



Estructuras de apoyo a la investigación: LOS BIOBANCOS DE CASTILLA Y LEÓN

Investigación con muestras y colecciones hospitalarias

Luis Muñoz Bellvís
Jefe de Servicio. Cirugía General y del Ap. Digestivo
Complejo Asistencial Universitario de Salamanca





Situación actual: Cirugía e Investigación

Razón para investigar:

Dar respuesta a los problemas a los que el clínico se enfrenta todos los días

Preguntas correctas

Numerosas investigaciones y publicaciones que no responden a nada sustancial:

“Cambios en técnicas de cirugía del páncreas”

Situación actual: Cirugía e Investigación

Servicio de Cirugía Salamanca:

4000 cirugías

22000 consultas

70 pacientes ingresados + CMA

Desánimo por:

Salarios

Infraestructuras y Dotación tecnológica

Formación

Docencia

Investigación.....LISTAS de ESPERA

Situación actual: Cirugía e Investigación

Imprescindible:

“Una mesa y una silla”



Situación actual: Cirugía e Investigación

Año 2000 Department of Surgery - Mount Sinai

“Patient Oriented Research”: 50% tiempo laboral remunerado

Research Fellow



Situación actual: Cirugía e Investigación

Investigación con tumores sólidos

PROTOCOLO:

- N° BT:
- TIPO DE MUESTRA:
- QUIROFANO/CIRUJANO:



**Congelar a -80°C
rápidamente**

PROCESADO

OBSERVACIONES/INCIDENCIAS:



10mL x 1

Obtención plasma
+ células
(centrifugación
2,000g; 5min).
3 alícuotas de 1mL



10mL x 1

Obtención suero
(centrifugación
2,000g; 5min)
3 alícuotas de 1mL

**Estudios de ADN tumoral
circulante y proteínas**

PROCESADO DEL TUMOR



Tejido fresco

Tejido congelado
(-80°C)

Disgregación mecánica del tumor en PBS.



Lavados de las células con PBS
Centrifugar a 1200g (7min) y retirara sobrenadante (x2)

Células para FISH
Patrones genéticos

Resuspender células en
metano/acético (3:1 v/v).
Dejar fijar 10min



Centrifugar a 1.200g
7min y retirara
sobrenadante (x2)



Congelar aliquota en
metanol/acético
(-20°C)

TRIZOL
Perfil de expresión (ARN)

Resuspender
células en PBS



Congelar en 1mL
Trizol.

Extracción de ADN
Mutaciones, ganancias,
pérdidas ...

**CONGELACION
CELULAS**
ADN, ARN y Proteínas

Se congelan entre 2-5 x 10⁶ de
células en 1mL en SBF/10%DMSO



**GUARDAR A
HIELO SECO**

Situación actual: Cirugía e Investigación

Problemas detectados:

- 1.- Muestras de mala calidad
- 2.- No procesamiento en fresco
- 3.- Dependencia del patólogo o responsable del banco
- 4.- No homogeneización en recogida, almacenamiento y custodia
- 5.- Dificultad obtención datos clínicos y seguimiento
- 6.- No muestras de sangre periférica

Plan de mejora de tratamiento global de muestras biológicas en tumores sólidos:

1ª Fase:

Establecer Objetivos y desarrollo de los mismos (terminada)

2ª Fase:

Puesta en marcha plan en Servicio Cirugía (piloto)
(octubre 2014 – octubre 2015)

3ª Fase:

Ampliación a otros tumores digestivos y mama (octubre 2015)

Ampliación a otras áreas: pulmón, cabeza y cuello...(octubre 2015)

Plan de mejora de tratamiento global de muestras biológicas en tumores sólidos:

1ª Fase:

Establecer Objetivos y desarrollo de los mismos

Objetivo: obtener y almacenar muestras biológicas, para estudios presentes o futuros, con los máximos estándares de calidad y control.

- .- Muestra de tumor
- .- Muestra de tejido sano, si procede
- .- Muestra de sangre periférica
- .- Base de datos clínicos acompañando a la muestra e incluyendo el seguimiento
- .- Cuestionario epidemiológico básico del sujeto

Plan de mejora de tratamiento global de muestras biológicas en tumores sólidos:

Principios:

Control previo y selección material por patólogo

Almacenamiento muestras en biobanco situado en CAUSA

Almacenamiento muestras de sangre periférica y cuestionario epidemiológico en Banco de ADN

Base de datos centralizada con datos clínicos y seguimiento

Plan de mejora de tratamiento global de muestras biológicas en tumores sólidos:

2ª Fase:

Puesta en marcha plan en Servicio Cirugía (piloto)

Tumores seleccionados:

Ca. Colon o recto

Metástasis hepáticas de CCR

Ca. Páncreas

Plan de mejora de tratamiento global de muestras biológicas en tumores sólidos:

2ª Fase:

Puesta en marcha plan en Servicio Cirugía (piloto)

Consentimiento Informado:

Papel autocopiable con 4 copias

Se explica y firma al incluir al paciente en lista de espera

Se entrega una copia al paciente

El resto de copias permanecen en la historia

Plan de mejora de tratamiento global de muestras biológicas en tumores sólidos:

2ª Fase:

Puesta en marcha plan en Servicio Cirugía (piloto)

Sangre periférica:

Al ingreso del paciente en planta

Se guarda en nevera junto a una copia del CI

Se recoge por personal del Banco de ADN al día siguiente (sangre y CI)

Plan de mejora de tratamiento global de muestras biológicas en tumores sólidos:

2ª Fase:

Puesta en marcha plan en Servicio Cirugía (piloto)

Muestras de tejido tumoral y sano:

Se remiten en fresco al Servicio de AP (< 15 minutos)

Se adjunta una copia del CI para el Biobanco

En el Servicio de AP se seleccionan las muestras para el Biobanco una vez establecido el diagnóstico y que no se precisen para estudios diagnósticos posteriores.

