

Plataformas genómicas en la decisión individual en cáncer de mama con afectación axilar

ISAURA FERNÁNDEZ^{1,2}, DIEGO PEREIRO CORBACHO¹, LIDIA VÁZQUEZ TUÑAS^{1,2}, CARME GARCÍA BENITO¹, CLARA GONZÁLEZ OJEA¹, ALBERTO GARRIDO FERNÁNDEZ¹, JOAQUÍN CASAL RUBIO^{1,2}

¹Servicio de Oncología Médica. Hospital Álvaro Cunqueiro. Vigo. ²Instituto de Investigación Galicia Sur (IIGS). Vigo

RESUMEN

En los últimos años, los avances en la precisión del diagnóstico y el pronóstico del cáncer de mama han permitido la implantación de una medicina más individualizada. Uno de estos avances han sido las plataformas genómicas que han demostrado ser más precisas como herramienta pronóstica que los estudios de inmunohistoquímica en pacientes con cáncer de mama precoz, receptores hormonales positivos, HER2 negativo y, en algunos casos, también han demostrado capacidad predictiva de beneficio de la quimioterapia. En la actualidad ya se aplican de manera amplia en la enfermedad con ganglios negativos, pero su utilización en ganglios positivos es más reciente y presenta más controversias. En este artículo, revisamos el uso de estas pruebas en la enfermedad con ganglios positivos, y los estudios más recientes que enfatizan su uso, además de revisar las guías clínicas y las directrices más recientes.

PALABRAS CLAVE: Ganglios positivos. Cáncer de mama luminal. Plataformas genómicas.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad con receptor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER2) negativo y receptores estrogénicos (RE) positivos es el tipo más frecuente de cáncer de mama (CM) en fase inicial en mujeres posmenopáusicas.

En general, la quimioterapia (QT) adyuvante disminuye el riesgo de recidiva y mejora la supervivencia, pero los beneficios absolutos en pacientes con bajo ries-

ABSTRACT

In recent years, improvements in the accuracy of breast cancer diagnosis and prognosis have allowed for more individualized medicine. One of these advances are genomic assays that have demonstrated greater accuracy as a prognostic tool than immunohistochemistry studies in patients with early breast cancer, hormone receptor positive, HER2 negative and, in some cases, they have also demonstrated predictive capacity for benefit from chemotherapy. They are now widely applied in node-negative disease, but their use in node-positive disease is more recent and more controversial. In this article, we review the use of these tests in node-positive disease, and the most recent studies emphasizing their use, as well as reviewing the most recent clinical guidelines and directives.

KEYWORDS: Node positive. Luminal breast cancer. Genomic platforms.

go de recidiva pueden ser pequeños. Por lo tanto, en la decisión de ofrecer quimioterapia debemos tener en cuenta en mayor o menor medida factores relacionados con la paciente (edad, estado menopáusico y comorbilidad) y factores relacionados con la enfermedad (tamaño tumor, grado, multifocalidad, subtipo histológico, infiltración linfovascular [ILV], afectación axilar o Ki-67), destacando entre todos ellos la afectación axilar como uno de los factores pronóstico clásicos de alto riesgo para indicar tratamiento con quimioterapia.

PAPEL DE LA QUIMIOTERAPIA EN CÁNCER DE MAMA PRECOZ

La quimioterapia adyuvante ha demostrado una reducción del riesgo relativo de mortalidad por cáncer de mama de aproximadamente el 20 al 30 por ciento, independientemente del tamaño, el estadio, el grado, el estado del RE y de si las pacientes recibieron terapia endocrina, según los metaanálisis del Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG) de 100.000 y 37.000 pacientes (1). Esto se traduce en un beneficio absoluto aproximado de alrededor del 7 %, entre todas las pacientes (36 frente a 29 por ciento; RR 0,79, IC del 95 %: 0,72-0,85). Sin embargo, el CM con afectación axilar (N+) presenta una tasa de recidiva casi 2 veces superior que los tumores con ganglios linfáticos negativos (N0), en ausencia de quimioterapia. Dada la mayor probabilidad de recaída en los CM N+, el beneficio absoluto de la quimioterapia es mayor en este subgrupo, y por lo tanto se acepta de manera generalizada su uso. En la actualidad, con la optimización de los tratamientos locales y adyuvantes más eficaces (p. ej., inhibidores de la aromatasa [IA], bifosfonatos), además del conocimiento de que el beneficio terapéutico puede ser muy diferente en función de los subtipos intrínsecos, la positividad de los ganglios linfáticos podría no conferir el mismo grado de riesgo elevado que antes. Además, en los ensayos en CM precoz N0, se ha demostrado que la quimioterapia no ofrece beneficio en los tumores con *recurrence score* (RS) bajo, por lo que el beneficio absoluto de la quimioterapia puede ser incluso menor de lo que se pensaba. Por otro lado, al contrario que el metaanálisis del EBCTCG comentado anteriormente, los datos del entorno neoadyuvante sugieren que la quimioterapia puede no aportar beneficios en muchas pacientes con enfermedad con RE positivo y HER2 negativo (2).

En este sentido, sería lógico y útil que se pudiera identificar un subgrupo de pacientes con enfermedad N+ (al igual que ha ocurrido con el N0) cuyo pronóstico es tan bueno que, aunque la quimioterapia reduzca el riesgo relativo en un 20 o 30 por ciento, el beneficio absoluto no superaría el 1 a 3 por ciento, y este es aproximadamente el riesgo de toxicidad grave o potencialmente mortal de la quimioterapia, por lo que sería razonable evitar la quimioterapia en dicho subgrupo, si se pudiera identificar.

En la actualidad disponemos de varias plataformas genómicas para calcular el riesgo de recaída y, en base a ello, decidir qué pacientes son subsidiarias de recibir tratamiento adyuvante con quimioterapia.

PLATAFORMAS GENÓMICAS

La aparición de las técnicas de genómica (que evalúan el ADN) y transcriptómica (que evalúan el ARN) y

la capacidad de medir simultáneamente la expresión de miles de genes ha llevado a la identificación de perfiles de pronóstico basados en la biología, varios de los cuales han sido validados y están en uso clínico.

Repasaremos las principales plataformas disponibles y sus niveles de evidencia para guiar las decisiones sobre el tratamiento adyuvante en CM precoz N+:

- *Oncotype DX 21-gene Recurrence Score (RS)*.
- *perfil de 70 genes de Amsterdam (MammaPrint)*.
- *EndoPredict (EP)*.
- *Predictor Analysis of Microarray 50 (PAM50)*.
- *Breast Cancer Index (BCI)*.

Diversas plataformas han validado su papel pronóstico en CM con axila negativa, sin embargo existe menos evidencia sobre su papel en ganglios positivos, y, aunque tenemos resultados de 2 estudios fase III, los resultados a largo plazo son todavía preliminares.

La National Comprehensive Cancer Network (NCCN) señala que, aunque existen varios ensayos pronósticos para estimar el riesgo de recurrencia, solo el RS ha sido validado para predecir el beneficio de añadir quimioterapia adyuvante para reducir aún más el riesgo de recurrencia (3).

En la tabla I se muestran las principales plataformas genómicas y las diferencias entre las mismas en cuanto a nivel de evidencia en población CM N+.

Revisaremos en detalle las principales plataformas y los estudios que validan su papel pronóstico y, en su caso, predictivo de beneficio de tratamiento.

ONCOTYPE DX 21-GENE RECURRENCE SCORE (RS)

En la actualidad está incorporado en varias guías de estadificación, diagnóstico y/o tratamiento para el CM precoz: ASCO, NCCN, ESMO, NICE o St. Gallen, y además ha sido incluido en la 8.ª edición de la AJCC (4), y validado como herramienta pronóstica y predictiva en CM precoz N0.

Los datos que apoyan el uso de RS en la enfermedad con ganglios linfáticos positivos para identificar este subgrupo de buen pronóstico son más preliminares, destacaremos los estudios más relevantes y especialmente el estudio RxPONDER al tratarse de un estudio prospectivo, en fase III (5).

