



Universidad de Zaragoza
Grado en Medicina
Trabajo Fin de Grado

**PAPEL DE LA SECUENCIACIÓN DE NUEVA GENERACIÓN
EN EL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO EN LA ERA DE
LA MEDICINA PERSONALIZADA**

*ROLE OF NEXT GENERATION SEQUENCING IN DIAGNOSIS AND
TREATMENT IN THE ERA OF PERSONALIZED MEDICINE.*

*Departamento de Anatomía e Histología
Humanas.*

Área de Anatomía y Embriología Humana.

Curso Académico
2021 – 2022

Autor

Marta Banzo Navascués

Director

Ramiro Álvarez Alegret

Codirector

Ana Isabel Cisneros Gimeno



**Universidad
Zaragoza**



Facultad de Medicina
Universidad Zaragoza

ÍNDICE

1. RESUMEN:	2
2. ABSTRACT	2
3. INTRODUCCIÓN	3
A. <i>MEDICINA PERSONALIZADA</i>	3
B. <i>NEXT GENERATION SEQUENCING (NGS)</i>	4
<i>EVOLUCIÓN EN LA SECUENCIACIÓN DEL ADN</i>	4
<i>PANELES DE NGS</i>	5
<i>PERSPECTIVA FUTURA DE LA NGS:</i>	7
4. OBJETIVOS	9
5. MATERIAL Y MÉTODOS	9
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	12
A. <i>REQUISITOS ESTRUCTURALES Y LOGÍSTICOS NECESARIOS PARA LA IMPLEMENTACIÓN Y VALIDACION DE NGS:</i>	12
B. <i>INDICACIONES ACTUALES DE USO DE NGS EN EL CARCINOMA ESCAMOSO NO MICROCÍTICO AVANZADO DE PULMÓN (CPCNP)</i>	15
C. <i>ANÁLISIS COSTE-EFECTIVO DE LA INSTAURACIÓN DE PANELES DE NGS</i>	19
D. <i>SITUACIÓN DE LA NGS EN ESPAÑA Y PERSPECTIVA FUTURA.</i>	25
7. CONCLUSIONES	28
8. BIBLIOGRAFIA	29
9. ANEXOS	34

1. RESUMEN:

La Secuenciación de Nueva Generación es una técnica de diagnóstico molecular de reciente implantación en la práctica clínica, que permite detectar varias alteraciones moleculares al mismo tiempo en los tejidos analizados. Su aplicación en la Medicina y sobre todo en el campo de la Oncología ha supuesto una auténtica revolución ya que permite identificar dianas tumorales y con esto dirigir los tratamientos contra estas, sustituyendo a la terapia quimioterápica sistémica convencional y cambiando así el paradigma del tratamiento y el pronóstico de los pacientes, permitiendo entrar en la era de la Medicina Personalizada.

En las últimas investigaciones vemos cómo va adquiriendo cada día mayor relevancia esta corriente, desarrollándose cada vez más fármacos dirigidos a mutaciones concretas, buscando individualizar el tratamiento para cada paciente en función de los hallazgos encontrados en las pruebas diagnósticas.

El uso de NGS, pese a no estar aún extendido en el sistema sanitario debido a la complejidad y coste de la técnica, tiene un potencial enorme en esta nueva perspectiva y es previsible que esta técnica acabe implantándose en la cartera de servicios diagnósticos de la práctica clínica. Es por esto por lo que en este Trabajo de Fin de Grado nos vamos a centrar en estudiar bibliografía sobre este tema, recogiendo las nuevas indicaciones y tratamientos autorizados y buscando analizar la situación actual y futura de la Oncología de precisión en el panorama estatal e internacional.

2. ABSTRACT

Next Generation Sequencing is a molecular diagnostic technique which has recently been implemented in clinical practice and which allows the detection of several molecular alterations at the same time in the tissues analyzed. Its application in medicine, especially in the field of oncology, has been a real revolution as it allows us to identify tumor targets and consequently direct treatments against them, replacing conventional systemic chemotherapy and changing the paradigm of treatment and prognosis of patients, allowing us to enter the era of personalized medicine.

In the latest studies we see how this movement is becoming increasingly relevant, with a growing number of drugs being developed that focus on specific mutations, with the aim of individualizing the treatment for each patient according to the findings of diagnostic tests.

The use of NGS, although it is still not extended in the health system due to the complexity and cost of the technique, has an enormous potential in this new perspective and it is expected that this technique will soon be implemented in the range of diagnostic services of clinical practice. That is why in this Final Degree Project we are going to focus on reviewing the literature about this subject, collecting the new indications and authorized treatments, and seeking to analyze the current and future situation of personalized medicine in the national and international panorama.

SIGLAS: NGS (next generation sequencing), NSCLC (non-small cell lung carcinoma); CPCNP (carcinoma de pulmón de célula no pequeña), ESMO (Sociedad Europea de la Medicina Oncológica), CAP (Colegio de Patólogos Americano), INCa (Instituto Nacional del Cáncer de Francia), CCAA (Comunidades Autónomas), SNS (Sistema Nacional de Salud), MP (Medicina de Precisión), FDA (Agencia Federal de Administración de Alimentos y Medicamentos de los EE.UU.)

KEYWORDS: Personalized Medicine, NGS, cost-effectiveness, lung cancer, targeted therapy, biomarkers.

3. INTRODUCCIÓN

Nos encontramos en un punto en el panorama de la investigación sin precedente, que hace posible hablar de algo que, ya se empezó a gestar en el siglo XIX, y que gracias a los numerosos avances en genómica, bioinformática, farmacología, proteómica, así como en otros muchos campos; ya se está empezando a implantar en los sistemas sanitarios a nivel mundial: la Medicina Personalizada. En este trabajo nos vamos a centrar en esta idea orientada al campo de la oncología; lo que se conoce como *Oncología de precisión*.

La información hoy disponible acerca del genoma humano y de sus posibles mutaciones, gracias, entre otras cosas, a técnicas como la *Secuenciación de nueva generación* (NGS), aplicada al campo de la oncología ha sido fundamental para plantearse un posible cambio de paradigma en el tratamiento oncológico en un futuro no muy lejano; basado en una comprensión más amplia del perfil mutacional de cada paciente y en una terapia personalizada y dirigida a esas mutaciones concretas.

A. MEDICINA PERSONALIZADA

La Medicina Personalizada (1) surge de la idea de que cada individuo tiene unas características únicas, no solo físicamente, sino también a nivel molecular, bioquímico y fisiológico; hipótesis que culmina con la secuenciación completa del genoma humano (donde se confirma la variación genómica) y continúa confirmándose gracias a tecnologías emergentes como la Secuenciación de Nueva Generación (NGS) que nos revelan una gran variabilidad también en los procesos de enfermedad.

Esto hace cuestionarse el grado en que esta variación interindividual debería verse reflejada en la toma de decisiones sobre la forma óptima de tratar, controlar o prevenir una enfermedad para un individuo. Respondiendo a esta cuestión surge esta nueva corriente, que se podría definir como (2) “Abordaje emergente para la prevención y tratamiento de la enfermedad que tiene en cuenta la variabilidad individual, ambiental y los estilos de vida de cada persona”. Se plantea pues un enfoque centrado en el individuo, que combina sus características clínicas, de exposición ambiental y de estilo de vida y su perfil genómico (3). Esta perspectiva dista un poco de la línea que sigue actualmente la Medicina, la *Medicina de la Evidencia* (4), basada en recoger datos de grandes cohortes, y calcular los valores medios y en base a estos tomar las decisiones que afectarán a todos, incluyendo a los individuos localizados en los extremos. Aunque

se asume que la mayor parte de la población estará dentro de estos valores, hay un porcentaje de valores atípicos que no se van a ver recogidos y para estos casos las recomendaciones podrían no proporcionar la respuesta adecuada.

B. NEXT GENERATION SEQUENCING (NGS)

La secuenciación de nueva generación (NGS) (5) es una tecnología que permite la secuenciación masiva del ADN. Su función es determinar el orden exacto de los nucleótidos presentes en una molécula de ADN o ARN determinada y de esta forma poder catalogar todas las mutaciones y aberraciones de la molécula, así como el número de copias y reordenamientos somáticos en un fragmento o en la totalidad del ADN.

Partiendo de la base de que (6) el cáncer es una enfermedad genética multifactorial, donde se acumulan una serie de mutaciones que llevan a una desregulación del ciclo celular y a una proliferación descontrolada del mismo; la aplicación de esta tecnología en el campo de la oncología ha permitido (7) la identificación de nuevas mutaciones cancerígenas raras, la detección de translocaciones, inversiones, inserciones y deleciones, la detección errores en el número de copias, el cribado de portadores de mutaciones familiares y la orientación molecular para un tratamiento adecuado.

La NGS permite secuenciar completamente un gran número de genes de forma simultánea en una sola prueba a un coste relativamente bajo en comparación con otras modalidades de secuenciación.

EVOLUCIÓN EN LA SECUENCIACIÓN DEL ADN

Aunque la base de este movimiento viene de mucho más atrás (Archibald Garrod (1) en el siglo XIX introduce la idea de que las variaciones fenotípicas se basan en que cada individuo tiene características bioquímicas y moleculares únicas), nosotros vamos a usar como punto de partida el 2003, cuando se consigue la secuenciación completa del genoma humano. Esto supone un punto de inflexión y permite que los años posteriores se desarrollen proyectos de secuenciación de cáncer a gran escala (6), como el estadounidense TCGA (*The Cancer Genome Atlas*) y el británico *Cancer Genome Project*, dando lugar a la “Era genómica” en la investigación del cáncer. Para alcanzar este hito en 2003 se necesitaron 15 años y 13 millones de dólares. La secuenciación se basó en una técnica diseñada por Frederick Sanger 1977 denominada; *Secuenciación enzimática o secuenciación por terminación de cadena*.

Este método consiste (8) en usar ADN polimerasa, para amplificar un fragmento de la molécula de ADN o ARN e introducir ddNTPS en sus extremos a modo de “terminadores”. Estos terminadores se señalizaban inicialmente con un marcaje radioactivo, además estas reacciones eran cargadas en geles de acrilamida donde la posición de cada fragmento marcado se podía observar en una autorradiografía y así descifrar la secuencia (*Anexo 1 Figura 1* (9)).

Esta técnica de secuenciación (junto con otra contemporánea desarrollada por Maxam y Gilbert que rápidamente se desechó) son las que se conocen como técnicas de secuenciación clásicas o de Primera Generación.

Posteriormente se optimizó este método (8), sustituyendo el marcaje radioactivo por marcadores fluorescentes diferentes para cada ddNTPs de modo que, además de evitar el uso de materiales radiactivos, era capaz de identificar los cuatro marcajes en una sola reacción. Además, se pasó al uso de geles de poliacrilamida (y posteriormente polímeros mucho más resolutivos) y a la carga de los resultados en electroforesis capilar, lo que permitía una resolución fiable, además de acortar notablemente los tiempos de carrera de la electroforesis. Fue esta mejora lo que permitió que se pudieran desarrollar las primeras máquinas de secuenciación automática (siendo la primera en 1987 desarrollada por la compañía AppliedBiosystems)

Lo que posteriormente se introdujo fue la lectura en paralelo de estas moléculas amplificadas e identificadas por una “etiqueta molecular”; aumentando notablemente la velocidad de secuenciación (producimos millones de lecturas simultáneas y gracias a esto es posible abaratar costes) y consiguiendo una representación masiva de multitud de nucleótidos. Así surgen las técnicas de secuenciación de segunda generación.

El problema que tienen estas técnicas es que no son lo suficientemente sensibles como para detectar una sola molécula de ADN, de modo que cada tecnología busca amplificar hebras simples de una biblioteca de fragmentos y sobre estas, realizar las reacciones de secuenciación. Es de hecho, en base a este proceso de amplificación por lo que surgen los distintos paneles comerciales disponibles. Destacamos los tres tipos de paneles más relevantes (8) “Roche/454FLX”, “Illumina/Solexa Genome Analyzer”, y “Applied Biosystems SOLiDTMSystem”, aunque es verdad hay comercializados más tipos de paneles por otros laboratorios.

PANELES DE NGS

Sea cual sea el panel que se utilice en todos distinguimos tres fases en la secuenciación: (6,10,11)

- Preparación y amplificación de la hebra de ADN: Consiste en extraer el ADN y romperlo en fragmentos pequeños (de 200-300 pares de bases). De modo que se producen millones de fragmentos de ADN, con extremos libres a los que se unirán los terminadores universales (*primers*). Una vez se tiene el fragmento con el terminador, este se une con su complementario en el soporte empleado. Esto permitirá que se inicie la reacción de amplificación de cada uno de los fragmentos, que puede ser por PCR de emulsión o en un soporte sólido, dependiendo del panel empleado, y así, se obtienen grupos idénticos (*clusters o racimos*) de cada uno de los fragmentos de ADN.
- Secuenciación y recopilación de esta información: Esto depende de la técnica que utilice cada panel, que expondremos a continuación.

- Análisis e interpretación de la secuenciación: Lo que se recoge es la información de secuenciación de millones de fragmentos (esta información de cada fragmento se conoce como *lectura*). Es necesario, una vez recogidas, conocer cuál es la ubicación de cada una de ellas para poder reconstruir el genoma original, (esto se conoce como *mapear*). Una vez las lecturas están “ordenadas (mapeadas) se almacena esta información en un archivo informático y se compara con la de un genoma de referencia representativo de la especie humana y reconocido de forma internacional, aquí lo que se hace es buscar diferencias con lo que se considera un “genoma normal”, si se encuentran estas diferencias se consideran mutaciones.

Secuenciación de la información por los distintos paneles:

A) *Sistema 454 GS FLX (Roche®)*; Este sistema utiliza como método de amplificación la **PCR de emulsión**, que consiste en aislar las moléculas individuales de ADN junto con microesferas (burbujas acuosas) recubiertas con cebadores dentro de una fase oleosa. Posteriormente, una reacción de PCR recubre cada microesfera con copias clonales de las moléculas aisladas. (*Anexo 2 Figura 2 (12)*)

Una vez tenemos todas las micelas con los fragmentos amplificados, se meten en una placa de picotitulación (PTP), cada una en un pocillo y es ahí donde se secuencian en masa por medio de la *pirosecuenciación*; esta técnica de secuenciación se diferencia de la descrita anteriormente de Sanger en que, no hay terminación de la cadena, sino que se realiza una amplificación enzimática y en cada paso de la elongación se le acoplan dos reacciones, la primera consiste en formar ATP, que será lo que se use como energía en la segunda reacción, que libera fotones de luz visible. Estos fotones son detectados por un dispositivo acoplado (CCD). El inconveniente de este panel es su velocidad de secuenciación, que es bastante menor a la de los otros dos; ya que necesita hacer una imagen de cada secuenciación que está ocurriendo de forma paralela.

B) *Illumina Genome Analyzer*; Este sistema usa como método para la amplificación de la hebra de ADN la “**Bridge Amplification**”. La empresa ha diseñado un dispositivo automatizado llamado *estación de clúster*, que es un sostén físico con canales y cebadores en su superficie. Es aquí donde se unen los distintos fragmentos de la hebra de ADN y por medio de ADN polimerasas se crean “colonias o clusters” de ADN. (*Anexo 3 Figura 3(11)*). Una vez amplificado el ADN se usan los ddNTPs (que están unidos a nucleótidos fluorescentes) de modo que se frena la reacción de la ADN polimerasa, y se recoge la fluorescencia emitida por el nucleótido que informa de en qué posición está (*Anexo 4 Figura 4 (10)*). Al ser los ddNTPs terminadores reversibles, cuando ya se tiene la información de un fragmento, estos se pueden eliminar para que la ADN polimerasa continúe hasta completar toda la secuencia de ADN. El cuarto y último paso sería el análisis informático de todos estos datos que se han ido recogiendo.

