

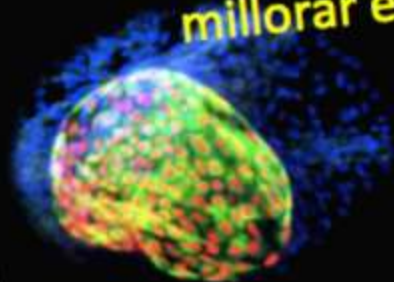
Present i futur en el diagnòstic molecular



V Jornada d'actualització sobre l'Hemofília
Barcelona, 10 de desembre de 2013



Ús de cèl·lules mare amb pluripotència induïda per a millorar el diagnòstic i tractament de l'Hemofília A (HEMO-iPS)



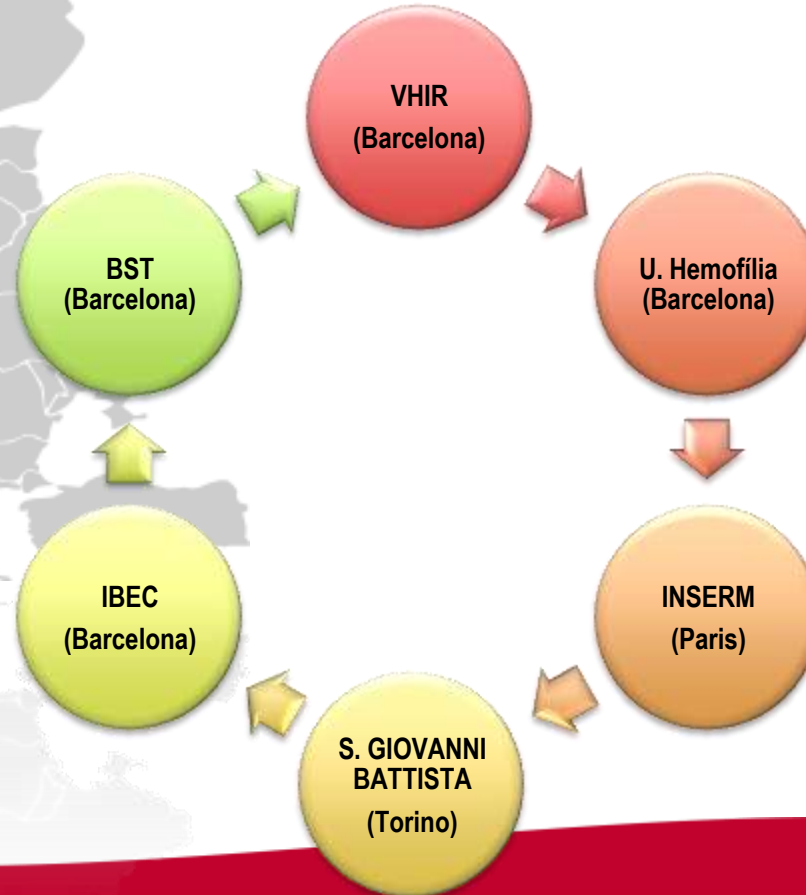
Use of patient-specific induced pluripotent stem cells to improve
diagnosis and treatment of hemophilia A

III Jornada d'actualització sobre l'Hemofília
Barcelona, 15 de desembre de 2011

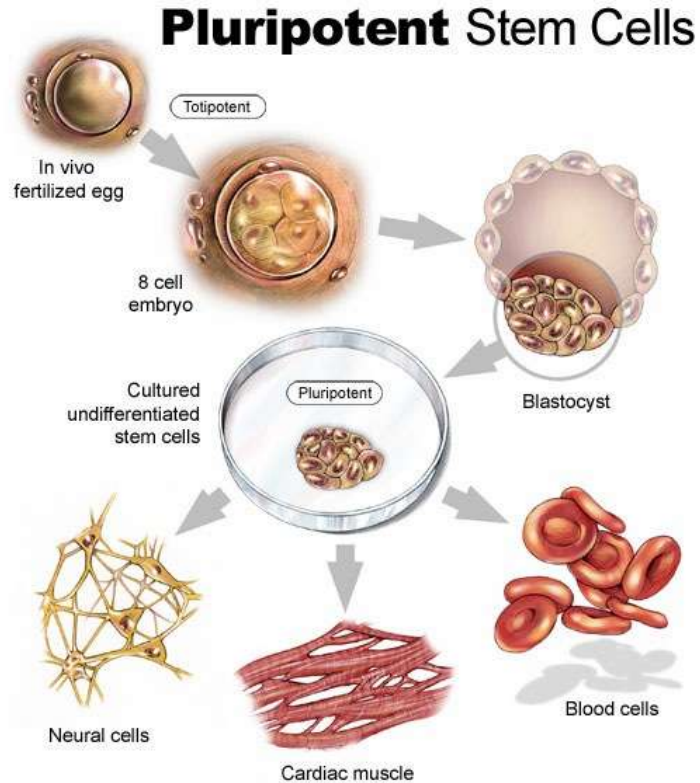


HEMO-iPS - Centres participants

**HEMO-iPS - Programa E-Rare
(ERA-Net en malalties
minoritàries)**



HEMO-iPS - Cèl·lules mare pluripotents



- Podem definir com cèl·lula mare a una cèl·lula progenitora, capaç de autoperpetuar-se i de generar un o més tipus cel·lulars diferenciats.

