

# Nivel de evidencia y grado de recomendación en las Guías 2021 para las plataformas genómicas en cáncer de mama

PILAR DE LA MORENA BARRIO, ESMERALDA GARCÍA TORRALBA, BEATRIZ ÁLVAREZ ABRIL, FRANCISCO AYALA DE LA PEÑA

*Sección de Oncología Médica. Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital General Universitario Morales Meseguer. Murcia*

## RESUMEN

La categorización de los tumores en perfiles de riesgo genético permite estimar mejor el riesgo de recaída y predecir el beneficio de la quimioterapia adyuvante en el cáncer de mama precoz. Las guías clínicas recomiendan con un nivel de evidencia alto (I, A) la realización de test genómicos predictivos (TGP) en pacientes con expresión de receptores hormonales, Her2 negativo, N0 o 1 (1 a 3 ganglios positivos) en las que se plantea la posibilidad de tratamiento adyuvante con quimioterapia. Oncotype® y MammaPrint® son los únicos TGP que han sido validados en estudios prospectivos aleatorizados en pacientes pre y posmenopáusicas. Prosigna®, EndoPredict® y Breast Cancer Index se han desarrollado de forma retrospectiva en series de pacientes de estudios prospectivos y hay estudios prospectivos en marcha, pendientes de resultados. MammaPrint® fue validado en el estudio MINDACT, en el que se confirma su valor pronóstico, aunque este estudio no fue diseñado para evaluar el valor predictivo del test. Los resultados positivos de TAILORx y RxPONDER, diseñados para evaluar el valor predictivo y pronóstico de Oncotype en pacientes con ganglios negativos y positivos respectivamente, sitúan a este test como el de elección con nivel de evidencia I y recomendación A en todas las guías de nuestro medio.

**PALABRAS CLAVE:** Cáncer de mama precoz. Test genómico predictivo. Oncotype DX®. MammaPrint®. Nivel de evidencia.

## INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama ha sido la primera causa de diagnóstico de cáncer en el mundo por delante del cáncer de pulmón en 2020, con 2,3 millones de casos nuevos al año, y representa el 11,7 % de todos los nuevos diag-

## ABSTRACT

*Tumor genomic risk characterization allows us to better estimate the risk of relapse and predict the benefit of adjuvant chemotherapy in early breast cancer. Clinical guidelines recommend, with a high level of evidence (I, A), the performance of predictive genomic tests (PGT) in patients with hormone receptor expression, Her2 negative, N0 or 1 (1 to 3 positive lymph nodes) in which the possibility of adjuvant chemotherapy is considered. Oncotype® and MammaPrint® are the only PGTs that have been validated in prospective randomized studies in pre- and postmenopausal patients. Prosigna®, EndoPredict® and Breast Cancer Index have been developed retrospectively in series of patients from prospective studies, although prospective studies are underway. MammaPrint® was validated in the MINDACT trial, which confirmed its prognostic value; however, this study was not designed to evaluate the predictive value of the test. The positive results of TAILORx and RxPONDER, designed to evaluate the predictive and prognostic value of Oncotype in patients with negative and positive lymph nodes respectively, place this test as the test of choice with level of evidence I and recommendation A in all guidelines.*

**KEYWORDS:** Early breast cancer. Genomic predictive test. Oncotype DX®. MammaPrint®. Level of evidence.

nósticos de cáncer. Es la 5.<sup>a</sup> causa de muerte por cáncer en el mundo, con 685.000 muertes. Entre las mujeres, el cáncer de mama supone 1 de cada 4 diagnósticos de cáncer y 1 de cada 6 muertes por cáncer. En la mayoría de los países es el tumor de mayor incidencia y de mayor mortalidad (1). En general en España, como en Reino

Unido, la supervivencia a 5 años es del 86 % (2) y varía en función de la edad y del estadio de la enfermedad.

El tratamiento adyuvante disminuye el riesgo de recaída y aumenta la supervivencia global y libre de enfermedad. En el metaanálisis EBCTCG de 2012 se observó que el tratamiento con antraciclinas disminuía el riesgo relativo de recaída un 27 % (IC 0,68-0,79), la mortalidad específica por cáncer de mama un 21 % (IC 95 % 0,27-0,85) y la mortalidad global un 16 % (IC 95 % 0,78-0,91) (3). Sin embargo, el beneficio absoluto en pacientes con bajo riesgo de recaída puede ser muy pequeño. Mientras que hay pacientes que se diagnostican en estadios precoces y permanecen libres de recaída a 10 años sin tratamiento de quimioterapia, hay pacientes de aparente buen pronóstico que recaen a pesar del tratamiento adyuvante. La estimación del pronóstico (riesgo de recaída) y la probabilidad de respuesta a la quimioterapia en pacientes con enfermedad temprana es un reto para el oncólogo. Mejorar esta información ayudará a limitar la indicación de quimioterapia a aquellas pacientes que se vayan a beneficiar más, evitando su administración en pacientes de bajo riesgo, en las que el beneficio sería mínimo, evitando a su vez los efectos indeseados de la quimioterapia, tanto agudos, como a largo plazo, que impactan de forma negativa en la calidad de vida de las pacientes.

La evaluación de los tumores por perfiles de riesgo tiene el objetivo de adecuar el uso de la quimioterapia mejorando la categorización de las pacientes en función del riesgo de recaída o muerte e identificando aquellas pacientes que se van a beneficiar de la quimioterapia. Los test que predicen el riesgo de recaída se suelen utilizar tras la cirugía, junto con los datos clínicos del tumor como el tamaño, el grado o la afectación ganglionar, para guiar la toma de decisiones sobre la quimioterapia adyuvante.

Las guías clínicas: NCCN, ESMO, SEOM, ASCO y los consensos de expertos como el de San Gallen recomiendan el uso de test genómicos predictivos en pacientes con receptores hormonales positivos (RH+) y Her2 negativo en estadios I-II. A continuación, se analizan los niveles de evidencia y grados de recomendación de cada uno de los test genómicos disponibles en nuestro medio.

#### DESDE LA EVIDENCIA A LA RECOMENDACIÓN

A la hora de elegir entre los distintos test disponibles debemos entender bien qué tipo de información nos aporta cada uno. La mayoría de los test nos aporta información pronóstica (riesgo de recaída en los próximos 5 años), otros aportan información predictiva: probabilidad de respuesta a un tratamiento o intervención. Hay biomarcadores que son a la vez pronósticos y predictivos (por ejemplo, la expresión del receptor de estrógeno implica mejor pronóstico y predice beneficio del tratamiento endocrino). Actualmente disponemos de 5 test comercializados (Tabla I), todos los cuales aportan información sobre el riesgo de recaída entre el año 0 y el 10. Tres de ellos son más específicos para predecir recaídas tardías (entre el 5.º y el 10.º año). Oncotype aporta información predictiva de respuesta a quimioterapia y Breast Cancer Index (BCI) aporta información del beneficio de prolongar el tratamiento endocrino más allá de los 5 años.

