

Genomas del cáncer. ¿Hacia dónde ir?

Jorge Meléndez-Zajgla^{1*} y Vilma Maldonado Lagunas²

¹Subdirección de Investigación Básica, Instituto Nacional de Medicina Genómica, México, D.F.; ²Subdirección de Investigación Médica, Instituto Nacional de Medicina Genómica, México, D.F.

Resumen

En los años recientes se ha presentado un crecimiento exponencial del conocimiento de las bases moleculares del cáncer. En particular, la creación de importantes iniciativas para la elucidación de los genomas de diversos tipos de cáncer ha permitido por primera vez tener catálogos completos de la mayoría de los eventos mutacionales, lo cual abre importantes posibilidades para la oncología y salud pública. La presente opinión ofrece una perspectiva de los avances y camino por recorrer en México.

PALABRAS CLAVE: Medicina genómica. Cáncer. Secuenciación de nueva generación. Genómica del cáncer.

Abstract

In recent years there has been an exponential growth of knowledge of the molecular basis of cancer. In particular, the creation of important initiatives for the elucidation of the genomes of several types of cancer has allowed for the first time the creation of catalogs for most mutational events in diverse tumors, which opens up significant opportunities for oncology and public health. This review provides an overview of the progress and possible directions in Mexico. (Gac Med Mex. 2014;150:563-9)

Corresponding author: Jorge Meléndez-Zajgla, jmelendez@inmegen.gob.mx

KEY WORDS: Texto key words

Introducción

El cáncer constituye un grupo de enfermedades que comparten un proceso patogénico molecular. En este proceso, la adquisición de alteraciones genéticas, genómicas y epigenómicas, junto con la interacción con el microambiente tisular, lleva al fenotipo maligno. Este fenotipo a su vez depende no sólo del tejido de origen y las particularidades biológicas del o la paciente, sino de las alteraciones específicas del genoma, producto de un proceso de evolución darwiniana en las células precursoras del cáncer. Debido a que este

proceso es, en términos generales, azaroso, la mayor parte de los cambios genómicos no tiene relevancia y no se perpetúan en el genoma durante el proceso carcinogénico, por lo que son conocidos como modificaciones pasajeras (*passengers*). Sólo una minoría de las denominadas modificaciones conductoras (*drivers*) son seleccionadas y se conservan durante la carcinogénesis. Por estas razones existe no sólo una gran heterogeneidad entre tumores de diferentes pacientes, sino también entre las propias células cancerosas del mismo tumor. Esta heterogeneidad genómica se refleja en una diversidad fenotípica, que da oportunidad para que se presente la resistencia adquirida a la quimioterapia y el motor que impulsa los procesos de invasión y metástasis.

De la esperanza de hace algunos años de encontrar una serie de alteraciones comunes a todos los tumores, en la actualidad nos hemos centrado en la

Correspondencia:

*Jorge Meléndez-Zajgla
Subdirección de Investigación Básica
Instituto Nacional de Medicina Genómica
Periférico Sur, 4809
Col. Arenal Tepepan, Del. Tlalpan, C.P. 14610, México, D.F.
E-mail: jmelendez@inmegen.gob.mx

