

Avances y desafíos locales en el diagnóstico molecular de tumores sólidos: una mirada sanitaria hacia la oncología de precisión en Chile

KATHERINE MARCELAIN¹, CAROLINA SELMAN-BRAVO², BENJAMÍN GARCÍA-BLOJ³, EVA BUSTAMANTE¹, JORGE FERNÁNDEZ⁴, FANCY GAETE⁵, LEONOR MOYANO⁶, JUAN CARLOS BUSTOS⁶, FRANCISCA PLAZA-PARROQUIA⁷, JUAN A. GODOY⁸, MARCELO GARRIDO³, TOMÁS P. LABBÉ^{9,10,11}, JUVENAL A. RÍOS^{6,9,10,11,12,13}

Local advances and challenges in the molecular diagnosis of solid tumors: a health perspective towards precision oncology in Chile

Cancer will remain one of the most significant challenges for public health, locally and globally. Currently, cancer is the leading cause of death in our country. Thanks to the enormous knowledge accumulated in recent decades on the cellular and molecular bases of cancer, precision oncology has been developed, an approach that allows for increasingly precise pharmacological treatment based on diagnostic tests. Advanced technologies such as next-generation sequencing are used for this purpose. It is essential to implement these technologies in current and future health systems to optimize the arsenal of strategies for cancer control. This review discusses some of the achievements of precision oncology, particularly applied to solid tumors. It addresses the state-of-the-art minimum biomarkers required for the diagnosis of this important group of neoplasms, the local situation regarding technological capabilities installed in the national territory, either for research or diagnosis, and the potential health impact of applying all this practical knowledge to serve people with cancer, both in the public and private sectors.

(Rev Med Chile 2023; 151: 1344-1360)

Key words: Biomarkers; Neoplasms; Precision Medicine; Public Health.

RESUMEN

El cáncer seguirá siendo uno de los mayores desafíos para la salud pública a nivel local y mundial. Actualmente, en nuestro país, el cáncer es la principal causa de muerte. Gracias al enorme conocimiento acumulado en las últimas décadas sobre las bases celulares y moleculares del cáncer, se ha desarrollado la oncología de precisión, un enfoque que permite dirigir de manera cada vez más precisa el tratamiento farmacológico en función de los exámenes de diagnóstico. Para ello se utilizan tecnologías avanzadas, como la secuenciación de

¹Departamento de Oncología Básico-Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Santiago, Chile.

²Subdirección de Servicios de Diagnóstico Clínico, Instituto Oncológico Fundación Arturo López Pérez. Santiago, Chile.

³Centro de Oncología de Precisión (COP), Universidad Mayor. Santiago, Chile.

⁴Subdepartamento de Genética Molecular, Instituto de Salud Pública de Chile. Santiago, Chile.

⁵Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Luis Tisné. Santiago, Chile.

⁶Servicio de Anatomía Patológica, Instituto Nacional del Cáncer. Santiago, Chile.

⁷Departamento de Manejo Integral del Cáncer, Ministerio de Salud. Santiago, Chile.

⁸Labocenter, División de Salud de Precisión. Santiago, Chile.

⁹Escuela de Medicina, Universidad de Santiago de Chile. Santiago, Chile.

¹⁰Directorio Académico y Científico, Fundación Cáncer Vida. Santiago, Chile.

¹¹Escuela de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad Bernardo O'Higgins. Santiago, Chile.

¹²CR de Investigación, Instituto Nacional del Cáncer. Santiago, Chile.

¹³Director del Diplomado en Medicina Traslacional, Universidad Mayor. Santiago, Chile.

Conflictos de interés:

Los autores declaran no presentar conflictos de intereses, para esta publicación.

Financiamiento:

Este trabajo, no recibió financiamiento.

Recibido el 08 de mayo de 2023, aceptado el 25 de octubre de 2023.

próxima generación. Es imprescindible implementar estas tecnologías en los sistemas sanitarios actuales y futuros para optimizar el arsenal de estrategias para el control del cáncer. En esta revisión, se discuten algunos alcances de la oncología de precisión, especialmente aplicada a tumores sólidos. Se aborda el estado del arte de los biomarcadores mínimos necesarios para el diagnóstico de este importante grupo de neoplasias, la situación local en cuanto a las capacidades tecnológicas instaladas en el territorio nacional ya sea con fines de investigación o diagnóstico, y el potencial impacto sanitario que tendría la aplicación de todo este conocimiento práctico al servicio de las personas con cáncer, tanto en el sector público como privado.

Palabras clave: Biomarcadores; Medicina de Precisión; Neoplasias; Salud Pública.

Correspondencia a:

Dr. Juvenal A. Ríos Leal, M.D.,
Ph.D.

Centro de Responsabilidad de
Investigación, Instituto Nacional
del Cáncer de Chile.

Avenida Profesor Zañartu 1010,
Santiago, Chile.

juvenal.rios@incancer.cl

Consideraciones generales

El Proyecto Genoma Humano representa una de las más grandes hazañas científicas y colaborativas de la medicina en el último siglo. Después de una carrera tecnológica competitiva de 13 años (1990-2003), un fuerte apoyo político de los líderes mundiales (el presidente Clinton y el primer ministro Blair), una importante participación del sector privado (Creig Venter, CEO de CELERA GENOMICS) y una impresionante extracción de datos del genoma, se desarrolló una nueva forma de entender la medicina basada en el conocimiento de nuestros genes y sus alteraciones¹⁻⁴. Una vez descifrado el genoma, se obtuvo una cantidad abrumadora de datos sobre la biología humana normal y las bases genéticas de enfermedades, incluido el cáncer.

En este contexto, emerge la medicina precisión (MP), término que la *European Society for Medical Oncology* (ESMO), ha definido como “aquella medicina en la cual se adapta el tratamiento médico a las características individuales (moleculares) de cada paciente, clasificando a los individuos en subpoblaciones que difieren en su susceptibilidad y respuesta a una terapia específica”⁵. En esta línea, se reconoce que una de las áreas mayormente influidas por la MP es la oncología, por lo que hablamos de “oncología de precisión”, toda vez que utilizamos los perfiles moleculares tumorales, para guiar conductas diagnósticas, pronósticas y terapéuticas relacionadas con un tipo de cáncer específico⁶.

En Chile, según GLOBOCAN 2020, la incidencia general de cáncer produjo más de 55.000 nuevos casos anuales, y la mortalidad de dicho año, ascendió a 28.500 defunciones a causa de esta enfermedad⁷. Si se analiza las tasas crudas

de mortalidad expresadas por 100.000 habitantes, por tipo de neoplasia, al menos las cinco primeras, corresponden a tumores sólidos como se desglosa a continuación; cáncer próstata (15), cáncer de colon (11,5), cáncer de mama (9,8), cáncer gástrico (7,8) y cáncer de pulmón (7,3). Si se cuantifica por sexos, en hombres los tres primeros corresponden a; cáncer de próstata (28,3), cáncer de colon (10,8) y cáncer gástrico (9,7). En el caso de las mujeres, lidera cáncer de mama (20,9), le sigue cáncer de colon (12,2) y luego, cáncer de pulmón (6,6). Al evaluar el comportamiento regional, se observa que la mayor incidencia se encuentra hasta ahora concentrada en las regiones de Valparaíso, Magallanes, Maule, Bio-Bío, Araucanía y O’Higgins, por otro lado, al analizar la mortalidad, en las regiones del Maule, Arica y Parinacota, Antofagasta, y Aysén, el cáncer constituye, la primera causa de muerte en el país⁸.