En la historia queda el último ejemplar del CI

Plan de mejora de tratamiento global de muestras biológicas en tumores sólidos:

2ª Fase:

Puesta en marcha plan en Servicio Cirugía (piloto)

Cuestionario epidemiológico:

Se rellena en la planta por el paciente

Una vez recuperado de la cirugía

Con la ayuda de la Data Manager del Biobanco

Se remite al banco de ADN

Plan de mejora de tratamiento global de muestras biológicas en tumores sólidos:

2ª Fase:

Puesta en marcha plan en Servicio Cirugía (piloto)

Datos Clínicos:

Al alta del paciente

Formulario preestablecido se rellena por residente o facultativo responsable

Se entrega a data manager y se introducen los datos en Base de datos

Plan de mejora de tratamiento global de muestras biológicas en tumores sólidos:

2ª Fase:

Puesta en marcha plan en Servicio Cirugía (piloto)

Seguimiento:

Listado de pacientes incluidos mensualmente

Revisión anual

Cirugía – Oncología: rellenan los campos

Data manager lo introduce en base de datos

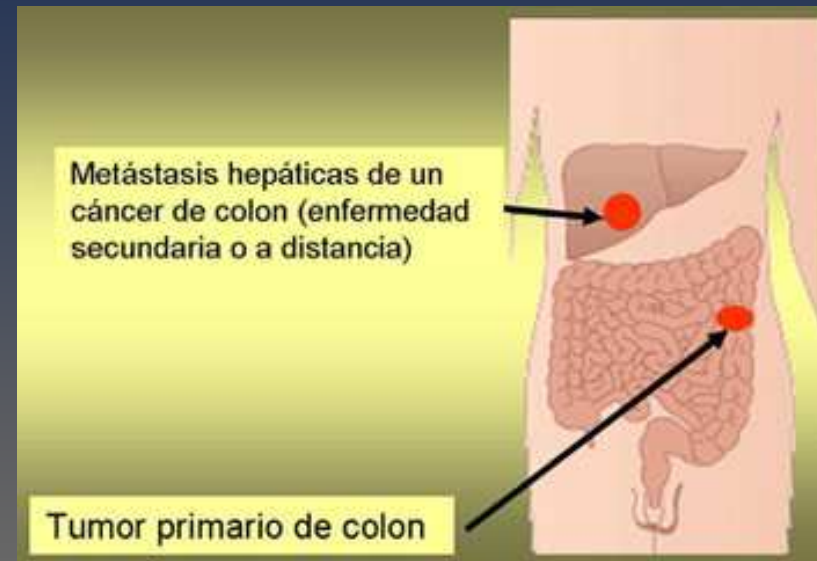
Situación actual: Cirugía e Investigación

A pesar de todo.....

Que hemos hecho en tumores sólidos del
aparato digestivo

TUMORES DEL APARATO DIGESTIVO

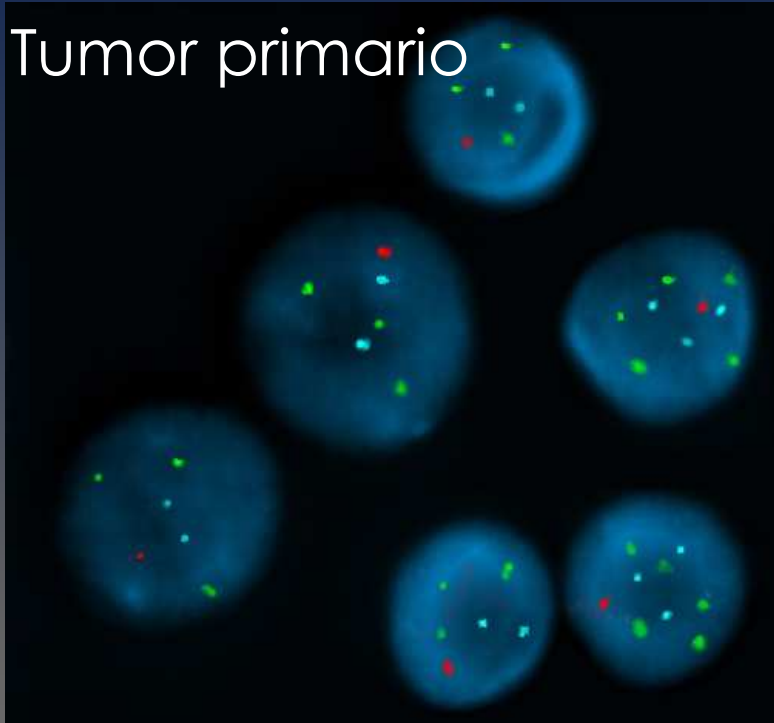
- Cáncer colorrectal y MTS hepáticas:



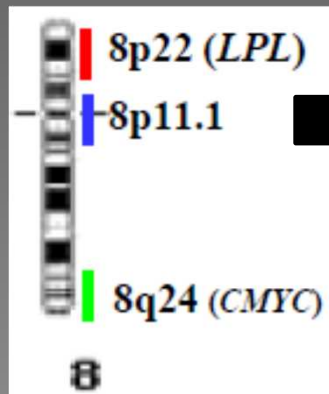
-Identificación de biomarcadores asociados al proceso metastásico
(Unos tumores metastatizan y otros no)

