



FACULTADE DE MEDICINA
E ODONTOLOXÍA

Traballo de
fin de grao

**PLATAFORMAS XÉNICAS EN CANCRO DE
MAMA ¿CAL PREDICE MELLOR O RISCO
DE RECORRENCIA?**

**PLATAFORMAS GÉNICAS EN CÁNCER DE
MAMA, ¿CUAL PREDICE MEJOR EL
RIESGO DE RECURRENCIA?**

**MULTIGENE ASSAYS IN BREAST CANCER,
WHICH BEST PREDICTS THE RISK OF
RECURRENCE?**

Autora: Estefanía Doldán Sousa

Titor: Manuel Macía Cortiñas

Cotitora: María Victoria Sampayo
Montenegro

Departamento: Obstetricia e xinecoloxía

Xullo 2021

Traballo de Fin de Grao presentado na Facultade de Medicina e Odontoloxía da Universidade de Santiago de Compostela para a obtención do Grao en Medicina

CONTENIDO

1. RESUMEN.....	3-5
1.1. CONTEXTO.....	3-5
1.2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	3-5
1.3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	3-5
1.4. RESULTADOS.....	3-5
1.5. CONCLUSIONES.....	3-5
2. ABREVIATURAS.....	6
3. INTRODUCCIÓN.....	7
4. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN.....	15
4.1. ANTECEDENTES.....	15
4.2. JUSTIFICACIÓN.....	16
5. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	16
5.1. OBJETIVO PRINCIPAL.....	16
5.2. OBJETIVO SECUNDARIO.....	16
5.3. HIPÓTESIS.....	16
6. METODOLOGÍA.....	17
6.1. REVISIÓN SISTEMÁTICA.....	17
6.1.1. CRITERIOS DE SELECCIÓN DE ESTUDIOS.....	17
6.1.2. BÚSQUEDA SISTEMÁTICA.....	18
6.1.3. ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA.....	18
6.1.4. RECOGIDA DE DATOS. VARIABLES DEL ESTUDIO.....	19
7. RESULTADOS.....	20
8. DISCUSIÓN.....	27
9. CONCLUSIONES.....	31
10. BIBLIOGRAFÍA.....	33

1. RESUMEN

- 1.1. Contexto:** Se han desarrollado diversas plataformas génicas capaces de predecir el riesgo de recurrencia en cáncer de mama. Todas ellas han demostrado su eficacia, pero por sus diferencias en la estratificación del riesgo, su utilidad y eficacia clínica puede diferir entre las distintas firmas.
- 1.2. Justificación y objetivos:** El propósito de esta revisión es evaluar los diferentes estudios sobre plataformas génicas e intentar estimar cuál de ellas predice mejor el riesgo de recurrencia de la enfermedad para, en consecuencia, poder determinar el tratamiento más adecuado dependiendo del resultado de la puntuación.
- 1.3. Material y métodos:** Se realiza una revisión sistemática en las bases de datos Pubmed y Cochrane enfocada en la búsqueda de artículos sobre firmas genómicas en mujeres con cáncer de mama sin metástasis a distancia. Tras aplicar los criterios PICO y siguiendo la metodología PRISMA, de 212 referencias, han sido incluidos en la revisión 9 artículos por cumplir los criterios de inclusión y haber sido relevantes para el estudio. En la revisión se incluyeron las firmas Mammaprint, Oncotype Dx®, BCI, Prosigna y Endopredict.
- 1.4. Resultados:** En los 9 artículos seleccionados y con un total de 21610 mujeres con cáncer de mama RE+, HER2-; han sido evaluados en 1 estudio la firma Mammaprint, en 6 estudios Oncotype Dx, en 2 estudios BCI, en 2 estudios Prosigna y en 3 estudios Endopredict, todos ellos con un seguimiento mínimo de 5 años. Todas las plataformas logran resultados significativos como predictoras del riesgo de recurrencia, pero Endopredict y Prosigna logran resultados estadísticamente más pronósticos que el resto de firmas. Además, todas ellas son útiles para decidir si es beneficiosa la instauración de tratamiento quimioterápico.
- 1.5. Conclusiones:** Endopredict, probablemente, gracias a su composición que combina factores clínico-patológicos y genéticos, supera significativamente al resto de firmas en pronóstico de riesgo de recurrencia a distancia en mujeres con cáncer de mama RE+, HER2-. Por consecuencia, esta plataforma también es la de mayor utilidad en gestión de tratamiento quimioterápico por su mejor estimación de riesgo.

1. RESUMO

- 1.1. Contexto:** Desenvolvéronse varias plataformas xénicas capaces de predicir o risco de recorrencia no cancro de mama. Todas eles demostraron a súa eficacia, pero debido ás súas diferenzas na estratificación do risco, a súa utilidade e eficacia clínica poden diferir entre as distintas firmas.
- 1.2. Xustificación e obxectivos:** O obxectivo desta revisión é avaliar os diferentes estudos sobre plataformas xénicas e tratar de estimar cal deles predice mellor o risco de recorrencia da enfermidade para, en consecuencia, poder determinar o tratamento máis axeitado segundo o resultado da puntuación.
- 1.3. Material e métodos:** Realizouse unha revisión sistemática nas bases de datos de Pubmed e Cochrane centradas na busca de artigos sobre sinaturas xenómicas en mulleres con cancro de mama sen metástase a distancia. Despois de aplicar os criterios PICO e seguir a metodoloxía PRISMA, de 212 referencias, incluíronse 9 artigos na revisión por cumprir os criterios de inclusión e seren relevantes para o estudo. Na revisión incluíronse as firmas Mammaprint, Oncotype Dx®, BCI, Prosigna e Endopredict.
- 1.4. Resultados:** Nos 9 artigos seleccionados e cun total de 21.610 mulleres con cancro de mama RE +, HER2-; a firma Mammaprint foi avaliada nun estudo, en 6 estudos Oncotype Dx, en 2 estudos BCI, en 2 estudos Prosigna e en 3 estudos Endopredict, todos eles cun seguimento mínimo de 5 anos. Todas as plataformas acadan resultados significativos como predictores do risco de recorrencia, pero Endopredict acada resultados estatisticamente máis prognósticos que o resto das firmas. Ademais, todos eles son útiles para decidir se a instauración da quimioterapia é beneficiosa.
- 1.5. Conclusións:** Endopredict, probablemente grazas á súa composición que combina factores clínico-patolóxicos e xenéticos, supera significativamente ao resto de firmas en prognóstico de risco de recorrencia a distancia en mulleres con cancro de mama RE +, HER2-. En consecuencia, esta plataforma tamén é a máis útil na xestión do tratamento de quimioterapia debido á súa mellor estimación de risco.

1. ABSTRACT

- 1.1. Context:** Various multigene assays have been developed to predict the risk of breast cancer recurrence. All of them have demonstrated efficacy, but due to differences in risk stratification, different commercial tests may vary in their utility and clinical efficacy.

- 1.2. Justification and objectives:** The purpose of this review is to evaluate various studies of genetic platforms and estimate, depending on a scored result, which tests best predicts risk of disease recurrence in order to determine the most appropriate treatment.

- 1.3. Material and methods:** A systematic review carried out in Pubmed and Cochrane focused on articles on gene signatures in women with breast cancer without distant metastasis. After applying the PICO criteria and following the PRISMA methodology, out of 212 references, 9 articles met the inclusion criteria and were relevant to the study. The multigene assays Mammaprint, Oncotype Dx®, BCI, Prosigna and Endopredict were included in the review.

- 1.4. Results:** In the 9 selected articles and with a total of 21610 women with breast cancer RE +, HER2-; The Mammaprint firm has been evaluated in 1 study, in 6 Oncotype Dx studies, in 2 BCI studies, in 2 Prosigna studies and in 3 Endopredict studies, all of them with a minimum follow-up of 5 years. All gene tests achieve significant results as predictors of the risk of recurrence, but Endopredict and Prosigna achieve statistically more prognostic results than the rest of tests. In addition, all of them are useful in deciding whether the initiation of chemotherapy is beneficial.

- 1.6. Conclusions:** Endopredict, probably thanks to its composition that combines clinical-pathological and genetic factors, significantly exceeds the rest in prognosis of risk of distant recurrence in women with RE +, HER2- breast cancer. Consequently, this gene signature is also the most useful in chemotherapy treatment management due to its best risk estimation.

2. ABREVIATURAS

RE: Receptores estrógenos

RP: Receptores progesterona

HER2: Receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2

rtPCR: Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa

PRISMA: Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses

PICO: Patient, intervention, comparation, outcome

HR: Hazard ratio

IC: Intervalo de confianza

CLI: Carcinoma lobulillar invasivo

RS: Recurrence score Oncotype Dx®

ROR: Riesgo de recurrencia Prosigna

TLRD: Tasa libre de recurrencia a distancia

RG: Recurrencia general

RT: Recurrencia tardía

BCSS: Supervivencia específica de cáncer de mama

SLE: Supervivencia libre de enfermedad

SG: Supervivencia general

3. INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es una enfermedad que consiste en la proliferación acelerada e incontrolada de células del epitelio glandular mamario. La mama está compuesta por tres estructuras principales: lóbulos (glándulas productoras de leche), conductos y tejido conectivo (fibroso y graso). La mayoría de los cánceres de mama comienzan en los conductos o en los lóbulos (1,2).

A pesar de los avances en el diagnóstico precoz, gracias a los cribados poblacionales y a los nuevos tratamientos y, aunque la mortalidad ha descendido, el cáncer de mama es la primera causa de muerte por cáncer en las mujeres españolas. Se calcula que 1 de cada 8 mujeres padecerán esta enfermedad en algún momento a lo largo de su vida, la mayoría entre los 45 y 65 años. La supervivencia en países desarrollados es próxima al 80% a los 5 años. El cáncer de mama masculino representa el 1% de los casos, por esto mismo, vamos a centrar esta revisión en el cáncer de mama femenino (2-4).