PERSPECTIVA FUTURA DE LA NGS:

Como tecnología emergente que es la NGS hay expectativas puestas en ella y objetivos en mente que se espera alcanzar; a nivel de investigación, tanto en lo referente a la mejora de la propia técnica y al abaratamiento de su coste, como al estudio de nuevas mutaciones y posibles dianas terapéuticas.

También a nivel clínico-asistencial se espera poder aprovechar esta nueva herramienta en la prevención y tratamiento de muchas patologías, entre las que, nosotros como ya hemos mencionado, nos vamos a centrar en las oncológicas.

Objetivos asistenciales: (13)

- Prevención del desarrollo del cáncer mediante la identificación de individuos predisuestos: (14) Como ya hemos visto, el cáncer se trata de una enfermedad genética multifactorial, resultante del acúmulo de muchas mutaciones en una misma célula; parte de estas mutaciones las adquirimos a lo largo de la vida de forma esporádica, sin embargo, hay un porcentaje que heredamos y que nos predispone al desarrollo de ciertos tumores. Por medio de estos paneles se podrían detectar ciertas mutaciones en pacientes antes de desarrollar la enfermedad y de esta forma tomar decisiones acerca de la profilaxis, en los casos que haya una diana terapéutica estudiada y aceptada que pueda modificar la historia natural de la enfermedad. También es interesante mencionar la posible utilización de los paneles NGS en personas de alto riesgo por su historia familiar o por su entorno, para hacer una profilaxis o un diagnóstico precoz.
- Selección del tratamiento individualizado para cada paciente, aumentando así la eficacia y disminuyendo los efectos tóxicos. Esto se conoce como **terapia dirigida**, consiste en estudiar las mutaciones características de cada tumor por medio de las técnicas de secuenciación, y valorar si actualmente existe una terapia frente a estas. Hay ciertos avances en este campo (14) como el trastuzumab contra la mutación HER2 para el cáncer de mama o el cetuximab para cánceres colorrectales con mutación del gen KRAS. Hay más fármacos dirigidos contra mutaciones concretas que se recogen en *Anexo 5 tabla 1* (14). Además, se están creando plataformas informáticas (13), como el Sistema Watson de IBM, que reúnen toda la literatura de las terapias disponibles, de modo que se puede consultar que pacientes se podrían beneficiar de cada una de ellas.

A nivel de la investigación también hay muchos objetivos por alcanzar, solo vamos a nombrar los principales ya que este trabajo lo enfocamos a la aplicación asistencial:

- Desarrollo de NGS de tercera generación (8), con la sensibilidad suficiente para poder secuenciar una única molécula de ADN y de forma completa, no por fragmentos, de modo que se puedan detectar los reordenamientos genómicos y alteraciones de la estructura del cromosoma. Estas lecturas se conocen como “ultralargas”. Este no es un objetivo a largo plazo ya que actualmente existen

plataformas de esta generación disponibles en el mercado como es la Single Molecule Real-time (SMRT), desarrollada por la casa *Pacific Biosciences*. Del mismo modo también *Oxford Nanopore Technologies* está introduciendo una nueva tecnología de secuenciación por medio de nanoporos; que permite secuenciar moléculas completas de ADN de forma individualizada, directa y rápida; está aún en proceso de desarrollo, pero sin duda resulta muy prometedora.

- Detección de mutaciones nuevas (13): estudiar su papel en la carcinogénesis y su relevancia, ver si se pueden usar como diana terapéutica, como marcador diagnóstico precoz o si influyen en la resistencia al tratamiento.

Ponemos el ejemplo de las fusiones de genes (15), esto son genes híbridos que surgen de la yuxtaposición de dos genes que previamente eran independientes. Se ha visto que están presentes en cáncer de pulmón y se cree que pueden ser, entre otros factores, las responsables del desarrollo de resistencias a los tratamientos y que solo se pueden detectar por medio de estas técnicas de secuenciación. Estos son eventos raros, pero, sin embargo, gracias a que la NGS permite un análisis de varios objetivos de forma simultánea, es posible su estudio al mismo tiempo que el de las mutaciones ya identificadas.

- Desarrollo de la bioinformática (4): Las plataformas bioinformáticas son fundamentales para procesar y almacenar todos los datos que se generan con cada uno de estos paneles. Todo esto es un campo nuevo (16) que requiere de un desarrollo de recursos humanos y de un aprendizaje por parte de los técnicos. Estas grandes plataformas de datos pueden ser muy útiles conforme vayan creciendo y acumulando información, ya que se pueden usar como biblioteca de base para comenzar nuevos estudios.
- Biopsia líquida (16): Esta en lo que consiste es en captar ADN tumoral circulante (ADNtc) (17) y analizarlo. Para este análisis se pueden utilizar los paneles de NGS, ya que necesitan cantidades mínimas de material tumoral para analizar una gran cantidad de genes, de esta forma, podemos llegar a obtener el perfil mutacional de un paciente de una forma mucho menos cruenta, rápida y disminuyendo el número de complicaciones. Esto puede tener muchas aplicaciones en el diagnóstico y seguimiento de los pacientes, además de ser fundamental en los casos en los que no se puede acceder al tumor para obtener biopsia, ya que permite el estudio exhaustivo del tumor; así como la monitorización de la evolución y de la respuesta al tratamiento, pudiendo así detectar las resistencias terapéuticas de forma precoz y las recidivas. En las últimas guías (18) sí que se hace alusión a este procedimiento, pero sin llegar a concretar nada ya que los estudios aún no han sido concluyentes.

4. OBJETIVOS

- Definir el concepto actualizado de Medicina Personalizada, su evolución histórica y su importancia en el panorama actual, así como sus perspectivas futuras.
- Definir “Secuenciación de Nueva Generación” (NGS), conocer cuál es su origen y su evolución, además de los métodos y las estructuras necesarias para llevar a cabo la secuenciación del ADN.
- Estudiar la situación actual de la NGS, así como sus objetivos tanto asistenciales como de investigación a corto-medio plazo.
- Concretar la situación del cáncer en España, centrándonos en el cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC), conocer sus mutaciones más significativas, como diagnosticarlas y la mejoría que supone el utilizar una terapia dirigida contra estas.
- Comparar el uso de paneles de NGS con respecto al *single test* de genes determinados en pacientes diagnosticados de tumores sólidos, concretamente de cáncer de pulmón no microcítico avanzado, y evaluar si es costo-efectivo, si ahorra tiempo en el diagnóstico y si el tratamiento dirigido a las mutaciones estudiadas aumenta la supervivencia o la calidad de vida de los pacientes respecto al tratamiento tradicional.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

Para hacer esta revisión bibliográfica hemos seguido la guía propuesta por PRISMA y actualizada en 2020 (19).

I. DISEÑO:

Este trabajo consiste en una revisión bibliográfica. En esta revisión se han incluido documentos emitidos por parte de organismos del SNS y de sociedades oncológicas, así como revisiones sistemáticas y estudios observacionales y analíticos relacionados con el tema propuesto.

Para hacer esta revisión en primer lugar se comenzó estableciendo los objetivos que se esperaba alcanzar. Se plantearon las dudas a las que se esperaba responder y estas sirvieron de base para establecer unos subtemas principales y elaborar con esto un índice que serviría de guía para orientar las distintas búsquedas.

II. ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA:

En primer lugar, se dividió la búsqueda en tres bloques: La medicina personalizada y su evolución, desarrollo y objetivos; las técnicas de NGS, definición, métodos de secuenciación y tipos de paneles disponibles y por último revisión de los análisis de costo-efectividad de estas técnicas para su implantación en la práctica asistencial oncológica diaria, así como la situación de estas en España.

En segundo lugar, lo que se hizo fue identificar las palabras clave que se iban a incluir en las búsquedas en las distintas bases de datos para identificar los artículos a seleccionar.

PALABRAS CLAVE PARA LA IDENTIFICACIÓN DE ARTÍCULOS

“Secuenciación de nueva generación” / “Next-generation sequencing”
 “NGS”
 “Medicina personalizada” / “Personalized Medicine”
 “Oncología de precisión” / “Precision oncology”
 “CPCNP” / “NSCLC”
 “Cáncer de pulmón no microcítico” / “Non-small-cell lung cancer”
 “Terapia dirigida” / “targeted Therapy”
 “Análisis costo-efectivo” / “Cost-effectiveness analysis”

Partiendo de esto, se comenzó buscando en repositorios de universidades tesis y trabajos relacionados con la temática que sirvieran de guía:

REPOSITORIOS UTILIZADOS	PALABRAS CLAVE DE BÚSQUEDA	TFGS Y TESIS ENCONTRADAS	TFGS Y TESIS UTILIZADAS
UCrea	NGS asistencial	7	1
ZAGUAN	NGS	2	2
Uvcatedrás	Secuenciación masiva (NGS)	41	1

Tabla 1: Resultados búsquedas en repositorios.

Fuente: Elaboración propia.

Posteriormente se realizó la búsqueda principal de la literatura científica en la base de datos Pubmed. Los criterios que se establecieron previos a realizar las ecuaciones de búsqueda fueron: La disponibilidad de free full text, el idioma de los artículos (español o inglés) y que hubieran sido publicados en los últimos cinco años.

Teniendo esto como marco de referencia se efectuaron las siguientes búsquedas:

BÚSQUEDA	TÉRMINOS Y PALABRAS CLAVE	RESULTADOS
#1	NGS	8755
#2	Next generation sequencing	34518
#3	#1 OR #2	36117
#4	Personalized Medicine [MeSH Terms] Additional Filters: Reviews	2493
#5	#3 AND #4	175
#6	#3 AND [precision oncology]	189
#7	NSCLC	20140
#8	Non-Small Cell Lung Cancer [MeSH Terms]	10925
#9	#7 OR #8	20140
#10	#3 AND #9	1022
#11	#9 AND targeted therapy	4403
#12	#3 AND cost-effectiveness analysis	132

Tabla 2: Resultados búsquedas en PubMed.

Fuente: Elaboración propia.

Del mismo modo se completó la búsqueda con documentos localizados en Google Académico, filtrando los artículos publicados desde 2019 y haciendo búsquedas en base al subtema pertinente: [Oncología de precisión], [Métodos de secuenciación de ADN], [Paneles asistenciales NGS], [Medicina de precisión en España], especialmente de aquí se obtuvieron artículos en español.

Para encontrar bibliografía adicional relacionada con la revisión se hizo un análisis de las referencias bibliográficas de los artículos seleccionados. Estos nuevos artículos fueron localizados a través de Pubmed, y de Google Académico buscando por el título y los autores.

III. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN:

A la hora de cribar la primera parte de la búsqueda, como se basaba en definiciones y el proceso evolutivo de la secuenciación genética y de la Medicina de Precisión, solo se incluyeron los artículos que fueran revisiones actualizadas. En la parte de la discusión el principal criterio de exclusión fue que los artículos no se orientaran a la aplicación de estas técnicas diagnósticas al cáncer de pulmón no microcítico.

IV. EXTRACCIÓN DE DATOS:

Un conjunto de los artículos inicialmente recolectados fue aportado por el director del trabajo, estos sirvieron de base para orientar la búsqueda de más información. En la búsqueda inicial se obtuvieron 1329 artículos gracias a los filtros y criterios de búsqueda. Estos se cribaron en base a su título y posteriormente por los resúmenes quedando un total de 70 artículos seleccionados para leer las partes más relevantes en función de lo que trataran. De estos, 40 fueron utilizados en esta revisión.

V. ANÁLISIS DE LOS DATOS:

Introducción: Se buscaron revisiones bibliográficas que incluyeran los términos de NGS, oncología de precisión y medicina de precisión, centrándose en los artículos que definían estos términos y describían su evolución a lo largo de los años y los métodos que se empleaban en el laboratorio para estas técnicas diagnósticas moleculares.

Discusión: Se buscaron los estudios centrados en el análisis económico y de utilidad de los paneles de NGS, así como en los estudios orientados a demostrar la eficacia de la terapia dirigida a las principales mutaciones del NSCLC. Aquí se analizó el material y métodos de cada estudio, así como en los resultados que habían obtenido. Se recogieron los resultados de los principales estudios y se compararon para poder sacar las conclusiones de la revisión.

Del mismo modo para los datos epidemiológicos del cáncer de pulmón no microcítico y para los datos de gestión e incorporación de estas tecnologías en las distintas CCAA en España se buscó en fuentes oficiales del Ministerio de Sanidad, del Consejo Interterritorial y en las competencias oficiales de cada comunidad.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En España, cada año son diagnosticados 29.638 nuevos casos de cáncer de pulmón (20), siendo el tercer tumor más frecuente tanto en varones (con 21.847 casos al año) como en mujeres (con 7.791 casos), según los datos recogidos en 2020. Es la primera causa de muerte por cáncer, estimándose más de 22.000 fallecimientos por año, siendo la edad media de fallecimiento de 68 años entre los hombres y 66,6 entre las mujeres. Dentro de estos datos es importante resaltar (21) que el NSCLC es subtipo más frecuente (85%) subdividiéndose a su vez en adenocarcinomas (40%) y escamosos (25%).

Según los últimos datos publicados (EUROCORE-4) tiene una supervivencia del 10,7% a los 5 años, siendo junto con los tumores de hígado, páncreas y esófago, uno de los tumores de peor pronóstico tanto en España como en el resto del mundo. (*Anexo 6 Figura 5 (21)*)

Como vemos (17), estos datos son bastante alarmantes y surge la imperiosa necesidad de desarrollar nuevas estrategias que permitan un diagnóstico temprano y un abordaje terapéutico más efectivo. El tratamiento actual curativo de este tumor es la cirugía, sin embargo, esta opción solo es viable en un grupo reducido de pacientes debido a lo agresivo del tumor y la aparición tardía de síntomas que hace que se diagnostique en estadios muy avanzados. Es por eso necesario que se introduzcan nuevas líneas de tratamiento dirigidas a estos casos más avanzados, ya que el tratamiento quimioterápico no aporta mejora demasiado la supervivencia en general. Frente a esto, la medicina personalizada se perfila como una nueva estrategia muy prometedora, tanto a nivel diagnóstico como terapéutico, que está a la vanguardia en la toma de decisiones en el tratamiento, basadas en las características genéticas e histológicas de la patología y del paciente y que vemos como la introducción de nuevos tratamientos en los últimos años está haciendo que la tendencia de mortalidad de este cáncer esté disminuyendo (6% para casos diagnosticados entre 1980 y 1985, y 12,4% para los diagnosticados entre 1990 y 1994), y se espera que esta tendencia continúe. (*Anexo 7 Gráfico 1 (21)*)

A. REQUISITOS ESTRUCTURALES Y LOGÍSTICOS NECESARIOS PARA LA IMPLEMENTACIÓN Y VALIDACION DE NGS:

Actualmente los organismos oficiales como la ESMO apoyan el uso de paneles de NGS en determinados tipos de cánceres, sin embargo, antes de valorar si se puede introducir en la cartera de servicios de un sistema sanitario es necesario plantearse qué coste e infraestructuras va a requerir y sobre todo si va a suponer una diferencia de beneficio clínico. Como respuesta encontramos varias revisiones sistemáticas (22) realizadas por parte de laboratorios comerciales que defienden que la adopción de un panel que abarque una pequeña cantidad de los genes más comúnmente mutados en los cánceres más frecuentes ya supone un avance en la oncología de precisión en la práctica clínica. De cara a diseñar estos paneles, proponen un proceso de “selección” de variantes denominado priorización de variantes (6) algo muy útil de cara al uso asistencial de las NGS. Esta selección es posible gracias a grandes bases de datos como son: COSMIC

(Catalogue of Somatic Mutations in Cancer), el UCSC Cancer Genomics Browser o el cBioPortal. Estas plataformas lo que buscan es hacer comprensibles a los médicos todos los datos que recogen proyectos de genoma a gran escala como son por ejemplo el TCGA o el CGP. De modo que cada laboratorio pueda diseñar sus propios paneles en función de las características de su población y de sus objetivos asistenciales. Sin embargo, también a nivel comercial hay distintos paneles de genes disponibles (16) con diferentes magnitudes (*Anexo 8 Tabla 2* (16)).