Fecha de recepción en versión modificada: 16-10-2013

Fecha de aceptación: 26-03-2014

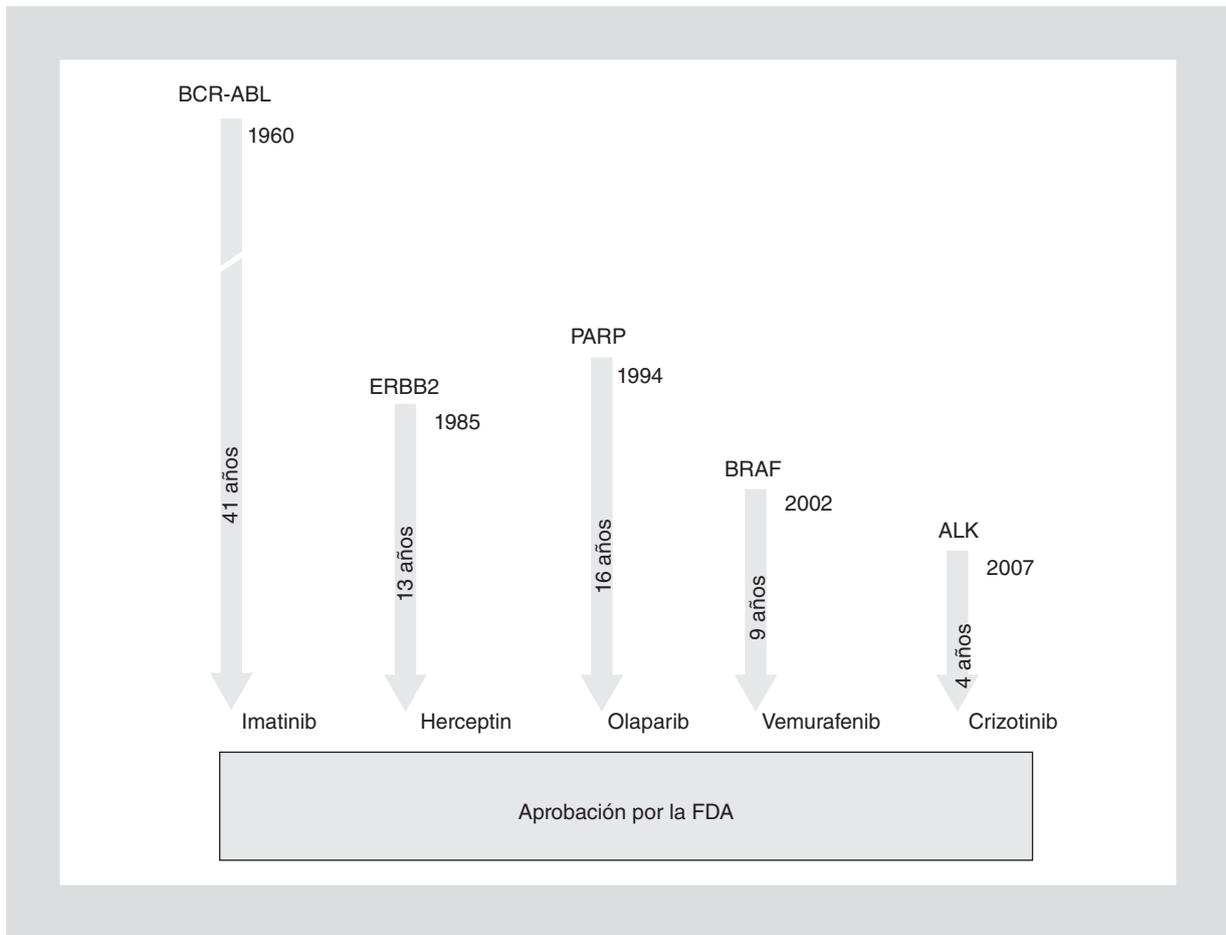


Figura 1. Gráfica histórica del tiempo transcurrido desde la identificación de las alteraciones genómicas de genes responsables del cáncer y la aceptación de un fármaco dirigido a la misma por la Food and Drug Administration de los EE.UU.

realidad de la existencia de un paisaje genómico mucho más variado, con unas pocas montañas altas (p. ej., *p53* y *Ras*), varias montañas pequeñas (p. ej., *NF1* y *2*, *PDGFRA*) y muchas colinas (p. ej., *Caspasa-8*, *ACVR18*) en un valle de mutaciones irrelevantes y variadas en los diferentes tipos tumorales. Sin embargo, aún esas montañas y colinas permiten continuar con la idea de la existencia de una firma genómica tumoral que permite crear pruebas diagnósticas, pronósticas y, sobre todo, terapia dirigida.

La idea de la terapia dirigida no es nueva, habiendo comenzado con la búsqueda de antagonistas a los receptores hormonales y, en particular, a inhibidores de la cinasa activa (ABL), producto de la fusión presente en el cromosoma Filadelfia. Sin embargo, los métodos para detectar genes responsables del cáncer y el tiempo requerido para tener pruebas de principios se basaban en ensayos moleculares complicados, largos e individuales. Con el advenimiento de la

tecnología de alto volumen para tamizaje y secuenciación, estos tiempos se han reducido de manera espectacular (Fig. 1).