Cáncer colorrectal

Tumor primario



Metástasis hepática



Journal of Pathology

J Pathol 2010; **221**: 308–319

Published online 23 April 2010 in Wiley InterScience

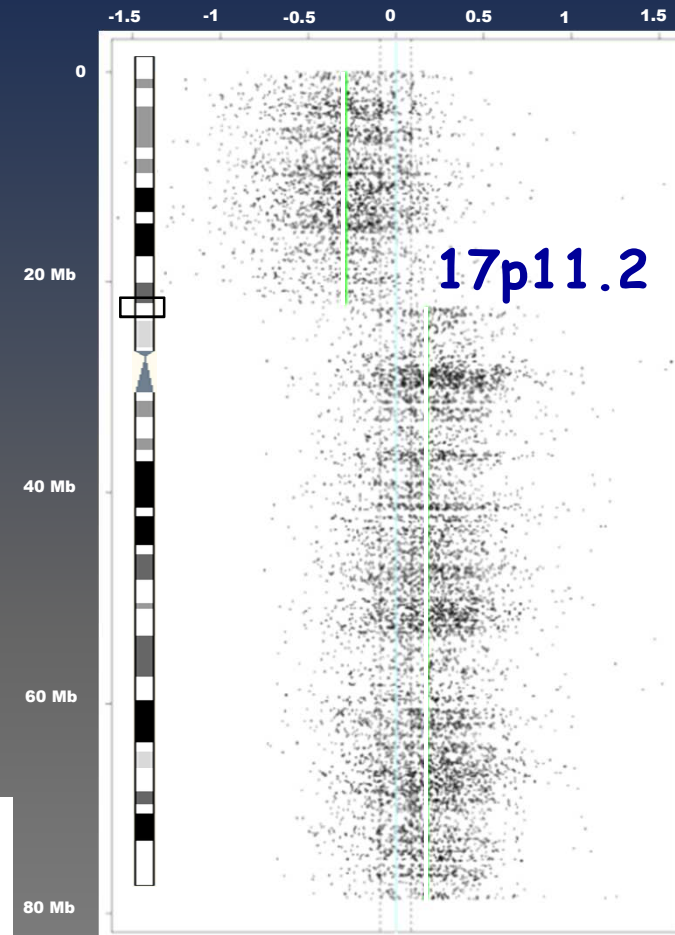
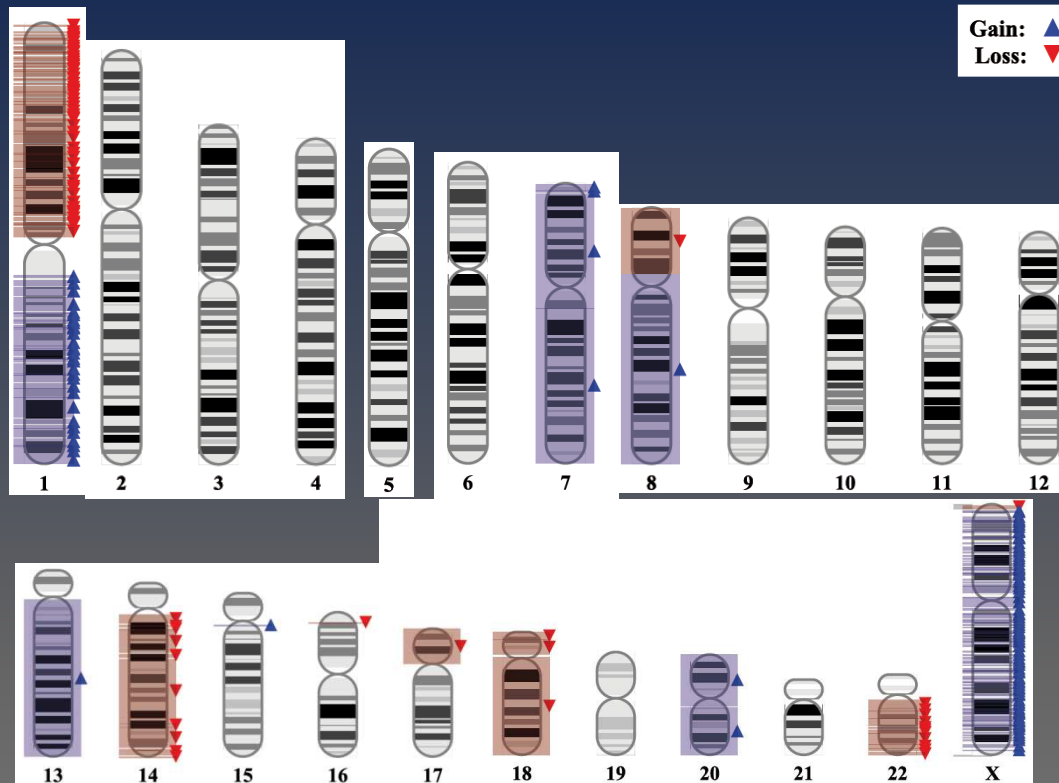
(www.interscience.wiley.com) DOI: 10.1002/path.2712

ORIGINAL PAPER

Intratumoural cytogenetic heterogeneity of sporadic colorectal carcinomas suggests several pathways to liver metastasis

José María Sayagués,¹ María del Mar Abad,² Hermann Barquero Melchor,³ María Laura Gutiérrez,¹ María González-González,¹ Evan Jensen,¹ Oscar Bengoechea,² Emilio Fonseca,⁴ Alberto Orfao^{1*}† and Luís Muñoz-Bellvis^{3†}