En suma, el número de muertes atribuidas por cáncer en nuestro país ha pasado en los últimos 20 años, de 21% a 28%, lo que impulsó la creación por parte del gobierno de turno de un Plan Nacional de Cáncer 2018-2028, recientemente actualizado con la ayuda de la sociedad civil y la academia, la posterior promulgación de una Ley Nacional de Cáncer (2020) que le otorgara un marco jurídico a dicha política pública^{9,10}.

Específicamente, con relación a la materia tratada en este artículo, el Ministerio de Salud, en colaboración con las Sociedades Científicas, ha iniciado un incipiente proceso de actualización de diversos servicios destinados al diagnóstico molecular de varios tipos de tumores malignos¹¹.

Teniendo en cuenta lo anterior, a continuación, trataremos de destacar la importancia del diagnóstico de precisión en el caso de los tumores

sólidos, un grupo de neoplasias de gran relevancia, y discutir la preparación de nuestro país para abordar este desafío.

Diagnóstico molecular de los tumores sólidos, una breve puesta al día

El Proyecto Genoma Humano permitió avanzar en el conocimiento de las bases genéticas de las enfermedades, y ahora el Atlas del Genoma del Cáncer (TCGA) ha llevado a la medicina genómica a un nivel sin precedentes de impacto clínico. En un reciente estudio *Pancancer*, se secuenciaron más de 2.600 genomas completos de 38 tipos de tumores diferentes, provenientes de pacientes de cuatro continentes¹²⁻¹⁴. Los numerosos estudios genómicos y clínicos, incluyendo el mencionado anteriormente, han llevado a una identificación masiva de biomarcadores tumorales que son útiles para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento del cáncer. A medida que se avanza en este conocimiento, surgen nuevos desafíos económicos y técnicos en el diagnóstico molecular.

En los últimos años, la tecnología ha avanzado rápidamente y ha permitido una evolución significativa en el diagnóstico molecular de precisión de los tumores sólidos (Figura 1). Existen diversas técnicas para realizar un diagnóstico de precisión, entre las que se incluyen la inmunohistoquímica

(IHQ), la hibridación *in situ* (FISH, CISH, DISH etc.), la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la secuenciación de Sanger y la secuenciación de próxima generación, conocida como NGS (por sus siglas en inglés, *Next Generation Sequencing*)^{15,16}. Por su parte, la citometría de flujo y el cariograma aún tienen y seguirán teniendo un papel fundamental en el diagnóstico de neoplasias hematolinfoides¹⁷, asimismo la NGS está aportando en la identificación de genotipos distintos en fenotipos similares de leucemias y aumentando la sensibilidad para la detección de recaídas y enfermedad mínima residual en este grupo de neoplasias^{18,19}.

La detección de marcadores tumorales ha sido tradicionalmente realizada utilizando técnicas tales como PCR de punto final o PCR en tiempo real (RT-PCR). Muchas de estas técnicas se consideran como "estándares de oro" para el diagnóstico de mutaciones, y algunas marcas comerciales incluso son consideradas como "*Companion diagnostics*", es decir pruebas que suelen ser desarrolladas en colaboración con compañías farmacéuticas, diseñadas para ser utilizadas en conjunto con un medicamento específico²⁰. Para implementar pruebas diagnósticas en laboratorios, es importante considerar las mutaciones y genes que detecta cada reactivo, así como la sensibilidad y especificidad de los

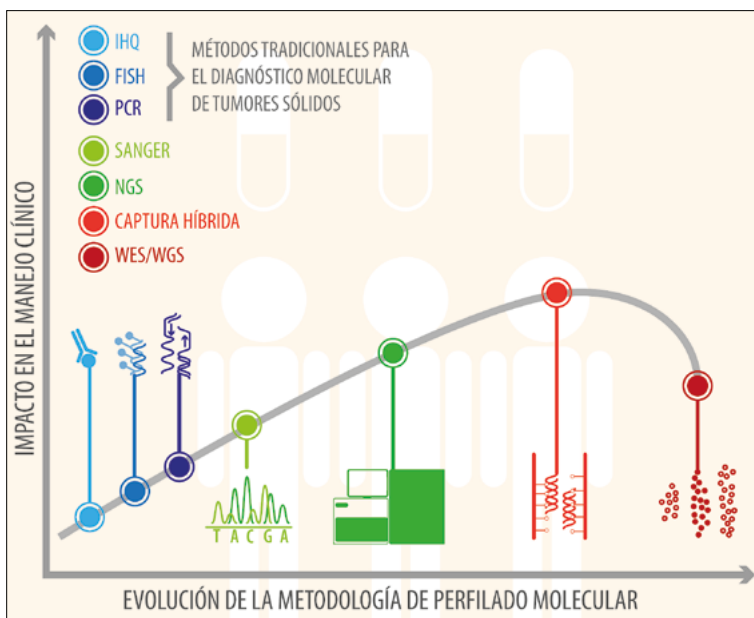


Figura 1.

métodos que se utilizarán. Esto es especialmente relevante en oncología, ya que, dada la heterogeneidad genética y la composición celular de los tumores, las mutaciones somáticas suelen ser poco frecuentes dentro de la población de células tumorales. Aunque la secuenciación Sanger fue uno de los métodos más utilizados para la identificación de mutaciones, hoy en día su uso se limita principalmente a la secuenciación de ADN de origen germinal. En cambio, la secuenciación de próxima generación (NGS) ha cobrado mayor protagonismo en identificación de mutaciones somáticas (en el ADN tumoral). Esta técnica se basa en el uso de amplicones y/o captura híbrida, lo que permite analizar de forma más extensa los genes de interés, cubrir un mayor número de pares de bases, determinar variantes y evaluar su frecuencia utilizando la misma cantidad de tejido que los otros ensayos que sólo pueden detectar mutaciones en un solo gen o par de genes por vez. Aunque las normativas pueden variar según el país, es importante que los laboratorios diagnósticos consideren estas variables al implementar una prueba^{21,22}. Por otro lado, la NGS, además de permitir el análisis del ADN, puede ser utilizada para el estudio del ARN, lo que permite la detección de fusiones y la identificación de alteraciones transcripcionales, ampliando así el espectro de identificación de los mecanismos causantes de las neoplasias²³. Estas nuevas metodologías también permiten identificar la presencia de marcadores tumorales presentes en el plasma sanguíneo, enfoque denominado “biopsia líquida” y definido por el *National Cancer Institute* como “prueba

realizada en una muestra de sangre para buscar células cancerosas de un tumor que circulan en la sangre o fragmentos de ADN de células tumorales que están en la sangre” representa un complemento muy valioso a la biopsia quirúrgica y además podría ser una solución muy útil en escenarios como la pandemia cuando los pabellones de países como el nuestro se redestinan a pacientes críticos, en la Tabla 1 se ejemplifican algunas de sus diferencias y ventajas vs la biopsia quirúrgica^{24,25}. Lo anterior no solo disminuye los sesgos debido a la heterogeneidad tumoral, sino que también permite la identificación temprana de recaídas y aparición de resistencia a tratamiento antes de que sean visibles mediante los métodos diagnósticos clásicos²⁶.

