



BIOSEQUENCE
precision oncology

Powered by OncoDNA

**Tratamientos más eficaces con un
Diagnóstico Personalizado del Cáncer**

OncoSTRAT&GO™ CUP



Contacto/

R. Auguste y Louis Lumiere 23, Nave
B Parque Tecnológico de Valencia
46980 · Paterna, Valencia · Spain

Tel/

+34 96 182 94 23

Email/

Info@bio-sequence.com

Combate el cáncer

desde su origen

www.bio-sequence.com

Información OncoSTRAT&GO™ CUP

Los tumores de origen primario desconocido (**Cancer of Unknown Primary Site, CUP**), son un grupo heterogéneo de tumores metastásicos que suele representar entre el 2-10% de todos los tumores malignos. Se caracterizan por su agresividad y diseminación temprana, que suele ir acompañada por un patrón metastásico impredecible. Estas características hacen que una mejora en el diagnóstico del tejido de origen sea clave para poder tratar a los pacientes de la forma más específica posible.

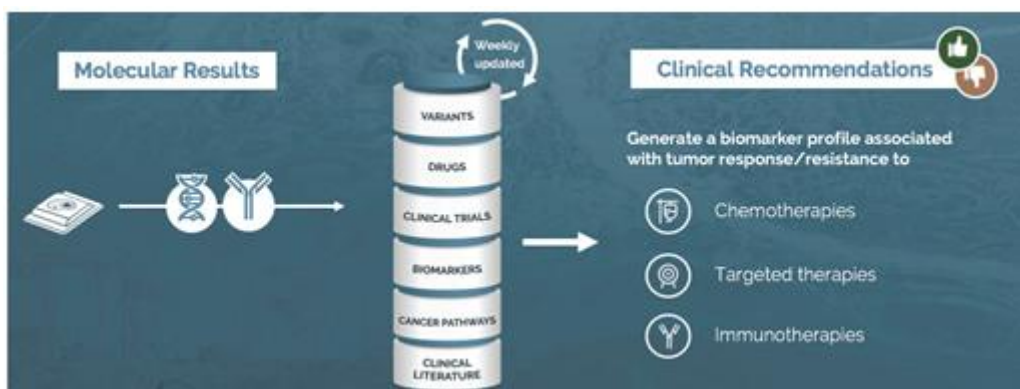
En la era de la medicina personalizada, donde el enfoque para la excelencia en la atención al paciente **exige la individualización del tratamiento**, se requiere la implementación de todas las herramientas disponibles, como el uso de técnicas de imagen cada vez más sofisticadas, la inmunohistoquímica (IHC) y el desarrollo de las **nuevas herramientas de diagnóstico molecular** (next-generation sequencing, NGS), lo que ha permitido un cambio en el enfoque del tratamiento de los CUP que puede aportar beneficios reales en estos pacientes.

OncoSTRAT&GO™ CUP combina diferentes tecnologías para conseguir dicho objetivo:

- 1.- Predicción de **origen primario** mediante pruebas de inmunohistoquímica.
- 2.- Pruebas adicionales asociadas a **sensibilidad o resistencia** a distintos tipos de quimioterapias e inmunoterapias mediante pruebas específicas por tipo de tumor (IHQ, traslocaciones, metilación...)
- 3.- Estudios genómicos por **NGS** que analizan de forma simultánea la **biopsia sólida (>200 genes)** y la **biopsia líquida (27 genes)** del paciente y que incluyen mutaciones clínicamente accionables relacionadas con tratamientos dirigidos.

Este servicio aporta importante información individual en relación con el desarrollo y progresión del tumor, y una predicción de respuesta más consistente sobre todo tipo de tratamientos.