Cáncer colorrectal



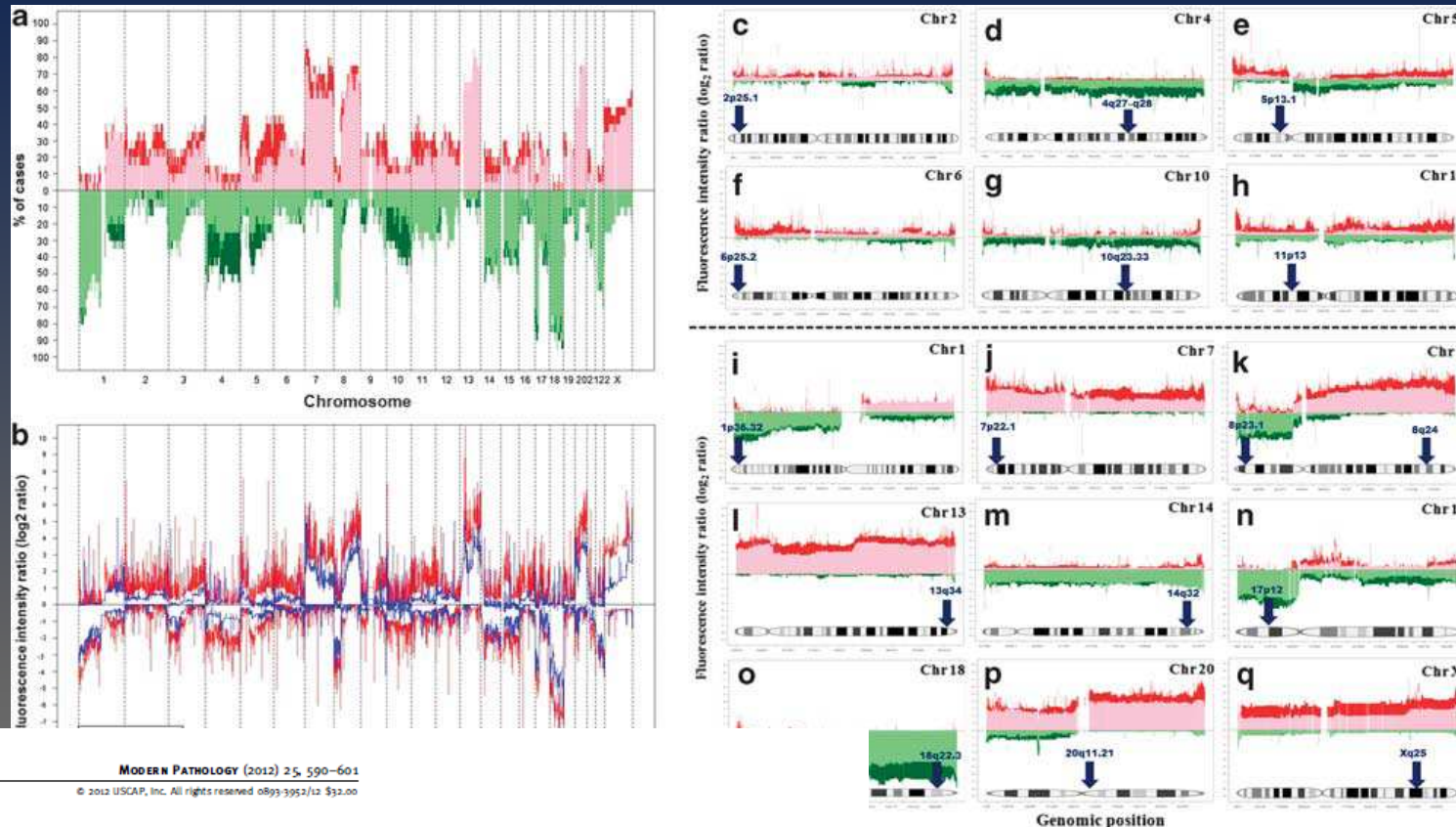
OPEN ACCESS Freely available online

PLoS one

Mapping of Genetic Abnormalities of Primary Tumours from Metastatic CRC by High-Resolution SNP Arrays

José María Sayagués¹, Celia Fontanillo², María del Mar Abad³, María González-González¹, María Eugenia Sarasquete⁴, María del Carmen Chillon⁴, Eva García⁵, Oscar Bengoechea³, Emilio Fonseca⁶, Marcos Gonzalez-Diaz⁴, Javier De Las Rivas², Luis Muñoz-Bellvis^{7,8}, Alberto Orfao^{1,9}

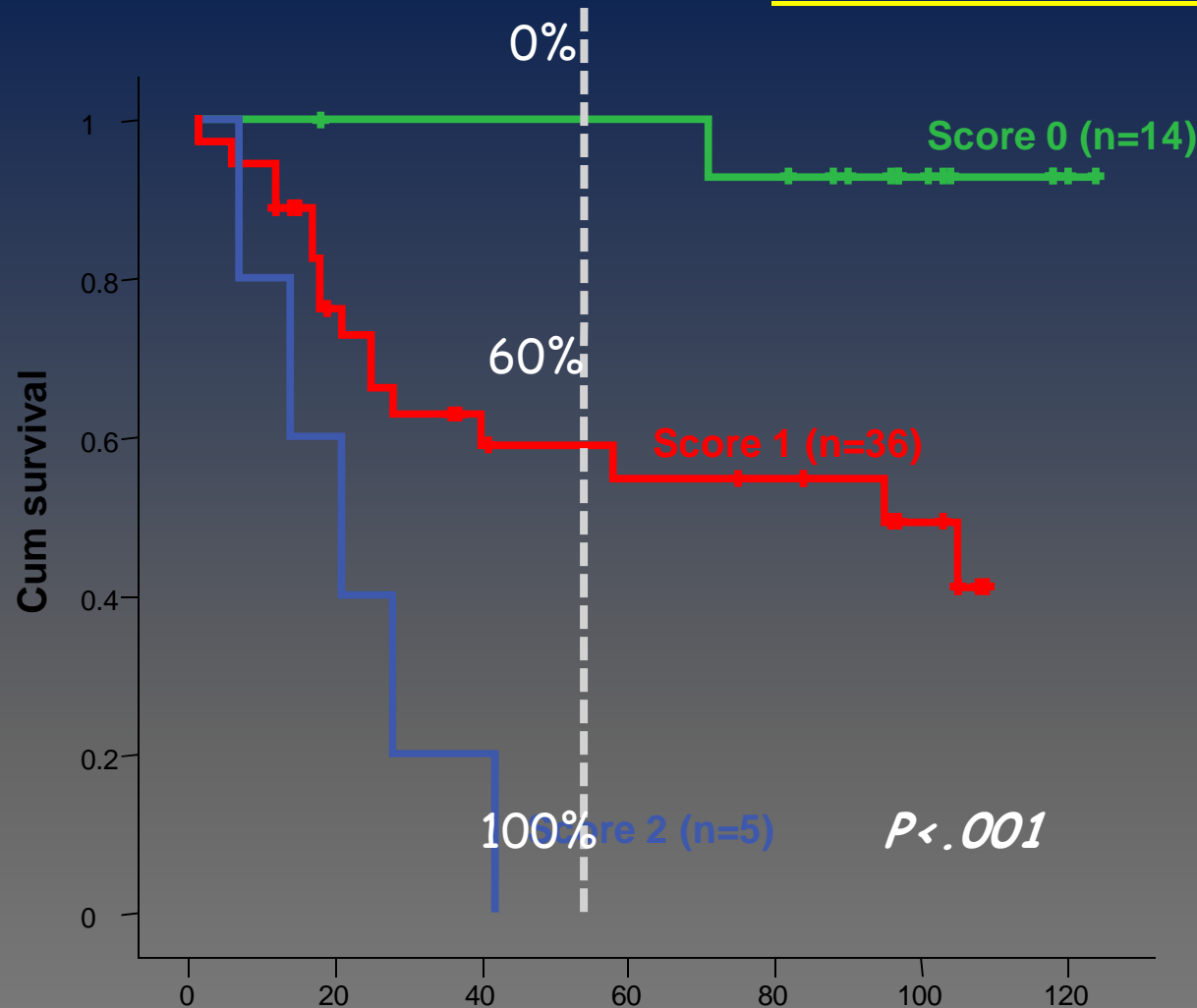
Cáncer colorrectal



Unique genetic profile of sporadic colorectal cancer liver metastasis *versus* primary tumors as defined by high-density single-nucleotide polymorphism arrays

