

Uso clínico de biomarcadores en cáncer de mama: Directrices actualizadas del European Group on Tumor Markers (EGTM)

Clinical use of biomarkers in breast cancer: Updated guidelines from the European Group on Tumor Markers (EGTM)

MJ Duffy ^aN. Harbeck ^bM. Nap ^cR. Molina ^dA. Nicolini ^eE. Senkus ^fF. Cardoso ^g

<https://doi.org/10.1016/j.ejca.2017.01.017>

Acceso abierto

Destacados

- Para todos los pacientes con cáncer de mama invasivo, la medición de ER, PR y HER2 es obligatoria.
- uPA/PAI-1, Oncotype DX, MammaPrint, Prosigna, EndoPredict y BCI pueden usarse para evitar la quimioterapia adyuvante en pacientes con ER positivo, HER2 negativo y ganglios linfáticos negativos.
- Oncotype DX, MammaPrint, Prosigna y EndoPredict también pueden usarse para evitar la quimioterapia adyuvante en pacientes con ER positivo, HER2 negativo y ganglios linfáticos positivos (1 a 3 ganglios positivos).
- Ki67 puede usarse para determinar el pronóstico, especialmente si los valores son bajos o altos.

Resumen

Los biomarcadores juegan un papel esencial en el manejo de pacientes con cáncer de mama invasivo. Para seleccionar pacientes que probablemente respondan a la terapia endocrina, se deben medir tanto los receptores de estrógeno (ER) como los receptores de progesterona (PR) en todos los cánceres de mama invasivos recién diagnosticados. Por otro lado, para seleccionar la respuesta probable a todas las formas de terapia anti-HER2

(trastuzumab, pertuzumab, lapatinib o ado-trastuzumab emtansine), la determinación de la expresión de HER2 o el número de copias del genes obligatorio. Cuando sea factible, la medición de ER, PR y HER2 debe realizarse en lesiones recurrentes y en el tumor invasivo primario. Aunque existen problemas metodológicos en la determinación de Ki67, debido a su valor clínico claramente establecido, amplia disponibilidad y bajo costo en relación con las firmas multianalíticas disponibles, Ki67 puede usarse para determinar el pronóstico, especialmente si los valores son bajos o altos. En pacientes con receptor de estrógeno (ER) positivo, HER2 negativo, ganglios linfáticos negativos, pruebas de analitos múltiples como el activador de plasminógeno de uroquinasa (uPA)-PAI-1, Oncotype DX, MammaPrint, EndoPredict, Breast Cancer Index (BCI) y Prosigna (PAM50) se pueden utilizar para predecir el resultado y ayudar en la toma de decisiones sobre el tratamiento complementario. Oncotype DX, MammaPrint, EndoPredict y Prosigna pueden usarse de manera similar en pacientes con 1 a 3 ganglios linfáticos metastásicos. Todos los laboratorios que miden biomarcadores para el tratamiento de pacientes deben utilizar ensayos validados analítica y clínicamente, participar en programas externos de control de calidad, tener criterios establecidos de aceptación y rechazo de ensayos, realizar auditorías periódicas y estar acreditados por una organización adecuada.

Palabras clave

Cáncer de mama Pautas Biomarcadores firmas genéticas

EGTM

Actualmente, los biomarcadores juegan un papel indispensable en el manejo de pacientes con cáncer de mama, especialmente para decidir el tipo de terapia sistémica a administrar. En 2005, el Grupo Europeo de Marcadores Tumorales (EGTM) publicó unas directrices sobre el uso de biomarcadores en el cáncer de mama [1]. Sin embargo, desde entonces, se han informado varios desarrollos nuevos importantes, especialmente con biomarcadores basados en tejidos. Estos incluyen el uso de firmas de parámetros múltiples para predecir el resultado del paciente y el uso de HER2 para la identificación inicial de la respuesta probable a varias formas diferentes de terapia anti-HER2. Además, se han publicado nuevas recomendaciones para realizar una serie de ensayos de biomarcadores de cáncer de mama, como los receptores de estrógeno (RE), los receptores de progesterona (PR) y HER2. Por tanto, el objetivo de este artículo es ampliar y actualizar las directrices de 2005, centrándose en los biomarcadores basados en tejidos. Los principales grupos objetivo de estas guías incluyen médicos, cirujanos y enfermeras involucrados en el manejo de pacientes con cáncer de mama y profesionales de laboratorio involucrados en la medición de biomarcadores de cáncer de mama. Sin embargo, las pautas también pueden ser valiosas para proveedores de atención médica, formuladores de políticas de salud, investigadores de cáncer de mama, organizaciones reguladoras, pacientes con cáncer de mama y empresas involucradas en la fabricación/suministro de ensayos de biomarcadores y medicamentos dirigidos relacionados con el cáncer de mama.

Para actualizar estas pautas, se revisó la literatura publicada (PubMed y Cochrane Library) relevante para el uso de biomarcadores tisulares en el cáncer de mama. Aparte de las conferencias de la American Association of Cancer Research (AACR) y la American Society of Clinical Oncology (ASCO) de 2016, no se realizaron búsquedas en los resúmenes de las reuniones. La revisión abarcó el período comprendido entre junio de 2005 y junio de 2016. Al igual que en las publicaciones previas de guías [2], [3], [4], se hizo especial hincapié en los estudios que implican la validación de biomarcadores en ensayos prospectivos o prospectivos-retrospectivos, revisiones sistemáticas, agrupados/metanálisis de estudios de biomarcadores y directrices pertinentes publicadas por otros paneles de expertos. Para cada recomendación específica, indicamos el nivel de evidencia (LOE) [5], [6] y fuerza de recomendación (SOR) [7] para su uso clínico. Además de brindar recomendaciones para el uso clínico, también hacemos sugerencias para futuras investigaciones con los biomarcadores recomendados.

1 . Receptor de estrógeno y progesterona para la sensibilidad endocrina predictiva

El receptor de estrógeno (ER) existe en dos formas principales, ER α y ER β . Actualmente, solo se ha establecido una función clínica validada para ER α , que se denominará ER en este artículo. Mientras que es probable que los ensayos

de ER de unión a ligando originales hayan detectado tanto ER α como ER β , las mediciones actuales de inmunohistoquímica (IHC) detectan solo ER α . De manera similar, el receptor de progesterona (PR) existe en dos formas, denominadas PRA y PRB. Los ensayos IHC utilizados actualmente detectan estas dos formas de PR. La principal aplicación clínica de los receptores de hormonas esteroides, es decir, ER α y PR, es en la selección de pacientes con cáncer de mama invasivo para el tratamiento con terapia endocrina, es decir, la administración de moduladores selectivos de los receptores de estrógenos (tamoxifeno), inhibidores de la aromatasa de tercera generación (anastrozol, letrozol o exemestano), agonistas de LH-RH (leuprolide, goserelin), reguladores a la baja del receptor de estrógeno puro (fulvestrant), ooforectomía y otras terapias endocrinas. Como marcadores predictivos para la terapia endocrina, ER y PR se utilizan en los entornos de enfermedad avanzada, neoadyuvante y adyuvante [8], [9], [10], [11].

En la enfermedad temprana, un metanálisis de datos individuales de 20 ensayos clínicos aleatorizados (n = 21 457) mostró que el tratamiento de pacientes con ER positivo (es decir, ≥ 10 fmol/mg de proteína determinado con un ensayo bioquímico) durante aproximadamente 5 años con tamoxifeno adyuvante redujo significativamente las probabilidades de recurrencia de la enfermedad a los 15 años en un 39 % y las probabilidades de mortalidad por cáncer de mama en un 30 % [9]. En contraste con los resultados de la enfermedad con ER positivo, el tratamiento de pacientes con ER negativo (<10 fmol/mg de proteína) con tamoxifeno no tuvo un efecto significativo sobre la recurrencia o la mortalidad del cáncer de mama. En este metanálisis, la RP no proporcionó información predictiva independiente. Si bien no es predictivo del beneficio del tamoxifeno en este metanálisis, se informó que los niveles altos de PR se correlacionaron de forma independiente con una mayor probabilidad de respuesta al tamoxifeno, un tiempo más prolongado hasta el fracaso del tratamiento y una supervivencia general más prolongada en pacientes con metástasis. cáncer de mama [12], [13]. Cabe señalar que la mayoría de los estudios incluidos en el metanálisis anterior utilizaron los ensayos bioquímicos originales (ligand-binding y ELISA) para medir ER y PR. Estos ensayos no estaban estandarizados y no está claro si todos los laboratorios participaron en programas de garantía de calidad. Aunque 5 años de tratamiento adyuvante con tamoxifeno fue la forma estándar de tratamiento endocrino para pacientes con receptores de hormonas esteroides positivos durante varios años, recientemente se demostró que la administración de tamoxifeno o un inhibidor de la aromatasa (es decir, letrozol) durante 10 años es superior a 5 años. curso [14], [15]. Sin embargo, este mayor beneficio debe sopesarse frente a los posibles efectos secundarios adicionales del tratamiento prolongado. Idealmente, por lo tanto, los biomarcadores deberían estar disponibles para identificar a aquellas pacientes que tienen un alto riesgo de desarrollar recurrencias tardías, ya que estas mujeres pueden beneficiarse de la terapia prolongada. Igualmente importante, estos biomarcadores deberían ayudar a identificar a las mujeres con bajo riesgo de recaída tardía, ya que podrían ahorrarse los efectos secundarios y los costos del tratamiento prolongado. Los datos emergentes sugieren que las firmas genéticas específicas (ver a continuación) pueden diferenciar entre pacientes con respecto a su riesgo de recaídas tempranas o tardías después de la terapia endocrina. Estos incluyen Prosigna (PAM50 y puntuación de riesgo de recurrencia) [16], EndoPredict [17], IHC4 [18], índice de cáncer de mama (BCI) [18] y la relación HOXB13/IL17BR [19].

Se demostró que el tratamiento adyuvante con inhibidores de la aromatasa (IA) de tercera generación en pacientes posmenopáusicas con receptores hormonales positivos es superior a un curso de 5 años de tamoxifeno para reducir el riesgo de recurrencia, aunque con un efecto modesto (1–2 %) en la extensión general supervivencia. Este aumento de la eficacia se observó tanto si los IA se administraban inicialmente como si se utilizaban de forma secuencial después de 2 o 3 años de tratamiento con tamoxifeno [20]. La mayoría de los paneles de expertos, incluida la Sociedad Estadounidense de Oncología Clínica (ASCO) [21], la Red Nacional Integral del Cáncer (NCCN) [22] y la Sociedad Europea de Oncología Médica (ESMO) [23] recomendar la incorporación de un inhibidor de la aromatasa, ya sea por adelantado o en secuencia con tamoxifeno, en el tratamiento adyuvante de pacientes posmenopáusicas. Según el St. Gallen Consensus Group de 2015 [24], el tamoxifeno solo puede ser adecuado para mujeres de bajo riesgo. Por el contrario, para las mujeres de alto riesgo, el grupo recomendó considerar y administrar inicialmente un inhibidor de la aromatasa.

Para pacientes premenopáusicas con receptores positivos, el tamoxifeno ha sido el tratamiento estándar durante varias décadas. Sin embargo, según los hallazgos recientes de dos ensayos clínicos [25], [26], las pautas de ASCO 2016 han recomendado que las pacientes de alto riesgo deben recibir supresión ovárica además de la terapia endocrina adyuvante estándar, mientras que las pacientes de bajo riesgo no deben recibir la supresión ovárica. supresión ovárica adicional [27].

2 . ER y PR para determinar el pronóstico

Si bien el valor principal de los receptores de hormonas esteroideas es como biomarcadores predictivos para la terapia endocrina, el estado del receptor de un cáncer de mama invasivo primario también puede proporcionar información pronóstica. De hecho, varios estudios retrospectivos han demostrado que los pacientes con tumores que contienen ER o PR tienden a tener un mejor resultado que aquellos que carecen de los receptores [28] , [29] , [30] , [31] , [32] , [33] , [34] , [35] , [36] . Sin embargo, el pronóstico favorable asociado, al menos con tumores ER positivos, ocurre principalmente durante los primeros 5 a 7 años después del diagnóstico inicial [28], [29] , [30] . Posteriormente, el riesgo de recaída tiende a ser mayor en los tumores ER-positivos que en los ER-negativos. Por lo tanto, los receptores de hormonas esteroideas solos no pueden usarse para identificar a las mujeres que pueden beneficiarse de una terapia endocrina extendida. Además, el impacto de la terapia sobre el impacto pronóstico de los receptores de hormonas esteroideas es difícil de excluir, ya que casi todos los pacientes con receptores positivos son tratados con terapia endocrina en la enfermedad temprana o avanzada. De hecho, en algunos estudios, el resultado mejorado con tumores receptores positivos solo se encontró en pacientes tratados con terapia endocrina [29,30] .

