

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

FACULTAD DE MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO



**IMPLEMENTACIÓN DEL DIAGNÓSTICO MOLECULAR EN PACIENTES
ONCOLÓGICOS EN EL HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO DE ALICANTE**

AUTOR: CRISTINA PARREÑO BENITO

TUTOR: BARTOMEU MASSUTI SUREDA

COTUTOR: CRISTINA ALENDA GONZÁLEZ

Departamento y Área: Medicina Clínica

Curso académico 2023- 2024

Convocatoria de Mayo 2024

Agradecimientos:

En primer lugar, me gustaría agradecer a mis padres la oportunidad de poder estudiar una de las carreras más bonitas del mundo.

A mi hermana Aurora, por estar siempre dispuesta a ayudarme y apoyarme en todo.

A mi hermano Javier, que pesar de la distancia y el trabajo siempre has puesto un granito de arena en mi formación como futura médico.

A mis nuevas amigas del grupo de prácticas 5A, Olga, Marta y “Marías”; siempre dispuestas a escucharme y ayudarme en mis momentos de crisis.

A mi grupo de amigas del colegio: Marilia, Paula Bea, María y Clara. Gracias por animarme a conseguir todo lo que me propongo, estar siempre presente y a enseñarme a utilizar *Microsoft Excel* (Paula y Bea).



Tabla de contenido

Resumen	5
Introducción.....	7
Objetivos.....	9
Material y Métodos	9
Resultados	14
Discusión.....	22
Conclusiones	26
Referencias bibliográficas.....	27
Anexo	32



Abreviaturas:

NGS: Secuenciación de nueva generación, en inglés *“Next Generation Sequencing”*

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ARN: Ácido ribonucleico

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

EGFR: Receptor del factor de crecimiento epidérmico

RT-PCR: Retrotranscriptasa/Reacción en Cadena de la Polimerasa

NOS: *“Not Otherwise Specified”* subtipo de cáncer de pulmón con histología inespecífica

MSI-H: *“Microsatellite Instability-High”* en castellano, inestabilidad microsatelital alta

MSI-L: *“Microsatellite Instability-Low”* en castellano, inestabilidad microsatelital baja

dMMR: *“Deficient Mismatch Repair”* en castellano, deficiencia en la reparación de errores

pMMr: *“Proficient Mismatch Repair”* en castellano, competente en la reparación de errores

PD-L1: Ligando 1 de muerte celular programada

VAF: Frecuencia alélica de una variante

CCR: Cáncer colorrectal

SNS: Sistema Nacional de Salud

Resumen

Introducción: El diagnóstico molecular, esta viviendo un gran desarrollo sobretodo en el campo de la Oncología. Recientemente se ha incorporado como herramienta de diagnóstico molecular la Secuenciación de Nueva Generación (NGS). La secuenciación genómica ampliada ha posibilitado ampliar los conocimientos sobre las alteraciones oncogénicas y la utilización de esta información para aplicar tratamientos dirigidos contras dichas alteraciones, individualizando el tratamiento de cada paciente. En una estrategia hacia la medicina de precisión.

Objetivos: Los objetivos principales de este trabajo han sido mostrar la creciente necesidad asistencial del uso de nuevas técnicas de diagnostico molecular y lo que supone la introducción de la medicina de precisión de las alteraciones genómicas en la practica clínica diaria en el hospital.

Material y métodos: Estudio descriptivo de 491 pacientes oncológicos del Hospital General Universitario de Alicante, en los que se ha realizado técnicas de diagnostico molecular desde 2020 a 2024. Se analizado las indicaciones realizadas en función de tipo de tumor y estadio junto con los resultados de los estudios moleculares y su potencial implicación terapéutica.

Resultados: La técnica de diagnóstico molecular más utilizada fue la NGS (76%). Podemos contemplar en los últimos años un incremento del 25,52% en el uso de la PCR y una disminución del 15,77% en la NGS. En el 13% de las muestras analizadas se han documentado alteraciones genómicas que han podido beneficiarse de tratamientos dirigidos. La mayor parte de los casos correspondieron a cáncer de pulmón no microcítico (59,2%).

Conclusiones: La medicina de precisión continúa siendo un reto hoy en día, cuya necesidad creciente ha permitido el desarrollo de nuevas técnicas de diagnóstico molecular como la NGS. La implementación del diagnóstico molecular va a permitir facilitar una atención más especializada en el tratamiento del paciente con cáncer.

Palabras clave: diagnóstico molecular, NGS, medicina de precisión, tratamiento dirigido, mutaciones diana.

Abstract:

Introduction: Molecular diagnostics is undergoing a great development, especially in the field of oncology. Recently, Next Generation Sequencing (NGS) has been incorporated as a molecular diagnostic tool. Extended genomic sequencing has made it possible to increase knowledge of oncogenic alterations and the use of this information to apply treatments directed against these alterations, individualising the treatment of each patient. In a strategy towards precision medicine.

Objectives: The main objectives of this work have been to show the growing healthcare need for the use of new molecular diagnostic techniques and what the introduction of precision medicine of genomic alterations entails in daily clinical practice in the hospital.

Material and methods: descriptive study of 491 oncology patients at the Hospital General Universitario de Alicante, in whom molecular diagnostic techniques have been performed from 2020 to 2024. We analysed the indications according to tumor type and stage, together with the results of the molecular studies and their potential therapeutic implications.

Results: The most commonly used molecular diagnostic technique was NGS (76%). In recent years, there has been an increase of 25.52% in the use of PCR and a decrease of 15.77% in the use of NGS. In 13% of the samples analysed, genomic alterations have been documented that could benefit from targeted treatments. The majority of cases corresponded to non-small-cell lung cancer (59.2%).

Conclusions: Precision medicine continues to be a challenge today, the growing need for which has enabled the development of new molecular diagnostic techniques such as NGS. The implementation of molecular diagnostics will facilitate more specialised care in the treatment of cancer patients.

Keywords: molecular diagnostics, NGS, precision medicine, targeted therapy, target mutations.

Introducción

El concepto de “diagnóstico molecular” es un término amplio que ha emergido en el ámbito de la atención médica contemporánea. Abarca técnicas de biología molecular en beneficio de la salud humana, detectando y/o cuantificando secuencias genéticas específicas de ácido desoxirribonucleico (ADN), ácido ribonucleico (ARN) o proteínas.¹ Por otro lado, proporciona información pormenorizada sobre la biología molecular de diversas enfermedades, transformando por tanto la forma de diagnosticar, tratar y prevenir distintas afecciones de salud. El impacto demostrado en diversas áreas de la salud, como las enfermedades infecciosas y el cáncer, es considerable y de gran importancia en todos los ámbitos.¹

Durante los últimos diez años, ha tenido lugar un incremento exponencial en el uso de la secuenciación de ácidos nucleicos, debido a que la capacidad de secuenciar se ha hecho alcanzable para los distintos laboratorios mundiales tanto de investigación como clínicos.