En la figura 1 se explican los puntos de corte de los estudios iniciales, estudios de registro y del estudio prospectivo fase III RxPONDER.

Estudio TransATAC (6)

Se trata de un estudio traslacional diseñado de forma prospectiva sobre muestras del ensayo ATAC, conocido como estudio transATAC (6) en el que participaron mujeres posmenopáusicas con CM precoz.

TABLA I
PRINCIPALES PLATAFORMAS GENÓMICAS CON ESTUDIOS EN GANGLIOS POSITIVOS

	<i>Oncotype DX</i>	<i>MammaPrint</i>	<i>PAM50</i>	<i>EndoPredict</i>	<i>BCI</i>
Estudios prospectivos	RxPONDER (23) (fase III)	MINDACT (27-29) (fase III) PROMIS (30)	OPTIMA (42)	NA	NA
Estudios retrospectivos	SWOG-8814 (7), TransATAC (6), SEER 18 (18-21), WSG-ADAPT (13,14)	Análisis de 7 estudios	TransATAC (39) ABC8G 8 (37) DBCG (40)	ABC8G 8-BCSG 6 (43) GEICAM 9906 (45)	STOCKHOLM (47) TransATAC ATTOM (48,54) MA 17 (54)
Valor pronóstico	Sí, RR 10 años	Sí, RR 10 años	Sí, RR 10 años Predice recaídas tardías	Sí, RR 10 años	Sí, RR 10 años Predice recaídas tardías
Valor predictivo	Sí	No	Sí, potencial beneficio de terapia extendida. No en NCCN	No	Sí, beneficio de terapia extendida
Recomendaciones guías	NCCN v 4.2021 Posmenopáusicas N1: evidencia 1 Premenopáusicas N1: evidencia 2A Recomendado por ESMO* junto a factores clinicopatológicos	NCCN v 4.2021 N1: evidencia 1 Recomendada ASCO** St. Gallen Recomendado por el 80,9 % de panelistas en mujeres > 50 años 1-2 g+	NCCN v4.2021 evidencia 2A Recomendado por ESMO* junto a factores clinicopatológicos	NCCN v4.2021 evidencia 2A Recomendado por ESMO* junto a factores clinicopatológicos	NCCN v4.2021 evidencia 2A Recomendado por ESMO* junto a factores clinicopatológicos

*ESMO lo que establece es una pauta de NO recomendación de plataformas en determinados casos:

- Comorbilidad que contraindique QT
- Tumores de muy bajo riesgo por características clinicopatológicas (pT1a, pT1b, G1, ER alto, pN0)
- Subtipos histológicos de pronóstico excelente (carcinoma papilar encapsulado de bajo grado, carcinoma tubular invasivo)
- 1-3 g+ con otros factores de riesgo coexistentes o ≥ 4 ganglios positivos

**Las guías de ASCO son de 2019, no están actualizadas, sólo pacientes de alto riesgo por factores clínicos, y especifican que se debe informar a las pacientes que no puede excluirse el beneficio de QT.

	RS		
	0-17 Bajo riesgo	18-30 Riesgo medio	> 30 Alto riesgo
SWOG 8814 transATAC SEER NSABP-B28			
	0-11 Bajo riesgo		
WSG planB			
	0-25 Bajo riesgo		> 25 Alto riesgo
RxPONDER			

Fig. 1. Estudios en N+ con Oncotype DX (rojo: alto riesgo; verde: bajo riesgo; amarillo: riesgo intermedio).

Este estudio evaluó 1231 muestras tumorales de las 9366 pacientes incluidas en el estudio ATAC, de las cuales 243 pacientes tenían afectación de 1-3 ganglios y 63 pacientes tenían 4 o más ganglios afectos. El riesgo de recidiva a distancia (RRd) a los 9 años fue del 17, 28 y 49 % para los pacientes con un RS inferior a 18, RS entre 18-30, y RS ≥ 31, respectivamente, independiente de si eran N0 o N1, aunque hay que destacar que las pacientes con ≥ 4 ganglios positivos tenían un mayor RRd para cualquier resultado de RS.

Estudio SWOG 8814 (7)

Este estudio fase III evaluaba el tamoxifeno solo frente a la quimioterapia (ciclofosfamida, doxorubicina y fluorouracilo) con tamoxifeno concomitante o posterior en pacientes posmenopáusicas pN+. Se analizó el RS en muestras tumorales archivadas de pacientes incluídas en el estudio.

La capacidad pronóstica de la RS se demostró en 148 pacientes del brazo de solo tamoxifeno, el 64 % y el 36 % de las cuales tenían de 1 a 3 y 4 o más ganglios positivos, respectivamente. La supervivencia libre de enfermedad (SLE) a 10 años ajustada por el número de ganglios positivos fue del 60 % en las que tenían un RS inferior a 18, del 49 % en las que tenían un RS de 18 a 30 y del 43 % en las que tenían un RS de 31 o más (p = 0,017) (7).

Para evaluar el valor predictivo del RS en el SWOG 8814, se compararon los resultados entre las pacientes del brazo de solo tamoxifeno (n = 148) y las que recibieron quimioterapia seguida de tamoxifeno (n = 219). Entre las pacientes con RS menor de 18 o RS 18-30 no

hubo beneficio en SLE con la quimioterapia (RS < 18: HR, 1,02; IC 95 %, 0,54-1,93; p = 0,97; RS 18-30: CRI, 0,72; IC 95 %, 0,39-1,31; p = 0,48), mientras que se observó un beneficio significativo en aquellas con RS de 31 o más (CRI, 0,59; IC 95 %, 0,35-1,01; p = 0,033). Los resultados fueron similares en cuanto a la supervivencia específica por CM (SECM) y la supervivencia global (SG). Al ajustar por el número de ganglios positivos, hubo una interacción significativa entre el efecto continuo del RS y la quimioterapia sobre la SLE (p = 0,053), en particular en los primeros 5 años (p = 0,029). Aunque estos datos son convincentes, el tamaño de la muestra fue pequeño y el estudio tiene poca potencia. Además, el ensayo principal se realizó hace más de 25 años y, por lo tanto, no refleja el uso ni los esquemas de QT utilizados actualmente (8).

Estudio PlanB (9,10)

El estudio PlanB (9,10) es un estudio fase III, que incluye 3.198 pacientes RH+, HER2-, de las cuales un 41,1 % eran N+ y un 32,5 % grado III. El estudio evaluaba 2 regímenes de tratamiento con y sin antraciclinas. Se realizó de forma prospectiva un análisis de RS y, tras una enmienda, se decidió no administrar quimioterapia a las pacientes con RS ≤ 11 (n = 348, de las que un 40 % (n = 110) presentaban entre 1 a 3 ganglios +. Se encontró que con una mediana de seguimiento de 35 meses, la SLE a los 3 años era del 98 %. Aunque no se proporcionó un análisis de subgrupos de pacientes con afectación axilar y bajo RS, los resultados sugieren que se podría evitar la quimioterapia en pacientes con enfermedad ganglionar limitada si el RS es bajo (11,12).

Aquí cabe mencionar el *ensayo WSG- ADAPT* que reclutó a aproximadamente 4900 pacientes utilizando un innovador diseño en “paraguas”. Las pacientes fueron estratificadas en 3 grupos en función de la biopsia central: grupo HR+/HER2-, grupo HR+/HER2+ y grupo HR-/HER2+ (13). Los primeros resultados de eficacia se comunicaron en el reciente Simposio de Cáncer de Mama de San Antonio 2020 (13,14). Después de 3 semanas de tratamiento con HT preoperatoria, las pacientes con CM de alto riesgo clínico N- o N+ (≤ 3) recibieron HT si el RS era 0-11 o con RS 12-25 y había respuesta de disminución de Ki-67. La supervivencia libre de enfermedad a 5 años fue del 96 % independientemente de la edad.

Análisis del NSABP-B28 (15)

El ensayo NSABP B-28 aleatorizó a los pacientes pN+ a la quimioterapia con doxorubicina y ciclofosfamida con o sin paclitaxel. Se analizó el RS de manera retrospectiva en 1065 pacientes; La SLE a 10 años fue del 75,8 % para RS < 18, 57,0 % para RS de 18-30 y 48,0 % para RS ≥ 31 ($p < 0,001$). El RS también se correlacionó con la SLRd, SG y SECM (15).

