UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE MEDICINA

“FACTIBILIDAD DEL ANÁLISIS DE ESTRATIFICACIÓN DE RIESGO DE RECAÍDA EN ADULTOS CON LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA POR MEDIO DE UN PANEL DE SECUENCIACIÓN MASIVA”

Por

DR. ANDRES GÓMEZ DE LEÓN

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN MEDICINA

AGOSTO, 2026

"Factibilidad del Análisis de Estratificación de Riesgo de Recaída en Adultos con Leucemia Mieloblástica Aguda por Medio de un Panel de Secuenciación Masiva"

Aprobación de la tesis:

Dr. med. José Carlos Jaime Pérez

Dr. med. Oscar González Llano

Dra. med. Laura E. Martínez Garza

Dra. en C. Nidia K. Moncada Saucedo

Dra. Perla R. Colunga Pedraza

Dr. med. FELIPE ARTURO MORALES MARTÍNEZ
Subdirector de Estudios de Posgrado

DEDICATORIA Y/O AGRADECIMIENTOS

Dedicado a los pacientes y familias afectadas por leucemia aguda en nuestro país y similares, quienes sufren riesgos adicionales por los determinantes sociales y los sistemas de salud que los envuelven.

Gracias a mis pacientes del Hospital Universitario por ser mi inspiración. Al Grupo de Trabajo de Leucemias Agudas Mexicano por su confianza. A mis mentores del Servicio de Hematología de la UANL por su estímulo y soporte continuo. Al equipo del laboratorio de Hematología y del Servicio de Patología por su colaboración y hacer realidad este proyecto. A mis alumnos por ser también mis maestros. A mi familia por su amor y apoyo incondicional.

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo I Página

1. RESUMEN 1

Capítulo II

2. INTRODUCCIÓN 2

Capítulo III

3. HIPÓTESIS 4

Capítulo IV

4. OBJETIVOS 5

Capítulo V

5. MATERIAL Y MÉTODOS 6

Capítulo VI

6. RESULTADOS 14

Capítulo VII

7. DISCUSIÓN 31

Capítulo VIII

8. CONCLUSIÓN 36

Capítulo IX

9. ANEXOS 37

9.1 Financiamiento 37

Capítulo X

10. BIBLIOGRAFÍA 38

Capítulo XI

11. RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO 44

INDICE DE TABLAS

Tabla	Página
1.Características iniciales de la población incluida……	14
2. Regresión univariada de Cox para supervivencia global……	26
3. Regresión univariada de Cox para supervivencia libre de eventos…….	26
4. Costos estimados para la implementación de NGS bajo un flujo de trabajo optimizado de 64 muestras …….	29

INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Frecuencia de genes mutados detectados por secuenciación……..	18
2. Panorama genómico y citogenético de la cohorte……..	18
3. Clasificación diagnóstica y pronóstica de la cohorte……..…….	21
4. Desenlaces según los modelos de riesgo genético…….	24

LISTA DE ABREVIATURAS

Lista de Abreviaturas

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ARN: Ácido ribonucleico

Aza-Ven: Azacitidina y venetoclax

CBF: Factor de unión central (por sus siglas en inglés, *Core Binding Factor*)

ECOG: Puntuación de la escala del *Eastern Cooperative Oncology Group*

ELN: *European LeukemiaNet*

ERM: Enfermedad residual medible

FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (por sus siglas en inglés, *Food and Drug Administration*)

FLT3: Tirosincinasa 3 similar a f-ms

GTLA: Grupo de Trabajo de Leucemias Agudas

HCT-CI: Índice de comorbilidad de trasplante de células hematopoyéticas

ICC: Clasificación de Consenso Internacional

IDAC: Citarabina a dosis intermedias (por sus siglas en inglés)

Indels: Inserciones y deleciones

ITD: Duplicaciones en tándem internas (por sus siglas en inglés, *Internal Tandem Duplication*)

LLA: Leucemia linfocítica aguda

LMA: Leucemia mieloide aguda

MRC: Anomalías citogenéticas relacionadas con mielodisplasia

MRG: Anomalías genéticas relacionadas con mielodisplasia

NCCN: *National Comprehensive Cancer Network*

NGS: Secuenciación de nueva generación (por sus siglas en inglés, *Next-Generation Sequencing*)

NMP: Neoplasia mieloproliferativa

NPM1: Nucleofosmina 1

OMS: Organización Mundial de la Salud

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

PIBM: Países de ingresos bajos y medios

RC: Remisión completa

RCi: Remisión completa con recuperación hematológica incompleta

RCh: Remisión completa hematológica

RGA: Riesgo Genético Adaptado

RP: Respuesta parcial

SAMLS: Puntuación de Supervivencia en LMA (por sus siglas en inglés, *Survival AML Score*)

SD-NGS: Secuenciación dirigida de nueva generación

SG: Supervivencia global

SLE: Supervivencia libre de eventos

SMD: Síndrome mielodisplásico

SNV: Variantes de un solo nucleótido (por sus siglas en inglés, *Single Nucleotide Variant*)

TCH: Trasplante alogénico de células hematopoyéticas

TKD: Dominio tirosina cinasa (por sus siglas en inglés, *Tyrosine Kinase Domain*)

VAF: Fracción alélica de la variante (por sus siglas en inglés, *Variant Allele Frequency*)

VO: Vía oral

Capítulo I.

RESUMEN

El análisis genómico integral es esencial para la estratificación del riesgo y la toma de decisiones terapéuticas en la leucemia mieloide aguda (LMA). Sin embargo, el acceso a la secuenciación de nueva generación (NGS) sigue siendo limitado en países de ingresos bajos y medios (PIBM). Realizamos un estudio de cohorte prospectivo en un solo centro para evaluar la factibilidad de implementar una plataforma local de NGS automatizada de grado clínico para adultos con LMA en un entorno de recursos limitados. Treinta y siete adultos consecutivos con una mediana de edad de 47 años y LMA no promielocítica de recién diagnóstico se sometieron a un perfil genómico utilizando un sistema de secuenciación automatizado con un panel mieloide dirigido. Los resultados se compararon con el cariotipo disponible, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y los resultados de la secuenciación de Sanger, y la estratificación del riesgo genético se evaluó de acuerdo con los sistemas de clasificación contemporáneos. La NGS se realizó con éxito en todos los pacientes, identificando variantes patogénicas o probablemente patogénicas en todos los casos, con una mediana de 3 mutaciones por paciente. La concordancia entre la NGS y las pruebas convencionales fue del 97%. Los datos de NGS proporcionaron información potencialmente accionable clínicamente en el 78% de los casos, principalmente a través de la identificación de objetivos para la enfermedad residual medible y posibles cambios en la clasificación del riesgo genético. El panorama genómico en esta cohorte se caracterizó por una alta frecuencia de duplicaciones en tándem internas de FLT3 y mutaciones en NRAS, y una baja prevalencia de variantes asociadas a la edad como NPM1, DNMT3A y TET2. Estos hallazgos demostraron que la implementación de la NGS automatizada es técnicamente factible y ofrece resultados clínicamente útiles en un entorno con recursos limitados.

Capítulo II

INTRODUCCIÓN

La leucemia mieloide aguda (LMA) es la leucemia aguda más común en países de altos ingresos, una neoplasia frecuente que provoca la muerte de miles de pacientes, predominantemente adultos, alrededor del mundo.[1] Los desenlaces de los pacientes son influenciados por la biología de la enfermedad y su trasfondo genético, además de la clase funcional, comorbilidades y acceso al tratamiento apropiado.[2, 3] Cada factor varía de acuerdo con la población y regiones geográficas, por lo que idealmente la evidencia debe ser derivada localmente para establecer prácticas ad hoc y alcanzar los mejores desenlaces. La LMA es una enfermedad genéticamente heterogénea y sus alteraciones cromosómicas y moleculares representan factores de riesgo independientes de mortalidad importantes.

En el pasado, la citogenética convencional se ha utilizado exitosamente para categorizar pacientes en distintos grupos de riesgo, sin embargo, la mayoría son asignados a un grupo de riesgo indefinido, con un cariotipo normal o indeterminado, con un pronóstico incierto, lo que no permite guiar la terapia de manera adecuada.[4, 5] Las recomendaciones actuales incluyen realizar estudios de PCR múltiple para al menos 10 mutaciones distintas, lo que permite estratificar a una proporción de los pacientes con cariotipo normal.[5] Sin embargo, estos estudios no se encuentran accesibles para la mayoría de la población. Nuestro grupo ha participado en el estudio observacional más grande de adultos con LMA en México del Grupo de Trabajo de Leucemias Agudas (GTLA), estudiando de manera retrospectiva 525 pacientes. En la cohorte del GTLA el análisis de riesgo genético fue limitado; el cariotipo convencional se realizó en 69% de los casos y solo en el 12.2% se realizó una PCR para mutaciones en tirosincinasa 3 similar a f-ms (FLT3) y en 8.2% para nucleofosmina 1 (NPM1) resultando en un tratamiento post-remisión no informado y una supervivencia global a 3 años inferior a lo reportado en países de altos ingresos.[6]

La secuenciación masiva ha surgido como una tecnología disruptiva que puede detectar múltiples anomalías genéticas, incluyendo inserciones, deleciones, alteraciones en número de copias y permitiendo el descubrimiento de mutaciones no descritas previamente en un período mucho más corto que la secuenciación Sanger tradicional y con un menor costo por gen analizado.[7] La secuenciación masiva de todo el genoma ha demostrado que es posible estratificar pacientes con LMA en diferentes grupos genómicos mutuamente excluyentes con co-mutaciones que tienen importancia pronostica independiente.[8] En la práctica clínica actual existen varios ensayos de secuenciación dirigida de ADN y ARN (SD-NGS) comercialmente disponibles e inclusive existen recomendaciones específicas para la interpretación de los resultados de paneles de mutaciones en las guías internacionales ELN y NCCN.[5, 9], siendo considerada por algunos autores como un nuevo estándar en la evaluación diagnóstica de todos los pacientes con LMA.[10-12] En contraparte, la mayoría de los paneles de SD-NGS están dirigidos hacia docenas o centenas de genes que no son exclusivos para LMA, incluyen otras mutaciones presentes en distintas enfermedades como neoplasias mieloproliferativas o linfoides, e incluyen múltiples mutaciones no accionables que tienen una relevancia pronostica incierta, con la detección frecuente de múltiples clonas con frecuencias alélicas variantes (VAF) que pueden complicar la toma de decisiones.[12-14]

Resulta relevante mencionar que el beneficio de la NGS en la mejora de toma de decisiones terapéuticas no se ha confirmado en un ensayo clínico aleatorizado, por lo que es trascendente estudiar la factibilidad de realizar el estudio de NGS y evaluar su impacto para la toma de decisiones de tratamiento en nuestros pacientes con LMA.

Capítulo III

HIPÓTESIS

Hipótesis nula:

La implementación de un panel de secuenciación de nueva generación dirigida no es factible ni aporta información clínicamente útil para la estratificación genética, reclasificación de riesgo o identificación de alteraciones accionables en pacientes adultos con leucemia mieloide aguda no promielocítica atendidos en un entorno de recursos limitados.