Se están elaborando los primeros protocolos para implantar esta tecnología a nivel de los distintos laboratorios; recientemente el Colegio de Patólogos Americano (CAP) (23) ha publicado una serie de recomendaciones para ayudar a los laboratorios clínicos a introducir, validar y garantizar la calidad de las pruebas NGS.

Este grupo de investigación creó unas hojas de trabajo (24) con instrucciones paso a paso y ejemplos para la implementación de las diferentes fases de pruebas NGS. De modo que se diseña un sistema de “checklists” con puntos imprescindibles a cumplir por cada laboratorio para instaurar estas tecnologías. Estas hojas las dejan disponibles públicamente para descargar en www.cap.org/member-resources/precision-medicine/next-generation-sequencing-ngs-worksheets.

Vamos a recoger los puntos principales de cada una de las fases:

1. **Diseño:** (23) Lo primero y fundamental es definir el objetivo del panel (orientar la prescripción de tratamientos dirigidos, introducir a los pacientes en ensayos clínicos, estudiar nuevas alteraciones...), las muestras que se van a recoger y también el coste se puede asumir. En base a esto los paneles podrán abarcar más o menos genes; incluir los genes básicos sobre los que se tiene una gran cantidad de información o además también genes sobre los que aún se están acumulando evidencias; estudiar solo las regiones de interés de cada gen o también otras regiones o incluso la secuencia completa. Por ejemplo, un panel orientado al diagnóstico, el pronóstico y selección de tratamiento; será específico del tumor, de menor tamaño e incluirá sólo aquellos genes directamente implicados en la oncobiología del tumor. Todo esto va a determinar la potencia del panel y por ende también su coste e infraestructura. El CAP recomienda que (23) “Los laboratorios consideren minuciosamente la selección de genes específicos y la determinación del número de genes en el panel de NGS durante el desarrollo de la prueba, esta selección se debe basar en la evidencia científica y esta debe documentarse en el protocolo de validación”.

En esta primera fase también hay que elegir el método de secuenciación más apropiado para cada laboratorio. Para esto se recomienda que se considere; el tamaño del panel (número de genes y profundidad de secuenciación); volumen de pruebas que se espera realizar; tiempo de respuesta esperado; disponibilidad de soporte bioinformático y recursos de laboratorio, experiencia técnica y nivel de soporte técnico.

Actualmente hay dos plataformas principales en el mercado; *Illumina* y *Serie Ion Torrent* de ThermoFisher. Las **plataformas de Illumina** ofrecen una gran versatilidad para realizar una amplia gama de ensayos, desde paneles pequeños y específicos hasta paneles muy completos. Sin embargo, requieren una mayor cantidad de muestra y tienen un tiempo de respuesta más largo. También requieren un mayor soporte bioinformático y por tanto conllevan un mayor coste. La **serie Ion Torrent**, por otro lado, tiene un tiempo de secuenciación mucho más corto y una gran calidad para ejecutar paneles de genes pequeños (<50 genes) en muestras más pequeñas. Además, es menos costosa y viene con suficientes canalizaciones bioinformáticas integradas. Estas hoy por hoy son la técnica de elección para el material fijado en formaldehído y procesado en parafina, que es el que se suele manejar en los Servicios de Anatomía Patológica. Por último, en esta fase es importante que el laboratorio identifique las posibles fuentes de error, como detectarlas y en qué grado perjudicarían al paciente si llegaran a cometerse. Es muy importante que esto se incluya en el protocolo de validación para que se pueda determinar qué grado de control de calidad se requiere en cada uno de los pasos (*Anexo 9 Tabla 3 (23)*)

2. Optimización: Aquí lo que se hace es analizar una muestra asociada a un conjunto de datos modelo (que son de dominio público) y comparar si los resultados coinciden. Esto constituye un segundo filtro para descubrir fallos logísticos, una evaluación inicial de prueba del rendimiento del panel. Se recomienda que (23) “siempre que sea posible, todos los tipos de muestras y preparaciones destinadas al uso clínico se analicen durante la fase O&F para evaluar el proceso de secuenciación de manera integral”.

También en esta fase se va a definir la profundidad de la secuenciación, esto es el número de secuenciaciones simultáneas que van a determinar la posición de un mismo nucleótido. Cuanta mayor profundidad, mayor calidad y seguridad en la lectura, pero también es necesario un mayor nivel en las plataformas bioinformáticas, ya que tiene una mayor complejidad y por tanto un mayor coste. La profundidad de cobertura requerida se estima en función del límite inferior de detección asumido, la calidad de las lecturas y la tolerancia para resultados falsos positivos o falsos negativos, y todo esto a su vez dependerá nuevamente de cuál sea el objetivo que se haya marcado para el panel. Lo que sí que recomienda el CAP es que, para detectar variaciones somáticas, la profundidad de la lectura sea superior como mínimo de 250x.

3. Validación: Esta fase consiste en acreditar con datos que los resultados de la prueba son reales. Los requisitos para conseguir esto nos los determina la “Clinical Laboratory Improvement Amendments” y son precisión, reproductibilidad, rango de referencia (datos que se consideran valores normales) y notificable (valores que se van a considerar válidos), límites mínimos de detección, sustancias que interfieren, y utilidad y validación clínica (que es el

cálculo de la sensibilidad y especificidad de la prueba). Todo esto tiene que calcularse y justificarse y quedar recogido en el documento de validación.

4. Control de calidad: En esta fase lo que se busca es evaluar el rendimiento general del laboratorio e identificar errores durante el análisis y la interpretación de la prueba. En España, (18) se recomienda que el laboratorio se ajuste a las normas ISO9001 y UNE-ENISO15189, que están autorizadas y evaluadas por la Entidad Nacional de Acreditación.

Del mismo modo también se van a controlar los resultados, para comprobar que el porcentaje de mutaciones encontradas se corresponde con los resultados expuestos por el laboratorio. Para esto se hay programas en colaboración con SEAP (Lungpath o ALKanza), que comparan los datos de cada laboratorio con los de otros hospitales.

Los indicadores de calidad más habituales son (18):

- Tiempo de respuesta (se recomienda que sea de 7-10 días laborables).
- Resultados de los controles de calidad.
- Análisis de discrepancias y errores.

B. INDICACIONES ACTUALES DE USO DE NGS EN EL CARCINOMA ESCAMOSO NO MICROCÍTICO AVANZADO DE PULMÓN (CPCNP)

Debido a que se trata de una tecnología nueva, que aún está desarrollándose, las sociedades oncológicas no han emitido ningún protocolo acerca de cómo incorporar esto a la práctica clínica oncológica.

Sin embargo, vemos como empiezan a llegar los primeros documentos oficiales sobre este tema; la ESMO (25) (Sociedad Europea de la Medicina Oncológica) presenta una guía clínica con indicaciones específicas para el uso de los paneles de NGS. Esta guía se posiciona en dos recomendaciones; el **uso rutinario de NGS para el diagnóstico de cánceres de pulmón de células no pequeñas avanzados (CPCNP), cánceres de próstata, cánceres ováricos y en los colangiocarcinomas**. Y define la necesidad de que los centros de investigación clínica usen paneles grandes de NGS para acelerar el estudio de las mutaciones tumorales y para el desarrollo de nuevas terapias.

Partiendo de estas indicaciones, nos centramos en el CPCNP, ya que cuenta con un mayor número de estudios con resultados estadísticamente significativos que demuestran que el uso de terapia dirigida contra algunas de sus mutaciones supone un beneficio clínico. Es por esto por lo que hay un gran número de fármacos aprobados por la Agencia Europea del Medicamento y que, por tanto, se pueden utilizar en la práctica clínica.

Nos basamos en la actualización publicada en 2020 por la Sociedad Española de Anatomía Patológica y la Sociedad Española de Oncología (18). Aquí se recogen las indicaciones de estudio de una serie de biomarcadores; estas se basan en la clasificación ESCAT (25), que clasifica las mutaciones en base a su relevancia clínica.

Biomarcadores ESCAT I (fuerte significado clínico ya que asocian terapias aprobadas por la FDA): (*Anexo 10 Tabla 4 (18)*)

- **EGFR (Factor de Crecimiento Epidérmico):** Este biomarcador se ve mutado en el 8-11% de los casos de CNCNP. Presenta deleciones en el exón 19 y mutaciones puntuales en el exón 21, estas le confieren al tumor sensibilidad a los inhibidores de la tirosina cinasa (TKI).

Actualmente hay disponibles fármacos inhibidores de EGFR-TKI (Gefitinib). Estos como primera línea de tratamiento han demostrado un aumento de supervivencia y de calidad de vida al compararlos con el tratamiento estándar de la quimioterapia. Es por esto por lo que se recomienda el estudio de esta mutación en todos los adenocarcinomas, carcinomas con histología no escamosa y también los escamosos, especialmente en casos de CNCNP avanzados de pacientes jóvenes y no relacionados con el tabaco. A la hora de extraer la muestra y de la técnica que se recomienda para analizarla, se cita explícitamente (18) “Es preferible determinar la mutación de EGFR con paneles de NGS dirigida si se dispone de experiencia y se quiere analizar el panel ampliado de biomarcadores”

- **ALK (Kinasa del Linfoma Anaplásico):** Este biomarcador está presente en el 2-5% de los CPCNP avanzados, presentando un reordenamiento.

Los tratamientos con esta diana terapéutica han demostrado un gran beneficio clínico (especialmente el Crizotinib). Es por esto por lo que la ESMO considera crucial identificar a todos los pacientes con este biomarcador y determina (18) “los tipos histológicos susceptibles de determinación del reordenamiento ALK son todos los adenocarcinomas, los carcinomas con histología no escamosa y los tumores escamosos en pacientes menores de 50 años o con consumo de tabaco escaso o ausente (por ejemplo, <15 paquetes/año). Algunos carcinomas neuroendocrinos expresan intensamente ALK, pero no muestran reordenamiento en el análisis por secuenciación.” También se aprecia que las técnicas de NGS son especialmente específicas para estos análisis y han llegado a captar pacientes que habían sido negativos en otras técnicas.

- **ROS 1:** Este oncogen lo vemos traslocado en el 1% de los CPCNP sobre todo en adenocarcinomas y especialmente en jóvenes no fumadores.

Se ha aprobado el uso de crizotinib como primera línea de tratamiento en pacientes que presentan este reordenamiento, del mismo modo también hay más fármacos en investigación como son el ceritinib, brigatinib, lorlatinib y entrectinib aunque no están aprobados aún. Es por esto por lo que se recomienda el estudio de este biomarcador en pacientes con adenocarcinomas avanzados, independientemente de sus características clínicas. No se recomienda tanto su análisis en casos de carcinomas escamosos a no ser que sean pacientes sin exposición al tabaco. De la misma forma que los anteriores

biomarcadores las series publicadas muestran datos de que las técnicas de NGS son altamente sensibles y específicas para la detección de este reordenamiento.

- **BRAF V600:** Esta mutación se encuentra en el 2% de los carcinomas de pulmón, asociados a tabaco o no, de histología mayoritariamente de tipo adenocarcinoma. En los pacientes con esta mutación se ha aprobado el uso de dabrafenib y de trametinib, fármacos inhibidores de BRAF. Se recomienda su estudio pues en todos los tumores CNCNP avanzados de tipo no escamoso.
- **PD-L1:** Este marcador es una proteína de transmembrana que se puede expresar por células tumorales, pero también de forma fisiológica por las células hematopoyéticas. Lo que se analiza es la sobreexpresión de esta proteína ya que se ha asociado con predicción de beneficio clínico al ser tratados por fármacos inhibidores de PD-1/PDL-1 como nivolumab, pembrolizumab, atezolizumab y durvalumab, y CTLA4 (cytotoxicT-lymphocyte antigen-4) como ipilimumab en combinación con nivolumab. Estos fármacos, aun en vías de investigación están demostrando su eficacia en estos pacientes.

Se ha visto de hecho que hay una relación entre el grado de expresividad del marcador y el grado de eficacia de estos tratamientos. El ensayo clínico PACIFIC (25) valoró el uso de estos fármacos en pacientes que habían progresado con una primera línea de tratamiento y que tenían esta sobreexpresión; aquí se vio que con cualquier nivel de expresión de PDL1 era beneficioso utilizar durvalumab. Sin embargo, la Agencia Europea del Medicamento ha determinado que para su uso en necesaria una expresión superior al 1%.

Vemos pues que en la práctica clínica siempre se debe hacer un despistaje de estos pacientes (CNCNP en estadio III que ha progresado a pesar de una primera línea de quimioterapia) para ver cuáles son las opciones más acertadas para proseguir con su tratamiento.

Biomarcadores ESCAT II (Incluye aquí fármacos que aún no han sido aprobados porque se encuentran en fase 2 o 3 de estudio), estos marcadores actualmente no hay evidencia de que aporten valor desde el punto de vista de la salud pública. Sin embargo, es interesante estudiarlos para poder incluir a los pacientes en los distintos ensayos clínicos (*Anexo 11 Tabla 5 (18)*)

- **HER 2:** Se ha visto que este marcador puede estar mutado, generalmente (90%) es una mutación en el dominio cinasa, o sobreexpresado; o pueden coincidir las dos alteraciones. La presencia de ciertas mutaciones (especialmente las localizadas fuera del dominio cinasa) se asocian a un beneficio clínico y parece que está obteniendo resultados el tratarlas con afatinib. Sin embargo, no se ha demostrado que el presentar este biomarcador aislado sea suficiente para tratar con fármacos antiHER2.

Además, esta mutación parece estar asociada al desarrollo de resistencias frente al tratamiento con inhibidores EGFR-TKI. También aparece como mutación de novo en carcinomas pnegativos. Es por eso por lo que se recomienda que se

identifiquen estas mutaciones mediante NGS de modo que se pueda introducir a los pacientes en ensayos clínicos para el uso de terapias dirigidas.

- **MET:** Tanto la presencia de la mutación MET (25-75%) como la amplificación de este biomarcador (3-7%) implican un mal pronóstico. Se ha visto que entre el 10% y el 20% de los pacientes tratados con fármacos EGFR-TKI, adquieren resistencia a estos tratamientos a través de la amplificación del MET. Además, se ha visto que la mutación en el exón 14 de este gen es predictiva para el beneficio con MET-TKI específicos, como crizotinib, tepotinib o capmatinib. Por tanto, se debe estudiar la mutación antes de dar este tipo de tratamientos y se determina que NGS debe ser la técnica de elección
- **RET:** Se están desarrollando moléculas (BLU-667 y LOX 292) que parece que muestran ciertos resultados alentadores en pacientes CNCNP con fusiones RET, así como en presencia de otros tumores que contienen mutaciones o reordenamientos de RET.
- **NTRK:** Por ahora se ha visto que el reordenamiento de este gen está presente en un porcentaje muy reducido de los pacientes con carcinomas de pulmón (sobre todo adenocarcinomas)
- **TMB:** Este es un tipo de biomarcador distinto a los anteriores, ya que nos habla de la cantidad de mutaciones somáticas presentes en la muestra tumoral. Si es cierto que su determinación es compleja y que aún no se ha aprobado su uso en la práctica clínica, pero sí que se ha visto que, los pacientes que mejor responden al tratamiento con inmunoterapia son los que tienen este biomarcador más elevado; es por esto por lo que se plantea que, si finalmente se aceptan tratamientos dependientes del TMB; gracias a la tecnología de la NGS, podrían ser muy útiles en el futuro estos valores. La ESMO (25) se pronuncia en este punto, apoyándose en los resultados del ensayo KN158 y determina analizar este biomarcador en los cánceres de glándulas salivales, de tiroides, de vulva, de cérvix y en los tumores neuroendocrinos bien y moderadamente diferenciados; ya que permite predecir su respuesta al tratamiento con pembrolizumab.