El primer acercamiento relevante en la secuenciación del ADN fue el conocido Proyecto Genoma Humano, iniciado en 1990 y finalizado en 2003.² Este proyecto se realizó utilizando la secuenciación de primera generación, llamada secuenciación *Sanger*. Este método fue elaborado por Frederick Sanger y su equipo de la Universidad de Cambridge en la década de 1970. Durante los 25 años siguientes fue el método de secuenciación más utilizado.³

Desde que finalizó el Proyecto Genoma Humano ha habido una creciente demanda en el desarrollo de nuevos métodos de secuenciación más rápidos y baratos, debido a que dicho proyecto duró 13 años y tuvo un coste de 2,7 millones de dólares estadounidenses.⁴ Gracias a esta demandada, se han desarrollado otros métodos como la NGS (“*Next Generation Sequencing*” en castellano, Secuenciación de Nueva Generación).

La NGS comenzó a desarrollarse a finales del año 1990 y principios del año 2000. Este método no amplifica fragmentos específicos como el método *Sanger*, sino que secuencia simultáneamente millones de fragmentos de ADN de una única muestra. Por tanto, esta tecnología ha permitido obtener resultados más sólidos, a precios más económicos y con un tiempo de demora menor a diferencia del método *Sanger*.⁵

En el año 2007 tuvo lugar la primera secuenciación de genoma humano utilizando este método, mediante la plataforma *454 Life Sciences*®. La creación de nuevas plataformas de NGS como: *454 Life Sciences*® (ahora parte de la marca Roche®), *Illumina MiSeq*®, *SOLiD*® e *Ion Torrent*®, han permitido aumentar el número de investigaciones y diagnósticos clínicos, sobretodo dentro del ámbito de investigación del cáncer.⁶

Por tanto, podemos afirmar que en la esfera del cáncer se han vivido numerosos avances en las últimas décadas y que han resultado esenciales para comprender la biología de los distintos tipos de cáncer. La utilización de la NGS en la oncología médica ha permitido allanar el camino para personalizar la terapia de los pacientes con cáncer basada en los perfiles moleculares.⁶

En este contexto ha surgido un nuevo concepto: la medicina de precisión, donde la implementación de la NGS ha tenido un papel fundamental en la asistencia médica. Al poder identificar alteraciones genéticas específicas en los pacientes, ha permitido desarrollar enfoques más personalizados y eficaces tanto para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de las distintas enfermedades.⁷

Objetivos

Los objetivos principales de este trabajo consisten en mostrar la creciente necesidad asistencial del uso de nuevas técnicas de diagnóstico molecular, además de mostrar lo que supone la introducción de la medicina de precisión de las alteraciones genómicas en la práctica clínica diaria en el hospital.

Material y Métodos

Diseño y tipo de estudio:

Estudio descriptivo de 494 pacientes oncológicos del Hospital General Universitario de Alicante Doctor Balmis en los que se ha realizado técnicas de diagnóstico molecular desde el año 2020 a 2024.

Fuente de datos:

La identificación de los pacientes de este estudio se ha llevado a cabo mediante la agenda del comité Biomolecular, formado por los servicios de Oncología y Anatomía Patológica. Para la recogida de los datos se ha utilizado el programa informático *OrionClinic*, donde constaban los informes de anatomía patológica y los informes médicos de los pacientes. Además, para garantizar el derecho e intimidad de los pacientes objeto de estudio, los datos han sido recogidos de manera anónima.

Criterios de inclusión

Los criterios de inclusión fueron todos aquellos pacientes que hubieran sido valorados en el Comité Biomolecular, donde se revisan las indicaciones y resultados de las técnicas de diagnóstico molecular realizadas en la práctica clínica.

Técnicas de diagnóstico molecular:

Para el diagnóstico molecular se han recogido dos tipos de muestra, biopsia o bloque celular. Asimismo, la muestra podía proceder tanto del tumor primario como de las posibles metástasis del cáncer primario.

Mediante la extracción de ADN y ARN con sistema automatizado *Magcore*® se ha realizado un estudio de secuenciación masiva con la plataforma *ThermoFisher*® (*Ion Cheff*®, *Ion Torrent S5 plus sequencer*®).

Con este propósito, se utilizaron dos tipos de paneles de NGS:

- *Oncomine Comprehensive*, que analiza 161 genes
- *Oncomine Childhood*, con análisis de 203 genes.

La interpretación de los resultados realizados en Anatomía Patológica se ha realizado con el software para el análisis de resultados *Ion Reporter*® (*ThermoFisher*®).⁸ Se han seleccionado las variantes con un número de lecturas superior a 250 y una frecuencia alélica >5%. La clasificación de las variantes se ha hecho con *Varsome*, informando únicamente las patogénicas y probablemente patogénicas.

También se han empleado otra técnica de diagnóstico molecular, la PCR. Distinguimos tres tipos de PCR:

- *Cobas V2*®: es una prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) realizada en tiempo real utilizada para la identificación de 42 mutaciones en los

exones 18, 19, 20 y 21 del gen del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), incluida la mutación de resistencia T790M.

- *Biocartis Idylla Mutation Assay®*: un test de diagnóstico in vitro para la detección cualitativa de mutaciones RAS, BRAF, EGFR. Los pasos del proceso incluyen: licuación y lisis de la muestra en parafina y PCR en tiempo real que usa cebadores específicos para un alelo.⁹
- *Idylla GeneFusion Assay®*: una prueba de diagnóstico in vitro para la detección cualitativa de fusiones específicas de ALK, ROS1, RET y el *skipping* del exón 14 del gen MET. Además, detecta mediante expresión *imbalance* (desequilibrio) de fusiones en secciones FFPE de RET, NTRK1/2/3. Tras la extracción del ADN y ARN en el cartucho, la prueba realiza automáticamente una RT-PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa mediante la utilización de una Retrotranscriptasa) a tiempo real hasta la emisión del resultado.¹⁰

Otras técnicas empleadas:

La inmunohistoquímica, es una técnica que emplea los principios de inmunología e histología para caracterizar tumores, estudiar la expresión de determinadas proteínas, tejidos o células¹¹. Se han empleado 3 tipos de inmunohistoquímica.