Hipótesis alterna:

La implementación de un panel de secuenciación de nueva generación dirigida es factible y aporta información clínicamente útil para la estratificación genética, reclasificación de riesgo e identificación de alteraciones accionables en pacientes adultos con leucemia mieloide aguda no promielocítica atendidos en un entorno de recursos limitados.

Capítulo IV

OBJETIVOS

Objetivo general

Crear una cohorte prospectiva y observacional de adultos con LMA para documentar la factibilidad del análisis de mutaciones por medio de un panel de SD-NGS y establecer su correlación con las características y desenlaces clínicos.

Objetivos particulares

Implementar la metodología SD-NGS para LMA en nuestro centro.
Describir las mutaciones más frecuentes en nuestra población.
Describir la asociación de las mutaciones con las características clínicas al diagnóstico.
Determinar la frecuencia del cambio de estratificación de riesgo de acuerdo con los criterios internacionales ELN 2022 y ELN 2024 informado por SD-NGS y su modificación terapéutica potencial.
Documentar la asociación entre la SD-NGS y los desenlaces, incluyendo respuesta al tratamiento, supervivencia libre de evento y supervivencia libre de progresión.

Capítulo V

MATERIAL Y MÉTODOS

El diseño correspondió a un estudio de cohorte prospectivo, observacional, no ciego, de un solo centro diseñado para determinar la factibilidad de implementar la NGS en un laboratorio de referencia para pacientes con LMA no promielocítica y correlacionar los hallazgos con los desenlaces clínicos en un entorno de recursos limitados. El centro de reclutamiento fue el Servicio de Hematología de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González, de la Universidad Autónoma de Nuevo León en la ciudad de Monterrey, México. En esta institución los pacientes carecen casi de forma universal de cobertura de seguro público o privado. Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación institucional con la clave HE21-00002 y se realizó de acuerdo con la Declaración de Helsinki. Se requirió y obtuvo el consentimiento informado para la inscripción.

Criterios de Inclusión y Exclusión

Se evaluaron pacientes mayores de 18 años con LMA de recién diagnóstico entre 2021 y 2022, de acuerdo con los criterios diagnósticos de la Organización Mundial de la Salud de 2016 atendidos en nuestra institución.[15–17] Se incluyeron pacientes si eran candidatos para recibir cualquier tipo de tratamiento. También se incluyeron pacientes con LMA secundaria tras una neoplasia mielodisplásica o mielodisplásica-mieloproliferativa. Se excluyeron los pacientes diagnosticados y tratados inicialmente en otra institución, los diagnosticados con leucemia linfocítica aguda (LLA), fenotipos mixtos o bilineales, los pacientes diagnosticados con sarcoma mieloide sin infiltración de médula ósea, o aquellos diagnosticados con leucemia promielocítica aguda sospechada por morfología o confirmada mediante FISH o PCR para la translocación PML::RARA. Se eliminaron los pacientes sin información clínica completa al diagnóstico o aquellos que decidieron continuar su tratamiento de inducción en otra institución.

A los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, se les invitó a participar en el estudio, dándoles la información acerca del mismo y a los interesados se les realizó el procedimiento de consentimiento informado de acuerdo con las Buenas Prácticas Clínicas y al Reglamento de Investigación de la Facultad de Medicina y el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”. Posterior a la inclusión de los pacientes en el estudio y de haber obtenido su consentimiento informado, se realizó un aspirado de médula ósea, procedimiento que es parte de la estrategia diagnóstica convencional y considerado el estándar internacional. Se realizó la extracción de 4 cc de sangre de médula ósea que se distribuyeron en un tubo con EDTA y otro con heparina para la realización de los estudios de citometría de flujo y cariotipo de médula ósea, respectivamente. Como parte del estudio de investigación se extrajeron 8 mL adicionales de sangre de médula ósea que fueron colocados en dos tubos con EDTA, sin implicar la realización de una punción adicional al paciente y por lo tanto de riesgo mínimo. Cuando no fue posible obtener una muestra o al realizar un aspirado no exitoso, una muestra de sangre periférica obtenida por medio de una venopunción convencional fue considerada aceptable, siempre y cuando el paciente tenía una cuenta de leucocitos mayor a 1000 células por µL en la biometría hemática.

Procedimientos diagnósticos estándar para LMA

El diagnóstico de LMA se confirmó mediante citometría de flujo utilizando los criterios Euroflow[13] empleando un citómetro FACSCanto™ II (BD Biosciences, Nueva Jersey, Estados Unidos). El cariotipo convencional de médula ósea con bandeo G y el ensayo de mutación FLT3 LeukoStrat® CDx FLT3 se realizaron en laboratorios externos (Laboratorios Mendel, Morelia, México y Quest Diagnostics, Nueva Jersey, Estados Unidos, respectivamente). También se utilizaron pruebas de RT-PCR múltiple con HemaVision®28Q (DNA Diagnostics, Risskov, Dinamarca) para los transcritos de fusión comunes.

Secuenciación de nueva generación

El ADN y ARN genómicos se obtuvieron de forma prospectiva al diagnóstico de LMA a partir de aspirados de médula ósea (4 mL). En casos de aspirado seco, la sangre venosa periférica fue aceptable cuando el conteo de leucocitos superó los 10.000/µL (4 mL). El ARN total se extrajo utilizando el kit Monarch® Total RNA Miniprep (New England Biolabs, Ipswich, MA, EE. UU.), incluyendo la depleción del ADN genómico. El ADN genómico se extrajo utilizando el kit QIAamp DNA Blood Mini (QIAGEN, Hilden, Alemania) basado en la purificación por membrana de sílice. La pureza de los ácidos nucleicos se evaluó por espectrofotometría y fluorometría y se normalizó según las cantidades de entrada recomendadas por el ensayo antes de la secuenciación. La NGS dirigida se realizó en el secuenciador integrado Ion Torrent™ Genexus™ completamente automatizado (Thermo Fisher Scientific) con el Oncomine™ Myeloid Assay GX v2 con perfilado integrado de ADN/ARN, incluyendo la detección de SNV/indels clínicamente relevantes y fusiones de ARN cubiertas por el panel. La calidad de la corrida y de la muestra se evaluó utilizando las métricas de control de calidad definidas por el fabricante. El llamado de variantes y el reporte se generaron automáticamente por la plataforma Genexus™ a través del flujo de trabajo de reporte específico del ensayo Oncomine™, produciendo un reporte estandarizado de variantes Oncomine™ (Oncomine™ Variant Report y Run Report) enfocado en genes relevantes para LMA cubiertos por el ensayo (45 genes de ADN y 34 impulsores de fusión de ARN). Todos los resultados de la secuenciación fueron revisados por personal experto del laboratorio molecular y hematólogos antes de la interpretación clínica posterior y la incorporación en los análisis de clasificación genética y estratificación del riesgo. La prueba de NGS se realizó a partir de muestras de biobanco y no se utilizó para guiar la terapia en tiempo real.

Protocolo de tratamiento

Los pacientes menores de 70 años fueron evaluados para determinar su idoneidad para recibir quimioterapia intensiva utilizando los criterios de Ferrara y el juicio clínico. A los que eran aptos para quimioterapia intensiva se les ofrecieron variaciones del régimen 7+3: mitoxantrona 20 mg/m^2 durante 3 días más citarabina 200 mg/m^2 durante 7 días, o el régimen "5+3" de 5 días de citarabina 1.5 g/m^2 durante 5 días. A los pacientes que no eran aptos para quimioterapia intensiva se les ofreció azacitidina 75 mg/m^2 durante 7 días y venetoclax 100 mg más itraconazol 100 mg vía oral (VO) cada 12 horas (Aza-Ven) como se ha descrito previamente.[19] A partir de 2022, todos los pacientes pudieron recibir Aza-Ven independientemente de su idoneidad para la quimioterapia intensiva en el contexto de un ensayo clínico. Ni gilteritinib ni los inhibidores de IDH1 estaban disponibles en el país, y midostaurina y sorafenib no estaban disponibles en nuestro sistema de salud durante la realización de este estudio. Las respuestas se definieron de acuerdo con los criterios de la ELN. La enfermedad residual medible (ERM) se evaluó mediante citometría de flujo multiparamétrica siguiendo los criterios estándar.[21] La consolidación del tratamiento para los pacientes en remisión que habían recibido terapia intensiva fue citarabina a dosis intermedias y trasplante alogénico de células hematopoyéticas (TCH) para los pacientes con estado de riesgo alto, intermedio o desconocido de la ELN (cariotipo normal, resultados de NGS no disponibles), dado que los resultados de las pruebas de NGS no estaban disponibles en tiempo real. El equipo médico tratante decidía si los pacientes que recibieron Aza-Ven y lograron la remisión procedían a TCH, consolidación con IDAC o ciclos adicionales de Aza-Ven, según los recursos disponibles.

Cuidados de soporte y seguimiento

Los pacientes con LMA diagnosticados en un entorno ambulatorio podían recibir terapia de inducción en nuestra unidad de hematología ambulatoria, incluyendo Aza-Ven y quimioterapia intensiva. Del mismo modo, la consolidación también se realizó de forma ambulatoria. Los pacientes que experimentaron complicaciones o fueron diagnosticados en el hospital recibieron atención de inducción en una habitación hospitalaria convencional e individual, sin presión positiva ni sistemas independientes de filtración de aire o agua. La profilaxis antibiótica incluyó levofloxacino 500 mg VO cada 24 horas, itraconazol 100 mg VO cada 12 horas, aciclovir 400 mg VO cada 12 horas y trimetoprima/sulfametoxazol 160/800 mg tres veces por semana. El soporte transfusional se realizó según fue necesario, excepto por las aféresis de plaquetas que no están disponibles fácilmente, dependiendo de concentrados plaquetarios.

Desenlaces y definiciones

Las anomalías genómicas observadas en la NGS se correlacionaron con los resultados de las pruebas de PCR realizadas en cada paciente y se estratificaron según los criterios ELN 2022, ELN 2024 y la evaluación del Riesgo Genético Adaptado (RGA).[22,23,24] Nuestro desenlace primario fue la factibilidad, definida como la estratificación del 86% de los pacientes de acuerdo con los criterios ELN 2022 con los datos obtenidos a través de los resultados de NGS. La utilidad clínica hipotética de los datos de NGS en nuestra cohorte se determinó post hoc cuando: 1. Ocurrió una reclasificación al alza en la estratificación de la ELN, lo que llevó a una recomendación potencial de realizar un TCH, o una reclasificación a la baja a un riesgo favorable, lo que llevó a la recomendación de no realizar un TCH en RC1. 2. Se encontraron mutaciones con terapias dirigidas existentes aprobadas por la Administración de Alimentos y Medicamentos en Estados Unidos (FDA) para la LMA. 3. Se documentaron objetivos para el monitoreo de la ERM por PCR, incluyendo translocaciones de FLT3, NPM1, factor de unión central (CBF) y KMT2A.

La estratificación genética se asoció con la supervivencia global (SG) y la supervivencia libre de eventos (SLE).