Perfil molecular del paciente usando múltiples tecnologías



Ventajas del estudio OncoSTRAT&GO™ CUP:

- ✓ **Optimización del bloque tumoral:** pruebas diagnósticas para predecir el origen del tumor primario recomendadas por las **guías clínicas oficiales**
- ✓ **Aumento de las opciones terapéuticas:** quimioterapias, tratamientos dirigidos, inmunoterapias, etc. aprobadas o en ensayos clínicos
- ✓ **Captura de la heterogeneidad tumoral:** gracias a la combinación del análisis de la **biopsia sólida y líquida**

Pruebas moleculares y panel genómico detallado

Primero se llevan a cabo diversos análisis inmunohistoquímicos con el fin de **intentar precisar el tipo de tumor primario** de la muestra analizada. Para ello se realizan estudios de expresión escalonados empezando con la expresión de CK7 y CK20. Posteriormente, dependiendo del resultado de éstas se analiza la expresión de CEA, CDX2, TTF1, ER, PR, GCDFP-15, CK19, Urothelin, WT-1, Hep PAR-1 y/o PSA. Esta primera parte del estudio se completa además con el estudio de la expresión de PD-L1 y CD8 para **determinar la sensibilidad a inmunoterapias**.



Marcador primario	ESTUDIOS DE INMUNOHISTOQUÍMICA	Marcadores adicionales
CK 7-/CK 20+	Colorectal and Merkel cell carcinoma	CEA and CDX-2
CK 7+/CK 20-	Lung, Breast, thyroid, endometrial, cervical, and pancreatic carcinoma and cholangiocarcinoma	TF1-1, ER, PR, GCDFP-15, and CK 19
CK 7+/CK 20-	Urothelial, ovarian, and pancreatic cáncer and cholangiocarcinoma	Urothelin and WT-1
CK 7-/CK 20-	Hepatocellular, renal cell, prostate, squamous cell	Hep Par-1 and PSA

Una vez completados los análisis inmunohistoquímicos para la predicción del tumor primario, se realizan una serie de **pruebas complementarias** (IHQ, FISH, análisis de traslocaciones, etc.) que se seleccionan en función de los resultados obtenidos en los análisis previos, historia clínica del paciente, tratamientos previamente recibidos, comorbilidades, etc. y con las se detectan **toda clase de alteraciones genómicas** (sustituciones de bases, inserciones, deleciones, variaciones y reordenamientos) obteniendo información **sobre sensibilidad o resistencia a distintos tipos de quimioterapias u otros fármacos**.



Por último, se realiza un estudio genómico por ultrasecuenciación de la **biopsia sólida y líquida** con en el que, además de estudiar las **mutaciones en genes accionables**, se consigue información que ayuda a comprender los mecanismos subyacentes de activación del tumor para obtener una **fotografía completa de la enfermedad del paciente**.



El estudio en **biopsia sólida** analiza por **ultrasecuenciación de alta resolución** el tumor del paciente mediante un panel que combina el análisis de **ADN y ARN de 209 genes** que forman parte de las rutas del cáncer, que son diana de fármacos aprobados o en vías de investigación, oncogenes, genes supresores de tumores, genes con variaciones en el número de copias (CNV) y genes de fusión.

El estudio en **biopsia líquida** (sangre) utiliza una nueva tecnología capaz de aislar el **ADN tumoral circulante (ctDNA) en sangre** para identificar alteraciones genómicas (mutaciones y CNV) permitiendo así medir y comparar la **heterogeneidad del tumor** con los resultados obtenidos en la biopsia sólida. Además, sirve de referencia (valor basal) para posteriormente medir la evolución de la enfermedad y respuesta al tratamiento mediante el estudio de monitorización en sangre **OncoTRACE**.

El **panel OncoSTRAT&GO™ – CUP** está mejorado a partir del **Oncomine Comprehensive Panel** utilizado para analizar las muestras de los pacientes incluidos en el ensayo clínico pionero del National Cancer Institute “NCI-Molecular Analysis for Therapy Choice o NCI-MATCH”. Este estudio utiliza la tecnología de ultrasecuenciación de ADN de **Ion Proton™** (Ion™ Oncomine Comprehensive Panel) y las bases de datos de **OncoKDO**.

El panel de **ADN-seq** incluye:

- 118 Genes: Regiones con “Hotspots” descritos
- 39 Genes: Regiones codificantes
- 92 Genes: Asociados a variaciones en el número de copias

El panel de **ARN-seq** incluye un total de 355 ensayos dirigidos a 32 genes de fusión conocidos.