3 . ER y PR: recomendación EGTM

De acuerdo con las guías publicadas previamente [1] , [3] , [21] , [22] , [23] , [24] , [36], el panel EGTM recomienda que ER y PR se midan en todos los tumores invasivos primarios recién diagnosticados. cánceres de mama (**para ER, LOE IA; SOR, A y para PR, LOE 1B; SOR, A/B**). Si se encuentra que ER o PR son negativos en la muestra de biopsia con aguja gruesa de un tumor primario, sugerimos volver a analizarlos en la muestra quirúrgica correspondiente. Sin embargo, esta sugerencia no está basada en evidencia, sino en varios estudios que muestran una discordancia en el receptor hormonal. estado entre una biopsia con aguja gruesa y una pieza quirúrgica correspondiente. Un posible motivo de resultados negativos en la aguja central pero resultados positivos en las muestras quirúrgicas es un error en el muestreo. Esto puede ocurrir, especialmente en tumores heterogéneos, donde la muestra de biopsia central no es representativa de todo el tumor. Por otro lado, los hallazgos negativos en la muestra quirúrgica pero los hallazgos positivos con la biopsia con aguja gruesa podrían relacionarse con artefactos de fijación, causados por un retraso en la exposición del centro de una muestra quirúrgica a la formalina [37].

Las guías de la ASCO establecen que cuando se encuentran resultados discordantes entre el sitio primario y metastásico, es preferible utilizar el estado receptor del tumor metastásico , siempre que esté respaldado por la situación clínica y de acuerdo con los deseos de los pacientes [38] . Por el contrario, tanto el grupo de la Conferencia de Consenso sobre el Cáncer de Mama Avanzado (ABC) de la Escuela Europea de Oncología (ESO)-ESMO [39] como la NCCN [22] recomienda administrar terapia endocrina si alguna biopsia es receptor positivo. Es importante señalar que la recomendación de medir ER/PR en sitios metastásicos cuando se trata la enfermedad recurrente no está basada en evidencia, pero parecería prudente, debido a la posibilidad de una alteración en el estado del receptor como resultado de la progresión del tumor. Así, basándose en un metaanálisis de 33 estudios publicados que contenían un total de 4200 pacientes, Aurilio *et al.* [40] concluyó que las tasas de discordancia para la RE entre los sitios primario y metastásico fueron del 20 % (intervalo de confianza [IC] del 95 %, 16–35 %), con un 24 % de tumores que se convirtieron de positivo a negativo y un 14 % de un estado negativo a positivo . En este metaanálisis, la discordancia agrupada para el estado de la RP entre los sitios primario y metastásico fue del 33 % (IC del 95 %, 29–38) [40] . Con PR, el 46% de las muestras cambiaron de positivo a negativo, mientras que el 15% cambió de estado en la dirección opuesta.

Por último, tanto la ER como la PR deben medirse mediante IHC utilizando un ensayo validado analítica y clínicamente.

4 . ER y PR: recomendación para futuras investigaciones

- Desarrollo de biomarcadores para aumentar el valor predictivo positivo de RE.

- Identificar biomarcadores para seleccionar pacientes que se beneficien preferentemente de un inhibidor de la aromatasa frente al tamoxifeno o viceversa.

- Validar biomarcadores para seleccionar pacientes que no necesitan terapia endocrina adyuvante extendida .

- Establecer los puntos de corte clínicos óptimos tanto para ER como para PR, en particular para establecer si estos deben ser del 1%, 10% o, de hecho, un porcentaje diferente de tinción de núcleos celulares positivos [41] .

- Desarrollar y validar ensayos para ER β con miras a determinar una posible función clínica de esta forma de ER en el cáncer de mama [42] .

- Establecer el impacto predictivo relativo de la terapia endocrina de las dos formas de PR, es decir, PRA y PRB [33] .

- Determinar si las mutaciones de ER en sitios recurrentes tienen capacidad predictiva. Recientemente, tales mutaciones se encontraron en aproximadamente el 20% de los pacientes con cáncer de mama metastásico , la mayoría de los cuales fueron tratados con un inhibidor de la aromatasa [43] . Queda por demostrar, sin embargo, si la presencia de estas mutaciones tiene un impacto predictivo.

5 . HER2 para predecir la respuesta a las terapias anti-HER2

El principal uso clínico de la medición de HER2 es la predicción de la respuesta a la terapia anti-HER2 en los entornos de enfermedad avanzada, adyuvante y neoadyuvante [44]. Actualmente, cuatro terapias anti-HER2 están aprobadas para el tratamiento del cáncer de mama positivo para HER2, trastuzumab , lapatinib , pertuzumab y trastuzumab emtansine (T-DM1). Según la evidencia disponible, la amplificación/sobreexpresión del gen HER2 parece ser necesaria pero no suficiente para responder a todas estas terapias anti-HER2. Recientemente, varios paneles de expertos, incluidos ASCO [45] , NCCN [22] y ABC [39], recomendó que la terapia de primera línea para pacientes con cáncer de mama avanzado positivo para HER2 debe ser trastuzumab, pertuzumab y un taxano, si no se han tratado previamente con trastuzumab. También se sugirió que este régimen es una opción de tratamiento para quienes recibieron trastuzumab anteriormente. Para aquellos que progresan durante o después del tratamiento anti-HER2 de primera línea, se debe administrar T-DM1 [45]. En el entorno adyuvante, trastuzumab (en combinación con quimioterapia) es la forma estándar y sigue siendo la única forma aprobada de terapia anti-HER2 administrada. Para el entorno neoadyuvante, el tratamiento dual con trastuzumab y pertuzumab está aprobado tanto en Europa como en EE. UU. De acuerdo con las pautas de la NCCN, se puede administrar un régimen que contenga pertuzumab en el entorno neoadyuvante a pacientes con HER2 positivo que tengan ganglios linfáticos positivos o que tengan tumores ≥ 2 cm [22] .

6 _ Medición de HER2

Hay dos tipos principales de pruebas disponibles para medir la amplificación del gen HER2/sobreexpresión de la proteína, es decir, IHC e hibridación in situ (ISH). Los ensayos ISH pueden utilizar ISH fluorescente (FISH) o ISH de

campo claro. [Varios paneles de expertos, incluidos grupos de EE. UU. \(ASCO/CAP\) \[46\]](#) , Reino Unido [\[47\]](#) y otros lugares [\[48\]](#) , han publicado directrices para realizar e interpretar los resultados de HER2 .

7 . HER2: recomendación EGTM

•
La amplificación o sobreexpresión del gen HER2 debe determinarse en todas las pacientes con cáncer de mama invasivo primario (**LOE, IA; SOR, A**). Cuando sea factible, la medición también debe realizarse en cualquier lesión metastásica. Según la ASCO, si existe discordancia entre las dos ubicaciones, se debe utilizar el estado de HER2 del sitio metastásico para determinar el manejo [\[40\]](#) . Sin embargo, las Directrices de consenso de ABC y NCCN establecen que si alguna biopsia es positiva, las pacientes deben recibir terapia anti-HER2 [[22,39](#)]. Al igual que con ER y PR, la recomendación de medir HER2 en una lesión metastásica no está basada en evidencia. Sin embargo, al igual que ER y PR, el estado de HER2 puede variar entre un sitio primario y metastásico. Por lo tanto, en el metanálisis mencionado anteriormente [\[40\]](#) , el 13 % de los cánceres que fueron positivos en el cáncer primario resultaron ser negativos en la lesión metastásica, mientras que el 5 % que fueron negativos en la lesión primaria fueron positivos en la lesión metastásica. muestra.

•
Tal como indica el panel ASCO/CAP, la medición se puede realizar en una biopsia con aguja gruesa o en una muestra de resección quirúrgica [\[46\]](#) . Al igual que con ER/PR, si se encuentra que HER2 es negativo en la muestra de biopsia de un tumor primario, se recomienda volver a analizarlo en la muestra quirúrgica correspondiente (ya que la heterogeneidad del tumor puede haber sido responsable del hallazgo negativo en la biopsia). muestra). Los aspirados con aguja fina de cánceres primarios no deben usarse para medir HER2, ya que dichas muestras no permiten una diferenciación confiable entre malignidad invasiva e in situ.

•
No se debe realizar la medición de HER2 en CDIS .

•
Se debe realizar la medición de HER2 y definir la positividad utilizando las pautas actualizadas de ASCO/CAP [\[46\]](#) . Idealmente, se debe utilizar un ensayo aprobado (p. ej., por la FDA en los EE. UU. o que posea la marca Conformité Européenne en Europa) que utilice el ensayo IHC , ISH de campo claro o FISH.

•
Si el resultado de la prueba de HER2 sigue siendo equívoco, después de la prueba refleja con un ensayo alternativo, se debe considerar la posibilidad de analizar una muestra de tumor separada [\[46\]](#) .

•
Los niveles séricos de proteína HER2 soluble o los niveles tumorales de ARNm de HER2 no deben usarse para predecir la respuesta a la terapia anti-HER2.

8 _ HER2: recomendaciones para futuras investigaciones

•
Identificar marcadores adicionales para aumentar el valor predictivo positivo de HER2. Esto debe centrarse en pacientes HER2 positivas que no se benefician del trastuzumab u otras formas de terapia anti-HER2, así como en la identificación del pequeño número de pacientes que obtienen un beneficio a largo plazo de la terapia anti-HER2.

Identificar biomarcadores para seleccionar la forma más adecuada de terapia anti-HER2 para un paciente determinado.

Se deben identificar marcadores para seleccionar pacientes que probablemente se beneficien particularmente de las terapias duales anti-HER2, como trastuzumab combinado y [pertuzumab](#) o [lapatinib](#) en el entorno neoadyuvante o trastuzumab y pertuzumab combinados en el entorno de enfermedad avanzada. Deben confirmarse los resultados preliminares que sugieren que los niveles altos de HER2 medidos mediante un ensayo cuantitativo de HER2 (HERmark) predicen una mejor respuesta a la terapia dual anti-HER2 [\[49\]](#).

Establecer si los pacientes con puntajes equívocos deben o no recibir terapia anti-HER2. Esta pregunta podría abordarse evaluando el valor predictivo potencial de otros ensayos para HER2, como el uso de ELISA para [la proteína HER2](#) o RT-PCR para el ARNm de HER2.

Finalmente, se debe explorar el valor potencial de los biomarcadores de las mutaciones de HER2 [\[50\] para predecir la respuesta o la resistencia a terapias anti-HER2 específicas, especialmente en pacientes con cáncer lobulillar de alto grado, donde la frecuencia de mutaciones de HER2 puede alcanzar el 15-20 %](#). [\[51\]](#) , [\[52\]](#) .

9 _ Ki67

Una multiplicidad de estudios, incluida la evaluación retrospectiva de [ensayos clínicos aleatorizados](#) y metanálisis, ha demostrado que los niveles elevados de Ki67 se asocian de forma independiente con [resultados adversos](#) en pacientes con cáncer de mama (para una revisión, consulte las refs. [\[53\]](#) , [\[54\]](#) , [\[55\]](#)). En uno de los estudios más grandes, Petrelli *et al.* [\[54\]](#) realizó una revisión sistemática de la literatura seguida de un metanálisis de los estudios individuales. En total, se identificaron 41 estudios que abarcaban 64 196 pacientes. Aunque diferentes puntos de corte en el rango de 10 a >25% de [tinción celular](#) fueron investigados, se encontró que el umbral que mostraba la importancia pronóstica más fuerte para la supervivencia general era > 25 % de tinción celular (índice de riesgo, [HR] 2,05; IC 95 %, 1,7–2,5; p < 0,00001).