Pluripotent Stem Cells

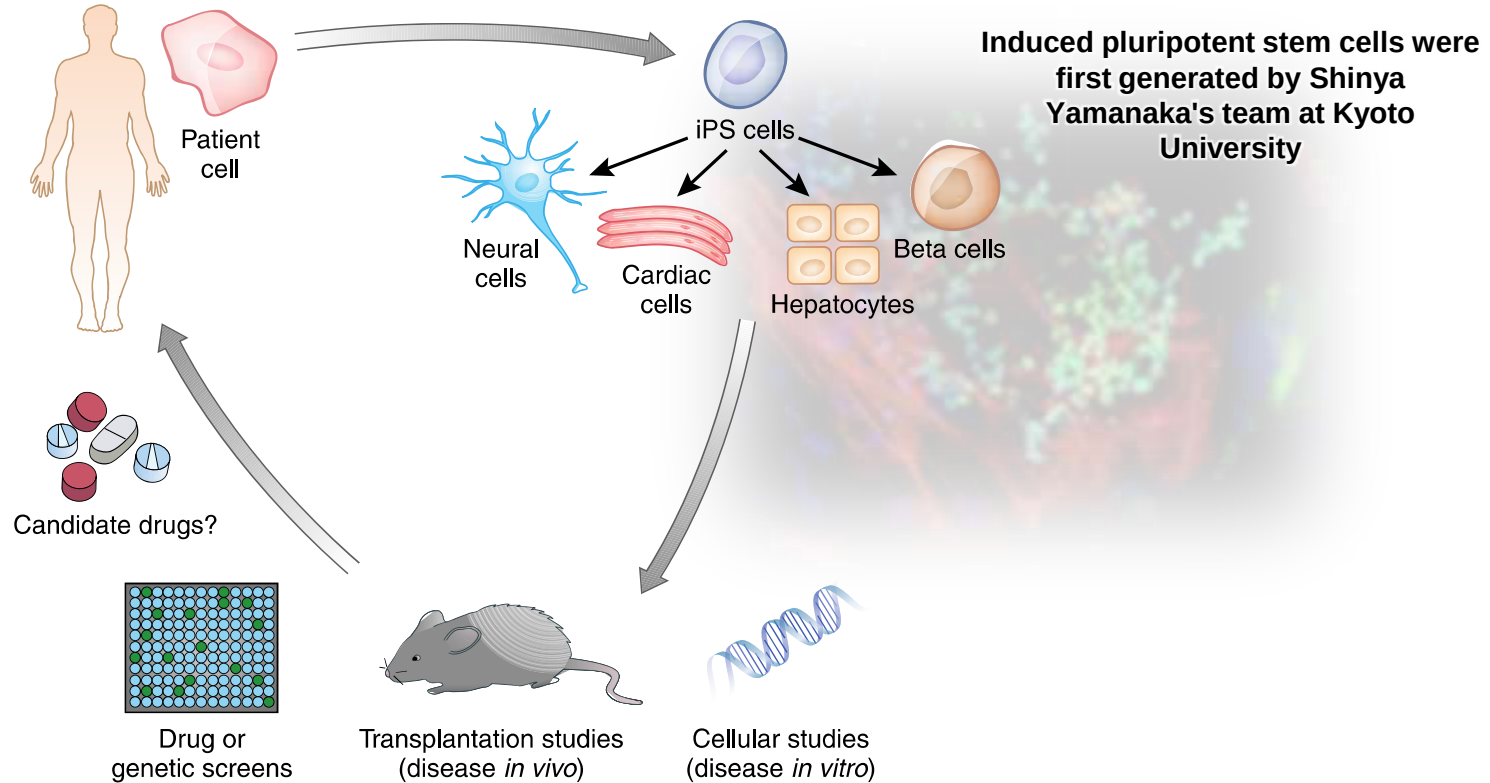
- **Cèl·lules mare adultes:** són cèl·lules mares no diferenciades trobades entre cèl·lules diferenciades d'un teixit específic, normalment multipotents.
- **Cèl·lules mare embrionàries:** són cèl·lules cultivades obtingudes a partir masses de cèl·lules internes no diferenciades de la primer fase de l'embrió humà (sovint anomenat blastocist, que és un embrió entre 50 i 150 cèl·lules).
- **Les cèl·lules mare del cordó umbilical:** són derivades de la sang de la placenta i el cordó umbilical després de néixer.



HEMO-iPS - Objectius

1. Diferenciació in vitro de cèl·lules mare pluripotents humanes en hepatòcits funcionals amb un protocol optimitzat
2. Optimització dels protocols de diferenciació in vitro de les cèl·lules mare pluripotents en cèl·lules endotelials funcionals
3. Generació de línies de cèl·lules mare pluripotents induïdes específiques de pacients amb HA
4. Ús de iPSC pacients específics per avaluar l'eficàcia dels de fàrmacs capaços de restaurar la pauta de lectura davant codons d'aturada prematurs per al tractament de HA
5. L'ús de iPSC pacients específics per investigar el significat funcional de les mutacions sense sentit en el F8
6. La correcció genètica de iPSC específics de pacients amb HA

HEMO-iPS - Cèl·lules mare amb pluripotència induïda



Científicos españoles reciben un premio por su investigación en hemofilia



Los Premios de Investigación en Hemofilia Europa ASHRE 2013, otorgados por la compañía biotecnológica Pfizer, han reconocido la relevancia del proyecto presentado por un equipo de investigadores españoles que pretende contribuir al avance en el diagnóstico y tratamiento de la hemofilia.

El proyecto ganador –uno de los cinco destacados entre un total de veinte candidaturas procedentes de diez países europeos– plantea el estudio de la producción, el procesamiento, la secreción y la vida media del factor VIII de coagulación en las células derivadas de pacientes con hemofilia.

Los científicos también agitarán las próximas mesas y representarán el segundo paso de una investigación transnacional europea actualmente en curso. Para ello, además de la Unidad de Hemofilia del Hospital Universitario Vall d'Hebron y el Banc de Sang i Teixits, también participarán otros investigadores que aportarán sus conocimientos y experiencia en diferentes áreas, como el apoyo de especialistas en reproducción y generación de

Desde el punto de vista científico, el doctor Parra apunta que el trabajo podría permitir obtener “una forma de terapia génica ex vivo que puede reducir los riesgos de respuesta inmune y en el **futuro** podría ser una alternativa más conveniente a los enfoques actuales” en el abordaje de la hemofilia.

Tal y como señala el doctor Francisco Vidal, “se trata de un proyecto de carácter traslacional cuyo objetivo final es ofrecer una nueva herramienta versátil para la investigación farmacológica en hemofilia y que, incluso, pueda abrir puertas hacia una **farmacología personalizada**”.

Cuando hablamos de **proyectos en biomedicina** es siempre necesario ser prudentes para **evitar generar falsas expectativas** en las personas afectadas. Por ello, es preciso señalar que el proyecto **no supondrá ningún beneficio inmediato para el paciente**.