PACS 01 (16)

Entre los 530 pacientes pN+ del ensayo PACS-01 aleatorizados a quimioterapia con fluorouracilo, epirrubina y ciclofosfamida con o sin docetaxel, el resultado de RS volvió a estar fuertemente asociada con la recidiva a distancia, la SLE y la SG en el análisis multivariable (todas las $p < 0,001$) (16).

ECOG 2197 (17)

Este ensayo incluyó a pacientes pN+ y pN0 de alto riesgo, aleatorizados a doxorubicina con ciclofosfamida o docetaxel. Entre 465 pacientes, el 44 % tenía de 1 a 3 ganglios positivos. El RS superó a una versión modificada de la herramienta Adjuvant! Online, que utiliza factores de riesgo clinicopatológicos tradicionales, en la predicción del riesgo de recidiva a 5 años (17).

Datos poblacionales: SEER (18-21)

Wang y cols. (18) evaluaron los resultados de RS en 4.059 pacientes pT1-2 pN1 de la base de datos Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER). Los puntos de corte de RS fueron los mismos que los del estudio TAILORx, las pacientes con RS 11-25 y

RS > 25 frente a RS < 11 experimentaron una SECM y una SG inferiores, independientemente del estadio pronóstico patológico de la 8.ª edición de la AJCC.

Hubo una correlación positiva entre los grupos de riesgo de RS y el estadio de pronóstico patológico, encontrándose un 22 % de los estadios IA como bajo riesgo por RS frente a un 3,4 % en los pacientes estadio IIB. Por el contrario, el porcentaje de pacientes de alto riesgo de RS aumentó del 8,3 % en los pacientes en estadio IA al 57,3 % en el estadio IIB. Además se encontraron puntuaciones de RS más altas en pacientes con características clinicopatológicas más agresivas como la enfermedad de grado III y estado de RP negativo. Sin embargo, la discordancia entre el riesgo clínico definido por el grado del tumor y el riesgo genómico definido por la RS se ha demostrado en hasta el 30 % de las pacientes tanto en N0 como en N+, destacando el potencial de los ensayos genómicos para refinar el pronóstico más allá de los factores clinicopatológicos tradicionales (19,20).

Con una mediana de seguimiento de 57 meses, se encontraron diferencias significativas entre los grupos de riesgo de RS con respecto a la SECM y la SG, y en el análisis multivariante tanto el RS como el estadio pronóstico patológico de la AJCC fueron factores pronósticos independientes para la SECM y la SG. Entre las pacientes con RS de bajo riesgo, no había diferencias en SECM ni SG entre los distintos estadios de pronóstico patológico. Por el contrario, para los pacientes con RS intermedio, hubo diferencias significativas en SECM y SG en el estadio patológico IA, en función del RS, esto apoyaría la utilización del RS como herramienta pronóstica superior al estadio patológico tanto en enfermedad N0 como N+ (21).

Otro análisis de datos de la SEER de 3.919 pacientes con 1-3 ganglios implicados y RS < 18 mostró tasas de SECM a 5 años del 92,8 %, 95,1 %, 97,1 %, 99,4 % y 98,9 % para pacientes con ≥ 4 , 3, 2, 1 ganglio implicado y micrometástasis, respectivamente. Sin embargo, hay que tener en cuenta que el seguimiento es corto, que entre el 18 % y que el 59 % de las pacientes fueron tratadas con quimioterapia, aunque los datos sobre la quimioterapia no suelen notificarse al SEER y no se tenía en cuenta el papel de la QT como potencial factor modificador del pronóstico (20).

En un estudio más amplio y reciente del SEER de más de 6000 pacientes con pN1, las tasas no ajustadas de mortalidad específica por cáncer de mama a los 9 años fueron inferiores al 5 % para RS de hasta 20, independientemente del uso de quimioterapia. En particular, en las pacientes tratadas sin quimioterapia, las diferencias en la mortalidad específica por cáncer de mama entre las pacientes pN0 y pN1 fueron de menos del 1 % para el RS 0-15 y de menos del 2 % para el RS 16-20 (22).

Estudio RxPONDER/SWOG1007 (23)

El estudio RxPONDER ha sido presentado como comunicación oral en San Antonio Breast Cancer Symposium en 2020 (23), aunque todavía no ha sido publicado; se trata de un estudio prospectivo y aleatorizado, de fase III, realizado en 632 centros de 9 países en el que se realiza un *screening* a 9383 pacientes, de las que finalmente se incluyen 5015 con CM precoz, RH positivos, HER2 negativo, con afectación de 1-3 ganglios axilares, y con una puntuación en el RS de 0 a 25. Se aleatorizan a tratamiento hormonal solo o QT seguida de terapia hormonal. Las pacientes fueron estratificadas en función del resultado de RS, el estado menopáusico y el tipo de cirugía axilar. El objetivo principal del estudio era supervivencia libre de enfermedad invasiva (SLEi). La SG fue objetivo secundario del estudio.

Tras la evaluación por un comité independiente con resultados favorables, se recomienda comunicar los datos de manera precoz, así que se presentaron los resultados con una mediana de seguimiento de 5,1 años.

Con respecto a la población general incluida en el estudio, aproximadamente el 10 % tenía enfermedad de grado 3; el 9 % tenía 3 ganglios afectados. Aproximadamente el 50 % de las pacientes fueron tratadas con docetaxel y ciclofosfamida, y el 50 % recibió un régimen basado en antraciclina.

De manera global no se encontró beneficio para la quimioterapia entre la población incluida en el estudio, pero se encontraron diferencias en función del estado de menopausia.

Entre las mujeres posmenopáusicas, que eran aproximadamente dos tercios de la población incluida en el estudio, la SLEi a 5 años fue del 91,6 % frente al 91,9 %, con y sin quimioterapia (cociente de riesgos 0,97; IC del 95 %: 0,78-1,22), lo que indica que la quimioterapia no aporta ningún beneficio.

Por el contrario, entre las mujeres premenopáusicas, $n = 1665$, el estudio encontró un beneficio estadísticamente significativo a favor de la quimioterapia en SLEi (94,2 % para el grupo de quimioterapia y terapia hormonal, en comparación con el 89,0 % para el grupo de terapia hormonal (HR 0,45; IC del 95 %: 0,38-0,76; $p = 0,0004$). Este beneficio se observó independientemente de la puntuación del RS 0-13 o 14-25, además, aunque el número de eventos fue pequeño, se encontró un beneficio temprano en SG, pues a los 5 años la tasa global de supervivencia fue del 98,6 % para los que recibieron quimioterapia y hormonoterapia y de 97,3 % para las que recibían solo hormonoterapia (HR 0,47; IC del 95 %: 0,24-0,94); $p = 0,032$, lo que supone un beneficio absoluto del 1,3 %.

Respecto al uso de la supresión ovárica en las pacientes premenopáusicas, destacar que fue más frecuente entre las pacientes que recibían tratamiento hormonal (15,9 vs. 3,7 %). Una de las dudas que se nos plantea es

si el beneficio de la QT en estas pacientes pueda ser en parte atribuido al papel de la menopausia inducida por quimioterapia, pues en un análisis exploratorio del estudio TAILORx en ganglios negativos, ya se había observado cierto beneficio de la quimioterapia en pacientes menores de 50 años y con una puntuación de RS entre 16-25.

Con todo ello podemos asumir que la recomendación en pacientes posmenopáusicas, N1 es la administración de quimioterapia cuando el RS es superior a 25 y tratamiento hormonal para el resto de las pacientes con $RS \leq 25$, pero en las pacientes premenopáusicas estos resultados obligan a ser más cautelosos y a tener en cuenta el perfil de la paciente y del tumor dado que no se puede excluir el beneficio de la QT en base a este ensayo.