Se ha encontrado una relación constante entre los valores altos de Ki67 y los malos resultados en pacientes con cáncer de mama a pesar de la baja precisión entre laboratorios informada para los ensayos empleados, el uso de diferentes métodos para medir Ki67 y el uso de diferentes puntos de corte para diferenciar entre tumores con bajo y altas concentraciones de Ki67 [\[56\]](#) , [\[57\]](#) . Según Denkert *et al.* [\[58\]](#), la imprecisión se encuentra particularmente en concentraciones limítrofes o intermedias de Ki67. De hecho, estos investigadores sugirieron que la toma de decisiones clínicas no debería basarse en niveles de Ki67 en el rango límite. Sin embargo, en contraste con la poca precisión en niveles intermedios, un estudio multicéntrico realizado por el grupo de trabajo internacional Ki67 concluyó que se podía lograr un buen acuerdo entre laboratorios utilizando [biopsias con aguja gruesa](#) teñidas centralmente cuando las puntuaciones de Ki67 eran más altas o más bajas que las puntuaciones intermedias (es decir, <10 % o >20 % de tinción celular) [\[59\]](#) .

Además de someterse a evaluación para el valor pronóstico, Ki67 también se ha investigado para uso predictivo de terapia potencial, especialmente en entornos neoadyuvantes y adyuvantes. En el entorno neoadyuvante, la mayoría de los informes, pero no todos, encontraron una asociación significativa entre los niveles elevados de Ki67 y la respuesta a la quimioterapia medida por la respuesta clínica o patológica [\[58\]](#) . Sin embargo, en el entorno adyuvante, la relación entre los niveles de Ki67 y el beneficio de la quimioterapia es menos clara [\[58\]](#) . Con la terapia endocrina en el entorno neoadyuvante, varios estudios han encontrado que las alteraciones inducidas por el tratamiento en Ki67, incluso después de una terapia a corto plazo, predicen la respuesta y el resultado del paciente [\[59\]](#) , [\[60\]](#) , [\[61\]](#) , [\[62\]](#) . Hay pocos datos disponibles sobre la quimioterapia o el valor predictivo endocrino de Ki67 en el entorno metastásico.

10 _ Ki67: recomendación de la EGTM

- Aunque existen problemas metodológicos en la determinación de Ki67, debido a su valor clínico claramente establecido, amplia disponibilidad y bajo costo en relación con las firmas multianalíticas disponibles, Ki67 puede usarse en combinación con factores pronósticos establecidos para determinar el pronóstico, especialmente si los valores son bajos. ej., <10 % de tinción celular) o alta (p. ej., >25 % de tinción celular ; **LOE, IB; SOR, B** para usar un punto de corte alto). El valor de corte más alto se basa en el metanálisis discutido anteriormente [54] que concluyó que un umbral de >25 % de tinción celular se asoció con un mayor riesgo de muerte en comparación con valores más bajos. Sin embargo, el punto de corte más bajo no se deriva de la evidencia, sino que se basa en la opinión experta de los autores. Hasta que esté disponible un ensayo estandarizado, la medición de Ki67 debe cumplir con las recomendaciones publicadas anteriormente del International Ki67 in Breast Cancer Working Group [56] .

11 _ Ki67: recomendaciones para futuras investigaciones

- Mejore la variación entre laboratorios con la estandarización de ensayos.
- Establecer un punto de corte óptimo o evaluar el uso de Ki67 como variable continua.
- Establecer si son necesarios diferentes puntos de corte para el pronóstico y la predicción de la terapia.
- Evalúe el potencial del análisis de imágenes automatizado para reducir la variabilidad entre ensayos.

12 _ Prueba multigénica/multiproteica

En la última década, se han propuesto varias pruebas de analitos múltiples para predecir el resultado en pacientes con cáncer de mama invasivo primario recién diagnosticado ([Tablas 1 y 2](#)). Algunos puntos generales que se aplican a todas o a la mayoría de estas pruebas multianalito incluyen lo siguiente (para revisión, ver refs. [\[63\]](#) , [\[64\]](#) , [\[65\]](#)):

- Todos parecen proporcionar información pronóstica para la supervivencia libre de recaídas, independientemente de los factores pronósticos tradicionales , como el tamaño del tumor, el grado del tumor y el estado de los ganglios linfáticos.
- La mayoría se descubrieron y validaron en pacientes con ER positivo, HER2 negativo y ganglios linfáticos negativos de entre 40 y 65 años de edad. Oncotype DX , MammaPrint, EndoPredict y Prosigna (ver a continuación), sin embargo, también resultaron útiles para el pronóstico en pacientes con ganglios linfáticos positivos (1 a 3 ganglios metastásicos), ver a continuación.
- Hasta la fecha, solo se ha evaluado el valor clínico del activador del plasminógeno de la urocinasa (uPA)/PAI-1 [\[66,67\]](#) , Oncotype DX [\[68,69\]](#) y MammaPrint [\[70\]](#) como parte de un ensayo prospectivo aleatorizado. Prosigna [\[71\]](#) , EndoPredict ([NCT01805271](#)) y Genomic Grade Index, ([NCT01916837](#)), sin embargo, se encuentran actualmente en evaluación en dichos ensayos.
- Los resultados del ensayo prospectivo preliminar OPTIMA [\[71\]](#) sugieren que, aunque la proporción de pacientes identificados como de bajo o alto riesgo es muy similar, independientemente de la prueba que se utilice, se encontraron diferencias importantes con respecto a la clasificación de los pacientes individuales. Así, la proporción de pacientes clasificados como de riesgo bajo/intermedio fue del 82,1% para Oncotype DX, 72,0% para IHC4, 65,6% para Prosigna y 61,4% para MammaPrint [\[71\]](#) .
- La mayoría se desarrollaron y validaron en poblaciones de pacientes europeas y norteamericanas.
- Los genes más importantes en los perfiles multigénicos para predecir el resultado del paciente son los que participan en la proliferación celular .
- Actualmente no se puede recomendar ninguno para predecir la respuesta a una forma específica de quimioterapia.

- Aunque su realización es relativamente costosa, se demostró que el uso de algunas firmas multigénicas (uPA/PAI-1, Oncotype DX y MammaPrint) es rentable en pacientes con ganglios linfáticos negativos, ya que reducen el uso de quimioterapia adyuvante [72,73] . 1 , [74] , [75] .
- No está claro si el empleo rutinario de pruebas multianalito conduce a un mejor resultado para los pacientes.
- Varias pruebas multianalito están disponibles comercialmente. Estos incluyen uPA/PAI-1 (Femtelle), Oncotype DX, MammaPrint, Prosigna, EndoPredict, BCI y Genome Grade Index (MapQuant Dx). Algunas de las mejores firmas validadas se analizan a continuación.

Tabla 1 . Firmas de genes/proteínas propuestas previamente para predecir el resultado en pacientes con cáncer de mama recién diagnosticado.

Prueba	Se requiere tejido	Molécula medida	Nº de analitos	Estudiado en un ensayo prospectivo aleatorizado
uPA/PAI-1	Fresco/congelado	Proteína	2	Si y en curso
Oncotipo Dx	FFPE	ARNm	21	Si y en curso
MammaImprimir	Fresco/congelado/FFPE	ARNm	70	Si y en curso
Prosigna/PAM50	FFPE	ARNm	50 ^{un}	En curso
GGI	FFPE	ARNm	97	En curso
ICC	FFPE	ARNm	11	No
Mammostrat	FFPE	Proteína	5	No
Puntuación IHC4	FFPE	Proteína	4	No
EndoPredict	FFPE	ARNm	11	En curso
Firma de Róterdam	Fresco/congelado	ARNm	76	No
OncoMasTR	FFPE	ARNm	7	No
Mejor 95GC	FFPE	ARNm	95	No

FFPE, fijado en formalina e incluido en parafina. GGI, índice de grado genómico; BCI, Índice de Cáncer de Mama.

A Además de los 50 genes del panel PAM50, la prueba también contiene ocho genes de control para la normalización, seis controles positivos y ocho controles negativos (inserto del paquete Prosigna).

Tabla 2 . Recomendaciones para el uso de pruebas multianalito en pacientes con cáncer de mama ER-positivo, HER-negativo por diferentes paneles de expertos.

Prueba	ASCO	NCCN ^{un}	ESMO ^b	Grupo ^b de St. Gallen	EGTM ^c
uPA/PAI-1	LN-	NR	LN-, LN+	LN-, LN+	LN-
Oncotipo DX	LN-	LN-, LN+	LN-, LN+	LN-, LN+	LN-, LN+
MammaImprimir	NR	NR	LN-, LN+	LN-, LN+	LN-, LN+
Prosigna	LN-	NR	LN-, LN+	LN-, LN+	LN-, LN+

Prueba	ASCO	NCCN ^{un}	ESMO ^b	Grupo ^b de St. Gallen	EGTM ^c
EndoPredict	LN-	NR	LN-, LN+	LN-, LN+	LN-, LN+
ICC	LN-	NR	NR	LN-, LN+	LN-

LN-, ganglio linfático negativo; LN+, ganglio linfático positivo (se refiere a 1 a 3 ganglios linfáticos metastásicos); NR, no recomendado; BCI, Índice de Cáncer de Mama.

A Las pautas de NCCN analizan MammaPrint y Prosigna, pero no recomiendan específicamente ninguna de las pruebas.

B ESMO y el grupo de St. Gallen no diferencian entre enfermedad con ganglios linfáticos negativos y con ganglios linfáticos positivos.

C Las directrices de la EGTM se relacionan con los datos de este artículo.

13 _ Activador de plasminógeno de uroquinasa y PAI-1 para determinar el pronóstico y la respuesta a la terapia

Aunque no se usa ampliamente, el uPA y su inhibidor, el PAI-1, se encuentran actualmente entre los biomarcadores de pronóstico mejor validados para el cáncer de mama. De acuerdo con su capacidad para promover la progresión del cáncer, varios estudios retrospectivos y prospectivos han demostrado que las altas concentraciones de proteínas uPA y PAI-1 son predictores independientes y potentes de pronóstico adverso en pacientes con cáncer de mama invasivo recién diagnosticado [76]. Únicamente para los biomarcadores de pronóstico del cáncer de mama, el valor clínico de uPA/PAI-1 para predecir el resultado en el cáncer de mama con ganglios linfáticos negativos ha sido validado en dos estudios independientes de nivel de evidencia I (LOE I), es decir, en un estudio clínico prospectivo aleatorizado ensayo en el que la evaluación de uPA/PAI-1 fue el objetivo principal del ensayo [66], [67] y un gran análisis agrupado de datos relacionados con pacientes individuales (n = 8377) de estudios retrospectivos y prospectivos [77]. Tanto el uPA como el PAI-1 se encuentran, por lo tanto, entre los biomarcadores de pronóstico mejor validados actualmente disponibles para el cáncer de mama con ganglios linfáticos negativos. Además de ser pronóstico, también se demostró que los niveles altos de uPA y PAI-1 se asocian con el beneficio de la quimioterapia adyuvante en pacientes con cáncer de mama temprano [66], [67], [78], [79], [80], [81]. Además, además de su extensa validación clínica, la medición de uPA/PAI-1 por ELISA ha sido objeto de una validación analítica detallada [82], [83].

Actualmente, uPA y PAI-1 se están investigando más en dos ensayos prospectivos aleatorizados, es decir, en los ensayos NNBC-3 y WSG-Plan B [84,85]. El ensayo NNBC-3 compara 5-FU, epirrubicina y ciclofosfamida seguido de docetaxel con 5-FU, epirrubicina y ciclofosfamida como terapia adyuvante para pacientes con ganglios linfáticos negativos de alto riesgo ([NCT01222052](#)) [84]. En este ensayo, el riesgo de recurrencia fue determinado por criterios clinicopatológicos o por una combinación de niveles de uPA/PAI-1 y factores clinicopatológicos. A diferencia del ensayo NNBC-3, el ensayo WSG-Plan B compara una antraciclina y combinación de quimioterapia adyuvante basada en taxanos con un régimen basado en taxanos sin antraciclinas en pacientes con cáncer de mama HER2 negativo que tienen ganglios negativos o positivos de alto riesgo ([NCT01049425](#)) [85]. Este ensayo también pretende comparar el valor pronóstico y predictivo de uPA/PAI-1 con el de Oncotype DX.