El listado de genes que cubre el panel son:

HOTSPOT GENES (n = 100)			
OncoMINE Comprehensive Panel (NCI MATCH)			
ABL1	GATA2	MAGOH	RAF1
ALK	GNAQ	MAP2K1	RARA
ARAF	GNAS	MAP2K2	RET
BRAF	HNF1A	MAPK1	RHEB
BTK	HRAS	MAX	RHOA
CBL	IDH1	MED12	SF3B1
CHEK2	IDH2	MLH1	SMO
CSF1R	IFITM1	MPL	SPOP
DDR2	IFITM3	MYD88	SRC
DNMT3A	JAK1	NPM1	STAT3
ERBB3	JAK2	NRAS	XPO1
ESR1	JAK3	PPP2R1A	(n = 53)
EZH2	KDR	PTPN11	
FOXL2	KNSTRN	RAC1	
Added in OncoDEEP&TRACE Panel by OncoDNA			
ASXL1	FLT1	NTRK1	SETD2
AURKA	FLT4	NTRK3	TGFBR2
DPYD	GATA1	PAX5	TOP1
EPHB1	GATA6	PDGFRB	TOP2A
ERRF1	GNA11	PIK3CB	TPMT
FANCA	GNA13	PIK3CG	TSHR
FANCC	HGF	PIK3R2	U2AF1
FANCD2	IKBKE	PRKDC	UGT1A1
FANCE	INHBA	PRKCI	(n = 47)
FANCF	IRF2	RNF43	
FANCL	KEL	RPTOR	
FAS	LYN	RUNX1	
FLCN	NFE2L2	RUNX1T1	

HOTSPOT GENES + CNV (n = 18)			
OncoMINE Comprehensive Panel (NCI MATCH)			
AKT1	ERBB2	FLT3	MTOR
AR	FGFR1	KIT	PDGFRA
CDK4	FGFR2	KRAS	PIK3CA
EGFR	FGFR3	MET	(n = 15)
Added in OncoDEEP&TRACE Panel by OncoDNA			
CTNNB1	CYP2D6	ERBB4	(n = 3)

PROBES FOR CNV ONLY (n = 35)			
OncoDEEP&TRACE and OncoMINE Comprehensive Panel (NCI MATCH)			
ACVRL1	CD274 / PD-L1	MCL1	PDCD1LG2 / PD-1
APEX1	CD44	MDM2	PNP
ATP11B	CDK6	MDM4	PPARG
BCL2L1	CSNK2A1	MYC	RPS6KB1
BCL9	DCUN1D1	MYCL	SOX2
BIRC2	FGFR4	MYCN	TERT
BIRC3	GAS6	MYO18A	TIAF1
CCND1	IGF1R	NKX2-1	ZNF217
CCNE1	IL6	NKX2-8	

CODING DNA SEQUENCE GENES • CNV (N = 39)			
OncoMINE Comprehensive Panel (NCI MATCH)			
APC	FBXW7	PTCH1	TP53
ATM	GATA3	PTEN	TSC1
BAP1	MSH2	RB1	TSC2
BRCA1	NF1	SMAD4	VHL
BRCA2	NF2	SMARCB1	WT1
CDH1	NOTCH1	STK11	(n = 26)
CDKN2A	PIK3R1	TET2	
Added in OncoDEEP&TRACE Panel by OncoDNA			
CYP2C19	MRE11A	PTPRD	SMARCA4
EPHA3	PALB2	RAD51	(n = 13)
EPHA5	POLD1	RAD51C	
KEAP1	POLE	ROS1	

ABCDEF123 Genes highlighted in red are:

- 1) Genes we have specifically added to our panel
- 2) Genes for which we designed and added several amplicons in order to improve sequencing coverage of regions we estimated not being correctly covered by the OncoMINE Comprehensive Panel

The OncoMINE Comprehensive Panel on the basis of which we have developed our OncoDEEP&TRACE panel is currently used in the NCI-Molecular Analysis for Therapy Choice (NCI-MATCH) Trial. This precision medicine clinical trial, exploring treating patients based on the molecular profiles of their tumors, is expected to have a total of 24 treatment arms, each arm expecting to enroll a maximum of 35 patients.

Cobertura >1000X. Sensibilidad >99%. Especificidad 100%.