La conclusión que podemos sacar en general de esto es que, como ya venimos comentando, cada vez están surgiendo nuevas terapias basadas en las alteraciones genéticas de los tumores que permiten que, situaciones que antes no tenían opción a ningún tipo de tratamiento, ahora sí la tengan. (*Anexo 12 Tabla 6 (21)*)

Surge sin embargo la necesidad de que diagnóstico se haga cada vez más preciso, abarcando cada vez un mayor número de biomarcadores moleculares, no solo por la disposición de un creciente número de fármacos dirigidos, sino también por las nuevas líneas de investigación y de ensayos con nuevos fármacos.

Es por esto por lo que llegamos a un punto en el que el análisis de cada biomarcador por medio de single-test no solo incrementa mucho el coste, sino que se queda corto,

además de que requiere más tiempo y mayor cantidad de muestra tumoral. En este contexto surge la dicotomía de si se debiera instaurar de forma sistemática el uso de paneles de NGS en la práctica diaria; ya que, permiten, con una sola muestra y en un mismo tiempo, la detección de un gran número de mutaciones en una gran cantidad de genes. Pero no solo eso, sino que además de determinar las mutaciones permite detectar también reordenamientos, alteraciones en el número de copias de los genes y grandes variantes estructurales. Lo que habría que valorar ahora es si en el momento actual, con el número de mutaciones detectables que tienen fármacos dirigidos aprobados; los beneficios de estos superan a los costes; teniendo en cuenta también que no solo se utilizan para tratamientos dirigidos, sino para ampliar líneas de investigación.

C. ANÁLISIS COSTE-EFECTIVO DE LA INSTAURACIÓN DE PANELES DE NGS.

En primer lugar, consideramos que es relevante, además de hablar de si resulta asequible para el sistema la incorporación de esta tecnología, conocer que opinión tienen de esta los facultativos, que son al fin y al cabo los que la aplicarán en sus consultas. Encontramos así un estudio realizado por la *Sociedad Americana de Oncología Clínica* en 2018 (26). Este consistió en enviar por correo una encuesta sobre el uso de los paneles NGS a una muestra representativa de los oncólogos de EE. UU., esta tuvo un porcentaje de participación del 38%. Los resultados que se obtuvieron fueron bastante positivos, con el 75,6% de los oncólogos haciendo uso de estos paneles (el 34% para guiar el tratamiento de pacientes con cánceres refractarios avanzados, el 29% para seleccionar a pacientes candidatos de ensayos clínicos y el 17% para decidir el uso de medicamentos no autorizados aprobados) (*Anexo 13 Gráfico 2* (26)).

Los datos reflejaron que estos paneles sobre todo se utilizaban en las situaciones en las que el tratamiento no estaba establecido, es decir, tumores refractarios a varias líneas de tratamiento convencional, que habían desarrollado resistencias o en cánceres menos comunes; con la esperanza de identificar tratamientos potencialmente eficaces en situaciones que, sin esto, no tendrían más opción.

Este estudio refleja también algunos de los desafíos a los que se enfrenta la práctica asistencial; en primer lugar, la falta de evidencia sobre ciertos tratamientos dirigidos.

Con respecto a esto, en el momento de la encuesta, había varios ensayos en marcha NCI-MATCH (27), TAPUR Study (28) y CureOne (llamado MED-C), donde se buscaba generar evidencia que apoyara su utilidad clínica, además de investigar cuál era la forma más eficiente de usarlos. Cinco años después estos estudios siguen en marcha. El TAPUR sigue reclutando cohortes, pero sí que parece que ha llegado a algunos resultados; como es que en pacientes con CPCNP y alteraciones de CDKN2A (29) el tratamiento con palbociclib tenía una moderada respuesta antitumoral si habían sido previamente tratados con más líneas de tratamiento, sin embargo, se recalca que hace falta más investigación para declarar la eficacia de este fármaco frente a esta mutación. De todos

modos, este estudio se encuentra publicado y se va actualizando constantemente; está disponible en <https://www.asco.org/research-data/tapur-study/study-results>.

Del mismo modo, otra preocupación por parte de los médicos que se vio reflejada en la encuesta fue la falta de guías y pautas con indicaciones concretas de cuándo utilizar estos métodos diagnósticos. Esto es complejo y requiere de una respuesta ya que, a medida que aumenta la cantidad de genes que se descubren implicados en un subtipo de tumor, es más difícil la decisión de solicitar varias pruebas específicas o un solo panel NGS. Actualmente vemos como se está respondiendo a esta cuestión y ya han empezado a salir las primeras guías clínicas con indicaciones para estas pruebas.

Otro obstáculo que superar es la falta de educación en este ámbito por parte de los médicos, más del 50% de los encuestados reconocieron que los resultados de las pruebas NGS eran difíciles de interpretar. Frente a esto, como ya venimos mencionando, se están desarrollando plataformas accesibles a los oncólogos como son *Personalized Cancer Therapy*, *My Cancer Genome*, u *OncoKB*.

Es evidente que la genómica va a ser fundamental en la oncología de un futuro próximo; y parece que tenemos las herramientas necesarias para empezar a implantarla en los Sistemas Sanitarios, sin embargo, nos encontramos en un punto ambivalente en el camino del progreso, ya que todavía se necesita acumular mucha evidencia que pueda respaldar una implantación sistemática de tecnologías y tratamientos que suponen tanto coste, infraestructura y personal.

Es por esto por lo que, los grupos de investigación mundiales están haciendo constantes estudios y análisis de costo-efectividad que les aporten la evidencia que necesitan para financiar la incorporación estas nuevas tecnologías en la práctica diaria.

De esta forma vemos que van apareciendo resultados que demuestran su eficiencia, especialmente en el CPCNP.

Un estudio (30) realizado en 2017 en UK donde usaron paneles de 46 genes para identificar el patrón molecular de 351 pacientes que padecían NSCLC, melanoma o cáncer colorrectal. Se elaboró un informe clínico con todas las mutaciones que habían sido detectadas y las implicaciones diagnósticas, pronósticas y terapéuticas o de investigación que estas suponían. Del mismo modo también se hizo un análisis del coste para determinar la asequibilidad del panel en comparación con el diagnóstico previo por medio de *single-test*. Los resultados que obtuvieron apoyaron realmente el uso de estos paneles; ya que identificaron mutaciones procesables en el 34'8% de los pacientes de la cohorte (122/351), lo que permitió que el 15'3% de los que recibían tratamiento sistémico tuvieran acceso a terapias dirigidas aprobadas para mutaciones que no se estudiaban por medio de los *single-test*, de modo que **se demuestra que sí que supone una diferencia para la práctica clínica**. Del mismo modo también los resultados indican que el uso de un panel de mutaciones para el diagnóstico y posterior tratamiento dirigido de un tumor tiene una buena relación calidad-precio, ya que la alternativa es el

estudio individual de cada mutación y dado que se suelen analizar varios genes, una prueba única requiere menos recursos y menos tiempo.

En el momento del estudio (2017) solo se reconocía la validez clínica de 9/46 genes presentes en el panel, pero como ya hemos visto, esto se ha ampliado y se espera que esta tendencia continúe y se potencien todavía más los resultados de este estudio.

Destacan también dos estudios que se realizan en EE. UU. en el 2018, un estudio observacional transversal retrospectivo (31), donde se buscaba estimar el porcentaje anual de pacientes en los Estados Unidos con cáncer avanzado o metastásico que podrían ser elegibles y beneficiarse de tratamiento dirigido aprobado por la FDA (un total de 31 fármacos) desde 2006 hasta 2018; así se vio un incremento en el porcentaje de pacientes seleccionados para su uso, siendo en 2006 el 0,70% (IC del 95%, 0,68%-0,72%), y en 2018, había aumentado al 4,90% (IC del 95%, 4,85%-4,95%).

La mediana de la tasa de respuesta global para todos los fármacos dirigidos hasta enero de 2018 fue del 54%, y la mediana de la duración de la respuesta fue de 29,5 meses.

(Anexo 14 Gráfico 3 (31))

El otro estudio (32) estaba orientado a los pacientes diagnosticados con NSCLC avanzado que presentaban la mutación BRAF V600E, ya que recientemente se había aprobado el uso de la combinación de abrafenib y trametinib en estos casos y la Red Nacional Integral del Cáncer de EE. UU había publicado una guía con recomendaciones de cuándo analizar esta mutación. Basándose en eso lo que se hizo fue comprar qué era más económico; el estudio secuencial de mutaciones individuales que se venía utilizando en ese momento, frente al uso de un panel de NSG. Para el análisis mutacional se partía del estudio de las mutaciones más comunes (EGFR y ALK) y en caso de que estas resultaran negativas, se analizaban otras menos comunes (como la BRAF V600E). El problema que tiene este método es que requiere mucho tiempo y múltiples biopsias o una cantidad relativamente grande de tejido biopsiado, que no siempre es posible en el NSCLC avanzado.

De modo que se analizaron los costes que suponían las dos estrategias diagnósticas y se concluyó que “para los pacientes que albergan la mutación del gen BRAF, **la NGS se asocia con ahorros de costos, dado que, cuando las pruebas se realizan en secuencia, BRAF generalmente se prueba después de otras mutaciones genéticas más comunes**”.

Se concluye también que dado al aumento en la aprobación de nuevas terapias dirigidas y a la reducción del coste de las pruebas NGS es probable que se use más ampliamente en la práctica clínica, considerando su capacidad para detectar simultáneamente múltiples mutaciones sin la necesidad de una nueva biopsia.

También merece la pena resaltar un estudio muy reciente (2021) (33) que se realiza en Alemania y consiste en una revisión bibliográfica de análisis del coste-efectividad actual de la oncología de precisión. Es interesante este artículo ya que al ser tan actual refleja lo que venimos comentando de que los precios de los paneles de NGS han disminuido (en esta revisión se toma como referencia el precio presente en uno de los últimos análisis *Van Nimwegen et al* que es, por muestra, de 1669 € para el genoma completo,

792 € para el exoma completo y 333 € para paneles de genes específicos), pero que sin embargo los de las terapias dirigidas no y por tanto sigue siendo un importante factor en el análisis del coste. Pero es importante valorar también en el coste que la NGS no solo permite predecir la respuesta al tratamiento, sino también la resistencia, evitando así la aplicación posterior de terapias innecesarias (y costosas). Se valora también en los costes las hospitalizaciones (necesarias tanto para la quimioterapia parenteral como para los efectos secundarios tóxicos de esta) y es por esto por lo que en los pacientes que **recibieron quimioterapia el precio fue ligeramente inferior (29.183€) con respecto a los que recibieron la terapia dirigida, que no ocasiona tantas reacciones tóxicas y se da de forma ambulatoria (31.269€)**

Teniendo todo esto presente lo que concluyen principalmente es que para asegurar la rentabilidad de esta tecnología es fundamental identificar adecuadamente los entornos clínicos en los que verdaderamente supone un beneficio para el paciente. Estas indicaciones ya las ha recogido la ESMO. El objetivo sería ir ampliando estas indicaciones y su aplicación clínica conforme se vaya recaudando más evidencia.

Por otro lado, sin embargo, vemos que no todos los estudios obtienen conclusiones en la misma dirección. En el 2020 se hace en Brasil (34) un análisis costo-efectivo para evaluar la rentabilidad de hacer un único examen usando NGS frente al estudio rutinario single-test (RT-PCR y FISH), para el diagnóstico de las mutaciones ALK, EGFR y ROS1 en pacientes con NSCLC avanzado. Se tuvieron en cuenta como costes, el precio de los tratamientos según la lista de precios divulgada en 2017 por la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria CMED/ANVISA, además también se calcularon los costos adicionales de pre-quimioterapia y los costos de las habitaciones si los tratamientos eran por vía parenteral, así como si había que ingresar a los pacientes por respuestas tóxicas a los tratamientos.

Los resultados que se obtuvieron fueron que la **estrategia 3 (analizar los genes ALK, EGFR y ROS1 de forma simultánea en un panel de NGS) no fue más rentable que las otras dos, aunque sí que tuvo una mayor tasa de diagnósticos correctos con un 96,3% en comparación con el 72,6% de la estrategia 2 y el 68% de la estrategia 1.** También es la estrategia que menos resultados no concluyentes obtuvo.

Se hizo una microsimulación de lo que sería la aplicación de los tratamientos propuestos, y en base a esto se calculó con los datos disponibles de estos, la tasa media de respuesta y de supervivencia (*Anexo 15 Tabla 7* (34)). **Con esto se calculó que la NGS obtendría un beneficio adicional de un 24% con un costo adicional de 800,76\$. En años de vida ganados y ajustados por calidad (QALYs) suponía una ganancia de 0,015 en años de vida y 0,009 en AVAC, que suponía un coste de 214.000 \$ por QALY ganado.**

Es importante recalcar que una parte del incremento del costo de la tercera estrategia se debe a que el hecho de que sea más específica hace que detecte un mayor número de mutaciones y por tanto un mayor porcentaje de pacientes sean incluidos en el grupo de tratamiento dirigido. Otro punto importante es el sesgo resultante de que los

pacientes vivan más tiempo con la terapia y añadan costes, ya que el fármaco diana se utiliza diariamente hasta progresión.

También este aumento del coste en la estrategia 3 se debe a los precios de los paneles en el mercado brasileño en 2020, que era de 1502,51\$. Esto es importante recalcar que en otros países ya ha disminuido considerablemente y se prevé que siga disminuyendo a medida que se generalice esta tecnología, esto podría hacer que los resultados de este estudio sobre esta estrategia cambiaran. Lo mismo pasa con los tratamientos dirigidos. Hay también otro punto a favor de esta técnica diagnóstica que no se refleja en los resultados y es que **pudo identificar un 12% más de individuos con otras alteraciones genéticas que ya tienen terapias diana disponibles en la práctica clínica, lo que hace que un mayor número de pacientes se puedan beneficiar de esta estrategia.**

La conclusión a la que se llega es que efectivamente los paneles de NGS aportan una gran cantidad de información, pero que teniendo en cuenta la limitación actual de tratamientos dirigidos y el coste de estos, no se considera rentable en comparación con las técnicas diagnósticas de una sola mutación. Se concluye también que el progreso de la NGS continua, estudiando constantemente a la mejora y desarrollo de fármacos dirigidos. Además, también deja la puerta abierta al uso de esta combinada con la biopsia líquida. Con esto dice (34) “considerando este aumento en la efectividad y la posibilidad de reducir el costo de las pruebas a través de su uso ampliado, en poco tiempo los resultados de la NGS pueden volverse rentables o incluso ahorrar costos”.

Es interesante comentar también los últimos estudios franceses en este ámbito, ya que en un país muy concienciado con el progreso en este campo (en 2004 lanza el Plan Nacional del Cáncer donde se garantizaba la igualdad de acceso a tratamientos dirigidos y estableció como una prioridad nacional que todos los pacientes con cáncer se beneficiaran de un análisis NGS sin cargo)

Con esto, en 2014, el Instituto Nacional del Cáncer de Francia (INCa) lanza un proyecto nacional para evaluar el costo y el impacto del uso de NGS a nivel nacional que concluye y se publica en 2017 (35). Lo que se buscaba era responder a si era asumible el integrar los paneles de NGS al entorno clínico (35). Para esto se recogieron los datos de costes de 15 laboratorios franceses que realizaban pruebas de NGS. A partir de aquí, se estimó que el promedio del costo era de 607 € (\pm 207) para paneles de genes específicos en la línea somática y de 550 € (\pm 140) en la germinal.