Las guías de la NCCN v3 2021 ya consideran la determinación de RS-Oncotype DX para pacientes posmenopáusicas con 1-3 ganglios positivos, y recomiendan considerar HT si el $RS < 26$ (categoría 1 de recomendación), mientras que en las pacientes premenopáusicas recomiendan con cautela la determinación del RS, especificando el beneficio demostrado con la administración de QT en el estudio RxPONDER (24).

MAMMAPRINT® (PERFIL DE 70 GENES DE ÁMSTERDAM)

MammaPrint® analiza 70 genes relacionados con el cáncer mediante análisis de *microarrays*, inicialmente solo se podía realizar sobre tejido tumoral fresco, pero actualmente la técnica ya se ha implementado para realizar sobre muestra de tumor parafinada (25). Mediante un algoritmo posterior se determina la clasificación pronóstica de las pacientes en alto o bajo riesgo de recaída y desarrollo de metástasis a 10 años en ausencia de tratamiento adyuvante.

Los primeros estudios evidenciaron la validez de MammaPrint® en pacientes sin afectación ganglionar, y actualmente disponemos de resultados en pacientes con 1 a 3 ganglios positivos.

Estudio inicial N+

El estudio inicial de validación en N+ se basa en el análisis de muestras de tumor de 241 mujeres con cáncer de mama T1-T3 y con afectación de 1 a 3 ganglios y encontraron que la supervivencia 10 años libre de enfermedad metastásica a distancia y la SECM fue de 91 % (SE 4 %) y 96 % (SE 2 %) respectivamente para el grupo de bajo riesgo (99 pacientes), y 76 % (SE 4 %) y 76 % (SE 4 %) en el grupo de alto riesgo (142 pacientes). Además, en el análisis multivariante, MammaPrint® se mostró significativamente superior a los factores pronósticos clínicos tradicionales (HR 7,17 IC 95 % 1,81-28,43, $p = 0,005$ (26).

Estudio MINDACT (27-29)

Es ensayo clínico más importante en estudiar de forma prospectiva MammaPrint® en pacientes con CM precoz. En este estudio se incluyeron 6693 pacientes con estadios I y II, en el protocolo inicial solo se incluían pacientes N0, pero una enmienda posterior permitió la inclusión de pacientes con 1 a 3 ganglios positivos.

El riesgo clínico bajo se definió como una SECM a 10 años estimada en un 88 % sin quimioterapia o terapia endocrina para la enfermedad con receptores de estrógeno (RE) positivos o en un 92 % para la enfermedad con RE negativos.

En este estudio se clasifican las pacientes en alto y bajo riesgo genómico según el resultado de MammaPrint® y en alto y bajo riesgo clínico según riesgo de recaída clínico definido mediante la herramienta Adjuvant! Online.

Las 2745 pacientes clasificadas como bajo riesgo según ambos métodos no recibieron quimioterapia, y las 1.806 pacientes de alto riesgo según ambos métodos recibieron quimioterapia.

Las 1550 pacientes (el 23 % de la muestra) con resultados discordantes (alto riesgo clínico/bajo riesgo genómico) se aleatorizaron a tratamiento con hormonoterapia exclusiva *versus* quimioterapia seguido de hormonoterapia. La aleatorización fue centralizada y se estratificaron por institución, grupo de riesgo y características clinicopatológicas. La asignación al tratamiento no estaba enmascarada.

El criterio de valoración principal fue probar si la tasa de supervivencia sin metástasis a distancia (SLMD) a los 5 años en pacientes con alto riesgo clínico y bajo riesgo genómico que no recibieron quimioterapia tenía un límite inferior del IC del 95 % por encima del límite de no inferioridad predefinido del 92 %.

Entre las pacientes aleatorizadas, todas eran RH+, el 48 % presentaban afectación ganglionar, un 93 % tenían enfermedad grado 2-3, un 34 % tenían edad igual o menor de 50 años y el 47,6 % era N+.

Los resultados de este estudio son positivos en cuanto a su objetivo primario, con una SLMD a 5 años en las pacientes con alto riesgo clínico/bajo riesgo genómico del 94,7 % en las pacientes sin QT, y del 95,9 % con quimioterapia, una diferencia que no fue significativa (HR 0,78, $p = 0,267$).

En ASCO 2020 se presentaron resultados con casi 9 años de seguimiento, y se mantiene esta diferencia, con una SLMD para estas pacientes con alto riesgo clínico/bajo riesgo genómico que no recibieron quimioterapia ($n = 644$) del 95,1 % (27), que está por encima del límite de no inferioridad predefinido del 92 %, y respalda el análisis anterior. El ensayo clínico MINDACT muestra que hasta el 46 % de las pacientes con CM precoz con características de alto riesgo clínico pero un perfil genómico de bajo riesgo podrían evitar el tratamiento con quimioterapia.

Un análisis secundario comparó el resultado de pacientes de alto riesgo clínico/bajo riesgo genómico según si reciben o no tratamiento de quimioterapia. El ensayo no tenía poder suficiente para este análisis, pero muestra un pequeño beneficio de aproximadamente 1,5 % en supervivencia libre de enfermedad metastásica a distancia a 5 años para las pacientes que reciben quimioterapia.

Un análisis exploratorio limitado al grupo de pacientes con enfermedad con RE+, HER2 negativo (1358 [90,7 %] de 1.497 pacientes, de las cuales 676 recibieron quimioterapia y 682 no) muestra diferentes efectos de la administración de quimioterapia en la SLMD a 8 años según la edad: 93,6 % con quimioterapia frente a 88,6 % sin quimioterapia en mujeres ≤ 50 años ($n = 464$) (diferencia absoluta 5,0 puntos porcentuales [SE 2,8, 95 % CI -0,5 a 10,4]) y 90,2 % (86,8-92,7) *versus* 90,0 % (86,6-92,6) en 894 mujeres mayores de 50 años (diferencia absoluta 0,2 puntos).

En el análisis exploratorio de las pacientes que presentaban afectación ganglionar, la SLMD a los 5 años fue de 96,3 % en las pacientes que recibieron quimioterapia frente a 95,6 % en el grupo que no recibió quimioterapia. A los 8 años los resultados para las pacientes con QT *vs.* sin QT fueron similares (91,2 *versus* 89,9 %) para 658 pacientes con 1 a 3 ganglios positivos (diferencia absoluta 1,3 puntos porcentuales) (27,28).

Es de señalar que MammaPrint® tuvo un resultado de bajo riesgo genómico en un 63 % de pacientes con 1 ganglio positivo y alto riesgo clínico y en un 55,8 % de pacientes con 2 o 3 ganglios positivos y alto riesgo clínico. Esto sugiere que las características biológicas del tumor son tan importantes como la carga tumoral en la decisión terapéutica (29).

En SABCS de 2019 se presentaron los resultados de un subanálisis no preplanificado por subgrupos de edad, evidenciando que, al igual que ocurría en el estudio TAYLOx, las pacientes menores de 50 años de alto riesgo clínico/bajo riesgo genómico, premenopáusicas, podrían estar infratratadas con tamoxifeno. Es probable que este efecto edad-dependiente esté asociado a la supresión ovárica (SO) que produce la QT.

La conclusión del estudio es que con un seguimiento de casi 9 años, la firma de 70 genes es capaz de identificar entre pacientes con alto riesgo clínico, un subgrupo con bajo riesgo genómico, con una excelente SLMD cuando reciben tratamiento solo con HT. Para estas mujeres, la magnitud del beneficio de añadir QT es pequeño (2,6 puntos porcentuales) y no aumenta con la positividad ganglionar. Sin embargo, en un análisis exploratorio con poca potencia, el beneficio de la QT parece depender de la edad, ya que solo se observa en mujeres menores de 50 años donde alcanza un umbral clínicamente relevante de 5 puntos porcentuales. Se necesitan más estudios en mujeres más jóvenes, que podrían necesitar HT y SO para poder evitar la quimioterapia.