La realización de test genómicos predictivos (TGP) supone un cambio en la actitud terapéutica para muchos pacientes: se observó entre un 27-49 % de cambio en la decisión de quimioterapia pre/postest en los estudios en Reino Unido (Oncotype DX, EndoPredict y IHC4+C) y entre un 5 y un 70 % en los estudios europeos (que incluían todos los test excepto IHC4).

TABLA I

<i>Test</i>	<i>Técnica</i>	<i>Información</i>	<i>Validez</i>	<i>Información pronóstica</i>	<i>Beneficio QT</i>	<i>Utilidad clínica</i>
Oncotype DX (21 genes)	qRT-PCR	Clasificación de riesgo (continuo): bajo, intermedio, alto	Sí	Sí	Sí	Sí
MammaPrint (70 genes)	DNA <i>microarray</i>	Categoría de riesgo (dicotómico): alto y bajo	Sí	Sí	No	Sí
Prosigna (50 genes)	Nanostrign	Subtipo intrínseco y riesgo de recaída (continuo)	No	Sí	No	No
EndoPredict (12 genes)	qRT-PCR	Clasificación de riesgo: alto/bajo	Sí	Sí	No	No
Breast Cancer Index (7 genes)	qRT-PCR	Clasificación de riesgo: alto/bajo				

La calidad de la evidencia se clasifica en alta, moderada, baja o muy baja. Es alta cuando se basa en ensayos controlados aleatorizados y baja cuando se basa en estudios observacionales. Esta clasificación inicial se puede agrupar en niveles 1 y 2 en base a otros factores como la magnitud del efecto y el gradiente dosis-respuesta, o bien puede bajar de nivel en base a los riesgos de sesgos, inconsistencia o imprecisión. (4-7).

NIVELES DE EVIDENCIA Y GRADOS DE RECOMENDACIÓN

Las guías clínicas recogen la evidencia científica que sustenta las recomendaciones para la práctica clínica habitual. La calidad de cada recomendación y la evidencia que la soporta se clasifica en grados y niveles. No todas las guías utilizan el mismo sistema de clasificación, por lo que para el clínico es necesario conocer cuales son los sistemas utilizados y qué reflejan, para una correcta interpretación y toma de decisiones. En la tabla II se recogen los distintos sistemas de clasificación de las guías más utilizadas en nuestro medio: ESMO, SEOM, ASCO, NCCN.

En las guías ASCO, el grupo de trabajo define tres criterios para evaluar la evidencia de los biomarcadores (11):

- *Validez analítica:* precisión, fiabilidad y reproducibilidad del test en los ensayos demostrado por la metodología preanalítica, técnica e interpretativa.
- *Validez clínica:* capacidad del test para dividir a la población en diferentes grupos en función de sus diferencias clínicas o biológicas. Se suele demostrar con curvas de Kaplan-Meier y se expresa en diferencias relativas o proporcionales en supervivencia según la expresión del marcador, con medidas de incertidumbre (por ejemplo, intervalos de confianza, p-valor...). Aunque es raro que un biomarcador tenga utilidad clínica si no tiene validez clínica, solo la validez clínica no es suficiente para recomendarlo para la toma de decisiones.
- *Utilidad clínica:* se considera que un biomarcador tiene utilidad clínica si su uso es favorable en el balance riesgo/beneficio frente al tratamiento empleado sin tener el resultado del biomarcador. Debe haber sido demostrado por estudios prospectivos aleatorizados a recibir tratamiento vs. no tratamiento en función de los resultados del mismo donde la evaluación de la utilidad clínica de ese test sea el objetivo primario. En el *ranking* de los tipos de estudio para determinar la utilidad de test biomarcadores Simon y cols. (12) sugerían que este tipo de ensayos prospectivos debían ser clasificados como categoría A.

TABLA II  
SISTEMAS DE CLASIFICACIÓN DE LA EVIDENCIA Y GRADOS DE RECOMENDACIÓN UTILIZADOS POR LAS GUÍAS CLÍNICAS MÁS HABITUALES EN NUESTRO MEDIO

	ESMO (8), SEOM (9)	ASCO	NCCN (10)
	<i>Niveles de evidencia</i>		
I	≥ 1 ensayo grande, aleatorizado, controlado, de alta calidad (bajo riesgo de sesgos) o metaanálisis de ensayos aleatorizados sin heterogeneidad	Alto	Alta seguridad de que la evidencia disponible refleja la verdadera magnitud y la dirección del efecto neto de la intervención (balance beneficio mayor que riesgo) y que las investigaciones posteriores con poca probabilidad cambiarán la magnitud o dirección del efecto
II	Pequeños ensayos aleatorizados, o ensayos grandes aleatorizados con sospecha de sesgos (baja calidad metodológica) o metaanálisis de este tipo de ensayos o ensayos que han demostrado heterogeneidad	Intermedio	Seguridad moderada en que la evidencia disponible refleja la verdadera magnitud y dirección del efecto neto de la intervención. Con poca probabilidad las investigaciones posteriores podrían cambiar la dirección del efecto neto, sin embargo, podría cambiar su magnitud
			<p>Categoría 1. Alto nivel de evidencia, hay consenso uniforme NCCN en que la intervención es apropiada</p> <p>Categoría 2A. Se basa en menor nivel de evidencia, hay consenso uniforme en que la intervención es apropiada</p>

(Continúa en la página siguiente)

TABLA II  
SISTEMAS DE CLASIFICACIÓN DE LA EVIDENCIA Y GRADOS DE RECOMENDACIÓN UTILIZADOS POR LAS GUÍAS CLÍNICAS MÁS HABITUALES EN NUESTRO MEDIO