Importancia del catálogo de alteraciones en el cáncer

A partir de la noción de que un grupo específico y reducido de alteraciones genéticas, genómicas y epigenómicas dan lugar al fenotipo maligno, durante los últimos años muchos investigadores han dedicado su tiempo a tratar de crear un catálogo de éstas. Independientemente del interés básico de conocer el proceso carcinogénico, la identificación de estas alteraciones permitió y sigue permitiendo la creación de pruebas diagnósticas, pronósticas y, sobre todo, la identificación de nuevos blancos terapéuticos para terapia dirigida (Fig. 2). De inicio, este trabajo fue laborioso, dado que las herramientas moleculares que

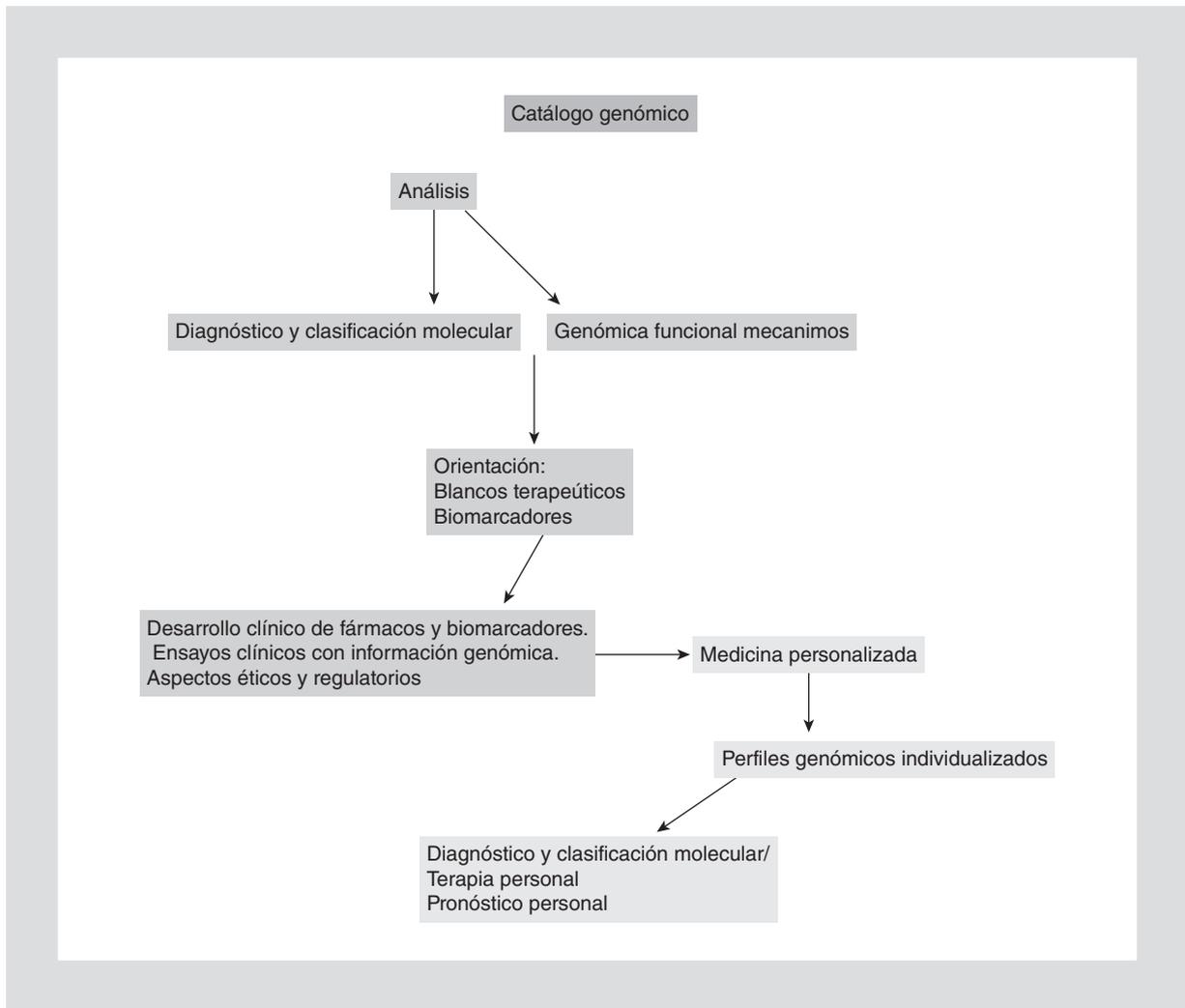


Figura 2. Fases del descubrimiento genómico. A partir del catálogo de alteraciones genómicas es posible realizar ensayos para diagnóstico y clasificación molecular de cada neoplasia, así como realizar investigación funcional de los mecanismos afectados. Esta información es útil para la búsqueda de blancos terapéuticos y biomarcadores que permitan ensayos clínicos orientados que llevarán a una medicina personalizada o de precisión. En esta última fase, los perfiles genómicos personalizados, tanto del tumor como del paciente, permitirán no sólo un diagnóstico y clasificación molecular más acertados, sino un pronóstico y terapia mucho más personalizados.

se empleaban eran de bajo volumen y limitadas a uno o unos pocos genes a la vez. Con el proyecto del genoma humano y el impulso de la creación de nuevas herramientas de alto volumen, la estrategia se transformó profundamente. Ahora es posible realizar estudios genómicos en los que se analizan todas las alteraciones estructurales y mutaciones génicas presentes en un determinado tumor. A razón de esto, se han publicado decenas de artículos de alto impacto describiendo de una manera global la mayor parte de estas anomalías en grupos pequeños de pacientes, incluyendo algunos mexicanos¹⁻⁸. Sin embargo, el panorama aún está incompleto, dado que, por razones