Análisis estadístico

Se utilizó estadística descriptiva para describir la población de pacientes. La concordancia entre la NGS y el cariotipo disponible, la PCR y los resultados de secuenciación de Sanger se calculó mediante el porcentaje de acuerdo, la k de Cohen y la prueba de McNemar. El método de Kaplan-Meier se utilizó para el análisis de supervivencia, así como un análisis univariado con regresión de Cox para determinar la influencia de la estratificación genética en la SG y la SLE. No se intentó realizar un análisis multivariado debido al tamaño limitado de la muestra. El tamaño de nuestra muestra se estimó mediante un muestreo de conveniencia no probabilístico basado en casos consecutivos durante un período de inscripción de 2 años. Se planeó reclutar pacientes durante 2 años, estimando una n=24 de acuerdo con el número de pacientes diagnosticados con LMA en nuestro centro en los 2 años previos al inicio del estudio, estimando una tasa de inclusión en el estudio del 80%. La factibilidad fue demostrada al estratificar 20 pacientes (85%) de acuerdo con los criterios ELN 2022 con la información obtenida por SD-NGS.

Análisis de costos

Desde el punto de vista operativo, la implementación de la NGS en la leucemia mieloide aguda (LMA) está determinado en gran medida no solo por la disponibilidad de la plataforma, sino también por el rendimiento de las muestras y el uso eficiente de los reactivos de secuenciación, lo que en última instancia impulsó el costo por paciente. Los costos de implementación se estimaron bajo un flujo de trabajo optimizado de 64 muestras diseñado para maximizar la utilización de reactivos a lo que se refiere a corridas de secuenciación secuenciales. La utilización de reactivos se optimizó distribuyendo las muestras en múltiples corridas (8 muestras por carril; 4 carriles por chip), lo que permitió el uso de los reactivos restantes en corridas

subsecuentes dentro de su ventana de estabilidad. Bajo estas condiciones, se requirió de un rendimiento mínimo de aproximadamente 16 pacientes cada dos semanas para evitar la pérdida de reactivos y mantener la rentabilidad.

Fuente de financiamiento

Los costos derivados del estudio se concentraron en la obtención de muestra de aspiración de médula ósea y en el análisis de secuenciación masiva. Para realizar el estudio contamos con los recursos obtenidos por la subvención “Global Research Award” de $24,000 USD concedidos al tesista por la American Society of Hematology. El resto de los costos fueron financiados con recursos propios del Servicio de Hematología.

Confidencialidad y protección de datos

Los participantes tuvieron el derecho de controlar el uso de sus datos personales de acuerdo con la Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posición de Particulares, así mismo de solicitar el acceso, corrección y oposición de su información personal. La Facultad de Medicina y Hospital Universitario, así como el Investigador fueron los responsables de salvaguardar la información de acuerdo con las regulaciones locales. La información personal acerca de la salud y del tratamiento de los pacientes del estudio podrá procesarse o transferirse a terceros en otros países para fines de investigación y de reportes de seguridad, incluyendo agencias reguladoras locales (Secretaría de Salud, a través de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios), así como al Comité de Ética en Investigación y al Comité de Investigación de nuestra Institución. Para los propósitos de este estudio, autoridades sanitarias como la Secretaría de Salud y el Comité de Ética en Investigación y/o el Comité de Investigación de nuestra Institución, podrán inspeccionar los expedientes clínicos, incluso los datos que fueron recabados antes del inicio de su participación, los cuales pueden incluir nombre, domicilio u otra información personal.

Capítulo VI

RESULTADOS

Características iniciales

Se incluyeron treinta y siete pacientes consecutivos, 21 (57%) mujeres y 16 (43%) hombres. La mayoría eran adultos jóvenes (24 menores de 60 años), sin comorbilidades (HCT-CI 0-1 = 89%), diagnosticados con LMA *de novo* con una alta carga de enfermedad y cariotipos intermedios (Tabla 1). Las pruebas de PCR al diagnóstico revelaron la translocación t(8;21) en n=1 paciente (3%), n=5 pacientes con mutaciones FLT3 ITD (13%) y n=1 paciente con una mutación NPM1 (3%).

Tabla 1. Características iniciales de la población incluida.

Variable	Subgrupos, unidades	N o Mediana	% (rango)
Edad	Años (Mediana)	47	(20-80)
Sexo	Femenino	21	57%
	Masculino	16	43%
HCT-CI	0	22	59%
	1	11	30%
	≥2	4	11%
ECOG	0-1	23	62%
	2	12	32%
	3-4	2	6%
Hemoglobina	g/dL	7.52	3.80-12.20
Leucocitos (WBC)	células/μL (Mediana)	44,100	1300-372000
Plaquetas	células/μL (Mediana)	39,000	6000-352000
Albúmina	g/dL (Mediana)	3.90	1.40-5.10

Variable	Subgrupos, unidades	N o Mediana	% (rango)
Tipo de LMA	De novo	33	87%
	SMD (MDS)	3	8%
	NMP (MPN)	2	5%
Cariotipo	Favorable	1	3%
	Intermedio	19	51%
	Adverso	6	16%
	Desconocido	11	30%
OMS 2022	Definida por anomalías genéticas	26	70%
	CBFB::MYH11	1	3%
	CEBPA	1	3%
	DEK::NUP	2	5%
	NPM1	6	16%
	NUP98	5	13%
	RUNX1:RUNX1T1	1	3%
	Relacionada con mielodisplasia	10	29%
	Definida por diferenciación	11	29%
	Mielomonocítica	1	3%
	Monocítica	5	14%
	Diferenciación mínima	3	8%
	Con diferenciación	2	5%
ICC 2022	CBFB::MYH11	1	3%
	CEBPA	1	3%
	DEK::NUP	2	5%
	NPM1	6	16%
	NUP98	5	14%
	RUNX1::RUNX1T1	1	3%
	Anomalías citogenéticas rel. con mielodisplasia (MRC)	4	11%

Variable	Subgrupos, unidades	N o Mediana	% (rango)
	Anomalías genéticas rel. con mielodisplasia (MRG)	4	11%
	TP53 mutado	3	8%
	No especificado de otra manera	10	27%

Abreviaturas: HCT-Ci: índice de comorbilidad de trasplante de células hematopoyéticas; ECOG: puntuación del Eastern Cooperative Oncology Group; WBC: leucocitos; LMA: leucemia mieloide aguda; SMD (MDS): síndrome mielodisplásico; NMP (MPN): neoplasia mieloproliferativa; OMS (WHO): Organización Mundial de la Salud; ICC: Clasificación de Consenso Internacional; MRC: anomalías citogenéticas relacionadas con mielodisplasia; MRG: anomalías genéticas relacionadas con mielodisplasia.

Factibilidad y utilidad clínica de la NGS

La prueba de NGS se realizó con éxito en la plataforma Genexus en todos los pacientes (100%). Utilizando el flujo de trabajo de reporte específico del ensayo, se identificó al menos una alteración molecular reportable en todos los casos, con una mediana de 3 mutaciones patogénicas por paciente (rango 1-6). Las alteraciones se distribuyeron en las categorías principales de la siguiente manera: n=28 (76%) SNV/indels de puntos calientes (hotspots), n=21 (57%) variantes truncas n=15 (37.8%) mutaciones de FLT3 y n=10 (27.0%) fusiones genéticas. Los genes más frecuentemente implicados fueron: FLT3 n=15 (41%), incluyendo FLT3-ITD en n=14 (38%) y n=1 variante de FLT3 no ITD, no TKD (3%), NRAS n=8 (22%), IDH2 n=6 (16%), WT1 n=6 (16%), NPM1 n=5 (14%), DNMT3A n=5 (13.5%), PTPN11 n=5 (13.5%), NUP98 n=5 (14%), IDH1 n=4 (11%) y TET2 n=4 (11%). Notablemente, no se encontraron casos con mutaciones FLT3 TKD. Entre las variantes/fusiones recurrentes y claramente definidas, las más comunes fueron: NPM1 W288Cfs*12 n=5 (13.5%), IDH2 R140Q n=5 (13.5%), DNMT3A R882H n=4 (10.8%), NRAS G12D n=4 (10.8%) y la fusión NUP98–NSD1 n=5 (13.5%). Las fusiones adicionales incluyeron DEK–NUP214 (n=2, 5.4%), CBFB–MYH11 (n=1, 2.7%) y RUNX1–RUNX1T1 (n=1, 2.7%). Se identificaron alteraciones patogénicas en TP53 en n=3 casos (8.1%), incluyendo un caso con dos alteraciones en TP53 (una mutación de sentido erróneo en un punto caliente más una alteración trunca), consistente con un

patrón multi-hit. Entre los 14 casos positivos para FLT3-ITD, las coalteraciones frecuentes incluyeron: n=5 IDH2, n=4 NRAS, n=4 WT1, n=3 NPM1, n=3 DNMT3A, n=3 NUP98 (incluyendo los casos de fusión NUP98–NSD1). En todas las variantes reportadas por ADN con métricas cuantitativas disponibles (n=148 llamadas de variantes con frecuencia alélica y profundidad de lectura efectiva disponibles), la mediana de la profundidad de lectura efectiva fue de 1990×, proporcionando confianza analítica para la detección de variantes en un amplio rango de fracciones alélicas. Las distribuciones de la fracción alélica de la variante (VAF) respaldaron la heterogeneidad clonal entre las muestras: las variantes de puntos calientes mostraron una mediana de VAF del 34.0%, mientras que las variantes truncas mostraron una mediana de VAF menor del 26.1%. Los pacientes con eventos FLT3-ITD por encima de un umbral de VAF del 5% tuvieron una mediana de carga alélica del 29,7%. Sin embargo, los eventos FLT3-ITD se detectaron con frecuencia en fracciones alélicas bajas, con una mediana de VAF del 0.7% (RIC 0.35–1.65%), lo que concuerda con una carga clonal variable y una subclonación común al momento del diagnóstico. En la Figura 1 se presenta un gráfico de circos que destaca las mutaciones más comunes en cada grupo citogenético.

Figura 1. Frecuencia de genes mutados detectados por secuenciación.

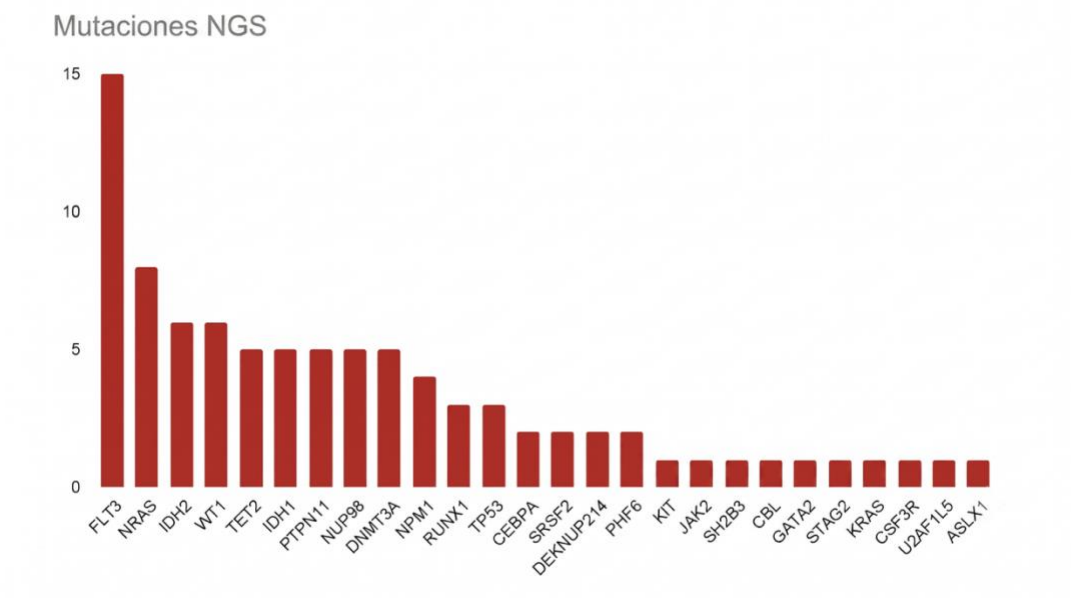


Figura 2. Panorama genómico y citogenético de la cohorte.