El avance tecnológico ha permitido una secuenciación cada vez más amplia y accesible de genes a menor costo. Actualmente, algunos laboratorios ofrecen la secuenciación de exomas completos (WES) o genomas completos (WGS) tumorales, los cuales aún no están completamente validados por las agencias reguladoras internacionales, y su aplicabilidad clínica en el mundo real está en permanente revisión. Desde el punto de vista del laboratorio de diagnóstico molecular, existen diversas metodologías para el análisis de mutaciones y polimorfismos, y aunque algunos prefieren un enfoque más amplio, diversas publicaciones indican la necesidad de utilizar paneles ampliados sólo en ciertas patologías donde haya una clara ventaja en el diagnóstico, pronóstico y/o tratamiento del cáncer²⁷. Las primeras recomendaciones para el uso de NGS en pacientes

Tabla 1. Breve comparación entre biopsia líquida y biopsia quirúrgica

Característica o propiedad	Biopsia Quirúrgica	Biopsia Líquida
Invasividad	Si	Mínima
Dolor	Si	No
Riesgo de complicaciones	Si	No
Tiempo consumido	Horas de pabellón	Procedimiento rápido
Representación de la heterogeneidad tumoral	Baja	Alta
Sesgo de selección tumoral	Alto	Bajo
Contribución en la monitorización longitudinal	Poca factibilidad	Fácil de implementar
Sensibilidad	Variable según tipo de tumor, la mayoría supera el 80%	Variable por inter-observador y tipo de patología

Tabla 2. Algunos anticuerpos utilizados en inmunohistoquímica de rutina: Ejemplos clasificados según su objetivo diagnóstico²⁸

Tipos de marcadores	Anticuerpos
Linaje celular general	Origen epitelial panCK, CK5/6 CK7, CK20, EMA, BerEP4
	Origen mesenquimático vimentina
	Origen neuroendocrino sinaptofisina, cromogranina, CD56, CEA
	Origen muscular actina musculo liso, desmina, miogenina, MyoD1
	Origen neural S100, NFs, enolasa neuronal específica, GFAP
	Origen vascular CD34, CD31, Erg1
	Origen hematolinfoide CD45, CD3, CD20, Mieloperoxidasa, CD61, CD71
Linaje celular específico	Origen epitelial escamoso p63, p40
	Origen melanocítico S100, HMB45, MelanA
	Origen hepático Hepar1, arginasa 1
	Origen pulmonar Napsina, TTF1
	Origen tiroideo Tiroglobulina, TTF1
	Origen mamario Mamaglobina, GATA3
	Origen ginecológico PAX8
	Origen urogenital GATA3
	Origen renal CD10, PAX 8
	Origen mesotelial WT1, calretinina
	Origen prostático NKX 2.2., PSA
	Células mioepiteliales p63, CD10
	Tumor de estroma gastrointestinal DOG1
Diagnóstico diferencial	Algunos liposarcomas MDM2, CDK4
	Tumor miofibroblástico inflamatorio ALK
	Linfoma anaplásico de células grandes CD3, ALK1(+/-), CD30
	Sarcoma de Ewing CD99, NKX2.2, FLY1
	Sarcoma sinovial CD99, TLE1
	Tumores fibroso solitario STAT6
	Linfoma de Burkitt CD20, CD10, cMyc
	Receptor de Estrógeno RE
	Receptor de Progesterona RP
	Sobreexpresión de oncogenes HER2
Pronóstico	Tasa de proliferación Ki67
	Inestabilidad microsatelital MSH2, MSH6, MLH1, PMS2
	Pérdida de genes supresores de tumores p53 mut
	Inmunidad tumoral (TILs) PD-1/PDL-1

Predictivos de respuesta terapéutica	HER2	Traztuzumab/Pertuzumab
	CD20	Rituximab
	cKit	Imatinib
	EGFR	Erlotinib
	ALK1	Crizotinib
	ROS1	Entrectinib
	Bcl2	Venetoclax
	PD-1/PDL-1	Varios anti <i>check-point</i> (Pembrolizumab, etc)
	BRAFV600E	Encorafenib/Binimetinib
	NTRK	Larotrectinib
Sospecha de etiología infecciosa	p16	Lesiones asociadas a virus papiloma humano (VPH)
	HHV8	Sarcoma de Kaposi
	Virus Epstein Barr	Linfomas T, Linfoma de Hodgking

Esta revisión no abarca todos los anticuerpos utilizados en la técnica de Inmunohistoquímica (IHC) en los servicios de patología, sino que se limita a proporcionar algunos ejemplos de lo más comúnmente usados.

con cánceres metastásicos fueron publicadas por la ESMO en 2020²⁸.

Es importante destacar que la evaluación de mutaciones somáticas a través de NGS en biopsias de tejido de tumores sólidos suele llevarse a cabo seleccionando un área de más de 5x5 mm con un espesor de 100 µm dividido en 10 cortes. Esta elección debe garantizar que el fragmento seleccionado presente una celularidad tumoral que supere el 20% de la muestra. Es relevante señalar que, bajo consideraciones técnicas específicas, este mismo enfoque - NGS - puede ser aplicado a muestras citológicas.

Cabe señalar que ninguna metodología ha reemplazado por completo a las demás, y que actualmente se utiliza una validación cruzada de los resultados obtenidos mediante distintas técnicas para verificar la presencia de alteraciones moleculares de distinto origen. De hecho, la propia IHQ²⁹, fue un primer gran paso biotecnológico en esta dirección, en esta, se reconocen grupos de anticuerpos que se utilizan rutinariamente en los servicios de anatomía patológica del mundo; marcadores de linaje celular, de pronóstico y predictivos, entre otros (Tabla 2). También es fundamental recordar que el diagnóstico histopatológico con hematoxilina y eosina aún sigue siendo la línea base del diagnóstico de cualquier tipo de cáncer³⁰.

A continuación (Tabla 3), presentamos una recopilación de los principales biomarcadores accionables³¹, es decir, cuya presencia en el tejido pueda guiar terapia. Este consolidado lo hemos organizado por tipo de tumor, indicando el gen y la técnica diagnóstica de elección (o aquella en la que deberíamos avanzar en el corto plazo). También se incluye, solo a modo ilustrativo, un conjunto de drogas candidatas. Es importante destacar que muchas de estas drogas actualmente son consideradas de alto costo, lo que constituye un desafío importante para sistemas de salud como el nuestro. En consecuencia, el desafío consiste en utilizar estas tecnologías de manera racional, logrando un equilibrio adecuado entre el equipamiento, la infraestructura, el recurso humano, la situación económica local^{32,33}. En esta línea, resulta interesante el desarrollo de paneles moleculares diseñados a la medida de nuestra genómica e idiosincrasia y considerando las posibilidades de acceso a estas drogas³⁴.

En este sentido cabe mencionar el concepto de prueba refleja “réflex testing”, la cual representa un enfoque de evaluación en el cual el patólogo a cargo del caso asume la responsabilidad de indicar un conjunto de biomarcadores predefinidos y previamente acordados por el equipo multidisciplinario (MTB). A diferencia del procedimiento convencional que exige una

Tabla 3. Mapa de los tipos de tumores sólidos y sus biomarcadores (actualizado desde la base datos de la FDA al 2023 30), técnicas diagnósticas de preferencia y drogas algunas candidatas