Luís Muñoz-Bellvis¹, Celia Fontanillo², María González-González³, Eva García⁴, Manuel Iglesias¹, Carmen Esteban¹, ML Gutierrez³, MM Abad⁵, Oscar Bengoechea⁵, Javier De Las Rivas², Alberto Orfao^{3,6} and JM Sayagués^{3,6}

Cáncer colorrectal



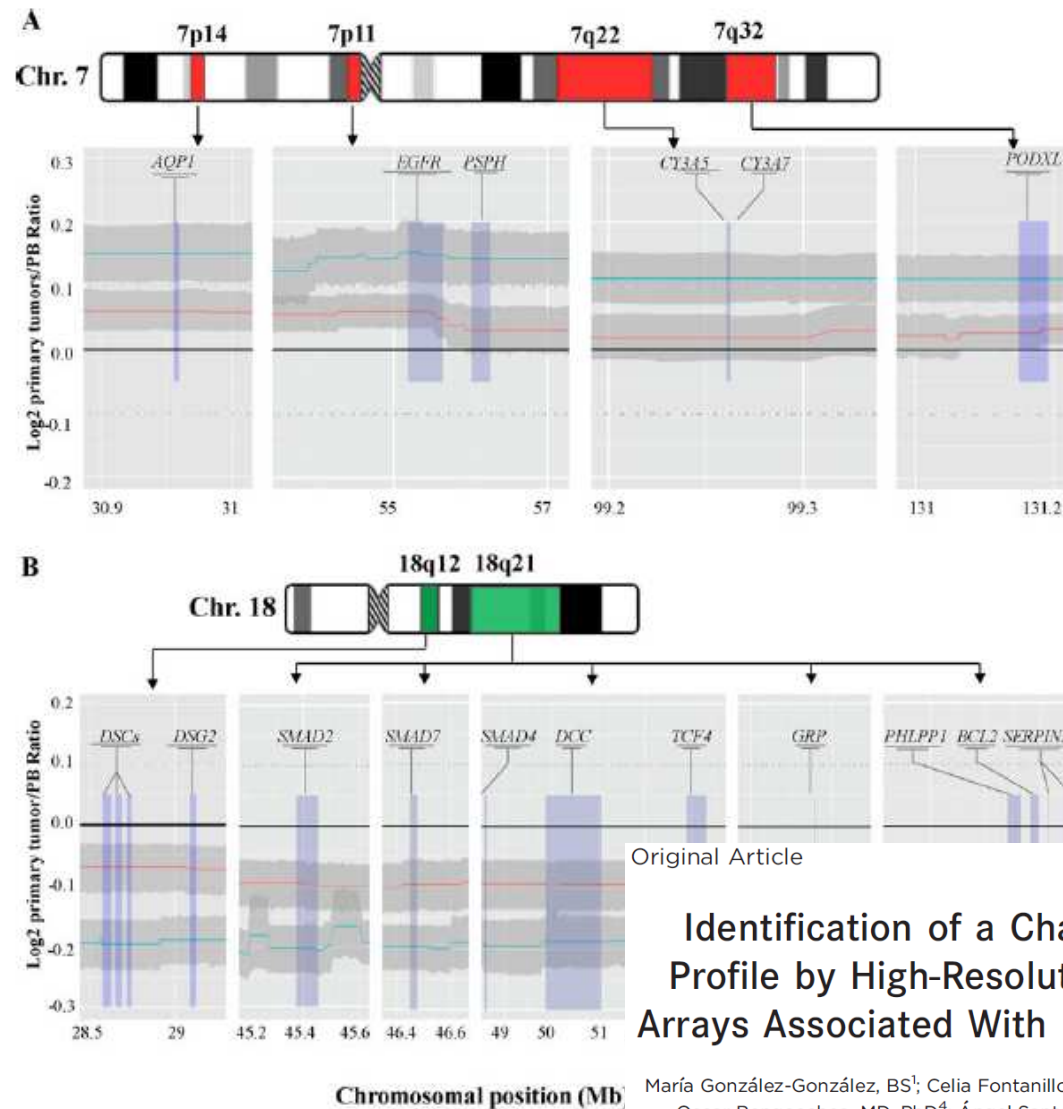
Factores pronósticos:

1. CEA
2. del(17p11)
3. del(22q11)

Prognostic Impact of del(17p) and del(22q) as Assessed by Interphase FISH in Sporadic Colorectal Carcinomas

María González-González¹, Luis Muñoz-Bellvis², Carlos Mackintosh³, Celia Fontanillo⁴, M. Laura Gutiérrez¹, M. Mar Abad⁵, Oscar Bengoechea⁵, Cristina Teodosio¹, Emilio Fonseca⁶, Manuel Fuentes¹, Javier De Las Rivas⁴, Alberto Orfao^{1*9}, José María Sayagués^{1*9}

Cáncer colorrectal



Original Article

[Cancer](#). 2014 Jul 1;120(13):1948-59.

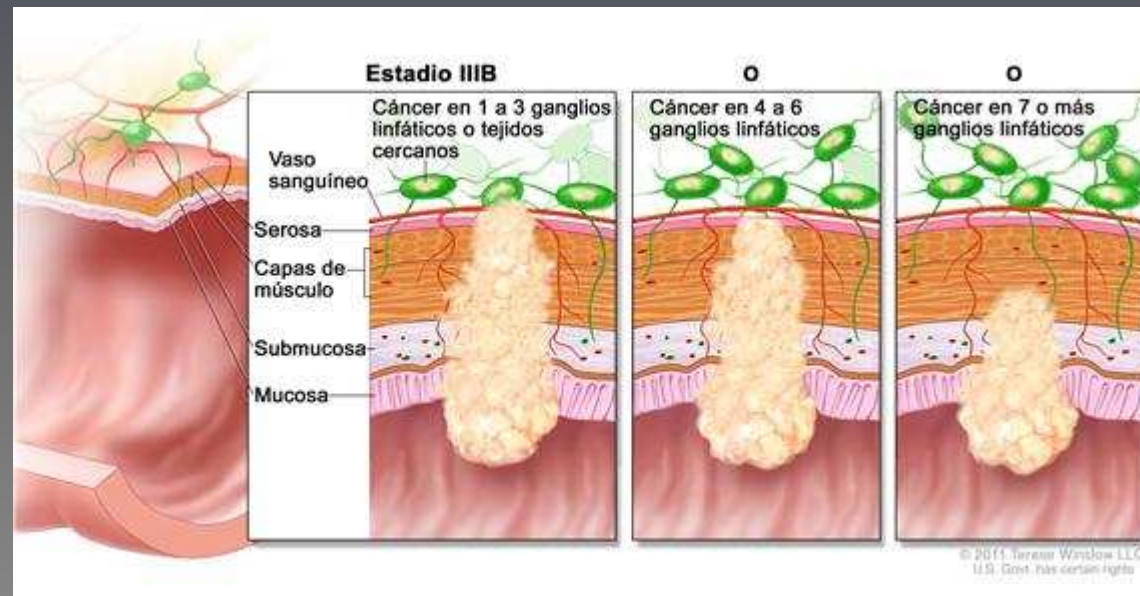
Identification of a Characteristic Copy Number Alteration Profile by High-Resolution Single Nucleotide Polymorphism Arrays Associated With Metastatic Sporadic Colorectal Cancer