<i>ESMO (8), SEOM (9)</i>		<i>ASCO</i>		<i>NCCN (10)</i>	
III	Estudios prospectivos de cohortes	Bajo	Es poco seguro que la evidencia disponible refleje la verdadera magnitud y la dirección del efecto neto de la intervención. Es probable que investigaciones posteriores modifiquen la magnitud y/o la dirección del efecto neto	Categoría 2B. Se basa en menor nivel de evidencia, hay consenso en que la intervención es apropiada	
IV	Cohortes retrospectivas o estudios caso-control. Estudios sin grupo control, reporte de casos, opiniones de expertos	Insuficiente	Evidencia insuficiente para discernir la verdadera magnitud y la dirección del efecto neto. Probablemente las investigaciones posteriores informarán mejor sobre la intervención. Es razonable que se utilice el consenso de la opinión de expertos para informar del resultado de la intervención	Categoría C. Se basa en la ausencia de evidencia, hay acuerdo general en que la intervención no es apropiada	
<i>Grados de recomendación</i>					
A	Evidencia sólida de la eficacia con beneficio clínico sustancial, encarecidamente recomendado	Fuerte	Hay alta seguridad de que la recomendación refleja la mejor práctica clínica. Se basa en: evidencia sólida de que los beneficios superan los riesgos; resultados consistentes; calidad de los estudios y/o acuerdo de panel de expertos		
B	Evidencia sólida o moderada de la eficacia, pero con limitado beneficio clínico, generalmente recomendado	Moderado	Moderada seguridad de que la recomendación refleja la mejor práctica. Se basa en: evidencia buena de efecto neto positivo, resultados consistentes con menores excepciones, calidad de los estudios, acuerdo de panel de expertos		
C	La evidencia insuficiente de la eficacia o el beneficio clínico no supera el balance riesgo/beneficio de la intervención (efectos secundarios, coste, etc.), opcional	Débil	Hay poca seguridad de que la recomendación ofrezca la mejor indicación. Se basa en evidencia limitada, resultados consistentes, pero con excepciones relevantes, dudas sobre la calidad de estudios, acuerdo del panel de expertos		
D	Evidencia moderada en contra de la eficacia o de la evolución adversa, generalmente no recomendado				
E	Evidencia sólida en contra de la eficacia o de la mala evolución con la intervención, nunca recomendado				

La capacidad pronóstica de un test es la capacidad para predecir el riesgo de recaída o supervivencia mediante HR (*hazard ratio*) o AUC (*area under curve*). Para evaluar la capacidad predictiva del test se utilizan test de interacción entre las distintas categorías de riesgo y el beneficio de la quimioterapia. Para que un nuevo biomarcador sea incorporado a la práctica habitual debe demostrar que aporta información clínica útil además de la información clínica y patológica ya estandarizada y disponible. O bien que aporte la misma información, pero a menor coste, de forma menos invasiva o con menos riesgos.

#### PERFILES DE EXPRESIÓN GÉNICA

Los perfiles de expresión génica como Oncotype DX Recurrence Score (Genomic Health, Redwood City, CA), MammaPrint (Agendia, Amsterdam, The Netherlands), Prosigna (PAM 50; NanoString Technologies, Seattle, WA), EndoPredict (Myriad Genetics Salt Lake City, UT) y Breast Cancer Index (Biotheranostics, Inc., San Diego, CA), se pueden usar para tener información adicional pronóstica y/o predictiva que complemente la información patológica y clínica del tumor para una mejor adecuación del tratamiento adyuvante en cada caso. Todos los test, excepto MammaPrint, se diseñaron en pacientes con cáncer de mama en estadio temprano, con expresión de receptores hormonales; en el desarrollo de MammaPrint se incluyeron pacientes con diferentes perfiles inmunohistoquímicos, incluyendo Her2 positivo y triple negativo. La utilidad clínica de Oncotype DX y MammaPrint se ha evaluado en ensayos clínicos prospectivos con un elevado número de pacientes: West German Study Group (WSG) PLAN B, TAILORx y RxPONDER para Oncotype DX y MINDACT para MammaPrint. Las guías clínicas americanas y europeas coinciden en dar un nivel de evidencia I y grado de recomendación A para valor pronóstico y utilidad clínica (decisión de tratamiento adyuvante con quimioterapia) para Oncotype (por los estudios TAILORx y Plan B) y MammaPrint (por el estudio MINDACT) en ganglios negativos.

En ganglios positivos, Oncotype DX es el test que tiene mayor evidencia con los resultados recientemente publicados del estudio RxPONDER (13). Por el contrario, Prosigna y EndoPredict han sido clasificados con nivel de evidencia I y grado de recomendación B (categoría 2 A en la NCCN) en base a la información de los análisis retrospectivos de ensayos prospectivos, aunque hay estudios prospectivos en marcha de los que todavía no tenemos resultados.

En la tabla III se resumen los 5 test genéticos predictivos disponibles y la evidencia que los sustenta.

#### CRITERIOS A TENER EN CUENTA A LA HORA DE SOLICITAR UN TGP (GUÍA BCTEG 2020) (36)

1. Evaluar el criterio para la indicación de TGP en cada paciente:
  - a. La realización de TGP está limitada a pacientes RH+ Her2- con 0-3 ganglios positivos.
  - b. No está recomendado en pacientes RH- Her2+ o > 3 ganglios positivos.
- 2.Cuál de los test se debe elegir:
  - a. ASCO y NCCN no apoyan un test sobre otro.
  - b. Se debe realizar un solo test a cada paciente ya que los resultados pueden ser discordantes por haber sido desarrollados y validados en poblaciones diferentes.
3. Cómo se deben interpretar los resultados:
  - a. Los test no se deben realizar si no va a cambiar la decisión terapéutica: en aquellos casos en los que el paciente no es candidato a tratamiento de quimioterapia o no quiere recibirlo no se debería indicar.
  - b. En enfermedad avanzada, los datos clínicos (especialmente la afectación ganglionar) son los principales factores pronósticos.
  - c. Se debe integrar la información clínica y la genética. Especialmente en pacientes de riesgo intermedio, en las que sigue habiendo incertidumbres en la toma de decisiones, se ha observado que el beneficio de la quimioterapia es diferente en función de las características clínicas. Para integrar la información procedente de los datos clínicos y los datos genéticos se han elaborado calculadoras online como RSCLin, que ha demostrado una mejor estimación del pronóstico de recaída a distancia a 10 años frente a la información aislada del RS o del riesgo clínico. Además, esta herramienta es capaz de estimar de forma individualizada el beneficio absoluto de la quimioterapia.

#### ONCOTYPE DX BREAST RECURRENCE SCORE (GENOMIC HEALTH)

Fue diseñado para evaluar el riesgo de recaída a distancia a 10 años y predecir el grado de beneficio de la quimioterapia adyuvante. Fue validado inicialmente en muestras tumorales de varios estudios prospectivos (NSABP-14, NSABP-B20, TransATAC) que tenían una población de estudio similar; mujeres pre y posmenopáusicas estadio I o II que cumplieran los siguientes criterios: N0 o N1 (1-3 ganglios), receptor de estrógeno positivo y Her2 negativo (21,38,39).