Tipo de Cáncer	Nombre del gen	Alteración genómica o cromosómica descrita, mutación u otra	Técnicas diagnósticas (distintas opciones)	Drogas candidatas ^{&}
Cáncer pulmonar de células no pequeñas	ALK	Re-arreglo del gen ALK* (o simplemente expresión de la proteína cuando la determinación es por IHC)	IHQ Hibridación <i>in situ</i> PCR/RT-PCR Multi PCR NGS	Alectinib Ceritinib Crizotinib
	EGFR (HER1)	Exón 19 o sustitución L858R del exón 21* [#] T790M* [#] L861Q, G719X, S7681* Inserción en el exón 20	PCR/RT-PCR Multi PCR NGS	Afatinib Dacomitinib Erlotini Gefitinib Osimertinib
	BRAF	V600E*	PCR/RT-PCR Multi PCR NGS	Dabrafenib Trametinib
	KRAS	G12C* [#]	PCR/RT-PCR Multi PCR NGS	Adagrasib
	ROS1	Fusión de ROS1* [#]	IHQ Hibridación <i>in situ</i> PCR/RT-PCR Multi PCR NGS	Entrectinib
	MET	Variante nucleotídica simple de MET* [#] Skipping del Exón 14* [#]	PCR/RT-PCR Multi PCR NGS	Capmatinib
	HER2	Mutaciones activantes en el exón 20*	PCR/RT-PCR NGS	Anticuerpos anti HER2
	RET	Fusión del gen RET*	PCR/RT-PCR Multi PCR NGS	Pralsetinib Selpercatinib
	PD-L1	Expresión de la proteína en células tumorales* Expresión de la proteína en células tumorales (TPS > 50%)* Expresión de la proteína en células tumorales (TCS > 1%)* Expresión de la proteína en células inmunes (TIC > 10%)*	IHQ	Pembrolizumab Cemiplimab Ipilimumab Atezolizumab
	Cáncer de colon	BRAF	V600E*	PCR/RT-PCR Multi PCR NGS
KRAS		Mutación en el codón 12 y 13* Salvaje (wt)* Mutaciones; G12A, G12D, G12R, G12C, G12S, G12V, G13D*	PCR/RT-PCR Multi PCR NGS	Panitumumab Regorafenib
NRAS		Salvaje (wt) y ausencia de mutaciones en el exón 2,3 y 4*	PCR/RT-PCR Multi PCR NGS	
EGFR		Expresión de la proteína*	IHQ	Cetuximab Panitumumab
MLH1, PMS2, MSH2 y MSH6		Inestabilidad Microsatelital (MSI)* [#]	IHQ, RT-PCR MultiPCR NGS	Dostarlimab-gly

	Receptores de Estrógeno y Progesterona	Sobreexpresión de la proteína*	IHQ	Moduladores de la actividad del receptor de estrógenos
	BRCA1/2	Mutaciones germinales patogénicas o potencialmente patogénicas, muestra de sangre u otras células no tumorales	NGS	Inhibidores de la PARP
	HER2	Sobreexpresión de la proteína*	IHQ ISH	Anticuerpos anti-HER2, e inhibidores tirosina quinasa
Cáncer de mama	PI3K	Mutaciones oncogénicas; C420R, E542K, E545A, E545D [1635G > T only], E545G, E545K, Q546E, Q546R, H1047L, H1047R, and H1047Y*#	PCR/RT-PCR NGS	Alpelisib
	ESR1	Mutación sin sentido entre los codones 310-547	NGS	Elaestrant
	Ki67 o MIB-1	Sobreexpresión de la proteína*	IHQ	Abemaciclib
	PD-L1 (en triple negativos)	Sobreexpresión de la proteína*	IHQ	Pembrolizumab
Cáncer de ovario y trompas	BRCA1/2 y Score HRD+	Mutaciones patogénicas o germinales en sangre o tumor	NGS	Inhibidores de la PARP
Cáncer de Próstata metastásico resistente a castración	BRCA1, BRCA2, ATM, BARD1, BRIP1, CDK12, CHEK1, CHEK2, FANCL, PALB2, RAD51B, RAD51C, RAD51D, RAD54L	Mutaciones en el sistema de reparación de recombinación homóloga	NGS	Olaparib Niraparib
Cáncer gástrico y gastroesofágico	HER2	Sobreexpresión de la proteína*	IHQ ISH	Anticuerpos anti-HER2, e inhibidores tirosina quinasa
Cáncer escamoso de esófago	PD-L1	Expresión de la proteína en células tumorales*	IHQ	Pembrolizumab

Carcinoma escamoso de cabeza y cuello	PD-L1	Expresión de la proteína en células tumorales*	IHQ	Pembrolizumab
Melanoma	BRAF	V600E, V600K*	PCR/RT-PCR Multi PCR NGS	Cobimetinib Vemurafenib, Dabrafenib, Trametinib
	NRAS	<i>Wild type</i>		Pembrolizumab
Tumores del Estroma Gastrointestinal (GIST)	c-kit	Mutaciones en el exón 17, T670I, V654A del gen de c-kit*	NGS	Imatinib
Gliomas	PDGFRA	Mutaciones oncogénicas*	IHQ	Radioterapia + Quimioterapia PCV secuencial con temozolomida
	IDH 1 y 2	Mutaciones oncogénicas*	NGS	
	Cromosoma 19	Codelección 1p/19q*		
	MGMT	Hipermetilación*		
Cáncer de tiroides	RET	Fusiones y mutaciones oncogénicas*	PCR/RT-PCR Multi PCR NGS	Selpercatinib
Cáncer de páncreas	BRCA1/2	Mutaciones patogénicas o germinales en sangre o tumor *	NGS	Olaparib Niraparib
Cóncilancarcinoma	FGR2	Fusiones y re-arreglos*	NGS	Ivosidenib Pemigatinib Infigratinib
Cáncer Endometrial	MLH1, PMS2, MSH2 y MSH6	Inestabilidad Microsatelital (MSI)*#	IHQ RT-PCR, MultiPCR NGS	Dostarlimag-glyx

Cáncer de Cuello Uterino	PD-L1	Expresión de la proteína en células tumorales*	IHQ	Pembrolizumab
Cáncer Urotelial	FGFR3 PD-L1	Exón 7: R248C (c.742C>T), S249C (c.746C>G); exón 10: G370C (c.1108G>T) y Y373C (c.1118A>G); y fusiones de: FGFR3-TACC3v1 y FGFR3-TACC3v3)* Expresión de la proteína en células inmunes (TIC > 5%)*	NGS IHQ	Erdafitinib Atezolizumab
Marcadores genómicos para tumores sólidos	NTRK1/2/3 Inestabilidad Microsatelital (MSI)*#	Fusiones* NGS	IHQ ISH NGS IHQ, RT-PCR, MultiPCR o NGS	Entrectinib Alectinib Pembrolizumab
	Carga Mutacional Tumoral (TMB), más de 10 mutaciones por megabase*#		NGS	

*Biopsia Quirúrgica (tejido); #Biopsia Líquida (plasma); *#Ambas.

solicitud formal por parte del oncólogo clínico, esta metodología elimina tal requerimiento. No obstante, es crucial señalar que esta práctica no ha sido universalmente adoptada. La eliminación de la espera por una solicitud formal agiliza tanto el diagnóstico como el comienzo del tratamiento. Es esencial reconocer que, pese a estos beneficios, algunos oncólogos podrían manifestar resistencia debido a su familiaridad con el método tradicional de solicitud de pruebas. Es importante subrayar que esta estrategia demanda una comunicación y coordinación fluida dentro del equipo multidisciplinario para asegurar la elección precisa de los biomarcadores pertinentes y la toma de decisiones acertadas³⁵. Uno de los objetivos centrales de nuestra Tabla 3 es precisamente

ofrecer un piso para este proceso en el concierto local”.

Avances en el sistema público chileno

Desde el lanzamiento del Plan Nacional de Cáncer en el 2018, el uso de diagnóstico molecular en programas nacionales destinados al control de esta enfermedad ha ido ganando terreno de manera progresiva. La Ley Ricarte Soto y la política GES han incorporado en sus garantías la necesidad de contar con ciertos biomarcadores indispensables para guiar la terapia financiada en los casos de cáncer de mama (2015), cáncer de tiroides y cáncer de pulmón (2020).