14 _ uPA y PAI-1: recomendación EGTM

- Los niveles de proteína PA y PAI-1 pueden combinarse con factores establecidos para evaluar el pronóstico e identificar pacientes con cáncer de mama ER positivo, HER2 negativo y ganglios linfáticos negativos que probablemente no se beneficiarán de la quimioterapia adyuvante (LOE, IA; SOR, A).
- Para uso clínico, uPA y PAI-1 deben medirse mediante un ELISA validado (p. ej., FEMTELLE, American Diagnostica/Sekisui) utilizando extractos de tejido tumoral de mama fresco o recién congelado, ya sea de biopsia o muestra quirúrgica.
- En la actualidad, IHC o PCR no deben usarse al medir uPA o PAI-1 con fines clínicos.

15 _ uPA y PAI-1: recomendación para futuras investigaciones

• La investigación futura debe tener como objetivo establecer, validar y estandarizar un método para medir uPA y PAI-1 mediante IHC u otras técnicas que utilicen tejido tumoral fijado en formalina e incluido en parafina.

16 _ Oncotype DX para determinar el pronóstico y la respuesta al tratamiento

La prueba Oncotype DX (Genomic Health Inc, Redwood City, CA, EE. UU.) implica la medición de la expresión de 16 genes pronósticos/predictivos y cinco genes de referencia a nivel de ARNm mediante PCR con transcriptasa inversa en tejido tumoral de mama fijado en formalina e incluido en parafina [86]. Con base en los niveles de expresión relativos de estos 16 genes con respecto al nivel de expresión promedio de los cinco genes de control, se desarrolló una puntuación de recurrencia (RS) que predice el riesgo de recurrencia de la enfermedad a distancia a los 10 años para los ganglios linfáticos negativos y los ER positivos. pacientes con cáncer, que reciben tamoxifeno adyuvante. El RS, que varía continuamente de 0 a 100, se utilizó para estratificar a las pacientes recién diagnosticadas con cáncer de mama invasivo en tres grupos de resultados de riesgo diferentes, es decir, bajo riesgo de recurrencia (RS, <18; 51 % de los pacientes), riesgo intermedio de recurrencia (RS, 18–31; 22 % de los pacientes) y alto riesgo de recurrencia (RS, >31; 27 % de los pacientes) [86]. El análisis de resultados mostró que la formación de metástasis a distancia a los 10 años de seguimiento fue del 6,8 % en el grupo de bajo riesgo, del 14,3 % en el grupo de riesgo intermedio y del 31 % en el grupo de alto riesgo.

Recientemente, el valor pronóstico de un Oncotype DX RS bajo se evaluó en un estudio prospectivo realizado como parte del ensayo TAILORx (NCI-2009-00707) [68]. En este ensayo, las mujeres con enfermedad con ganglios linfáticos negativos, receptores hormonales positivos y HER negativo con un RS de ≤ 10 recibieron terapia endocrina sola, aquellas con un RS > 25 fueron tratadas con terapia endocrina y quimioterapia, mientras que aquellas con un puntuación intermedia (es decir, 11-25) fueron aleatorizadas para recibir terapia endocrina con o sin quimioterapia. De los 10 253 pacientes elegibles en el ensayo, 1626 (16 %) exhibieron un RS de <11. Después de un período de seguimiento de 5 años para este grupo de bajo riesgo, se encontró que el 93,8 % estaba libre de enfermedad invasiva y el 99,3 % estaba libre de recurrencia en un sitio distante, mientras que la supervivencia general fue del 98,0 %.

En otro ensayo prospectivo adicional (WSG Plan B) que inscribió a 3198 pacientes HER2 negativos con ganglios linfáticos positivos o enfermedad de ganglios linfáticos negativos de alto riesgo (T2, grado 2/3, uPA/PAI-1 alto o edad < 35 años), se encontró que la supervivencia libre de enfermedad a los 3 años para los pacientes con RS bajo (≤ 11) era del 98% [69]. Este excelente resultado se logró a pesar de que estos pacientes de alto riesgo no recibieron quimioterapia adyuvante. Sin embargo, el seguimiento en este ensayo fue relativamente corto, con una mediana de solo 35 meses.

Se obtuvo una confirmación adicional del impacto pronóstico de Oncotype DX en pacientes con ganglios linfáticos negativos y ganglios linfáticos positivos (1 a 3 ganglios positivos) en el estudio poblacional SEER informado recientemente [87]. En este gran estudio prospectivo, la mortalidad específica por cáncer de mama (BCSM, por sus siglas en inglés) para pacientes con ganglios negativos (n = 38 568) fue del 0,4 %, 1,4 % y 4,4 % para aquellas con RS de <18, 18–30 y 3, respectivamente (P < 0,001). Para los pacientes con enfermedad con ganglios linfáticos positivos (micrometástasis y 1 a 3 ganglios positivos; n = 4691), los BCSM correspondientes fueron 1,0 %, 2,3 % y 14,3 % (P < 0,001). Es importante señalar que, dado que este estudio no involucró un ensayo aleatorio, es posible que haya sesgos y factores de confusión. Por lo tanto, como estudio de observación, tuvo limitaciones, como un seguimiento limitado después de 5 años, probablemente un informe insuficiente del uso de quimioterapia y la ausencia de datos sobre la recurrencia. Otra deficiencia fue que no estaba claro el número de pacientes con ganglios positivos que solo tenían micrometástasis. A pesar de estas limitaciones, el estudio fue prospectivo, involucró a más de 50 000 pacientes y, lo que es más importante, fue informativo con respecto al uso de Oncotype DX en la práctica clínica. Los resultados de todos los estudios anteriores cuando se combinan, sugieren que los pacientes con ganglios negativos o ganglios positivos (1 a 3 ganglios positivos) con RS baja tienen un resultado excelente y es poco probable que obtengan un beneficio clínicamente significativo de la quimioterapia adyuvante.

El valor de Oncotype DX en la predicción de recurrencias a distancia tardías no está claro. Si bien algunos estudios concluyeron que tiene poco valor en este contexto [18], un análisis retrospectivo reciente de dos ensayos controlados aleatorios concluyó que la RS era un pronóstico para las recurrencias distantes tardías en pacientes con alta expresión de ARNm de ER [88]. Sin embargo, el riesgo de recurrencia tardía fue relativamente bajo para los pacientes con un RS bajo. Si se confirman, estos resultados podrían conducir al uso de terapia endocrina extendida en pacientes con RS intermedia y alta con ARNm de ER alto [88].

Además de su utilidad pronóstica, el análisis retrospectivo de dos ensayos aleatorizados (NSABP B-20 y SWOG-8814) sugiere que el Oncotype DX RS también se puede utilizar para identificar a los pacientes que probablemente se beneficiarán de la quimioterapia adyuvante [89,90]. En estos dos ensayos, los pacientes con un RS alto (≥ 31) se beneficiaron de la adición de quimioterapia a la terapia endocrina. Por el contrario, aquellos con un RS de ≤ 18 no se beneficiaron de la adición de quimioterapia. Sin embargo, se necesita una mayor validación de estos hallazgos por parte del grupo aleatorizado de pacientes que participan en los ensayos TAILORx [68] y RxPONDER en curso (NCT01272037).

17 _ Oncotype DX: recomendación EGTM

- Oncotype DX RS puede proporcionar valor añadido a los factores establecidos para determinar el pronóstico y ayudar en la toma de decisiones con respecto a la administración de quimioterapia adyuvante en pacientes con cáncer de mama recién diagnosticado con enfermedad invasiva con ganglios linfáticos negativos que es ER positivo pero HER2 negativo (**LOE, IB; SOR, A**). Además, se puede considerar Oncotype DX para identificar pacientes HER2 negativos, ER positivos con 1 a 3 ganglios linfáticos afectados para el tratamiento con quimioterapia adyuvante (**LOE, IB; SOR, A**).

- Antes de realizar la prueba, cualquier cavidad de biopsia en la muestra de cáncer debe eliminarse mediante disección manual.

18 _ Oncotype DX: recomendaciones para futuras investigaciones

- Dos de las preguntas más importantes relacionadas con el uso de Oncotype DX se están abordando actualmente en ensayos prospectivos aleatorizados, es decir, si los pacientes con ER positivo para ganglios linfáticos negativos y RS intermedio se benefician al agregar quimioterapia adyuvante a la terapia endocrina (ensayo TAILORx) y si los pacientes con ganglios positivos (1 a 3 ganglios positivos), pacientes con RE positivos y RS de bajo a intermedio se benefician de la quimioterapia adyuvante (ensayo RxPONDER). En el ensayo RxPONDER, las mujeres con 1 a 3 ganglios linfáticos positivos que tienen enfermedad con receptor hormonal positivo pero HER2 negativo con RS ≤ 25 se aleatorizan para recibir terapia endocrina sola o terapia endocrina más quimioterapia.

- Establecer si Oncotype DX puede predecir la respuesta a formas específicas de quimioterapia adyuvante.

19 _ MammaImprimir

El valor pronóstico de MammaPrint (también conocido como la firma de 70 genes) (Agendia, Amsterdam) para pacientes con ganglios linfáticos negativos y positivos se ha demostrado en varios ensayos retrospectivos [91], [92], [93], [94], [95], un ensayo prospectivo [96] y en un ensayo prospectivo aleatorizado [70]. Además, un estudio retrospectivo mostró que la adición de quimioterapia al tratamiento endocrino mejoró el resultado en pacientes identificados como pacientes de alto riesgo por la prueba. Por el contrario, los pacientes identificados como de bajo riesgo no se beneficiaron de la adición de quimioterapia [97].

La utilidad clínica de MammaPrint se confirmó recientemente en un ensayo prospectivo aleatorizado que involucró a 6692 pacientes con cáncer de mama recién diagnosticado con 0–3 ganglios linfáticos metastásicos (MINDACT; EORTC 10041/BIG 3-04, NCT000433589) [70]. En este ensayo, se consideró que los pacientes tenían un riesgo bajo o alto de recurrencia de la enfermedad según MammaPrint (designado G) y criterios clínico-patológicos (designado C).

Después de una mediana de seguimiento de 5 años, se encontró que la supervivencia libre de metástasis a distancia para los pacientes identificados como de alto riesgo según los criterios C pero de bajo riesgo según la prueba MammaPrint fue del 94,7 % (muy por encima de la hipótesis nula del 92%). Este hallazgo se obtuvo independientemente de si los pacientes recibieron o no quimioterapia adyuvante. En general, hubo una reducción absoluta del 14 % en el uso de quimioterapia adyuvante cuando se utilizaron los criterios G en lugar de C, para decidir la estrategia de tratamiento. Sin embargo, el uso de la prueba MammaPrint en todos los pacientes de alto riesgo clínico, según la definición de MINDACT, daría como resultado una reducción del 46 % en la administración de quimioterapia. Los resultados de este ensayo prospectivo aleatorizado mostraron claramente que el uso de la prueba MammaPrint puede alterar la práctica clínica al disminuir la frecuencia de administración de quimioterapia adyuvante a pacientes que se consideran de alto riesgo en función de los factores clínicos y patológicos tradicionales, sin perjudicar la vida a largo plazo.

20 _ MammaPrint: recomendaciones de la EGTM

- MammaPrint se puede utilizar para determinar el pronóstico y guiar la toma de decisiones con respecto a la administración de quimioterapia adyuvante en pacientes con cáncer de mama invasivo recién diagnosticado con ganglios linfáticos negativos o positivos (1 a 3 ganglios metastásicos). Los pacientes de alto riesgo según criterios clínicos y patológicos pero de bajo riesgo según MammaPrint pueden ser los candidatos para evitar tener que recibir quimioterapia adyuvante (**LOE, IA; SOR, A**).

21 _ MammaPrint: recomendación para futuras investigaciones

- Validación adicional después de un seguimiento más prolongado.
- Investigar si MammaPrint puede predecir la respuesta a formas específicas de tratamiento sistémico.

