

DECLARACIÓN DE INTERÉS PARA RECIBIR PROFESIONALES FP-II EN CONTRATOS DE PRÁCTICAS

Grupo Acreditado Receptor: **Grupo Acreditado de Investigación Clínica y Traslacional en Cáncer**

Responsable: **Victoria Castel Sánchez**

ESPECIALIDAD/ES SOLICITADAS ACORDE CON LA NATURALEZA PROYECTO DE INVESTIGACIÓN AL CUAL SE ADSCRIBIRÍA Y COLABORARÍA EL CONTRATADO

Anatomía patológica-Citología

Dietética

Laboratorio de Diagnóstico Clínico

Documentación Sanitaria

Laboratorio (rama Química)

Otros, especificar

PROGRAMA FORMATIVO A REALIZAR POR EL CONTRATADO

Proyecto de investigación en vigor al que se adscribirá el contratado (indique referencia y resumen)

**SISTEMA DE DETECCIÓN DE BIOMARCADORES ONCOLÓGICOS PARA EL TRATAMIENTO PERSONALIZADO DEL CÁNCER COLORRECTAL (RTC-2015-3625-1).
ACRÓNIMO: "ONCOMARKER". DURACIÓN: 2016-1018.**

El cáncer colorrectal (CCR) constituye una de las prioridades más importantes para nuestro sistema sanitario. En la Comunidad Valenciana se registra una incidencia de 3.252 casos nuevos al año y 1.565 fallecimientos anuales por esta enfermedad. La supervivencia de los pacientes con tumores en estadios avanzados es desfavorable. Un porcentaje importante (30-65%) de tumores localizados presentan recidivas en su evolución y terminan sucumbiendo al proceso neoplásico. La selección del régimen de tratamiento más eficaz y beneficioso para el paciente oncológico sigue siendo un reto; sin embargo, el CCR representa un buen ejemplo del desarrollo de la "Medicina de Precisión" y se dispone de tratamientos cuya prescripción y efectividad viene condicionada por la determinación de marcadores moleculares predictivos de respuesta a la terapia. En concreto, el estado mutacional de los genes *KRAS* y *NRAS* resulta relevante y mandatorio en el empleo de terapias basadas en inhibidores específicos (anticuerpos anti-EGFR).

Desde el punto de vista metodológico, se han descrito múltiples aproximaciones para determinar el estado mutacional de los genes *KRAS*, *NRAS* y *BRAF* en los tumores de CCRm, tales como la secuenciación directa, pirosecuenciación o PCR en tiempo real. Aun así, la Asociación Española Contra el Cáncer (AECC) denuncia que "tan sólo un 50% aproximadamente de los pacientes oncológicos tuvo acceso a los cuidados paliativos cuando los precisaron en el año 2015". Por lo tanto, ante la importante demanda de implementar la medicina personalizada en el área del cáncer, el proyecto "ONCOMARKER" plantea como objetivo general el desarrollo tecnológico y validación clínica de una nueva solución de análisis y detección de mutaciones somáticas en muestras biológicas (tumor embebido en parafina y biopsia líquida) para determinar el estado mutacional de *KRAS*, *NRAS* y *BRAF* en pacientes con CCRm con objeto de ayudar a establecer un pronóstico y guiar el tratamiento con terapia anti-EGFR. Adicionalmente, se pretende que esta nueva solución tecnológica reúna excelentes prestaciones de sensibilidad, selectividad, coste, sencillez operativa, escalabilidad y robustez, permitiendo así su implantación en un amplio abanico de centros sanitarios.