El cáncer de mama se puede diseminar a otras partes del cuerpo por vía hematógena, linfática o ambas, pudiendo así adherirse a otros tejidos y crecer generando metástasis. Puede afectar a prácticamente cualquier órgano, aunque la metástasis es más común en hígado, pulmón y hueso. De hecho, el cáncer de mama es la causa más frecuente de metástasis óseas (5,6).

A lo largo de los años se han ido analizando distintas situaciones basadas en datos epidemiológicos que podemos considerar factores de riesgo. Estos no implican el hecho de que poseer uno o varios factores signifique que se vaya a desarrollar la enfermedad, ya que actúan como predictores para seleccionar a las pacientes con mayor y menor riesgo. Los factores de riesgo asociados son (2-4):

1. El sexo. El 99% se presenta en mujeres.
2. La edad. A más edad el riesgo aumenta, con una mayor incidencia en mayores de 50 años.
3. La raza. Las mujeres caucásicas tienen mayor probabilidad de desarrollar la enfermedad, aunque las afroamericanas tienen una mayor mortalidad.
4. Densidad mamaria. Mujeres con mamas densas tienen un riesgo 1.5-2 veces mayor, al igual que su mayor dificultad a la hora de realizar un diagnóstico precoz.
5. Obesidad y sobrepeso. Aumentan el riesgo más de 2 veces.
6. Historia de menarquia precoz o menopausia tardía aumentan el riesgo. También la nuliparidad.
7. Antecedentes personales de lesiones mamarias proliferativas benignas o malignas previas. La historia de enfermedad mamaria maligna invasiva previa aumenta el riesgo 3-4 veces, tanto en la mama ipsilateral como en la contralateral.
8. Antecedentes familiares de lesiones mamarias. Entre un 5-10 % de los casos se estima que sea hereditario, como consecuencia de mutaciones genéticas. Las mutaciones más prevalentes son BRCA1 y BRCA2.
9. Exposición a estrógenos exógenos. Fármacos o estrógenos ambientales aumentan

el riesgo.

10. Exposición a radiaciones ionizantes. Sobre todo en edades tempranas, por su capacidad de dañar el ADN y producir mutaciones.
11. Alcohol. Aumenta claramente el riesgo.

Para poder establecer un pronóstico y elegir la modalidad terapéutica más adecuada, se han creado distintos patrones de clasificación del cáncer de mama. Podemos así, clasificarlo por sus diferentes subtipos moleculares:

1. **Luminal:** representan el 75-80% de los carcinomas de mama.
 - 1.1. **Luminal A:** Tienen receptor de estrógenos positivo (RE+), receptor de progesterona positivo (RP+), amplificación o sobreexpresión de HER2 negativo (HER2-) y marcador de proliferación Ki67 bajo. Constituyen el 50-60% de los tumores luminales. Son el subtipo de mejor pronóstico, menor incidencia de recaída y mayor supervivencia en caso de esta. Tienen muy buena respuesta a la hormonoterapia y escaso beneficio de tratamiento quimioterápico. Son los subtipos que más se pueden beneficiar del uso de plataformas génicas para predecir el riesgo de recurrencia y su posterior decisión de instaurar tratamiento quimioterápico adyuvante.
 - 1.2. **Luminal B:** RE+, RP+/-, HER2 +/-, Ki67 alto. Son el 10-20 % de los luminales. Tumores de peor pronóstico, mayor recurrencia y menor supervivencia. Se benefician de hormonoterapia y quimioterapia.
2. **HER2 +:** Representan el 10-15% aproximadamente de los cánceres de mama. Tienen RE y RP negativos. Se asocian con un peor pronóstico que los luminales. Son subsidiarios de tratamiento específico con anticuerpos monoclonales y tienen buena respuesta a quimioterapia que incluyan antraciclinas y/o taxanos.
3. **Triple negativo:** representan el 10-15% aproximadamente de los cánceres de mama. Son RE-, RP- y HER2-. Son los de peor pronóstico. El único tratamiento disponible para este tipo es la quimioterapia con asociación de antraciclinas y taxanos, aunque la respuesta a esta es de corta duración (4).

La clasificación TNM se utiliza para el estadiaje en el diagnóstico:

CLASIFICACIÓN T		DESCRIPCIÓN
Tx		No se puede evaluar el tumor primario
T0		No hay evidencia de tumor primario
Tis	Tis (DCIS)	Carcinoma ductal in situ
	Tis (LCIS)	Carcinoma lobulillar in situ
	Tis (Paget)	Enfermedad de Paget sin carcinoma infiltrante
T1 (≤ 2 cm)	T1 mic	Microinvasión, 0.1 cm de dimension máxima
	T1a	Tumor > 0.1 cm pero ≤ 0.5 cm
	T1b	Tumor > 0.5 cm pero ≤ 1 cm
	T1c	Tumor > 1 cm pero ≤ 2 cm
T2		Tumor > 2 cm pero ≤ 5 cm
T3		Tumor > 5 cm

T4	T4a	Extensión a pared torácica (no incluye músculo pectoral)
	T4b	Edema, ulceración de la piel o nódulos cutáneos satélites en mama ipsilateral
	T4c	Presencia de T4a + T4b
	T4d	Carcinoma inflamatorio

Tabla 1. Clasificación TNM tumor primario (4)

Descripción	
Nx	No pueden ser evaluados
N0	Sin metástasis en ganglios regionales
N1	Metástasis en ganglios axilares ipsilaterales móviles nivel I, II axilar
N2a	Metástasis en ganglios axilares ipsilaterales fijos entre sí o a otras estructuras
N2b	
N3a	Metástasis en ganglios infraclaviculares ipsilaterales
N3b	Metástasis en ganglios de la cadena mamaria interna ipsilateral y ganglios axilares
N3c	
	Metástasis en ganglios supraclaviculares ipsilaterales

Tabla 2. Clasificación TNM ganglios linfáticos regionales (4)

DESCRIPCIÓN	
M0	No existe evidencia clínica ni radiológica de metástasis
M1	Metástasis a distancia detectadas por la clínica o por métodos radiológicos y/o metástasis con estudio histológico > 0.2 mm

Tabla 3. Clasificación TNM metástasis a distancia (4)

Los factores pronósticos del cáncer de mama están directamente relacionados con la evolución de la enfermedad y son útiles en la toma de decisión de qué tratamiento es el más beneficioso para la paciente.

Son factores de mal pronóstico:

1. La afectación ganglionar axilar. Es el factor pronóstico independiente más potente en cáncer de mama (4).
2. Ki67 alto.

3. Invasión vasculolinfática.
4. Mayor tamaño tumoral.
5. Menor diferenciación tumoral.
6. Amplificación o sobreexpresión del receptor HER2.
7. Ausencia de expresión de receptores hormonales.
8. Expresión elevada de p53.
9. Edad de diagnóstico inferior a los 35 años.
10. Raza afroamericana.

La decisión de la instauración de un tratamiento u otro, debe ser consensuada por equipos multidisciplinares e individualizar cada caso según diversos factores propios de cada paciente, como el tipo y subtipo de tumor, su estadio, edad y comorbilidades del paciente, presencia de mutaciones genéticas, etc.

Uno de los pilares fundamentales en el tratamiento del cáncer de mama es la cirugía, que tiene como objetivo el control local de la enfermedad y la estadificación ganglionar para así poder establecer el alcance de esta, su pronóstico y riesgo de recidiva. Siempre que sea posible se ha de realizar una cirugía conservadora, pudiendo ejecutar una tumorectomía o una cuadrantectomía. La cirugía conservadora ha de complementarse con un posterior tratamiento radioterápico ya que disminuye el riesgo de recidiva local y aumenta la supervivencia. De no ser posible la conservación de la mama, el tratamiento de elección será la mastectomía, radical o radical modificada (extirpación de la mama, músculo pectoral y ganglios axilares o solo extirpación de la mama, respectivamente)(7). La linfadenectomía axilar solo se realiza en caso de ganglios citohistológicamente metastásicos en el estudio preoperatorio, carcinoma inflamatorio o macrometástasis en ganglio centinela (4,7).

El tratamiento adyuvante con quimioterapia ha de establecerse según determinados factores derivados del tumor y de la propia paciente, valorando siempre el beneficio de su aplicación. Los regímenes quimioterápicos que han demostrado mayor supervivencia son los que incluyen tratamiento secuencial con antraciclinas y/o taxanos (docetaxel o paclitaxel). La recomendación general es no postergar su inicio más de 6 semanas tras la cirugía y su óptima duración se estima en 5-6 meses(4).

La hormonoterapia adyuvante consiste en la administración de hormonas que bloquean la acción de los estrógenos sobre las células cancerígenas impidiendo su proliferación. Solo ha de administrarse en tumores donde la determinación de receptores de estrógenos sea superior al 10 %. Debe instaurarse tras la finalización del tratamiento quimioterápico (si es subsidiaria de él), por el contrario, sí puede administrarse al mismo tiempo que la radioterapia.

En determinados casos puede aplicarse tratamiento quimioterápico o endocrino neoadyuvante con la finalidad de poder reducir el tamaño del tumor y facilitar la cirugía mamaria.

En cánceres mamarios con HER2+, los anticuerpos monoclonales como trastuzumab o pertuzumab, administrado de forma concomitante con quimioterapia, han demostrado aumentar la supervivencia de estas pacientes. En adyuvancia, el anticuerpo monoclonal debe administrarse durante 1 año.