- Inmunohistoquímica de diagnóstico del tipo histológico de los carcinomas de pulmón.

Se han analizado los siguientes marcadores:

- ◆ P40+: marcador cáncer de pulmón escamoso
- ◆ TTF-1+: marcador de cáncer de pulmón no escamoso
- ◆ P40- TTF-1-: marcador de NOS "*not otherwise specified*", es decir subtipo histológico no definido.

- Inmunohistoquímica de PDL-1 para la inmunoterapia en cáncer de pulmón.

PD-L1 (ligando 1 de muerte celular programada) es una proteína que suele encontrarse en las células cancerosas. Si esta presente estos pacientes podrían beneficiarse de un tratamiento llamado inmunoterapia mediante “inhibidores de puntos de control inmunitario”, ya que estos fármacos permiten a las células T destruir a las células tumorales. Esta proteína es especialmente útil en el cáncer de pulmón.¹²

- Inmunohistoquímica de inestabilidad de microsatélites en tumores digestivos.

Para el cáncer gástrico, páncreas, hígado, intestino delgado o colorrectal, es decir neoplasias digestivas, se ha utilizado la inmunohistoquímica de las siguientes 4 proteínas: MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2; para observar si había inestabilidad de microsatélites (MSI-H/dMMR) o si había estabilidad (MSI-L/ pMMR)¹³. Este análisis también permite orientar la indicación de tratamiento con inmunoterapia en cáncer digestivo.

Variables:

Las variables estudiadas se muestran a continuación:

- Variables sociodemográficas:

- Edad
- Sexo
- Tabaquismo

- Variables clínicas:

- Localización del cáncer primario
- Estadio del cáncer
- Histología del cáncer

- Tipo de muestra (biopsia o bloque celular)
- Localización de la muestra (tumor primario o metástasis)
- Variables relacionadas con los estudios moleculares:
 - Fecha de realización del estudio molecular
 - Resultados de la biopsia valorables (si/no)
 - Utilización de la NGS (si/no),
 - Tipo de kit de NGS utilizado (*Oncomine Comprehensive* u *Oncomine Childhood*)
 - Resultados NGS (tipo de mutaciones encontradas)
 - Porcentaje de VAF (frecuencia alélica de una variante)
 - Utilización de PCR/PCR-RT (*Idylla*)
 - Resultados PCR (si existe mutación en EGFR, KRAS, ALK ROS1, RET, MET)
 - Inmunohistoquímica
 - Aplicabilidad clínica (si existe tratamiento dirigido a las mutaciones halladas con las técnicas de diagnóstico molecular)

Análisis de datos:

Se recogieron los respectivos resultados en una base de datos creada mediante el programa informático *Microsoft Excel*® y, como se ha mencionado anteriormente los datos son anónimos. Las gráficas y tablas fueron creadas también con dicho programa

Se realizó un análisis estadístico utilizando el programa *SPSS*® versión 23, comparando variables cualitativas. Se consideró que había diferencias significativas con una $p < 0,05$.

Los datos de 2024 corresponden a datos recogidos hasta el 28 de febrero de 2024, y en determinados casos se ha realizado una proyección temporal de los mismos para todo el año.

Resultados

Tras el análisis de 494 pacientes con diagnóstico oncológico, 3 pacientes fueron excluidos debido a error en la asignación de la agenda del Comité Biomolecular, el resultado muestral consecuente fue de 491 pacientes. Entre ellos constaron 199 mujeres y 292 hombres con una media de edad de 62,98 años.

Respecto a la variable “tabaquismo”, el 69% de los pacientes eran fumadores, el 30% no fumadores y un 1% de la muestra presentaba un resultado desconocido (gráfico 1).

De las muestras tomadas, el 83% fueron biopsias y el 17% resultaron muestras en bloque celular.

Además, se analizó la localización de la muestra, cuyo resultado concluyó que el 77% de las muestras fueron tomadas del tumor primario y el 23% de metástasis del cáncer primario.

En referencia a los resultados de las muestras tomadas para la realización de las técnicas de diagnóstico molecular, se obtuvieron resultados valorables en el 98% y solo el 2% fue no valorable, debido a cantidad de muestra insuficiente. (gráfico 2)

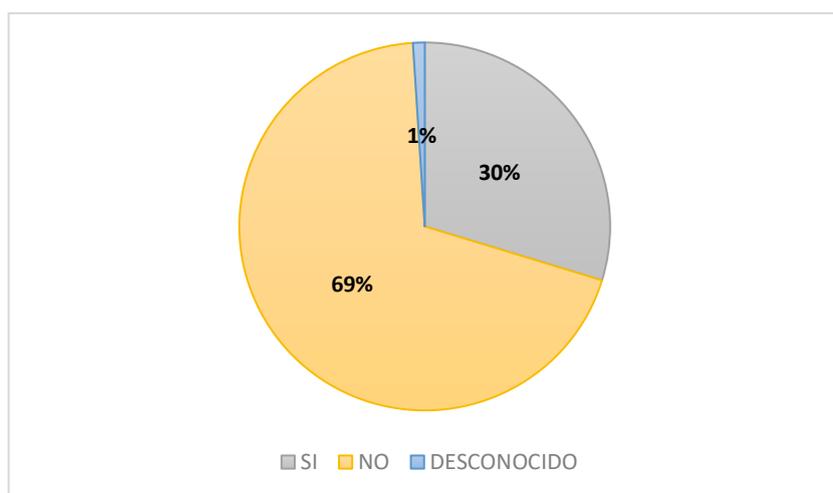


Gráfico 1. Porcentaje de fumadores sobre la muestra analizada.

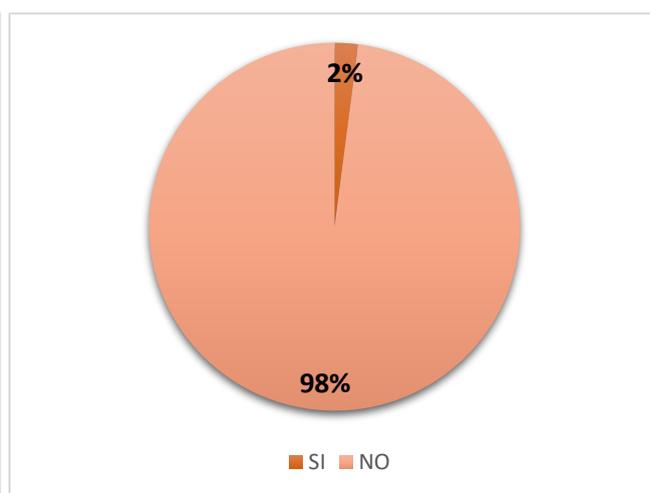


Gráfico 2. Porcentaje de los resultados que son valorables.

