



Testes moleculares prognósticos e preditivos em câncer de mama



Cristiano Augusto Andrade de Resende

Médico oncologista da Oncoclínicas & Co de Brasília (DF)



Leandro Jonata de Carvalho Oliveira

Médico oncologista da Oncoclínicas & Co de São Paulo



1. Introdução

O câncer de mama é uma doença notoriamente heterogênea, o que complica significativamente o seu manejo. No contexto de doença inicial (estadiamento clínico I a III), a cirurgia desempenha um papel crucial no tratamento, podendo ser frequentemente complementada por outras estratégias terapêuticas com o objetivo de melhorar a sobrevida livre de progressão (SLP) e a sobrevida global (SG). O tratamento adjuvante é uma dessas abordagens e sua indicação se baseia na avaliação do risco de recidiva, que é influenciado por uma série de fatores, incluindo subtipo histológico, estadiamento TNM, características tumorais como perfil imuno-histoquímico, grau de diferenciação e presença de invasão angiolinfática. Além disso, a idade da paciente, o status menopausal, as comorbidades e os tratamentos prévios, bem como as preferências e crenças pessoais sobre a doença, também desempenham um papel essencial na tomada de decisão terapêutica^{1,2}.

A metanálise do Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG) demonstrou que a quimioterapia adjuvante pode reduzir o risco de morte por câncer de mama em aproximadamente 30%. No entanto, a maioria das pacientes não necessita ou se beneficia dessa modalidade de tratamento^{3,4}. Esse cenário evidencia a necessidade de biomarcadores prognósticos e preditivos que auxiliem na seleção do tratamento adjuvante mais adequado. No caso do câncer de mama receptor hormonal (RH) positivo e HER-2 negativo, os testes moleculares desempenham um papel importante na decisão terapêutica. Atualmente, os testes moleculares disponíveis para esse perfil de paciente são o OncoType DX, o MammaPrint, o Prosigna, o Breast Cancer Index e o EndoPredict.

2. OncoType DX

O teste OncoType DX, realizado em material de parafina, envolve a análise de 21 genes por RT-PCR em tempo real (reação de transcriptase reversa seguida de reação em cadeia da polimerase), sendo 16 genes relacionados ao tumor e cinco genes de referência. Os resultados são expressos em uma escala de 0 a 100, denominada *recurrence score* (RS). Inicialmente, seu papel prognóstico e preditivo foi demonstrado de forma retrospectiva nos estudos NSABP B-14 e NSABP B-20. No estudo NSABP B-14, observou-se uma baixa taxa de recorrência em pacientes tratadas exclusivamente com tamoxifeno adjuvante quando o RS era baixo. No estudo NSABP B-20, foi evidenciado um grande benefício da quimioterapia adjuvante na redução da recorrência em pacientes com RS alto^{5,6}.

O estudo prospectivo de fase III TAILORx foi fundamental para consolidar o uso do OncoType DX na decisão terapêutica adjuvante em pacientes com câncer de mama inicial RH positivo e HER-2 negativo. Nesse estudo, foram recrutadas 10.273 pacientes com câncer de mama RH positivo e HER-2 negativo, entre 18 e 75 anos, com tumores medindo entre 0,6cm e 5cm, sem comprometimento linfonodal, submetidas à cirurgia inicial e com tratamento sistêmico definido de acordo com o RS. As pacientes com RS < 11 foram classificadas como de baixo risco genômico e receberam exclusivamente hormonioterapia (HT) adjuvante. As pacientes com RS > 25 foram consideradas de alto risco genômico e tratadas com quimioterapia (QT) seguida de HT adjuvante. Já as pacientes com RS entre 11 e 25, pertencentes ao grupo de risco genômico intermediário, foram randomizadas para receber QT seguida de HT ou HT isolada⁷.

Em relação às terapias selecionadas no estudo TAILORx, 90% das pacientes na pós-menopausa utilizaram inibidores de aromatase (IA), enquanto apenas 13% das pacientes pré-menopáusicas receberam supressão ovariana. Quanto à QT, o protocolo predominante foi TC (docetaxel associado a ciclofosfamida), com apenas um terço dos casos utilizando antraciclinas. A população desse estudo era majoritariamente pós-menopáusica (64% a 71%), com medianas de idade entre 55 e 58 anos e tamanho tumoral mediano de 1,5cm. A maior parte das pacientes era de baixo risco clínico, conforme critérios apresentados na tabela 1⁸, constituindo 78%, 74% e 43% dos grupos de RS < 11, RS de 11 a 25 e RS > 25, respectivamente. Apesar dos critérios de inclusão, apenas 7% dos casos apresentavam tumores entre 3cm e 5cm e 5% eram pacientes com menos de 40 anos.