estadísticas, se requiere secuenciar un grupo mucho mayor de muestras tumorales. Asimismo, faltan aún tumores poco frecuentes, no se han cubierto adecuadamente regiones no codificantes ni epigenomas, no existe mucha información en poblaciones no caucásicas, etc. Es por ello que se requiere seguir generando información de esta naturaleza, mediante la colaboración estrecha entre investigadores clínicos y básicos; además, es necesario unir esfuerzos y establecer cooperación entre instituciones nacionales y extranjeras para beneficio de nuestros pacientes.

El primer beneficio de estos catálogos es la posibilidad de mejorar profundamente el diseño de los

ensayos clínicos para nuevos medicamentos oncológicos. El conocer los subgrupos moleculares e idiosincrasia biológica de cada paciente permitirá subdividir y mejorar las aproximaciones estadísticas para determinar la efectividad de cada medicamento. Esto deberá aumentar el número y efectividad de terapias disponibles para nuestros pacientes y disminuir los tiempos y costos asociados al proceso terapéutico.

Con estos catálogos ahora es posible diseñar proyectos de menor costo encaminados a determinar la utilidad de marcadores moleculares para diagnóstico, pronóstico y predicción terapéutica, lo cual se puede realizar de manera dirigida y completa.

Algunos logros que comienzan a emerger de este tipo de estrategia de alto volumen son la creación de pruebas diagnósticas, como el caso de Mammaprint® y Oncotype® para cáncer de mama, el establecimiento de blancos terapéuticos con el uso de biomarcadores, como el caso de mutaciones en *KIT* y *PDGFRA* para el uso de imatinib o lapatinib en tumores estromales gastrointestinales; mutaciones en *EGFR* para el uso de gefitinib y erlotinib en el caso de cáncer pulmonar; mutaciones en *BRCA1* para indicar el uso de olaparib en cáncer de mama; mutaciones de *BRAF* para el uso de vemurafenib en el caso de melanoma, fusiones de *ALK* para crizotinib, etc. Existe mucho potencial para el uso personalizado y combinado de estos medicamentos en el contexto de adyuvancia.