Estudio PROMIS (30)

El estudio PROMIS evaluó también de forma prospectiva el test de 70 genes. En este estudio se incluyen a 840 pacientes en los que la determinación de Oncotype DX® obtenía un RS de 18-30 y se les realiza determinación de MammaPrint®. El objetivo del estudio fue valorar el cambio de decisión tras el resultado del test MammaPrint®. Inicialmente solo se incluían pacientes sin afectación ganglionar, pero se incluyeron pacientes con 1 a 3 ganglios positivos después de una enmienda. Tras la realización del segundo test genómico el facultativo responsable realizaba la propuesta de tratamiento. Se reclasificó a las pacientes de riesgo intermedio en bajo riesgo en 374 casos (44,5 %) y alto riesgo en 466 (55,5 %), independientemente de la cifra de RS intermedio, lo que condujo a un cambio en la decisión de tratamiento en 282 pacientes (33,6 %), y además el cambio en la decisión ocurría tanto en N0, 271 /744 p como N+ (27/84p) (30).

La FDA recoge que los resultados de MammaPrint® han de utilizarse como marcador pronóstico junto a otros índices clinicopatológicos, en pacientes con cáncer de mama estadios I y II menores de 61 años, tamaño tumoral ≤ 5 cm y sin afectación ganglionar (31). Por otro lado las guías NCCN, ASCO y ESMO lo consideran con nivel de evidencia 1 en N1.

En la tabla II se recogen las principales características de los 2 estudios fase III aleatorizados que han incluido población N+ (RxPONDER y MINDAC).

PAM50 (PREDICTOR ANALYSIS OF MICROARRAY 50)

Esta plataforma incorpora 58 genes, e inicialmente fue diseñada para caracterizar el CM en subtipos intrínsecos: luminal A, luminal B, HER2 enriquecido y basal-like, en base a los 50 genes preespecificados (32). Los resultados del PAM50 se utilizan para generar una puntuación de riesgo de recurrencia (ROR), que puede estratificar a las pacientes con CM y RE+ en 3 grupos de alto, medio y bajo riesgo. La prueba puede realizarse en tejido parafinado con un alto grado de validez analítica (33).

PAM50 se desarrolló utilizando datos de *microarrays* y de la reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa (RT-PCR) cuantitativa de un conjunto de casi 190 muestras prototipo (32,34). Inicialmente se incluyeron más de 700 muestras, y se obtuvo una puntuación continua compuesta por el subtipo intrínseco (definido por el PAM50) y el tamaño del tumor, denominada puntuación ROR. El ROR fue significativamente predictivo del pronóstico entre las pacientes con cáncer de mama con ganglios negativos y ganglios positivos, siendo los puntos de corte diferentes en función de si se trata N0 o N+ (35).

En la figura 2 se establece la puntuación ROR en función del estado axilar N0/N+.

Revisamos los principales estudios en los que se estudiado esta plataforma en CM N+ actualmente está incorporado en las directrices de la ESMO, St. Gallen, NCCN, ASCO y AGO y su nivel de evidencia es 2A (36).

TABLA II
PRINCIPALES DIFERENCIAS ENTRE LOS ESTUDIOS FASE III QUE HAN INCLUIDO N+

	<i>RxPONDER (23)</i>	<i>MINDACT (27-29)</i>
Diseño	Fase III	Fase III
Población incluida	N1, RH+, HER2- RS 0-25	N0, N1, RH+/HER2-, TN/HER2+ RH- (2 %), HER2+ RH+ (7 %) y Resultado discordante clinicogenómico
N+	n = 5015	48% (n = 658)
G 3	10 %	29 %
Objetivo principal	SLEi	SLMD en pacientes con alto riesgo clínico/ bajo riesgo genómico
Resultados principales	SLEi a 5 años: Posmenopáusicas: 91,6 % con QT vs. 91,9 % sin QT (ns) Premenopáusicas: 94,2% con QT vs. 89,0 % sin QT (p = 0,0004)	SLMD a 9 años: 95,1 % (IC 95 % 93,1-96,6) N+: SLMD a 5 años (96,3 % con QT vs. 95,6 % sin QT) N+ SLMD a 8 años (91,2 % con QT vs. 89,9 % sin QT) diferencia absoluta 1,3 puntos

SLEi: supervivencia libre de enfermedad invasiva; SLMD: supervivencia libre de metástasis a distancia; QT: quimioterapia.

	RoR		
	0-40	41-60	> 60
N0	Bajo	Medio	Alto
N+	Bajo	Alto	Alto

Fig. 2. Puntuación de riesgo (ROR) de la plataforma PAM 50 en N0 y N+.

Estudio ABCSG-8 (37,38)

Este estudio aleatorizó a más de 3700 mujeres posmenopáusicas a recibir tamoxifeno durante 5 años o a 2 años de tamoxifeno seguidos de 3 años de anastrozol. Se analizaron 1246 muestras de pacientes incluidas en el estudio, y se observó que la puntuación ROR de PAM50 y los grupos de riesgo basados en ROR proporcionaron información pronóstica adicional significativa con respecto a la SLR a distancia tardía, en comparación con una puntuación combinada de factores clínicos únicamente. Entre los años 5 y 15 se observó un riesgo absoluto de recidiva a distancia del 2,4 % en el grupo de bajo riesgo basado en ROR, en comparación con el 17,5 % en el grupo de alto riesgo basado en ROR. Las diferencias en la SLMD según la puntuación PAM50 ROR se observaron tanto para pacientes N+ como N0 (38).

Otro análisis sobre 1478 pacientes de este estudio, diseñado para comprobar si la puntuación ROR continua añade valor pronóstico en la predicción de la recidiva a distancia por encima de las variables clínicas estándar, analizó tanto el subtipo intrínseco (luminal A/B, enriquecido con HER2, basal-like) como la puntuación ROR, y se concluye la validez clínica del PAM50 para predecir el riesgo de recidiva de la enfermedad con un nivel de evidencia 1. En todos los subgrupos, la puntuación ROR añade información pronóstica al predictor clínico ($p < 0,0001$). Además PAM50 asigna un subtipo intrínseco a todos los casos y la cohorte luminal A tuvo un ROR significativamente inferior a los 10 años en comparación con la luminal B ($p < 0,0001$). También se produjo una discriminación significativa y clínicamente relevante entre los grupos de bajo y alto riesgo dentro de todos los subgrupos analizados, destacando un riesgo inferior al 3,5 % de metástasis a 10 años, en el grupo con bajo ROR, lo cual nos permitiría evitar quimioterapia en este grupo (37).

Estudio TransATAC (39)

En el estudio ATAC se incluyeron 9366 pacientes posmenopáusicas con CM precoz, aleatorizadas a re-

cibir tratamiento hormonal durante 5 años con tamoxifeno, anastrozol o la combinación de ambos. Los resultados de este estudio demostraron superioridad del inhibidor de aromatasas respecto a tamoxifeno en estas pacientes. Se realizó un análisis retrospectivo de más de 1000 muestras mediante PAM50, IHC4 y Oncotype DX y se demostró que el ROR score añadía información pronóstica a los criterios clinicopatológicos tanto en N0 como en N+, y era más eficaz en pronosticar la recurrencia tardía que el Oncotype RS, sobre todo en el grupo de ganglios negativos (39).

Análisis del Grupo Danés (DBCG) (40)

En un estudio similar al ATAC dirigido por el Grupo Danés de Cáncer de Mama en el que se incluyeron pacientes N+ o N- pero con tamaño tumoral mayor a 2 cm, se ratificó el valor pronóstico del ROR score. Un análisis retrospectivo sobre muestras de 2500 pacientes (de las cuales 1480 eran ganglio positivo), PAM50 identificó un 37 % de pacientes con ganglio positivo con pronóstico favorable y en las cuales podría evitarse la quimioterapia (40).