El estudio se realiza en una muestra de tejido tumoral en parafina, ya sea de la biopsia o de la pieza quirúrgica.

TABLA III  
PRINCIPALES TGP DISPONIBLES Y NIVELES DE EVIDENCIA

	<i>Oncotype DX</i> (21 genes)	<i>MammaPrint</i> (70 genes)	<i>Prosigna</i> (PAM 50)	<i>EndoPredict</i> (12 genes)	<i>Breast Cancer Index</i> (MGI + H:I)
Estudios utilizados para desarrollo del test	NSABP-14 NSABP B-20 (14)	Netherlands Cancer Institute Cohort (15), RASTER (16)	British Columbia Breast Cancer cohort (17)	GEICAM trial 18) ABCSG-6 (19), ABCSG-8	ATAC trial
Estudios retrospectivos	NSABP B-20, SWOG-8814(20) TransATAC (21), SEER-18 (22), WSG-ADAPT (23)	Base de datos de 7 ensayos prospectivos (24)	ATAC (25), ABCSG-8 (26), DCBG (27)	ABCSG-6, ABCSG-8	Stockholm,(28) TransATAC, CCTG, MA.17(29), aTTOM(30)
Estudios prospectivos	TAILORx (31,32) RxPONDER (13)	MINDACT	OPTIMA	NA	NA
Información pronóstica/predictiva	Sí, ambos RR a 10 años y beneficio de QT adyuvante	Solo pronóstico RR a 10 años	Solo pronóstico RR a 10 años y recaída tardía en RH+ N0	Solo pronóstico RR a 10 años	Sí ambos RR a 10 años, recaída tardía Beneficio de HT extendida
Recomendaciones	NCCN 1.21 (10), ASCO (32), ESMO (8), AJCC (33), NICE (34), EGTM (35)	NCCN 1.21, ASCO, ESMO, EGTM	NCCN 1.21, ASCO, ESMO, St Gallen, EGTM	ASCO, ESMO, St Gallen, EGTM	ASCO, St Gallen, EGTM
NCCN (LoE, GR)	N0 1 Alto, fuerte	N0 1 Alto, fuerte	N0 2,A Alto, fuerte	N0 2,A Intermedio, moderado	N0 2,A Intermedio, moderado
ASCO	N1 1 Alto, fuerte	N1 1 Alto, moderado	N1 2,A Intermedio, moderado	N1 2,A Insuficiente, moderado	N1 2,A Insuficiente, moderado
ESMO	I, A	I, A	I, B	I, B	no se recomienda su uso
SEOM	I, A	I, A	I, B	I, B	
NICE	I, A	I, A	I, B	I, B	
EGTM	I, A	I, A	I, B	I, B	
AJCC	I, A	I, A	I, B	I, B	

LoE: nivel de evidencia; GR: grado de recomendación; RR: riesgo de recaída.

Se extrae el RNA de la muestra y posteriormente, mediante RT-qPCR, se analiza la expresión de 21 genes seleccionados, 16 relacionados con el cáncer y 5 genes de referencia. Se aplica una fórmula matemática que, en función de la expresión de estos genes, calcula una puntuación (*recurrence score* [RS]), que va de 0 a 100. Estima el riesgo de recaída a 10 años asumiendo que la paciente recibirá tratamiento endocrino durante 5 años. Oncotype DX fue incorporado en la última edición de las guías de estadificación americanas AJCC 8<sup>th</sup> (33) y las guías ASCO (11,35,40), NCCN (10), ESMO (41) y SEOM (9) de cáncer de mama en estadio precoz y el consenso de San Gallen (42) recomiendan su uso para la toma de decisiones sobre tratamiento adyuvante en pacientes pre- o posmenopáusicas RH+ Her2 negativo, N0 o N1 (1-3 ganglios) con nivel de evidencia I, A (categoría 1 para NCCN), indicando además que tiene valor pronóstico y predictivo.

Inicialmente se establecía el punto de corte en 18 para identificar pacientes con bajo riesgo de recaída a 10 años y en las que se podía evitar el uso de quimioterapia. Las pacientes con RS > 30 se consideraban de alto riesgo y se observó que se beneficiaban de la quimioterapia. Los resultados del test de interacción del NSABP B20 reflejaban que el beneficio de la quimioterapia era distinto en función del grupo de riesgo. Sin embargo, en pacientes de riesgo intermedio con RS 18-30, la magnitud de beneficio de la quimioterapia en función del RS no estaba clara.

Para aclarar esta incertidumbre se diseñó un estudio prospectivo aleatorizado de no inferioridad, TAILORx, en pacientes RH+ Her2-/N0, en el que las pacientes de riesgo intermedio (RS 11-25) eran aleatorizadas a recibir quimioterapia adyuvante seguido de tratamiento endocrino vs. solo tratamiento endocrino. Tras un seguimiento a largo plazo (9 años), se observó que no había beneficio de asociar quimioterapia al tratamiento endocrino en la población general del estudio, pero hubo cierto beneficio en mujeres ≤50 años. Es importante destacar que la mayoría de las pacientes incluidas eran de bajo riesgo (74 %) (31).

El estadio clínico, y en concreto la afectación ganglionar, es el principal factor de riesgo de recaída. Sin embargo, datos procedentes de estudios previos sugerían que pacientes con comportamiento genético de bajo riesgo, a pesar de tener afectación ganglionar al diagnóstico podían tener muy buen pronóstico y no beneficiarse del tratamiento de quimioterapia (43). Así, se diseñó un estudio prospectivo en pacientes con 1-3 ganglios positivos y RS < 25 que eran aleatorizadas a recibir o no quimioterapia además del tratamiento endocrino: RxPONDER. El objetivo primario era evaluar si el beneficio de la quimioterapia dependía del RS mediante un test de interacción QT-RS y valorar el efecto de la quimioterapia en la supervivencia libre de enfermedad invasiva. Se presentaron los resultados del seguimiento a 5 años en el último congreso SABCs 2020. Aunque se demostró el valor

pronóstico del RS en pacientes con 1-3 ganglios positivos, el test de interacción RS-QT fue negativo, indicando por tanto que en estas pacientes (1-3 ganglios positivos y RS 0-25) no se demostró que el RS predijera el beneficio de la quimioterapia en la supervivencia libre de recaída invasiva (SLEI). Una vez descartada esta hipótesis, sí se comprobó que las pacientes posmenopáusicas con RS 0-25 no presentaban beneficio de la quimioterapia (SLEI 91,9 % vs. 91,6 %, HR 0,97; IC95 % 0,78-1,22, p = 0,82) mientras que en pacientes premenopáusicas se observó un beneficio absoluto del 5 % en las que recibieron quimioterapia vs. solo hormonoterapia (94,2 % vs. 89 %, HR: 0,54; IC 95 % 0,38-0,76, p = 0,0004) (13). La guía NCCN recomienda la realización de Oncotype como test pronóstico y predictivo.