Se concluyó este estudio con un objetivo: reducir la heterogeneidad técnica entre laboratorios y estandarizar conjuntos de datos muy grandes. Para esto se desarrolló en Francia una red para la secuenciación del genoma de alto rendimiento con un centro nacional de análisis de datos. Se esperaba que esta red fuera capaz de manejar 235.000 genomas al año para el 2020. De modo que en 2020 (36), con estos antecedentes y la actualización que saca la ESMO sobre las indicaciones de los paneles de NGS, se vuelve a hacer en Francia otro estudio observacional con el objetivo de evaluar cual sería el impacto clínico de la introducción del diagnóstico molecular en los cánceres de pulmón no microcítico, melanoma y colorrectal en la práctica clínica. Para esto se selecciona a

todos los pacientes que fueron diagnosticados con alguno de estos tres tipos de cáncer entre 2013 y 2016, dentro de estos se seleccionó a los que se les hizo un estudio molecular por medio de uno de los 7 paneles de NGS aprobados por el INCa y se compararon las vías terapéuticas que los pacientes siguieron antes y después del estudio genómico, así como las consecuencias que tuvo eso.

De los 1213 pacientes a los que se les solicitó el análisis de NGS se realizó en 1155 pacientes que fueron los que se incluyeron en el estudio, en estos gracias a este diagnóstico se detectó una mutación en el 75% de las cuales eran procesables el 63%.

Antes del análisis NGS, a 33 de 614 pacientes (5 %) se les recetó una terapia dirigida en comparación con 54 de 614 pacientes (8 %) después del análisis NGS. La propuesta de inclusión en ensayos clínicos aumentó del 5 % (n=31 de 614) al 28 % (n=178 de 614) después del análisis NGS. **Estos pacientes que se beneficiaron de un tratamiento dirigido gracias al análisis NGS aumentaron la supervivencia al año a 258 días (+/-107) en comparación con 234 días (+/-106), con una p:0,41 por lo que este aumento de la supervivencia se considera no significativo.** Esto se justifica con que el diagnóstico de alteraciones con NGS no condujo sistemáticamente a un cambio en el tratamiento dirigido debido a que aún hay muchos fármacos con dianas moleculares que no han sido aprobados. La comparación es difícil porque el grado de disponibilidad de tratamientos experimentales depende del nivel de investigación de cada institución, del mismo modo que las terapias dirigidas aprobadas dependen de como de rápido las instituciones las autoricen o modifiquen su ficha técnica.

De esta forma vemos que no se llega a una conclusión definitiva en este estudio, pero lo que sí que se aprecia es que debido a que no hay una estandarización de las medidas a nivel internacional ni nacional, había variabilidad entre los diferentes centros en los que se realizó el estudio; de modo que ciertas alteraciones no se consideraban procesables en algunos laboratorios mientras que en otros si, y de esta forma surgían diferencias en el acceso a terapias experimentales.

Hay más ensayos realizados en centros franceses que han obtenido unos resultados en cuanto a la supervivencia en la misma línea (36); como es el SHIVA que tampoco demostró un incremento de la supervivencia estadísticamente significativo. Si que hay otro ensayo que resulta más prometedor MOSCATO; aquí el 33% (63 de 193) de los pacientes que fueron tratados con una terapia dirigida tenían una relación SLP2 (supervivencia libre de progresión con el tratamiento actual) / SLP1 (tratamiento anterior) mayor de 1'3, el 11% (22 de 194) tuvo respuestas objetivas, y la mediana de la supervivencia global fue de 11,9 meses.

De modo que **no se puede llegar a una conclusión definitiva** en la introducción de estas tecnologías en las carteras de servicios, y es precisamente por esto por lo que no se ha establecido una indicación contundente por parte de las sociedades oncológicas; lo que está claro es que es el futuro de la oncología y tiene el potencial de aportar mucho a este campo, y es por esto la insistencia por parte de las instituciones en continuar

investigando en esta área, recolectar más datos y evidencia y abrir nuevas vías de investigación. Lo que sí se puede sacar en claro de los distintos estudios, es que en el momento en que un tumor requiere el estudio de más de dos mutaciones, es más rentable a nivel de coste, de tiempo y de cantidad de muestra requerida, el utilizar un panel de NGS.

D. SITUACIÓN DE LA NGS EN ESPAÑA Y PERSPECTIVA FUTURA.

Como ya hemos visto en Francia o en EE. UU., también se creó en España en 2006 la Estrategia del Cáncer del SNS. Esta se ha actualizado en el 2021 y ya se menciona la oncología de precisión dentro de las líneas de actuación; textualmente se dice (37)“en caso de que sea necesario el estudio molecular para el diagnóstico, la mediana desde la primera visita en el nivel de atención hospitalaria hasta el diagnóstico patológico completo será de 4 semanas (esos plazos son imposibles de cumplir si no se facilita el acceso a los biomarcadores)”.

Vemos sin embargo que en España la medicina personalizada se encuentra unos pasos por detrás. Son varios los motivos (38) que frenan el progreso de España en esta área; el principal: no existe un plan a nivel del SNS que garantice el acceso de forma global y equitativa a los biomarcadores; sino que cada CCAA tiene la potestad de introducirlos en su cartera de servicios. Como consecuencia de esta falta de consenso a nivel central, nos encontramos una gran variedad de modelos organizativos para la introducción de la Medicina Personalizada en el entorno asistencial ya que de manera individual cada comunidad ha decidido si invertir en programas de investigación y en infraestructuras para estas tecnologías. Del mismo modo vemos que dentro de cada comunidad tampoco se han definido centros de referencia para el estudio de las mutaciones (39), sino que los hospitales con mayores recursos e iniciativa las han introducido en su cartera de servicios. De modo que, de cara a necesitar un estudio molecular para un paciente, dependiendo del punto de España en el que se encuentre, se tendrá más o menos acceso a este tipo de tecnologías, surgiendo de esta forma una inequidad en el acceso a los recursos públicos del SNS.

Otro de los problemas a afrontar sería el coste y el alcance de las tecnologías e infraestructuras necesarias para poner todo este sistema en marcha (39); ya que la base de su implantación es diseñar y habilitar una plataforma capaz de almacenar y establecer un flujo de datos con la información molecular desde las bases de los laboratorios a los sistemas informáticos de los facultativos asistenciales, que actualmente no tienen la capacidad de abarcar tales cantidades de datos. Si que es cierto que contamos importantes infraestructuras para el manejo y almacenamiento de datos a gran escala, pero su uso se limita mayormente al ámbito de la investigación y no se han diseñado aún las vías de comunicación entre los centros de investigación y los hospitales. Vemos que todas las CCAA están trabajando en el desarrollo de estas infraestructuras (*Anexo 16 Figura 6 (39)*).

En el campo de la investigación hay iniciativa en general en todas las CCAA, con un elevado número de grupos de investigación. Esto en parte también es gracias a la Unión Europea (UE) ya que invierte mucha financiación. Esto es debido a que se estableció el objetivo de (39): “Posicionar a la UE como líder mundial en investigación en la Medicina de Precisión, coordinar los esfuerzos de I+D+i y generar evidencias que demuestren los beneficios de la MP para los ciudadanos y los sistemas sanitarios”

Para conocer el grado de acceso a la MP que ofrecen las distintas CCAA nos basamos en un documento que elabora en 2012 la Fundación Instituto Roche (39), del que se concluye: *(Anexo 17 Figura 7 (39))*

- **Andalucía, Castilla y León, Cataluña, Galicia y País Vasco:** Son las comunidades que más avances presentan en la implantación de la MP contando con apoyo institucional por parte de sus gobiernos en la planificación y organización de los recursos, además de financiación directa a proyectos de investigación en MP y para la infraestructura de estos servicios. Disponen también de plataformas para el procesamiento y almacenamiento de los datos a gran escala, con una cartera de pruebas bien definida y con centros y unidades de referencia para el diagnóstico molecular.

El hecho de que dispongan de una gran financiación, un elevado número de grupos de investigación y de una infraestructura informática potente, les permite estar desarrollando proyectos piloto (Andalucía y Cataluña) de amplio alcance para generar las herramientas bioinformáticas necesarias para introducir en la práctica la MP.

- **Baleares, Extremadura, Madrid, Murcia, Navarra o Valencia;** Presentan alguno de estos elementos clave, como son el apoyo institucional financiando proyectos de investigación con la MP como área prioritaria o la disponibilidad de infraestructuras para el almacenamiento y procesamiento de datos a gran escala con un buen nivel. En estas comunidades sí que se necesita una mayor insistencia en la definición de centros de referencia y en la regulación de la cartera de servicios autonómica unificada.
- **Asturias, Aragón, Canarias, Cantabria, Castilla La Mancha y La Rioja:** Son las comunidades que presentan un menor nivel de desarrollo.

Este documento lo que busca es exponer la situación en España para plantear cuales son los retos a los que se enfrenta cada CCAA con el objetivo de alcanzar la equidad en el acceso a la Medicina de Precisión *(Anexo 18 Tabla 8 (39))*. Centrándonos en la situación de Aragón, vemos que es una de las comunidades con menor grado de implantación de la MP, siendo fundamental para su desarrollo el compromiso a nivel central con financiación de proyectos para introducirla en los hospitales y de investigación. *(Anexo 19 Tabla 9 (39))*.

La conclusión principal a la que se llega es que **las comunidades demandan una estrategia estatal de medicina personalizada**. Frente a esto el consejo interterritorial del SNS anunció la elaboración de una y efectivamente en 2021 se publica una

actualización de la Estrategia en Cáncer del Sistema Nacional de Salud. Aquí se cita explícitamente (37) “La medicina de precisión es una manera nueva plantear el diagnóstico y el tratamiento del cáncer, no solo por los biomarcadores asociados a la decisión terapéutica sino también, por la posibilidad de estratificar mejor la enfermedad y el pronóstico como por evaluar la predicción de la respuesta al tratamiento o de la toxicidad. En este ámbito, **el trabajo que se debe realizar en nuestro país es muy notable y va desde la estandarización de las pruebas y su interpretación como de acceso y evaluación de su calidad**. Las propuestas de las sociedades científicas han sido significativas y deben ser la base de la definición de un abordaje de la oncología de precisión, junto con las actividades y programas desarrollados en algunas CC. AA. La experiencia de países como Francia es un ejemplo de cómo se puede vehicular una política que tiene en cuenta los centros de referencia en el territorio con criterios de acceso, evaluación de la calidad y financiación específica”. En este documento se establecen unas prioridades de actuación por parte del consejo, dentro de las cuales un punto es el diagnóstico molecular del cáncer.

Ya en 2014 se incluyó en la cartera de servicios del SNS (Orden SSI/2065/2014. BOE 269, 6 de noviembre de 2014; 91369-91382) “la atención a los pacientes y familiares en el área de genética que comprende el consejo y los análisis genéticos”. Sobre esto en el documento se reconoce la importancia del progreso en la oncología de precisión y se determina “Actualmente, en nuestro país no hay una definición clara de cómo se debe implantar la oncología de precisión en los servicios sanitarios, tampoco criterios de calidad para evaluar los resultados de estos biomarcadores ni financiación”. “Claramente, en el marco de la Estrategia contra el cáncer **se debe definir un modelo de implantación de la oncología de precisión en el SNS** que permita mejorar la equidad de acceso, la calidad y evaluar sus resultados”.

Habla de que ya hay propuestas y movimientos en esta dirección sobre la mesa y finaliza con un objetivo “Desarrollar un programa de diagnóstico molecular que combine los criterios de equidad de acceso y la calidad en la prueba, junto con el interés científico y sanitario. El **primer paso para implantar estos programas debería ser asegurar el acceso al panel de biomarcadores con implicaciones terapéuticas de calidad**, basado en la mejor experiencia clínica, posibilitando la evaluación de su calidad y disponiendo de la tecnología actualizada”.

Esta actualización por parte del consejo interterritorial tiene mucha importancia ya que asume la importancia de estas nuevas tecnologías diagnósticas y de la terapia dirigida y las establece como un objetivo y como una prioridad de actuación. Es pues importante mantenerse actualizado en este campo, ya que sin duda lo veremos en los hospitales próximamente.

7. CONCLUSIONES

- La Medicina de Precisión es una realidad cada vez más cercana, basada en las características de cada paciente, genómicas, físicas y ambientales. Permite la aplicación de tratamientos dirigidos que aumentan la supervivencia del paciente, pero además disminuyen los efectos tóxicos de los tratamientos sistémicos, mejorando de esta forma también la calidad de vida.
- Las tecnologías de NGS son cada vez más precisas, rápidas y económicas. Hay disponibles en el mercado varios paneles de distintos tamaños en función de los objetivos que tenga cada laboratorio. Permiten la detección de un mayor número de mutaciones, en un mismo tiempo (la mediana de tiempo suele ser de 8 días) y con una sola muestra tumoral. Con estos resultados se pueden prescribir terapias dirigidas de una forma más precisa, además de introducir a pacientes en ensayos clínicos orientados a investigar más fármacos contra nuevas mutaciones. También se pueden descubrir nuevos biomarcadores. Pero no solo eso, sino que también permiten predecir la resistencia a tratamientos.
- Hay múltiples estudios para analizar la costo-efectividad de los paneles de NGS ya que a medida que se demuestra un mayor número de genes implicados en el proceso de carcinogénesis y se les otorga más importancia a las variantes raras, estos paneles se plantean como una alternativa muy eficiente, a nivel de ahorro de costes, de material biopsiado necesario y de tiempo.

En general la conclusión es que aún estamos en un momento muy precoz en la introducción de estas tecnologías, a nivel de diagnóstico sí que suponen un ahorro frente a la realización de varios single-test distintos, sin embargo, de cara a la instauración en base a esto de un tratamiento dirigido, no se ha recogido la evidencia suficiente que demuestre un aumento de la supervivencia significativo con respecto al coste que suponen actualmente.

- El análisis de la situación actual en España nos revela que hay una gran heterogeneidad en la implantación de la oncología de precisión entre las distintas comunidades autónomas, ya que hace falta que se desarrolle una estrategia a nivel nacional para asegurar la igualdad de acceso a este tipo de técnicas y de terapias. El Consejo Interterritorial en su última actualización en 2021 ya se pronuncia acerca de este punto y plantea la instauración de la oncología de precisión como una prioridad de actuación.