En cuanto a la localización de los tumores, apreciamos en el gráfico número 3 que de entre las muestras que se recogieron es posible destacar que más del 50% fueron cáncer de pulmón, seguido de cáncer digestivo (19%) donde están incluidos los siguientes tipos: cáncer gástrico, cáncer hepático/ vía biliar, cáncer de páncreas y cáncer colorrectal (CCR). El porcentaje de cáncer de mama fue del 5%.

Un 17% de las muestras pertenecen al apartado de “otros”, que integra diferentes tipos de cáncer, tales como hematológicos, sistema nervioso central (SNC), urotelio, cabeza y cuello, tiroides, sarcoma, melanoma, ovario, próstata. Se han agrupado en dicha categoría debido a la baja representación muestral.

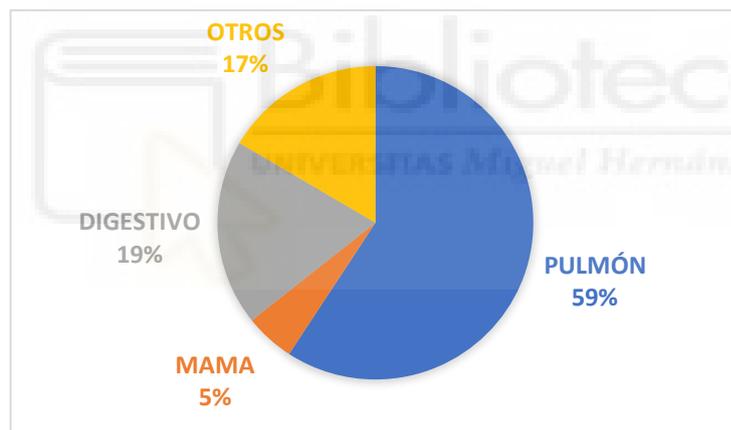


Gráfico 3. Distribución de los diferentes tipos de cáncer analizados

Asimismo, podemos observar en la tabla 1, la distribución de los diferentes tipos de cáncer repartida a lo largo de los años 2021-2023 durante los que se recogieron las muestras. Apreciamos que el porcentaje de cáncer de pulmón va aumentando conforme

avanzan los años mientras que el porcentaje de cáncer de mama y digestivo disminuye a nivel global.

Si comparamos el año 2021 con el 2022 observamos:

- En el cáncer de pulmón un aumento del 0,7%.
- En el cáncer de mama una disminución 19,3%.
- En el cáncer digestivo un aumento del 1,6%.

Si comparamos el año 2022 con el 2023 apreciamos:

- En el cáncer de pulmón un aumento del 27,1%.
- En el cáncer de mama un aumento del 3,5%.
- En el cáncer digestivo una disminución 8,8%.

			AÑO_3CAT			Total
			2021	2022	2023	
TIPO_TUMOR	PULMÓN	Recuento	4	93	169	266
		% dentro de AÑO_3CAT	44,4%	45,1%	72,2%	59,2%
	MAMA	Recuento	2	6	15	23
		% dentro de AÑO_3CAT	22,2%	2,9%	6,4%	5,1%
	DIGESTIVO	Recuento	2	49	35	86
		% dentro de AÑO_3CAT	22,2%	23,8%	15,0%	19,2%
	OTROS	Recuento	1	58	15	74
		% dentro de AÑO_3CAT	11,1%	28,2%	6,4%	16,5%
Total	Recuento		9	206	234	449
	% dentro de AÑO_3CAT		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Tabla 1. Porcentaje de los diferentes tipos de cáncer a lo largo de los años.

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	57,852 ^a	6	,000
Razón de verosimilitud	57,452	6	,000
Asociación lineal por lineal	41,217	1	,000
N de casos válidos	449		

Tabla 2. Prueba de Chi-Cuadrado realizada con los datos de la tabla 1.

En referencia a las técnicas de diagnóstico molecular empleadas, se realizaron en total 420 NGS y 133 PCR a lo largo de los 5 años (2020-2024). Podemos observar en la tabla 2 que la NGS es la técnica más utilizada en los distintos años. Si comparamos el año 2022 con el 2023 podemos contemplar que la PCR se incrementa en un 25,52% con respecto al año 2022 y que la NGS sufre una disminución de 15,77%. Hemos realizado una proyección con los datos del año 2024 y podemos ver como dicha tendencia se perpetúa.

	2021		2022		2023		2024*	
NÚMERO DE TÉCNICAS	PCR	NGS	PCR	NGS	PCR	NGS	PCR	NGS
		2	7	24	198	87	188	114
PORCENTAJE	22,22%	77,77%	11,65%	96,11%	37,17%	80,34%	51,35%	67,56%

Tabla 2. Porcentaje de técnicas de diagnóstico molecular realizadas a lo largo de los años. *Proyección estimada

A continuación, en el gráfico 4, podemos observar lo explicado anteriormente de manera más visual. Observamos la distribución de las técnicas por los distintos años. La técnica más utilizada es la NGS, pero podemos contemplar un incremento de la PCR y una disminución de la NGS en 2022 y 2023.