22 _ Prosigna

La prueba Prosigna (anteriormente conocida como PAM50) (NanoString Technologies Inc.) mide la expresión de 50 genes de discriminación a nivel de ARNm. Con base en la expresión relativa de estos genes, se calcula un riesgo de RS que se extiende de 0 a 100. Utilizando esta puntuación, los pacientes con ganglios negativos se clasifican como de riesgo bajo (0-40), riesgo intermedio [41], [42], [43], [44], [45], [46], [47], [48], [49], [50], [51], [52], [53], [54], [55], [56], [57], [58], [59], [60] o alto riesgo [61], [62], [63], [64], [65], [66], [67], [68], [69], [70], [71], [72], [73], [74], [75], [76], [77], [78], [79], [80], [81], [82], [83], [84], [85], [86], [87], [88], [89], [90], [91], [92], [93], [94], [95], [96], [97], [98], [99], [100]. Los pacientes con ganglios positivos se clasifican como de bajo riesgo (0-40) o alto riesgo (41-100). El impacto pronóstico de Prosigna en pacientes posmenopáusicas con ER positivo y enfermedad con ganglios linfáticos negativos o positivos tratados con terapia endocrina se ha validado en dos estudios prospectivos-retrospectivos independientes [98,99]. De manera similar, su impacto pronóstico en pacientes con ganglios linfáticos positivos tratados con quimioterapia adyuvante ha sido validado en dos ensayos prospectivos-retrospectivos [100,101]. Además, el análisis combinado de dos estudios [98], [99] confirmó el valor pronóstico independiente de Prosigna en pacientes con 1-3 ganglios linfáticos metastásicos [102]. Además, como se mencionó anteriormente, se ha informado que Prosigna predice la aparición de recurrencias tardías después de la terapia endocrina adyuvante [16]. En este estudio, se encontró que Prosigna era superior a Oncotype DX o IHC4 en la predicción de la formación de recurrencias tardías.

23 _ Prosigna: recomendación EGTM

- En combinación con factores clínicos y patológicos establecidos, Prosigna se puede utilizar para predecir el resultado y ayudar en la toma de decisiones de terapia adyuvante en pacientes con receptores hormonales positivos,

HER2 negativos que tienen ganglios linfáticos negativos o ganglios linfáticos positivos (1 a 3 pacientes metastásicos). nodos). (LOE IB; LOR, A).

24 _ Prosigna: recomendación para futuras investigaciones

- Validación en un ensayo aleatorio prospectivo. Esto está actualmente en curso como parte del ensayo OPTIMA (71, ISRCTN42400492).
- Establecer si Prosigna puede predecir el beneficio de la quimioterapia adyuvante .
- Validación adicional para predecir recurrencias tardías después de la terapia endocrina adyuvante .
- Validación adicional en pacientes premenopáusicas.

25 _ EndoPredict

La prueba EndoPredict detecta los niveles de expresión de 11 genes (ocho genes de prueba y tres genes de referencia) (Sividon Diagnostics/Myriad). Los niveles de expresión de estos genes se han combinado con el estado de los ganglios linfáticos y el tamaño del tumor para generar una puntuación de riesgo integral denominada puntuación EPclin [103]. El impacto pronóstico independiente de EndoPredict ha sido validado en varios ensayos prospectivos-retrospectivos. Estos ensayos incluyeron pacientes HER2 negativos, ER positivos tratados con terapia endocrina adyuvante [103], [104], así como pacientes HER2 negativos con ganglios linfáticos positivos que recibieron quimioterapia adyuvante [101], [105]. Además, se ha demostrado que EndoPredict identifica un subgrupo de pacientes que tienen un buen pronóstico a largo plazo después de 5 años de terapia endocrina adyuvante [17].

26 _ EndoPredict: recomendación EGTM

- En combinación con factores clínicos y patológicos establecidos, EndoPredict puede usarse para predecir el resultado y ayudar en la toma de decisiones de terapia adyuvante en pacientes con receptor hormonal positivo, HER2 negativo que tienen ganglios linfáticos negativos o positivos (1 a 3 ganglios metastásicos) . (LOE IB; SOR, A).

27 _ EndoPredict: recomendación para futuras investigaciones

- Validación en un ensayo aleatorio prospectivo. Esto está actualmente en curso como parte del ensayo UNIRAD (NCT01805271).
- Establecer si EndoPredict puede predecir el beneficio de la quimioterapia adyuvante .
- Validación adicional para predecir recurrencias tardías después de la terapia endocrina adyuvante .
- Validación adicional en pacientes premenopáusicas.

28 _ Índice de cáncer de mama

La prueba del índice de cáncer de mama (BCI; bioTheranostics, San Diego, California) mide la expresión de 11 genes (7 genes de prueba más 4 genes de referencia) [106]. La prueba se desarrolló a partir de la combinación algorítmica de dos pruebas de biomarcadores previamente identificadas, es decir, la relación HOXB13 :IL17BR y el índice de grado molecular. La mayoría de los genes de prueba medidos en BCI están implicados en la proliferación o la señalización de estrógenos [106]. Varios ensayos prospectivos-retrospectivos han demostrado un valor pronóstico

para BCI para detectar recurrencias tempranas y tardías en pacientes con ER positivo, HER2 negativo y ganglios linfáticos negativos tratados con terapia endocrina adyuvante [18] , [19] , [107] , [108]. Por lo tanto, la BCI puede ser valiosa para la identificación de pacientes con ganglios linfáticos negativos para ER que pueden no requerir terapia endocrina prolongada después de 5 años de tratamiento. De hecho, se encontró que la prueba BCI era superior a Oncotype DX o IHC4 en la predicción de la recurrencia tardía cuando se compararon las tres pruebas para el seguimiento a largo plazo en el mismo ensayo [18] . Sin embargo, hasta la fecha, el valor pronóstico de BCI para predecir recurrencias tardías no se ha comparado directamente con EndoPredict o MammaPrint.

29 _ BCI: recomendación de la EGTM

- En combinación con factores clínicos y patológicos establecidos, la BCI se puede utilizar para predecir el resultado y ayudar en la toma de decisiones sobre la terapia adyuvante en pacientes con ganglios linfáticos negativos, receptores de hormonas positivos y HER2 negativos. **(LOE IB; LOR, A).**

30 _ BCI: recomendación para futuras investigaciones

- Validación en pacientes con enfermedad con ganglios linfáticos positivos.
- Validación en un ensayo aleatorio prospectivo.
- Validación adicional para predecir recurrencias tardías después de la terapia endocrina adyuvante [109,110] .

31 _ Concordancia y discordancia en las guías publicadas sobre biomarcadores de cáncer de mama

Además de ER, PR y HER2, que cuentan con respaldo universal, las recomendaciones para el uso clínico de otros biomarcadores de cáncer de mama varían, según el panel de expertos específico. Las razones probables de estas variaciones incluyen diferentes interpretaciones de los datos publicados, diferentes sistemas de calificación de los datos publicados utilizados para hacer recomendaciones, diferentes criterios de inclusión y exclusión utilizados en la revisión de la literatura y el momento de la revisión de la literatura, por ejemplo, los nuevos hallazgos pueden volver obsoleta una recomendación publicada anteriormente.

De los biomarcadores discutidos en este artículo, quizás el mayor desacuerdo entre los diferentes paneles de expertos existe para la medición de Ki67. Tanto ASCO [111] como NCCN [22] se oponen al uso de este biomarcador debido a problemas analíticos con su medición y falta de estandarización. En cambio, tanto la ESMO como el St. Gallen Consensus Panel recomiendan su medición en situaciones específicas [23] , [24] . Aunque existen problemas analíticos con los ensayos Ki67 actuales (ver arriba), debido a su amplia disponibilidad y bajo costo, el panel de la EGTM recomienda con cautela su medición, especialmente en países en los que no están disponibles las pruebas multianálisis más costosas.

Además de Ki67, las pautas sobre el uso de algunas pruebas multianálisis también tienden a variar según el panel de expertos (Tabla 2). Por lo tanto, las directrices de la ASCO publicadas recientemente se opusieron al uso de MammaPrint [109] . Sin embargo, desde la publicación de estas guías, Cardoso *et al.* [70] informaron los resultados del punto final primario del ensayo aleatorio prospectivo MINDACT (ver arriba). Sobre la base de este estudio LOE IA, el panel de la EGTM afirma que MammaPrint se puede utilizar para determinar el pronóstico y ayudar en la toma de decisiones clínicas con respecto a la administración de quimioterapia adyuvante en pacientes con 0-3 ganglios linfáticos metastásicos .

Del mismo modo, según los resultados publicados recientemente [69] que no estaban disponibles para el panel de la ASCO, el panel de la EGTM recomienda el uso de Oncotype DX en pacientes con ganglios linfáticos positivos (1 a 3 ganglios afectados). Otras pruebas multianálisis para las que existe desacuerdo sobre su uso clínico incluyen Prosigna y EndoPredict en pacientes con ganglios positivos. Al igual que con Oncotype DX, el panel ASCO se opuso al uso de estas pruebas en pacientes con ganglios positivos [108] . Por el contrario, tanto la ESMO como el panel de St. Gallen recomendaron su uso, pero ninguno de los paneles fue específico en cuanto al estado de los ganglios linfáticos de los pacientes [23] , [24]. En base a que tanto Prosigna como EndoPredict han sido validados en al menos

dos ensayos retrospectivos-prospectivos que también involucraron de uno a tres pacientes con ganglios linfáticos positivos (ver arriba), el panel EGTM recomienda el uso de estas pruebas en este subgrupo de pacientes.

32 _ Conclusión

A pesar de la inversión masiva de tiempo y dinero en el desarrollo de nuevos biomarcadores de cáncer de mama , todavía hay solo tres que son obligatorios para todas las pacientes con cáncer de mama diagnosticado, es decir, ER y PR para predecir el beneficio de la terapia endocrina y HER2 para predecir el beneficio. de la terapia anti-HER2. Además de estos biomarcadores obligatorios, se pueden realizar pruebas multianalito, como uPA/PAI-1, Oncotype DX , MammaPrint, Prosigna, EndoPredict o BCI, en subgrupos específicos de pacientes con cáncer de mama ([Tabla 3](#)).

Tabla 3 . Directrices sobre el uso de biomarcadores en pacientes con cáncer de mama invasivo. recomendaciones de la EGTM. BCI, Índice de Cáncer de Mama; LOE, (nivel de evidencia) basado en Ref. [\[6\]](#) SOR (fuerza de la recomendación) basado en la Ref. [\[7\]](#) .

biomarcador	Recomendación	LOE	SOR
Urgencias	Para predecir la respuesta a la terapia endocrina en pacientes con cáncer de mama temprano o avanzado. Obligatorio en todos los pacientes.	I A	A
relaciones públicas	En combinación con ER para predecir la respuesta a la terapia endocrina en pacientes con cáncer de mama temprano o avanzado. Obligatorio en todos los pacientes.	BI	A/B
HER2	Para predecir la respuesta a la terapia anti-HER2 en pacientes con cáncer de mama temprano o avanzado. Obligatorio en todos los pacientes.	I A	A
Ki67	En combinación con factores clínicos y patológicos establecidos para determinar el pronóstico en pacientes con cáncer de mama invasivo recién diagnosticado, especialmente si los valores son bajos o altos.	BI	A/B
uPA/PAI-1	Para determinar el pronóstico y ayudar en la toma de decisiones para la administración de quimioterapia adyuvante a pacientes con enfermedad con ER positivo, HER2 negativo y ganglios linfáticos negativos.	I A	A
Oncotipo DX	Para determinar el pronóstico y ayudar en la toma de decisiones para la administración de quimioterapia adyuvante en pacientes con enfermedad linfática, ganglios linfáticos negativos y ganglios linfáticos positivos (1 a 3 ganglios) HER2 negativos para RE positivos.	BI	A
Mammalmpimir	Para determinar el pronóstico y ayudar en la toma de decisiones para la administración de quimioterapia adyuvante a pacientes con enfermedad con ER positivo, HER2 negativo, ganglios linfáticos negativos y ganglios linfáticos positivos (1 a 3 ganglios).	I A	A
Prosigna	Para determinar el pronóstico y ayudar en la toma de decisiones para la administración de quimioterapia adyuvante a pacientes con enfermedad ER positiva, HER2 negativa, ganglios linfáticos negativos y ganglios linfáticos positivos (1 a 3 ganglios).	BI	A
EndoPredict	Para determinar el pronóstico y ayudar en la toma de decisiones para la administración de quimioterapia adyuvante a pacientes con enfermedad de ganglios linfáticos positivos y ganglios linfáticos negativos para HER2 positivos para ER (1 a 3 ganglios).	BI	A
ICC	Para determinar el pronóstico y ayudar en la toma de decisiones para la administración de quimioterapia adyuvante en pacientes con	BI	A

biomarcador	Recomendación	LOE SOR
	enfermedad con ER positivo, HER2 negativo y ganglios linfáticos negativos.	