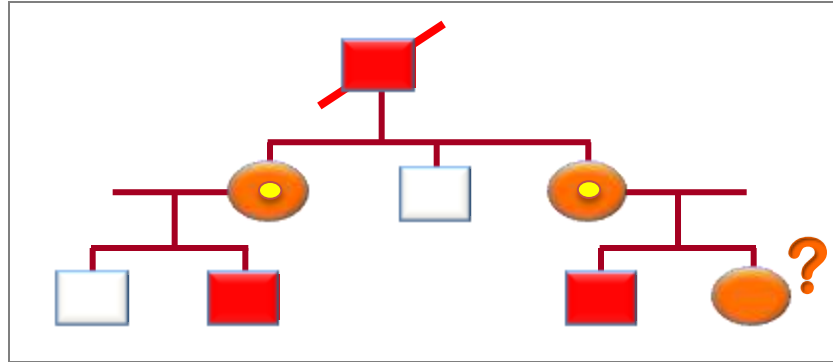
Present i futur en el diagnòstic molecular



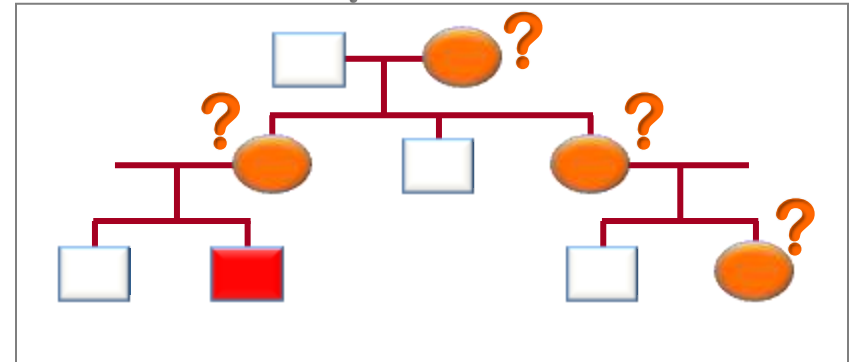
V Jornada d'actualització sobre l'Hemofília
Barcelona, 10 de desembre de 2013

Historia clínica – Estudi familiar

Familiar

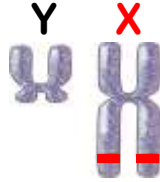


Esporàdica



Diagnòstic molecular

Pare hemofílic

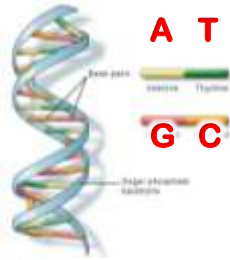


Filla portadora



- Estudi molecular del defecte genètic en el pacient
- Estudis de portadores i estudis familiars
- Diagnòstic prenatal

1953



**Rosalind
Franklin**



James Watson



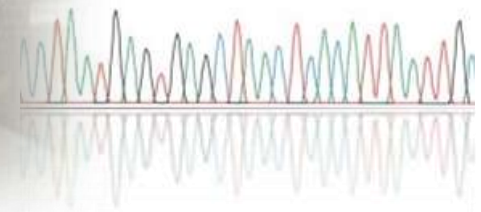
Francis Crick

1977



Fred Sanger

CCTAATGAGTGAGCTAAC TCACATTAATTGC
200 210 220

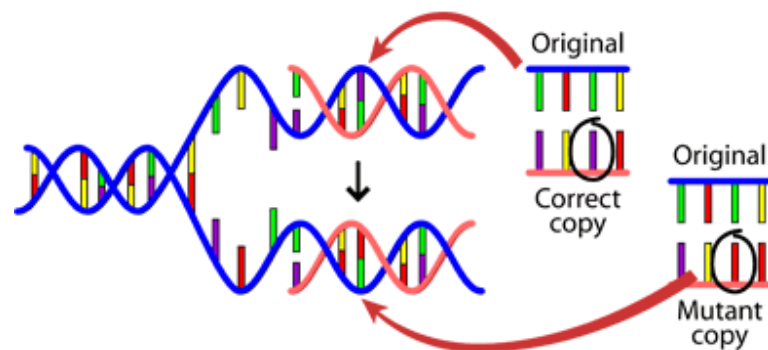
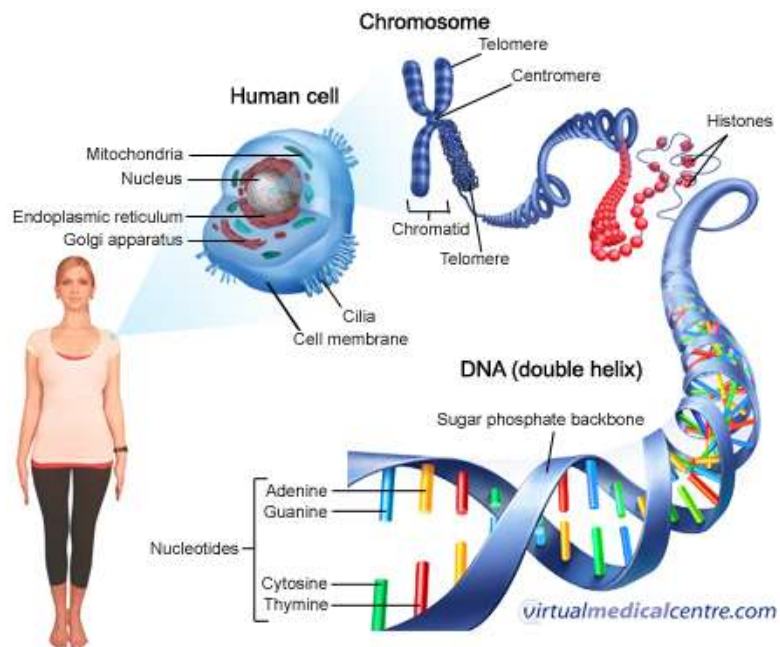