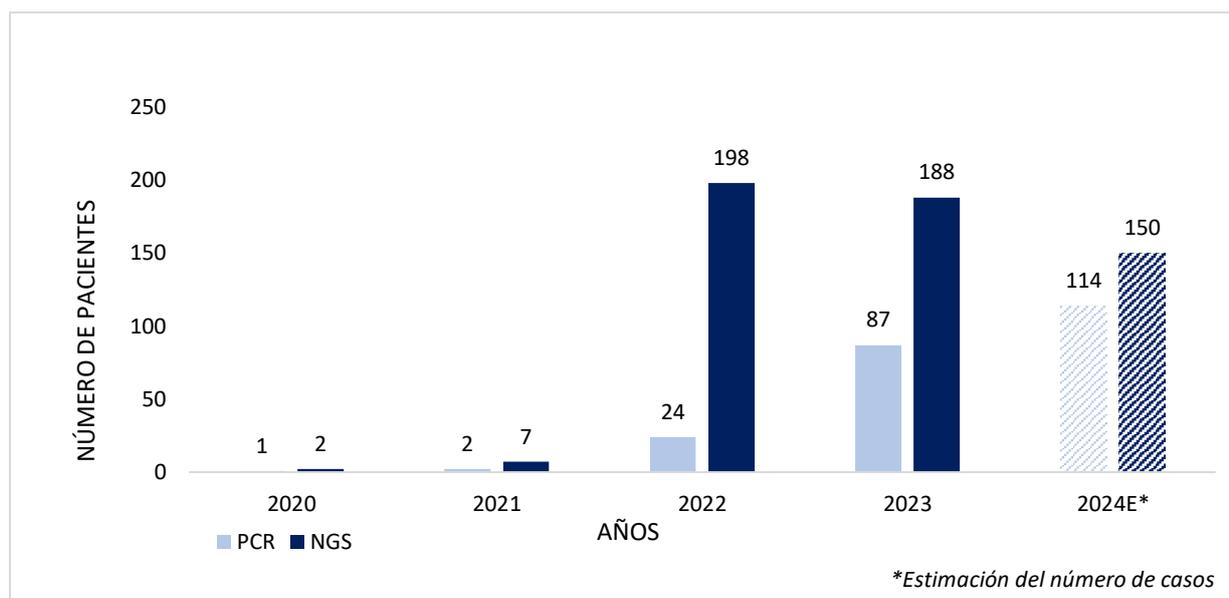


Gráfico 4. Distribución de las técnicas utilizadas en el diagnóstico molecular a lo largo de los años.

A continuación, hemos analizado el tipo de kit de NGS utilizado, presenciando un mayor uso del kit *Oncomine Comprehensive*, con un total de 253 (57%) con respecto a las 191 (43%) de *Oncomine Childhood* (gráfico 5).

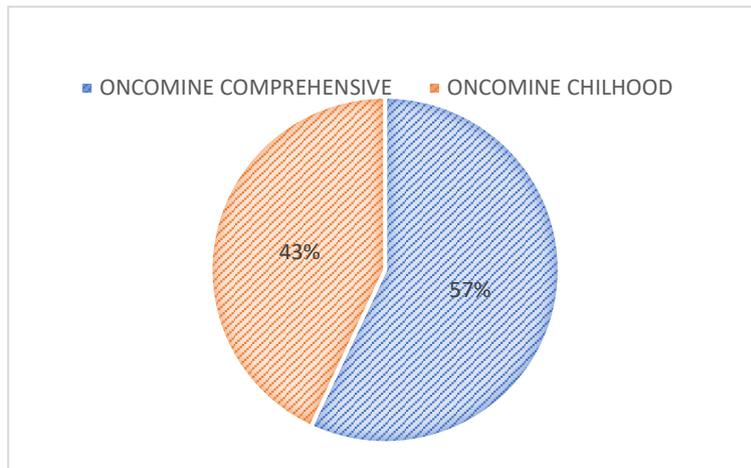


Gráfico 5. Tipo de kit de NGS utilizado.

Además, en el gráfico 6, podemos reparar en la distribución de ambos kits empleados a lo largo de los años, siendo en el año 2020, 2022 y 2023 predominante el kit *Oncomine Comprehensive*, mientras que en el año 2021 y 2024 predominó el kit *Oncomine Childhood*.

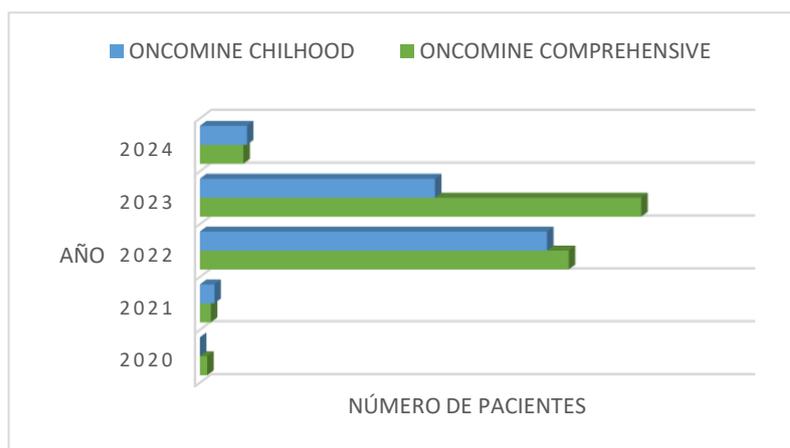


Gráfico 6. Tipo de kit de NGS utilizado a lo largo de los años.

Otro de los aspectos analizados, estrechamente relacionado con el cáncer de pulmón, ha sido la presencia de una proteína llamada PDL-1 en las células cancerosas, concluyendo que:

- Estaba presente en el 41% de los cánceres, cuyos pacientes pudieron beneficiarse de tratamientos con inmunoterapia.
- Resultó ausente en el resto de los casos (59%).

Por último, hacemos mención a la aplicabilidad clínica, a saber, si gracias a las técnicas utilizadas ha sido posible la aplicación de un tratamiento dirigido a dicho cáncer:

De manera global, el 88% de la muestra no ha tenido aplicabilidad clínica, mientras que el 13% sí ha gozado de aplicabilidad clínica, por tanto, un tratamiento dirigido a una mutación específica (gráfico 7).

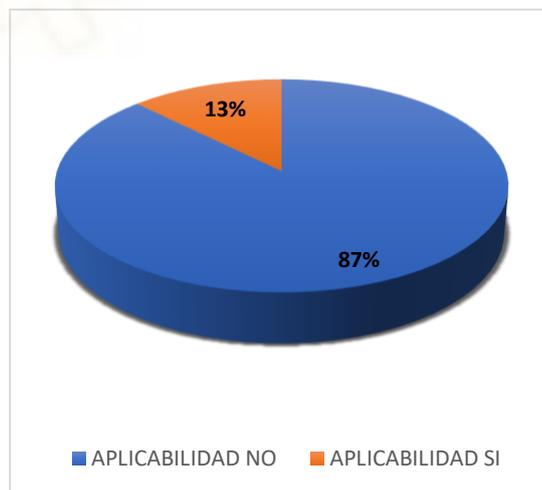


Gráfico 7. Distribución de la aplicabilidad clínica.