#### MAMMAPRINT (AGENDIA)

Es un *microarray* diseñado para evaluar el riesgo de recaída a 5 y 10 años. Se desarrolló en mujeres pre y posmenopáusicas estadio I y II con tamaño tumoral ≤ 5cm, N0 o N1 (1-3 ganglios positivos) y se permitía todos los subtipos tumorales independientemente del estado del receptor hormonal estrogénico y del receptor Her2 (16). MammaPrint mide la expresión de 70 genes que participan en distintas vías de la metástasis: crecimiento y proliferación, angiogénesis, invasión local, entrada en la circulación, supervivencia en la circulación, invasión de órganos y adaptación del microambiente que será el nicho metastásico. Para ello se necesita muestra de tejido tumoral en parafina ya sea de la biopsia o de la pieza quirúrgica. Clasifica a las pacientes en dos grupos de riesgo: alto o bajo riesgo de recaída. Ha sido incluido en la última edición de las guías de estadificación americanas AJCC 8<sup>th</sup> (33), en las guías ASCO (11,35,40), NCCN (10), ESMO (41) y SEOM (9) de cáncer de mama en estadio temprano y en el consenso de San Gallen (42).

El valor pronóstico de MammaPrint fue validado por primera vez en 295 pacientes con tumores pT1-2 N0-1 (15,44). Desde entonces, se han reportado otras validaciones retrospectivas sobre su valor pronóstico (16,45,46). El primer estudio prospectivo de validación en pacientes con ganglios negativos fue el estudio RAS-TER, en el que se evaluaron 427 pacientes tratadas con hormonoterapia y con seguimiento a 5 años. Se demostró que las pacientes de alto riesgo clínico y bajo riesgo genético que no recibían QT no veían comprometida su supervivencia libre de enfermedad a distancia (16).

Recientemente, en ASCO 2020, se comunicaron los resultados del seguimiento a largo plazo (mediana de seguimiento de 8,7 años) del estudio MINDACT. Es un estudio fase III, prospectivo, diseñado para evaluar la supervivencia libre de enfermedad a distancia a 5 años en 748 pacientes, la mayoría de ellas RH+/Her2-, con

riesgo genómico bajo (determinado por MammaPrint)/riesgo clínico alto (determinado por AdjuvantOnline!) tratadas sin quimioterapia adyuvante. El estudio confirmó su objetivo primario que era demostrar que este grupo era de bajo riesgo: con supervivencia libre de recaída a distancia a largo plazo de 95,1 % (IC 95 % 93,1-96,6) (47). El objetivo secundario del estudio fue evaluar el valor predictivo del test para determinar el beneficio de la quimioterapia en términos de supervivencia. El diseño del estudio no fue adecuado para responder a este objetivo y no se demostró la capacidad del test para predecir el beneficio de la quimioterapia en este grupo de pacientes.

Tanto MammaPrint como Oncotype DX son capaces de identificar pacientes de riesgo ultrabajo de muerte a largo plazo que no se van a beneficiar del tratamiento de quimioterapia. Las guías NCCN recomiendan el uso de MammaPrint en pacientes con RH+, ganglios negativos y ganglios positivos, con categoría 1, para la toma de decisiones sobre el tratamiento adyuvante con quimioterapia, aunque informan de que MammaPrint no da información predictiva de respuesta a quimioterapia. En el momento de actualización de las guías no se disponía de los resultados del RxPONDER que ha posicionado al Oncotype DX como el test de elección en pacientes posmenopáusicas con ganglios positivos.

#### PROSIGNA (NANOSTRING TECHNOLOGIES)

Prosigna es una firma genómica que se desarrolló en pacientes postmenopáusicas con cáncer de mama en estadio temprano N0 o N1 (1-3 ganglios), receptores de estrógeno positivo, Her2 negativo. Se realiza a partir del RNA extraído de muestra tumoral en parafina utilizando Counter analysis system (NanoString Technologies). Se basa en la firma genética PAM50 (*prediction analysis of microarray 50*). Mide la expresión de 50 genes utilizados para clasificar a las pacientes en uno de los 4 tipos intrínsecos de cáncer de mama (luminal A, luminal B, Her2-enriquecido, basal-like) y da información del pronóstico de recaída a distancia a 10 años (ROR *score*) integrando la información genómica y la clínica (tamaño y afectación ganglionar) (48). Se ha validado de forma retrospectiva en pacientes N0-1 de estudios prospectivos muy numerosos como son el TransATAC, ABCG-08 o la cohorte danesa (21,26). Comparado con Oncotype DX y EndoPredict en 774 muestras del estudio TransATAC, PAM50-ROR era capaz de ajustarse mejor al pronóstico a largo plazo que las otras dos plataformas (21). Hay un estudio fase III en marcha (OPTIMA), pendiente de resultados, para evaluar de forma prospectiva la capacidad de Prosigna para estimar el beneficio de la quimioterapia adyuvante en pacientes  $\geq 40$  años RH+/HER2-,  $> 3$  cm o con ganglios positivos con ROR por debajo de 60.

Tiene un nivel de evidencia IB para predecir riesgo de recaída a distancia a largo plazo (años 5-10) asumiendo que el paciente recibe tratamiento durante 5 años solo con hormonoterapia debido a que, por el momento, la evidencia que tenemos se basa en análisis retrospectivos de ensayos prospectivos.

Las guías ASCO indican que el clínico puede usar este test en conjunto con las variables clínicas para la toma de decisión sobre el tratamiento sistémico adyuvante en pacientes RH+ Her2-, N0: se debería recomendar quimioterapia en pacientes de alto riesgo y no recomendar en las de bajo riesgo, con alto nivel de evidencia y grado fuerte de recomendación. Se necesitan más estudios para orientar las recomendaciones sobre tratamiento en pacientes de riesgo intermedio por PAM50. No hay datos para apoyar el uso de PAM50 en pacientes Her2 positivo o triple negativo ni en pacientes con ganglios positivos (32).