María González-González, BS¹; Celia Fontanillo, PhD^{2,3}; María M. Abad, MD, PhD⁴; María L. Gutiérrez, BS¹; Ines Mota, BS¹; Oscar Bengoechea, MD, PhD⁴; Ángel Santos-Briz, MD, PhD⁴; Oscar Blanco, MD, PhD⁴; Emilio Fonseca, MD, PhD⁵; Juana Ciudad, PhD¹; Manuel Fuentes, PhD¹; Javier De Las Rivas, PhD²; José A. Alcazar, MD, PhD⁶; Jacinto García, MD, PhD⁶; Luís Muñoz-Bellvis, MD, PhD⁶; Alberto Orfao, MD, PhD¹; and José M. Sayagués, PhD¹

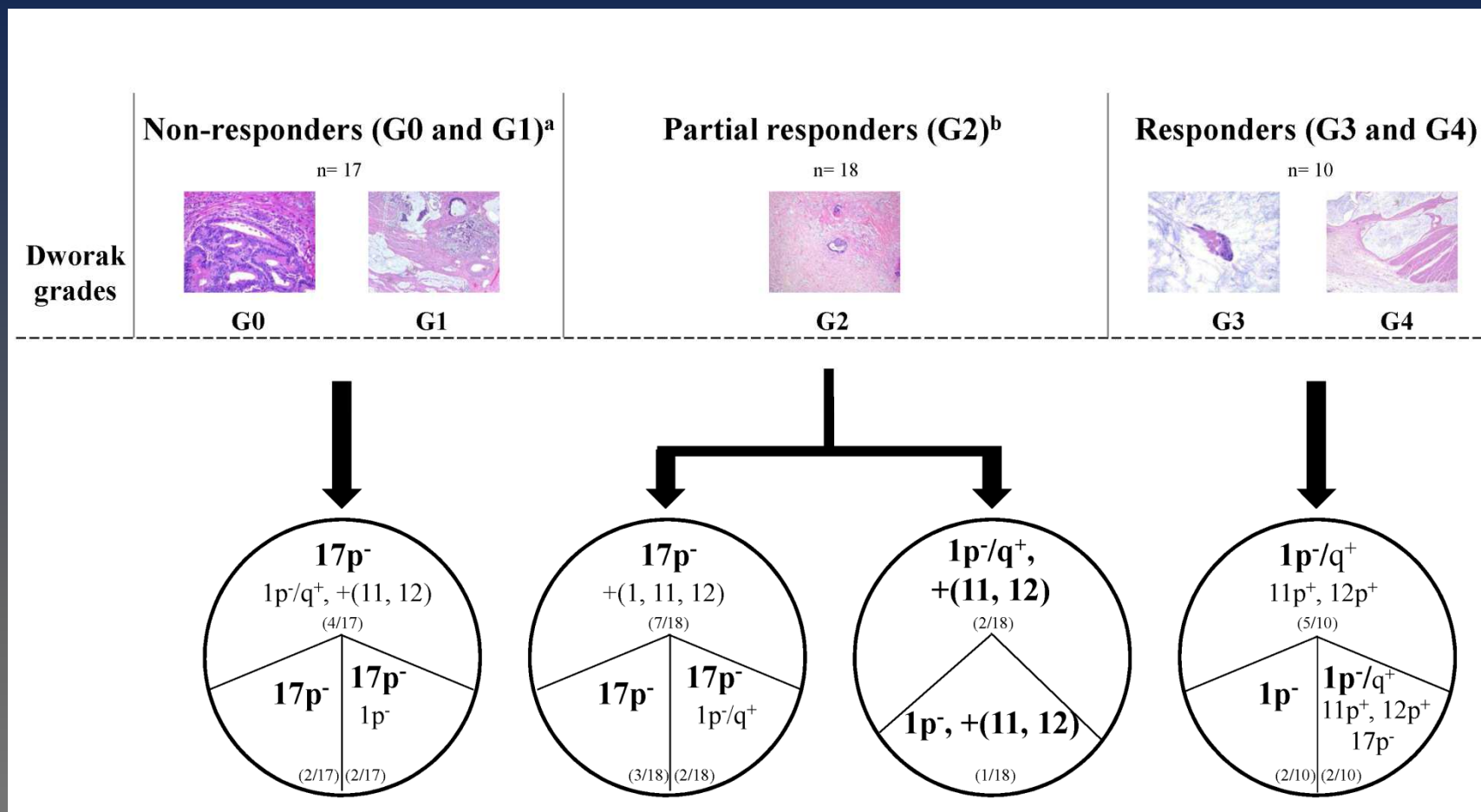
TUMORES DEL APARATO DIGESTIVO

-Cáncer de recto localmente avanzado:

- Predicción de la respuesta al tratamiento neoadyuvante:
 - Remisión completa (5-25%)
 - Respuesta parcial (40-60%)
 - No respuesta y progresión (20-30%)



Cáncer de recto localmente avanzado



Association between the cytogenetic profile of tumor cells and response to preoperative radiochemotherapy in locally advanced rectal cancer.