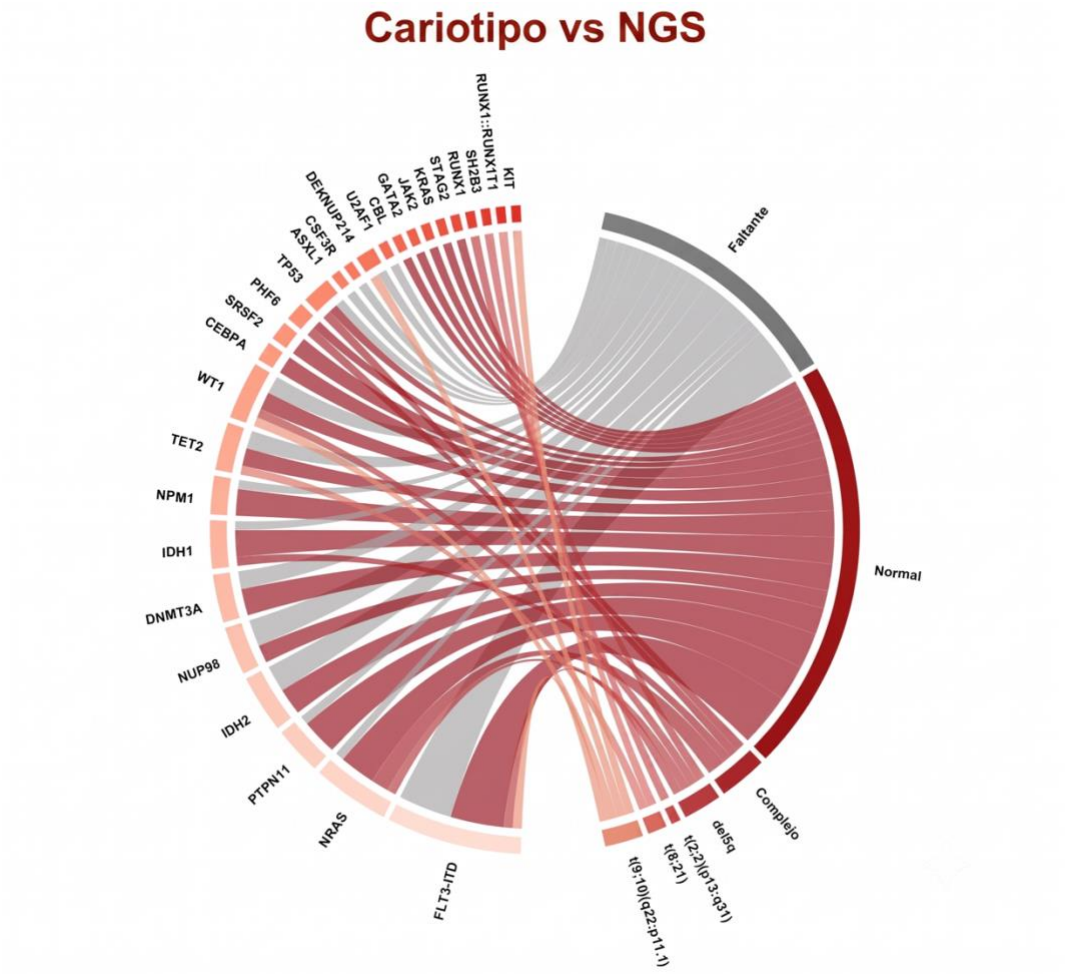


Gráfico de Circos que ilustra la relación entre las categorías de riesgo citogenético (semicírculo derecho) y las mutaciones somáticas recurrentes identificadas por NGS (semicírculo izquierdo) en 37 adultos mexicanos con leucemia mieloide aguda. El ancho de las cintas representa la frecuencia de coocurrencia. El sector "Citogenética faltante" resalta los casos en los que la NGS permitió la caracterización molecular a pesar de un cariotipo convencional no disponible o fallido. También se visualizan asociaciones biológicas conocidas, como las mutaciones en TP53 con cariotipo complejo.

Concordancia de la NGS con las pruebas convencionales

Un total de 114 hallazgos moleculares pareados evaluados por cariotipo, PCR, secuenciación de Sanger y NGS fueron evaluables para el análisis de concordancia. Se observaron seis hallazgos positivos y 104 negativos tanto por pruebas moleculares convencionales como por NGS. Los resultados discordantes ocurrieron en 4 casos: en 1 caso de una mutación NPM1 documentada por PCR pero negativa por NGS, y 3 mutaciones positivas por NGS pero negativas por PCR (2 en el gen FLT3 y 1 en el gen NPM1). El porcentaje de acuerdo general de la NGS con las pruebas convencionales fue del 97%, con un porcentaje de acuerdo positivo del 85% y un porcentaje de acuerdo negativo del 97% (k de Cohen 0.73, $p < 0.001$; prueba de McNemar $p = 0.63$).

Utilidad clínica

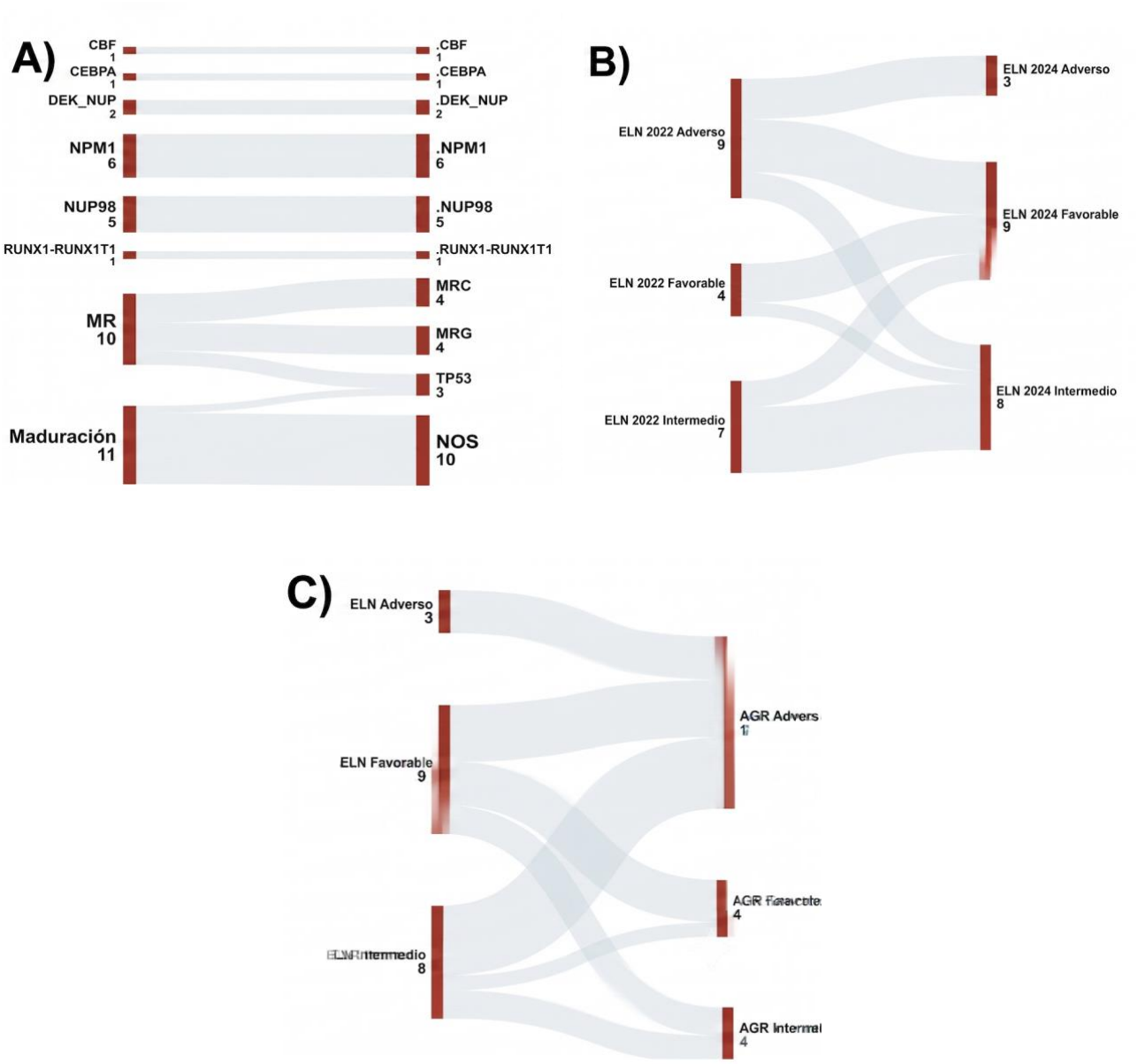
En general, la NGS proporcionó información potencialmente útil clínicamente en 29 pacientes (78%). Esta información consistió en la detección de alteraciones genéticas que podrían seguirse como objetivos validados de ERM en n=18 (49%); podrían dar lugar a una reclasificación al alza del riesgo y a la indicación de un TCH alogénico de consolidación en n=15 (40%); o podrían dar lugar a una reclasificación a la baja del riesgo a enfermedad favorable y excluir el TCH en primera línea en n=3 (8%). En n=21 casos (57%) se encontraron mutaciones accionables con medicamentos aprobados por la FDA, entre los cuales los inhibidores de FLT3 comercialmente disponibles en México habrían sido apropiados en n=14 (38%). Excluyendo las mutaciones de FLT3, la NGS proporcionó información potencialmente útil clínicamente para 24 pacientes (65%): en n=7 a través de objetivos de ERM validados (19%), n=11 (30%) a través de la reclasificación a la

baja o al alza de los estratos de riesgo y n=13 (35%) a través de medicamentos dirigidos aprobados, incluidos los inhibidores de IDH y de menina.