Tabela 1. Classificação de risco clínico do câncer de mama inicial pelos critérios do estudo MINDACT

	Grau	Tamanho do T	Risco clínico
NO	1	≤ 3cm	Baixo
		3,1cm a 5cm	Alto
	2	≤ 2cm	Baixo
		2,1cm a 5cm	Alto
	3	≤ 1cm	Baixo
		1,1cm a 5cm	Alto
N1	1	≤ 2cm	Baixo
		2,1cm a 5cm	Alto
	2	Qualquer T	Alto
	3	Qualquer T	Alto



Os resultados do estudo TAILORx foram os seguintes:

Baixo risco genômico (RS < 11)

As pacientes apresentaram uma evolução extremamente favorável com o uso exclusivo de HT adjuvante. A sobrevida livre de recorrência à distância (SLRD) em cinco anos foi de 99,3%. No seguimento apresentado no ASCO 2018, com nove anos de acompanhamento, a taxa de recidiva à distância foi de apenas 3%, reforçando o poder prognóstico do Oncotype DX⁷.

Alto risco genômico (RS > 25)

A estimativa de sobrevida livre de doença invasiva (SLDI) com a utilização de QT e HT adjuvantes foi de 88,1% em cinco anos e de 76,2% em nove anos. Embora esse subgrupo no TAILORx não tenha tido um braço comparativo, a extrapolação dos dados do braço de HT exclusiva do estudo NSABP B-20 (SLDI em cinco anos = 74,7% e em nove anos = 55,3%) evidencia o impacto positivo da incorporação da QT adjuvante e o papel preditivo dessa assinatura genômica^{6,9}.

Risco genômico intermediário (RS = 11 a 25)

No geral, o estudo mostrou que a HT não foi inferior à QT seguida de HT, com SLDI de 83,3% *versus* 84,3% e SLRD de 94,5% *versus* 95% aos nove anos, respectivamente. Em atualização com um seguimento de 12 anos, Sparano *et al* demonstraram a equivalência dos tratamentos em todos os seus desfechos. No entanto, observa-se também o padrão já conhecido dos tumores RH positivo e HER-2 negativo em manterem um risco constante de recorrência à distância à medida que o tempo de seguimento aumenta (SLDI de 76,8% *versus* 77,4%; SLRD de 92,6% *versus* 92,8%; e SG de 89,8% *versus* 89,8% para HT e QT, respectivamente)¹⁰.

Em uma análise exploratória não planejada, ao avaliar o subgrupo de pacientes com idade ≤ 50 anos, observou-se algum benefício com o uso da QT naquelas com RS entre 16 e 25, com um ganho absoluto na SLRD em nove e 12 anos de 1,6% e 0,4% para RS 16-20 e de 6,5% e 7,8% para RS 21-25, respectivamente^{10,11}. Nesse subgrupo, observou-se também que o risco clínico (descrito na tabela 1) associado ao RS influenciou o benefício absoluto da QT, conforme descrito na tabela 2^{10,12}.

Além disso, observou-se que, no subgrupo de pacientes pré-menopáusicas com idade entre 46 e 50 anos, o impacto da quimioterapia foi particularmente pronunciado. Esse achado sugere que o principal mecanismo responsável pelo benefício da quimioterapia pode ser

atribuído à supressão ovariana induzida pelo tratamento, em vez de seu efeito citotóxico direto. No entanto, é importante destacar que o estudo TAILORx não possui poder estatístico suficiente para confirmar definitivamente essa hipótese¹².

Tabela 2. Benefício absoluto da quimioterapia adjuvante em sobrevida livre de recorrência à distância nas pacientes de risco intermediário e abaixo de 50 anos de acordo com o risco clínico, com seguimento de nove e 12 anos

	Seguimento de nove anos			
	Benefício absoluto estimado da quimioterapia não estratificado pelo risco clínico	Risco clínico	n	Benefício absoluto estimado da quimioterapia estratificado pelo risco clínico
RS 16-20 (n=886)	$\Delta + 1,6\%$ ($\pm$ SE 1,9%)	Baixo	671 (76%)	$\Delta - 0,2\%$ ($\pm$ SE 2,1%)
		Alto	215 (24%)	$\Delta + 6,5\%$ ($\pm$ SE 4,9%)
RS 21-25 (n=476)	$\Delta + 6,5\%$ ($\pm$ SE 3,7%)	Baixo	319 (67%)	$\Delta + 6,4\%$ ($\pm$ SE 4,9%)
		Alto	157 (33%)	$\Delta + 8,7\%$ ($\pm$ SE 6,2%)
	Seguimento de 12 anos			
	Benefício absoluto estimado da quimioterapia não estratificado pelo risco clínico	Risco clínico	n	Benefício absoluto estimado da quimioterapia estratificado pelo risco clínico
RS 16-20 (n=886)	$\Delta + 0,4\%$ ($\pm$ SE 2,1%)	Baixo	671 (76%)	$\Delta - 0,5\%$ ($\pm$ SE 2,2%)
		Alto	215 (24%)	$\Delta + 3,1\%$ ($\pm$ SE 5,4%)
RS 21-25 (n=476)	$\Delta + 7,8\%$ ($\pm$ SE 3,4%)	Baixo	319 (67%)	$\Delta + 5,9\%$ ($\pm$ SE 3,4%)
		Alto	157 (33%)	$\Delta + 11,7\%$ ($\pm$ SE 7,2%)