Si visualizamos la tabla 3, tomando en consideración que el año 2024 fue excluido porque solo se pudo analizar los meses de enero y febrero. Contemplamos cómo el porcentaje de aplicabilidad clínica ha experimentado un incremento del 2,34% de 2021 a 2023 y de 3,55% de 2022 a 2023. La aplicabilidad clínica del año 2021 al 2022 disminuye en un 1,21%.

	2021			2022			2023		
Nº TÉCNICAS	PCR	2	9	PCR	24	222	PCR	87	275
	NGS	7		NGS	198		NGS	188	
TOTAL PACIENTES	9			206			234		
APLICABILIDAD	1			22			37		
PORCENTAJE	11,11%			9,90%			13,45%		

Tabla 3. Porcentaje de aplicabilidad clínica por años

En relación con la distribución de la aplicabilidad clínica según el tipo de cáncer (gráfico 8), examinamos que el cáncer de pulmón es la patología que ha recibido un mayor número de tratamientos dirigidos (53), seguido del cáncer de mama (4), cáncer hepático (1), cáncer colorrectal (1), melanoma (1) y por último, cáncer de urotelio, (1).

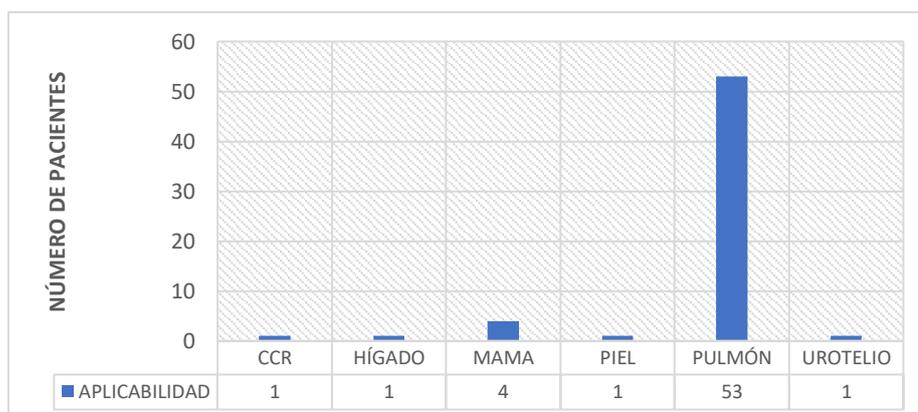


Gráfico 8. Aplicabilidad clínica según el tipo de cáncer.

A continuación en el gráfico 9, observamos qué porcentaje de las mutaciones halladas han tenido aplicabilidad clínica, destacando sobre todo la mutación en el oncogén EGFR, presente en el 52% de la muestra con aplicabilidad clínica, seguida de la mutación en KRAS(G12C) con un 11%, continuando con la mutación de ALK con un 10% , PIK3CA con un 7% , ROS1 con un 5% y el resto de mutaciones: BRAF, NTRK, RET, ERBB2, P53 con un porcentaje inferior al 3%.

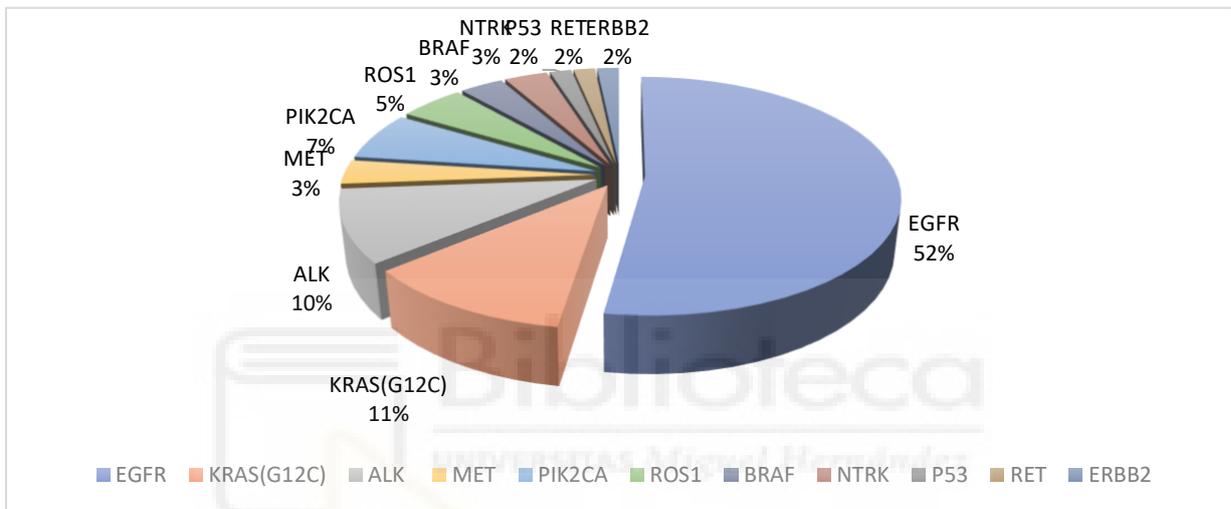


Gráfico 9. Principales mutaciones con aplicabilidad clínica.

Discusión

Una de las más notables revoluciones en el tratamiento del cáncer, ha sido la posibilidad de tomar decisiones terapéuticas de manera individual de acuerdo con las alteraciones genómicas y moleculares del tumor de cada paciente. Permite, por tanto, que estos pacientes se beneficien de la recepción de tratamientos personalizados, que disponen de una mayor especificidad y, por consiguiente, una eficacia mayor y una menor toxicidad respecto a los tratamientos convencionales en población no seleccionada, como la quimioterapia. Esto es lo que se conoce como medicina de precisión.¹⁴

El análisis de las indicaciones y de la realización de estudios genómicos en la práctica clínica del Hospital General de Alicante entre los años 2021-2024 permite observar cómo dichas técnicas han experimentado un crecimiento gradual, con una diversificación en diferentes neoplasias malignas, pero con un predominio actual de su realización en pacientes con cáncer de pulmón no microcítico.

Se ha revisado el análisis de más de 491 tumores, siendo los más frecuentes el de pulmón (59,2%), digestivo (19,2%) y mama (5,1%).