Sin embargo, es necesario que se consideren estos logros a la luz de los retos que se necesitan contemplar para su aplicación. En primer lugar, se encuentra el costo de estos medicamentos, el cual no puede ser absorbido por el sistema nacional de salud en estos momentos. Sin embargo, con la entrada en vigor de la Norma Oficial Mexicana en materia de farmacogenómica y las modificaciones a la Norma Oficial 177 por parte de Comisión Nacional para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), se abre la posibilidad a la producción de genéricos intercambiables en el caso de fármacos con patente vencida, lo cual es un inicio en este sentido al para tener fármacos más accesibles para todos. El segundo reto es el establecimiento de suficientes centros oncológicos capaces de realizar los análisis de biomarcadores requeridos para estas pruebas. Existen diversos modelos en países del primer mundo, desde los centralizados, apoyados federalmente, como en el caso de Francia, hasta aquellos diseminados y comerciales, como en el caso de los EE.UU.

¿Es posible un cambio de paradigma en la oncología hacia la medicina de precisión?

Para capitalizar en el uso de las nuevas tecnologías, necesitamos realizar un cambio en el paradigma de la oncología. Es necesario pasar de la medicina basada exclusivamente en diagnósticos patológicos a aquellos apoyados profundamente en mecanismos; de la agrupación por órgano a la subclasificación molecular y biológica; del tratamiento uniforme al individualizado y, con todo esto, a la detección e intervención temprana, usando métodos para determinar el riesgo relativo⁹.

Como mencionamos anteriormente, el primer paso para esto es comenzar la creación de los catálogos informados de alteraciones en el cáncer. Esto involucra herramientas de alto volumen, en particular el uso de secuenciación de nueva generación. En este tipo de ensayos se producen bibliotecas de las moléculas informacionales a estudiar, ya sea ADN total, ARN total o fracciones enriquecidas en elementos funcionales como los exones, regiones metiladas o unidas a factores de transcripción específicos, ARN pequeños, ARN no codificantes, paneles de genes de interés, etc. Existen diversas estrategias de enriquecimiento, ya sea por medio de reacción en cadena de la polimerasa, el uso de sondas específicas para purificar regiones, fraccionamiento por tamaño o presencia de marcas genómicas específicas (colas de poliadeninas, por ejemplo). A partir de estas bibliotecas se utilizan equipos de diferentes plataformas (Illumina, SOLiD, 454, etc.) que, con algunas excepciones, producen lecturas (*reads*) cortas de las secuencias leídas de manera no ordenada. Esta aproximación (*shot-gun*) facilita la secuenciación, pero complica el ordenamiento posterior. Esto puede ser relativamente trivial cuando se trata de secuenciación de paneles de genes, pero se convierte en un paso limitante cuando se trata de genomas completos, para los que se requiere equipo de cómputo de alto rendimiento y experiencia en bioinformática. Dadas estas consideraciones, más el espacio de almacenamiento requerido y los costos asociados, la mayor parte de los esfuerzos para secuenciar genomas del cáncer se han dado en el seno de grandes consorcios y alianzas entre grupos de investigación, entre los que destacan dos: *The Cancer Genome Atlas* (TCGA)¹⁰ de origen americano y el *International Cancer Genome Consortium* (ICGC)¹¹, una iniciativa global. A partir de los esfuerzos de todos estos grupos internacionales, hemos encontrado muchos nuevos

datos de interés, como un buen número de genes responsables del cáncer, nuevos mecanismos mutacionales, procesos celulares que no se conocía que intervenían en la carcinogénesis y nuevos blancos terapéuticos. Estos estudios también reforzaron la idea de la gran heterogeneidad presente en este grupo de enfermedades, no sólo entre neoplasias provenientes de diferentes tejidos, sino entre pacientes e incluso poblaciones celulares cancerosas.