1985

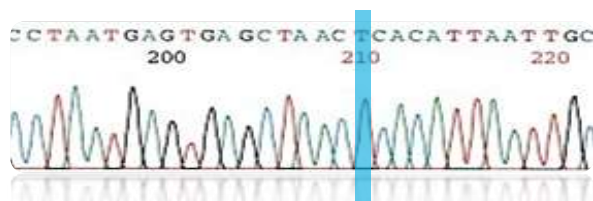
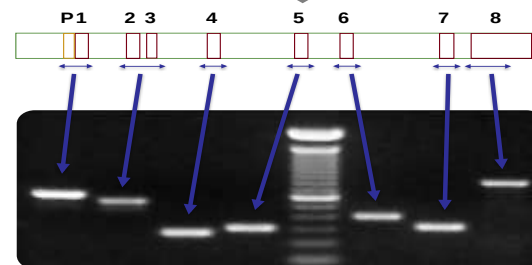
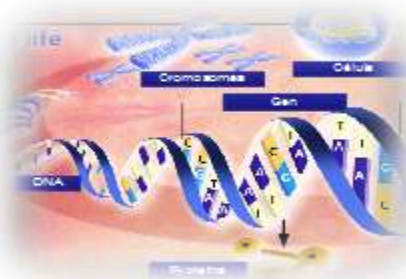


Kary Mullis

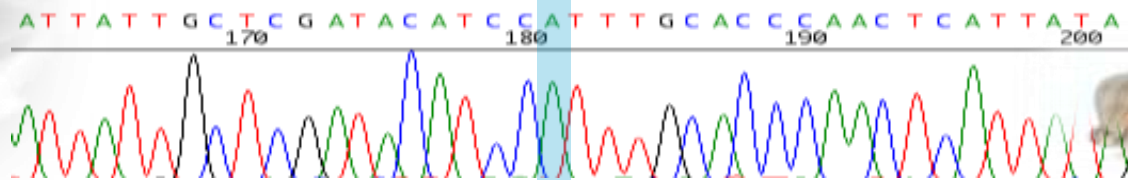




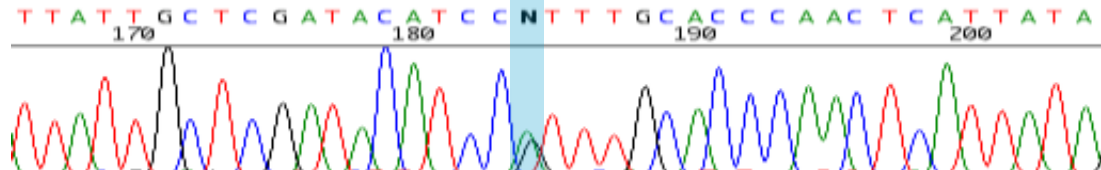
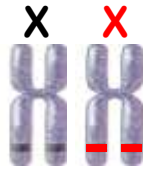
Estudi molecular



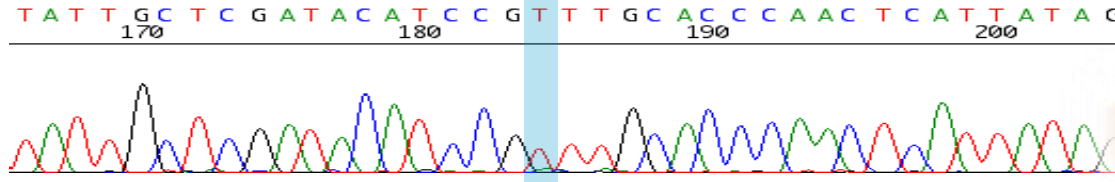
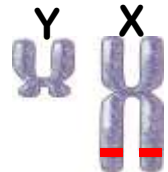
Metodologia: Identificació de la mutació



Pare hemofílic



Filla portadora



Fetus



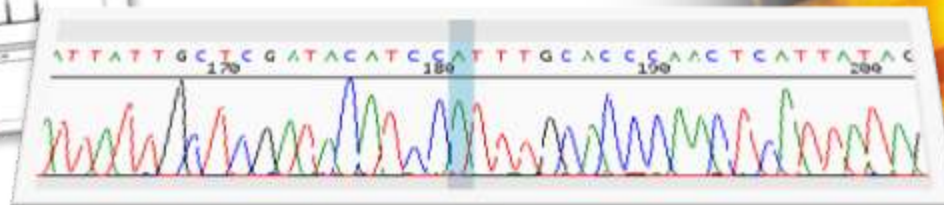
Diagnòstic prenatal en Hemofília



Velositats corials
setmana 11-13

Líquid amniòtic
setmana 15

Resultats en 3-7 dies



Perspectives de futur...



Projecte Genoma Humà



Next Generation Sequencing (NGS)

Seqüenciació massiva

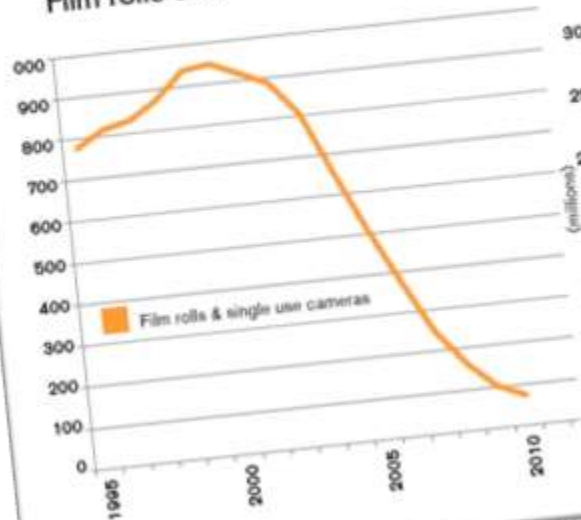
Ultraseqüenciació

Seqüenciació de segona generació

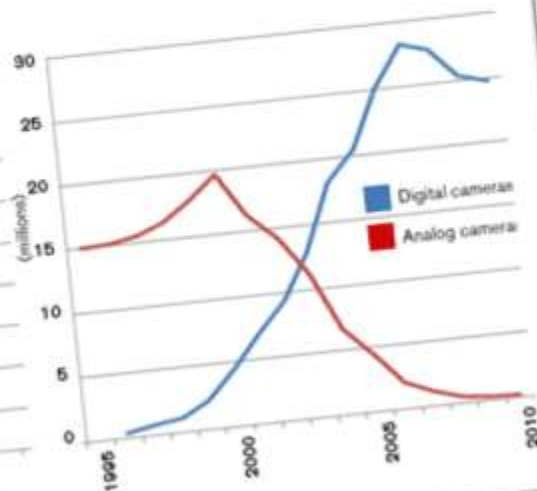
Tecnologies disruptives



Decline of Film
Film rolls sold



Camera sales



Plataformas *Next Generation Sequencing* (NGS)