El Fondo Nacional de Salud (FONASA) ha

avanzado en la inclusión de prestaciones con estas técnicas diagnósticas, lo que ha permitido que los pacientes del sistema público y privado tengan acceso a alguna forma de cobertura, mejorando así el acceso a estas prestaciones. Durante el año 2019 (Tabla 4.1), se actualizaron varias prestaciones asociadas a estas tecnologías, muchas de ellas específicas para el diagnóstico del cáncer. Asimismo, cabe señalar que varias Sociedades Científicas han propuesto mejoras significativas en el proceso de codificación en el campo del diagnóstico molecular. Sin embargo, es importante destacar que estas propuestas aún no han sido incorporadas en su totalidad al sistema de FONASA (Tabla 4.2).

Capacidades tecnológicas instaladas a nivel local

A continuación, haremos una breve exposi-

ción sobre las capacidades tecnológicas actualmente disponibles en nuestro país en diagnóstico molecular oncológico. Tanto en el ámbito académico como en el sector hospitalario y privado, se han desarrollado importantes avances tecnológicos en esta área, lo que ha permitido mejorar el diagnóstico de precisión.

En nuestro país existen centros de referencia públicos exitosos, que se podrían replicar en técnicas de IHQ, ISH, PCR y NGS. De hecho, la IHQ, se encuentra ampliamente disponible en la red pública y privada. Sin embargo, aún hay centros donde la técnica IHQ se realiza en forma manual, se utilizan anticuerpos concentrados que requieren validación local de las diluciones y hay límite en cuanto a la variedad de anticuerpos por centro, por la caducidad de los reactivos que limita la optimización de su uso. Para mejorar la calidad y precisión del diagnóstico de la IHQ es recomendable automatizar la técnica y utilizar

Tabla 4.1. Códigos FONASA de prestaciones del ámbito del diagnóstico molecular oncológico de tumores sólidos (vigentes)

Código	Glosa de la Prestación
0801004	Estudio histopatológico con técnicas de inmunohistoquímica o inmunofluorescencia (por cada anticuerpo investigado)
0801012	Técnica inmunohistoquímica para marcadores tumorales (ALK-PDL1-ROS1)
0304015	FISH en frotis frescos de médula ósea, sangre, concentrado de células plasmáticas seleccionadas, búsqueda de alteraciones adquiridas
0801011	PCR tiempo real para marcadores tumorales en cortes histológicos (incluye microdissección y extracción de ADN)
0801013	Hibridación in situ en corte de tejido en parafina, búsqueda de alteraciones
0304012	Amplificación por PCR en tiempo real cuantitativo con sonda
0304013	Amplificación de ADN por PCR convencional de 1 fragmento
0304009	Estudio de deleciones y duplicaciones por amplificación múltiple de sondas dependiente de ligación (MLPA) (1 o varios genes)
0304010	Estudio de deleciones y duplicaciones por amplificación múltiple de sondas dependiente de ligación (MLPA) más estudio de metilación o segundo set de sondas (1 o varios genes)

Tabla 4.2. Propuestas de códigos FONASA de prestaciones del ámbito del diagnóstico molecular de tumores sólidos (no vigentes a marzo de 2023)

Código	Glosa de la Prestación
ID2929	Secuenciación masiva NSG u otro (paneles de 20-24 genes)
ID2929	Secuenciación masiva NSG u otro (paneles de 25 o más genes)
ID3496	Secuenciación masiva NGS u otra, para cortes histológicos en tumores
ID2931	Secuenciación del exoma completo

anticuerpos listos para usar (“*ready to use*”) validados como “*in vitro diagnostics*” (IVD). Para aumentar la disponibilidad de anticuerpos es recomendable promover centros de referencias o alianzas regionales con derivación y contra derivación de las técnicas de IHQ de baja frecuencia, optimizando los insumos. Cabe señalar que, en la actualidad, la estandarización de la técnica de IHQ conlleva ciertos desafíos técnicos. Por ejemplo, nos encontramos con dificultades en el reconocimiento preciso de antígenos, así como la ausencia de un consenso global en cuanto a los puntos de corte para la cuantificación. Un ejemplo de esto se observa en el caso de la contabilización del ki67, donde no existe un estándar universalmente aceptado³⁶. En muchos casos, esta variación está influenciada por las preferencias propias de las distintas escuelas de patólogos. Además de esto, también existe incertidumbre con relación a la concentración óptima para la aplicación de ciertos anticuerpos innovadores que están emergiendo en el mercado.

A pesar de que la disponibilidad de técnicas basadas en hibridación *in situ* (ISH) para diferentes tipos de cáncer sigue siendo muy limitada y se encuentra principalmente en algunos centros públicos, se han obtenido resultados destacables en áreas como la ISH de HER2. Desde el 2011 y 2012 respectivamente existen dos centros de referencia para hibridación *in situ* (ISH) para el gen HER2 para el cáncer de mama, el Hospital Luis Tisné de Santiago y el Hospital de Valdivia, con los cuales se ha logrado optimizar el recurso financiero y humano que ha acumulado gran experiencia en torno a esta técnica.

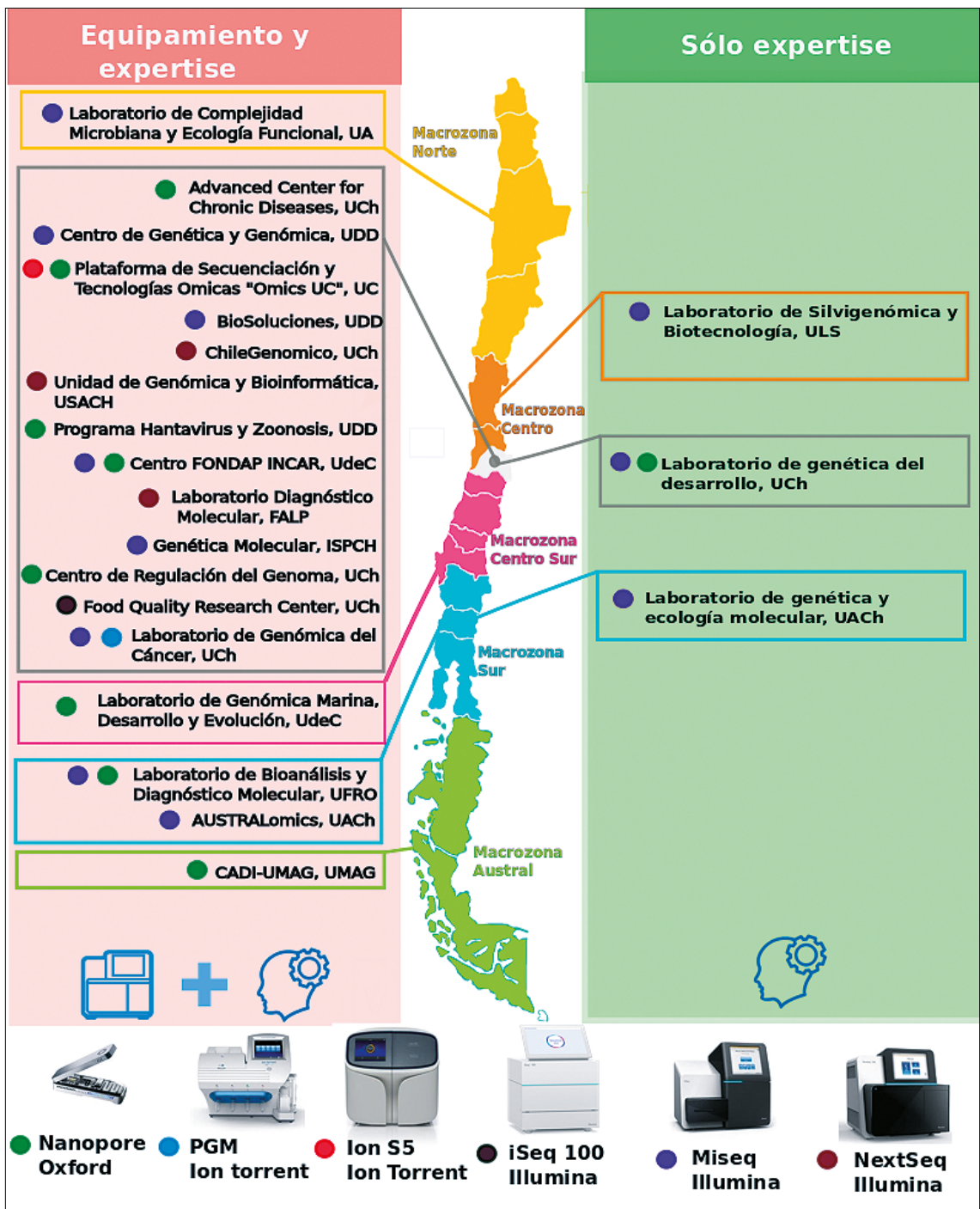
Como se mencionó previamente, estas técnicas han sido garantizadas durante años en el programa GES para neoplasias de la sangre y desde el año 2021 forman parte de las prestaciones incorporadas en el arancel de FONASA. Esta inclusión ha sido muy positiva, ya que, al tratarse de un código genérico, permite la realización de una amplia gama de pruebas, sin importar el tipo de sonda a utilizar o la muestra biológica a analizar, ya sea médula ósea, sangre, concentrado de células plasmáticas seleccionadas o corte de tejido en parafina.