Clasificación diagnóstica y estratificación del riesgo

La mayoría de los pacientes se clasificaron como LMA OMS 2022 con anomalías genéticas definitorias (n=26, 70%), siendo el subgrupo relacionado con mielodisplasia el más común (n=10, 27%), seguido de NPM1 (n=6, 16%) y reordenamientos de NUP98 (n=5, 13.5%). Once pacientes fueron clasificados como definidos por diferenciación (30%). Según la ICC 2022, n=10 tenían cambios relacionados con mielodisplasia, la mitad tenía anomalías citogenéticas relacionadas con mielodisplasia y n=4 mutaciones genéticas relacionadas con mielodisplasia, mientras que 3 pacientes se clasificaron como LMA con mutación en TP53 (Figura 2, Panel A). Con respecto a la estratificación del riesgo, la mayoría de los pacientes se clasificaron como riesgo intermedio ELN 2022 (n=17), seguido de riesgo adverso (n=13). Los pacientes de riesgo adverso fueron impulsados principalmente por alteraciones relacionadas con mielodisplasia (n=8), mutaciones en TP53 (n=3) y translocaciones DEK-NUP (n=2). Considerando las mutaciones de FLT3 como de alto riesgo, dada la falta de acceso a los inhibidores de FLT3, n=6 pacientes fueron reclasificados al alza a alto riesgo en el RGA (51%). La adición de las puntuaciones de leucocitos (WBC) y albúmina al RGA dio como resultado que 28 pacientes fueran asignados a la categoría de alto riesgo (76%) y solo 9 a la de bajo riesgo (24%). Por el contrario, los pacientes de riesgo favorable (n=7) fueron impulsados por mutaciones en NPM1 (n=4) con casos únicos de mutaciones en CEBPA y translocaciones del factor de unión central CBFB-MYH11 y RUNX1 (Figura 2, Panel B). En cambio, en los 20 pacientes que recibieron Aza-Ven, la estratificación del riesgo ELN 2024 situó a la mayoría de los pacientes en las categorías de riesgo intermedio y favorable (n=9, 45% y n=8, 40%); al ajustar por la falta de acceso a los inhibidores de IDH1, n=3 pacientes fueron reclasificados al alza a riesgo intermedio (15%) (Figura 2, Panel C).

Figura 3. Clasificación diagnóstica y pronóstica de la cohorte.



(A) Categorías diagnósticas de la OMS 2022 e ICC 2022.

(B) Estratificación del riesgo genético ELN 2022, incluyendo el modelado adaptado de los casos con mutación en FLT3 como de alto riesgo debido a la falta de acceso a los inhibidores de FLT3.

(C) Estratificación del riesgo ELN 2024 en pacientes tratados con Aza-Ven, incorporando la disponibilidad terapéutica local.

Desenlaces clínicos

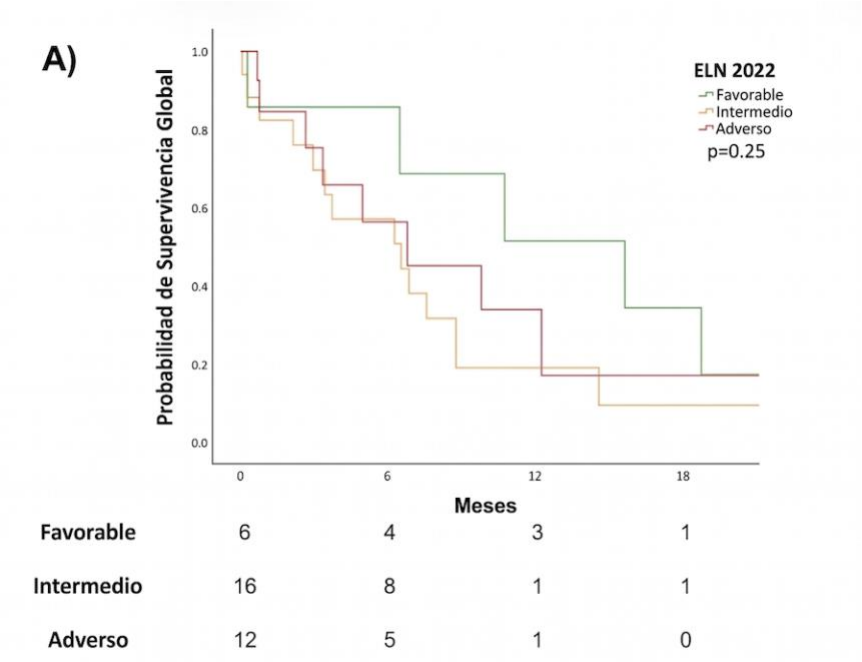
En cuanto a la terapia inicial, n=17 recibieron Aza-Ven (46%), n=17 recibieron quimioterapia intensiva (46%) y n=3 recibieron citarabina a dosis bajas o cuidados paliativos únicamente (8%). Los pacientes que recibieron quimioterapia intensiva tuvieron una tasa de RC/RCi/RCh del 53% (n=9), la mayoría fueron RC (n=8), mientras que el 24% fueron refractarios y otro 24% experimentó mortalidad temprana (n=4, respectivamente). Un paciente adicional logró una RCh después de una segunda inducción. Los pacientes que recibieron Aza-Ven tuvieron una tasa de RC/RCi/RCh del 41% después del primer ciclo (n=7), con 3 RC. Cuatro pacientes fueron refractarios (24%), n=4 tuvieron una RP (24%), solo 1 paciente tuvo mortalidad temprana y 1 paciente no fue evaluado (6%, respectivamente). Al final del ciclo 2, los pacientes con Aza-Ven tuvieron respuestas más profundas con una tasa de RC/RCi/RCh del 47% (n=8), con n=5 RC, aunque el 22% permaneció refractario (n=4). Cinco pacientes se consolidaron con TCH alogénico en primera remisión (14%); durante el seguimiento, n=13 pacientes recayeron (35%). La mediana de SG fue de 6.8 meses (IC del 95%: 5.4-8.2) y la mediana de SLE fue de 4 meses (IC del 95%: 1.2-6.9).

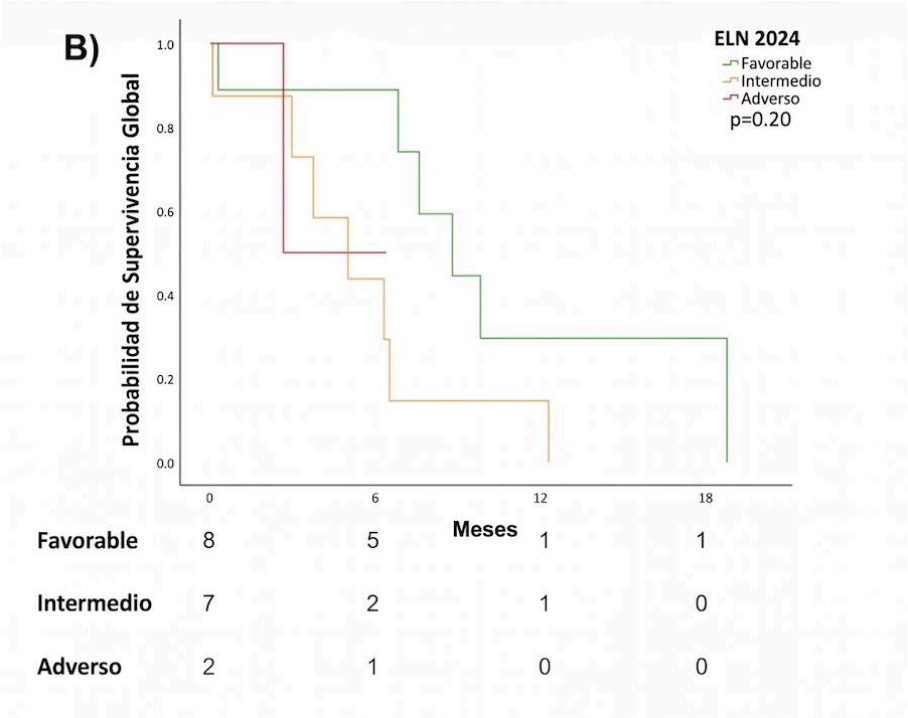
La SG no fue estadísticamente diferente entre las categorías de la ELN 2022 (Figura 3, Panel A), lo cual no cambió al considerar a los pacientes con mutación en FLT3 como de alto riesgo, ni al restringir el análisis a los pacientes tratados con quimioterapia intensiva (Figura 3, Panel D). Los pacientes con riesgo favorable tuvieron una mediana de SG de 15.6 meses (IC del 95%: 5.4-25.8), en comparación con los pacientes con riesgo intermedio o alto (6.6 meses [IC del 95%: 1.1-12] y 6.8 meses [IC del 95%: 0.3-13.4] meses, respectivamente) (p=0.2). Los pacientes con riesgo favorable tuvieron una mediana de SG de 8.8 meses (IC del 95%: 5.6-11.8) frente a 4.9 meses para el riesgo intermedio (IC del 95%: 1.8-8.1) y 2.5 meses para el alto riesgo (IC del 95% no calculable) (P=.2).

Utilizando el modelo SAMLS, los pacientes de bajo riesgo tuvieron una mediana de SG de 15.6 meses (IC del 95%: 0-35.8) frente a 6.6 meses para los pacientes de alto riesgo (IC del 95%: 2.9-10.1) (p = 0.06). Para los pacientes que recibieron Aza-Ven, las diferencias en la SG no fueron estadísticamente diferentes entre las categorías de la ELN 2024 (Figura 3, Panel B). La regresión univariada de riesgos proporcionales de Cox para la SG reveló que la mayor edad y un ECOG más alto se asociaron negativamente con la supervivencia, mientras que los modelos ELN y RGA no lo hicieron.

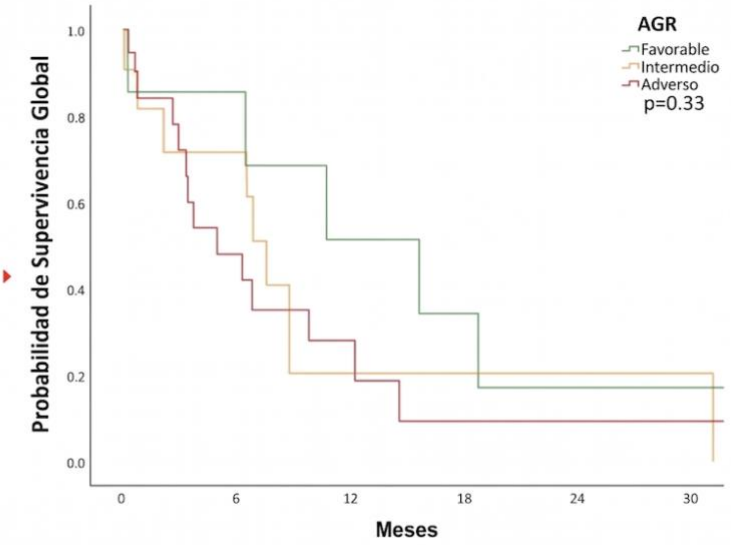
Del mismo modo, las tasas de SLE no fueron diferentes entre las categorías de la ELN 2022 en general, ni cuando se consideró a los pacientes con mutación en FLT3 como de alto riesgo. Para los pacientes que recibieron Aza-Ven ELN 2024, la mediana de SLE fue de 6.3 meses para el bajo riesgo (IC del 95%: 0.8-11.8) frente a 2.9 meses (IC del 95%: 1.2-4.5) para el riesgo intermedio y 2.7 meses para el alto riesgo (IC del 95% no calculable) (P=.6). En la regresión univariada de riesgos proporcionales de Cox, solo el ECOG se asoció con la SLE. La adición de variables clínicas en el modelo RGA no diferenció más los desenlaces entre los grupos de bajo y alto riesgo. En la regresión univariada de riesgos proporcionales de Cox, solo el ECOG se asoció con la SLE. Al último seguimiento, 29 pacientes habían fallecido (76%), n=19 debido a complicaciones tras una enfermedad refractaria en recaída (50%) y n=10 debido a eventos de mortalidad no relacionada con la recaída (26.3%), principalmente infecciones y hemorragias.