El riesgo de recurrencia del cáncer de mama es mayor en los primeros 2 años del diagnóstico. A partir de los 5 años del diagnóstico el riesgo disminuye notablemente y se consideraría una recurrencia tardía. El riesgo de recurrencia tardía está en relación con la edad del paciente, el estadio del cáncer al momento del diagnóstico, afectación de ganglios linfáticos, factores genéticos y el estado del receptor hormonal (más propensos RE+, PR+, HER2-)(8).

El tratamiento con quimioterapia adyuvante, en general, ha contribuido a reducir significativamente la recurrencia de la enfermedad y la mortalidad en pacientes con cáncer de mama, sin embargo, los beneficios de esta en pacientes con un riesgo bajo de recurrencia pueden no ser suficientes frente a los riesgos que el tratamiento quimioterápico puede implicar. Los riesgos de la quimioterapia incluyen toxicidades agudas, náuseas, vómitos, pérdida de cabello, mielosupresión y amenorrea. Además, el riesgo de desarrollar una infección de carácter grave debida a la inmunosupresión es otro riesgo a considerar. También se deben valorar las toxicidades a largo plazo asociado a las antraciclinas (cardiotoxicidad) o la neuropatía asociada a taxanos, que suele resolverse en semanas o meses después del tratamiento, pero, que a veces, lo hace de forma incompleta en casos graves (9).

Para poder establecer el riesgo de recidiva y de esta forma predecir la necesidad de aplicar o no un tratamiento quimioterápico adyuvante, sobre todo en tumores con receptores hormonales positivos en los que se prevea mal pronóstico, se utilizan las plataformas génicas.

Las plataformas génicas son unas herramientas que analizan la expresión de determinados genes presentes en las piezas tumorales, y que están estrechamente relacionados con el desarrollo, comportamiento y pronóstico de la enfermedad.

El cáncer aparece como consecuencia de una serie de alteraciones somáticas que culminan en una proliferación celular desmedida. Casi todas las alteraciones comprenden cambios en la secuencia de los ácidos nucleicos, aunque también existen modificaciones epigenéticas que ocasionan un cambio o modulación en la expresión de un gran número de genes, que se transmiten por herencia a las células hijas y que no implican cambio en la secuencia del ADN (4).

Se conocen dos grandes clases de genes vinculados con el cáncer. La primera incluye a los oncogenes y a los genes supresores de tumores, aquellos que alteran de forma positiva o negativa (respectivamente) el crecimiento y proliferación de las células. La segunda clase no afecta directamente a la proliferación como estos anteriores, sino más bien a la capacidad de las células de conservar la integridad del genoma, son los denominados genes reparadores (4).

En la página web <https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic> se describen más de 600 genes que pueden presentar mutaciones somáticas en el proceso de tumorigénesis.

Tradicionalmente, se utilizaban variables clínico-patológicas como el tamaño tumoral, el estado ganglionar y el grado tumoral para decidir el tratamiento más adecuado, sin embargo, estos factores pronósticos tradicionales son insuficientes, por ello se han desarrollado estos paneles multigénicos, que permiten predecir mejor el pronóstico y, en consecuencia, la aplicación del tratamiento óptimo para cada paciente, evitando de esta forma, los posibles

efectos tóxicos de la adyuvancia quimioterápica en casos en los que el beneficio de esta se prevea nulo.

En los últimos años han sido desarrollados varios test multigénicos. Todos ellos difieren entre sí en el número y tipo de genes evaluados, la metodología, la población en la que han sido desarrollados y validados y el nivel de evidencia disponible para poder avalar su utilidad (10). Vamos a hacer un pequeño resumen de las cinco plataformas más utilizadas en cáncer de mama invasivo en la clínica médica: Mammaprint, Oncotype DX, BCI (índice de cáncer de mama), Prosigna y Endopredict (tabla 4).

CARACTERÍSTICAS DE LAS PLATAFORMAS GÉNICAS					
	MAMMAPRINT	ONCOTYPE DX®	PROSIGNA	BCI	ENDOPREDICT
Empresa comercializadora	Agendia	Genomic Health TM	NanoString Technologies, Inc.	Biotheranostics	Sividon/Myriad
Genes analizados	70 genes relacionados con proliferación, angiogénesis, invasión, trasvasación, adhesión a la matriz extracelular	21 genes: 16 oncogenes y 5 genes de referencia	50 genes relacionados con la identificación del subtipo molecular y 8 de control	11 genes: 5 asociados a proliferación celular, 2 asociados a señalización estrogénica y 4 de control	12 genes: 3 relacionados con la proliferación celular, 5 de señalización hormonal y 4 de control.
Técnica analítica	Microarray	qRT-PCR	nCounter analysis system	qRT-PCR	qRT-PCR sondas taqman
Población diana	Mujeres menores de 61 años con cáncer de mama en estadios I/II tanto RE+ como RE- sin afectación ganglionar y tumores < 5 cm	Mujeres con cáncer de mama RE+, HER2- y sin afectación de ganglios linfáticos tratadas con tamoxifeno	Mujeres postmenopáusicas con cáncer de mama y receptores hormonales positivos, en estadios tempranos con y sin afectación ganglionar	Mujeres con cáncer de mama RE+, HER2- y ganglios linfáticos negativos	Mujeres pre y postmenopáusicas con cáncer de mama RE+, HER2- en estadios tempranos con y sin afectación ganglionar
Resultado prueba	Resultado dicotómico: buen pronóstico, mal pronóstico	Índice RS (recurrence score 0-100): basado en datos genómicos.	Índice ROR (0-100): Algoritmo que combina datos genómicos con clínicos, basado en el subtipo molecular (PAM50), tamaño del tumor, estado de proliferación	Risk score MGI. Resultado continuo (0-10)	Índice EP (0-15): basado en la expresión génica Índice Epclin (1-6.5): combinación de datos genómicos con datos clínicos (tamaño tumoral y

			tumoral y el estado de afectación ganglionar		afectación ganglionar)
Clasificación del riesgo de recurrencia	Riesgo bajo Riesgo alto	Riesgo bajo: RS < 18 Riesgo intermedio: RS= 18-31 Riesgo alto: RS > 18	Riesgo bajo Riesgo intermedio Riesgo alto Los puntos de corte varían en función de la existencia de afectación ganglionar	Riesgo bajo: < 5.08 Riesgo alto: > 6.5	EP: Bajo riesgo: 0-5 Alto riesgo: > 5 EPclin: Bajo riesgo: < 3.3 Alto riesgo: > 3.3
Aplicación clínica	Pronóstico y predictivo	Pronóstico y predictivo	Pronóstico	Pronóstico	Pronóstico

Tabla 4. Principales características de las plataformas génicas (9,11)

MAMMAPRINT

Fue el primer ensayo desarrollado, hecho por la compañía Agendia en el Netherlands Cancer Institute en 2002 y el primer validado por la FDA en 2007 (11). Esta firma consta de 70 genes relacionados con la proliferación, invasión y angiogénesis y utiliza una técnica basada en microarrays de ADN. Desarrollado a partir del genoma de 78 pacientes con cáncer de mama con tumores < 5 cm, en estadio I o II, sin terapia sistémica y seguimiento a largo plazo (4).

Este ensayo clasifica a los pacientes en grupos de bajo y alto riesgo según el riesgo de recurrencia a distancia en 5-10 años y sin incluir parámetros clínicos.

Este test, con utilidad tanto pronóstica como predictiva, permite prescindir con total seguridad del tratamiento adyuvante quimioterápico en pacientes con bajo riesgo de cáncer mamario incipiente RE+, HER-, con pN0-1, con un nivel IA de evidencia (4).

ONCOTYPE DX

Desarrollado por Genomic Health Inc. y validado en el año 2004. Este ensayo consta de 21 genes, 16 relacionados con proliferación, invasión y metástasis y 5 de referencia. El

método de determinación del perfil genómico es mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa en tiempo real (rtPCR).

Clasifica a los pacientes según su puntuación Recurrence Score® (RS) en un rango de 0 a 100 sin incluir parámetros clínicos. Este score permite discernir qué pacientes deben recibir solo terapia endocrina (RS<25) y quienes son subsidiarios de terapia quimioendocrina (RS>25).

El test Oncotype DX proporciona información tanto pronóstica como predictiva con respecto al beneficio del tratamiento con quimioterapia a 10 años en pacientes pre o postmenopáusicas, con cáncer de mama en estadio inicial, RE+, HER2- y de 0 a 3 ganglios afectados (4).

ESTRÓGENO <ul style="list-style-type: none">•RE•PR•Bcl2•SCUBE2	PROLIFERACIÓN <ul style="list-style-type: none">•Ki-67•STK15•Survivina•Ciclina 81•MYBL2	HER2 <ul style="list-style-type: none">•GRB7•HER2
INVASIÓN <ul style="list-style-type: none">•Estromelina 3•Catepsina L2	OTROS <ul style="list-style-type: none">•CD68•GSTM1•BAG1	GENES DE REFERENCIA <ul style="list-style-type: none">•Beta-actina•GAPDH•RPLO•GUS•TFRC

Figura 1. Test Oncotype Dx®: Panel de 21 genes (4)

BREAST CANCER INDEX (BCI)

Desarrollado por la compañía Biotheranostics y validado en el año 2008, BCI es una plataforma génica que combina la expresión de 11 genes (5 asociados a proliferación, 2 asociados a señalización estrogénica y 4 de control) mediante la técnica qRT-PCR.

Genera una puntuación MGI de pronóstico de bajo y alto riesgo (0-10), sin incluir parámetros clínicos, cuantificando el riesgo de recurrencia a distancia tanto entre 0-10 años como de 5-10 años en pacientes RE+, HER-, pN0 (11,12).