FUSION DRIVERS, n=32 (355 ASSAYS)	
ABL1	EWSR1
AKT3	FGFR1
ALK	FGFR2
AXL	FGFR3
BRAF	MAML2
BRD3	MYB
CDK4	NCOA2
EGFR	NOTCH1
EIF3E	NTRK1
ERBB2	NTRK3
ERG	PDGFRA
ETV1	PLAG1
ETV4	PPARG
ETV5	RAF1
ETV6	RET
ROS1	TFE3

El estudio genómico **OncoTRACE en biopsia líquida (sangre)** utiliza una nueva tecnología capaz de aislar el **ADN tumoral circulante (ctDNA)** en sangre para identificar alteraciones genómicas (mutaciones y CNV) mediante un panel de ultrasecuenciación que incluye el análisis de más de **200 hotspot asociados con sensibilidad y resistencia a terapias dirigidas en 27 genes** además de las variantes específicas que se detecten en la biopsia sólida (**monitorización**).

El listado de genes que cubre el panel son:

HOTSPOT VARIANTS (21 GENES, > 100 VARIANTS, 5 EXONS)				WHOLE GENE	CNV
GENES' NAME	CODON	GENES' NAME	CODON	GENES' NAME	GENES' NAME
AKT1	17		380	TP53	AKT1
	1151		392		cKIT
ALK	1152	ESR1	463		cMET
	1156		536		EGFR
	1174		537		ERBB2
	1196		538		ERBB4
	1198		183		FGFR1
	1202	GNAQ	209		FGFR2
	1206	GNAS	242		FGFR3
	1269		246		MAP2K1
	1275	GNA11	209		MDM2
BRAF	464	HRAS	12		PIK3CA
	469		13		
	594		61		
	597		146		
	600	IDH1	132		
c-KIT	exon 9	IDH2	140		
	exon 11 + Intron	JAK2	172		
	557 to 576	KRAS	617		
	642 to 654		12		
	exon 14 (670)		13		
	822		61		
cMET	junction ex14		146		
EGFR	719	MAP2K1	17		
	exon 18		56		
	exon 19		57		
	exon 20		67		
	exon 21		123		
	790		124		
	858	NRAS	12		
	861		13		
ERBB2	309		61		
	743 to 769		146		
	777	PDGFRA	842		
	780	PIK3CA	420		
	896		545		
			546		
			1047		
		PTEN	130		
			159		
			233		
			248		
			323		

Cobertura 15.000 X. Sensibilidad 99%. Especificidad 100% sin falsos positivos.

El panel además incluye la secuenciación completa del gen **TP53**.

La extracción de sangre basal se realiza simultánea al envío del estudio en biopsia sólida. Para realizar estos estudios es necesario disponer de un **bloque tumoral** (biopsia sólida) y una **muestra de sangre** (biopsia líquida) que cumpla las características descritas en los Anexos I y II.

Análisis e Interpretación clínica de los resultados

El **análisis genómico por ultrasecuenciación, las pruebas moleculares adicionales y la interpretación** de los resultados los realiza **OncoDNA (Bélgica)** equipo formado por expertos en biología molecular y diagnóstico médico en oncología con más de 60 años de experiencia.

El estudio **OncoSTRAT&GO™ – CUP** genera muchos tipos de datos: secuencias, variantes, amplificación del ADN, deleciones o traslocaciones, metilación del ADN, expresión o activación de proteínas... Por ello se ha desarrollado **OncoKDO**, un software que integra todos estos resultados, analiza los hallazgos de las últimas publicaciones y genera un informe clínico completo y detallado. **OncoKDO** genera recomendaciones de tratamiento en base a las características clínicas específicas del paciente incluyendo fármacos aprobados para el tipo de tumor, fármacos que han mostrado eficacia en otras indicaciones y ensayos clínicos de fármacos en desarrollo y que están clasificados en función de la ubicación del paciente.

Aplicaciones y Forma de Entrega

Aplicaciones

- **Servicio clínico de ayuda al diagnóstico oncológico:**
 - Mejora la efectividad terapéutica
 - Ofrece nuevas opciones no consideradas anteriormente
- **Servicio de apoyo a ensayos clínicos**
- **Servicio de apoyo a la investigación**

El **plazo de entrega** del servicio es de **10-12 días laborables** (una vez recibida y comprobada la calidad de las muestras).