8. BIBLIOGRAFIA

1. Goetz LH, Schork NJ. Personalized medicine: motivation, challenges, and progress. *Fertil Steril* [Internet]. 2018 Jun 1 [cited 2022 Feb 8];109(6):952–63. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29935653/>
2. Peiró S, del Llano J. La perspectiva de la política y la gestión sanitaria ante la medicina de precisión. *Gestión clínica y sanitaria* [Internet]. 2019 Dec [cited 2022 Feb 18];21:95–101. Available from: <http://www.iiss.es/gcs/index.htm>
3. König IR, Fuchs O, Hansen G, von Mutius E, Kopp M v. What is precision medicine? *European Respiratory Journal* [Internet]. 2017 Oct 1 [cited 2022 May 1];50(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29051268/>
4. Beckmann JS, Lew D. Reconciling evidence-based medicine and precision medicine in the era of big data: challenges and opportunities. *Genome Med* [Internet]. 2016 Dec 19 [cited 2022 Feb 22];8(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27993174/>
5. Kumar KR, Cowley MJ, Davis RL. Next-Generation Sequencing and Emerging Technologies. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* [Internet]. 2019 May 16 [cited 2022 Feb 24];45(7):661–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31096307/>
6. Morganti S, Tarantino P, Ferraro E, D’Amico P, Viale G, Trapani D, et al. Complexity of genome sequencing and reporting: Next generation sequencing (NGS) technologies and implementation of precision medicine in real life. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2022 Feb 21];133:171–82. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2018.11.008>
7. Sabour L, Sabour M, Ghorbian S. Clinical Applications of Next-Generation Sequencing in Cancer Diagnosis. *Pathology and Oncology Research*. 2017 Apr 1;23(2):225–34.
8. Seda García E, Blesa Luján S, Abellán Sánchez MR, Benjamín Sarriá Chust. Desarrollo de un sistema de detección de mutaciones somáticas de interés clínico mediante secuenciación masiva en muestras oncológicas. [Tesis doctoral]. Valencia: fundación Investigación Clínico de Valencia-INCLIVA; 2018. Available from: <https://roderic.uv.es/handle/10550/66184>
9. Valderrama Martín J, Ortigosa F, Cañas R. Métodos de secuenciación de ácidos nucleicos: Primera generación. *Encuentros en la biología*. 2020;13(173):19–25.
10. Mordoh A. Secuenciación masiva de ADN: la próxima generación. *Dermatología Argentina* [Internet]. 2019 Apr 10 [cited 2022 Feb 23];25(1):2–8. Available from: <https://www.dermatolarg.org.ar/index.php/dermatolarg/article/view/1868/1005>

11. Mardis ER. Next-Generation DNA Sequencing Methods. Annual Review of Genomics and Human Genetics [Internet]. 2008;9:387–402. Available from: www.helicosbio.com
12. Martín K, Gallego A. Tipos de PCR usados en Investigación Genética: Aplicaciones donde los diferentes tipos de PCR juegan un rol vital GoldBio [Internet]. GoldBio. 2022 [cited 2022 Feb 15]. Available from: <https://www.goldbio.com/articles/article/PCR-usados-Investigacion-Genetica>
13. Santiago Cea Rama J. Secuenciación de nueva generación en patología oncológica. Cantabria: Universidad de Cantabria Grado en Medicina. (2021) [cited 2022 Feb 8] Available from: <http://hdl.handle.net/10902/23470>
14. Jackson S, Chester J. Personalised cancer medicine. International Journal of Cancer [Internet]. 2015 Jul 15 [cited 2022 Feb 24];137(2):262–6. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ijc.28940>
15. Bruno R, Fontanini G. Next Generation Sequencing for Gene Fusion Analysis in Lung Cancer: A Literature Review. Diagnostics [Internet]. 2020 Jul 27 [cited 2022 Feb 22];10(8):521–38. Available from: <https://www.mdpi.com/2075-4418/10/8/521/htm>
16. Nagahashi M, Shimada Y, Ichikawa H, Kameyama H, Takabe K, Okuda S, Wakai T. Next generation sequencing-based gene panel tests for the management of solid tumors. Cancer Sci [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2022 Feb 24];110(1):6–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30338623/>
17. Gracia Luengo N, Goñi Rasia G. Diagnosis and Personalized Treatment of Non-Small Cell Lung Cancer: Immunotherapy and Mutations. Zaragoza: Universidad de Zaragoza Grado en Medicina (2019) [cited 2022 May 1]; Available from: <http://zaguan.unizar.es>
18. López-Ríos F, Paz-Ares L, Sanz J, Isla D, Pijuan L, Felip E, et al. Updated guidelines for predictive biomarker testing in advanced non-small-cell lung cancer: A National Consensus of the Spanish Society of Pathology and the Spanish Society of Medical Oncology. Revista Española de Patología [Internet]. 2020 Jul 1 [cited 2022 Mar 28];53(3):167–81. Available from: www.elsevier.es/patologia
19. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. The BMJ. 2021 Mar 29;372.
20. AECC. Asociación Española Contra el Cáncer [Internet]. 2022 [cited 2022 May]. p. 4. Disponible en: <http://observatorio.aecc.es/#datos-informes>
21. Rivas S, Armisén R. El cáncer de pulmón de células no pequeñas en la era de la medicina de precisión. Revista Médica Clínica Las Condes [Internet]. 2022 Jan 1;33(1):25–35.
22. Akkari Y, Smith T, Westfall J, Lupo S. Implementation of cancer next-generation sequencing testing in a community hospital. Cold Spring Harb Mol Case Stud

- [Internet]. 2019 [cited 2022 Jan 14]; 5: 1-8. Available from: <https://www.whitehouse.gov/the-press->
23. Jennings LJ, Arcila ME, Corless C, Kamel-Reid S, Lubin IM, Pfeifer J, et al. Guidelines for Validation of Next-Generation Sequencing–Based Oncology Panels: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology and College of American Pathologists. *J Mol Diagn* [Internet]. 2017 May 1 [cited 2022 Mar 28];19(3):341. Available from: </pmc/articles/PMC6941185/>
 24. Santani A, Simen BB, Briggs M, Lebo M, Merker JD, Nikiforova M, et al. Designing and Implementing NGS Tests for Inherited Disorders A Practical Framework with Step-by-Step Guidance for Clinical Laboratories. *The Journal of Molecular Diagnostics* [Internet]. 2019 Feb [cited 2022 Apr 5];21(3). Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2018.11.004>
 25. 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. *Annals of Oncology* [Internet]. 2020 [cited 2022 May 2]; 31 (11): 1491–505. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32853681/>
 26. Freedman AN, Klabunde CN, Wiant K, Enewold L, Gray SW, Filipski KK, et al. Use of Next-Generation Sequencing Tests to Guide Cancer Treatment: Results From a Nationally Representative Survey of Oncologists in the United States. *JCO Precision Oncology* [Internet]. 2018 Nov 13 [cited 2022 Feb 22];(2):1–13. Available from: ascopubs.org/journal/po
 27. National Cancer Institute. NCI-MATCH trial (Molecular analysis for Therapy Choice) [Internet]. Estados Unidos: NCI; 2022 [cited 2022 May 5]. Available from: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/clinical-trials/nci-supported/nci-match>
 28. American Society of Clinical Oncology. Targeted Agent & Profiling Utilization Registry (TAPUR) Study [Internet]. ASCO; 2022 [cited 2022 May 5]. Available from: <https://www.asco.org/research-data/tapur-study>
 29. Fisher JG, Tait D, Garrett-Mayer E, Halabi S, Mangat PK, Schink JC, et al. Cetuximab in Patients with Breast Cancer, Non-Small Cell Lung Cancer, and Ovarian Cancer Without KRAS, NRAS, or BRAF Mutations: Results from the Targeted Agent and Profiling Utilization Registry (TAPUR) Study. *Targeted Oncology* [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2022 Apr 21];15(6):733–41. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11523-020-00753-7>
 30. Ahn ER, Mangat PK, Garrett-Mayer E, Halabi S, Dib EG, Haggstrom DE, et al. Palbociclib in Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer With CDKN2A Alterations: Results From the Targeted Agent and Profiling Utilization Registry Study. *JCO Precis Oncol* [Internet]. 2020 Nov 25 [cited 2022 Apr 21];4(4):757–66. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35050752>

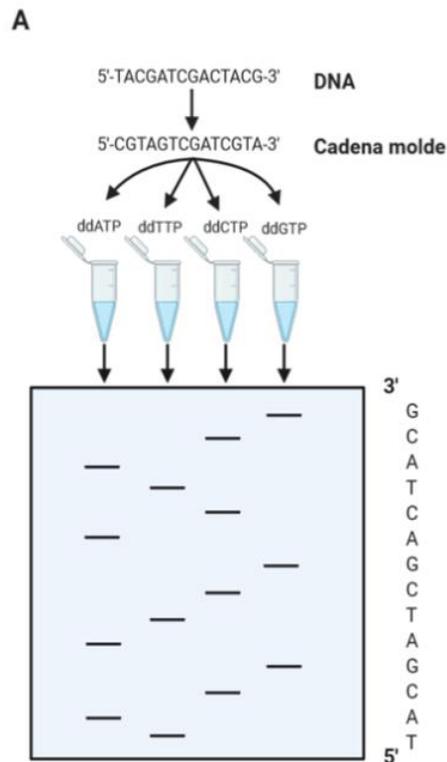
31. Hamblin A, Wordsworth S, Fermont JM, Page S, Kaur K, Camps C, et al. Clinical applicability and cost of a 46-gene panel for genomic analysis of solid tumours: Retrospective validation and prospective audit in the UK National Health Service. *PLoS Med* [Internet]. 2017 Feb 1 [cited 2022 Feb 22];14(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28196074/>
32. Marquart J, Chen EY, Prasad V. Estimation of the Percentage of US Patients With Cancer Who Benefit From Genome-Driven Oncology. *JAMA Oncol* [Internet]. 2018 Aug 1 [cited 2022 Apr 27];4(8):1093–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29710180/>
33. Dalal AA, Guerin A, Mutebi A, Culver KW. Economic analysis of BRAF gene mutation testing in real world practice using claims data: costs of single gene versus panel tests in patients with lung cancer. *Journal of Medical Economics* [Internet]. 2018 Jul 3 [cited 2022 Apr 22];21(7):649–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29516752/>
34. Christofyllakis K, Bittenbring J, Thurner L, Ahlgrimm M, Stilgenbauer S, Bewarder M, et al. Cost-effectiveness of precision cancer medicine-current challenges in the use of next generation sequencing for comprehensive tumour genomic profiling and the role of clinical utility frameworks (Review). *Molecular and Clinical Oncology* [Internet]. 2022 Nov 25 [cited 2022 Feb 22];16(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34909199/>
35. Schluckebier L, Caetano R, Garay OU, Montenegro GT, Custodio M, Aran V, et al. Cost-effectiveness analysis comparing companion diagnostic tests for EGFR, ALK, and ROS1 versus next-generation sequencing (NGS) in advanced adenocarcinoma lung cancer patients. *BMC Cancer* [Internet]. 2020 Sep 14 [cited 2022 Apr 14];20(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32928143/>
36. Marino P, Touzani R, Perrier L, Rouleau E, Kossi DS, Zhaomin Z, et al. Cost of cancer diagnosis using next-generation sequencing targeted gene panels in routine practice: a nationwide French study. *European Journal of Human Genetics* 2018 26:3 [Internet]. 2018 Jan 24 [cited 2022 Feb 22];26(3):314–23. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41431-017-0081-3>
37. Coquerelle S, Darlington M, Michel M, Durand M, Borget I, Baffert S, et al. Impact of Next Generation Sequencing on Clinical Practice in Oncology in France: Better Genetic Profiles for Patients Improve Access to Experimental Treatments. *Value Health* [Internet]. 2020 Jul 1 [cited 2022 Feb 18];23(7):898–906. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32762992/>
38. Ministerio de Sanidad, Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud. Estrategia en Cáncer del Sistema Nacional de Salud [Internet]. España: Gobierno de España; 2021 [Cited 2022 Jan 1]. Available from https://www.msbs.gob.es/organizacion/sns/planCalidadSNS/pdf/Estrategia_e_n_cancer_del_Sistema_Nacional_de_Salud_Actualizacion_2021.pdf



39. Garrido P, Gómez JJ, García-Sanz R. Informe BMK de Senado: Situación y recomendaciones del diagnóstico genómico y de Biomarcadores en pacientes con cáncer en España 2021 [Internet]. España, Hiris; 2021 [Cited 2022 May 5].
40. Fundación Instituto Roche. Medicina Personalizada de Precisión en España: Mapa de Comunidades [Internet]. 2019. Available from: www.institutoroche.es

9. ANEXOS

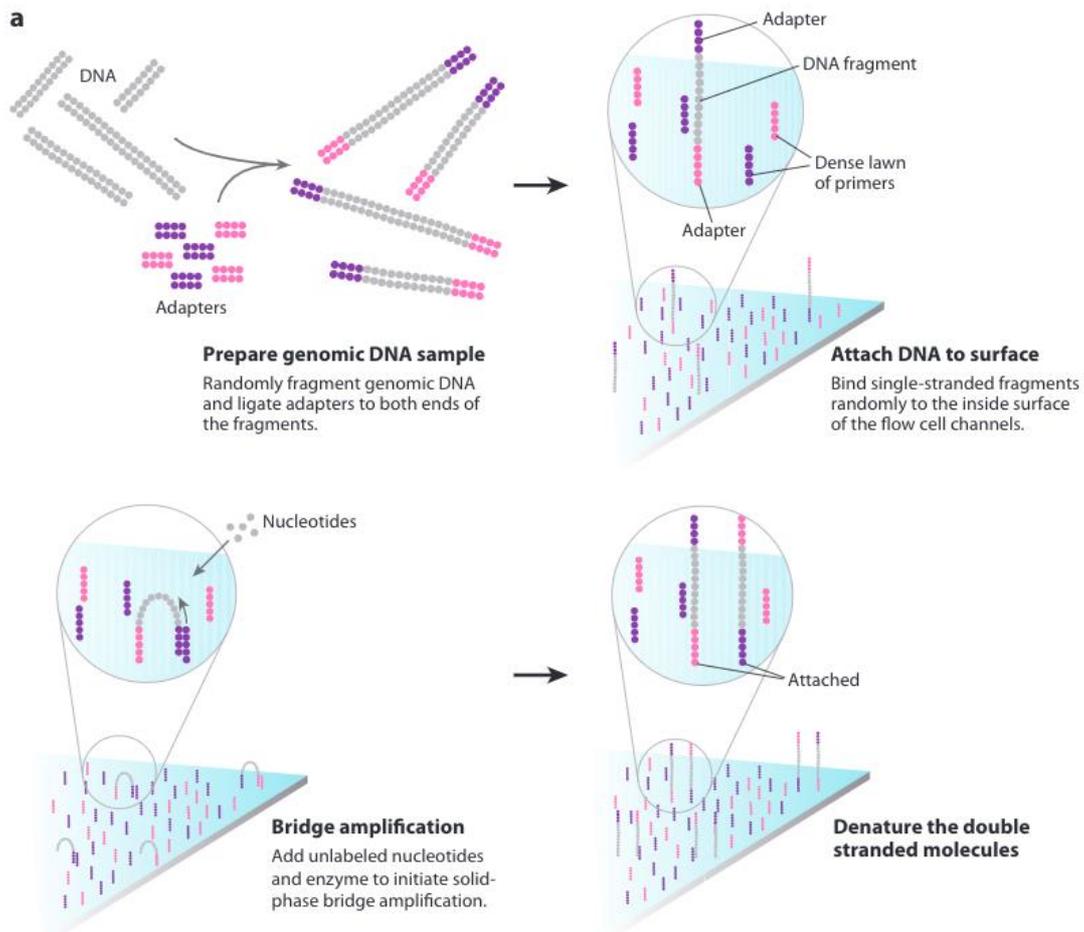
ANEXO 1 *Figura 1:* (9) Secuenciación enzimática de Sanger. La hebra de ADN obtenida se usa como molde para que la ADN polimerasa vaya incorporando los nucleótidos complementarios y finalmente incorpora el terminados (ddNTP) que está marcado radioactivamente. Posteriormente esto se introduce en un gel desnaturante de poliacridamida; aquí se le hace una autorradiografía y es esta la que nos proporciona la información de la secuencia.