En el contexto del ICGC, México ha participado en cuatro proyectos: cáncer de mama⁴, de cabeza y cuello³, linfoma no Hodgkin⁸ y cáncer cervicouterino. En el caso del cáncer de mama, encontramos nuevos genes involucrados en este grupo de neoplasias, como el caso de *CBFB* y *RUNX1*, cuyas alteraciones sólo se habían descrito en tumores linfohematopoyéticos. El proyecto de cáncer de cabeza y cuello demostró la existencia de nuevos genes con mutaciones conductoras, implicados en la diferenciación epitelial, como es el caso de *NOTCH1*, *IRF6* y *TP63*. Finalmente, los linfomas no Hodgkin analizados en la iniciativa mostraron mutaciones conductoras novedosas en los genes *MEF2B*, *MLL2*, *BTG1*, *GNA13*, *ACTB*, *P2RY8*, *PCLO* y *TNFRSF14*, además de un nuevo e interesante posible mecanismo de alteración del gen *Bcl-2*, mediado por la mutación hipersomática en el *locus* de la inmunoglobulina H, probablemente debido a la actividad de la deaminasa de citidina. En el caso del cáncer cervicouterino también se encontraron diversos genes mutados no descritos con anterioridad¹². Cabe mencionar que únicamente en el caso del cáncer de mama y cervical se analizaron muestras de pacientes mexicanas. En el resto de los proyectos la participación de grupos nacionales se enfocó al trabajo colaborativo de análisis. A partir de estos proyectos y de la experiencia generada, se han creado diversas iniciativas internacionales en las que México participa¹³, además de iniciativas nacionales, incluyendo proyectos en la Ciudad de México y Monterrey que se encuentran analizando diversas neoplasias tales como sarcomas de tejido blando, tumores pediátricos, carcinomas pulmonares, pancreáticos, cervicales, testiculares, etc.^{14,15}.

Los datos generados de los análisis genómicos, depositados tanto en el TCGA como en el ICGC, pueden ahora ser usados para llevarnos al desarrollo de biomarcadores diagnósticos, pronósticos y predictivos para terapia blanco, para idealmente llegar a una medicina personalizada o más precisa. En esta medicina se deben obtener perfiles genómicos tumorales y germinales que nos permitan un diagnóstico, pronóstico

y terapia personalizada. En diversos países ya comienzan las primeras iniciativas para crear laboratorios especializados para este fin¹⁶⁻¹⁹.

Los principales retos para llegar a este avance son diversos e incluyen:

- Disponibilidad de la muestra. Para muchos de los tumores existe una clara dificultad de obtener muestra de tamaño suficiente. Dada la inaccesibilidad, uso de neoadyuvancia, justificaciones éticas para realizar biopsias incisionales, etc., los estudios iniciales en los que no se deriva beneficio directo para los pacientes hacen que obtener suficiente material tumoral sea difícil. Una opción alternativa es el uso de material de archivo (piezas patológicas incluidas en parafina). Aunque ideal, existen aún diversos problemas metodológicos que hacen difícil y costoso su uso de manera rutinaria²⁰. En particular, los problemas se centran en la recuperación de ácidos nucleicos de buena calidad y en suficiente cantidad para los análisis^{21,22}. Adicionalmente a los esfuerzos de investigación al respecto, el desarrollo de procedimientos estándares en la colecta de muestras patológicas para estos análisis ayudarán a solventar los problemas.
- Plataformas disponibles. Tipo e implementación. Existen varias plataformas de secuenciación de nueva (segunda) generación, entre las que destacan las proveídas por Illumina (GAIIx, HiSeq, MiSeq), Life Technologies (SOLiD, Ion PGM, Ion Proton), 454 (GS FLX, GS FLX junior), etc.²³. La decisión para el uso de cada uno de ellas está basada en el volumen de trabajo, la experiencia en el análisis y los costos. Idealmente, estas plataformas deberían estar concentradas en un pequeño grupo de hospitales de tercer nivel de atención, dado a que de esta manera se podría abaratar en gran medida los costos, hasta que el avance de la tecnología permita tener equipos pequeños que realicen análisis con un mejor perfil costo-beneficio.
- Análisis e interpretación. Es uno de los puntos más complicados. Dependiendo de la plataforma y la extensión del análisis, se requiere equipo de cómputo especializado y personal capacitado. Los requerimientos van del análisis de paneles de genes, que no requieren prácticamente experiencia ni equipo sofisticado, hasta el análisis de genomas completos, que requieren el uso de supercomputadoras y personal con mucha experiencia. Aunque existen diversos programas comerciales,

en general no hay un consenso para su uso. El *software open access* desarrollado por los propios investigadores sigue siendo el más utilizado para este tipo de análisis^{24,25}. Asimismo, un reto importante es la capacidad para darle valor clínico a las mutaciones halladas, ya sea por la existencia de terapia dirigida, utilidad pronóstica o posible sinergismo terapéutico.