Para los laboratorios que miden biomarcadores de cáncer de mama para uso clínico, es esencial usar pruebas validadas analítica y clínicamente, realizar controles de calidad internos regulares, tener criterios de aceptación y rechazo de ensayos establecidos, participar en programas externos de garantía de calidad y estar acreditados por una organización apropiada (por ejemplo, basado en los criterios ISO 15189 o CLIA en los EE. UU.). La garantía de calidad externa debe incluir la interpretación clínica de los resultados y la evaluación de la variación entre laboratorios. Por último, se recomienda que los laboratorios lleven a cabo auditorías técnicas y clínicas de forma continua y regular para establecer que los ensayos de biomarcadores funcionan según lo esperado y se utilizan en el entorno previsto originalmente [112].

Traducción y Adaptación: Dra. Patricia Cingolani

Fuente: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959804917300758>

[https://www.ejcancer.com/article/S0959-8049\(17\)30075-8/fulltext](https://www.ejcancer.com/article/S0959-8049(17)30075-8/fulltext)

Papel de la fuente de financiación

Las fuentes de financiación no participaron en la redacción de este manuscrito.

Declaracion de conflicto de interes

MJD es asesor clínico de OncoMark y Atturos. NH ha informado honorarios por conferencias o consultoría de Amgen, Celgene, Genomic Health, Nanostring, Novartis, Pfizer y Roche. ES ha informado honorarios o tarifas de consulta de: AstraZeneca, Celgene, Novartis, Pfizer, Roche y gastos de viaje de: AstraZeneca, Egis, Novartis, Roche. FC ha informado sobre la participación en el consejo asesor de Astellas/Medivation, AstraZeneca, Celgene, Daiichi-Sankyo, Eisai, GE Oncology, Genentech, GlaxoSmithKline, Merck-Sharp, Merus BV, Novartis, Pfizer, Pierre-Fabre, Roche, Sanofi y Teva. MN, RM y AN no reportan conflicto de intereses. MJD, MN, RM y AN son miembros de la EGTM. NH, ES y FC son autores invitados.

Descargo de responsabilidad

El cumplimiento de estas pautas es voluntario, ya que la decisión final sobre el uso de biomarcadores debe tomarla el médico tratante. También es importante tener en cuenta que las presentes directrices están destinadas al uso clínico habitual y no se aplican necesariamente a los ensayos clínicos, que pueden tener un cometido diferente.

Agradecimientos

MJD desea agradecer a Science Foundation Ireland , al Premio del Clúster de Investigación Estratégica ([08/SRC/B1410](#)) a Molecular Therapeutics for Cancer Ireland (MTCI), al programa BREAST-PREDICT ([CCRC13GAL](#)) de la Irish Cancer Society y al Clinical Cancer Research Trust por la financiación . su trabajo.

Referencias

1.
 - Molina R.
 - Barak V.
 - van Dalen A.
 - Duffy M.J.
 - Einarsson R.
 - Gion M.

- et al.

Tumor markers in breast cancer: European Group of Tumor Markers (EGTM) recommendations.

Tumor Biol. 2005; **26**: 281-293

2.

- Duffy M.J.
- Lamerz R.
- Haglund C.
- Nicolini A.
- Kalousová M.
- Holubec L.
- et al.

Tumor markers in colorectal cancer, gastric cancer and gastrointestinal stromal cancers: European group on tumor markers 2014 guidelines update.

Int J Cancer. 2013; **134**: 2513-2522

3.

- Sturgeon C.M.
- Duffy M.J.
- Stenman U.H.
- Lilja H.
- Brünner N.
- Chan D.W.
- et al.
- National Academy of Clinical Biochemistry

National academy of clinical biochemistry laboratory medicine practice guidelines for use of tumor markers in testicular, prostate, colorectal, breast, and ovarian cancers.

Clin Chem. 2008; **54**: e11-79

4.

- Sturgeon C.M.
- Duffy M.J.
- Hofmann B.R.
- Lamerz R.
- Fritsche H.A.
- Gaarenstroom K.
- et al.
- National Academy of Clinical Biochemistry

National academy of clinical biochemistry laboratory medicine practice guidelines for use of tumor markers in liver, bladder, cervical, and gastric cancers.

Clin Chem. 2010; **56**: e1-48

5.

- Hayes D.F.
- Bast R.C.
- Desch C.E.
- Fritsche Jr., H.
- Kemeny N.E.
- Jessup J.M.
- et al.

Tumor marker utility grading system: a framework to evaluate clinical utility of tumor markers.

J Natl Cancer Inst. 1996; **88**: 1456-1466

6.

- Simon R.M.
- Paik S.
- Hayes D.F.

Use of archived specimens in evaluation of prognostic and predictive biomarkers.

7.

- Atkins D.
- Best D.
- Briss P.A.
- Eccles M.
- Falck-Ytter Y.
- Flottorp S.
- et al.

Grading quality of evidence and strength of recommendations.

Br Med J. 2004; **328**: 1490

8.

- Colleoni M.
- Montagna E.

Neoadjuvant therapy for ER-positive breast cancers.

Ann Oncol. 2012; **23** (x243–8)

9.

- Davies C.
- Godwin J.
- Gray R.
- Clarke M.
- Cutter D.
- Darby S.
- et al.
- Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG)

Relevance of breast cancer hormone receptors and other factors to the efficacy of adjuvant tamoxifen: patient-level meta-analysis of randomised trials.

Lancet. 2011; **378**: 771-784

10.

- McGuire W.L.
- Carbone P.P.
- Sears M.E.
- Escher G.C.

Estrogen receptors in human breast cancer: an overview.

in: McGuire W.L. Carbone P.P. Vollner E.P. Estrogen receptors in human breast cancer. Raven Press, New York 1975: 1-8

11.

- Rugo H.S.
- Rumble R.B.
- Macrae E.
- Barton D.L.
- Connolly H.K.
- Dickler M.N.
- et al.

Endocrine therapy for hormone receptor-positive metastatic breast cancer: American Society of Clinical Oncology Guideline.

J Clin Oncol. 2016; **34**: 3069-3103

12.

- Ravdin P.M.
- Green S.
- Dorr T.M.
- McGuire W.L.
- Fabian C.

- Pugh R.P.
- et al.

Prognostic significance of progesterone receptor levels in estrogen receptor-positive patients with metastatic breast cancer treated with tamoxifen: results of a prospective Southwest Oncology Group study.

J Clin Oncol. 1992; **10**: 1284-1291

13.

- Elledge R.M.
- Green S.
- Pugh R.
- Allred D.C.
- Clark G.M.
- Hill J.
- et al.

Estrogen receptor (ER) and progesterone receptor (PgR), by ligand-binding assay compared with ER, PgR and pS2, by immuno-histochemistry in predicting response to tamoxifen in metastatic breast cancer: a Southwest Oncology Group Study.

Int J Cancer. 2000; **89**: 111-117

14.

- Davies C.
- Pan H.
- Godwin J.
- Gray R.
- Arriagada R.
- Raina V.
- et al.
- for the Adjuvant Tamoxifen: Longer Against Shorter (ATLAS) Collaborative Group

Long-term effects of continuing adjuvant tamoxifen to 10 years versus stopping at 5 years after diagnosis of oestrogen receptor-positive breast cancer: ATLAS, a randomised trial.

Lancet. 2013; **38** (Erratum in: *Lancet* 2013;381:804): 805-816

15.

- Goss P.E.
- Ingle J.N.
- Pritchard K.I.
- Robert N.J.
- Muss H.
- Galow J.
- et al.

Extending aromatase-inhibitor adjuvant therapy to 10 years.

N Engl J Med. 2016; **375**: 209-219

16.

- Sestak I.
- Cuzick J.
- Dowsett M.
- Lopez-Knowles E.
- Filipits M.
- Dubsy P.
- et al.

Prediction of late distant recurrence after 5 years of endocrine treatment: a combined analysis of patients from the Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group 8 and arimidex, tamoxifen alone or in combination randomized trials using the PAM50 risk of recurrence score.

J Clin Oncol. 2015; **33**: 916-922

17.

- Dubsy P.
- Brase J.C.
- Jakesz R.
- Rudas M.
- Singer C.F.
- Greil R.
- et al.
- Study Group (ABCSCG)

The EndoPredict score provides prognostic information on late distant metastases in ER+/HER2- breast cancer patients.

Br J Cancer. 2013; **109**: 2959-2964

18.

- Sgroi D.C.
- Sestak I.
- Cuzick J.
- Zhang Y.
- Schnabel C.A.
- Schroeder B.
- et al.

Prediction of late distant recurrence in patients with oestrogen-receptor-positive breast cancer: a prospective comparison of the breast-cancer index (BCI) assay, 21-gene recurrence score, and IHC4 in the TransATAC study population.

Lancet Oncol. 2013; **14**: 1067-1076

19.

- Sgroi D.C.
- Carney E.
- Zarrella E.
- Steffel L.
- Binns S.N.
- Finkelstein D.M.
- et al.

Prediction of late disease recurrence and extended adjuvant letrozole benefit by the HOXB13/IL17BR biomarker.

J Natl Cancer Inst. 2013; **105**: 1036-1042

20.

- Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG)

Aromatase inhibitors versus tamoxifen in early breast cancer: patient-level meta-analysis of the randomised trials.

Lancet. 2015; **386**: 1341-1352

21.

- Burstein H.J.
- Temin S.
- Anderson H.
- Buchholz T.A.
- Davidson N.E.
- Gelmon K.E.
- et al.

Adjuvant endocrine therapy for women with hormone receptor-positive breast cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline focused update.

J Clin Oncol. 2014; **32**: 2255-2269

22. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology; Breast cancer, version 2.16. http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/breast.pdf.

23.

- Senkus E.
- Kyriakides S.
- Ohno S.
- Penault-Llorca F.
- Poortmans P.
- Rutgers E.
- et al.

**Primary breast cancer: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up
ESMO Guidelines Committee.**

Ann Oncol. 2015; **26**: v8-v30

24.

- Coates A.S.
- Winer E.P.
- Goldhirsch A.
- Gelber R.D.
- Gnant M.
- Piccart-Gebhart M.
- et al.
- Panel Members

Tailoring therapies-improving the management of early breast cancer: St Gallen international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2015.

Ann Oncol. 2015; **26**: 1533-1546

25.

- Francis P.A.
- Regan M.M.
- Fleming G.F.
- Láng I.
- Ciruelos E.
- Bellet M.
- et al.
- SOFT Investigators; International Breast Cancer Study Group

Adjuvant ovarian suppression in premenopausal breast cancer.

N Engl J Med. 2015; **372**: 436-446

26.

- Pagni O.
- Regan M.M.
- Walley B.A.
- Fleming G.F.
- Colleoni M.
- Láng I.
- et al.
- TEXT and SOFT Investigators; International Breast Cancer Study Group

Adjuvant exemestane with ovarian suppression in premenopausal breast cancer.

N Engl J Med. 2014; **371**: 107-118

27.

- Burstein H.J.
- Lacchetti C.
- Anderson H.
- Buchholz T.A.
- Davidson N.E.
- Gelmon K.E.
- et al.

Adjuvant endocrine therapy for women with hormone receptor-positive breast cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Update on Ovarian Suppression.

J Clin Oncol. 2016; **34**: 1689-1701

28.

- Khoshnoud M.R.
- Fornander T.
- Johansson H.
- Rutqvist L.E.

Long-term pattern of disease recurrence among patients with early-stage breast cancer according to estrogen receptor status and use of adjuvant tamoxifen.

Breast Cancer Res Treat. 2008; **107**: 71-78

29.

- Barnes D.M.
- Millis R.R.
- Gillett C.E.
- Ryder K.
- Skilton D.
- Fentiman I.S.
- et al.

The interaction of oestrogen receptor status and pathological features with adjuvant treatment in relation to survival in patients with operable breast cancer: a retrospective study of 2660 patients.

Endocr Rel Cancer. 2004; **11**: 85-96

30.

- Ouyang Y.
- Li D.
- Pater J.L.
- Levine M.

The importance of temporal effects in evaluating the prognostic impact of joint ERPR expression in premenopausal women with node-positive breast cancer.

Breast Cancer Res Treat. 2005; **92**: 115-123

31.