#### ENDOPREDICT (MYRIAD GENETICS)

Fue diseñado para evaluar el riesgo de recaída a distancia a 10 años desde el diagnóstico en mujeres pre- y posmenopáusicas receptor de estrógeno positivo, Her2 negativo, N0 o N1 (1-3 ganglios positivos). EndoPredict mide la expresión de 12 genes: 3 asociados a proliferación, 5 asociados a receptor hormonal, 3 genes de referencia y un gen de control. Se realiza estudio del RNA extraído de muestras de tejido tumoral fijado en parafina. Mediante RT-qPCR los *mRNAs target* son transcritos, amplificados y detectados de forma simultánea. La información obtenida se exporta a un *software online* para calcular EndoPredict *score* y EndoPredict Clinical (EPclin) *score*. EndoPredict da una escala numérica de 0 a 15. Una puntuación  $< 5$  indica bajo riesgo de recaída a 10 años, mientras que  $\geq 5$  supone alto riesgo de recaída. El EPclin *score* se calcula asociando además la información del tamaño tumoral y afectación ganglionar a la puntuación genómica de EndoPredict. EPclin asume que la paciente recibirá 5 años de tratamiento hormonal y, con un punto de corte de 3,3, da una información dicotómica: alto o bajo riesgo. Las pacientes de bajo riesgo tienen  $< 10$  % de riesgo de presentar metástasis a distancia a 10 años. El valor pronóstico de EndoPredict y EPclin ha sido validado de forma retrospectiva en muestras tumorales de 3 ensayos prospectivos fase III ABCSG-6, ABCSG-8 y TransATAC, en los que las pacientes no recibían quimioterapia, solo tratamiento hormonal y eran pre- y posmenopáusicas, N0 o N1 (19,21,26).

Además, se vio que EPclin era capaz de predecir recaída a distancia a corto (0-10 años) y largo plazo (5-15 años). En base a estos resultados podría ser útil para seleccionar pacientes para tratamiento endocrino extendido. Tiene un nivel de evidencia I, B para la predicción del riesgo de recaída a distancia a 10 años en pacientes



tratadas solo con terapia endocrina durante 5 años. El nivel de evidencia es I, B para la predicción de recaídas tardías entre el 5.º y el 15.º año, en pacientes que recibieron tratamiento endocrino durante 5 años.

Aunque el nivel de recomendación es menor que para Oncotype DX o MammaPrint, las guías ASCO indican que EPclin se podría utilizar para la toma de decisiones sobre administración de tratamiento con quimioterapia en pacientes con RH+ Her2-, N0. Sin embargo, para ganglios positivos el nivel de evidencia es insuficiente para ASCO para realizar una recomendación fuerte. No hay evidencia para su uso en pacientes Her2 positivo o triple negativo.

#### BREAST CANCER INDEX (BCI, BIOTHERANOSTICS)

Combina la expresión de 5 genes de proliferación conocidos como *molecular grade index* (MGI) con la ratio de expresión de 2 genes *HOXB13:IL17BR* (H:I). Este *score* fue desarrollado en pacientes posmenopáusicas RH+, ganglios negativos, para predecir el beneficio de la prolongación del tratamiento hormonal más allá de los 5 años (49). Su capacidad pronóstica fue validada de forma retrospectiva en muestras tumorales de los estudios TransATAC y Stockholm (49,50). Identificaba pacientes tratadas con 5 o 10 años de terapia endocrina que tenían riesgo de recaída tardía a distancia. Aunque hay estudios que demuestran la utilidad clínica de BCI en cuanto a su capacidad para indicar extensión del tratamiento hormonal más allá de los 5 años en pacientes RH+ Her2 negativo, ganglios negativos (50), la aplicación de este test no está recomendada por ASCO por considerar que la evidencia disponible es insuficiente. No hay datos del uso de BCI en ganglios positivos, Her2 positivo ni en cáncer de mama triple negativo.

#### CONSIDERACIONES PRÁCTICAS: TOMA DE DECISIONES SEGÚN LA ÚLTIMA ACTUALIZACIÓN DE ASCO (40)

1. No se recomienda utilizar TGP en pacientes Her2+ o triple negativo (nivel de evidencia [LoE] insuficiente, grado de recomendación [GR] alto): ni Oncotype, MammaPrint, EndoPredict, PAM50 ni Breast Cancer Index.
2. En pacientes RH+ Her2- N0: se recomienda realizar TGP con nivel de evidencia alto y fuerte grado de recomendación: Oncotype DX, PAM50, MammaPrint (solo en pacientes de alto riesgo clínico, las de bajo riesgo clínico no se benefician de QT a pesar de tener riesgo genético alto). EndoPredict con LoE intermedio, GR fuerte. BCI LoE intermedio, GR moderado.
3. Pacientes RH+ Her- N+ (1-3 ganglios positivos): se recomienda la realización de Oncotype con nivel de evidencia alto y grado de recomendación

fuerte, así como EndoPredict y MammaPrint en pacientes con riesgo clínico alto (LoE alto y GR moderado). No se recomienda la realización de BCI (LoE insuficiente, GR fuerte).

4. Recomendaciones generales sobre toma de decisiones de acuerdo con el RS (Oncotype):
  - Pacientes menores de 50 años con RS < 16 y pacientes mayores de 50 años con RS < 26 por Oncotype DX: se recomienda tratamiento con hormonoterapia (LoE alto, GR fuerte).
  - Pacientes con edad menor o igual a 50 años con RS 16-25: se recomienda quimioterapia más tratamiento hormonal (LoE intermedio, GR moderado).
  - RS > 30: se recomienda quimioterapia con LoE alto y GR fuerte.
  - RS 26-30: los oncólogos deben ofrecer tratamiento con quimioterapia seguida de hormonoterapia con LoE insuficiente y GR moderado.