A utilização do OncoType DX em pacientes com comprometimento linfonodal foi investigada no estudo prospectivo de fase III RxPONDER¹³. Nesse estudo,



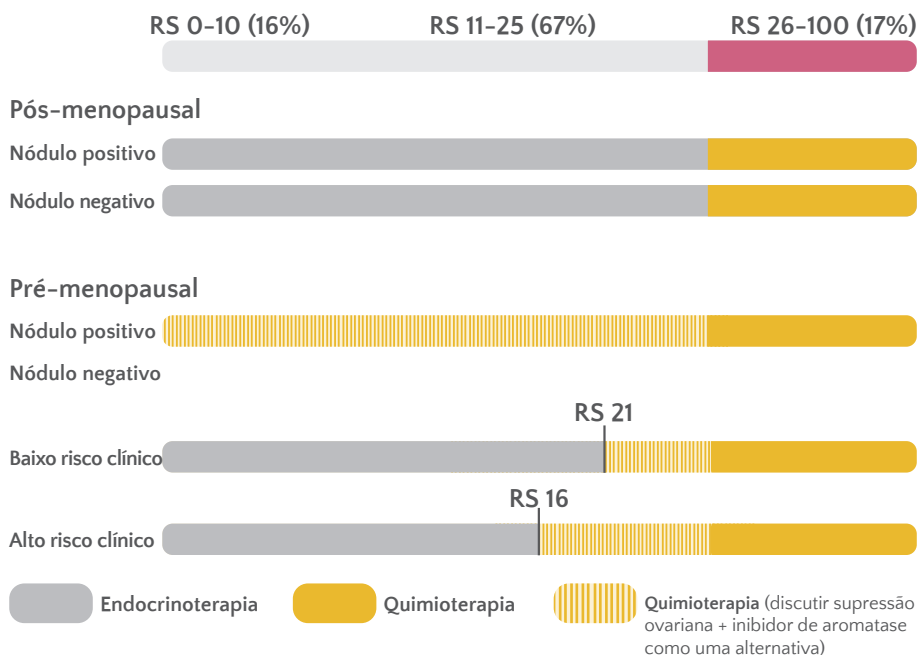
foram recrutadas 5 mil pacientes com câncer de mama RH positivo e HER-2 negativo que haviam sido submetidas à cirurgia inicial e apresentavam de um a três linfonodos comprometidos, com RS entre 0 e 25. As pacientes foram randomizadas para receberem HT ou QT seguida de HT. Aproximadamente 50% das pacientes receberam docetaxel e ciclofosfamida (TC) como protocolo preferencial de QT adjuvante. A supressão ovariana foi realizada em 16% das pacientes no grupo HT e em 3% no grupo QT seguida de HT.

Os resultados do estudo mostraram que, para esse perfil de pacientes, o OncoType DX foi prognóstico, mas o RS não conseguiu prever o benefício relativo da QT, sendo o impacto da QT semelhante, independentemente do valor do RS. No entanto, o status menopausal influenciou significativamente o impacto do tratamento adjuvante. Com um *follow-up* mediano de seis anos, as pacientes pós-menopáusicas não apresentaram benefício adicional com a utilização da QT, com SLDI e SLRD em cinco anos de 91,2% e 94,3%, respectivamente, no grupo que recebeu apenas HT em comparação com 91,9% e 94,8% no grupo que recebeu QT seguida de HT. Em contrapartida, nas pacientes pré-menopáusicas, a QT proporcionou um ganho estatisticamente significativo na SLDI (ganho absoluto de 4,9%), na SLRD (ganho absoluto de 2,5%) e na SG (ganho absoluto de 1,3%), em todos os subgrupos, independentemente da estratificação do RS (0 a 13 *versus* 14 a 25) e do número de linfonodos comprometidos (um *versus* dois ou três)^{13,14}.

Reforçando a importância do status menopausal na avaliação do impacto da QT adjuvante, uma análise recente do estudo RxPONDER, apresentada no ASCO 2024, revelou que pacientes clinicamente definidas como pré-menopáusicas, mas com baixa dosagem do hormônio anti-Mülleriano (indicativo de baixa reserva ovariana), não obtiveram benefício adicional da QT quando comparada à HT adjuvante isolada¹⁵.

De forma geral, fica indicada hoje a realização de OncoType DX para pacientes com câncer de mama submetidas a cirurgia inicial com estadiamento T1-2N0-1M0, de acordo com o algoritmo de tratamento da figura 1.