- Costos. Los costos han disminuido de manera importante en los últimos años. El proyecto del genoma humano costó alrededor de 3,000 millones de dólares, mientras que en la actualidad es posible secuenciar un genoma por 2,000-5,000 dólares²⁶. Los precios continúan descendiendo con la mejora de la eficiencia de las plataformas. La posibilidad de *multiplexar* las muestras y de realizar enriquecimiento de regiones o genes específicos puede disminuir los costos lo suficiente para lograr generar suficiente información de utilidad clínica, dependiendo del equipo y del volumen de muestras.

Una pregunta importante que debemos considerar es el alcance de las pruebas. Éste deberá considerar tanto la utilidad clínica medida y el impacto en el curso de la enfermedad, como el costo de las mismas. Es importante considerar que una variable adicional inherente a este tipo de pruebas es la disminución de costos al realizar ensayos de alto volumen. La capacidad de las plataformas y la posibilidad de marcar cada muestra con un código de barras hace posible procesar muchas muestras a la vez buscando una gran cantidad de alteraciones, lo cual disminuye los costos de manera considerable. La alternativa es el establecimiento de pruebas de bajo volumen, que, aunque más costosas por gen, tienen ventajas en la facilidad de interpretación y montaje.

Otro punto a considerar son las prioridades a las que la comunidad médica debe enfocarse. Es necesario ponderar el impacto en costos de atención, la morbimortalidad de la neoplasia en particular sin dejar de prever un espacio para grupos vulnerables, como la población pediátrica. Por ende, es importante llegar a un consenso al respecto.

Un ejemplo específico es el del Instituto Nacional del Cáncer en Francia, el cual ha desarrollado, en convenio con diversas instituciones, un panel de biomarcadores genómicos para diversos tumores²⁷. Este panel considera específicamente mutaciones «accionables» para las que existe terapia dirigida aprobada por su sistema de salud. En el 2011, más de 50,000 pacientes

franceses recibieron una de estas pruebas para dirigir su terapia. Éste es un ejemplo de pruebas establecidas en condiciones de bajo volumen, sin involucrar el análisis de genomas parciales o completos. Los análisis se llevan a cabo en un consorcio de centros genéticos hospitalarios con lineamientos globales y específicos²⁷. Esta aproximación logra disminuir costos y aprovechar de manera más racional los recursos, aunque la propia entidad establece esta serie de pruebas como un proceso transicional hacia análisis más completos.

Finalmente, debemos considerar quiénes son responsables del desarrollo tecnológico. El esquema puede ser público, como en el caso de Francia y Gran Bretaña; privado, como en los EE.UU., o una mezcla de ambos. La posibilidad de desarrollar las pruebas en instituciones de investigación u hospitales de tercer nivel para ser luego diseminadas a otros centros de salud es una posibilidad atractiva, dado el diseño de nuestro sistema de salud. La participación de la iniciativa privada en nichos específicos debe ser alentada de la misma manera.

Consideraciones finales

En el inicio del presente siglo, se ha convertido en realidad la elucidación del genoma humano. Esto ha dado pie a múltiples proyectos de mayor magnitud enfocados a problemas de salud mundiales. En particular, los proyectos del genoma del cáncer han madurado y proporcionado muchos nuevos datos que ahora podemos utilizar para beneficio de nuestros pacientes. Es indispensable que en México aprovechemos estos datos y, mediante esfuerzos locales y dirigidos, los utilicemos para crear herramientas clínicas útiles de bajo costo que tengan un impacto importante en la salud. Existen diversos retos que debemos afrontar, pero la investigación en México es lo suficientemente sólida como para lograr superarlos.