PAM 50/PROSIGNA

Creado por la compañía Nanostring y validado en el año 2009. Prosigna calcula una puntuación de riesgo de recurrencia ROR basada en la expresión de 50 genes (8 de referencia), que se basa en la información genética del tumor combinado con factores clínico-patológicos como el subtipo molecular, tamaño tumoral, estado ganglionar y puntuación de proliferación. Utiliza, desde el año 2011, una nueva técnica basada en la tecnología nCounter para la determinación del perfil genómico (les permite utilizar muestras de ARN muy degradado y sin amplificar en solo 72 horas).

Este test de carácter pronóstico, clasifica a los pacientes con cáncer de mama según una escala de 0 a 100 en riesgo bajo, intermedio y alto según el riesgo de recurrencia a 10 años en pacientes RE+, HER2-, pN0-1 postmenopáusicas (4,11).

ENDOPREDICT

Este ensayo fue creado por la compañía Sividon y validado en 2011 en muestras tumorales de los ensayos ABCSG06 y ABCSG08 (13). El análisis realiza mediante qRT-PCR cuantitativa la expresión de una combinación de 12 genes, 5 genes asociados a la señalización de RE, 3 asociados a la proliferación y 4 de normalización y control.

Endopredict calcula una puntuación de riesgo (0-15) que en conjunto con marcadores pronósticos tradicionales como el tamaño tumoral y el estado ganglionar nos da como resultado la puntuación EPclin, generando una escala de 1 a 6.5, con un punto de corte igual a 3.3 que divide dos categorías de riesgo, riesgo bajo y alto de recurrencia a distancia (4).

4. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

4.1. Antecedentes:

Tras la llegada de las plataformas génicas, los factores clínico-patológicos tradicionales han sido catalogados como insuficientes a la hora de predecir la recurrencia en mujeres con cáncer de mama temprano. Con estas herramientas, podemos analizar la expresión de determinados genes presentes en la pieza tumoral y establecer unos niveles de riesgo de recurrencia. A partir de esta predicción de riesgo, se puede evaluar el beneficio o no de la terapia quimioterápica en las pacientes, evitando de esta forma, tratamientos con beneficio nulo y toxicidad innecesaria.

4.2. Justificación:

La finalidad de esta revisión sistemática es conocer la supervivencia general y la supervivencia libre de metástasis a distancia de mujeres con cáncer de mama para poder estimar qué plataforma génica predice mejor el riesgo de recurrencia de la enfermedad y la consecuente elección terapéutica más adecuada según los niveles de riesgo estimados por las diferentes firmas genómicas.

5. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

5.1. Objetivo principal:

La pregunta de investigación de principal interés que se formuló en esta revisión fue: ¿qué plataforma génica predice mejor el riesgo de recurrencia en cáncer de mama?

5.2. Objetivo secundario:

En base a la pregunta principal de investigación, podemos proponer como objetivo secundario si las firmas génicas pueden ser de utilidad en la toma de decisión del tratamiento a seguir según la estimación del riesgo de recurrencia de la enfermedad.

5.3. Hipótesis:

Las plataformas génicas que combinan factores genéticos y clínico-patológicos aportan más información y precisión en la estimación de recurrencia de cáncer de mama que las plataformas que solo incluyen factores genéticos o clínico-patológicos de forma individual.

6. METODOLOGÍA

Se plantea una revisión sistemática de los ensayos clínicos controlados y aleatorizados, estudios prospectivos y retrospectivos publicados hasta la fecha.

6.1. Revisión sistemática:

Se realiza una búsqueda de los estudios bajo unos criterios de elegibilidad previamente establecidos y se utilizarán para un análisis de la evidencia. Se seguirá durante la revisión el Consenso PRISMA.

6.1.1. Criterios de selección de estudios

Los criterios de selección de estudios serán los siguientes:

- Estudios clínicos aleatorizados, estudios prospectivos y retrospectivos.
- Estudios en pacientes del sexo femenino pre y/o postmenopáusicas diagnosticadas de cáncer de mama temprano, sin metástasis a distancia, con receptores hormonales positivos, HER2 negativo, ganglios linfáticos negativos o de 1 a 3 ganglios positivos.
- Estudios de la supervivencia libre de enfermedad, supervivencia libre de metástasis a distancia o recurrencia a distancia con un seguimiento mínimo de 5 años.
- Estudios con $n > 500$.
- Estudios multicéntricos y en centros primarios.
- Mujeres que no hayan recibido terapia neoadyuvante.

6.1.2. Búsqueda sistemática

La búsqueda se realizará desde los últimos 5 años, desde 1 de Enero de 2016 hasta la finalización del trabajo en las bases de datos siguientes:

- Pubmed
- Cochrane Library
- Embase

6.1.3. Estrategia de búsqueda

La búsqueda se restringirá por pacientes humanos, de sexo femenino, y por el idioma, que limitaremos al español y al inglés. Desglosamos los componentes de los criterios PICO y sus posibles sinónimos:

POBLACIÓN	INTERVENCIÓN	OUTCOME
Breast cancer Breast neoplasms	Genetic predictive testing Genetic testing Gene expression signatures Transcriptome Biomarkers Multigene assays multigene Multigenes Multigenic Analysis assay Biological assay assays Biological Assayed Assaying Prognostic Prognostical Prognostically Prognosticate Prognosticated Prognosticates Prognosticating Prognostication Prognostications Prognosticator Prognosticators Prognostics Protein domains Protein Domains Signature Signatures Express Expresse Expresses Expressing Expressions Gene expression Gene Expression Expressed Analysis Biological assay Biological Molecular Moleculars Predictor Predictors Oncotype Oncotypes 21-gene Mammaprint	Recurrance Recurrence Recurrences Recurrencies Recurrency Recurrent Recurrently Recurrents Prognosis Chemotherapys Drug therapy Chemotherapies Chemotherapy

	70-gene Prosigna BCI Endopredict	
--	---	--

TABLA 5. CRITERIOS PICO

La búsqueda en Pubmed quedaría de la siguiente forma:

(breast cancer[MeSH Terms]) AND (genetic predictive testing[MeSH Terms] OR gene expression signatures[MeSH Terms] OR biomarkers[MeSH Terms] OR multigene assays OR prognostic signatures OR expression assay OR molecular predictor) AND (oncotype OR 21-gene OR mammaprint OR 70-gene OR prosigna OR BCI OR endopredict) AND (recurrence OR prognosis[MeSH Terms]) AND (chemotherapy) AND (clinical trials, randomized[MeSH Terms] OR closed cohort studies[MeSH Terms] OR cohort analyses[MeSH Terms]).

Para la búsqueda se utilizarán los siguientes límites:

Artículo a texto completo, ensayo clínico controlado, ensayo controlado aleatorio, artículo de revista, humanos, mujeres, idioma español e inglés, fecha de publicación desde el 01/01/2016 hasta el 01/02/2021.

La búsqueda en Cochrane quedaría de la siguiente forma:

"breast cancer" AND "genetic predictive testing" AND "gene expression signatures" AND "multigene assay" AND "prognostic signatures" AND "oncotype" AND "21 gene" OR "mammaprint" AND "70 gene" OR "prosigna" AND "pam50" OR "breast cancer index" OR "endopredict" AND "recurrence" AND "chemotherapy" AND "clinical trials randomized"

Para la búsqueda se utilizarán los siguientes límites:

Ensayos clínicos, publicación original desde 2016 hasta 2021.

6.1.4. Recogida de datos. Variables del estudio

Aplicando los filtros anteriormente mencionados y utilizando los criterios PICO y sus posibles sinónimos, la búsqueda arroja un total de 212 resultados. Tras aplicar el PRISMA (fig.1) la búsqueda quedaría de la siguiente forma:

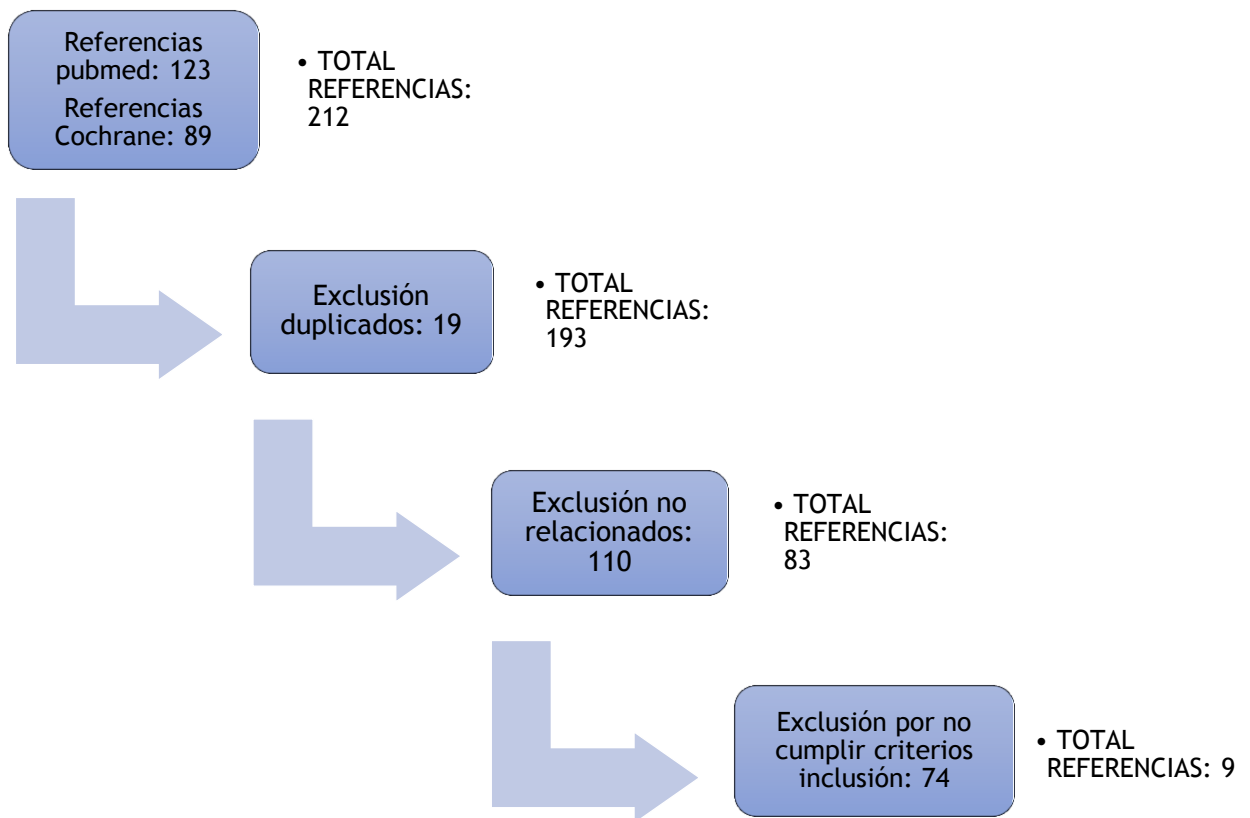


Fig. 2. Diagrama de flujo PRISMA

7. RESULTADOS

Estudio	N° participantes	Población a estudio	Tipo y tiempo del estudio	Plataforma a estudio	Medición de resultados	Conclusiones
Filipits et al. (2019)	1702	Mujeres postmenopáusicas con cáncer de mama RE+, HER2-, NO-1	Estudio de cohorte prospectiva 16 años	Endopredict	Tasa libre de recurrencia a distancia a 10 años y tasa libre de recurrencia a distancia de 5 a 15 años	EPclin puede ayudar a identificar pacientes con bajo riesgo de recurrencia que pueden renunciar de forma segura a la quimioterapia adyuvante, independientemente del estado ganglionar.
Sestak et al. (2018)	774 (RG)-689 (RT)	Mujeres postmenopáusicas con cáncer de mama RE+, HER2-, NO-1	Análisis comparativo 10 años	Oncotype dx, BCI, prosigna, Endopredict, CTS, IHC4	Recurrencia general a 10 años y la recurrencia tardía de 5 a	Todas las firmas estudiadas proporcionan información significativa para

					10 años	determinar a los candidatos adecuados para quimioterapia. Las firmas que combinan factores clínicos y moleculares mejoran el rendimiento pronóstico
Chen et al. (2018)	6467	Mujeres con cáncer de mama lobulillar invasivo T1-T2, RE+, N0-1	Análisis retrospectivo 11.9 años	Oncotype Dx®	Supervivencia específica de cáncer de mama a 5 años	RS puede afectar en la toma de decisiones sobre el uso de quimioterapia en pacientes con ILC en etapa temprana
Penault-Llorca et al. (2018)	530	Mujeres con cáncer de mama RE+, ganglios +	Estudio retrospectivo 5 años	Oncotype Dx®	Supervivencia libre de enfermedad y supervivencia general a 5 años	RS es pronóstica en pacientes con ganglios positivos y aporta más información pronóstica que los factores clínico-patológicos tradicionales. RS puede ayudar a identificar qué pacientes pueden beneficiarse del tratamiento quimioterápico
Nitz et al. (2017)	3198	Mujeres pre y postmenopáusicas con cáncer de mama RE+, HER2-, T1-T4c, N0-1	Estudio prospectivo aleatorizado de fase 3 5 años	Oncotype Dx®	Supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad a 5 años	Los resultados apoyan el ahorro de quimioterapia en pacientes con RS ≤ 11 en pacientes N0-1, sin embargo se necesita un seguimiento más prolongado
Ohnstad et al. (2017)	653	Mujeres pre y postmenopáusicas con cáncer de mama	Estudio retrospectivo 16.6 años	Prosigna	Supervivencia libre de enfermedad a distancia y supervivencia específica de cáncer de mama	La clasificación de los subtipos PAM50 y la puntuación ROR mejoran la clasificación de los pacientes en grupos de pronóstico, lo que permite la identificación de más precisa de pacientes que podrían beneficiarse del tratamiento adyuvante
Cardoso et al. (2016)	6693	Mujeres pre y postmenopáusicas con cáncer de mama T1-T3, N0-1	Estudio prospectivo aleatorizado de fase 3 5 años	Mammaprint	Supervivencia sin metástasis a distancia a los 5 años	Mujeres con un alto riesgo clínico y un bajo riesgo genómico de recurrencia,

						podrían beneficiarse de esta firma genómica al poder evitarse la quimioterapia en estos casos en las que el tratamiento no reportaría unos beneficios que superen los riesgos de toxicidad. El seguimiento sigue en curso para ver si estos resultados siguen siendo válidos a largo plazo
Buus et al. (2016)	928	Mujeres postmenopáusicas con cáncer de mama RE+, HER2-, N0-1	Estudio comparativo retrospectivo 10 años	Oncotype Dx® y Endopredict	Supervivencia libre de recaída a distancia de 0 a 5 años y de 5 a 10 años	Endopredict y Epclin fueron altamente pronósticos, proporcionando más información que RS
Sestak et al. (2016)	665	Mujeres postmenopáusicas con cáncer de mama, N0	Estudio retrospectivo 10 años	BCI y Oncotype Dx®	Recurrencia a distancia a los 10 años	BCI demostró una mayor capacidad pronóstica que RS

TABLA 6. Resumen de los estudios incluidos en la revisión

A continuación relatamos los detalles más destacables de los estudios seleccionados para la revisión sistemática:

En el estudio de cohorte prospectiva **Filipits et al.** (14) con 1702 pacientes postmenopáusicas con cáncer de mama temprano RE+ y HER2-, todas ellas participantes de un ensayo clínico de fase III aleatorizado ABCSG-6 y ABCSG-8, tratadas con terapia endocrina adyuvante durante 5 años, han sido sometidas a la prueba Endopredict (< 5 bajo, ≥ 5 alto) y EPclin (< 3.3 bajo, ≥ 3.3 alto). Con una mediana de seguimiento de 9.6 años, se ha estimado la tasa libre de recurrencia a distancia (TLRD) a 10 años y de 5 a 15 años.

La TLRD estimada a 10 años en la totalidad de las pacientes fue del 95.5% para puntuaciones EPclin bajas y del 80.3% para EPclin altas, con una estimación de hazard ratio (HR) para la probabilidad de recurrencia a distancia entre los pacientes con puntuaciones EPclin de alto riesgo en relación con las puntuaciones de EPclin de bajo riesgo de 4.77 con un IC del 95%. En conclusión, el porcentaje de recidiva en las pacientes con EPclin baja es del 4.5% y del 19.7% para pacientes con EPclin alta.

La TLRD estimada a 10 años en pacientes con ganglios negativos fue del 95.5 % para EPclin baja y 87.0 % para EPclin alta, con HR 3.48 con IC del 95 %. En las pacientes con de 1 a 3 ganglios positivos, la estimación a 10 años de TLRD fue del 95.6 % para EPclin baja y del 80.69 % para EPclin alta, HR 3.65 con IC del 95%.

La TLRD de 5 a 15 años en la totalidad de las pacientes fue del 95.7 % para EPclin baja y del 84.1 % para EPclin alta, con HR 4.52 con IC del 95%. Dicho de otra forma, la tasa de recidiva en pacientes con EPclin baja es de 4.3% y de 15.9% para pacientes con EPclin alta.

Para las pacientes con ganglios negativos la TLRD fue del 96.9 % para EPclin baja y del 84.9 % para EPclin alta, con HR 3.77 con IC del 95 %. Por último, la TLRD para pacientes con ganglios de 1 a 3 positivos, fue del 87.0 % para EPclin baja y del 84.0 % para EPclin alta, HR 3.00 con IC del 95 %.

En todos estos datos, vemos unos resultados de riesgo significativamente reducidos de recurrencia a distancia entre los pacientes con puntuaciones bajas de EPclin, tanto en las pacientes de forma global como en mujeres con ganglios negativos como positivos (14).

En el análisis comparativo **Sestak et al.** (15) donde hace una comparación de 6 firmas (oncotype dx, prosigna, BCI, endopredict, IHC4 y CTS), se estimó la recurrencia general (RG) a 10 años en 774 pacientes y la recurrencia tardía (RT) de 5 a 10 años en 689 pacientes.

La recurrencia general en pacientes con ganglios negativos obtuvo resultados significativos en las 6 firmas. ROR (HR 2.56 con IC del 95%), BCI (HR 2.46 con IC del 95%) y EPclin (HR 2.14 con IC del 95%) demostraron ser estadísticamente más pronósticas que otras firmas (RS: HR 1.69 con IC del 95%). Las firmas EPclin, BCI y ROR identificaron una mayor proporción de mujeres con alto riesgo, con riesgos de recurrencia a distancia a 10 años del 22.1%, 27.3% y 32.4% respectivamente.

En pacientes con ganglios de 1 a 3 positivos, al igual que en la población anterior, BCI (HR 1.67 con IC del 95%), ROR (HR 1.58 con IC del 95%) y EPclin (HR 1.69 con IC del 95%) proporcionaron información pronóstica más significativa que la RS (HR 1.39 con IC del 95%).

En la recurrencia tardía, EPclin, ROR y BCI obtuvieron mejor valor pronóstico (HR 2.19, 2.77 y 2.30 respectivamente) que RS (HR 1.46) en pacientes con ganglios negativos.