Figura 1. Algoritmo de tratamento adjuvante das pacientes com câncer de mama inicial RH positivo e HER-2 negativo baseado no resultado do OncoType Dx recurrence score



fonte: adaptado de SABCS, 2020

3. MammaPrint

O MammaPrint é um teste genômico realizado em material parafinizado, no qual 70 genes são analisados, classificando o câncer de mama em baixo ou alto risco genômico de recorrência. Portanto, essa é uma ferramenta prognóstica¹⁶.

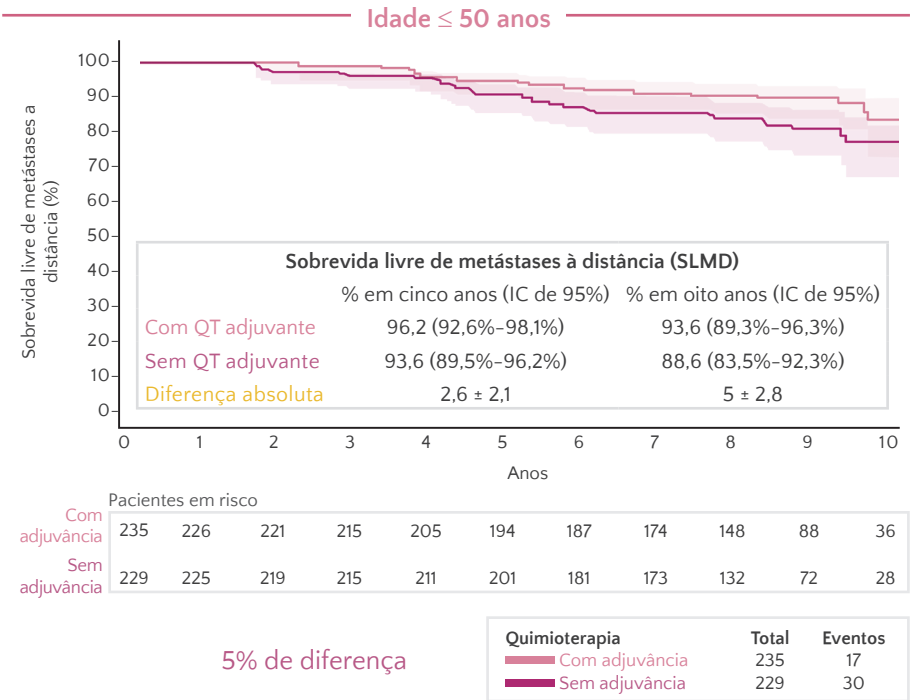
Essa assinatura foi validada prospectivamente no estudo de fase III MINDACT, que incluiu pacientes T1-T3, N0-1. Esse estudo incluiu 81% de tumores RH positivo, 9,5% de tumores HER-2 positivo e 9,6% de tumores triplo-negativos, assim como 28% de tumores de alto grau histológico (G3) e 21% de tumores N1. Os pacientes nesse estudo receberam estratificação de risco clínico segundo versão modificada do *Adjuvant! Online* (tabela 1) e estratificação genômica pelo MammaPrint. Pacientes com baixos riscos clínico e genômico receberam HT adjuvante. Pacientes de altos riscos clínico e genômico receberam QT e HT adjuvantes. Pacientes com baixo risco clínico e alto risco genômico ou alto risco