Análisis combinado ABCSG-8 y TransATAC (41)

En un análisis mediante PAM50 de pacientes N+, tratadas con HT y sin QT, incluidas en ambos estudios (ABCSG-8 y ATAC), se evaluó el papel pronóstico del ROR añadido a las variables clínicas estándar en pacientes con un ganglio positivo (1N+, $n = 331$) y en pacientes con 2 o 3 ganglios positivos ($n = 212$). Con una mediana de seguimiento de 9,6 años, el 18 % de las 543 pacientes N+ presentaron metástasis a distancia. En un análisis multivariante, la puntuación ROR proporcionó información pronóstica fiable además de los factores clínicos establecidos para las pacientes con 1N+ ($p < 0,0001$) y 2-3N+ ($p = 0,0002$). El riesgo de recaída a distancia (RRd) a 10 años aumentó significativamente en el grupo de alto riesgo en comparación con el grupo de bajo riesgo derivado de la puntuación ROR para 1N+ (25,5 %, IC 95 %: 17,5 %-36,1 % frente a 6,6 %, IC 95 %: 3,3 %-12,8 %) y en comparación con el grupo combinado de riesgo bajo/intermedio para los pacientes 2-3N+ (33,7 %, IC del 95 %: 25,5 % a 43,8 % frente a 12,5 %, IC del 95 %: 6,6 % a 22,8 %). Además, el subtipo intrínseco luminal A mostró menor RRd en comparación con el subtipo luminal B en los pacientes 1N+ y 2-3N+ (41).

La validación prospectiva del PAM50 está siendo estudiada en el momento actual en el estudio OPTIMA ("Optimal personalized treatment of early breast cancer using multiparameter analysis"). En este estudio, 4.500 pacientes con CM precoz, RRRH positivos,

HER2 negativo, con afectación axilar (N1-N2) o tamaño tumoral > 3 cm, son aleatorizadas a recibir quimioterapia y hormonoterapia en pacientes con Prosigna *score* > 60 o solo hormonoterapia en pacientes con Prosigna *score* ≤ 60.

Se ha publicado un análisis de este estudio que incluye 313 p comparando diferentes plataformas en el que se determinó la estratificación del riesgo con Prosigna (PAM50), MammaPrint, MammaTyper, NexCourse Breast (IHC4-AQUA) e IHC4 convencional. La clasificación del subtipo fue proporcionada por Blueprint, MammaTyper y Prosigna. En este estudio Oncotype DX predijo una mayor proporción de tumores como de bajo riesgo (82,1 %), seguido de Prosigna (65,5 %), IHC4 (72,0 %), MammaPrint (61,4 %), NexCourse Breast (61,6 %). Además las 5 pruebas solo mostraron una modesta concordancia al dicotomizar los resultados entre riesgo alto y bajo-intermedio. Solo 119 (39,4 %) tumores se clasificaron uniformemente como de riesgo bajo/intermedio o alto, y un 31,1 % presentaban concordancia. Respecto a la concordancia de subtipo se observó una subtificación discordante entre las plataformas PAM50, Blueprint y MammaTyper en 123 (40,7 %) tumores (42).

ENDOPREDICT® (EP)

Es una prueba genómica que analiza mediante PCR sobre muestras en parafina del tumor la expresión de 12 genes, 8 genes relacionados con el cáncer de mama (3 del ciclo de proliferación celular y 5 de señalización hormonal), 3 genes de referencia de control de ARN y un gen de control de ADN. Según los niveles de expresión de estos genes se establece un índice EP, luego se combina con tamaño tumoral y estadio ganglionar para obtener otro índice, EPclin, aumentado la capacidad pronóstica de EP (43,44).

EP abarca un rango de valores de 0 a 15, clasifica en bajo y alto riesgo con un punto de corte igual a 5. EPclin tiene un rango de valor entre 1 y 6,5 y clasifica en bajo y alto riesgo de recaída considerando un punto de corte igual a 3,3.

EP ha sido evaluado en pacientes con afectación ganglionar en 3 estudios.

Análisis ABCSG-6 y ABCSG-8 (44)

El análisis en conjunto de los estudios ABCSG-6 y ABCSG-8, que solo recibieron tratamiento hormonal adyuvante durante 5 años, estudia a más de 1700 pacientes de forma retrospectiva, de las cuales un 27 % presentaban de 1-3 ganglios afectos y 5 % más de 4 ganglios positivos. La tasa de recidiva a distancia estimada a 10 años en el subgrupo de pacientes con 1-3 ganglios

positivos fue del 95,6 % para pacientes con resultado de EPclin bajo y del 80,9 % para puntuaciones EPclin de alto riesgo, lo que viene a representar una reducción significativa del riesgo de recurrencia a distancia en las pacientes con EPclin bajo (HR 3,65, IC95 %: 1,73-7,68, p = 0,0003) (44).

GEICAM 9906 (45,46)

En cuanto a pacientes que han recibido tratamiento con quimioterapia adyuvante, EP ha sido estudiado de forma retrospectiva en pacientes pre- y posmenopáusicas que se incluyeron en el estudio GEICAM 9906 (45). Se analizaron 800 muestras de tumor de 1.243 pacientes incluidas en el ensayo, el 25 % de las pacientes se clasificaron como de bajo riesgo por EP. La supervivencia libre de metástasis fue del 93 % en el grupo de bajo riesgo y del 70 % en el grupo de alto riesgo, con reducción del riesgo absoluto 23 % (HR 4,8 IC 95: 2,5-9,5, p < 0,0001). Además, según el índice EP el riesgo de recurrencia del grupo de alto riesgo era el doble en mujeres premenopáusicas (6,68) que en mujeres posmenopáusicas (3,34).

Estos resultados postulan a EP como factor pronóstico en pacientes con CM N+ tratados con quimioterapia y hormonoterapia adyuvantes.

Dado que los estudios de validación clínica de EP son retrospectivos no es posible determinar su utilidad como herramienta para la decisión terapéutica, se necesitan estudios prospectivos. Además EP analiza en su mayoría genes de señalización hormonal, por lo que se ha sugerido que podría ser útil en predecir el beneficio de la terapia hormonal extendida (46).

BCI (BREAST CANCER INDEX) (47,48)

El Breast Cancer Index (BCI) es una plataforma mixta ya que combina 2 test: el ratio de expresión entre HOXB13 e IL17BR y el llamado molecular grade index (genes relacionados con el ciclo celular y la proliferación). El *score* generado es usado para determinar en beneficio de ampliar la duración de hormonoterapia adyuvante en pacientes posmenopáusicas con ganglio negativo.

Si nos centramos en la población N+, tenemos algún estudio que ha evaluado el BCI en estas pacientes.

Como factor pronóstico de recaídas tardías: un estudio liderado por Sgroi y cols. (47) de 249 pacientes (1-3 ganglios positivos), 160 recibieron hasta 5 años de hormonoterapia y 197 recibieron quimioterapia adyuvante. Del total, BCI clasificó un 77 % de pacientes como de alto riesgo (16,1 % riesgo de recurrencia). Parece por tanto recomendable en base a este estudio, evitar la extensión de la hormonoterapia en pacientes identificadas como bajo riesgo por BCI.

Como factor predictivo de beneficio de HT extendida: en el estudio aTTom se evalúa el papel de la hormonoterapia extendida en pacientes con N+. Las pacientes clasificadas de alto riesgo por BCI parece que se benefician de una hormonoterapia extendida (reducción absoluta de 10,2 % del riesgo de recaída, HR 0,35). Por el contrario pacientes de bajo riesgo por BCI no mostraron beneficio respecto a añadir otros 5 años de hormonoterapia (48). Aun así, y dado que no hay estudios prospectivos, son necesarios más estudios en población ganglio positiva para seguir evaluando el papel de BCI.

OTRAS PLATAFORMAS MOLECULARES

Genomic Grade Index (GGI)

Es una firma de expresión génica de 97 genes que puede clasificar mejor que la inmunohistoquímica a los tumores según el grado (49). El GGI podía reclasificar los tumores de grado 2 en 2 grupos de alto y bajo riesgo de recidiva, mejorando así el valor pronóstico de la clasificación histológica. La validación del GGI en pacientes con tumores con RH+ no tratados o tratados con tamoxifeno demostró que el GGI era un factor pronóstico independiente de los marcadores clásicos. En un subgrupo de 204 pacientes tratadas en el ensayo PACS01, que incluía pacientes N+, el GGI superó el grado histológico y otros marcadores de proliferación (ARNm y proteína Ki-67, índice de actividad mitótica) como predictor de SLE, aunque se trata de un estudio pequeño y un análisis retrospectivo, por lo cual es necesario seguir validando el GGI (50).