Gonzalez et al. [Medicine \(Baltimore\)](#). 2014 Oct 1;120(13):928-59

Cáncer páncreas

* Sobrevida global para **todos los estadios**:

1 año: 19%

5 años: 4%

* Supervivencia **resecados**:

5 años: 8 – 25 %

* Si **ganglios y margen negativos**: **5 años: ¿30 – 40%?**
(si se realiza la cirugía en centros de alto volumen)

1. American Cancer Society: facts and figures. Atlanta: American Cancer Society; 2002.

2. Greenlee R, Hill-Harmon MB, Murray T, Thun M. Cancer statistics, 2001. CA Cancer J Clin 2001;51:15-36.

3. Ahlgren JD. Epidemiology and risk factors in pancreatic cancer. Semin Oncol 1996;23:241-50.

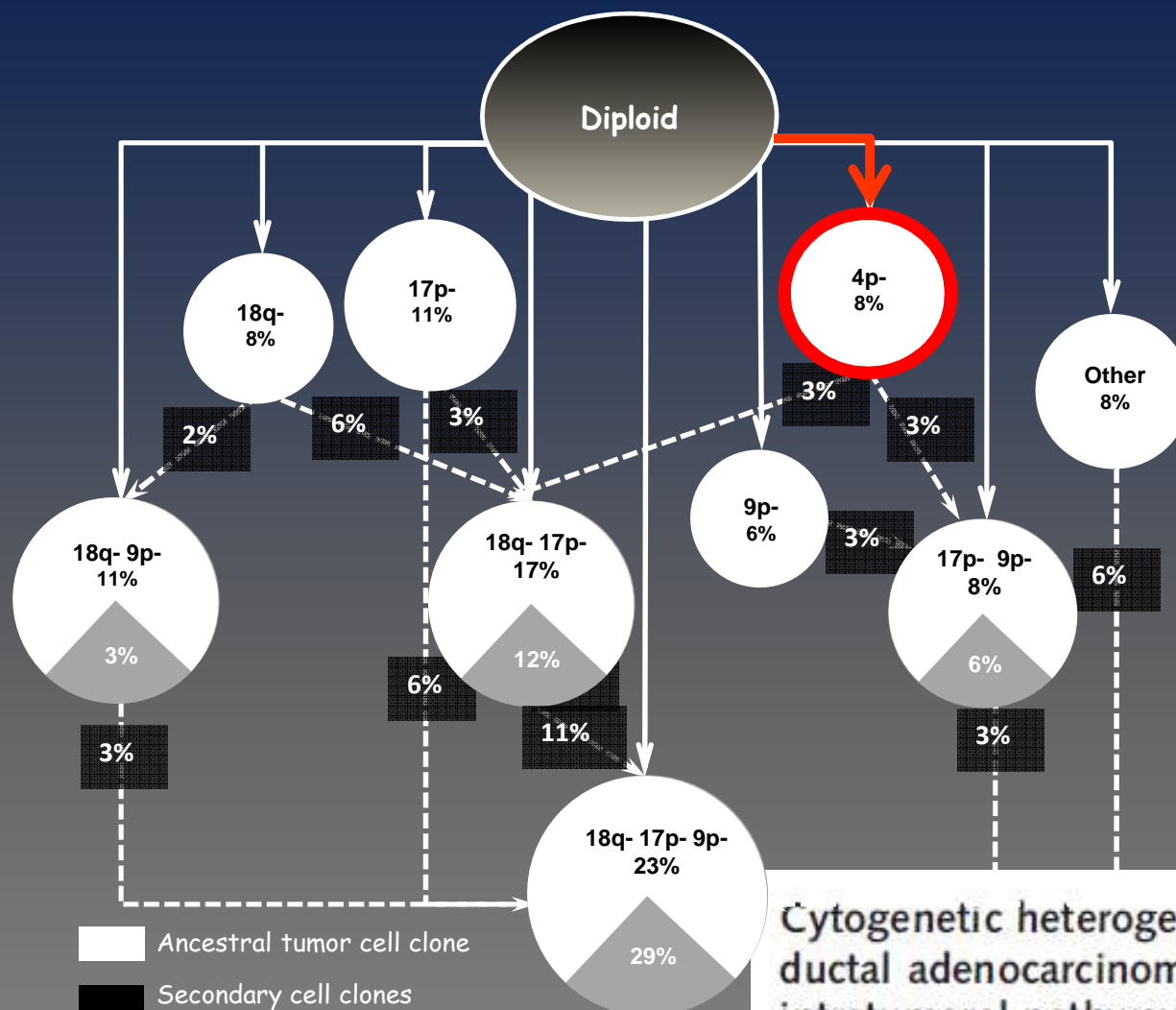
4. Sohn TA, Yeo CJ, Cameron JL, Koniarais L, Kaushal S, Abrams R, et al. Resected adenocarcinoma of the pancreas—616 patients: results, outcomes, and prognostic indicators. J Gastrointest Surg 2000;4:567-79.

5. Birkmeyer J, Siewers A, Finlayson E, Stukel T, Lucas L, Batista I, et al. Hospital volume and surgical mortality in the United States. N Engl J Med 2002;346:1128-37.

Cáncer páncreas

-Detección de alteraciones genómicas asociadas al diagnóstico y pronóstico de la enfermedad