Sin embargo, es crucial destacar que en este campo resulta imprescindible adquirir equipamiento específico y capacitar adecuadamente a los profesionales involucrados para lograr una correcta interpretación de los resultados.

Es importante destacar que desde el año 2019, FONASA incorporó la detección de mutaciones mediante PCR en tiempo real para cortes histológicos, incluyendo microdissección y extracción de ADN, lo que representa una mejora significativa para el sistema.

La técnica de PCR en tiempo real (RT-PCR) se encuentra parcialmente implementada en el país, aunque de manera heterogénea en cada región. Si bien la urgencia sanitaria del SARS-CoV-2 llevó a que distintas instituciones incorporaran equipamientos para esta técnica, es importante destacar que, para lograr la detección precisa de mutaciones y marcadores tumorales, es necesario contar no sólo con infraestructura, sino también con un equipo humano capacitado tanto en el procesamiento de cada examen como en el control de las variables preanalíticas, analíticas y postanalíticas. Esto es especialmente importante cuando se trata de mutaciones con baja frecuencia alélica. Cabe señalar que, aunque la autoridad sanitaria permitió el funcionamiento de universidades durante la alerta sanitaria, a largo plazo, los laboratorios deben contar siempre con la Autorización Sanitaria correspondiente según lo indica el Decreto Supremo 20 de la SEREMI de Salud para la realización de exámenes relacionados con el diagnóstico *in vitro*.

En cuanto a la secuenciación masiva (NGS) para marcadores tumorales, actualmente son muy pocos los laboratorios clínicos a nivel nacional que cuentan con este equipamiento en funcionamiento para el diagnóstico tumoral. Todos ellos son privados, con la excepción de un laboratorio público (Tabla 5). En este sentido, resulta fundamental avanzar en la centralización de centros públicos especializados en NGS que permitan ampliar el acceso de esta tecnología al diagnóstico de tumores para personas beneficiarias de dicho sistema. Cabe señalar que, debido a la necesidad de vigilancia genómica del virus SARS-CoV-2, se han implementado laboratorios (mapa n°1) con capacidades de secuenciación genómica en algunos lugares del país, que, aunque en su mayoría tienen un enfoque hacia la investigación, podrían servir como punto de partida para la incorporación de estas nuevas tecnologías en el diagnóstico tumoral. En la actualidad, algunas instituciones ya cuentan con la capacidad tecnológica para el diagnóstico tumoral, aunque no en todas se encuentra completamente implementada.



Mapa. En febrero de 2021, la sección de genómica y bioinformática de la Sociedad de Genética de Chile levantó información acerca de las capacidades de secuenciación NGS en el país, en el contexto de la pandemia COVID-19 y necesidades de vigilancia genómica, extraído de https://migrationaccess.files.wordpress.com/2021/04/210202_comunicado-secgenobio-covid19-1.pdf.

Tabla 5. Algunos de los laboratorios locales que cuentan con capacidad de secuenciación NGS en cáncer, principalmente para tumores sólidos.

Institución y/o nombre del laboratorio	Equipamiento (y empresa)	Experiencia en secuenciación de tumores al 2022
Instituto de Salud Pública (ISP), Subdepartamento de Genética Molecular	MiSeq (ILLUMINA)/ NextSeq (ILLUMINA)/ Oxford Nanopore Technology	NO*
Hospital Salvador, Laboratorio de Biología Molecular	MiSeq (ILLUMINA)	Solo en neoplasias hematolinfoides
Universidad de Santiago de Chile, Departamento de Biología	NextSeq (ILLUMINA)	NO
Universidad Austral de Chile, Austral OMICS	MiSeq (ILLUMINA)	NO
Universidad de Chile, Laboratorio de Genómica del Cáncer	MiSeq (ILLUMINA)	
Ion Torrent PGM (LIFE TECHNOLOGY)	SI	
Universidad de Chile, Laboratorio de Chile Genómico	NextSeq (ILLUMINA)	NO
Universidad del Desarrollo, Centro de Genética y Genómica	Gene Studio S5 Plus (LIFE TECHNOLOGY)	SI
Universidad del Desarrollo, Centro de Biosoluciones	MiSeq (ILLUMINA)	NO
Clínica Alemana de Santiago, Laboratorio de Diagnóstico Molecular y Biomarcadores	Ion Torrent PGM (LIFE TECHNOLOGY)	
Gene Studio S5 Plus (LIFE TECHNOLOGY)	SI	
Red de Salud UC Christus, Laboratorio de Biología Molecular	MiSeq (ILLUMINA)	NO
Pontificia Universidad Católica, Facultad de Biología	Gene Studio S5 Plus (LIFE TECHNOLOGY)	
MiSeq (ILLUMINA)	NO	
Instituto Fundación Arturo López Pérez, Laboratorio de Medicina Traslacional	Gene Studio S5 Plus (LIFE TECHNOLOGY)	NO
Universidad Mayor, Laboratorio de Genoma Mayor	Secuenciador Ion PGM (LIFE TECHNOLOGY)	SI
Universidad Mayor, Centro de Oncología de Precisión	NextSeq 550 Dx (ILLUMINA)	SI

En esta tabla se aprecia que existen algunos laboratorios tanto en el sector público como privado que cuentan con equipamiento para implementar la metodología de secuenciación de tumores. Varios de estos son laboratorios habilitados para entregar diagnóstico clínico y que, gracias a la experiencia ganada en diagnóstico molecular del SARS-CoV-2, también tienen personal parcialmente capacitado para la implementación de la secuenciación NGS. Una de las limitantes es la complejidad del análisis bioinformático, no obstante, existen soluciones comerciales automatizadas que pueden ser de mucha ayuda.