Describir el proyecto de investigación, haciendo especial énfasis en los aspectos formativos y las tareas a realizar por el contratado FP-II (*Este apartado se publicará junto con las bases de la convocatoria con el fin de que el candidato FP-II pueda seleccionar el proyecto que más le interese*)

El Grupo acreditado de Investigación Clínica y Traslacional en Cáncer (GICTC) del IIS La Fundación está formado por un equipo multidisciplinar (Oncología Médica, Oncología pediátrica, Biología Molecular, etc.). Posee una dilatada experiencia en investigación oncológica y parte de sus esfuerzos los centra en la biología molecular del cáncer. En concreto, la línea de trabajo de "Biomarcadores moleculares pronósticos y predictivos de respuesta al tratamiento en el tumor sólido del adulto" tiene por objeto implementar la medicina de precisión en el centro hospitalario. Bajo esta línea, se han desarrollado numerosos proyectos de investigación en el área de la oncología molecular (IISLaFe 2014/0370; FIS-PIE13/00046; FIS PI13/01640; Consellería de Sanitat 090/2011; FIS PI10/00347; Consellería de Sanitat AP-181/10; Fundación GxG 41/09; Fundación GxG 40/09; Consellería de Sanitat GE-034/09, entre otros). Asimismo, el proyecto "ONCOMARKER" (RTC-2015-3625-1) ha impulsado la creación de un consorcio de trabajo entre la Unidad de Biología Molecular del HUyP La Fe y el Instituto Interuniversitario de Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico (IDM) de la UPV, entre otros.

PROYECTO ONCOMARKER

Objetivo, diseño, ámbito y sujetos de estudio

El cáncer colorrectal avanzado (CCRm) representa un buen ejemplo del desarrollo de la "Medicina Personalizada". El estado mutacional de los genes *KRAS* y *NRAS* resulta relevante y mandatorio en el empleo de terapias dirigidas que han demostrado un mayor beneficio que la quimioterapia tradicional para los pacientes oncológicos. El proyecto tiene por objeto el desarrollo tecnológico y la validación clínica de una nueva plataforma de análisis de biomarcadores moleculares para establecer el pronóstico y guiar el tratamiento con terapia anti-EGFR en los pacientes con CCRm.

Para ello, se propone un estudio de validación prospectivo y ciego en el ámbito de la investigación traslacional en el que se abordará el análisis molecular de los genes *KRAS*, *NRAS* y *BRAF* en pacientes diagnosticados de CCRm y atendidos por el Servicio de Oncología Médica del HUyP La Fe. Se incluirán tres grupos de estudio: a) grupo de 150-200 tumores FFPE (primario o metástasis); b) grupo de 100 muestras de sangre periférica (biopsia líquida) de pacientes con CCRm; y c) grupo de referencia/control. De cada paciente se recogerán datos clínico-biológicos, características histopatológicas del tumor, parámetros evolutivos y de respuesta al tratamiento. Todos los pacientes deberán haber manifestado por escrito su consentimiento informado. El estudio molecular se realizará a partir del ADN obtenido de tumores embebidos en parafina (FFPE) y ADN tumoral circulante (ctADN) procedente de la biopsia líquida (sangre periférica). Las determinaciones se realizarán mediante los sistemas de referencia seleccionados y la nueva plataforma de análisis.

Instrumentalización y determinaciones.

El programa formativo se desarrollará en la Unidad de Biología Molecular del Servicio de Análisis Clínicos. El FP-II solicitado en la presente ayuda, se formará e implicará en las siguientes tareas:

- *Métodos de extracción y purificación de ácidos nucleicos (ADN/ARN) a partir de tejido tumoral embebido en parafina (FFPE) y biopsias líquidas (ctDNA)*. El FP-II recibirá formación en las técnicas clásicas de anatomía patológica de fijación e inclusión de los tumores para posterior estudio molecular. Asimismo, aprenderá los fundamentos y manejo de los kits actualmente utilizados con estos propósitos [*Deparaffinization Solution (Qiagen)*, *GeneRead DNA FFPE Kit (Qiagen)*, *ScreenCell CYTO kit* y *ScreenCell MB kit (Inydia)*, *QIAamp DNA Investigator Kit (Qiagen)*, *QIAamp DNA Micro Kit (Qiagen)*, *QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit (Qiagen)*, *GenomePlex Single Cell Whole Genome Amplification Kit (WGA4; Sigma-Aldrich)*, entre otros]. Adicionalmente, se encargará de determinar la calidad y cantidad de los ácidos nucleicos

(ADN/ARN) extraídos mediante espectrofotometría (Nanodrop/Qubit), electroforesis capilar (BioanalizadorAgilent 2200 TapeStationSystem) o real time qPCR, según proceda.