- Bardou V.J.
- Arpino G.
- Elledge R.M.
- Osborne C.K.
- Clark G.M.

Progesterone receptor status significantly improves outcome prediction over estrogen receptor status alone for adjuvant endocrine therapy in 2 large breast cancer databases.

J Clin Oncol. 2003; **21**: 1973-1979

32.

- Stendahl M.
- Rydén L.
- Nordenskjöld B.
- Jönsson P.E.
- Landberg G.
- Jirström K.

High progesterone receptor expression correlates to the effect of adjuvant tamoxifen in premenopausal breast cancer patients.

Clin Cancer Res. 2006; **12**: 4614-4618

33.

- Hopp T.A.
- Weiss H.L.
- Hilsenbeck S.G.
- Cui Y.
- Allred D.C.
- Horwitz K.B.
- et al.

Breast cancer patients with progesterone receptor PR-A rich tumors have poorer disease-free survival rates.

Clin Cancer Res. 2004; **10**: 2751-2760

34.

- Van Belle V.
- Van Calster B.
- Brouckaert O.
- Vanden Bempt I.
- Pintens S.
- Harvey V.
- et al.

Qualitative assessment of the progesterone receptor and HER2 improves the Nottingham Prognostic Index up to 5 years after breast cancer diagnosis.

J Clin Oncol. 2010; **28**: 4129-4134

35.

- Salmen J.
- Neugebauer J.
- Fasching P.A.
- Haeberle L.
- Huober J.
- Wöckel A.
- et al.

Pooled analysis of the prognostic relevance of progesterone receptor status in five German cohort studies.

Breast Cancer Res Treat. 2014; **148**: 143-151

36.

- Hammond M.E.
- Hayes D.F.
- Dowsett M.
- Allred D.C.
- Hagerty K.L.
- Badve S.
- et al.

American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer.

J Clin Oncol. 2010; **28** (Review. Erratum in: *J Clin Oncol* 2010;28:3543): 2784-2795

37.

- Chen X.
- Yuan Y.
- Gu Z.
- Shen K.

Accuracy of estrogen receptor, progesterone receptor, and HER2 status between core needle and open excision biopsy in breast cancer: a meta-analysis.

Breast Cancer Res Treat. 2012; **134**: 957-967

38.

- Van Poznak C.
- Somerfield M.R.
- Bast R.C.
- Cristofanilli M.
- Goetz M.P.
- Gonzalez-Angulo A.M.
- et al.

Use of biomarkers to guide decisions on systemic therapy for women with metastatic breast cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline.

39.

- Cardoso F.
- Costa A.
- Norton L.
- Senkus E.
- Aapro M.
- André F.
- et al.

ESO-ESMO 2nd international consensus guidelines for advanced breast cancer (ABC2).

Ann Oncol. 2014; **25**: 1871-1888

40.

- Aurilio G.
- Disalvatore D.
- Pruneri G.
- Bagnardi V.
- Viale G.
- Curigliano G.
- et al.

A meta-analysis of oestrogen receptor, progesterone receptor and human epidermal growth factor receptor 2 discordance between primary breast cancer and metastases.

Eur J Cancer. 2014; **50**: 277-289

41.

- Yi M.
- Huo L.
- Koenig K.B.
- Mittendorf E.A.
- Meric-Bernstam F.
- Kuerer H.M.
- et al.

Which threshold for ER positivity? A retrospective study based on 9639 patients.

Ann Oncol. 2014; **25**: 1004-1011

42.

- Tan W.
- Li Q.
- Chen K.
- Su F.
- Song E.
- Gong C.

Estrogen receptor beta as a prognostic factor in breast cancer patients: a systematic review and meta-analysis.

Oncotarget. 2016; **7**: 10373-10385

43.

- Jeselsohn R.
- Buchwalter G.
- De Angelis C.
- Brown M.
- Schiff R.

ESR1 mutations-a mechanism for acquired endocrine resistance in breast cancer.

Nat Rev Clin Oncol. 2015; **12**: 573-583

44.

- Eroglu Z.
- Tagawa T.

- Somlo G.

Human epidermal growth factor receptor (HER) family-targeted therapies in the treatment of HER2-overexpressing breast cancer.

Oncologist. 2014; **19**: 135-150

45.

- Giordano S.H.
- Temin S.
- Kirshner J.J.
- Chandarlapaty S.
- Crews J.R.
- Davidson N.E.
- et al.

American Society of Clinical Oncology. Systemic therapy for patients with advanced human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline.

J Clin Oncol. 2014; **32**: 2078-2099

46.

- Wolff A.C.
- Hammond M.E.
- Hicks D.G.
- Dowsett M.
- McShane L.M.
- Allison K.H.
- et al.
- American Society of Clinical Oncology; College of American Pathologists

Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guidelines update.

J Clin Oncol. 2013; **31**: 3997-4013

47.

- Rakha E.A.
- Pinder S.E.
- Bartlett J.M.
- Ibrahim M.
- Starczynski J.
- Carder P.J.
- et al.
- National Coordinating Committee for Breast Pathology

Updated UK recommendations for HER2 assessment in breast cancer.

J Clin Pathol. 2015; **68**: 93-99

48.

- Bilous M.
- Dowsett M.
- Hanna W.
- Isola J.
- Lebeau A.
- Moreno A.
- et al.

Current perspectives on HER2 testing: a review of national testing guidelines.

Mod Pathol. 2003; **16** (Review): 173-182

49.

- Scaltriti M.
- Nuciforo P.
- Bradbury I.
- Sperinde J.

- Agbor-Tarh D.
- Campbell C.
- et al.

High HER2 expression correlates with response to the combination of lapatinib and trastuzumab.
Clin Cancer Res. 2015; **21**: 569-576

50.

- Bose R.
- Kavuri S.M.
- Searleman A.C.
- Shen W.
- Shen D.
- Koboldt D.C.
- et al.

Activating HER2 mutations in HER2 gene amplification negative breast cancer.
Cancer Discov. 2013; **3**: 224-237

51.

- Lien H.C.
- Chen Y.L.
- Juang Y.L.
- Jeng Y.M.

Frequent alterations of HER2 through mutation, amplification, or overexpression in pleomorphic lobular carcinoma of the breast.
Breast Cancer Res Treat. 2015; **150**: 447-455

52.

- Zuo W.J.
- Jiang Y.Z.
- Wang Y.J.
- Xu X.E.
- Hu X.
- Liu G.Y.
- et al.

Dual characteristics of novel HER2 kinase domain mutations in response to HER2-targeted therapies in human breast cancer.
Clin Cancer Res. 2016; **22**: 4859-4869

53.

- de Azambuja E.
- Cardoso F.
- de Castro Jr., G.
- Colozza M.
- Mano M.S.
- Durbecq V.
- et al.

Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12,155 patients.
Br J Cancer. 2007; **96**: 1504-1513

54.

- Petrelli F.
- Viale G.
- Cabiddu M.
- Barni S.

Prognostic value of different cut-off levels of Ki-67 in breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 64,196 patients.
Breast Cancer Res Treat. 2015; **153**: 477-491

55.

- Yerushalmi R.
- Woods R.
- Ravdin P.M.
- Hayes M.M.
- Gelmon K.A.

Ki67 in breast cancer: prognostic and predictive potential.

Lancet Oncol. 2010; **11** (Review): 174-183

56.

- Dowsett M.
- Nielsen T.O.
- A'hern R.
- Bartlett J.
- Coombes R.C.
- Cuzick J.
- et al.

Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the international Ki67 in breast cancer working group.

J Natl Cancer Inst. 2011; **103**: 1656-1664

57.

- Polley M.Y.
- Leung S.C.
- Gao D.
- Mastropasqua M.G.
- Zabaglo L.A.
- Bartlett J.M.
- et al.

An international study to increase concordance in Ki67 scoring.

Mod Pathol. 2015; **28**: 778-786

58.

- Denkert C.
- Budczies J.
- von Minckwitz G.
- Wienert S.
- Loibl S.
- Klauschen F.

Strategies for developing Ki67 as a useful biomarker in breast cancer.

Breast. 2015; **24**: S67-S72

59.

- Leung S.C.Y.
- Nielsen T.O.
- Zabaglo L.
- Arun I.
- Badve S.S.
- Bane A.L.
- et al.

Analytical validation of a standardized scoring protocol for Ki67: phase 3 of an international multicenter collaboration.

NPJ Breast Cancer. 2016; **2**: 16014

60.

- Dowsett M.
- Ebbs S.R.
- Dixon J.M.
- Skene A.

- Griffith C.
- Boeddinghaus I.
- et al.

Biomarker changes during neoadjuvant anastrozole, tamoxifen, or the combination: influence of hormonal status and HER-2 in breast cancer—a study from the IMPACT trialists.

J Clin Oncol. 2005; **23**: 2477-2492

61.

- Ellis M.J.
- Tao Y.
- Luo J.
- A'Hern R.
- Evans D.B.
- Bhatnagar A.S.
- et al.

Outcome prediction for estrogen receptor-positive breast cancer based on postneoadjuvant endocrine therapy tumor characteristics.

J Natl Cancer Inst. 2008; **100**: 1380-1388

62.

- Dowsett M.
- Smith I.E.
- Ebbs S.R.
- Dixon J.M.
- Skene A.
- A'Hern R.
- et al.
- IMPACT Trialists Group

Prognostic value of Ki67 expression after short-term presurgical endocrine therapy for primary breast cancer.

J Natl Cancer Inst. 2007; **99**: 167-170

63.

- Cobain E.F.
- Hayes D.F.

Indications for prognostic gene expression profiling in early breast cancer.

Curr Treat Options Oncol. 2015; **16**: 23 <https://doi.org/10.1007/s11864-015-0340-x>

64.

- Paik S.

Is gene array testing to be considered routine now?.

Breast. 2011; **20**: S87-S91

65.

- Györfy B.
- Hatzis C.
- Sanft T.
- Hofstätter E.
- Aktas B.
- Pusztai L.

Multigene prognostic tests in breast cancer: past, present, future.

Breast Cancer Res. 2015; **17**: 11 <https://doi.org/10.1186/s13058-015-0514-2>

66.

- Janicke F.
- Pechtl A.
- Thomssen C.
- Harbeck N.

- Meisner C.
- Untch M.
- et al.
- For the German Chemo No Study Group

Randomized adjuvant chemotherapy trial in high-risk node-negative breast cancer patients identified by urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1.

J Natl Cancer Inst. 2001; **93**: 913-992

67.

- Harbeck N.
- Schmitt M.
- Meisner C.
- Friedel C.
- Untch M.
- Schmidt M.
- et al.

Ten-year analysis of the prospective multicenter Chemo-N0 trial validates American Society of Clinical Oncology (ASCO)-recommended biomarkers uPA and PAI-1 for therapy decision making in node-negative breast cancer patients.

Eur J Cancer. 2013; **49**: 1825-1835

68.

- Sparano J.A.
- Gray R.J.
- Makower D.F.
- Pritchard K.I.
- Albain K.S.
- Hayes D.F.
- et al.

Prospective validation of a 21-gene expression assay in breast cancer.

N Engl J Med. 2015; **373**: 2005-2014

69.

- Gluz O.
- Nitz U.
- Christgen M.
- Kates R.E.
- Shak S.
- Clemens M.
- et al.

The WSG 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. 2016; **34**: 2341-2349

70.

- Cardoso F.
- van't Veer L.J.
- Bogaert J.
- Slaets L.
- Viale G.
- Delalog S.
- et al.
- on behalf of the European Commission supported TRANSBIG consortium and MINDACT investigators

The 70-gene signature as an aid to treatment decisions in early breast cancer.

N Engl Med. 2016; **375**: 717-729

71.

- Bartlett J.M.
- Bayani J.

- Marshall A.
- Dunn J.A.
- Campbell A.
- Cunningham C.
- et al.
- OPTIMA TMG

Comparing breast cancer multiparameter tests in the OPTIMA prelim trial: no test is more equal than the others.

J Natl Cancer Inst. 2016; **108** (pii: djw050)<https://doi.org/10.1093/jnci/djw050>

72.

- Retèl V.P.
- Joore M.A.
- Drukker C.A.
- Bueno-de-Mesquita J.M.
- Knauer M.
- van Tinteren H.
- et al.

Prospective cost-effectiveness analysis of genomic profiling in breast cancer.