*En etapa de implementación (2023).

Mensajes claves y perspectivas futuras

Hasta este punto, hemos podido revisar de manera sucinta el impresionante desarrollo tecnológico y clínico que ha experimentado el diagnóstico oncológico y anatomopatológico moderno. Utilizando esta información, junto con una actualización breve sobre la epidemiología del cáncer a nivel local, hemos elaborado un mapa de

los principales biomarcadores de diagnóstico, predictivos y accionables que se utilizan actualmente en el ámbito de los tumores sólidos. Es importante destacar que este conocimiento es dinámico y, por lo tanto, es necesario revisar periódicamente la lista de mutaciones y drogas que aquí se han presentado. Si bien es cierto, las nuevas opciones terapéuticas aún enfrentan barreras económicas significativas en países como Chile, una de las

Tabla 6. Metodologías diagnósticas en oncología de precisión y sus principales aplicaciones y limitaciones

Técnicas	Aplicaciones	Limitaciones
IHQ	Ampliamente empleada en entornos hospitalarios, con baja complejidad técnica, resulta valiosa en casos donde se sospecha una entidad histopatológica; incluso se aplican algoritmos elementales cuando dicha sospecha está ausente	Ausencia de uniformidad en los criterios de referencia, así como carencia de una capacitación generalizada en la interpretación de la aplicación de nuevos anticuerpos
FISH	Tumores sólidos como el cáncer de mama y gástrico, junto con una amplia gama de neoplasias hematolinfoideas, encuentran confirmación cuando hay una sospecha histopatológica y clínica evidente que demanda verificación	Limita su análisis a mutaciones previamente identificadas, dejando de lado potencialmente relevante información clínica
PCR	Cuando existe sospecha histopatológica y clínica clara y se requiere confirmación	Limita su análisis a mutaciones previamente identificadas, dejando de lado potencialmente relevante información clínica
Paneles de NGS	En contraste con los exomas completos, presentan costos reducidos, mayor rapidez y resultan eficaces en los casos de tumores hereditarios donde la sospecha clínica es significativamente alta	Sujeto a un número limitado de genes Es posible que se omita información relevante. En muchos casos se requiere comité interdisciplinario para extender el informe
Exomas completos	Brinda información exhaustiva, resulta valiosa en casos de tumores con sospecha de resistencia a fármacos y presenta alternativas de medicamentos para su empleo compasivo	Conlleva un costo superior y exige una mayor capacitación para la interpretación de los resultados. En muchos casos se requiere comité interdisciplinario para extender el informe

dificultades para el ingreso de nuevas terapias es la falta de laboratorios que ofrezcan el diagnóstico del biomarcador que acompaña la prescripción de las terapias.

Es importante señalar que algunos de los laboratorios con capacidad de secuenciación masiva que hemos analizado no se enfocan en el diagnóstico clínico, sino en investigación. Sin embargo, su experiencia en el campo podría ser de gran ayuda para apoyar la implementación de estas nuevas técnicas diagnósticas en laboratorios clínicos.

Por otra parte, es importante que el profesional de salud tenga en cuenta el uso racional de las metodologías disponibles, optando por aquellas que permitan obtener la mayor cantidad de información para estratificar adecuadamente a cada paciente (Tabla 6). Es necesario también seleccionar cuidadosamente a aquellos pacientes que podrían obtener un verdadero beneficio de estas técnicas de última generación. En este sentido, es importante destacar que una buena técnica de diagnóstico resulta mucho más rentable económicamente que la administración de una droga inadecuada, por lo

que la inversión en tecnologías de diagnóstico de precisión es fundamental para el cuidado óptimo del paciente y el presupuesto del Estado.

La oncología de precisión se ha consolidado como una herramienta clave en el tratamiento del cáncer, y es positivo ver que el Estado está brindando su apoyo para incorporar progresivamente técnicas moleculares validadas en centros de referencia, con el objetivo de optimizar el recurso humano, financiero y facilitar el acceso a pruebas moleculares y su respectivo arsenal terapéutico. Sin embargo, es importante destacar que para lograr esto, es esencial establecer una estrecha colaboración entre los actores gubernamentales, el sector privado, la sociedad civil, los pacientes, la industria y las universidades.

En resumen, la oncología de precisión ha llegado para transformar la atención oncológica y mejorar la calidad de vida de los pacientes con cáncer, pero la implementación de estas tecnologías para el diagnóstico molecular, requiere un esfuerzo conjunto y coordinado de diversos actores para que este beneficio llegue a la mayoría de la población.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su más sincero agradecimiento a las instituciones académicas y asistenciales que les han brindado su apoyo. Gracias a su constante estímulo y promoción de la colaboración entre la academia y el Estado, se ha logrado mejorar la salud en nuestro país. Además, nos gustaría destacar el valioso apoyo recibido por los profesionales del Departamento de Cáncer del Ministerio de Salud, desde donde se originó el grupo inicial de trabajo. Es importante aclarar que este producto pertenece únicamente a uno de los cuatro subgrupos de aquel entonces; tumores sólidos, neoplasias hematolinfoides, cáncer hereditario y farmacogenómica, correspondiendo este al primero mencionando.

Referencias

- Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* [Internet]. 2001 Feb 15 [cited 2020 Aug 20];409(6822):860–921. Available from: www.nature.com
- Craig Venter J, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. The sequence of the human genome. *Science* (1979) [Internet]. 2001 Feb 16 [cited 2020 Aug 20];291(5507):1304–51. Available from: <http://science.sciencemag.org/>
- Lander ES. Initial impact of the sequencing of the human genome [Internet]. Vol. 470, *Nature*. Nature Publishing Group; 2011 [cited 2020 Aug 20]. p. 187–97. Available from: <https://www.nature.com/articles/nature09792>
- Gibbs RA. The Human Genome Project changed everything [Internet]. *Nature Reviews Genetics*. Nature Research; 2020 [cited 2020 Aug 20]. p. 1–2. Available from: www.nature.com/nrg
- Yates LR, Seoane J, Le Tourneau C, Siu LL, Marais R, Michiels S, et al. The European Society for Medical Oncology (ESMO) Precision Medicine Glossary. *Annals of Oncology* [Internet]. 2018 Jan 1 [cited 2021 May 16];29(1):30–5. Available from: <http://www.annalsof-oncology.org/article/S0923753419350112/fulltext>
- Gambardella V, Tarazona N, Cejalvo JM, Lombardi P, Huerta M, Roselló S, et al. Personalized medicine: Recent progress in cancer therapy [Internet]. Vol. 12, *Cancers*. MDPI AG; 2020 [cited 2021 May 16]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32325878/>
- Cancer Today [Internet]. [cited 2023 Mar 27]. Available from: https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-pie?v=2020&mode=cancer&mode_population=continents&population=900&populations=152&key=-total&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=7&group_cancer=1&include_nmsc=1&include_nmsc_other=1&half_pie=0&donut=0
- Series y Gráficos de Mortalidad - DEIS [Internet]. [cited 2019 Jan 10]. Available from: <http://www.deis.cl/series-y-graficos-de-mortalidad/>
- Ministerio de Salud de Chile. Plan Nacional Cáncer. 2018;
- Ley Nacional de Cáncer (n°21258) MINSAL [Internet]. Available from: <https://www.bcn.cl/leychile/navegar?id-Norma=1149004>
- Ministerio de Salud de Chile. Ley AUGE No 19.966 [Internet]. [cited 2018 Dec 19]. Available from: https://diprece.minsal.cl/wrdprss_minsal/wp-content/uploads/2016/03/LEY_19966.pdf
- Priestley P, Baber J, Lolkema MP, Steeghs N, de Bruijn E, Shale C, et al. Pan-cancer whole-genome analyses of metastatic solid tumours. *Nature* [Internet]. 2019 Nov 7 [cited 2021 Feb 24];575(7781):210–6. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1689-y>
- Campbell PJ, Getz G, Korbel JO, Stuart JM, Jennings JL, Stein LD, et al. Pan-cancer analysis of whole genomes. *Nature* [Internet]. 2020 Feb 6 [cited 2021 May 16];578(7793):82–93. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-1969-6>
- Pan-Cancer Analysis of Whole Genomes [Internet]. [cited 2021 May 16]. Available from: <https://www.nature.com/collections/afdejfafdb>
- Sokolenko AP, Imyanitov EN. Molecular diagnostics in clinical oncology [Internet]. Vol. 5, *Frontiers in Molecular Biosciences*. Frontiers Media S.A.; 2018 [cited 2021 May 16]. p. 76. Available from: www.frontiersin.org
- Malone ER, Oliva M, Sabatini PJB, Stockley TL, Siu LL. Molecular profiling for precision cancer therapies [Internet]. Vol. 12, *Genome Medicine*. BioMed Central; 2020 [cited 2021 May 16]. p. 1–19. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13073-019-0703-1>
- Current Diagnostic Methods for Hematological Malignancies: A Mini-Review - Pharmacophore [Internet]. [cited 2021 May 16]. Available from: <https://pharmacophorejournal.com/en/article/current-diagnostic-methods-for-hematological-malignancies-a-mini-review>
- Flach J, Shumilov E, Joncourt R, Porret N, Novak U, Pabst T, et al. Current concepts and future directions for hemato-oncologic diagnostics. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2020 Jul 1;151:102977.