- *Amplificación de ácidos nucleicos mediante PCR convencional y a tiempo real.* El FP-II deberá versarse en las diferentes aproximaciones de PCR plateadas en el proyecto [amplificación alelo específica (ASA-PCR), amplificación refractaria de sistemas de mutaciones (ARMS-PCR), bloqueo con ácido nucleico peptídico (PCR-clamping PNA), bloqueo con ácidos nucleicos bloqueados (PCR-clamping LNA) y PCR digital] con objeto de conocer las ventajas e inconvenientes (sensibilidad, selectividad, formato y protocolos de trabajo, requerimientos de muestra, evaluación de resultados, versatilidad, etc.) de cada una de las técnicas. Se implicará en todos los procedimientos de PCR desarrollados actualmente en la Unidad de Biología Molecular para la determinación de biomarcadores moleculares en tumores sólidos. Asimismo, se implicará en la puesta a punto y determinación de biomarcadores mediante métodos de extrema sensibilidad (0.001%), con objeto de ayudar a trasladar la biopsia líquida de los pacientes con CCRm en nuestro centro hospitalario.

- *Detección de ADN mediante electroforesis en geles de agarosa y en capilares.* EL FP-II se implicará el procesado de electroforesis convencional en geles (agarosa y poliacrilamida, MD, etc) y revelado mediante equipo fotográfico (UVIdoc System). Asimismo, aprenderá los protocolos de trabajo requeridos (purificación de PCR, BigDye® Terminator v1.1 Kit (Roche), etc.) para realizar electroforesis capilar (secuenciación directa de amplicones y análisis de fragmentos) en el ABIprism 3130 (Applied Biosystems) y los programas informáticos necesarios para su procesamiento.

- *Aprendizaje en el manejo de plataformas de alto rendimiento de ultrasecuenciación o Next Generation Sequencing (NGS).* EL FP-II se formará en la preparación de PCRs múltiples y librerías genómicas para la secuenciación masiva. En concreto, se versará en la tecnología de ultrasecuenciación del Ion Torrent (secuenciación por semiconductores) en la plataforma Personal Genome Machine™ (PGM™; Life Technologies) y, en concreto, el panel CE-IVD Oncomine Solid Tumor DNA kit (Thermo Fisher Scientific). Este kit permite identificar deleciones, inserciones, inversiones y sustituciones presentes en regiones seleccionadas de distintos genes implicados en cáncer, entre los que se encuentran *KRAS*, *NRAS* y *BRAF*.

- *Participación en la validación clínica de la nueva plataforma de análisis.* Tras la puesta a punto de la nueva plataforma por el IDM de la UPV (sistema de amplificación diferencial entre las variantes nativas y mutadas en un ensayo en formato de micromatrices con sondas específicas, cuyo resultado será leído e interpretado por un detector de altas prestaciones), el FP-II se formará en esta nueva aproximación y se implicará en el procesamiento de las muestras descritas en el proyecto (estudio ciego), implicándose en la validación de la nueva plataforma.

- *Conocimiento y manejo de los programas informáticos.* Asimismo, será necesario que el FP-II adquiriera conocimientos a nivel informático de la mayor parte de los programas utilizados en la Unidad de Biología molecular, desde los programas de gestión de muestras (registro, alicuotado, almacenamiento, etc), programas de plataformas informáticas de biomarcadores oncológicos (*Valida RAS*), bases de datos de acceso público (*PubMed*, *COSMIC*, etc.), programas de alineamiento y visualización de secuencias (*BLAST*, *Genious*, *Integrative Genome viewer*, etc.), entre otras.

Creemos firmemente desde la Unidad de Biología Molecular que el plan de formación establecido para el FP-II no solo le aportará conocimientos en el marco de un proyecto de investigación, sino que además le servirá para desarrollarse como profesional dentro de un laboratorio asistencial dedicado a la oncología traslacional.