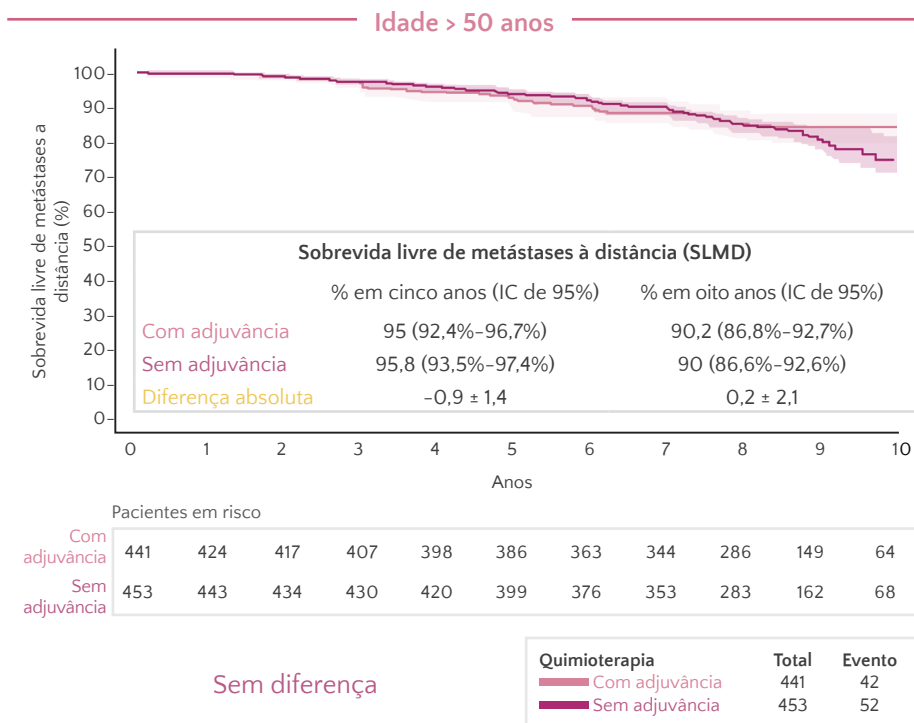


clínico e baixo risco genômico foram randomizadas para HT ± QT. O objetivo principal do estudo foi avaliar a sobrevida livre de metástase à distância (SLMD) em cinco anos no subgrupo de alto risco clínico e baixo risco genômico que não recebeu quimioterapia, sendo positivo para o seu objetivo primário com SLMD em cinco anos de 94,7% (IC de 95%; 92,5–96,25)¹⁷.

Na análise de cinco anos de seguimento, não houve diferença de SLMD para os pacientes que receberam HT isolada *versus* QT + HT. Contudo, no seguimento de oito anos, pacientes com menos 50 anos e com alto risco clínico e baixo risco genômico apresentaram benefício absoluto de 5% de quimioterapia adjuvante (figura 2)¹⁸. Baseada nos dados do estudo MINDACT, a assinatura genômica MammaPrint apresenta nível I de evidência na estratificação prognóstica das pacientes com câncer de mama inicial RH positivo e HER-2 negativo de alto risco clínico (N0 e N1) acima dos 50 anos. Nesse cenário, para pacientes de baixo risco genômico, temos a segurança da omissão de QT adjuvante. Entretanto, esta estará indicada para as pacientes de alto risco genômico.

Figura 2. Sobrevida livre de metástases à distância nas pacientes com câncer de mama RH positivo e HER-2 negativo com alto risco clínico e baixo risco genômico estratificada de acordo com a idade





Fonte: Adaptado de van de Vijver et al. (2002)

Apesar de o desenho do estudo incluir outros perfis imuno-histoquímicos tumorais, o MammaPrint deve ser utilizado exclusivamente em câncer de mama RH positivo e HER-2 negativo, já que ele compõe quase 90% da amostragem do estudo. Da mesma forma, essa assinatura genômica não apresenta validação para estratificação prognóstica de pacientes de baixo risco clínico.

4. Prosigna

O Prosigna é um teste genômico que fornece o perfil molecular intrínseco tumoral (pelo PAM50) e o escore de risco de recorrência (*risk of recurrence* – ROR). O ROR classifica o câncer de mama em baixo, intermediário ou alto risco de recorrência^{19,20}. Essa ferramenta foi validada em dois estudos clínicos de forma retrospectiva: ABCSG-8 e TransATAC²¹. Conjuntamente, esses estudos incluíram pacientes com câncer de mama RH positivo e HER-2 negativo, NO-1 e sem recorrência após cinco anos de hormonioterapia. O ROR mostrou importante fator prognóstico, com risco de metástase à distância de 2,4%, 8,3% e 16,6% para os grupos de baixo, intermediário e alto risco, respectivamente.



Uma outra análise retrospectiva realizada pelo Danish Breast Cancer Co-operative Group também validou o papel prognóstico do Prosigna. Nesse estudo, pacientes com câncer de mama RH positivo e HER-2 negativo, N0-1 foram tratadas exclusivamente com HT por cinco anos. Com um seguimento mediano de 9,2 anos, o ROR baixo foi um importante fator prognóstico tanto para as pacientes N0 quanto N1, com uma taxa $\leq 5\%$ ²². A validação prospectiva da assinatura genômica Prosigna está em andamento no estudo de fase III OPTIMA²³.

5. Breast Cancer Index (BCI)

O BCI é uma assinatura genômica que engloba dois biomarcadores no mesmo teste: o BCI prognóstico e o BCI preditivo. Essa plataforma molecular apresenta impacto prognóstico em recorrência geral e tardia (BCI prognóstico), assim como apresenta potencial impacto preditivo de benefício de terapia endócrina estendida além dos cinco anos (BCI preditivo)²⁴.

O papel prognóstico foi validado em estudos retrospectivos (Stockholm, Multi-Inst e TransATAC) que, conjuntamente, englobaram quase 1.400 pacientes com câncer de mama RH positivo e HER-2 negativo, N0, sendo a maioria classificada como de baixo risco clínico. Nessa análise, o BCI se mostrou um importante fator de estratificação prognóstica de recorrência tardia, sendo que os pacientes classificados como BCI de baixo risco tiveram um índice de recorrência menor que 3,5% entre cinco e dez anos, enquanto os casos classificados como BCI de alto risco tiveram uma taxa de recorrência tardia de 15,9%^{24,25}.