El **resultado** final consta del siguiente contenido:

- Mutaciones presentes en la secuencia analizada del tumor en biopsia sólida y líquida
- Asociación de las mutaciones con el desarrollo y progresión tumoral
- Asociación de las mutaciones con tratamientos específicos
- Asociación de las mutaciones con ensayos clínicos
- Asociación de resultado de IHC, FISH... con sensibilidad o resistencia a distintos tipos de quimioterapias u otros fármacos

El **informe** final se entrega en dos versiones:

En **formato papel (.pdf)** con un resumen de los principales hallazgos encontrados y la asociación con tratamientos.

En **formato interactivo** con un informe detallado integrado en nuestra plataforma **ONCOSHARE**, una interfaz que le permite al oncólogo **almacenar, consultar y compartir los resultados** de todos sus pacientes. Además todos los resultados, bibliografía asociada, ensayos clínicos, etc. **se actualizan periódicamente** para tener siempre la información más actual del perfil molecular tumoral y su implicación terapéutica.



BioSequence ofrece un **servicio exclusivo a profesionales y pacientes** para facilitar la gestión de los casos, la interpretación de los resultados y su uso clínico:

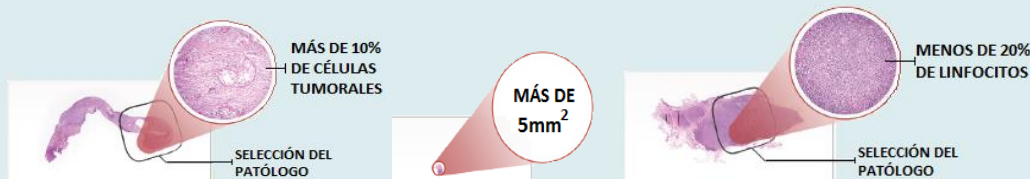
- Servicio de Atención al Paciente
- Administración y Logística
- Revisión de las opciones terapéuticas disponibles en Europa y España
- Colaboración con los oncólogos para la búsqueda de la máxima utilidad clínica y apoyo en el seguimiento de los casos
- Soporte científico para el desarrollo de proyectos de investigación y publicaciones

ANEXO I:

Requisitos de las muestras e Información de envío (biopsia sólida)

Únicamente se enviará un **bloque tumoral** y, preferentemente, el bloque que ha sido usado para determinar el diagnóstico (si queda suficiente material) o el bloque más representativo del diagnóstico del paciente. Si se envían varios bloques, el proceso se interrumpirá hasta identificar el bloque más representativo del diagnóstico del paciente.

Para que una muestra se considere como **válida debe cumplir que:**



1. El porcentaje de células tumorales sea $> 10\%$ de la muestra completa

2. El tamaño de la región donde las células tumorales están localizadas sea $> 5\text{mm}^2$

3. El porcentaje de linfocitos no sea **demasiado alto** ($< 20\%$ en la región donde están situadas las células tumorales)

Instrucciones de envío:

Cuando se envíe un bloque tumoral

- Añada un **código identificativo** autoadhesivo al bloque
- Sitúe el bloque tumoral en la pequeña bolsa transparente que les proporcionamos y que lleva el código de barras pegado
- Sitúe el bloque tumoral envuelto en la esponjilla del **Kit de envío OncoDEEP**
- Adjunte el correspondiente **Informe de Anatomía Patológica, Solicitud y Consentimiento Informado** cumplimentados

Cuando se envíen láminas

Por favor, tenga en cuenta que por conveniencia técnica es preferible recibir bloque FFPE. Los restos del bloque que no se utilicen serán enviados de vuelta al final del proceso.

- Prepare los instrumentos para **H&E** y **láminas** sin teñir
 - Use una nueva cuchilla del micrótopo para cada caso
 - Lave el agua de baño entre los casos
 - Lleve guantes y cámbielos frecuentemente para prevenir la contaminación de las muestras
- Prepare **20 láminas de 5 μm en portaobjeto SuperFrost® Plus**
- Asegúrese de que las secciones de cada lámina están orientadas de forma similar
- No coloque cubreobjetos en las láminas sin teñir
- Inserte las láminas en los contenedores incluidos en el Kit de envío de OncoSTRAT&GO
- Añada un código identificativo autoadhesivo a los contenedores de láminas
- Adjunte el correspondiente **Informe de Anatomía Patológica, Solicitud y Consentimiento Informado** cumplimentados.