**Roche 454
pyrosequencing (2005)**

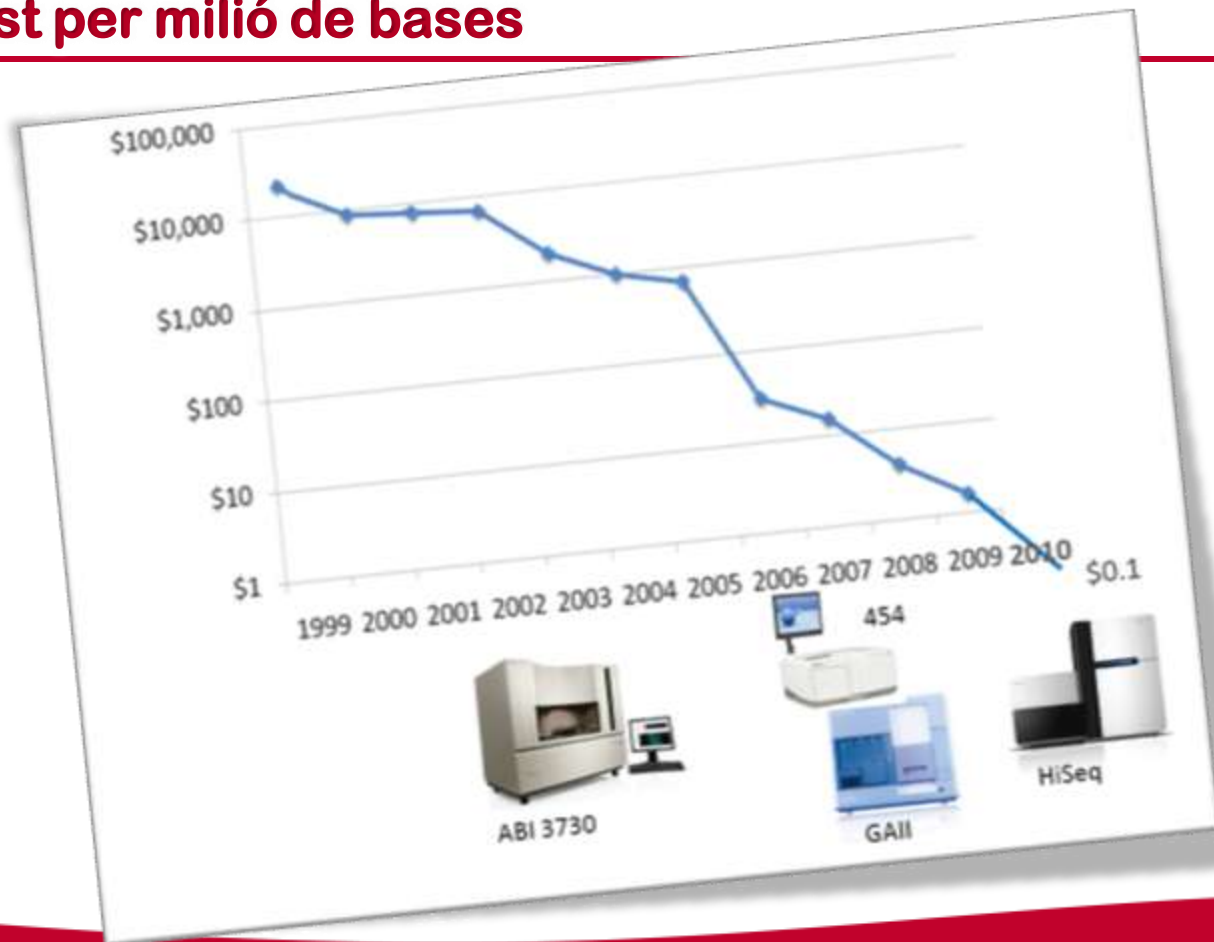


**AB SOLiD System
(2007)**



**Illumina GA System
(2006)**

Cost per milió de bases

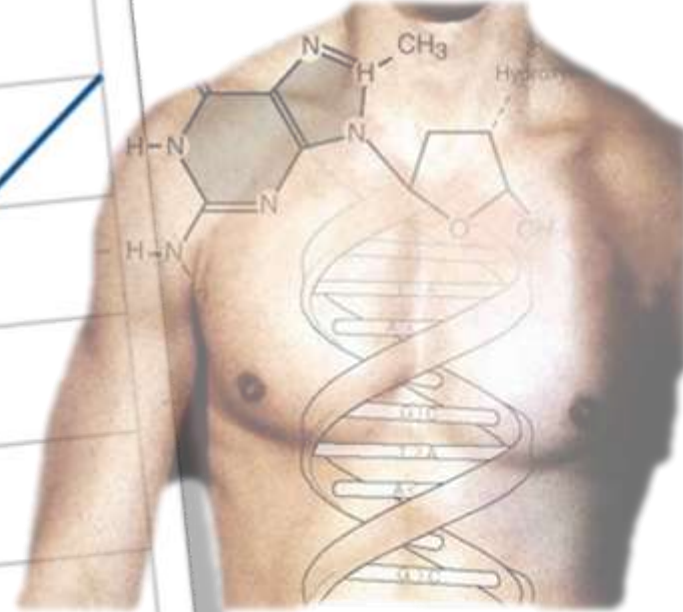
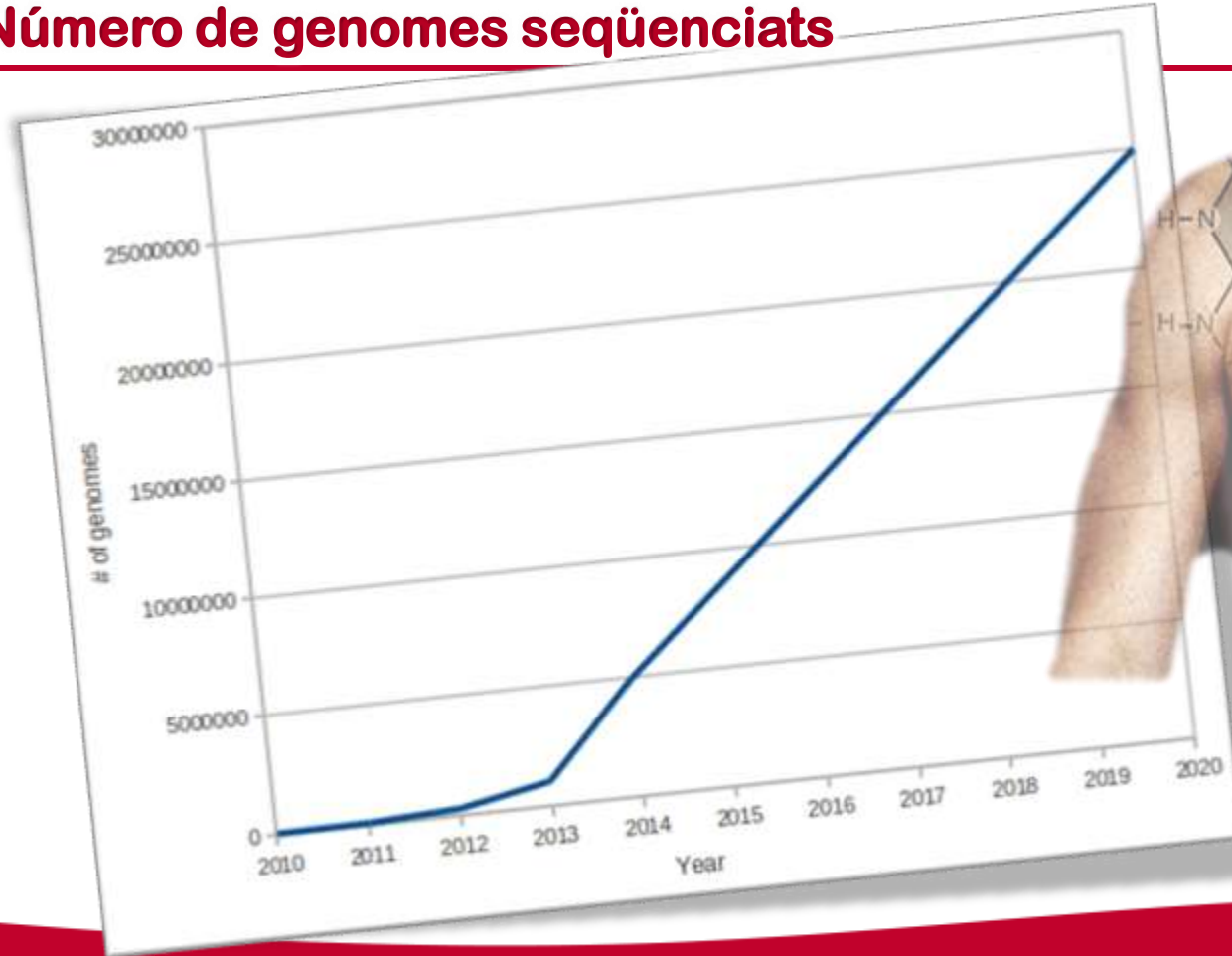


Seqüenciació tradicional versus NGS

Genoma seqüenciat	PGH (2003)	Watson (2008)
Tecnologia	Tradicional	NGS
Temps invertit	13 años	4,5 meses
Cost de seqüenciació	\$2.700 millones	<\$1,5 millones
Cobertura	8-10 x	7,4 x
Número de científics en la llista d'autors	>2.800	27