A performance prognóstica do BCI também foi avaliada em pacientes com acometimento linfonodal, N1, sendo que esse subgrupo de pacientes com BCI de baixo risco apresentaram uma taxa de recorrência menor que 2% em 15 anos²⁶. Esse resultado apresenta impacto prognóstico e também inferência terapêutica, sugerindo que tais paciente podem não derivar benefício da terapia endócrina estendida.

O papel preditivo do BCI para terapia endócrina estendida tem sido avaliado retrospectivamente em diversos estudos envolvendo pacientes N0 e N1, a sua grande maioria na pós-menopausa. Nesses estudos, observamos uma forte associação entre BCI preditivo alto e benefício de terapia endócrina estendida^{24,27-29}. No entanto, uma análise retrospectiva recente do estudo NSABP-B42 falhou em demonstrar a associação do benefício da extensão da HT com BCI preditivo alto³⁰.

É importante ressaltar que essa assinatura genômica foi avaliada retrospectivamente em uma população majoritariamente constituída por pacientes na pós-menopausa, sendo esse o subgrupo para o qual geralmente consideramos a utilização dessa ferramenta.

6. EndoPredict (EPclin Risk Score)

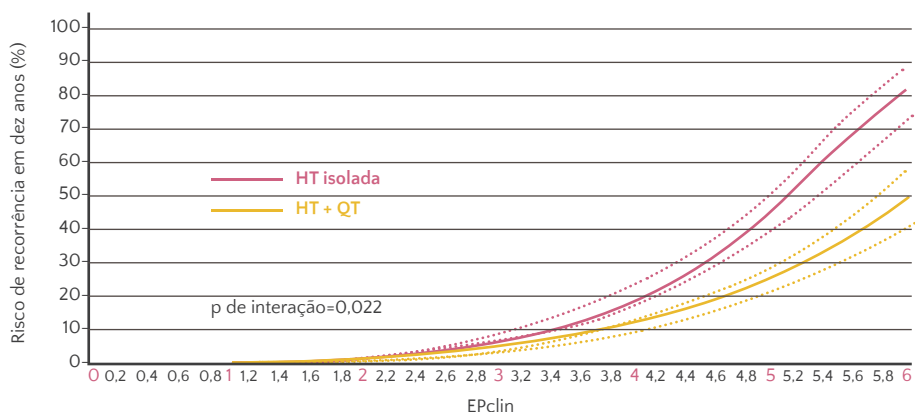
O EndoPredict é uma assinatura de expressão gênica (12 genes) que determina o risco de recorrência em dez anos após o diagnóstico primário do câncer de mama em pacientes tratadas com terapia endócrina adjuvante. Ele foi desenvolvido para uma população-alvo com câncer de mama RH positivo e HER-2 negativo, que combina características clínicas (estadiamento T, N) e moleculares, classificando as pacientes em duas categorias de risco: baixo e alto risco genômico³¹. Seu valor prognóstico foi avaliado retrospectivamente para pacientes N0 e N1 tratadas com HT isolada, sendo que pacientes N0 e N1 com EPclin de baixo risco tiveram uma taxa de recorrência de 4% e 5,6% em dez anos, respectivamente^{32,33}.

Recentemente, análises retrospectivas envolvendo pacientes tratadas com HT isolada e QT + HT sugerem que essa assinatura pode ter um potencial preditivo de benefício de quimioterapia (figura 3)^{32,33}. Em resumo, o EndoPredict apresenta impacto prognóstico para pacientes na pós-menopausa com câncer de mama RH positivo e HER-2 negativo, N0 e N1. Apesar de uma análise com número limitado de pacientes sugerir benefício prognóstico em pacientes na pré-menopausa, esse subgrupo está pouco representado nos estudos do EndoPredict.



Figura 3. Análise de interação entre o EPclin score e o tipo de tratamento adjuvante, sugerindo papel preditor dessa assinatura quanto ao benefício da quimioterapia

Um teste de interação estatística entre o EPclin e o tratamento (HT versus HT + QT) foi significativo ($p=0,22$), indicando que EPclin é preditivo do benefício da quimioterapia



EPclin Score	HT isolada	HT + QT	Diferença de risco absoluto entre HT isolada e HT + QT
1	1% (0,6-1,4)	1,1% (0,5-1,7)	-0,1%
2	2,8% (2,1-3,5)	2,5% (1,5-3,5)	0,3%
3	7,6% (6,4-8,8)	5,7% (4,1-7,2)	1,9%
4	19,8% (17,6-22)	12,4% (10,1-14,6)	7,4%
5	46,1% (40,2-51,4)	25,8% (22-29,5)	20,3%
6	82,2% (72,1-88,6)	49,2% (40,5-56,7)	33%