Cáncer ductal de páncreas

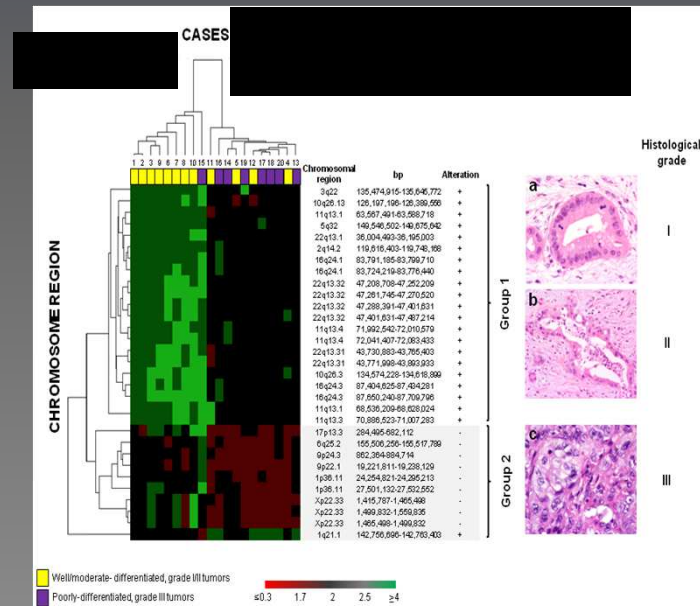
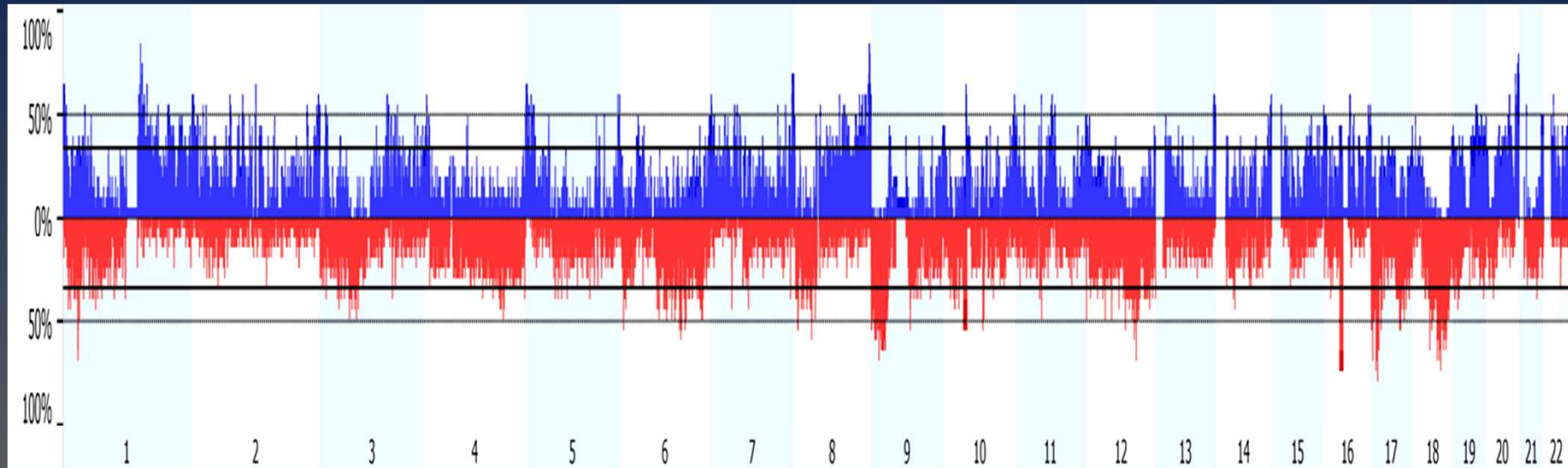


Cytogenetic heterogeneity of pancreatic ductal adenocarcinomas: identification of intratumoral pathways of clonal evolution

DOI: 10.1111/j.1365-2559.2011.03771.x

© 2011 Blackwell Publishing Ltd, *Histopathology*, 58, 477–500.

Cáncer ductal de páncreas



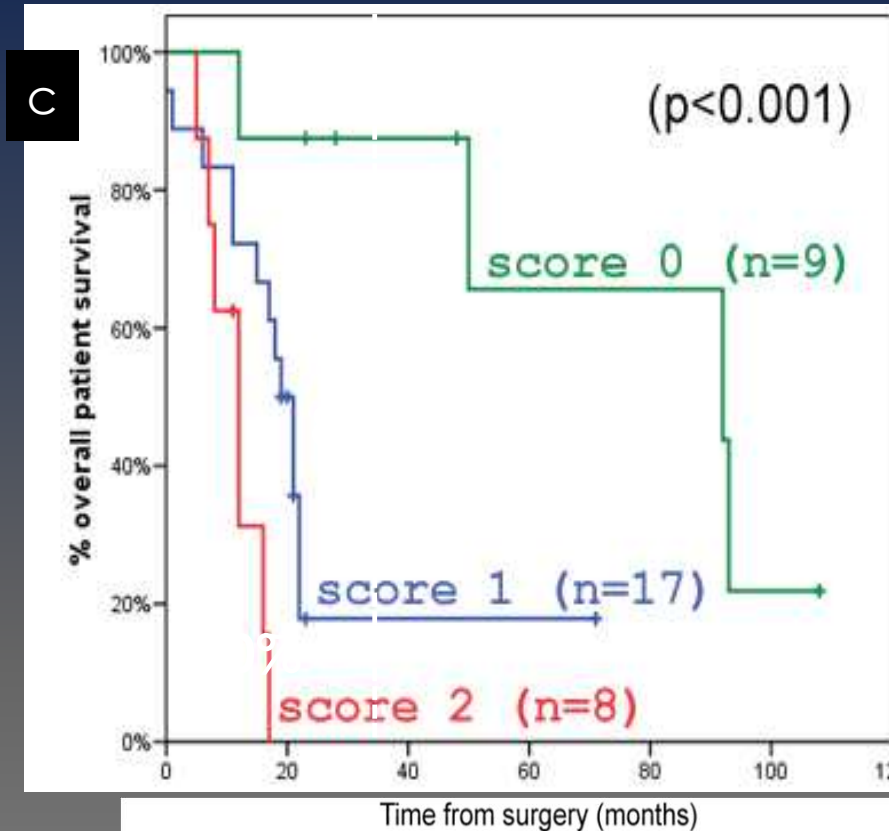
OPEN ACCESS Freely available online



Association between Genetic Subgroups of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Defined by High Density 500 K SNP-Arrays and Tumor Histopathology

María Laura Gutiérrez¹, Luís Muñoz-Bellvis², María del Mar Abad³, Oscar Bengoechea³, María González-González¹, Alberto Orfao^{1*}, José María Sayagués^{1*}

Cáncer ductal de páncreas



FACTORES PRONÓSTICOS:

alteraciones de los cromosomas

4, 9q34, +8q24

SCORE 0: no factor adverso

SCORE 1: 1 factor adverso

SCORE 2: ≥2 factores adversos

J Mol Diagn. 2014 Aug 23. pii: S1525-1578(14)00131-7. doi: 10.1016/j.jmoldx.2014.06.007. [Epub ahead of print]

Altered Interphase Fluorescence in Situ Hybridization Profiles of Chromosomes 4, 8q24, and 9q34 in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Are Associated with a Poorer Patient Outcome.

Gutiérrez ML¹, Muñoz-Bellvis L², Sarasquete ME³, Hernández-Mejía DG¹, Abad MD⁴, Bengoechea O⁴, Corchete L³, González-González M¹, García-García J², González M³, Mota I¹, Orfao A⁵, Savaques JM¹.

En un año les vuelvo a contar.....

Muchas gracias