Figura 4. Desenlaces según los modelos de riesgo genético.



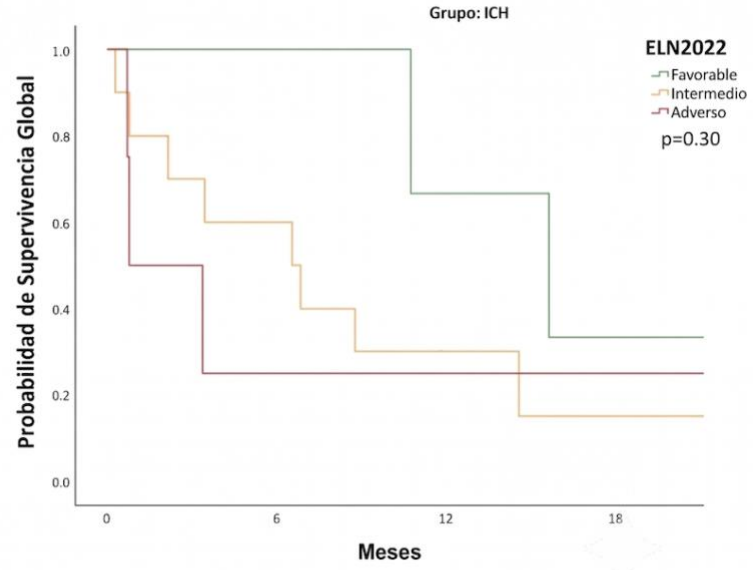


C)



Favorable	6	4	2	1	1	1
Intermedio	10	7	2	2	2	2
Adverso	12	13	4	2	1	1

D)



Favorable	2	2	1	1
Intermedio	9	5	2	1
Adverso	3	1	1	1

Supervivencia global (SG) y supervivencia libre de eventos (SLE) según los modelos de estratificación de riesgo genético. Se muestran las estimaciones de Kaplan-Meier para las clasificaciones ELN 2022, riesgo genético adaptado (RGA) y ELN 2024. Las diferencias entre los grupos no alcanzaron significancia estadística en la mayoría de los modelos, lo que refleja el tamaño limitado de la muestra y el acceso restringido a terapias adaptadas al riesgo.

Tabla 2. Regresión univariada de Cox para la supervivencia global

Variable	Subgrupos	HR	IC 95%	P
Edad	Continua	1.03	1.0-1.1	0.016
ECOG	0-1	1	Referencia	
	≥2	3.3	1.4-7.6	0.005
HCT-CI	0	1	Referencia	
	≥1	1.2	0.6-2.7	0.6
Leucocitos (WBC)	Continua	1	Referencia	
Albúmina (Alb)	Continua	0.98	0.96-0.99	0.03
ELN 2022	Favorable	1	Referencia	
	Intermedio	2.4	0.8-6.7	0.11
	Alto	1.7	0.6-5.2	0.33
ELN 2022 FLT3	Favorable	1	Referencia	
	Intermedio	1.5	0.5-4.3	0.5
	Alto	1.8	0.7-4.7	0.24
SAMLS	Bajo	1	Referencia	
	Alto	2.5	0.9-6.4	0.07
ELN 2024	Favorable	1	Referencia	
	Intermedio	2.9	0.9-9.7	0.08
	Alto	2.4	0.2-23.4	0.46

Abreviaturas: ELN: European LeukemiaNet; SAMLS: Survival AML Score (Puntuación de Supervivencia en LMA).

Tabla 3. Regresión univariada de Cox para supervivencia libre de eventos

Variable	Subgrupos	HR	IC 95%	P
Edad	Continua	1.016	0.1-1.0	0.12
ECOG	0-1	1	Referencia	

	≥2	3.3	1.4-7.6	0.005
HCT-CI	0	1	Referencia	
	≥1	1.2	0.6-2.7	0.6
Leucocitos (WBC)	Continua	1	1.0-1.0	0.01
Albúmina (Alb)	Continua	0.98	0.96-0.99	0.1
ELN 2022	Favorable	1	Referencia	0.33
	Intermedio	2.4	0.8-6.7	0.11
	Alto	1.7	0.6-5.2	0.33
ELN 2022 FLT3	Favorable	1	Referencia	0.24
	Intermedio	1.5	0.5-4.3	0.5
	Alto	1.8	0.7-4.7	0.24
SAMLS	Bajo	1	Referencia	
	Alto	2.5	0.9-6.4	0.07
ELN 2024	Favorable	1	Referencia	
	Intermedio	2.9	0.9-9.7	0.08
	Alto	2.4	0.2-23.4	0.46

Abreviaturas: ELN: European LeukemiaNet; SAMLS: Survival AML Score (Puntuación de Supervivencia en LMA).

Costos de implementación de las pruebas de NGS dirigidas en LMA

Desde el punto de vista operativo, la implementación de la NGS en la LMA estuvo determinada en gran medida no solo por la disponibilidad de la plataforma, sino también por el rendimiento de las muestras y el uso eficiente de los reactivos de secuenciación, lo que en última instancia impulsó el costo por paciente.

Análisis de costos

Los costos de los reactivos de secuenciación se derivaron de una cotización actual del proveedor e incluyen los impuestos aplicables ($63,838.35 USD). La extracción manual de ácidos nucleicos (ADN y ARN) se estimó en $56.14 USD por muestra. Los costos de mano de obra se calcularon asumiendo un profesional de laboratorio

capacitado con un salario total de $2,919.43 USD durante un período de 2 meses correspondiente al tiempo requerido para completar un bloque operativo de 64 muestras bajo las condiciones de rendimiento definidas. No se incluyeron costos adicionales como infraestructura, operación de las instalaciones y personal ampliado, ya que este modelo asume la implementación dentro de un laboratorio de diagnóstico molecular establecido con personal especializado e infraestructura existentes.

Los costos operativos se limitaron intencionalmente a consumibles y gastos de procesamiento directo (Tabla 4), con un costo operativo total de $70,350.92 USD, equivalente a $1,099.23 USD por muestra bajo este modelo. La estimación de costos por muestra basada en consumibles de secuenciación y extracción de ácidos nucleicos representa el principal componente de costo en los flujos de trabajo de NGS (95.8%), correspondiendo a un costo total de $67,431.49 USD para un lote de 64 muestras ($1,053.61 por muestra).

Los costos de los equipos de capital se presentan por separado y no se incluyeron en el cálculo del costo operativo por muestra, representando una inversión total estimada de $394,124.99 USD. Esto refleja un modelo basado ya sea en instrumentación preexistente o en colaboración interinstitucional. Los costos de software no se analizaron de forma independiente, ya que están integrados en la plataforma de secuenciación y empaquetados dentro de la adquisición de reactivos.

Tabla 4. Costos estimados para la implementación de NGS bajo un flujo de trabajo optimizado de 64 muestras.

A. Costos operativos

Componente de costo	Supuesto / Consideración	Costo (MXN)	Costo (USD)	% del costo operativo total
Reactivos de secuenciación y consumibles	Cotización del proveedor que incluye códigos de barras, consumibles, chip GX5, kit de secuenciación, tiras y Oncomine Myeloid Assay GX v2; optimizado para 64 muestras.	1,137,069.57	63,838.35	90.7
Extracción manual de ácidos nucleicos	Extracción de ARN y ADN, estimada para 64 muestras.	64,000.00	3,593.14	5.1
Mano de obra	Un miembro del personal capacitado (estimado durante un período de 2 meses para completar un bloque operativo de 64 muestras).	52,000.00	2,919.43	4.1
Costo operativo total (64 muestras)		1,253,069.57	70,350.92	100

B. Costos derivados por muestra (modelo basado en reactivos)

Métrica	Costo (MXN)	Costo (USD)
Consumibles y reactivos de secuenciación por muestra	17,766.71	997.47
Costo operativo total por muestra (más extracción de ácidos nucleicos)	18,766.71	1053.61

C. Costos de instrumentos de capital

Instrumentos	Costo (MXN)	Costo (USD)
Plataforma de secuenciación Genexus	6,000,000	336,858.96
Campanas de PCR (2 unidades)	600,000	33,685.90
Fluorómetro Qubit	100,000	5,614.32
Espectrofotómetro NanoDrop	260,000	14,597.22
Micropipetas (2 juegos)	60,000	3,368.59
Costo total de capital	7,020,000	394,124.99

Capítulo VII

DISCUSIÓN

En este estudio, hemos demostrado que la capacidad de NGS se ha desarrollado con éxito para pacientes con LMA en el noreste de México y que el valor clínico de la información genómica integral sigue siendo relevante incluso en entornos con recursos restringidos. Se observaron alteraciones genómicas en el 100% de los pacientes y, en más de la mitad, una mutación que puede guiar la terapia o ser monitoreada como un objetivo de ERM.

La plataforma Genexus requiere pocas horas de trabajo en banco con un análisis bioinformático e interpretación semiautomatizados, lo que representa una solución práctica para implementar la NGS en laboratorios clínicos con menos experiencia. La utilización de reactivos se optimizó distribuyendo las muestras en múltiples corridas (8 muestras por carril; 4 carriles por chip), lo que permitió el uso de los reactivos restantes en corridas subsecuentes dentro de su ventana de estabilidad. Bajo estas condiciones, se requería un rendimiento mínimo de aproximadamente 16 pacientes cada dos semanas para evitar la pérdida de reactivos y mantener la rentabilidad con un costo de $1,099 USD por muestra (Tabla 4). Si bien esto es factible para muestras de biobanco, también representa una barrera para la implementación clínica prospectiva. Las instituciones que diagnostican un número limitado de pacientes o reciben pocas muestras regionales deben aceptar costos más altos por muestra o prolongar los tiempos de entrega más allá de lo requerido para una toma de decisiones clínicas oportuna. Otras plataformas disponibles en México, como las estrategias basadas en MiSeq de Illumina, pueden operarse con volúmenes de muestra más bajos, pero requieren una infraestructura y experiencia bioinformática locales dedicadas.[25]

En México, los sistemas de salud fragmentados junto con un gran territorio geográfico resultan en un entorno complejo para la colaboración interinstitucional que ha limitado el establecimiento de pruebas de NGS centralizadas a gran escala

para personas con LMA.[26] Este estudio tuvo como objetivo desarrollar la tecnología fuera de la Ciudad de México, con el objetivo de que nuestro laboratorio funcione como un posible centro de referencia diagnóstica en la región, como parte de un esfuerzo multicéntrico más amplio para estudiar e implementar de manera integral la genómica de la LMA en el país. En paralelo, un estudio piloto multicéntrico que establece la factibilidad de la centralización de muestras y un algoritmo de pruebas genómicas por pasos a través de múltiples sistemas de salud coordinados centralmente por el grupo de trabajo de leucemias se informará por separado (NCT04311060). Con la creciente relevancia de la genómica para la toma de decisiones clínicas en la LMA, la estrategia más rentable para los sistemas de salud en nuestro entorno probablemente dependerá de nuestra capacidad de centralización de muestras con una evaluación genómica integral que incluya NGS para todos los pacientes, preferiblemente en centros de alto volumen, versus un algoritmo práctico de pruebas para alteraciones genómicas accionables en laboratorios de menor volumen.