Número d'institucions implicades	16	2
Número de països implicats	6	1

Wheeler DA et al. (2008). Nature 452: 872-876.

Número de genomes seqüenciats



Aplicacions de la NGS al Diagnòstic Molecular



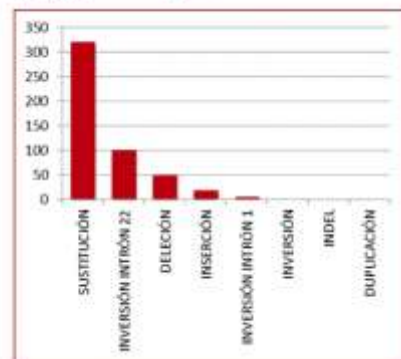
A/G

Projectes BST

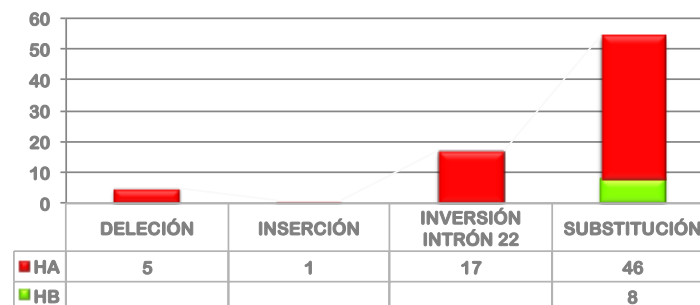


Estado Base de Datos Hemofilia A

TipoMutacion	Cuenta de ID
SUSTITUCIÓN	321
INVERSIÓN INTRÓN 22	100
DELECCIÓN	49
INSERCIÓN	19
INVERSIÓN INTRÓN 1	5
INVERSIÓN	1
INDEL	1
DUPPLICACIÓN	1
Total general	497

