



201 - OPTIMIZACIÓN DE LA BIOPSIA LÍQUIDA EN ORINA PARA LA MONITORIZACIÓN DE LA RESPUESTA A TRATAMIENTO DEL CÁNCER COLORRECTAL

M.D. Giráldez Jiménez^{1,2,3}, A. Gil Gómez^{1,2}, D. Maya Miles^{1,2}, N. Barrera Martín¹, Q. Kang⁴, D. Hovelson⁵, M. Romero Gómez^{1,2,3} y M. Tewari⁴

¹Unidad Clínica de Aparato Digestivo, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla. ²Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS), Sevilla. ³Universidad de Sevilla. ⁴Department of Internal Medicine, Hematology/Oncology Division, University of Michigan, Ann Arbor, MI (EEUU). ⁵Department of Pathology, University of Michigan, Ann Arbor, MI (EEUU).

Resumen

Introducción: El análisis de DNA tumoral circulante (ctDNA) en plasma ha demostrado ser de gran utilidad como biomarcador de cáncer ya que permite el genotipado, la monitorización de respuesta a tratamiento y la detección de recurrencias. Sin embargo, la detección de ctDNA en orina es una alternativa poco estudiada, a pesar de poseer grandes ventajas, al tratarse de una estrategia completamente no invasiva en la que el paciente puede recoger las muestras en casa de forma autónoma, sin restricciones de volumen ni frecuencia, y de forma segura dada su escasa infectividad.

Objetivos: Optimizar la evaluación de ctDNA en orina en pacientes con cáncer y evaluar su potencial utilidad en la monitorización del tratamiento del cáncer colorrectal (CCR).

Métodos: Se evaluaron estrategias de preservación de DNA en orina (pH y EDTA) mediante la adición de un *ladder* de DNA en muestras de voluntarios sanos y se comparó la eficiencia de múltiples métodos de extracción de ctDNA para recuperar los fragmentos de DNA añadidos. Para la evaluación inicial de ctDNA mediante *Whole Genome Sequencing*, elegimos el escenario más favorable para biopsia líquida, las neoplasias hematológicas. Seleccionamos 12 casos con leucemia aguda mieloide con > 10% de blastos y cariotipo disponible y adaptamos un protocolo de preparación de librerías de DNA de restos arqueológicos. Se compararon los perfiles de *copy number variations* (CNV) en orina con los obtenidos al secuenciar muestras apareadas en plasma. Posteriormente, para validar nuestra estrategia en CCR, comparamos los resultados de secuenciación en orina y plasma de 8 casos con cáncer avanzado y perfil de CNV conocido. Además, en uno de los CCR se secuenciaron muestras seriadas de orina durante los ciclos de quimioterapia para evaluar los cambios de ctDNA.

Resultados: Se evidenció una rápida degradación del DNA en muestras de orina almacenadas a temperatura ambiente sin solución preservadora, mientras que las muestras con EDTA a alta concentración (40 mM) mostraron estabilidad durante > 24h. A diferencia de los kits comerciales de extracción, el uso de una resina de intercambio iónico permitió una recuperación eficiente de los

fragmentos pequeños de DNA (63-78%). Nuestra estrategia permitió detectar fragmentos de ctDNA en orina en todos los tumores evaluados y definir sus perfiles de CNV. Los fragmentos de ctDNA en orina mostraron una longitud menor que en plasma (20-40 vs 130-150 bp). Los perfiles de CNV detectados en orina fueron altamente concordantes con los identificados en plasma y se correlacionaron con la respuesta a quimioterapia en el caso con muestras seriadas disponibles.

Conclusiones: El ctDNA en orina consiste en fragmentos ultracortos que requieren adaptaciones metodológicas para su detección. Los perfiles de CNV en orina muestran buena correlación con los obtenidos en plasma y representan una alternativa prometedora para la monitorización no invasiva de la respuesta a tratamiento del CCR.