Hasta ahora, la NGS, al igual que muchos otros logros tecnológicos que requieren un desarrollo significativo de infraestructura, inversión y capacitación, se ha rezagado en los PIBM y, con ello, el conocimiento sobre el panorama genómico de la LMA en poblaciones de todo el mundo. Las recomendaciones internacionales se basan en datos de poblaciones de pacientes en su mayoría de América del Norte y Europa y, por lo tanto, no son necesariamente aplicables a pacientes de otras etnias y ancestros.[27] Esta cohorte más joven con una baja proporción de LMA secundaria sugiere un perfil molecular caracterizado por alteraciones en las vías proliferativas y de señalización como FLT3 y RAS/MAPK, con una menor frecuencia de mutaciones canónicas asociadas a la edad como NPM1, DNMT3A y TET2.[21] Notablemente, los reordenamientos de NUP98 y las fusiones DEK::NUP214 aparecieron con una frecuencia mayor (18%) en comparación con el 1-3% que es más común en poblaciones más jóvenes, y podrían representar una señal de enfermedad de mayor riesgo en nuestra población.[28] Por el contrario, las mutaciones de IDH1 e IDH2 tuvieron una frecuencia similar en comparación con las

cohortes internacionales.[1] Nuestros resultados son similares al único reporte disponible de análisis genómico integral en 48 adultos con LMA en México, donde FLT3 también fue la mutación más común (29%), con una tasa similarmente menor de mutación en NPM1 (12%). En contraste, las mutaciones en CEBPA, DNMT3A y TET2 fueron más comunes en esa cohorte (22%, 19% y 19%, respectivamente). No se informó la proporción de reordenamientos de NUP98 y fusiones DEK::NUP214.[29] En cambio, una cohorte brasileña de 149 pacientes reportó una prevalencia de mutación en NPM1 del 21%, de FLT3 ITD del 13.9% y de mutación en IDH1 del 6.1%.[30] Los reportes de pacientes con LMA de etnia hispana en los Estados Unidos han mostrado resultados variables, algunos también reportando menores mutaciones en IDH1, otros una mayor prevalencia de alteraciones en los genes KMT2A[31,32], mutaciones en ASXL1 y TET26, y mutaciones en ETV6 que los blancos no hispanos.[34] Estos datos son difíciles de interpretar a primera vista, ya que los reportes de poblaciones latinoamericanas específicas de cada país con LMA son pocos y se componen de cohortes pequeñas, mientras que los reportes más grandes de los Estados Unidos consisten en poblaciones heterogéneas, todas en riesgo de sesgo de referencia con las limitaciones añadidas de una variación de métodos analíticos. Por lo tanto, existe una gran necesidad de una caracterización genética integral y de compartir datos para comprender mejor la enfermedad en nuestra región.

Nuestra cohorte, al igual que otras en entornos de recursos limitados, enfrentó desenlaces deficientes a pesar de ser una población más joven, debido a las altas tasas de mortalidad relacionada con el tratamiento y de recaída asociadas con la falta de acceso al TCH alogénico.[35] Estas dificultades se reflejan en otros PIBM[36] y en algunas poblaciones de pacientes hispanos en los Estados Unidos [(33,37)], pero no en otras,[31,32,38–41], lo que sugiere que los desenlaces están más relacionados con el impacto negativo de los determinantes sociales de la salud y los factores del sistema de salud que con una biología adversa de la enfermedad.

Este estudio se realizó durante nuestra transición hacia el uso de Aza-Ven incluso en adultos más jóvenes para reducir la mortalidad relacionada con el tratamiento.[20,41] En entornos de recursos limitados, los peores desenlaces, además de la falta de datos citogenéticos, pueden limitar la utilidad de los modelos pronósticos que se consideran estándares internacionales.[43-45] En esta pequeña cohorte, la clasificación ELN 2022 no mostró una separación amplia entre las curvas de supervivencia, ni tampoco al restringir el análisis a los pacientes tratados con ICH (Figura 3, Panel D). Después de ajustar por los datos citogenéticos faltantes y el desenlace adverso de las mutaciones de FLT3 en ausencia de acceso a inhibidores dirigidos, la puntuación SAMLS mejoró con respecto a la ELN 2022, aunque no alcanzó significancia estadística (Figura 3, Panel A). Del mismo modo, en el análisis de supervivencia de los pacientes tratados con Aza-Ven, la puntuación ELN 2024 no se asoció estadísticamente con la SG. El análisis de regresión univariada de Cox reveló que solo el aumento de la edad y el ECOG estaban asociados con la supervivencia (Tabla 2). Se justifican análisis más amplios de pacientes tratados de manera homogénea para determinar mejor la capacidad pronóstica de estos modelos en nuestra población, como se ha realizado en otros países de la región.[43-45] Uno de estos esfuerzos, el Consorcio Internacional sobre Leucemia Aguda, ha realizado una estratificación del riesgo estandarizada y un tratamiento homogéneo en el contexto del ensayo clínico ICAML2015 (NCT03023384).[45,46] También, para establecer si las diferencias genómicas entre las poblaciones internacionales exigen un ajuste en el modelado pronóstico y en la toma de decisiones clínicas.[27,47]

Las fortalezas de este estudio fueron su muestreo prospectivo, la metodología de secuenciación y el análisis bioinformático. Este estudio está limitado por su pequeño tamaño de muestra y las indicaciones de tratamiento heterogéneas. A partir de esta experiencia, para aumentar la accesibilidad a la estratificación genómica en la LMA, estamos explorando estrategias alternativas como la secuenciación de lecturas largas (long-read) que requiere menores costos de capital con rendimientos más

pequeños[48], y simultáneamente técnicas bioinformáticas novedosas que permiten la caracterización genética integral con una sola prueba.[49]

Capítulo VIII

CONCLUSIÓN

En conclusión, la capacidad de NGS se implementó exitosamente mediante una plataforma semiautomatizada, capaz de generar resultados con potencial de orientar la toma de decisiones clínicas en la mayoría de los pacientes analizados. Los esfuerzos para ampliar el acceso a la NGS en pacientes con LMA deben continuar, incluso en entornos con recursos limitados.

Capítulo IX

ANEXOS

Anexo 1. Fuente de financiamiento

AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY
2021 L Street, NW, Suite 900, Washington, DC 20036 ph 202.776.0544 fax 202.776.0545 e-mail ASH@hematology.org

July 1, 2020

Andres Gomez-De Leon, MD
Universidad Autonoma De Nuevo Leon, Hospital Universitario
Paris 3029
Monterrey, Mexico
64610

Dear Dr. Gomez-De Leon:

Please accept my congratulations on being selected to receive an American Society of Hematology (ASH) Global Research Award. I am writing to share critical logistical details related to this award.

Your award amount is $141,140.00 and covers the period of July 1, 2020-June 30, 2023. At your request, the funding will be spread over three years. Your award will be disbursed to your institution in equal quarterly payments of $11,761.67 around the first of July, October, January, and April.

Due to the novel coronavirus, if you need to delay your award until your institution reopens, or adjust your aims, timeline, and budget line items, please contact ASH staff.

Award recipients are required to submit the following document in June each year** to receive funding for the following year: a letter from your mentors requesting second year funding. The letter should also provide assurances that the recipient's work has progressed and that both appropriate facilities and the mentors will continue to be available.

** Please note that recipients with awards over one year will need to submit the above required document at the end of year 1 of their award. Recipients whose award is over 2 years should submit the same at the end of years 1 and 2. Failure to submit the required document will render the recipient ineligible for subsequent funding.

For your reference, I have enclosed the terms of your ASH Global Research Award. If at any time during the award you need to request a re-budget of funds or transfer of funds, this document serves as a guide on how to make such a request. You will also find attached the terms and conditions which confirm your acceptance of the award. Please adhere to the July 10 deadline for the return of this signed form.

On behalf of everyone at ASH, I would like to congratulate you again on this wonderful achievement and wish you the best with your research. If you have any questions, please do not hesitate to contact us at awards@hematology.org.

Sincerely,

Patricia Frustace
Senior Director of Awards and Diversity Programs

Enclosures

Global Research Award Terms
Global Research Award Acceptance Agreement
Global Research Award Wire Transfer Form

Capítulo X

BIBLIOGRAFÍA

1. Shallis RM, Wang R, Davidoff A, Ma X, Zeidan AM. Epidemiology of acute myeloid leukemia: Recent progress and enduring challenges. Blood Rev. 2019;36:70-87.

2. Haferlach T, Schmidts I. The power and potential of integrated diagnostics in acute myeloid leukaemia. Br J Haematol. 2020;188(1):36-48.

3. Klepin HD, Estey E, Kadia T. More Versus Less Therapy for Older Adults With Acute Myeloid Leukemia: New Perspectives on an Old Debate. Am Soc Clin Oncol Educ Book. 2019;39:421-32.

4. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood. 2016;127(20):2391-405.

5. Dohner H, Estey E, Grimwade D, Amadori S, Appelbaum FR, Buchner T, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. Blood. 2017;129(4):424-47.

6. Demichelis-Gomez R, Zapata-Canto N, Leyto-Cruz F, Terreros-Munoz E, Carrillo A, Montano-Figueroa E, et al. Acute Myeloid Leukemia in Mexico: The Specific Challenges of a Developing Country. Results From a Multicenter National Registry. Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2020;20(6):e295-e303.

7. 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. Crit Rev Oncol Hematol. 2019;133:171-82.

8. Papaemmanuil E, Gerstung M, Bullinger L, Gaidzik VI, Paschka P, Roberts ND, et al. Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia. N Engl J Med. 2016;374(23):2209-21.

9. National Comprehensive Cancer Network. Acute Myeloid Leukemia (Version 3.2020) 2020 [Available from: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/aml.pdf.

10. Alonso CM, Llop M, Sargas C, Pedrola L, Panadero J, Hervas D, et al. Clinical Utility of a Next-Generation Sequencing Panel for Acute Myeloid Leukemia Diagnostics. J Mol Diagn. 2019;21(2):228-40.

11. Kim B, Lee H, Jang J, Kim SJ, Lee ST, Cheong JW, et al. Targeted next generation sequencing can serve as an alternative to conventional tests in myeloid neoplasms. PLoS One. 2019;14(3):e0212228.