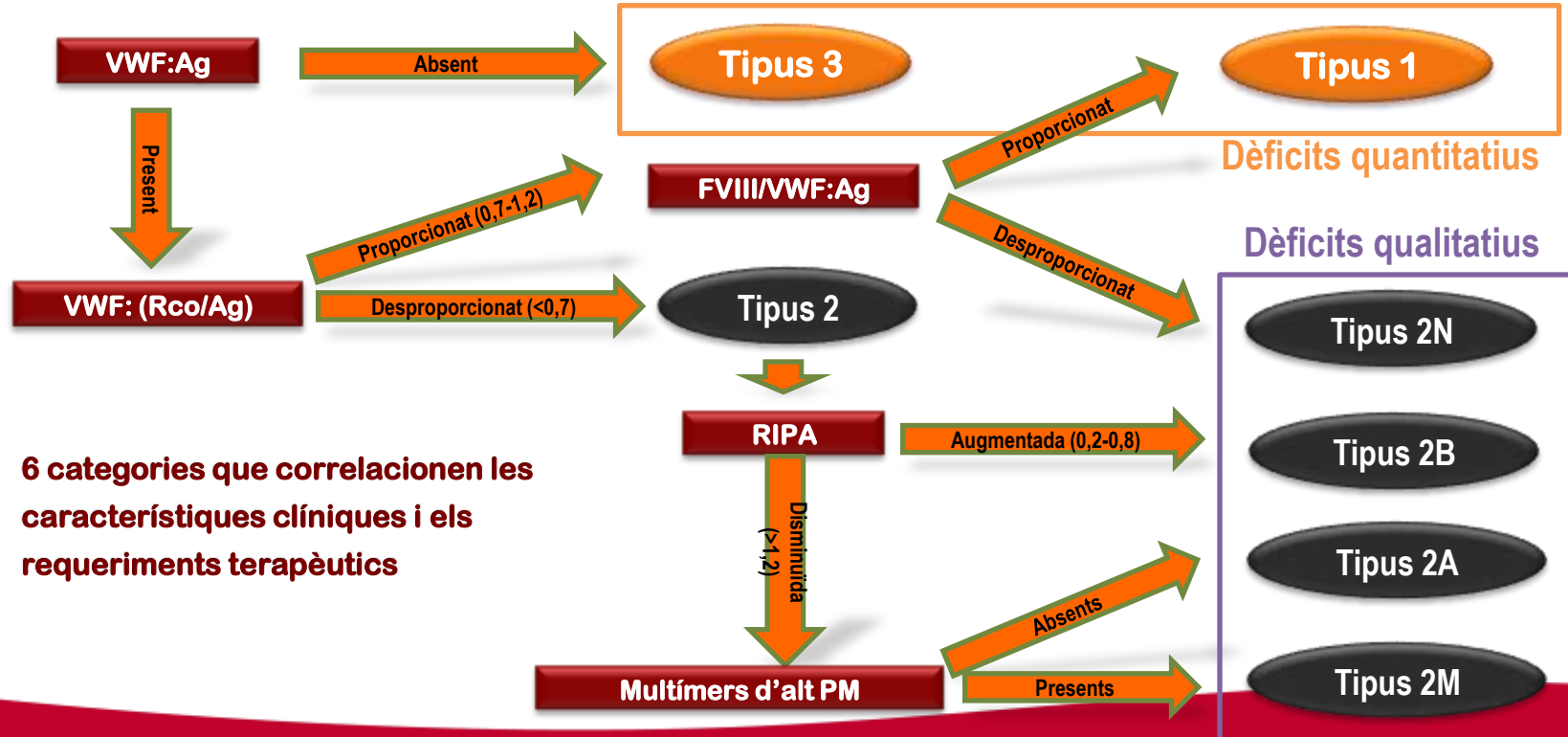

Estudis HA
Estado Base de Datos Hemofilia B

TipoMutacion	Cuenta de ID
SUSTITUCIÓN	93
DELECCIÓN	10
INSERCIÓN	1
Total general	104


Estudis HB
Estudis Prenatals


Malaltia de von Willebrand

- Diagnòstic clínic extremadament complex i s'han proposat diferents classificacions
- Proves de laboratori per a la classificació: VWF:Ag, VWF:Rco, FVIII:C, RIPA i multímers

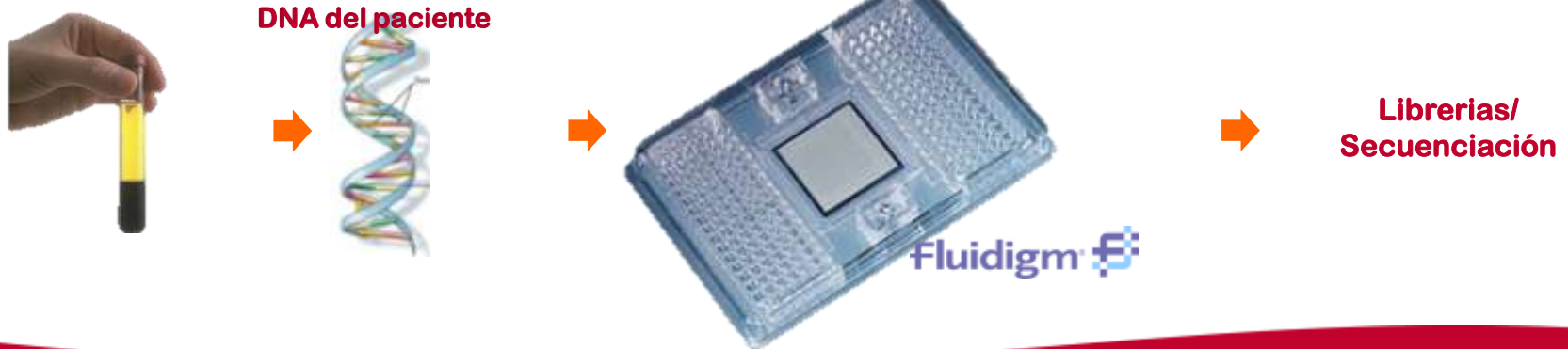


- 6 categories que correlacionen les característiques clíniques i els requeriments terapèutics