IHC4

IHC4 se basa en un modelo multivariante que utiliza información semicuantitativa de la evaluación inmunohistoquímica de RE, RP, HER2 y Ki-67. El estudio se realiza en muestras de biopsias fijadas en parafina (FFPE) y se calcula una puntuación de riesgo de recurrencia mediante un algoritmo.

Aunque algunos estudios muestran que puede separar eficazmente los tumores luminales A de los luminales B y que tiene una capacidad pronóstica similar al del RS (51,52), otro estudio mostró que su capacidad pronóstica era peor que el de PAM50 (53), y a falta de estudios de validación prospectiva, se considera que todavía no tiene evidencia suficiente para implantarlo en la práctica clínica.

CONCLUSIONES

Las plataformas genómicas aportan información pronóstica y, en algunos casos predictiva de beneficio a qui-

mioterapia, en pacientes con CM precoz. El número de publicaciones en N+ ha aumentado en los últimos años, y ya disponemos de 2 estudios fase III (RxPONDER, MINDACT) que abalan su uso en pacientes posmenopáusicas con CM precoz, RRRH positivos, HER2 negativo, con afectación ganglionar limitada (N1), esto nos ayuda a seleccionar mejor a las pacientes candidatas a quimioterapia en base a su pronóstico y así evitar el sobretratamiento.

Respecto a su valor predictivo, solo Oncotype DX predice el beneficio de la QT, BCI y PAM50 presentan un valor añadido en la predicción de recaídas tardías, y, por tanto de potencial beneficio de la hormonoterapia extendida.

Conflicto de interés: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

CORRESPONDENCIA:

Isaura Fernández
Servicio de Oncología Médica
Hospital Álvaro Cunqueiro
Estrada de Clara Campoamor, 341
36213 Vigo
e-mail: isaura.fernandez.perez@sergas.es

BIBLIOGRAFÍA

1. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Increasing the dose intensity of chemotherapy by more frequent administration or sequential scheduling: a patient-level meta-analysis of 37 298 women with early breast cancer in 26 randomised trials. *Lancet Lond Engl* 2019;393(10179):1440-52.
2. Cortazar P, Zhang L, Untch M, Mehta K, Costantino JP, Wolmark N, et al. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. *Lancet Lond Engl* 2014;384(9938):164-72.
3. Krop I, Ismaila N, Andre F, Bast RC, Barlow W, Collyar DE, 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 Focused Update. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2017;35(24):2838-47.
4. Vieira AF, Schmitt F. An Update on Breast Cancer Multigene Prognostic Tests-Emergent Clinical Biomarkers. *Front Med* 2018;5:248.
5. Mittendorf EA, King TA. Routine Use of Oncotype DX Recurrence Score Testing in Node-Positive Hormone Receptor-Positive HER2-Negative Breast Cancer: The Time Has Come. *Ann Surg Oncol* 2019;26(5):1173-5.
6. Dowsett M, Cuzick J, Wale C, Forbes J, Mallon EA, Salter J, 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 Off J Am Soc Clin Oncol* 2010;28(11):1829-34.
7. Albain KS, Barlow WE, Shak S, Hortobagyi GN, Livingston RB, Yeh I-T, 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.

8. Natsuhara KH, Losk K, King TA, Lin NU, Camuso K, Golshan M, et al. Impact of Genomic Assay Testing and Clinical Factors on Chemotherapy Use After Implementation of Standardized Testing Criteria. *The Oncologist* 2019;24(5):595-602.
9. Gluz O, Nitz UA, Christgen M, Kates RE, Shak S, Clemens M, et al. West German Study Group Phase III PlanB Trial: First Prospective Outcome Data for the 21-Gene Recurrence Score Assay and Concordance of Prognostic Markers by Central and Local Pathology Assessment. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2016;34(20):2341-9.
10. Nitz U, Gluz O, Clemens M, Malter W, Reimer T, Nuding B, et al. West German Study PlanB Trial: Adjuvant Four Cycles of Epirubicin and Cyclophosphamide Plus Docetaxel Versus Six Cycles of Docetaxel and Cyclophosphamide in HER2-Negative Early Breast Cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2019;37(10):799-808.
11. Nitz U, Gluz O, Christgen M, Kates RE, Clemens M, Malter W, et al. Reducing chemotherapy use in clinically high-risk, genomically low-risk pN0 and pN1 early breast cancer patients: five-year data from the prospective, randomised phase 3 West German Study Group (WSG) PlanB trial. *Breast Cancer Res Treat* 2017;165(3):573-83.
12. Mamounas EP, Russell CA, Lau A, Turner MP, Albain KS. Clinical relevance of the 21-gene Recurrence Score® assay in treatment decisions for patients with node-positive breast cancer in the genomic era. *NPJ Breast Cancer* 2018;4:27.
13. Hofmann D, Nitz U, Gluz O, Kates RE, Schinkoethe T, Staib P, 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;14:261.
14. Harbeck N, Gluz O, Kuemmel S, Christgen M, Braun M, Aktas B, et al. Abstract GS4-04: Endocrine therapy alone in patients with intermediate or high-risk luminal early breast cancer (0-3 lymph nodes), Recurrence Score ≤ 26 and Ki67 response after preoperative endocrine therapy: Primary outcome results from the WSG-ADAPT HR+/HER2- trial. *Cancer Res* 2021;81(4 Suppl.):GS4-GS4-04.
15. Mamounas EP, Tang G, Paik S, Baehner FL, Liu Q, Jeong J-H, et al. 21-Gene Recurrence Score for prognosis and prediction of taxane benefit after adjuvant chemotherapy plus endocrine therapy: results from NSABP B-28/NRG Oncology. *Breast Cancer Res Treat* 2018;168(1):69-77.
16. Penault-Llorca F, Filleron T, Asselain B, Baehner FL, Fumoleau P, Lacroix-Triki M, et al. The 21-gene Recurrence Score® assay predicts distant recurrence in lymph node-positive, hormone receptor-positive, breast cancer patients treated with adjuvant sequential epirubicin- and docetaxel-based or epirubicin-based chemotherapy (PACS-01 trial). *BMC Cancer* 2018;18(1):526.
17. Goldstein LJ, Gray R, Badve S, Childs BH, Yoshizawa C, Rowley S, et al. Prognostic utility of the 21-gene assay in hormone receptor-positive operable breast cancer compared with classical clinicopathologic features. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2008;26(25):4063-71.
18. Wang M, Wu K, Zhang P, Zhang M, Ding A, Chen H. The Prognostic Significance of the Oncotype DX Recurrence Score in T1-2N1M0 Estrogen Receptor-Positive HER2-Negative Breast Cancer Based on the Prognostic Stage in the Updated AJCC. 8th ed. *Ann Surg Oncol* 2019;26(5):1227-35.
19. Petkov VI, Miller DP, Howlander N, Gliner N, Howe W, Schusler N, et al. Breast-cancer-specific mortality in patients treated based on the 21-gene assay: a SEER population-based study. *NPJ Breast Cancer* 2016;2:16017.
20. 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.
21. Stemmer SM, Steiner M, Rizel S, Geffen DB, Nisenbaum B, Peretz T, et al. Clinical outcomes in ER+ HER2 -node-positive breast cancer patients who were treated according to the Recurrence Score results: evidence from a large prospectively designed registry. *NPJ Breast Cancer* 2017;3:32.
22. Hortobagyi. hortobagyi GN, Shak S, Sledge Jr. GW, et al. Breast cancer specific mortality (BCSM) in patients (pts) with node-negative (N0) and node-positive breast cancer (BC) guided by the 21-gene assay: A SEER-genomic population-based study. In: [P3-11-02] San Antonio Breast Cancer Symposium 2018.
23. Kalinsky KK, Barlow WE, Meric-Bernstam F, Gralow JR, Albain KS, Hayes D, et al. Abstract GS3-00: First results from a phase III randomized clinical trial of standard adjuvant endocrine therapy (ET) +/- chemotherapy (CT) in patients (pts) with 1-3 positive nodes, hormone receptor-positive (HR+) and HER2-negative (HER2-) breast cancer (BC) with recurrence score (RS) <math>< 25</math>: SWOG S1007 (RxPonder) Oral Presentation: [GS3-00]. San Antonio Breast Cancer Symposium; December 2020.
24. NCCN guidelines 2021. Available from: www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/breast.pdf. V 4. 2021
25. Mittempergher L, de Ronde JJ, Nieuwland M, Kerkhoven RM, Simon I, Rutgers EJT, et al. Gene expression profiles from formalin fixed paraffin embedded breast cancer tissue are largely comparable to fresh frozen matched tissue. *PloS One* 2011;6(2):e17163.
26. Mook S, Schmidt MK, Viale G, Pruneri G, Eekhout I, Floore A, et al. The 70-gene prognosis-signature predicts disease outcome in breast cancer patients with 1-3 positive lymph nodes in an independent validation study. *Breast Cancer Res Treat* 2009;116(2):295-302.
27. Cardoso F, Veer Lvt, Poncet C, Cardoso JL, Delaloge S, Pierga J-Y, et al. MINDACT: Longterm 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;38:506.
28. Piccart M, Veer LJ van 't, Poncet C, Cardoso JMNL, Delaloge S, Pierga J-Y, et al. 70-gene signature as an aid for treatment decisions in early breast cancer: updated results of the phase 3 randomised MINDACT trial with an exploratory analysis by age. *Lancet Oncol* 2021;22(4):476-88.
29. Cardoso F, van't Veer LJ, Bogaerts J, Slaets L, Viale G, Delaloge S, et al. 70-Gene Signature as an Aid to Treatment Decisions in Early-Stage Breast Cancer. *N Engl J Med* 2016;375(8):717-29.
30. Tsai M, Lo S, Audeh W, Qamar R, Budway R, Levine E, et al. Association of 70-Gene Signature Assay Findings With Physicians' Treatment Guidance for Patients With Early Breast Cancer Classified as Intermediate Risk by the 21-Gene Assay. *JAMA Oncol* 2018;4(1):e173470.
31. MammaPrint - US Food and Drug Administration Search Results (usa.gov). Available from: <https://www.fda.gov/medical-devices/510k-clearances/november-2020-510k-clearances>
32. Parker JS, Mullins M, Cheang MCU, Leung S, Voduc D, Vickery T, et al. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2009;27(8):1160-7.
33. Ehsani S, Wisinski KB. Genomic Testing in the Management of Early-Stage Breast Cancer. *J Clin Outcomes Manag JCOM* 2017;24(5):229-38.
34. Kwa M, Makris A, Esteva FJ. Clinical utility of gene-expression signatures in early stage breast cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 2017;14(10):595-610.
35. Markopoulos C, van de Velde C, Zarca D, Ozmen V, Masetti R. Clinical evidence supporting genomic tests in early breast cancer: Do all genomic tests provide the same information? *Eur J Surg Oncol J Eur Soc Surg Oncol Br Assoc Surg Oncol* 2017;43(5):909-20.
36. Ovcaricek T, Takac I, Matos E. Multigene expression signatures in early hormone receptor positive HER 2 negative breast cancer. *Radiol Oncol* 2019;53(3):285-92.
37. Gnant M, Filipits M, Greil R, Stoeger H, Rudas M, Bago-Horvath Z, et al. Predicting distant recurrence in receptor-positive breast cancer patients with limited clinicopathological risk:

- using the PAM50 Risk of Recurrence score in 1478 postmenopausal patients of the ABCSG-8 trial treated with adjuvant endocrine therapy alone. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* 2014;25(2):339-45.
38. Filipits M, Nielsen TO, Rudas M, Greil R, Stöger H, Jakes R, 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.
 39. Dowsett M, Sestak I, Lopez-Knowles E, Sidhu K, Dunbier AK, Cowens JW, et al. Comparison of PAM50 risk of recurrence score with oncotype DX and IHC4 for predicting risk of distant recurrence after endocrine therapy. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2013;31(22):2783-90.
 40. Lænkholm A-V, Jensen M-B, Eriksen JO, Rasmussen BB, Knoop AS, Buckingham W, 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 Off J Am Soc Clin Oncol* 2018;36(8):735-40.
 41. Gnant M, Sestak I, Filipits M, Dowsett M, Balic M, Lopez-Knowles E, et al. Identifying clinically relevant prognostic subgroups of postmenopausal women with node-positive hormone receptor-positive early-stage breast cancer treated with endocrine therapy: a combined analysis of ABCSG-8 and ATAC using the PAM50 risk of recurrence score and intrinsic subtype. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* 2015;26(8):1685-91.
 42. Bartlett JMS, Bayani J, Marshall A, Dunn JA, Campbell A, Cunningham C, et al. Comparing Breast Cancer Multiparameter Tests in the OPTIMA Prelim Trial: No Test Is More Equal Than the Others. *J Natl Cancer Inst* 2016;108(9).
 43. Filipits M, Rudas M, Jakesz R, Dubsy P, Fitzal F, Singer CF, et al. A new molecular predictor of distant recurrence in ER-positive, HER2-negative breast cancer adds independent information to conventional clinical risk factors. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2011 15;17(18):6012-20.
 44. Filipits M, Dubsy P, Rudas M, Greil R, Balic M, Bago-Horvath Z, 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 Off J Am Assoc Cancer Res* 2019;25(13):3865-72.
 45. Martin M, Brase JC, Calvo L, Krappmann K, Ruiz-Borrego M, Fisch K, et al. Clinical validation of the EndoPredict test in node-positive, chemotherapy-treated ER+/HER2- breast cancer patients: results from the GEICAM 9906 trial. *Breast Cancer Res BCR* 2014;16(2):R38.
 46. Puppe J, Seifert T, Eichler C, Pilch H, Mallmann P, Malter W. Genomic Signatures in Luminal Breast Cancer. *Breast Care Basel Switz* 2020;15(4):355-65.
 47. Sgroi D, Zhang Y, Schnabel CA. Comparative performance of Breast Cancer Index (BCIN+) and CTSS in hormone receptor-positive (HR+) lymph node-positive (N+) breast cancer patients with one to three positive nodes (N1). *J Clin Oncol* 2019;37(15_suppl):555. DOI: 10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.555
 48. Bartlett J, Sgroi D, Treuner K, Zhang Y, Ahmed I, Piper T, et al. from Extended Endocrine Therapy in Breast Cancer Patients Treated in the Adjuvant Tamoxifen-To Offer More?(aTTom). *Trial* 2019;30(11):1176-83. DOI: 10.1093/annonc/mdz289
 49. Sotiriou C, Wirapati P, Loi S, Harris A, Fox S, Smeds J, et al. Gene expression profiling in breast cancer: understanding the molecular basis of histologic grade to improve prognosis. *J Natl Cancer Inst* 2006;98(4):262-72.
 50. Bertucci F, Finetti P, Roche H, Le Doussal JM, Marisa L, Martin AL, et al. Comparison of the prognostic value of genomic grade index, Ki67 expression and mitotic activity index in early node-positive breast cancer patients. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* 2013;24(3):625-32.
 51. Cheang MCU, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2009;101(10):736-50.
 52. Cuzick J, Dowsett M, Pineda S, Wale C, Salter J, Quinn E, et al. Prognostic value of a combined estrogen receptor, progesterone receptor, Ki-67, and human epidermal growth factor receptor 2 immunohistochemical score and comparison with the Genomic Health recurrence score in early breast cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2011;29(32):4273-8.
 53. Nielsen TO, Parker JS, Leung S, Voduc D, Ebbert M, Vickery T, 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 Off J Am Assoc Cancer Res* 2010;16(21):5222-32.
 54. Liefers G-J, Noordhoek I, Treuner K, Putter H, Zhang Y, Meerhoek E, et al. Breast cancer index (BCI) predicts benefit of two-and-a-half versus five years of extended endocrine therapy in HR+ breast cancer patients treated in the ideal trial. *J Clin Oncol* 2020;38(15_Suppl):512. DOI: 10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.512