En pacientes con ganglios de 1 a 3 positivos, aunque significativo, pero con valor pronóstico más débil, EPclin, ROR y BCI mostraron mejor valor pronóstico (HR 1.87, 1.65 y 1.60 con IC del 95%, respectivamente) que RS (HR 1.24 con IC del 95%).

En el estudio **Chen et al.** (16), fueron elegidas 6467 pacientes, de las cuales 1246 recibieron quimioterapia adyuvante. Todas ellas fueron diagnosticadas con cáncer de mama lobulillar invasivo, T1-T2, RE+, tanto con ganglios negativos como de 1 a 3 positivos. La mediana de edad fue de 60 años y la mediana de seguimiento de 63 meses. La supervivencia específica de cáncer de mama (BCSS) a 5 años fue del 99.4%, 98.1% y 92.9% en las cohortes de RS de riesgo bajo, intermedio y alto, respectivamente. El análisis de Cox multivariante confirmó que una puntuación RS más alta se asoció de forma independiente con una BCSS deficiente (HR 2.87 con IC del 95%). Además, el tamaño del tumor más grande, el estado de

ganglios positivos y la ausencia de radioterapia fueron predictores independientes de una mala BCSS.

La recepción de quimioterapia no se asoció con BCSS en el análisis multivariado (HR 1.29, IC 95%). El efecto de la administración de quimioterapia no se asoció con una mejor BCSS en el grupo de riesgo bajo (HR 1.36 con IC del 95%), de riesgo intermedio (HR 1.21 con IC del 95%) ni en el grupo de riesgo alto (HR 2.15 con IC del 95%).

Las tasas de BCSS a 5 años en pacientes que no recibieron y los que si recibieron quimioterapia fueron del 99.5% y 98.5% respectivamente, en el grupo de bajo riesgo, 98.3% y 97.9% respectivamente, en el grupo de riesgo intermedio, y del 95% y 92% respectivamente en el grupo de alto riesgo.

En el estudio **Penault-Llorca et al.** (17), un estudio en el que se incluyeron 530 pacientes con cáncer de mama RE positivo y ganglios linfáticos positivos, del ensayo clínico PACS-01, los criterios de valoración principal fueron la supervivencia libre de enfermedad (SLE) y la supervivencia general (SG) a 5 años. La mediana de seguimiento fue de 7.7 años.

Entre los 530 pacientes del estudio, el 39.4% obtuvieron un resultado de RS de riesgo bajo, el 30.0% riesgo intermedio y el 30.6% riesgo alto.

El RS fue un predictor estadísticamente significativo del riesgo de recurrencia a distancia con HR 4.14 con IC del 95% y una supervivencia libre de enfermedad con HR 3.28 con IC del 95%. El estudio concluye que RS es un predictor del riesgo residual de recurrencia en pacientes con de 1 a 3 y más de 3 ganglios positivos, tratados con terapia quimioendocrina.

A los 5 años, de 128 pacientes con de 1 a 3 ganglios positivos y resultados bajos de RS, solo 9 (5.5%) tuvieron un evento de recurrencia a distancia. Los resultados de pacientes con más de 4 ganglios positivos fueron menos favorables que los de pacientes con de 1 a 3 ganglios positivos, pero los resultados en pacientes con más de 4 ganglios y RS baja fueron tan buenos o mejores que los de los pacientes con de 1 a 3 ganglios positivos y RS intermedia o alta.

En el ensayo prospectivo de fase 3, **Nitz et al.** (18), se ha estudiado la supervivencia global (SG) a 5 años y la supervivencia libre de enfermedad (SLE) a 5 años. La SLE estimada a 5 años es del 93.6% en RS baja (aproximadamente $\frac{3}{4}$ partes de los pacientes fueron tratados con terapia quimioendocrina), 94.3% en RS intermedia (todos tratados con terapia quimioendocrina) y del 84.2% en RS alta (todos tratados con terapia quimioendocrina). Por lo que, la SLE es alta en $RS \leq 11$ y $RS 12-25$ en comparación con $RS > 25$ ($p < 0.001$).

La SG a 5 años es del 99.1% en RS baja (con aproximadamente $\frac{1}{4}$ parte tratada con TQE), 97.2% en RS intermedia y del 93.3% en RS alta. Por lo que la SG a 5 años es mejor en $RS \leq 11$ y $RS 12-25$ en comparación con $RS > 25$ ($p < 0.001$).

Hazard ratio sustanciales con HR 6.46 para $RS > 25$ frente a $RS \leq 11$ y HR 3.26 para $RS > 25$ frente a $RS 12-25$.

En el estudio de **Ohnstad et al.** (19), se sometieron un total de 653 mujeres a la prueba PAM50 donde los criterios de valoración principal fueron la supervivencia libre de enfermedad a distancia (SLE) y la supervivencia específica del cáncer de mama (BCSS). La mediana de edad de las pacientes fue de 57.7 años, de las cuales el 50.7% no recibieron tratamiento adyuvante, el 25.1% recibieron tamoxifeno y el 24.2% CMF (ciclofosfamida, metotrexato, fluorouracilo).

Entre las pacientes con RE+ HER2- la puntuación ROR clasificó a un 37.8% como bajo riesgo, un 22.7% riesgo intermedio y un 39.5% como alto riesgo. El tiempo medio de seguimiento para la BCSS y SLE fueron de 16.6 años y 7.1 años respectivamente.

Las tasas de SLE a 5 y 10 años fueron del 83.8 % y 74.2 % respectivamente. Las tasas de BCSS a 10 y 15 años fueron del 79.6 % y 75.0 % respectivamente. Los pacientes clasificados con ROR de alto riesgo tenían un riesgo notablemente mayor de muerte por cáncer de mama (BCSS) y metástasis a distancia (SLE) en comparación con los pacientes con ROR de bajo riesgo con hazard ratio de 4.69 con IC del 95% y HR 6.82 con IC del 95% respectivamente.

Entre los pacientes que no recibieron ningún tratamiento adyuvante, el 53.7 %, 29.4 % y 16.9% fueron asignados con riesgo ROR bajo, intermedio y alto respectivamente. Pacientes con bajo riesgo de ROR tuvieron un pronóstico excelente a los 15 años (BCSS 96.3%) mientras que los de riesgo intermedio y alto tuvieron una supervivencia reducida (BCSS 85.2 %). Por el contrario, entre los pacientes que recibieron terapia endocrina, apenas hubo diferencias en la supervivencia.

En el estudio de fase 3 de **Cardoso et al.** (20), analizan la supervivencia sin metástasis a distancia a los 5 años. Las 6693 participantes de este estudio, realizaron el test genómico Mammaprint para hallar el riesgo genómico. Fueron sometidas a tratamiento endocrino las pacientes con riesgo clínico bajo, y las de riesgo clínico alto, se sometieron a terapia quimioendocrina. Las pacientes con resultados discordantes (con riesgo clínico alto y genómico bajo o riesgo clínico bajo y genómico alto) fueron asignadas aleatoriamente al grupo de quimioterapia o al grupo sin quimioterapia sobre la base del resultado clínico o genómico.

A los 5 años, las pacientes con alto riesgo clínico y bajo riesgo genómico que no recibieron quimioterapia adyuvante, tuvieron una tasa de supervivencia sin metástasis a distancia del 94.7%, con un IC del 95%.

Como análisis secundario, las pacientes sometidas a aleatorización sobre la base de riesgo clínico y que, por tanto, recibieron quimioterapia, la tasa de supervivencia a los 5 años fue del 95.9% con IC del 95%, y las que fueron aleatorizadas en base al riesgo genómico y que, por tanto, no recibieron quimioterapia, su tasa de supervivencia a los 5 años fue del 94.4% con IC del 95%; habiendo así, una tasa de supervivencia 1.5 puntos porcentuales más baja que las mujeres tratadas con terapia sistémica.

Entre las pacientes con bajo riesgo clínico y alto riesgo genómico, las sometidas a aleatorización en base a su riesgo genómico y recibieron quimioterapia, tuvieron una tasa de supervivencia a los 5 años sin metástasis a distancia del 95.8% con IC del 95%, en comparación a la tasa de supervivencia del 95% en los que fueron tratados en base al riesgo clínico y que no recibieron quimioterapia. Este hallazgo no muestra ninguna ventaja de dirigir la terapia sobre la base del riesgo genómico en pacientes con bajo riesgo clínico, ya que no se benefician del uso de la quimioterapia adyuvante.

La firma Mammaprint se asoció significativamente con la supervivencia sin metástasis a distancia con un hazard ratio de 2.41, con IC del 95% para pacientes con riesgo genómico alto frente a aquellos con bajo riesgo genómico.

Por último, las pacientes con riesgo clínico y genómico bajo, obtuvieron la tasa más alta de supervivencia, un 97.6%. Por el contrario, las mujeres con alto riesgo clínico y genómico, obtuvieron la tasa más baja de supervivencia, un 90.6%.

En el estudio comparativo de **Buus et al.** (21), en el que se reclutaron a 928 pacientes con cáncer de mama RE+, HER2- del ensayo TransATAC, con mediana de edad de 64.7 años, tratadas todas ellas con terapia endocrina y de las que se disponía de RS, para aplicar a sus muestras de ADN la firma Endopredict (EP) y EPclin. El principal criterio de valoración fue la supervivencia libre de recaída a distancia en un periodo de seguimiento con una mediana de 10 años.

Se registraron un total de 128 recaídas a distancia, 59 mujeres con ganglios negativos y 69 con ganglios positivos. Endopredict tuvo un poder pronóstico similar al RS en los años de 0 a 5 en todos los subgrupos. En pacientes con ganglios negativos, el rendimiento de Endopredict y EPclin fue muy similar al de RS, por el contrario, en las mujeres con ganglios positivos, EPclin superó a RS.