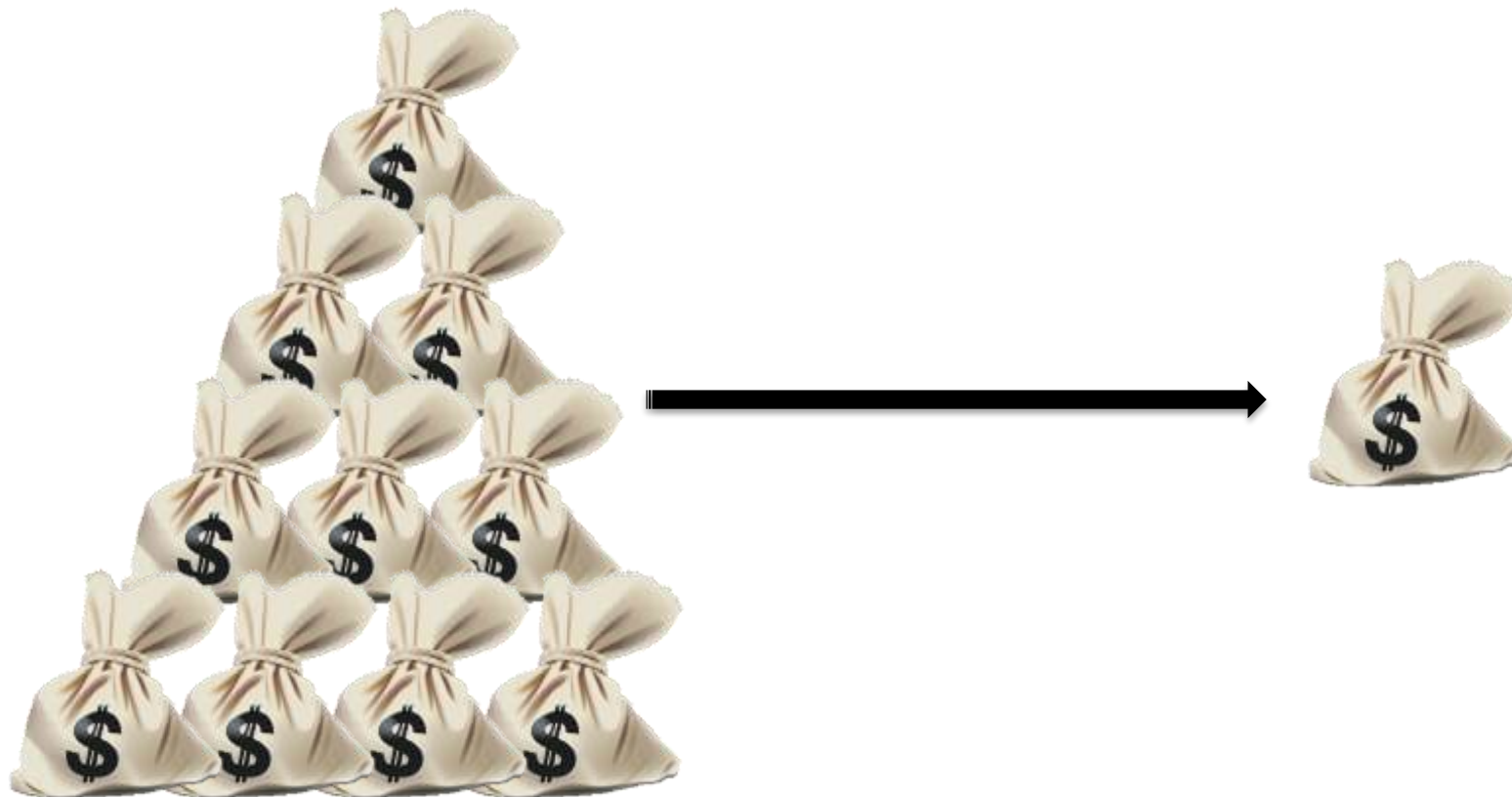
Nuevas estrategias (tecnología de microfluidos)



Amplificación de 48 pacientes por placa



Ventajas de la secuenciación masiva paralela del VWF



Avantatges de la seqüenciació massiva paral·lela



aneuploidies



Diagnòstic prenatal no invasiu

malalties monogèniques

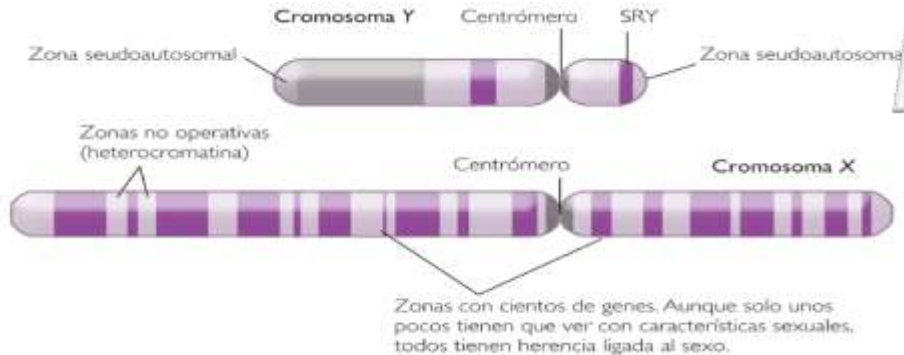
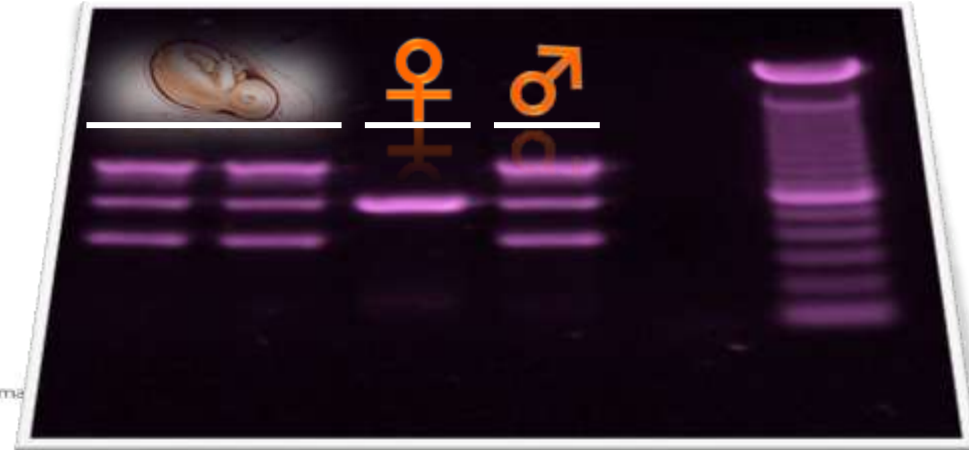
DNA fetal de plasma matern



Metodologia: PCR sexe

Genes:

- **SRY** (*Sex Determining Region*)
- **AMEL X** (*Amelogenin*)
- **AMEL Y**



Detecció de la mutació en DNA fetal de plasma matern

[illegible]





BANC DE SANG
I TEIXITS

*Moltes
gràcies*



Generalitat de Catalunya
Departament de Salut

www.bancsang.net