Bibliografía

1. Weir BA, Woo MS, Getz G, et al. Characterizing the cancer genome in lung adenocarcinoma. *Nature*. 2007;450(7171):893-8.
2. Berger MF, Lawrence MS, Demichelis F, et al. The genomic complexity of primary human prostate cancer. *Nature*. 2011;470(7333):214-20.
3. Stransky N, Egloff AM, Tward AD, et al. The mutational landscape of head and neck squamous cell carcinoma. *Science*. 2011;333(6046):1157-60.
4. Banerji S, Cibulskis K, Rangel-Escareno C, et al. Sequence analysis of mutations and translocations across breast cancer subtypes. *Nature*. 2012;486(7403):405-9.
5. Barbieri CE, Baca SC, Lawrence MS, et al. Exome sequencing identifies recurrent SPOP, FOXA1 and MED12 mutations in prostate cancer. *Nat Genet*. 2012;44(6):685-9.

6. Berger MF, Hodis E, Heffernan TP, et al. Melanoma genome sequencing reveals frequent PREX2 mutations. *Nature*. 2012;485(7399):502-6.
7. Imielinski M, Berger AH, Hammerman PS, et al. Mapping the hallmarks of lung adenocarcinoma with massively parallel sequencing. *Cell*. 2012;150(6):1107-20.
8. Lohr JG, Stojanov P, Lawrence MS, et al. Discovery and prioritization of somatic mutations in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) by whole-exome sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(10):3879-84.
9. Garraway LA, Verweij J, Ballman KV. Precision oncology: an overview. *J Clin Oncol*. 2013;31(15):1803-5.
10. The Cancer Genome Atlas. Disponible en: <http://cancergenome.nih.gov/>.
11. International Cancer Genome Consortium. Disponible en: <http://www.icgc.org>.
12. Ojesina AI. Landscape of genomic alterations in cervical cancer. En revisión.
13. Lawrence MS, Stojanov P, Polak P, et al. Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes. *Nature*. 2013;499(7457):214-8.
14. Sistemas de Proyectos. Instituto Nacional de Medicina Genómica; 2013.
15. Barrera H. Comunicación personal. 2013.
16. Meric-Bernstam F, Farhangfar C, Mendelsohn J, Mills GB. Building a personalized medicine infrastructure at a major cancer center. *J Clin Oncol*. 2013;31(15):1849-57.
17. Tsimberidou AM, Iskander NG, Hong DS, et al. Personalized medicine in a phase I clinical trials program: the MD Anderson Cancer Center initiative. *Clin Cancer Res*. 2012;18(22):6373-83.
18. Tursz T, Andre F, Lazar V, Lacroix L, Soria JC. Implications of personalized medicine--perspective from a cancer center. *Nat Rev Clin Oncol*. 2011;8(3):177-83.
19. Fenstermacher DA, Wenham RM, Rollison DE, Dalton WS. Implementing personalized medicine in a cancer center. *Cancer J*. 2011;17(6):528-36.
20. MacConaill LE. Existing and emerging technologies for tumor genomic profiling. *J Clin Oncol*. 2013;31(15):1815-24.
21. Vui-Kee K, Mohd Dali AZ, Mohamed Rose I, Ghazali R, Jamal R, Mokhtar NM. Molecular markers associated with nonepithelial ovarian cancer in formalin-fixed, paraffin-embedded specimens by genome wide expression profiling. *Kaohsiung J Med Sci*. 2012;28(5):243-50.
22. Nadauld L, Regan JF, Miotke L, et al. Quantitative and Sensitive Detection of Cancer Genome Amplifications from Formalin Fixed Paraffin Embedded Tumors with Droplet Digital PCR. *Transl Med (Sunnyvale)*. 2012;2(2).
23. Mardis ER. Next-generation sequencing platforms. *Annu Rev Anal Chem (Palo Alto Calif)*. 2013;6:287-303.
24. Kim SY, Speed TP. Comparing somatic mutation-callers: beyond Venn diagrams. *BMC Bioinformatics*. 2013;14:189.
25. Tarczy-Hornoch P, Amendola L, Aronson SJ, et al. A survey of informatics approaches to whole-exome and whole-genome clinical reporting in the electronic health record. *Genet Med*. 2013;15(10):824-32.
26. Lunshof JE, Bobe J, Aach J, et al. Personal genomes in progress: from the human genome project to the personal genome project. *Dialogues Clin Neurosci*. 2010;12(1):47-60.
27. Institut National du Cancer. Molecular genetic tests for access to targeted therapies in france in 2012. En: *Activity Reports and Assessment*. 2012.