) que determinan su pronóstico y respuesta a tratamientos. La secuenciación de próxima generación (en inglés, NGS), permite la secuenciación masiva de grandes segmentos de ADN, aumentando la cantidad de genes analizables y tipos de mutaciones detectables, además de optimizar los tiempos de respuesta y costos asociados a su análisis. En el año 2020 se desarrolló una nueva Estrategia Nacional de Salud en Chile, la cual está en concordancia con el Plan Nacional de Cáncer y su Plan de Acción 2018-2028 del MINSAL, orientándose a fortalecer el diagnóstico y tratamiento del cáncer a través del análisis de NGS. El objetivo del presente proyecto fue implementar un ensayo de secuenciación para potenciar el tratamiento dirigido del cáncer, a través del uso de NGS, dando un mayor impulso a la medicina de precisión en Chile, específicamente en el sector público. Se implementó un test de detección de variantes genéticas en FFPE con la identificación de variantes con



current issues in
molecular biology



Article

Towards personalized precision oncology: A feasibility study of NGS-based variant analysis on FFPE CRC samples in a Chilean public health system laboratory

Eduardo Durán-Jara¹, Iván Ponce¹, Marcelo Rojas¹, Jessica Toro², Paulo Covarrubias¹, Natalia T. Santis-Alay^{1,3}, Mario E. Soto-Marchant^{1,4}, Katherine Marcelain², Jorge Fernández^{1*}, Bárbara Parra¹

- ¹ Subdepartamento de Genómica y Genética Molecular, Laboratorio Nacional Biomédico y de Referencia, Instituto de Salud Pública de Chile, Av. Marathon 1000, Ñuñoa, Santiago, Chile
- ² Laboratorio de Genómica del Cáncer, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Av. Independencia 1027, 8380453, Independencia, Santiago, Chile
- ³ Departamento de Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Santiago, Chile.
- ⁴ Escuela de Tecnología Médica, Facultad de Salud y Odontología, Universidad Diego Portales. Santiago, Chile

CONCLUSIONES



- Las variantes clínicamente relevantes detectadas en las muestras procesadas por el panel comercial AmpliSeq Cancer Hotspot Panel v2 (basado en amplicon) también se detectaron utilizando la estrategia de preparación de librería KAPA/Roche (basada en captura).
- La diferencia en la detección de variantes, podría explicarse porque mostraron un VAF cercano al umbral (5%), y por las diferencias en las regiones cubiertas por cada kit (Gen completo v/s sitios hotspot).
- Teniendo en cuenta que la cartera de TumorSec™ está diseñada para analizar variantes clínicamente relevantes en la población latinoamericana, y el rendimiento y concordancia con los resultados obtenidos con el kit comercial Ampliseq, sugieren que TumorSec™ podría ser usado con su propio pipeline de libre acceso para priorizar y anotar variantes accionables, lo cual podría reducir el tiempo y los costos de análisis.
- El presente estudio permitió sentar las bases para la implementación de ensayos de NGS en el sistema de salud pública, a través de la exitosa puesta en marcha de dos esquemas metodológicos de análisis de muestras tumorales en FFPE, dando un soporte metodológico y de empírico para la adopción de estas herramientas de diagnóstico molecular para guiar futuras políticas públicas relativas a la oncología de precisión.

PROYECCIONES



Identificación de variantes genéticas con accionabilidad terapéutica en muestras de pacientes con cánceres de mama y pulmón en Chile para la generación de un reporte clínicamente útil y relevante (Proyecto Ministerio de Ciencias 2024).

.



Chile *tiene* al ISP



Gracias