Endopredict y EPclin fueron superiores a RS en el periodo de 5 a 10 años, donde RS fue parcialmente débil independientemente del estado ganglionar.

La HR para la comparación entre los terciles más bajo y más alto de cada puntuación de Endopredict, EPclin y RS fue de 4.72, 18.01 y 2.41 respectivamente, todos ellos con IC del 95%.

La estratificación de riesgo para RS fue del 5.3%, 14.3% y 25.1% para los grupos de riesgo bajo, intermedio y alto en pacientes con ganglios negativos, y 25.1%, 34.8% y 48.6% en pacientes con ganglios positivos.

Para poder comparar las tasas de recurrencia con EP y EPclin, agrupamos los riesgos intermedio y alto de RS en riesgo alto. El hazard ratio entre los grupos alto riesgo y los de bajo riesgo fue marginalmente mayor para Endopredict (HR 2.98 con IC del 95%) que para RS (HR 2.73 con IC del 95%) y sustancialmente mayor para EPclin (HR 5.99 con IC del 95%).

La tasa de recurrencia a distancia en EPclin fue particularmente buena en la estratificación de pacientes con ganglios positivos (31.9%) en comparación a los pacientes con ganglios negativos (14.1%).

Por último, en el análisis retrospectivo de **Sestak et al.** (15), donde participaron un total de 665 mujeres postmenopáusicas con ganglios negativos, con una mediana de edad de 62.4 años, se realizó una comparación de precisión pronóstica entre RS y BCI.

BCI clasificó menos mujeres en riesgo intermedio (25.0% frente a 26.8%) pero más pacientes en riesgo alto que RS (16.4% frente a 14.9%).

De las 388 mujeres clasificadas por RS como de riesgo bajo, 20 de ellas fueron reclasificadas como de alto riesgo por BCI con un riesgo de recurrencia del 23.3% a los 10 años, lo que incurre en un riesgo 7 veces mayor de riesgo en comparación con los del grupo de bajo riesgo de BCI (HR 6.77 con IC del 95%).

178 de las mujeres clasificadas por RS como de riesgo intermedio, 95 de ellas fueron reclasificadas como riesgo bajo por BCI con un riesgo de recurrencia a distancia a los 10 años del 7.1% en comparación a 34 mujeres que fueron reclasificadas como riesgo alto por BCI con un riesgo de recurrencia a los 10 años del 27.8%.

Entre las mujeres clasificadas por RS como de riesgo intermedio, las clasificadas por BCI como grupo de riesgo intermedio o alto tenían un riesgo real de recurrencia a distancia de 4 a 5 veces mayor a los 10 años que las clasificadas por BCI como de bajo riesgo con hazard ratio de 3,80 con IC del 95% y hazard ratio de 4,83 con IC del 95%, respectivamente.

De 99 mujeres categorizadas por RS como alto riesgo, 12 fueron reclasificadas por BCI como de bajo riesgo con un riesgo no significativamente menor de recurrencia a 10 años que aquellas de los grupos intermedio y alto.

Sin embargo, no se observó una reclasificación significativa de ninguno de los grupos de riesgo BCI por la RS en términos de riesgo de recurrencia a 10 años.

8. DISCUSIÓN

Los resultados del estudio **Filipits et al.** (14) demuestran que la puntuación EPclin tiene valor pronóstico de recurrencia distante tanto temprana como tardía entre mujeres con cáncer de mama RE positivo, HER2 negativo.

Según estos datos, la plataforma génica EPclin puede ayudar a identificar a las pacientes que probablemente no obtengan ningún tipo de beneficio del tratamiento quimioterápico y así puedan evitar sus efectos secundarios perjudiciales. Esto es más significativo en mujeres con 1-3 ganglios positivos que, tradicionalmente, recibirían quimioterapia por considerarlas de alto riesgo clínico, y sin embargo, tienen un riesgo de recurrencia bajo, por lo que esta podría evitarse.

En el estudio de **Sestak et al.** (15) aunque todas las firmas genéticas proporcionaron información pronóstica significativa, EPclin, ROR y BCI demostraron ser estadísticamente más pronósticas que Oncotype en la recurrencia general (a 10 años) tanto en pacientes con ganglios negativos como positivos, aunque en este último grupo el rendimiento pronóstico, aunque significativo, fue más débil.

BCI, ROR Y EPclin, pueden tener componentes moleculares de pronostiquen más específicamente la recidiva tardía.

Los resultados del estudio de **Chen et al.** (16) indican que la RS es un factor pronóstico independiente en el cáncer lobulillar invasivo y también influye en la toma de decisiones clínicas con respecto al uso de la quimioterapia. Sin embargo, el uso de quimioterapia no se relacionó con BCSS en ninguno de los tres subgrupos de riesgo.

La BCSS a 5 años en el grupo RS de riesgo alto fue significativamente baja en comparación con la BCSS del grupo de riesgo intermedio y bajo, sin embargo los resultados de este estudio plantean dudas sobre el beneficio de la quimioterapia en subgrupos específicos de RS. El beneficio limitado de supervivencia en el grupo de RS de alto riesgo puede estar en relación con la escasa sensibilidad del cáncer lobulillar invasivo a la quimioterapia.

El estudio **Penault Llorca et al.** (17) concluye que RS es pronóstico en pacientes con ganglios positivos, RE+, tratadas con terapia quimioendocrina. RS proporciona información de pronóstico más significativa de la que pueden proporcionar las características clínico-patológicas tradicionales.

Los resultados de la firma Oncotype pueden ayudar a identificar subgrupos de pacientes con bajo o alto riesgo residual de recurrencia que podrían tratarse adecuadamente con regímenes de tratamiento adyuvante estándar o regímenes de quimioterapia adyuvante más agresivos.

El ensayo **Nitz et al.** (18) demuestra un fuerte impacto de la RS en la supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad. Estos resultados muestran que la terapia quimioendocrina puede evitarse con seguridad en pacientes con RE+, HER2-, pN0-3 y bajo riesgo genómico.

Esto puede ser útil para orientar y refinar las decisiones de terapia quimioendocrina en cáncer de mama temprano RE+ HER2- en función del riesgo genómico. Estos resultados amplían la información proporcionada por el análisis exploratorio de Plan B después de un seguimiento de 3 años (22).

En el estudio **Ohnstad et al.** (19), tras 17 años de seguimiento, las puntuaciones de ROR mejoraron claramente la clasificación pronóstica más allá de los parámetros clínico-patológicos actuales.

El uso recomendado de tratamiento endocrino ha cambiado notablemente. A casi todos los pacientes RE+ se les aconseja el tratamiento endocrino. Este estudio apoya el uso potencial de estas pruebas para decisiones de tratamiento endocrino adyuvante prolongado.

Estos resultados apoyan el uso de la puntuación ROR para mejorar la clasificación de los pacientes, permitiendo una identificación más precisa de los riesgos de recurrencia futuros y una mejora a la hora de la decisión con respecto al tratamiento adyuvante. Pacientes con RE+ HER2- con ganglios negativos, puntuaciones ROR bajas se pueden tratar suficientemente sin el uso de quimioterapia, y algunos pueden tener un riesgo de recaída sistémica tan limitado que se puede cuestionar el beneficio del tratamiento endocrino adyuvante en casos individuales.

En definitiva, la clasificación de riesgo PAM50 puede resultar en una reducción significativa en el uso de quimioterapia adyuvante.

En el estudio **Cardoso et al.** (20), pacientes con bajo riesgo clínico y alto riesgo genómico, los resultados no muestran ventajas de dirigir la terapia sobre el riesgo genómico en pacientes con bajo riesgo clínico, ya que no se benefician de la quimioterapia.

El uso de quimioterapia en pacientes con alto riesgo clínico y bajo genómico condujo a una tasa de supervivencia 1.5 puntos porcentuales mayor que las pacientes que no recibieron quimioterapia por su bajo riesgo genómico. Con una tasa de supervivencia libre de enfermedad de 2.8 puntos porcentuales más alta y una tasa de supervivencia general de 1.4 puntos porcentuales más alta con quimioterapia que sin quimioterapia.

En el grupo de pacientes con bajo riesgo clínico, no se halló ninguna diferencia significativa en la tasa de supervivencia a 5 años sin metástasis a distancia entre los pacientes con alto riesgo genómico que recibieron quimioterapia y los que no la recibieron.

En la práctica clínica, la adición de factores clínicos y patológicos tradicionales proporcionan información valiosa para considerar qué pacientes pueden beneficiarse o no de la terapia sistémica.

Este estudio podría beneficiarse de un seguimiento a más largo plazo para determinar si estas conclusiones siguen siendo válidas, debido a que la mayoría de los tumores son luminales y estos pueden tener un riesgo de recaída mayor de los 5 años.

En el estudio de **Buus et al.** (21), tanto Endopredict como EPclin fueron altamente pronósticos durante los 10 años de seguimiento, y ambas identificaron eventos de recaída temprana y tardía.

Con respecto a la comparativa de Endopredict y EPclin frente a RS, concluimos que EP fue similar a RS de 0 a 5 años de seguimiento, pero superior en el periodo de 5 a 10 años. EPclin superó notablemente a RS en la totalidad del periodo de seguimiento, excepto en pacientes con ganglios negativos en la ventana de tiempo temprano.

En resumen, EPclin y Endopredict demostraron mejor capacidad pronóstica, y esto, en parte, puede ser debido a la integración de parámetros clínico-patológicos en las firmas EPclin y Endopredict.

Para finalizar, los resultados del estudio **Sestak et al.** (15) mostraron que BCI recategorizó a los pacientes dentro de los grupos de riesgo de RS bajo e intermedio de una manera estadísticamente significativa. Por el contrario, RS no reclasificó significativamente ninguno de los grupos de riesgo identificados por BCI.