19. Colmenares R, Álvarez N, Barrio S, Martínez-López J, Ayala R. The Minimal Residual Disease Using Liquid Biopsies in Hematological Malignancies. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2022 Mar 1 [cited 2023 Mar 27];14(5). Available from: [/pmc/articles/PMC8909350/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3909350/)
20. List of Cleared or Approved Companion Diagnostic Devices (In Vitro and Imaging Tools) | FDA [Internet]. [cited 2023 Mar 27]. Available from: <https://www.fda.gov/medical-devices/in-vitro-diagnostics/list-cleared-or-approved-companion-diagnostic-devices-in-vitro-and-imaging-tools>
21. Arsenic R, Treue D, Lehmann A, Hummel M, Dietel M, Denkert C, et al. Comparison of targeted next-generation sequencing and Sanger sequencing for the detection of PIK3CA mutations in breast cancer. *BMC Clin Pathol* [Internet]. 2015 Nov 18 [cited 2023 Mar 27];15(1). Available from: [/pmc/articles/PMC4652376/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27215089/)
22. Gao J, Wu H, Shi X, Huo Z, Zhang J, Liang Z. Comparison of Next-Generation Sequencing, Quantitative PCR, and Sanger Sequencing for Mutation Profiling of EGFR, KRAS, PIK3CA and BRAF in Clinical Lung Tumors. *Clin Lab* [Internet]. 2016 [cited 2023 Mar 27];62(4):689–96. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27215089/>
23. Suvà ML, Tirosh I. Single-Cell RNA Sequencing in Cancer: Lessons Learned and Emerging Challenges. *Mol Cell* [Internet]. 2019 Jul 11 [cited 2023 Mar 27];75(1):7–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31299208/>
24. Connal S, Cameron JM, Sala A, Brennan PM, Palmer DS, Palmer JD, et al. Liquid biopsies: the future of cancer early detection. *J Transl Med* [Internet]. 2023 Dec 1 [cited 2023 Mar 7];21(1):118. Available from: <https://translational-medicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12967-023-03960-8>
25. De Rubis G, Rajeev Krishnan S, Bebawy M. Liquid Biopsies in Cancer Diagnosis, Monitoring, and Prognosis. *Trends Pharmacol Sci*. 2019 Mar 1;40(3):172–86.
26. Rolfo C, Russo A. Liquid biopsy for early stage lung cancer moves ever closer. *Nature Reviews Clinical Oncology* 2020 17:9 [Internet]. 2020 May 26 [cited 2023 Mar 27];17(9):523–4. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41571-020-0393-z>
27. Marquart J, Chen EY, Prasad V. Estimation of the Percentage of US Patients With Cancer Who Benefit From Genome-Driven Oncology. *JAMA Oncol* [Internet]. 2018 Aug 1 [cited 2023 Mar 27];4(8):1093–8. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jamaoncology/fullarticle/2678901>
28. Mosele F, Remon J, Mateo J, Westphalen CB, Barlesi F, Lolkema MP, et al. Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Annals of Oncology*. 2020 Nov 1;31(11):1491–505.
29. Dabbs DJ. Diagnostic immunohistochemistry: therapeutic and genomic applications.
30. Angerilli V, Galuppini F, Pagni F, Fusco N, Malapelle U, Fassan M. The Role of the Pathologist in the Next-Generation Era of Tumor Molecular Characterization. *Diagnostics* [Internet]. 2021 Feb 1 [cited 2023 Mar 27];11(2). Available from: [/pmc/articles/PMC7922586/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37922586/)
31. List of Cleared or Approved Companion Diagnostic Devices (In Vitro and Imaging Tools) | FDA [Internet]. [cited 2023 May 3]. Available from: https://www.fda.gov/medical-devices/in-vitro-diagnostics/list-cleared-or-approved-companion-diagnostic-devices-in-vitro-and-imaging-tools#CDx_Table
32. Colomer R, Mondejar R, Romero-Laorden N, Alfranca A, Sánchez-Madrid F, Quintela-Fandino M. When should we order a next generation sequencing test in a patient with cancer? *EClinicalMedicine* [Internet]. 2020 Aug 1 [cited 2023 Mar 27];25. Available from: [http://www.thelancet.com/article/S2589537020302315/fulltext](https://www.thelancet.com/article/S2589537020302315/fulltext)
33. Wistuba II, Gelovani JG, Jacoby JJ, Davis SE, Herbst RS. Methodological and practical challenges for personalized cancer therapies. *Nat Rev Clin Oncol* [Internet]. 2011 Mar [cited 2023 Sep 5];8(3):135–41. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21364686/>
34. Salvo M, González-Feliú E, Toro J, Gallegos I, Maureira I, Miranda-gonzález N, et al. Validation of an NGS Panel Designed for Detection of Actionable Mutations in Tumors Common in Latin America. *J Pers Med* [Internet]. 2021 Sep 1 [cited 2023 Apr 20];11(9). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34575676/>
35. Gosney JR, Paz-Ares L, Jänne P, Kerr KM, Leigh NB, Lozano MD, et al. Pathologist-initiated reflex testing for biomarkers in non-small-cell lung cancer: expert consensus on the rationale and considerations for implementation. *ESMO Open* [Internet]. 2023 Aug 1 [cited 2023 Sep 5];8(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37356358/>
36. Mengel M, Von Wasielewski R, Wiese B, Rüdiger T, Müller-Hermelink HK, Kreipe H. Inter-laboratory and inter-observer reproducibility of immunohistochemical assessment of the Ki-67 labelling index in a large multi-centre trial. *J Pathol* [Internet]. 2002 Nov 1 [cited 2023 Sep 6];198(3):292–9. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/path.1218>