Nota:

Las muestras óseas descalcificadas **NO son aptas** para nuestros estudios. Este tratamiento degrada el ADN.

Recomendaciones de procesado:

- Todas las muestras FFPE deben ser fijadas en formalina neutralmente tamponada al 10% durante 30 minutos después de la escisión quirúrgica.
- El tiempo entre la escisión de la biopsia y la fijación debe ser lo más corto posible (menos de 15 min).
- El tiempo óptimo para la fijación es de 24h en formol (entre 18 y 24 horas como máximo) y después ser empapadas en parafina IHC-grade.

Importante

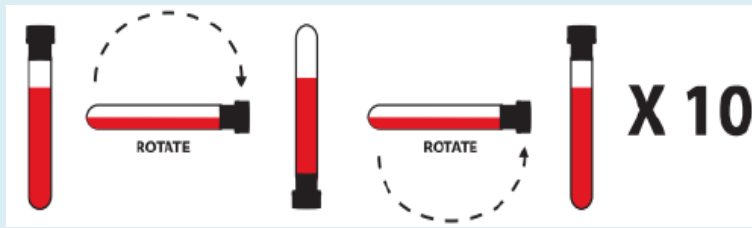
Por favor asegúrese de que se cumplen los criterios mencionados. Estas directrices son cruciales para asegurar la mejor calidad de resultados para sus pacientes. Si no está familiarizado con ellas, por favor coméntelo con su patólogo o contáctenos directamente. En caso de que la muestra no cumpla los requisitos de calidad establecidos, se aplicará una **tasa fija no reembolsable de 230€** para cubrir los gastos de transporte, recepción y patología de la muestra.

ANEXO II:

Requisitos de las muestras e Información de envío (biopsia líquida)

Las muestras de sangre serán extraídas en los **tubos Streck** (situados dentro de los tubos de plástico identificados con un código) que contienen una solución que estabiliza el ADN a temperatura ambiente. El protocolo para la extracción es el siguiente:

- Extraiga la sangre por venopunción de acuerdo con las recomendaciones CLSI H3-A6.
- Llene dos tubos Streck completamente.
- Retire el tubo del adaptador e inmediatamente **mezcle por inversión suave entre 8 y 10 veces**. Una mezcla inadecuada o con retraso puede resultar en resultados imprecisos del test.



- Tras la recolección, introduzca los tubos Streck en los tubos de plástico.
- Sítuelos en el pequeño sobre de burbujas que les proporcionamos. A continuación, sitúe este sobre dentro del sobre UN3373 y ciérrelo.
- Introduzca el sobre cerrado UN3373 en el sobre de DHL y ciérrelo también.
- Rellene el albarán de DHL con los datos que se indican con un círculo y póngalo en la bolsa de plástico situada en el lateral del sobre DHL.
- Por último, comuníquese con **BioSequence** en info@bio-sequence.com o llamando al **+34 961 829 423** para informarnos de que las muestras están listas y un mensajero pasará a recogerlas para enviarlas por correo urgente.

NOTA: Realizar la extracción de lunes a miércoles para garantizar la recepción de la muestra por el laboratorio en la misma semana de la extracción. Pacientes en tratamiento con quimioterapia intravenosa, radioterapia, o que se hayan sometido a una biopsia, esperar entre 10-14 días antes de tomar la muestra.

Contenido del kit

- **2 tubos Streck** dentro de **2 tubos de plástico identificados** con un código alfanumérico.
- **1 sobre de burbujas** para introducir los tubos de plástico identificados.
- **1 sobres UN3373** para introducir los sobres con burbujas en los que van los tubos.
- **1 albarán y 1 sobre de DHL** para realizar el envío de las muestras al laboratorio.



BIOSEQUENCE
precision oncology

Powered by OncoDNA



Gracias.

Contacto/

R. Auguste y Louis Lumiere 23, Nave 13
Parque Tecnológico de Valencia
46980 · Paterna, Valencia · Spain

Tel/

+34 96 182 94 23

Email/

info@bio-sequence.com

www.bio-sequence.com