En su conjunto los análisis genómicos a lo largo del periodo temporal estudiado han obtenido el diagnóstico de dianas terapéuticas específicas en un 13% de los casos. Posibilitando un tratamiento específico en dichos pacientes.¹⁵ Este porcentaje de aplicabilidad clínica está muy condicionado por la selección de pacientes y por la tecnología disponible.¹⁶

La técnica de diagnóstico molecular más utilizada fue la NGS, pero podemos apreciar un incremento de la PCR en 2022 y 2023. Se debe a que en los dos primeros años la técnica

de PCR empleada fue exclusivamente para la mutación EGFR (*Cobas V2©*) y posteriormente se han utilizado las tecnologías *Biocartis Idylla Mutation Assay©*(RAS, BRAF, EGFR) y la *Idylla GeneFusion Assay©* (*ALK, ROS, RET, NTRK*), que utilizan kits donde se incluyen un mayor número de alteraciones genómicas potencialmente tratables, aunque la secuencia cubierta en cada uno de los genes es más reducida.

También, se han documentado alteraciones genómicas actualmente no subsidiarias de tratamientos dirigidos pero que pueden ser consideradas para ensayos clínicos en el desarrollo de nuevos fármacos específicos y que generan información sobre la presencia de co-mutaciones que pueden modular la eficacia de los fármacos actualmente en uso y también el pronóstico. En este último caso, la medicina de precisión y en concreto el uso de estas técnicas, permite que los pacientes puedan aprovecharse de la inclusión en ensayos clínicos que valoran nuevas terapias dirigidas a diferentes alteraciones, al tiempo que esta información puede ser analizada en el futuro en el contexto de datos de la vida real “*real world data*”.¹⁷

Como hemos podido observar a través de la comparativa de la aplicabilidad clínica del año 2021 (11,11%) con el año 2022 (9,90%), frente al año 2023 (13,45%) se produce un incremento. Este incremento podría deberse al acceso de nuevos fármacos financiados, en paralelo a la mayor implementación en el uso de las técnicas moleculares (NGS y PCR), coincidiendo por tanto con lo explicado anteriormente.

Consecuentemente, somos testigos de un gran cambio, materializado en paulatina evolución de las técnicas que ha ido de la mano del desarrollo de la medicina de precisión, resultando en técnicas novedosas como la NGS.¹⁸

Por consiguiente, hemos asistido a un cambio en los resultados puesto que además ha cambiado el perfil de paciente al que se aplicaba dichas técnicas, abriendo nuevas perspectivas futuras y ampliándose a otras localizaciones. Un ejemplo de esto, son los pacientes con cáncer de pulmón metastásico, a los que antes se les indicaba un tratamiento oncológico convencional. Hoy en día estos pacientes pueden ser candidatos de la terapia dirigida que consigue un incremento de supervivencia de estos pacientes en enfermedad avanzada¹⁹⁻²⁰ y también en los tratamientos postoperatorios de los estadios iniciales.²¹⁻²²

En 2023 el Ministerio de Sanidad ha establecido un catálogo de biomarcadores²³ para pacientes oncológicos en el Sistema Nacional de Salud. El desarrollo de este catálogo se esta llevando a cabo por las consellerías de sanidad de las diferentes comunidades autónomas.²⁴

En la actualidad y como resultado de la falta de planificación previa en el Sistema Nacional de Salud (SNS) en España pueden observarse limitaciones para el diagnóstico que condicionan el acceso a los tratamientos dirigidos y pueden comprometer la equidad.²⁵

No obstante, la medicina de precisión continúa siendo un desafío actual. Necesita el desarrollo de planes de acción estratégica a nivel europeo que propicien la implantación para así eludir la falta de equidad en lo que respecta al diagnóstico y acceso al tratamiento que se evidencia en los países europeos.²⁶

Por añadidura, la implementación de dicho plan de acción precisa ir de la mano de nuevos trabajos de investigación, estándares de calidad y el empleo de expedientes de salud electrónicos que incorporen la información de los pacientes para así crear una base de datos y poder compartir dicha información con otros investigadores. Todo ello siempre bajo una legislación que garantice el manejo de los datos y la privacidad de la información.²⁷

La experiencia obtenida en el Hospital General de Alicante pone de manifiesto la importancia de la implementación gradual de las técnicas descritas, así como la importancia de que la indicación de dichas técnicas se lleve a cabo de forma multidisciplinar mediante los protocolos asistenciales consensuados y que la gestión y revisión de los resultados se establezca a través de un Comité Biomolecular que asuma el control de calidad y los tiempos de respuesta necesarios.

Estas herramientas de diagnóstico molecular cada vez van a experimentar una implementación gradual hasta finalmente integrarse en la práctica clínica habitual de un hospital, ayudando a enriquecer el conocimiento de la naturaleza de los distintos tipos de cáncer. La información genómica resultante, incluyendo la respuesta a los distintos tratamientos dirigidos puede ser recogida²⁸ y compartida con otros investigadores, propiciando un conocimiento oncológico universal que ayude al avance científico.²⁹

Conclusiones

Se ha realizado un análisis de 491 muestras, donde los tumores más frecuentes han sido el de pulmón (59,2%), digestivo (19,2%) y mama (5,1%). Observándose un incremento del cáncer de pulmón a lo largo de los años (27,8%) y una disminución del cáncer digestivo (10,6%) y de mama (15,8%).

La técnica de diagnóstico molecular más utilizada en nuestro estudio ha sido la NGS. Se realizaron un total de 420 NGS (76%) y 133 PCR (24%) durante los años 2020-2024. Además, el tipo de kit de NGS más utilizado fue el *Oncomine Comprehensive* (57%).

De manera global, el 13% de las muestras analizadas ha tenido aplicabilidad clínica, por tanto, un tratamiento dirigido a una diana molecular específica. El porcentaje de aplicabilidad ha experimentado un incremento progresivo tanto de 2021 a 2023 (2,34%) como de 2022 a 2023 (3,55%).

El resumen, podemos confirmar que el impulso de las técnicas de diagnóstico molecular a nivel nacional va a resultar en el desarrollo del conocimiento necesario que facilitará una atención más especializada en el paciente con cáncer. Un desafío, por tanto, imprescindible si aspiramos a figurar en la vanguardia de la investigación científica.

Referencias bibliográficas

1. J. Farfán BQM. Biología molecular aplicada al diagnóstico clínico. Rev médica Clín Las Condes. 2015;26(6):788-93.
2. Collins FS. Implications of the human genome project for medical science. JAMA. 2001;285(5):540.
3. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proc Natl Acad Sci U S A. 1977;74(12):5463-7.
4. Cervantes García D, González Ruiz CR, Mayek Pérez N. Proyecto Genoma Humano: situación actual y perspectivas. Investigación y Ciencia. 2005;13(33):56-63.
5. Rubio S, Pacheco-Orozco RA, Gómez AM, Perdomo S, García-Robles R. Secuenciación de nueva generación (NGS) de ADN: presente y futuro en la práctica clínica. Univ Médica. 2020;61(2).
6. Md. SSG, Diego-Álvarez D, Buades C, Romera-López A, Pérez-Cabornero L, Valero-Hervás D, et al. Diagnóstico molecular de enfermedades genéticas: del diagnóstico genético al diagnóstico genómico con la secuenciación masiva. Rev médica Clín Las Condes. 2015;26(4):458-69.
7. Hurtado C. Medicina de precisión: conceptos, aplicaciones y proyecciones. Rev médica Clín Las Condes. 2022;33(1):7-16.