En el estudio actual, BCI identificó aproximadamente el 22% de los pacientes con RS de bajo riesgo como de riesgo intermedio y el 5% como de alto riesgo. Estos hallazgos sugieren que una proporción significativa de pacientes con RS de bajo riesgo tienen un riesgo elevado de recurrencia tardía y pueden beneficiarse de la terapia endocrina prolongada.

BCI también recategorizó a las mujeres que fueron clasificadas por RS en el grupo de alto riesgo en un grupo de bajo riesgo.

Finalmente, BCI reestratificó significativamente el grupo de RS de riesgo intermedio, una categorización que presenta desafíos para la toma de decisiones clínicas, identificando aproximadamente la mitad de estos pacientes con bajo riesgo de recurrencia y la otra mitad con riesgo elevado de recurrencia.

Es de destacar que el subconjunto de pacientes reestratificados por BCI como de riesgo intermedio o alto parecía tener un riesgo elevado de recurrencias tanto tempranas como tardías, en contraste con los categorizados como grupos de bajo riesgo por BCI.

Este estudio confirmó que BCI proporcionó información pronóstica estadísticamente significativa además de los factores clínicos tradicionales y RS en mujeres con RE+ y enfermedad con ganglios linfáticos negativos tratadas con terapia endocrina adyuvante. Por lo tanto, estos hallazgos sobre el valor pronóstico de BCI pueden tener un impacto clínico potencial con respecto a la mejora de la estratificación de riesgo individualizada para pacientes con cáncer de mama en estadio temprano con ganglios linfáticos negativos.

En resumen, tras lo anteriormente expuesto, podemos concluir que cada firma genómica tiene unas aplicaciones similares pero que pueden diferir ligeramente entre ellas.

Mammaprint puede aplicarse en mujeres tanto pre como postmenopáusicas con cáncer de mama en estadio T1-T3, con ganglios negativos como positivos (N0-1), siendo beneficiosa su aplicación para estimar de forma más precisa el riesgo de recurrencia de la enfermedad y así poder individualizar el tratamiento de la forma más adecuada.

Oncotype Dx®, además de ser útil en su aplicación en mujeres pre y postmenopáusicas con cáncer de mama RE+, HER2-, con ganglios tanto negativos como positivos (N0-1), también ha demostrado su eficacia en pacientes con carcinoma lobulillar invasivo en etapa temprana (T1-T2).

BCI ha demostrado ser estadísticamente más pronóstica en mujeres postmenopáusicas con cáncer de mama RE+, HER2-, con ganglios negativos y positivos (N0-1) que Oncotype Dx® en la recurrencia general.

Prosigna, también ha demostrado ser estadísticamente más pronóstica que Oncotype Dx®, y algo más que BCI, en la recurrencia general, en este caso, tanto en pacientes pre como postmenopáusicas.

Endopredict, también ha demostrado ser estadísticamente más pronóstica que Oncotype Dx®, y también más que BCI y Prosigna, en la recurrencia general, en mujeres postmenopáusicas independientemente del estado ganglionar.

Probablemente, la superioridad de Prosigna y Endopredict, se deba, en parte, a la combinación de factores genéticos con factores clínico-patológicos tradicionales, aumentando así su capacidad y precisión pronóstica.

9. CONCLUSIONES

En conclusión, y tras los resultados de los estudios anteriormente expuestos, con un tiempo de seguimiento considerablemente extenso, y en consonancia con estudios anteriores a los revisados, ya fuesen ensayos clínicos, estudios prospectivos o retrospectivos, cualquiera de las firmas estudiadas, pueden ser de gran utilidad como predictoras de recurrencia de pacientes mujeres, con cáncer de mama RE+, HER2-, con ganglios negativos o positivos (0-3).

En sintonía con lo anterior, el uso de las firmas genómicas ha demostrado poseer mayor precisión en la estimación del riesgo de recurrencia en comparación con el uso de

factores clínico-patológicos tradicionales, aunque, el uso de estos de forma integrada junto con los factores moleculares, podrían poseer una mejor capacidad pronóstica en comparación con su uso de forma individualizada. Además, estas plataformas permiten una mejor identificación de las pacientes que podrían beneficiarse del uso de quimioterapia, y aquellos que por su riesgo de recaída tan bajo puedan cuestionarse su beneficio y solo beneficiarse de la terapia endocrina.

Entre las diferentes firmas, hay diferencias significativas con respecto a la estimación del riesgo de recurrencia. En este caso, Endopredict, es la firma que ha demostrado tener una mayor fuerza pronóstica y ser superior a las demás. Se cree que esto es debido a su perfil genético y a la combinación de información clínica y genómica.

No obstante, todos los estudios concluyen que un tiempo de seguimiento más largo podría arrojar más datos, ya que siendo el cáncer de mama luminal el más frecuente en la población, este tiene un periodo de recurrencia más extenso, por lo que un periodo de seguimiento más largo podría ser de gran utilidad para corroborar estos datos a más largo plazo.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. CDCBreastCancer. What Is Breast Cancer? [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention. 2020 [citado 22 de febrero de 2021]. Disponible en: https://www.cdc.gov/cancer/breast/basic_info/what-is-breast-cancer.htm
2. Cancer de mama - SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica © 2019 [Internet]. [citado 22 de febrero de 2021]. Disponible en: <https://seom.org/info-sobre-el-cancer/cancer-de-mama?showall=1>
3. Cáncer de mama - Ginecología y obstetricia [Internet]. Manual MSD versión para profesionales. [citado 23 de febrero de 2021]. Disponible en: <https://www.msdmanuals.com/es/professional/ginecolog%C3%ADa-y-obstetricia/trastornos-mamarios/c%C3%A1ncer-de-mama>
4. Poortmans PMP. Manual de Práctica Clínica en Senología 2019. :591.
5. Nicolás-Sánchez FJ, Sarrat-Nuevo RM, Roset Benito A, Morales Murillo S. Metástasis óseas de cáncer de mama. Latencia durante 18 años. REEMO. 1 de julio de 2009;18(3):63.
6. Cáncer metastásico [Internet]. GEICAM - Investigación en Cáncer de Mama. [citado 22 de febrero de 2021]. Disponible en: <https://www.geicam.org/cancer-de-mama/tengo-cancer-de-mama/conoce-mejor-tu-enfermedad/cancer-de-mama-metastasis>
7. Tratamientos del cáncer de mama [Internet]. [citado 24 de febrero de 2021]. Disponible en: <https://www.aecc.es/es/todo-sobre-cancer/tipos-cancer/cancer-mama/tratamiento>
8. Comprender el riesgo de la recurrencia tardía del cáncer de mama [Internet]. Cancer.Net. 2020 [citado 22 de febrero de 2021]. Disponible en: <https://www.cancer.net/es/blog/2020-06/comprender-el-riesgo-de-la-recurrencia-tard%C3%ADa-del-c%C3%A1ncer-de-mama>
9. Férez IMM, Guerra IV, Lozano MPR, López SB. Plataformas genómicas de carácter pronóstico-predictivo en el cáncer de mama: actualización de la evidencia. Revisión sistemática. Breast Cancer. :155.
10. Ovcaricek T, Takac I, Matos E. Multigene expression signatures in early hormone receptor positive HER 2 negative breast cancer. Radiol Oncol. 24 de septiembre de 2019;53(3):285-92.
11. Kwon MJ. Emerging immune gene signatures as prognostic or predictive biomarkers in breast cancer. Arch Pharm Res. noviembre de 2019;42(11):947-61.
12. Bartlett JMS, Sgroi DC, Treuner K, Zhang Y, Ahmed I, Piper T, 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 Off J Eur Soc Med Oncol. 1 de noviembre de 2019;30(11):1776-83.

13. Ettl J, Anders S-I, Hapfelmeier A, Paepke S, Noske A, Weichert W, et al. First prospective outcome data for the second-generation multigene test Endopredict in ER-positive/HER2-negative breast cancer. *Arch Gynecol Obstet.* diciembre de 2020;302(6):1461-7.
14. 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.* 1 de julio de 2019;25(13):3865-72.
15. Sestak I, Buus R, Cuzick J, Dubsy P, Kronenwett R, Denkert C, et al. Comparison of the Performance of 6 Prognostic Signatures for Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer: A Secondary Analysis of a Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol.* 1 de abril de 2018;4(4):545-53.
16. Chen X-H, Zhang W-W, Wang J, Sun J-Y, Li F-Y, He Z-Y, et al. 21-gene recurrence score and adjuvant chemotherapy decisions in patients with invasive lobular breast cancer. *Biomark Med.* febrero de 2019;13(2):83-93.
17. 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.* 4 de mayo de 2018;18(1):526.
18. 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.* octubre de 2017;165(3):573-83.
19. Ohnstad HO, Borgen E, Falk RS, Lien TG, Aaserud M, Sveli MAT, et al. Prognostic value of PAM50 and risk of recurrence score in patients with early-stage breast cancer with long-term follow-up. *Breast Cancer Res BCR.* 14 de noviembre de 2017;19(1):120.
20. 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.* 25 de agosto de 2016;375(8):717-29.
21. Buus R, Yeo B, Brentnall AR, Klintman M, Cheang MCU, Khabra K, et al. Novel 18-gene signature for predicting relapse in ER-positive, HER2-negative breast cancer. *Breast Cancer Res BCR.* 4 de septiembre de 2018;20(1):103.
22. Ettl J, Anders S-I, Hapfelmeier A, Paepke S, Noske A, Weichert W, et al. First prospective outcome data for the second-generation multigene test Endopredict in ER-positive/HER2-negative breast cancer. *Arch Gynecol Obstet.* diciembre de 2020;302(6):1461-7.