Eur J Cancer. 2013; **49**: 3773-3779

73.

- Seguí M.Á.
- Crespo C.
- Cortés J.
- Lluch A.
- Brosa M.
- Becerra V.
- et al.

Genomic profile of breast cancer: cost-effectiveness analysis from the Spanish National Healthcare System perspective.

Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res. 2014; **14**: 889-899

74.

- Jacobs V.R.
- Kates R.E.
- Kantelhardt E.
- Vetter M.
- Wuerstlein R.
- Fischer T.
- et al.

Health economic impact of risk group selection according to ASCO-recommended biomarkers uPA/PAI-1 in node-negative primary breast cancer.

Breast Cancer Res Treat. 2013; **138**: 839-850

75.

- Rouzier R.
- Pronzato P.
- Chéreau E.
- Carlson J.
- Hunt B.
- Valentine W.J.

Multigene assays and molecular markers in breast cancer: systematic review of health economic analyses.

Breast Cancer Res Treat. 2013; **139**: 621-637

76.

- Duffy M.J.
- McGowan P.M.

- Harbeck N.
- Thomssen C.
- Schmitt M.

uPA and PAI-1 as biomarkers in breast cancer: validated for clinical use in Level-of-Evidence-1 studies.

Breast Cancer Res. 2014; **16**: 428-438

77.

- Look M.P.
- van Putten W.L.J.
- Duffy M.J.
- Harbeck N.
- Christensen I.J.
- Thomssen C.
- et al.

Pooled analysis of prognostic impact of tumor biological factors uPA and PAI-1 in 8377 breast cancer patients.

J Natl Cancer Inst. 2002; **94**: 116-128

78.

- Harbeck N.
- Kates R.E.
- Look M.P.
- Meijer-Van Gelder M.E.
- Klijn J.G.
- Krüger A.
- et al.

Enhanced benefit from adjuvant chemotherapy in breast cancer patients classified high-risk according to urokinase-type plasminogen activator (uPA) and plasminogen activator inhibitor type 1 (n = 3424).

Cancer Res. 2002; **62**: 4617-4622

79.

- Manders P.
- Tjan-Heijnen V.C.
- Span P.N.
- Grebenchtchikov N.
- Foekens J.A.
- Beex L.V.
- et al.

Predictive impact of urokinase-type plasminogen activator: plasminogen activator inhibitor type-1 complex on the efficacy of adjuvant systemic therapy in primary breast cancer.

Cancer Res. 2004; **64**: 659-664

80.

- Borstnar S.
- Sadikov A.
- Mozina B.
- Cufer T.

High levels of uPA and PAI-1 predict a good response to anthracyclines.

Breast Cancer Res Treat. 2010; **121**: 615-624

81.

- Harbeck N.
- Kates R.E.
- Look M.P.
- Foekens J.A.
- on behalf of the pooled analysis study of the EORTC Receptor and Biomarker Group (RBG)

Pooled analysis (n = 8377) evaluates predictive impact of uPA and PAI-1 for response to adjuvant therapy in breast cancer.

J Clin Oncol. 2004; **23**: 523

82.

- Benraad T.H.
- Geurts-Moespot J.
- Grondahl-Hansen J.
- Schmitt M.
- Heuvel J.J.
- de Witte J.H.
- et al.

Immunoassays (ELISA) of urokinase-type plasminogen activator (uPA): report of an EORTC/BIOMED-1 Workshop.

Eur J Cancer. 1996; **32**: 1371-1381

83.

- Sweep C.G.J.
- Geurts-Moespot J.
- Grebenschikov N.
- de Witte J.H.
- Heuvel J.J.
- Schmitt M.
- et al.

External quality assessment of trans-European multicenter antigen determination (enzyme-linked immunosorbent assay) of urokinase plasminogen activator (uPA) and its type-1 inhibitor (PAI-1) in human breast cancer extracts.

Br J Cancer. 1998; **78**: 1434-1441

84.

- Degenhardt T.
- Gluz O.
- Kreipe H.
- Henschen S.
- Clemens M.R.
- Salem M.
- et al.
- on behalf of the Plan B investigators: University Hospital Cologne, Cologne, Germany; West German Study Group

WSG PLAN B trial: evaluating efficacy of anthracycline-free chemotherapy in primary HER2-negative breast cancer after molecular-based risk assessment according to oncotype DX and uPA/PAI-1.

J Clin Oncol. 2011; **29** (Suppl (May 20 Supplement)): 10594

85.

- Nitz U.
- Gluz O.
- Kates R.E.
- Hofmann D.
- Kreipe H.H.
- Christgen M.
- et al.

Prognostic impact of discordance between different risk assessment tools in early breast cancer (recurrence score, central grade, Ki67): early outcome analysis from the prospective phase III WSG-PlanB trial.

SABCS Abstr P4-II-01. 2014;

86.

- Paik S.
- Shak S.
- Tang G.

- Kim C.
- Baker J.
- Cronin M.
- et al.

A multi-gene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated node-negative breast cancer.
N Engl J Med. 2005; **347**: 2817-2826

87.

- Petkov V.I.
- Miller D.P.
- Howlader N.
- Gliner N.
- Howe W.
- Schussler 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**: 16017-16026

88.

- Wolmark N.
- Mamounas E.P.
- Baehner F.L.
- Butler S.M.
- Tang G.
- Jamshidian F.
- et al.

Prognostic impact of the combination of recurrence score and quantitative estrogen receptor expression (esr1) on predicting late distant recurrence risk in estrogen receptor-positive breast cancer after 5 years of tamoxifen: results from NRG Oncology/National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-28 and B-14.

J Clin Oncol. 2016; **34**: 2350-2358

89.

- Paik S.
- Tang G.
- Shak S.
- Kim C.
- Baker J.
- Kim W.
- et al.

Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, ER-positive breast cancer.

J Clin Oncol. 2006; **24**: 3726-3734

90.

- Albain K.S.
- Barlow W.E.
- Shak S.
- et al.

Prognostic and predictive value of the 21-gene recurrence score assay in postmenopausal women with node-positive, oestrogen-receptor-positive breast cancer on chemotherapy: a retrospective analysis of a randomised trial.

Lancet Oncol. 2010; **11**: 55-65

91.

- van de Vijer M.J.
- He Y.D.

- van't Veer L.J.
- Dai H.
- Hart A.A.
- Voskouil D.W.
- et al.

A gene expression signature as a predictor of survival in breast cancer.

N Engl J Med. 2002; **347**: 1999-2009

92.

- Buyse M.
- Loi S.
- van't Veer L.
- Viale G.
- Delorenzi M.
- Glas A.M.
- et al.
- TRANSBIG Consortium

Validation and clinical utility of a 70-gene prognostic signature for women with node-negative breast cancer.

J Natl Cancer Inst. 2006; **98**: 1183-1192

93.

- Bueno-de-Mesquita J.M.
- van Harten W.H.
- Retel V.P.
- van't Veer L.J.
- van Dam F.S.
- Karsenberg K.
- et al.

Use of 70-gene signature to predict prognosis of patients with node-negative breast cancer: a prospective community-based feasibility study (RASTER).

Lancet Oncol. 2007; **8**: 1079-1087

[View in Article](#)

94.

- Mook S.
- Schmidt M.K.
- Viale G.
- Pruneri G.
- Eekhout I.
- Floore A.
- et al.
- TRANSBIG Consortium

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**: 295-302

95.

- Saghatchian M.
- Mook S.
- Pruneri G.
- Viale G.
- Glas A.M.
- Guerin S.
- et al.

Additional prognostic value of the 70-gene signature (MammaPrint[®]) among breast cancer patients with 4–9 positive lymph nodes.

Breast. 2013; **22**: 682-690

96.

- Drukker C.A.
- Bueno-de-Mesquita J.M.
- Retèl V.P.
- van Harten W.H.
- van Tinteren H.
- Wesseling J.
- et al.

A prospective evaluation of a breast cancer prognosis signature in the observational RASTER study.
Int J Cancer. 2013; **133**: 929-936

97.

- Knauer M.
- Mook S.
- Rutgers E.J.
- Bender R.A.
- Hauptmann M.
- van de Vijver M.J.
- et al.

The predictive value of the 70-gene signature for adjuvant chemotherapy in early breast cancer.
Breast Cancer Res Treat. 2010; **120**: 655-661

98.

- Dowsett M.
- Sestak I.
- Lopez-Knowles E.
- Sidhu K.
- Dunbier A.K.
- Cowens J.W.
- 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. 2013; **31**: 2783-2790

99.

- Gnant M.
- Filipits M.
- Greil R.
- Stoeger H.
- Rudas M.
- Bago-Horvath Z.
- et al.
- Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group

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. 2014; **25**: 339-345

100.

- Liu S.
- Chapman J.A.
- Burnell M.J.
- Levine M.N.
- Pritchard K.I.
- Whelan T.J.
- et al.

Prognostic and predictive investigation of PAM50 intrinsic subtypes in the NCIC CTG MA.21 phase III chemotherapy trial.
Breast Cancer Res Treat. 2015; **149**: 439-448

101.

- Martin M.
- Brase J.C.
- Ruiz A.
- Prat A.
- Kronenwett R.
- Calvo L.
- et al.

Prognostic ability of EndoPredict compared to research-based versions of the PAM50 risk of recurrence (ROR) scores in node-positive, estrogen receptor-positive, and HER2-negative breast cancer. A GEICAM/9906 sub-study.

Breast Cancer Res Treat. 2016; **156**: 81-89

102.

- 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. 2015; **26**: 1685-1691

103.

- Filipits M.
- Rudas M.
- Jakesz R.
- Dubsky P.
- Fitzal F.
- Singer C.F.
- et al.
- EP Investigators

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. 2011; **17**: 6012-6020

[View in Article](#)

104.

- Dubsky P.
- Filipits M.
- Jakesz R.
- Rudas M.
- Singer C.F.
- Greil R.
- et al.
- Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group (ABCSG)

EndoPredict improves the prognostic classification derived from common clinical guidelines in ER-positive, HER2-negative early breast cancer.

Ann Oncol. 2013; **24**: 640-647

105.

- Martin M.
- Brase J.C.
- 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. 2014; **16**: R38

106.

- Zhang Y.
- Schnabel C.A.
- Schroeder B.E.
- Jerevall P.L.
- Jankowitz R.C.
- Fornander T.
- et al.

Breast cancer index identifies early stage estrogen receptor-positive breast cancer patients at risk for early- and late-distant recurrence.

Clin Cancer Res. 2013; **19**: 4196-4205

107.

- Sanft T.
- Aktas B.
- Schroeder B.
- Bossuyt V.
- DiGiovanna M.
- Abu-Khalaf M.
- et al.

Prospective assessment of the decision-making impact of the Breast Cancer Index in recommending extended adjuvant endocrine therapy for patients with early-stage ER-positive breast cancer.

Breast Cancer Res Treat. 2015; **154**: 533-541

108.

- Sgroi D.C.
- Chapman J.A.
- Badovinac-Crnjevic T.
- Zarella E.
- Binns S.
- Zhang Y.
- et al.

Assessment of the prognostic and predictive utility of the Breast Cancer Index (BCI): an NCIC CTG MA.14 study.

Breast Cancer Res. 2016; **18**: 1

109.

- Sgroi D.C.
- Brufsky A.

Biomarkers for early-stage breast cancer: clinical utility for extended adjuvant treatment decisions.

J Clin Oncol. 2016 Aug 22; (pii: JCO672949. [Epub ahead of print])

110.

- Harris L.N.
- Ismaila N.
- McShane L.M.
- Andre F.

Reply to D. Sgroi et al, T. Sanft et al, M.S. Copur et al, and M.

Goetz et al J Clin Oncol. 2016 Aug 22; (pii: JCO687020. [Epub ahead of print])

111.

- Harris L.N.

- Ismaila N.
- McShane L.M.
- Andre F.
- Collyar D.E.
- Gonzalez-Angulo A.M.
- et al.

Use of biomarkers to guide decisions on adjuvant systemic therapy for women with early-stage invasive breast cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline.

J Clin Oncol. 2016; **34**: 1134-1150

112.

- Sturgeon C.
- Hill R.
- Hortin G.L.
- Thompson D.

Taking a new biomarker into routine use—a perspective from the routine clinical biochemistry laboratory.

Proteom Clin Appl. 2010; **4**: 892-903