8. Ashford M. Genomeweb.com. 2019. Thermo Fisher Launches Genexus Sequencing System to Support Local Deployment of NGS.
9. Petiteau C, Robinet-Zimmermann G, Riot A, Dorbeau M, Richard N, Blanc-Fournier C, et al. Contribution of the Idylla™ system to improving the therapeutic care of patients with NSCLC through early screening of EGFR mutations. *Curr Oncol*. 2021;28(6):4432-45.
10. Gilson P, Pouget C, Belmonte R, Fadil S, Demange J, Rouyer M, et al. Validation of the Idylla GeneFusion assay to detect fusions and MET exon-skipping in non-small cell lung cancers. *Sci Rep*. 2023;13(1).
11. Magaki S, Hojat SA, Wei B, So A, Yong WH. An introduction to the performance of immunohistochemistry. En: *Methods in Molecular Biology*. New York, NY: Springer New York; 2019. p. 289-98.
12. Sánchez de Cos Escuín J. Nueva inmunoterapia y cáncer de pulmón. *Arch Bronconeumol*. 2017;53(12):682-7.
13. Chang L, Chang M, Chang HM, Chang F. Expanding role of microsatellite instability in diagnosis and treatment of colorectal cancers. *J Gastrointest Cancer*. 2017;48(4):305-13.

14. Committee on a Framework for Development a New Taxonomy of Disease, Board on Life Sciences, Division on Earth and Life Studies, National Research Council. Toward precision medicine: Building a knowledge network for biomedical research and a new taxonomy of disease. Washington D.C., DC, Estados Unidos de América: National Academies Press; 2011.
15. Kris MG, Johnson BE, Berry LD, Kwiatkowski DJ, Iafrate AJ, Wistuba II, et al. Using multiplexed assays of oncogenic drivers in lung cancers to select targeted drugs. *JAMA*. 2014;311(19):1998.
16. Barlesi F, Mazieres J, Merlio JP, Debieuvre D, Mosser J, Lena H, et al. Routine molecular profiling of patients with advanced non-small-cell lung cancer: results of a 1-year nationwide programme of the French Cooperative Thoracic Intergroup (IFCT). *Lancet*. 2016;387(10026):1415–26.
17. Sistema. Seom.org. 2019. Medicina de Precisión - SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica © 2019.
18. Mosele F, Remon J, Mateo J, Westphalen CB, Barlesi F, Lolkema MP, et al. Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Ann Oncol*. 2020;31(11):1491–505.

19. Rosell R, Carcereny E, Gervais R, Vergnenegre A, Massuti B, Felip E, et al. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2012;13(3):239–46.
20. Solomon BJ, Mok T, Kim DW, Wu YL, Nakagawa K, Mekhail T, et al. First-line crizotinib versus chemotherapy in *ALK*-positive lung cancer. *N Engl J Med.* 2014;371(23):2167–77.
21. Wu YL, Dziadziuszko R, Ahn JS, Barlesi F, Nishio M, Lee DH, et al. Alectinib in resected *ALK* -positive non–small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2024;390(14):1265–76.
22. Herbst RS, Wu YL, John T, Grohe C, Majem M, Wang J, et al. Adjuvant osimertinib for resected EGFR-mutated stage IB-IIIa non–small-cell lung cancer: Updated results from the phase III randomized ADAURA trial. *J Clin Oncol.* 2023;41(10):1830–40.
23. Mestre-Ferrandiz, Jorge & Nuño-Solinís, Roberto & del Llano Nuñez-Cortés, Alicia & del Llano Señarís, Juan. (2023). Los biomarcadores como motor de la Medicina de Precisión en Oncología.

24. Decreto Num. 9201. Consejo de regulación y organización de la realización de análisis genéticos y biomarcadores moleculares con fines asistenciales. 25 de octubre de 2021, Diario Oficial de la Comunidad Valenciana; 2021:1-12 p.
25. Gail M. EDS - EconomiadelaSalud.com. 2021. Mejorar la equidad en el acceso a medicina personalizada en cáncer, un reto para un país de autonomías.
26. Bayle A, Bonastre J, Chaltiel D, Latino N, Rouleau E, Peters S, et al. ESMO study on the availability and accessibility of biomolecular technologies in oncology in Europe. *Ann Oncol.* 2023;34(10):934–45.
27. Peiro S, Señarís J. La perspectiva de la política y la gestión sanitaria ante la medicina de precisión. 2019;21:95–102.
28. Mateo J, Chakravarty D, Dienstmann R, Jezdic S, Gonzalez-Perez A, Lopez-Bigas N, et al. A framework to rank genomic alterations as targets for cancer precision medicine: the ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets (ESCAT). *Ann Oncol.* 2018;29(9):1895–902.
29. Peiró S, del Llano J, Ibern P, Almiñana M, Campillo C, Orera M, et al. El SNS ante la medicina de precisión. Madrid: Fundación Gaspar Casa; 2019. 194 p.

Anexo



Elche, 7/05/2024

El Secretario del Comité de Ética e Integridad en la Investigación (CEII), constata que se ha presentado en la Oficina de Investigación Responsable, la solicitud de evaluación del TFG/TFM:

Tutor/a	Bartomeu Massuti Sureda
Estudiante	Cristina Parreño Benito
Tipo de actividad	1. TFG (Trabajo Fin de Grado)
Grado/Máster	Grado en Medicina
Título del TFG/TFM	Implementación del diagnóstico molecular en pacientes oncológicos en el HGUA
Código provisional	240506061259

Dicha actividad de investigación ha sido admitida a trámite para su evaluación por la Oficina de Investigación Responsable y, si procede, por el Comité de Ética e Integridad en la Investigación de la Universidad Miguel Hernández de Elche.

Atentamente,



Alberto Pastor Campos
Secretario CEII
Jefe de la Oficina de Investigación Responsable
Vicerrectorado Investigación y Transferencia