#### CONCLUSIONES

La caracterización de las pacientes con test genómicos, además de las características clínicas, permite clasificarlas mejor en grupos de riesgo de recaída y aporta mayor información para la toma de decisiones sobre el tratamiento adyuvante. Las guías americanas, europeas y española coinciden en que las pacientes con cáncer de mama en estadios precoces, RH+ Her2- y N0 o N1 (1-3 ganglios) con riesgo clínico alto y candidatas a tratamiento de quimioterapia por ausencia de comorbilidad que la contraindique y que aceptan tratamiento, tienen indicación de realización de TGP con nivel de evidencia I, A. Además, entre los TGP disponibles, a día de hoy y tras los resultados de estudios prospectivos a largo plazo en ganglios negativos (TAILORx) y en ganglios positivos (RxPONDER), Oncotype DX es la plataforma que presenta mayor evidencia en cuanto a su valor pronóstico. Es una buena herramienta predictiva del tratamiento de quimioterapia en pacientes con ganglios negativos; sin embargo, no está claro su valor predictivo en ganglios positivos. Además, tanto Oncotype DX como MammaPrint, nos permiten identificar a un grupo de pacientes con riesgo ultrabajo de recaída a largo plazo, en las que no tiene justificación el uso de la quimioterapia. Hay estudios pendientes de resultados que podrían posicionar a otras plataformas como buena alternativa, como es el caso del estudio OPTIMA de Prosigna. En general, todas las guías clínicas están de acuerdo en los niveles de evidencia y grados de recomendación para cada uno de los TGP. El oncólogo deberá elegir una u otra en función de las características individuales de la paciente y en función de la disponibilidad de las mismas. No se recomienda realizar dos TGP a un mismo paciente ya que los resultados pueden ser discordantes.

## CORRESPONDENCIA:

Francisco Ayala de la Peña  
Sección de Oncología Médica  
Servicio de Hematología y Oncología Médica  
Hospital General Universitario Morales Meseguer  
Avda. Marqués de los Vélez, s/n  
30008 Murcia  
e-mail: frayala@um.es

## BIBLIOGRAFÍA

- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA. Cancer J Clin* 2021. DOI: 10.3322/caac.21660
- Las cifras del cáncer en España 2020. Disponible en: [https://seom.org/seomcms/images/stories/recursos/Cifras\\_del\\_cancer\\_2020.pdf](https://seom.org/seomcms/images/stories/recursos/Cifras_del_cancer_2020.pdf)
- Albain K, Anderson S, Arriagada R, et al. Comparisons between different polychemotherapy regimens for early breast cancer: Meta-analyses of long-term outcome among 100 000 women in 123 randomised trials. *Lancet* 2012;379(9814):432-44.
- Alonso-Coello P, Schünemann HJ, Moberg J, et al. GRADE Evidence to Decision (EtD) frameworks: A systematic and transparent approach to making well informed healthcare choices. 1: Introduction. *BMJ* 2016;353:i2016. DOI: 10.1136/bmj.i2016
- Aguayo-Albasini JL, Flores-Pastor B, Soria-Aledo V. GRADE System: Classification of Quality of Evidence and Strength of Recommendation. *Cirugía Española (English Ed.)*. 2014;92(2):82-8.
- Atkins D, Briss PA, Eccles M, et al. Systems for grading the quality of evidence and the strength of recommendations II: Pilot study of a new system. *BMC Health Serv Res* 2005;5(1):25.
- Atkins D, Eccles M, Flottorp S, et al. Systems for grading the quality of evidence and the strength of recommendations I: Critical appraisal of existing approaches. *BMC Health Serv Res* 2004;4(1):38.
- Cardoso F, Kyriakides S, Ohno S, et al. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2019;30:1194-220.
- Ayala de la Peña F, Andrés R, García-Sáenz JA, et al. SEOM clinical guidelines in early stage breast cancer (2018). *Clin Transl Oncol* 2019;21(1):18-30.
- Abraham J, Aft R, Agnese D, et al. NCCN Guidelines Version 1.2021 Breast Cancer 2021.
- Harris LN, Ismaila N, McShane LM, et al. Use of biomarkers to guide decisions on adjuvant systemic therapy for women with early-stage invasive breast cancer: American Society of clinical Oncology clinical practice guideline. *J Clin Oncol* 2016;34(10):1134-50.
- Simon RM, Paik S, Hayes DF. Use of archived specimens in evaluation of prognostic and predictive biomarkers. *J Natl Cancer Inst* 2009;101(21):1446-52.
- Postmenopausal Women with HR+/HER2- Early Breast Cancer, 1-3 Positive Nodes, and a Low Risk of Recurrence Can Safely Forego Chemotherapy. *Oncologist* 2021;26(S2):S11-S12.
- Ehsani S, Wisinski KB. Genomic testing in the management of early-stage breast cancer. *J Clin Outcomes Manag* 2017;24(5):229-38.
- van de Vijver MJ, He YD, van 't Veer LJ, et al. A Gene-Expression Signature as a Predictor of Survival in Breast Cancer. *N Engl J Med* 2002;347(25):1999-2009.
- Drukker CA, Bueno Mesquita JM, Retèl VP, et al. A prospective evaluation of a breast cancer prognosis signature in the observational RASTER study. *Int J Cancer* 2013;133(4):929-36.
- Nielsen TO, Parker JS, Leung S, et al. A comparison of PAM50 intrinsic subtyping with immunohistochemistry and clinical prognostic factors in tamoxifen-treated estrogen receptor-positive breast cancer. *Clin Cancer Res* 2010;16(21):5222-32.
- Arun BK, Dhingra K, Valero V, et al. Phase III Randomized Trial of Dose Intensive Neoadjuvant Chemotherapy with or Without  $\Gamma$ CSF in Locally Advanced Breast Cancer: Long-Term Results. *Oncologist* 2011;16(11):1527-34.
- Filipits M, Dubsy P, Rudas M, et al. Prediction of distant recurrence using EndoPredict among women with ER+, HER2-node-positive and node-negative breast cancer treated with endocrine therapy only. *Clin Cancer Res* 2019;25(13):3865-72.
- Albain KS, Barlow WE, Shak S, et al. Prognostic and predictive value of the 21-gene recurrence score assay in postmenopausal women with node-positive, oestrogen-receptor-positive breast cancer on chemotherapy: a retrospective analysis of a randomised trial. *Lancet Oncol* 2010;11(1):55-65.
- Dowsett M, Cuzick J, Wale C, et al. Prediction of risk of distant recurrence using the 21-gene recurrence score in node-negative and node-positive postmenopausal patients with breast cancer treated with anastrozole or tamoxifen: A TransATAC study. *J Clin Oncol* 2010;28(11):1829-34.
- Roberts MC, Miller DP, Shak S, Petkov VI. Breast cancer-specific survival in patients with lymph node-positive hormone receptor-positive invasive breast cancer and Oncotype DX Recurrence Score results in the SEER database. *Breast Cancer Res Treat* 2017;163(2):303-10.
- Hofmann D, Nitz U, Gluz O, et al. WSG ADAPT - adjuvant dynamic marker-adjusted personalized therapy trial optimizing risk assessment and therapy response prediction in early breast cancer: Study protocol for a prospective, multi-center, controlled, non-blinded, randomized, investigator initiated phase II/III trial. *Trials* 2013;14(1):261.
- van de Vijver MJ, He YD, van 't Veer LJ, et al. A Gene-Expression Signature as a Predictor of Survival in Breast Cancer. *N Engl J Med* 2002;347(25):1999-2009.
- Howell A. The "Arimidex", Tamoxifen, Alone or in Combination (ATAC) Trial: A Step Forward in the Treatment of Early Breast Cancer. *Rev Recent Clin Trials* 2006;1(3):207-15.
- Filipits M, Nielsen TO, Rudas M, et al. The PAM50 risk-of-recurrence score predicts risk for late distant recurrence after endocrine therapy in postmenopausal women with endocrine-responsive early breast cancer. *Clin Cancer Res* 2014;20(5):1298-305.
- Lænkholm AV, Jensen MB, Eriksen JO, et al. PAM50 risk of recurrence score predicts 10-year distant recurrence in a comprehensive danish cohort of postmenopausal women allocated to 5 years of endocrine therapy for hormone receptor-positive early breast cancer. *J Clin Oncol* 2018;36(8):735-40.
- Jerevall PL, Ma XJ, Li H, et al. Prognostic utility of HOXB13: IL17BR and molecular grade index in early-stage breast cancer patients from the Stockholm trial. *Br J Cancer* 2011;104(11):1762-9.
- Sgroi DC, Carney E, Zarrella E, et al. Prediction of Late Disease Recurrence and Extended Adjuvant Letrozole Benefit by the HOXB13/IL17BR Biomarker. *JNCI J Natl Cancer Inst* 2013;105(14):1036-42.
- Bartlett JMS, Sgroi DC, Treuner K, et al. Breast Cancer Index and prediction of benefit from extended endocrine therapy in breast cancer patients treated in the Adjuvant Tamoxifen—To Offer More? (aTTom) trial. *Ann Oncol* 2019;30(11):1776-83.
- Sparano JA, Gray RJ, Makower DF, et al. Adjuvant Chemotherapy Guided by a 21-Gene Expression Assay in Breast Cancer. *N Engl J Med* 2018;379(2):111-21.
- Andre F, Ismaila N, Henry NL, et al. Use of biomarkers to guide decisions on adjuvant systemic therapy for women with early-stage invasive breast cancer: ASCO clinical practice guideline update-integration of results from TAILORx. *J Clin Oncol* 2019;37(22):1956-64.
- Brierley JD, Gospodarowicz, Wittekind C, editors. TNM Classification of Malignant Tumours. 8th ed. Wiley. Available from: <https://www.wiley.com/en-ar/TNM+Classification+of+Malignant+Tumours+%2C+8th+Edition-p-9781119263579>