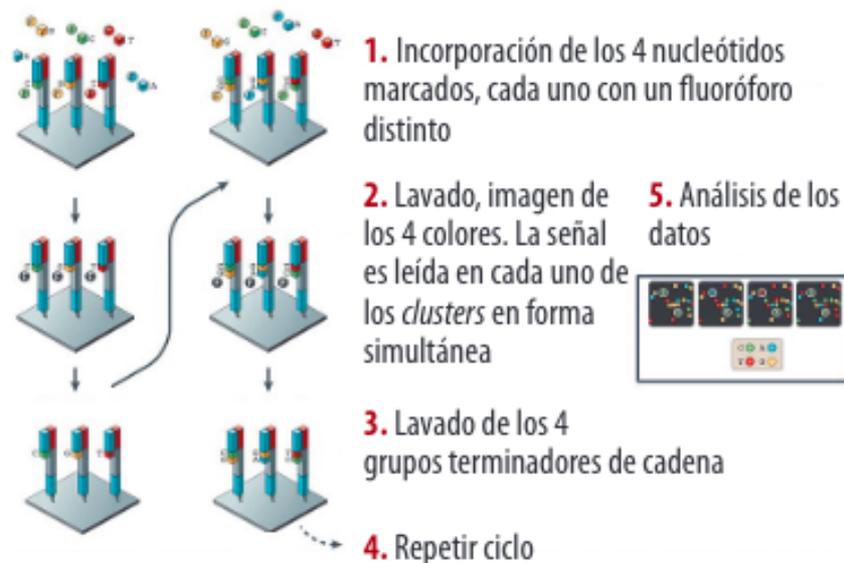
ANEXO 2 *Figura 2:* (12) Ilustración de cómo es la técnica de PCR de emulsión para la amplificación del ADN, usada posteriormente para su secuenciación por medio de la NSG.



ANEXO 3 Figura 3: (11) En la ilustración se ve representado el proceso que sigue el panel de Illumina para realizar la secuenciación molecular. En un primer paso preparan el ADN fraccionándolo y uniéndolo en los extremos de los fragmentos los ddNTPs que a su vez llevan ligados marcadores fluorescentes. Por medio de estos terminadores los fragmentos de ADN se pueden unir a la estación de clúster. Es aquí cuando empieza a actuar la ADN polimerasa ampliando los fragmentos de ADN y formando los puentes agrupados o clusters. Una vez terminada la reacción los ddNTPs actúan como terminadores reversibles y emiten la fluorescencia que será recogida e interpretada para dar lugar a la secuenciación.



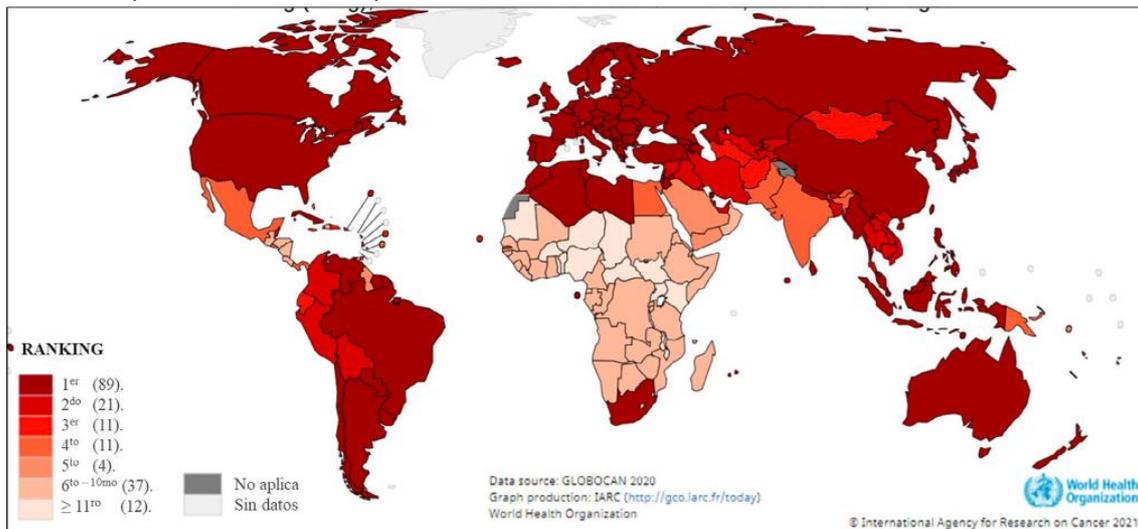
ANEXO 4 Figura 4: En la figura se representa el proceso de secuenciación propiamente dicho del panel. Esto consiste en incorporar de forma secuencial los terminadores de cadena marcados con cuatro tipos de fluoróforo distinto (en función de a qué base del ADN se vaya a unir, A, T, C y G). En el momento en que estos ddNTPs se incorporan a la cadena del ADN (paso 1) emiten una señal lumínica que es leída en cada uno de los *clusters* de forma simultánea (paso 2). Después este nucleótido que ya ha sido marcado se lava, de modo que el terminador al ser reversible se puede incorporar en otro nucleótido sin marcar. Este proceso se repite con cada uno de los nucleótidos que componen cada fragmento analizado de forma simultánea.



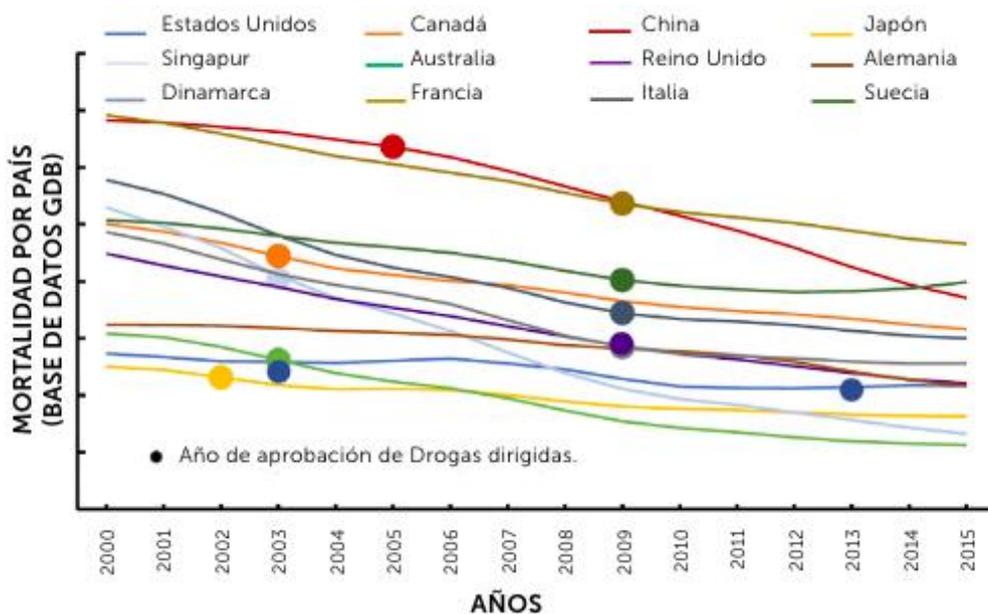
ANEXO 5 Tabla 1(14): En esta tabla se recogen las principales terapias dirigidas frente a mutaciones tumorales que estaban aprobadas en el año 2015. Actualmente se ha ampliado bastante este campo, no solo con nuevos fármacos, sino con nuevas indicaciones.

Cancer type	Cellular target	Targeted agent	Class of agent
Colorectal ¹⁶⁻¹⁸	KRAS	Cetuximab	Monoclonal antibody against EGFR
Breast ^{19,20}	HER2	Trastuzumab	Monoclonal antibody against HER2/ Neu (EGFR2)
Chronic myeloid leukaemia ^{21,22}	BCR-ABL fusion protein	Imatinib	Receptor tyrosine kinase inhibitor
Gastrointestinal stromal tumours ^{23,24}	c-KIT	Imatinib	Receptor tyrosine kinase inhibitor
Non-small-cell lung cancer ²⁵⁻²⁸	EGFR	Erlotinib and gefitinib	Receptor tyrosine kinase inhibitor
Non-small-cell lung cancer ^{29,30}	EML4-ALK fusion protein	Crizotinib	Receptor tyrosine kinase inhibitor
Metastatic malignant melanoma ^{31,32}	BRAF V600E	Vemurafenib	B-raf/MEK/ERK pathway inhibitor
Ovarian, breast and prostate cancer (under investigation) ^{33,34}	BRCA1, BRCA2	Olaparib	Poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitor

ANEXO 6 *Figura 5* (21): Ranking mundial de muertes estimadas por cáncer de pulmón en 2020 incluyendo ambos sexos y todas las edades.



ANEXO 7 *Gráfico 1* (21): Queda reflejado en el diagrama la tendencia descendente de la mortalidad del cáncer de pulmón en los distintos países del mundo. También se ve un punto de inflexión en el descenso bastante importante que es consecuencia del año de instauración de la terapia dirigida (representado como un punto)



ANEXO 8 Tabla 2 (16): Vemos en la tabla los paneles comercialmente disponibles, que agrupan distinto número de genes en función de cual vaya a ser el objetivo del centro donde se vayan a aplicar, del mismo modo se recoge la técnica de amplificación que usan y los enlaces donde se pueden consultar.

Panel test	No. of targeted genes	Enrichment approach	Tumor mutation burden	FDA approval	PMDA approval	References
Oncomine Dx Target Test	23 genes	Amplicon	-	Yes	Yes	https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/brochures/oncomine-dx-target-test-flyer.pdf
MSK-IMPACT	468 genes	Capture	Yes	Yes	-	36
FoundationOne CDx	324 genes	Capture	Yes	Yes	-	https://assets.ctfassets.net/vhribv12lmne/6Rt6csmCPuaguuqmg2iY8/e3a9b0456e-d71a55d2e4480374695d95/FoundationOne_CDx.pdf
NCC Oncopanel	114 genes	Capture	-	-	-	https://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-10901000-Kenkoukyoku-Soumuka/0000179757.pdf
Todai OncoPanel	464 genes	Capture	-	-	-	http://todaioncopanel.umin.jp/#sec01
CANCERPLEX	435 genes	Capture	Yes	-	-	56
OncoPrime	223 genes	Unknown	-	-	-	73
PleSSision	160 genes	Unknown	-	-	-	http://www.hosp.keio.ac.jp/st/cancer/info/20180529_2.pdf
OmniSeq Advance	144 genes	Amplicon	Yes	-	-	74
P5 report	52 genes	Unknown	-	-	-	http://www.okayama-u.ac.jp/user/hos/koganzai/P5report/

ANEXO 9 Tabla 3 (23): En la tabla se recogen las principales causas de error, como superaras y como evaluarlas posteriormente en la parte de validación para asegurarse que no se han cometido.

Potential Sources of Error Affecting Next-Generation Sequencing Assays Designed for Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded Tissue

Step	Assay design considerations	Quality assessment during Validation
DNA yield	Optimize extraction	Measure yield
DNA purity and integrity	Optimize DNA library preparation	Monitor DNA library preparation
Deamination or depurination	Ung treatment, duplex reads	Confirm all positives with orthogonal method
Contamination	Change blades during tissue dissection	No template control
Stochastic bias	Increase input, multiple displacement amplification, single-molecule barcoding	Sensitivity control
Amplification errors	High-fidelity polymerase, duplex reads	Confirm all positives with orthogonal method
Capture bias	Optimize enrichment, long-range PCR	Define minimum coverage, back-fill with orthogonal method
Primer bias and allele dropout	Assess causes of false negatives, design overlapping regions	Bioinformatically flag homozygosity of rare variants

ANEXO 10 *Tabla 4 (18):* Se resumen en la tabla los biomarcadores necesarios a analizar en pacientes con CPCNP avanzado, además también se recoge cuál es la alteración predictiva del biomarcador y cuál es la metodología necesaria para su análisis.

Tabla 1 Biomarcadores indispensables en pacientes con CPCNP

Gen	Alteración predictiva	Metodología (en tejido)
<i>EGFR</i>	Mutaciones	PCR: Sanger, PCR en tiempo real y NGS
<i>ALK</i>	Reordenamiento	IHQ, FISH y NGS
<i>ROS1</i>	Reordenamiento	IHQ (cribado), FISH y NGS
<i>BRAF V600</i>	Mutaciones	PCR: Sanger, PCR en tiempo real y NGS
<i>PD-L1</i>	Sobreexpresión	IHQ

CPCNP: carcinoma de pulmón de célula no pequeña; *EGFR*: receptor del factor de crecimiento epidérmico; FISH: hibridación fluorescente *in situ*; IHQ: inmunohistoquímica; NGS: secuenciación masiva; PCR: reacción en cadena de la polimerasa; *PD-L1*: *programmed death ligand-1*.

ANEXO 11 *Tabla 5 (18):* Se recogen en la tabla los genes direccionales del CNCNP, son genes que actualmente a nivel de salud pública no hay evidencias que respalden su estudio, pero a nivel de investigación y de orientar a los pacientes a distintos ensayos clínicos son muy interesantes.

Tabla 2 Otros biomarcadores de interés en pacientes con CPCNP

Gen	Alteración predictiva	Metodología (en tejido)
<i>HER2</i>	Mutaciones Amplificación	PCR: Sanger, PCR en tiempo real y NGS FISH, NGS, PCR en tiempo real
<i>MET</i>	Mutaciones Amplificación	NGS FISH, NGS, PCR en tiempo real
<i>RET</i>	Reordenamiento	FISH y NGS
<i>NTRK</i>	Reordenamiento	IHQ (cribado) y NGS
<i>TMB</i>	Mutaciones ^a	NGS

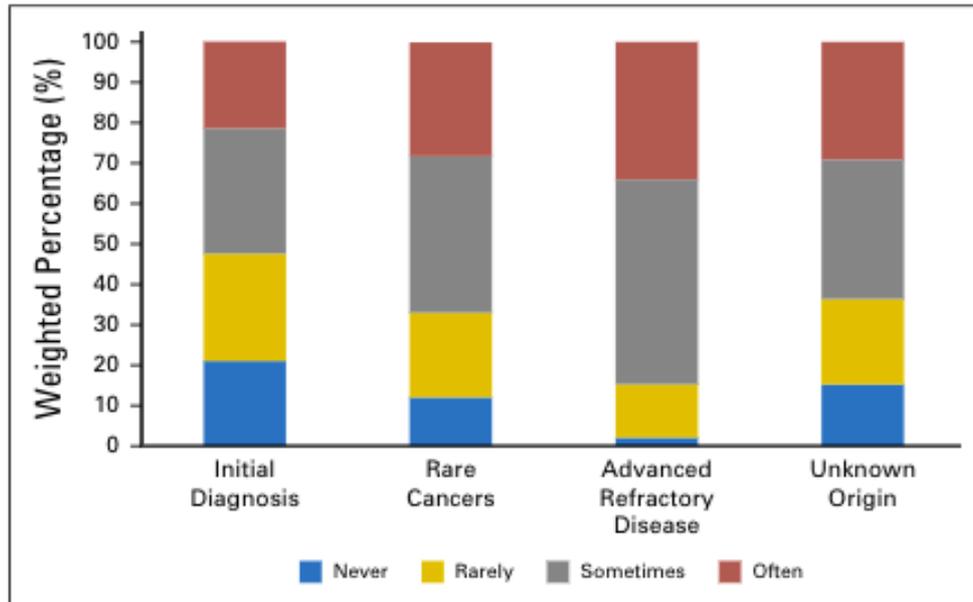
CPCNP: carcinoma de pulmón de célula no pequeña; FISH: hibridación fluorescente *in situ*; IHQ: inmunohistoquímica; NGS: secuenciación masiva; PCR: reacción en cadena de polimerasa; TMB: carga mutacional tumoral.

^a Medición de mutaciones somáticas presentes en células tumorales.

ANEXO 12 *Tabla 6 (21):* Se recogen en la tabla las mutaciones conocidas del cáncer de pulmón no microcítico, del mismo modo que las terapias dirigidas contra estas que están aprobadas por la FDA.