12. Levine RL, Valk PJM. Next-generation sequencing in the diagnosis and minimal residual disease assessment of acute myeloid leukemia. Haematologica. 2019;104(5):868-71.

13. Bacher U, Shumilov E, Flach J, Porret N, Joncourt R, Wiedemann G, et al. Challenges in the introduction of next-generation sequencing (NGS) for diagnostics of myeloid malignancies into clinical routine use. Blood Cancer J. 2018;8(11):113.

14. Leisch M, Jansko B, Zaborsky N, Greil R, Pleyer L. Next Generation Sequencing in AML-On the Way to Becoming a New Standard for Treatment Initiation and/or Modulation? Cancers (Basel). 2019;11(2).

15. Meillon-Garcia LA, Demichelis-Gómez R. Access to Therapy for Acute Myeloid Leukemia in the Developing World: Barriers and Solutions. Curr Oncol Rep. 2020;22(12):125. doi:10.1007/s11912-020-00987-8

16. Demichelis R, Barranco Lampón GI, Madrigal-Iberri C, et al. Challenges in Leukemia Diagnosis and Treatment in Mexico: A Survey By the Alliance for Leukemias in Mexico on Resource Availability, Infrastructure, and Access to Advanced Therapies for Leukemia Patients. Blood. 2024;144(Supplement 1):119-119. doi:10.1182/blood-2024-199351

17. Gómez-De León A, Demichelis-Gómez R, da Costa-Neto A, Gómez-Almaguer D, Rego EM. Acute myeloid leukemia: challenges for diagnosis and treatment in Latin America. Hematology. 2023;28(1):2158015. doi:10.1080/16078454.2022.2158015

18. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood. 2016;127(20):2391-2405. doi:10.1182/blood-2016-03-643544

19. van Dongen JJM, Lhermitte L, Böttcher S, et al. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. Leukemia. 2012;26(9):1908-1975. doi:10.1038/leu.2012.120

20. Ugarte L, Lopez-Garcia YK, Garza FDL, et al. Low-Dose Venetoclax with Azacitidine in Adults with Acute Myeloid Leukemia: Impact of Phenotype on Outcomes. Blood. 2024;144:5964. doi:https://doi.org/10.1182/blood-2024-212023

21. Cloos J, Valk PJM, Thiede C, et al. 2025 Update on MRD in Acute Myeloid Leukemia: A Consensus Document from the ELN-DAVID MRD Working Party. Blood. Published online December 15, 2025:blood.2025031480. doi:10.1182/blood.2025031480

22. Döhner H, DiNardo CD, Appelbaum FR, et al. Genetic risk classification for adults with AML receiving less-intensive therapies: the 2024 ELN recommendations. Blood. 2024;144(21):2169-2173. doi:10.1182/blood.2024025409

23. Döhner H, Wei AH, Appelbaum FR, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. Blood. 2022;140(12):1345-1377. doi:10.1182/blood.2022016867

24. Silveira DRA, Quek L, Santos IS, et al. Integrating clinical features with genetic factors enhances survival prediction for adults with acute myeloid leukemia. Blood Advances. 2020;4(10):2339-2350. doi:10.1182/bloodadvances.2019001419

25. Luthra R, Patel KP, Reddy NG, et al. Next-generation sequencing-based multigene mutational screening for acute myeloid leukemia using MiSeq: applicability for diagnostics and disease monitoring. Haematologica. 2014;99(3):465-473. doi:10.3324/haematol.2013.093765

26. Demichelis R, Barranco Lampón GI, Madrigal-Iberri C, et al. Challenges in Leukemia Diagnosis and Treatment in Mexico: A Survey By the Alliance for Leukemias in Mexico on Resource Availability, Infrastructure, and Access to Advanced Therapies for Leukemia Patients. Blood. 2024;144(Supplement 1):119-119. doi:10.1182/blood-2024-199351

27. Stiff A, Fornerod M, Kain BN, et al. Multiomic profiling identifies predictors of survival in African American patients with acute myeloid leukemia. Nat Genet. 2024;56(11):2434-2446. doi:10.1038/s41588-024-01929-x

28. Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia | New England Journal of Medicine. Accessed January 31, 2026. Doi 10.1056/NEJMoa1516192

29. Mencia Trinchant N, Kohlschmidt J, Gomez-Arteaga A, et al. Molecular Landscape in Acute Myeloid Leukemia (AML) Patients (pts) from Mexico As an Initial Study to Identify Healthcare Disparities in Hispanic Populations: Alliance for Clinical Trials in Oncology [Alliance]. Blood. 2022;140(Supplement 1):11009-11010. doi:10.1182/blood-2022-170326

30. Cruz NG, Ribeiro AFT, Glória ABF, et al. Characterization of NPM1, FLT3, and IDH1 mutations in adult patients with acute myeloid leukemia: a Brazilian cohort study. Leukemia & Lymphoma. 2016;57(12):2901-2904. doi:10.3109/10428194.2016.1165811

31. Bradley T, Kwon D, Monge J, et al. Molecular characteristics and outcomes in Hispanic and non-Hispanic patients with acute myeloid leukemia. eJHaem. 2022;3(4):1231-1240. doi:https://doi.org/10.1002/jha2.589

32. Mahmood O, Saini T, Park D, et al. Disparities in Genetic Profiles, Risk Stratification and Outcomes in Adults with Acute Myeloid Leukemia Comparing Patients of Hispanic and Non-Hispanic Ethnicity in Central California. Blood. 2023;142:7423. doi:https://doi.org/10.1182/blood-2023-184600

33. Darbinyan K, Shastri A, Budhathoki A, et al. Hispanic ethnicity is associated with younger age at presentation but worse survival in acute myeloid leukemia. Blood Advances. 2017;1(24):2120-2123. doi:10.1182/bloodadvances.2017007013

34. Joshi U, Zahra FT, Patel P, et al. Racial disparities in genomic alterations and survival outcomes in Acute Myeloid Leukemia (AML). Blood. 2025;146:4630. doi:https://doi.org/10.1182/blood-2025-4630

35. Solís-Armenta R, Rodríguez-Rodríguez S, Hernández-Pérez AP, et al. Understanding factors limiting hematopoietic cell transplantation for acute myeloid leukemia patients in Mexico: a comprehensive analysis. Ann Hematol. 2024;103(10):4089-4097. doi:10.1007/s00277-024-05956-w

36. Castaneda-Avila MA, Suárez Ramos T, Torres-Cintrón CR, Cotto-Santana LA, Tortolero-Luna G, Ortiz-Ortiz KJ. Induction Therapy and Survival for Acute Myeloid Leukemia in Hispanic Adults from Puerto Rico. Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2022;22(10):e922-e930. doi:10.1016/j.clml.2022.06.007

37. 37. Patel MI, Ma Y, Mitchell BS, Rhoads KF. Age and Genetics: How Do Prognostic Factors at Diagnosis Explain Disparities in Acute Myeloid Leukemia? American Journal of Clinical Oncology. 2015;38(2).

38. Patel MI, Ma Y, Mitchell B, Rhoads KF. How Do Differences in Treatment Impact Racial and Ethnic Disparities in Acute Myeloid Leukemia? Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. 2015;24(2):344-349. doi:10.1158/1055-9965.EPI-14-0963

39. Wang X, Gimotty PA, Matthews AH, et al. Evolving racial/ethnic disparities in AML survival in the novel therapy era. Blood Advances. 2025;9(3):533-544. doi:10.1182/bloodadvances.2024014127

40. Dong S, Premnath N, Sadeghi N, et al. Racial and ethnic disparities in Acute Myeloid Leukemia: 15-year experience at a safety net hospital system. Leuk Res. 2024;141:107503. doi:10.1016/j.leukres.2024.107503

41. Abraham IE, Rauscher GH, Patel AA, et al. Structural racism is a mediator of disparities in acute myeloid leukemia outcomes. Blood. 2022;139(14):2212-2226. doi:10.1182/blood.2021012830

42. Garza-Salazar FD la, Lopez-Garcia YK, Rosa-Flores AD la, et al. Outpatient low-dose venetoclax-azacitidine vs intensive therapy in newly diagnosed AML in resource-limited settings. Blood Global Hematology. 2026;2(1):100045. doi:https://doi.org/10.1016/j.bglo.2025.100045

43. Benicio MT de L, Ribeiro AFT, Américo AD, et al. Evaluation of the European LeukemiaNet recommendations for predicting outcomes of patients with acute myeloid leukemia treated in low- and middle-income countries (LMIC): A Brazilian experience. Leuk Res. 2017;60:109-114. doi:10.1016/j.leukres.2017.07.005

44. Datoguia TS, Velloso EDRP, Helman R, et al. Overall survival of Brazilian acute myeloid leukemia patients according to the European LeukemiaNet prognostic scoring system: a cross-sectional study. Medical Oncology. 2018;35(11):141. doi:10.1007/s12032-018-1179-3

45. Traina F. Feasibility and Relevance of Incorporating Genetic Testing By Next-Generation Sequencing for Acute Myeloid Leukemia Patients Treated in Low- and Middle-Income Countries. In: ASH; 2023. Accesado Enero 5, 2026. https://ash.confex.com/ash/2023/webprogram/Paper189806.html

46. International Consorcian on Acute Leukemia. Accesado Enero 5, 2026. https://www.hematology.org/global-initiatives/international-consortium-on-acute-leukemia

47. Gonzalez-Lugo JD, Madanat YF, Zapata N, et al. Molecular Features of Acute Myeloid Leukemia in Hispanics: An Analysis from the Marrow Consortium. Blood. 2024;144(Supplement 1):3801-3801. doi:10.1182/blood-2024-212140

48. Abel HJ, Mahgoub M, Davarapalli N, et al. Evaluation of Long-Read Genome Sequencing for Genomic Profiling of Myeloid Cancers. J Mol Diagn. 2025;27(12):1242-1254. doi:10.1016/j.jmoldx.2025.09.001

49. Duncavage EJ, Schroeder MC, O'Laughlin M, et al. Genome Sequencing as an Alternative to Cytogenetic Analysis in Myeloid Cancers. New England Journal of Medicine. 2021;384(10):924-935. doi:10.1056/NEJMoa2024534

Capítulo XI

RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

Nombre: Andrés Gómez De León

Candidato para el grado de: Doctor en Medicina

Tesis: FACTIBILIDAD DEL ANÁLISIS DE ESTRATIFICACIÓN DE RIESGO DE RECAÍDA EN ADULTOS CON LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA POR MEDIO DE UN PANEL DE SECUENCIACIÓN MASIVA

Campo de estudio: Ciencias de la Salud

Datos personales: Nacido en Monterrey, Nuevo León el 12 de mayo 1988

Hijo de Sylvia de León Ascorve y David Gómez Almaguer

Egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León con el grado de Médico Cirujano y Partero (2012)

Dos años de especialización en Medicina Interna en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (2014-2016)

Miembro del Sistema Nacional de Investigadores Nivel 1 (2017)

Especialista en Hematología Clínica por la Universidad Autónoma de Nuevo León (2019)

Profesor Asociado de Hematología, Facultad de Medicina y Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González, Universidad Autónoma de Nuevo León (2023)