34. Harnan S, Tappenden P, Cooper K, et al. Tumour profiling tests to guide adjuvant chemotherapy decisions in early breast cancer: A systematic review and economic analysis. *Health Technol Assess (Rockv)* 2019;23(30):1-327.
35. Duffy MJ, Harbeck N, Nap M, et al. Clinical use of biomarkers in breast cancer: Updated guidelines from the European Group on Tumor Markers (EGTM). *Eur J Cancer* 2017;75:284-98.
36. Kittaneh M, Badve S, Caldera H, et al. Case-Based Review and Clinical Guidance on the Use of Genomic Assays for Early-Stage Breast Cancer: Breast Cancer Therapy Expert Group (BCTEG). *Clin Breast Cancer* 2020;20(3):183-93.
37. Sparano JA, Crager MR, Tang G, et al. Development and Validation of a Tool Integrating the 21-Gene Recurrence Score and Clinical-Pathological Features to Individualize Prognosis and Prediction of Chemotherapy Benefit in Early Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2021;39(6):557-64.
38. Paik S, Shak S, Tang G, et al. A Multigene Assay to Predict Recurrence of Tamoxifen-Treated, Node-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med* 2004;351(27):2817-26.
39. Paik S, Tang G, Shak S, et al. Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2006;24(23):3726-34.
40. Andre F, Ismaila N, Henry NL, et al. Use of biomarkers to guide decisions on adjuvant systemic therapy for women with early-stage invasive breast cancer: ASCO clinical practice guideline update-integration of results from TAILORx. *J Clin Oncol* 2019;37(22):1956-64.
41. Cardoso F, Kyriakides S, Ohno S, et al. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. 2019. DOI: 10.1093/annonc/mdz173.
42. Arnedos M, Gligorov J. St Gallen International Consensus Guidelines in early breast cancer: Experts to prevent patients' overtreatment and breaking the bank? *Ann Oncol* 2019;30(10):1533-5.
43. Albain K, Barlow W, Shak S, et al. Prediction of 10-Year Chemotherapy Benefit and Breast Cancer-Specific Survival by the 21-Gene Recurrence Score (RS) Assay in Node-Positive, ER-Positive Breast Cancer – An Update of SWOG-8814 (INT0100). *Cancer Res American Association for Cancer Research (AACR)* 2009;69(24 Suppl.):112.
44. Van't Veer LJ, Dai H, Van de Vijver MJ, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 2002;415(6871):530-6.
45. Bogaerts J, Cardoso F, Buyse M, et al. Gene signature evaluation as a prognostic tool: Challenges in the design of the MINDACT trial. *Nat Clin Pract Oncol* 2006;3(10):540-51.
46. Vlieg SB, Retel V, Drukker C, et al. 10 years follow up of the RASTER study; implementing a genomic signature in daily practice. *Ann Oncol* 2017;28:v46.
47. Cardoso F, van 't Veer L, Poncet C, et al. MINDACT: Long-term results of the large prospective trial testing the 70-gene signature MammaPrint as guidance for adjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *J Clin Oncol* 2020;38(15 Suppl):506.
48. Bernard PS, Parker JS, Mullins M, et al. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. *J Clin Oncol* 2009;27(8):1160-7.
49. Sgroi DC, Carney E, Zarrella E, et al. Prediction of Late Disease Recurrence and Extended Adjuvant Letrozole Benefit by the HOXB13/IL17BR Biomarker. *J Natl Cancer Inst* 2013;105(14):1036-42.
50. Zhang Y, Schnabel CA, Schroeder BE, et al. Breast cancer index identifies early-stage estrogen receptor-positive breast cancer patients at risk for early- and late-distant recurrence. *Clin Cancer Res* 2013; 19(15):4196-205.