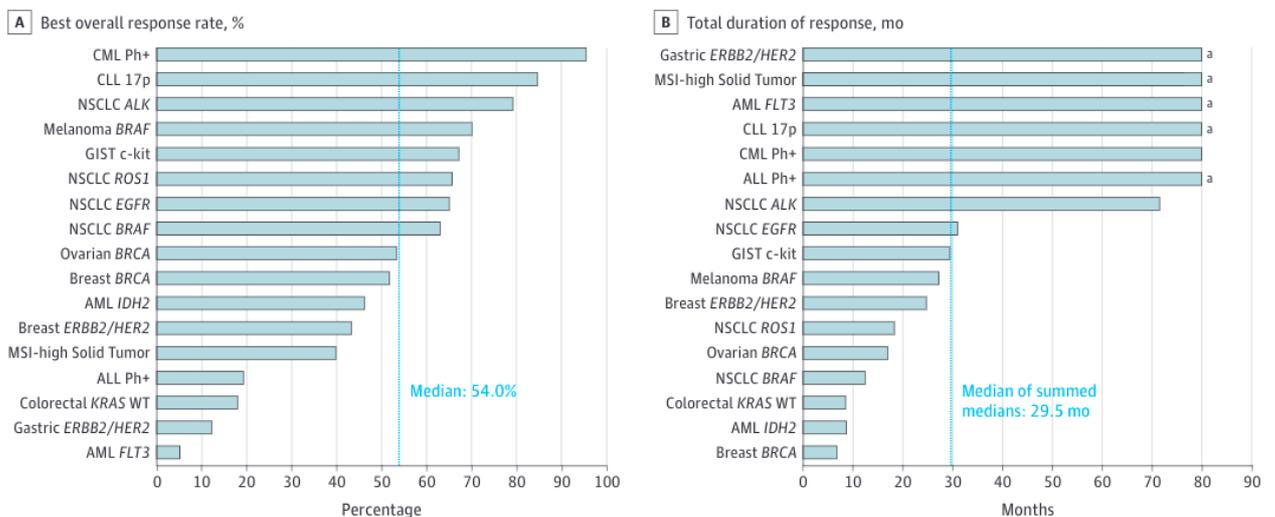
Nivel de Evidencia	Gen	Alteración accionable	Drogas (uso clínico aprobado)		
1	ALK	Fusiones	alectinib ceritinib crizotinib		
		Mutaciones oncogénicas	brigatinib lorlatinib		
	BRAF	V600E	dabrafenib + trametinib		
	EGFR	Deleciones exón 19, L858R	afatinib dacomitinib erlotinib erlotinib + ramucirumab gefitinib osimertinib		
			Inserciones exón 20	amivantamab mobocertinib	
				G719, L861Q, S768I	afatinib
			T790M	osimertinib	
			KRAS	G12C	sotorasib
			MET	D1010, exón 14 deleción, exón 14 splice, Y1003	capmatinib crizotinib tepotinib
	Amplificación	crizotinib			
	RET	Fusiones	pralsetinib selpercatinib		
	ROS1	Fusiones	crizotinib entrectinib		
	PD-L1	IHQ+ >50% de las células	pembrolizumab durvalumab nivolumab, aterozolizumab		
	Otros	Alta carga mutacional tumoral y/o alta inestabilidad de microsatélites	pembrolizumab		
	2	EGFR	A763_Y764insFQEA	erlotinib	
		ERBB2	Mutaciones oncogénicas	ado-trastuzumab emtansine trastuzumab deruxtecan	
		RET	Fusiones	cabozantinib	
	R1	EGFR	Exón 20 inserciones	afatinib, gefitinib, erlotinib	
			T790M	gefitinib, erlotinib, afatinib	
	R2	ALK	C1156Y, G1269A, L1196M	crizotinib	
G1202R, I1171N			alectinib		
EGFR		C797G, C797S, G724S, L718V	osimertinib		
		D761Y	gefitinib		

ANEXO 13 Gráfico 2 (26): En el gráfico quedan representados los resultados de la encuesta. Se plantean cuatro escenarios para usar estos paneles por parte de los oncólogos norteamericanos, para el diagnóstico inicial de un tumor, en casos de cánceres raros, en situaciones de enfermedad avanzada refractaria y cuando no se conoce el tumor primario. Se refleja como la situación en la que los facultativos consideran más útil esta herramienta es en los casos de enfermedad avanzada refractaria; que es precisamente cuando las guías de a ESMO recomiendan su uso.



ANEXO 14 Gráfico 3 (31): Vemos representado en el primer gráfico (A) el porcentaje de respuesta que tuvieron los distintos tipos de subtipos de cánceres, seleccionados en base a las mutaciones que tienen fármacos dirigidos aprobados, a estos. En el segundo gráfico (B) se refleja cuánto duró la respuesta a dichos fármacos en los distintos tumores. Del mismo modo figuran en los gráficos las medianas resultantes.

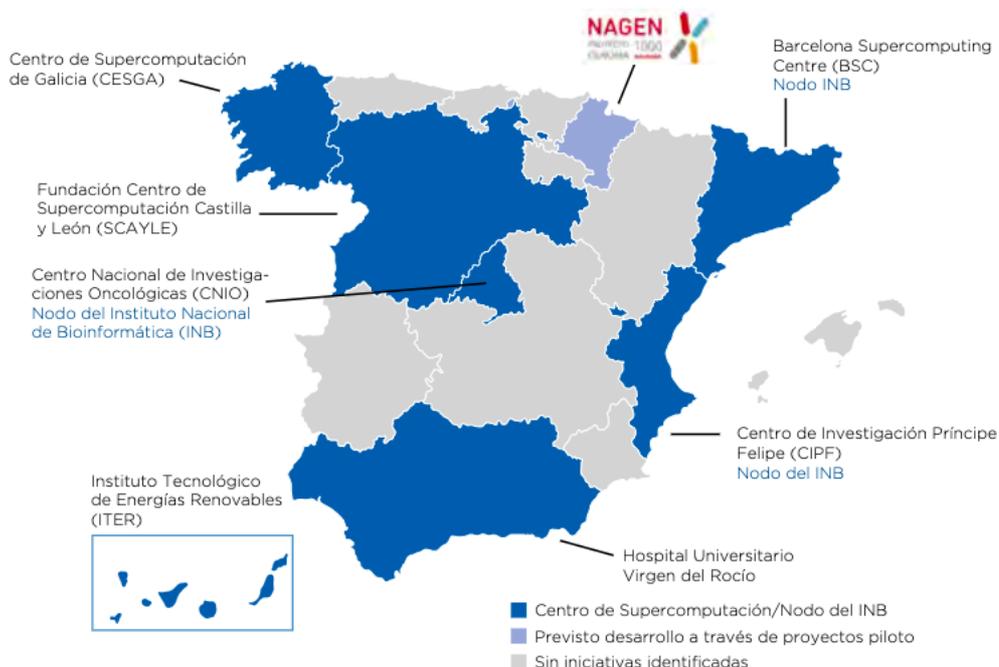
Figure 2. Estimated Responses of US Patients to Genomically Informed Drug Treatment, 2006-2018



ANEXO 15 Tabla 7 (34): Se recogen en la tabla los resultados del estudio, teniendo en cuenta el análisis costo-efectivo que se calculó y también la microsimulación que se recreó, teniendo como base los tiempos de supervivencia y de respuesta de los tratamientos dirigidos. Con esto se hace además un análisis de costo-utilidad, teniendo en cuenta los años de vida ganados ajustados por calidad de vida. Estrategia 1: Se utiliza el método RT-PCR para detectar la mutación EGFR, si es negativa se analiza la fusión ALK y si esta también es negativa se estudia la mutación ROS1. Estrategia 2: Se utiliza el método PCR para detectar la mutación EGFR y luego las mutaciones ALK y ROS1 se analizan de forma simultánea utilizando FISH. Estrategia 3: Se analizan los tres genes de forma simultánea en un mismo panel con NGS.

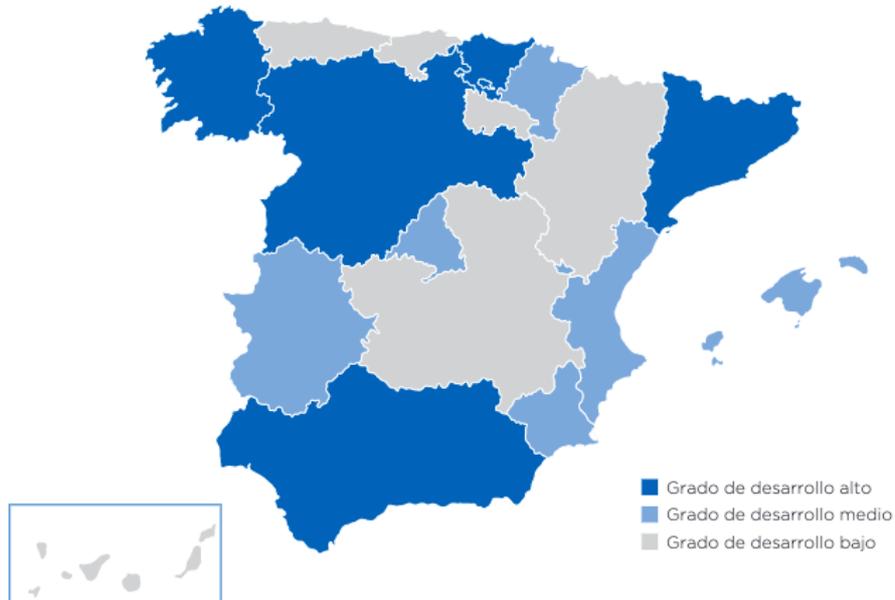


ANEXO 16 Figura 6 (39): En el mapa se representan los avances que ha ido alcanzando cada CCAA en el desarrollo de infraestructuras para el almacenamiento y manejo de datos con el fin de conseguir introducir la Medicina Personalizada de forma sistemática.



ANEXO 17 *Figura 7* (39): En este mapa se refleja el grado de implantación de la Medicina de Precisión en las distintas partes de España.

Mapa 12. Grado de desarrollo de implantación de la Medicina Personalizada de Precisión.



Anexo 18 Tabla 8 (39): Aquí se representa de forma gráfica los puntos en los que tiene que trabajar cada CCAA con respecto a la instauración de la MP entre sus competencias sanitarias:

Tabla 3. Resultado global del mapeo de recursos y acciones en las diferentes CCAA para la implantación de la MPP en el ámbito sanitario.

	AND	CAT	CYL	GAL	PVASCO	BAL	EXT	MAD	NAV	MUR	COM VAL	AST	AR	CAN	CANTB	CLM	LR
MPP EN ESTRATEGIAS Y PLANES AUTONÓMICOS																	
Incorporación de la MPP en los Planes de Salud	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio
Incorporación en otros planes sanitarios	Alto	Alto	Medio	Medio	Alto	Medio	Medio	Medio	Medio	Alto	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio
Incorporación de MPP en planes de I+D y financiación	Alto	Alto	Medio	Medio	Alto	Medio	Alto	Medio	Alto	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio
IMPLANTACIÓN A NIVEL ASISTENCIAL																	
Proyectos aceleradores de traslación asistencial	Alto	Alto	Medio	Medio	Medio	Medio	Alto	Medio	Alto	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio
Designación de centros de referencia	Medio	Alto	Alto	Alto	Alto	Alto	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio
Ordenación de la Cartera de Servicios en pruebas de MPP	Medio	Medio	Alto	Medio	Alto	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Alto
PROCESAMIENTO Y ALMACENAMIENTO DE DATOS																	
Centro de Supercomputación/ análisis/almacenamiento de datos	Alto	Alto	Alto	Alto	Medio	Medio	Medio	Alto	Medio	Medio	Alto	Medio	Medio	Alto	Medio	Medio	Medio
Proyectos para integración datos ómicos en HCE (datos clínicos)	Alto	Alto	Medio	Medio	Medio	Medio	Alto	Medio	Alto	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio
MASA CRÍTICA INVESTIGADORA																	
Total proyectos (Europeos, PI, PIE)	Medio	Alto	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Alto	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio
FORMACIÓN																	
Másters en MPP	Alto	Alto	Medio	Alto	Alto	Medio	Medio	Alto	Medio	Alto	Alto	Alto	Alto	Alto	Medio	Medio	Medio
Formación continuada reglada en MPP para el personal sanitario	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Alto	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio
COLABORACIÓN PÚBLICO-PRIVADA																	
Iniciativas de Compra Pública en proyectos de MPP	Alto	Medio	Medio	Alto	Medio	Medio	Alto	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio
Otras iniciativas de colaboración público-privada	Alto	Medio	Alto	Alto	Medio	Medio	Medio	Medio	Alto	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio
Concentración de empresas con actividad relevante en MPP	Alto	Alto	Medio	Medio	Alto	Medio	Medio	Alto	Medio	Medio	Alto	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio	Medio
GRADO DE DESARROLLO DE LA MPP																	

Abreviaturas por comunidad autónoma:AND, Andalucía; AR, Aragón; AST, Principado de Asturias; Bal, Islas Baleares; CAN, Canarias; CNTB, Cantabria; CLM, Castilla La Mancha; CYL, Castilla y León; CAT, Cataluña; COMVAL, Comunidad Valenciana; EXT, Extremadura, GAL, Galicia; LR, La Rioja; MAD, Madrid; Nav, Navarra; PVASCO, País Vasco; MUR, Región de Murcia.

■ Grado de desarrollo alto ■ Grado de desarrollo medio ■ Grado de desarrollo bajo

ANEXO 19 *Tabla 9 (40)*: Tabla donde se recogen los puntos en los que la comunidad de Aragón tiene que incidir y las recomendaciones que hace el Instituto Roche para el desarrollo de la MP en esta comunidad.

	GRADO	RECOMENDACIONES
<p>Planes y Estrategias autonómicas</p> <ul style="list-style-type: none"> • El Plan de Salud no contiene aspectos de MPP. • No se prioriza financiación en investigación MPP. 		<ul style="list-style-type: none"> • Planificación de la MPP a través de Planes y Estrategias Sanitarias y de I+D. • Priorización en la financiación de proyectos de investigación de MPP.
<p>Traslación ámbito asistencial</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sin designación oficial de centros de referencia. • Sin ordenación centralizada de cartera de servicios complementaria. • Sin proyectos traslacionales de amplio alcance. 		<ul style="list-style-type: none"> • Definición de centros de referencia y ordenación efectiva de los circuitos y pruebas de MPP desde el sistema de salud. • Promover proyectos aceleradores con objetivos que contemplen la implantación además de la generación de conocimiento en MPP.
<p>Procesamiento y almacenamiento de datos</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sin proyectos de <i>Data Mining</i>/integración datos ómicos/<i>Big Data</i> sanitario. • Sin planificación de infraestructura almacenamiento/procesamiento de datos. 		<ul style="list-style-type: none"> • Planificar cómo se van a recoger, almacenar, procesar e integrar en la HCE grandes volúmenes de datos que permitan apoyar la toma de decisiones clínicas.
<p>I+D+i</p> <ul style="list-style-type: none"> • Baja concentración de grupos de investigación con liderazgo reconocido en MPP. • Baja participación en proyectos europeos de MPP. 		<ul style="list-style-type: none"> • Fomentar el desarrollo de masa crítica investigadora en la comunidad y dotar de financiación continuada para contribuir a la generación de conocimiento, desarrollo de proyectos piloto y creación de <i>spin-offs</i>.
<p>Formación</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hay un máster con contenido importante en áreas de capacitación para la MPP. • Sin formación continuada en MPP para el personal sanitario. 		<ul style="list-style-type: none"> • La promoción de formación de perfiles híbridos (bioinformático clínico etc.) es un área de actuación así como al desarrollo de formación continua para el personal sanitario. • Iniciativas de comunicación que pongan en valor la formación en MPP.
<p>Colaboración público-privada</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sin iniciativas de colaboración (CPI, proyectos etc.) • Empresas biotecnológicas ámbito MPP. • Con Clúster de salud (ecosistemas con potencial para la innovación): Arahealth. 		<ul style="list-style-type: none"> • Promover iniciativas de CPI en MPP. • Aprovechamiento del clúster Arahealth como ecosistema dinamizador del emprendimiento biotecnológico regional.
<p>Grado de desarrollo</p> <ul style="list-style-type: none"> • Concentración de los elementos clave. 		

■ Concentración baja ■ Concentración media ■ Concentración alta