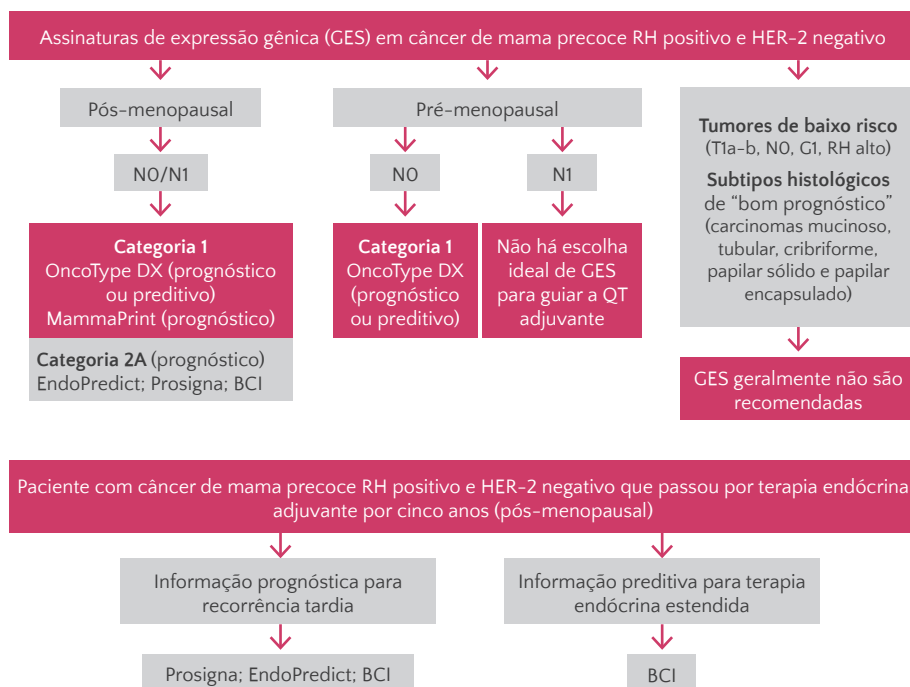
7. Conclusão

Os testes moleculares na estratificação prognóstica no câncer de mama RH positivo e HER-2 negativo inicial apresentam acurácia superior aos critérios e patológicos convencionais, assim como favorecem a Oncologia de Precisão na definição terapêutica adjuvante. No entanto, mesmo no contexto da disponibilidade das assinaturas genômicas, essas ferramentas não devem ser utilizadas de forma isolada, mas integradas aos critérios patológicos tradicionais.

FICA A DICA!

Em artigo publicado no *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, Oliveira *et al* sumarizam de maneira prática as principais indicações dos testes moleculares³⁴:

Figura 4. Algoritmo para uso dos testes moleculares, baseado no National Comprehensive Cancer Network (NCCN) e nas diretrizes da ASCO e da European Society for Medical Oncology (ESMO)³⁴



Referências

1. Michaelson JS, Silverstein M, Sgroi D et al. The effect of tumor size and lymph node status on breast carcinoma lethality. *Cancer*. 2003;98(10):2133-43.
2. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer*. 1989; 63(1):181-7.
3. Peto R, Davies C, Godwin J et al; Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Comparisons between different polychemotherapy regimens for early breast cancer: meta-analyses of long-term outcome among 100,000 women in 123 randomised trials. *Lancet*. 2012;379(9814):432-44.



4. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Long-term outcomes for neoadjuvant versus adjuvant chemotherapy in early breast cancer: meta-analysis of individual patient data from ten randomised trials. 2018;19(1):27–39.
5. Paik S, Shak S, Tang G et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N Eng J Med*. 2004;351:2817–26.
6. Paik S, Tang G, Shak S et al. Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol*. 2006;24(23):3726–34.
7. Sparano JA, Gray RJ, Makower DF et al. Prospective validation of a 21-gene expression assay in breast cancer. *N Engl J Med*. 2015;373:2005–14.
8. Cardoso F, van't Veer LJ, Bogaerts J et al. 70-gene signature as an aid to treatment decisions in early-stage breast cancer. *N Eng J Med*. 2016;375:717–29.
9. Sparano J, Gray RJ, Makower D et al. Clinical outcomes by chemotherapy regimen in patients with RS 26–100 in TAILORx. *Ann Oncol*. 2019;30(suppl.5):v851–v934.
10. Sparano JA, Gray RJ, Makower DF et al. Trial Assigning Individualized Options for Treatment (TAILORx): an update including 12-year event rate. *Cancer Res*. 2023;83(suppl.5):GS1–GS5.
11. Sparano JA, Gray RJ, Makower DF et al. Adjuvant chemotherapy guided by a 21-gene expression assay in breast cancer. *N Engl J Med*. 2018;379:111–21.
12. Sparano JA, Gray RJ, Ravdin PM et al. Clinical and genomic risk to guide the use of adjuvant therapy for breast cancer. *N Engl J Med*. 2019;380:2395–405.
13. Kalinsky K, Barlow WE, Meric-Bernstam F et al. First results from a phase III randomized clinical trial of standard adjuvant endocrine therapy (ET) +/- chemotherapy (CT) in patients (pts) with 1–3 positive nodes, hormone receptor-positive (HR+) and HER2-negative (HER2-) breast cancer (BC) with recurrence score (RS) < 25: SWOG S1007 (RxPonder). *Cancer Res*. 2021;81(suppl.4):GS3.
14. Kalinsky K, Barlow WE, Meric-Bernstam F et al. 21-gene assay to inform chemotherapy benefit in node positive breast cancer. *N Engl J Med*. 2021;385(25):2336–47.
15. Kalinsky K, Barlow WE, Pathak HB et al. Correlation of serum anti-Müllerian hormone (AMH) levels on identification of premenopausal patients (pts) with hormone receptor positive (HR+), HER2-negative, node-positive breast cancer most likely to benefit from adjuvant chemotherapy in SWOG S1007 (RxPONDER). *J Clin Oncol*. 2024;42(suppl.16):505.
16. van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med*. 2002;341:1999–2009.
17. Cardoso F, van't Veer LJ, Poncet C et al. MINDACT: long-term results of the large prospective trial testing the 70-gene signature MammaPrint as guidance for adjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *J Clin Oncol*. 2020;38(suppl.15):506.
18. Piccart M, van't Veer LJ, Poncet C et al. 70-gene signature as an aid for treatment decisions in early breast cancer: updated results of the phase 3 randomised MINDACT trial with an exploratory analysis by age. *Lancet Oncol*. 2021;22(4):476–88.
19. Parker JS, Mullins M, Cheang MCU et al. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. *J Clin Oncol*. 2009;27(8):1160–7.
20. Gnant M, Filipits M, Greil R et al. Predicting distant recurrence in receptor-positive breast cancer patients with limited clinicopathological risk: using the PAM50 Risk of Recurrence score in 1,478 postmenopausal patients of the ABCSG-8 trial treated with adjuvant endocrine therapy alone. *Ann Oncol*. 2014;25:339–45.
21. Sestak I, Cuzick J, Dowsett M 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(8):916–22.
22. Laenkholm AV, Jensen MB, Eriksen JO et al. PAM50 risk of recurrence score predicts 10-year distant recurrence in a comprehensive Danish cohort of postmenopausal women allocated to 5 years of endocrine therapy for hormone receptor-positive early breast cancer. *J Clin Oncol*. 2018;36(8):735–40.
23. Makris A, Hughes-Davies L, MacPherson IR et al. OPTIMA (optimal personalised treatment of early breast cancer using multi-parameter analysis): a prospective trial to validate the predictive utility and cost-effectiveness of gene expression test-directed chemotherapy decisions. *J Clin Oncol*. 2016;34(suppl.15):TPS623.

24. Zhang L, Schnabel CA, Schroeder BE et al. Breast Cancer Index identifies early-stage estrogen receptor-positive breast cancer patients at risk for early- and late-distant recurrence. *Clin Cancer Res.* 2013;19(15):4196-205.
25. Sgroi DC, Sestak I, Cuzick J 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(11):1067-76.
26. Zhang Y, Schroeder BE, Jerevall PL et al. A novel breast cancer index for prediction of distant recurrence in HR+ early-stage breast cancer with one to three positive nodes. *Clin Cancer Res.* 2017;23:7217-24.
27. Sgroi DC, Carney E, Zarrella E et al. Prediction of late disease recurrence and extended adjuvant letrozole benefit by the HOXB13/IL17BR biomarker. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105(14):1036-42.
28. Bartlett J, Sgroi D, Treuner K et al. Trans-aTTom: Breast Cancer Index for prediction of endocrine benefit and late distant recurrence (DR) in patients with HR+ breast cancer treated in the adjuvant tamoxifen-To offer more? (aTTom) trial. *J Clin Oncol.* 2019;37(suppl.15):505.
29. Liefers GJ, Noordhoek I, Treuner K et al. Breast cancer index (BCI) predicts benefit of two-and-a-half versus five years of extended endocrine therapy in HR+ breast cancer patients treated in the ideal trial. *J Clin Oncol.* 2020;38(suppl.15):512.
30. Mamounas EP, Bandos H, Rastogi P et al. Breast cancer index (BCI) and prediction of benefit from extended aromatase inhibitor (AI) therapy (tx) in HR+ breast cancer: NRG oncology/NSABP B-42. *J Clin Oncol.* 2021;39(suppl.15):501.
31. Filipits M, Rudas M, Jakesz R et al. A new molecular predictor of distant recurrence in ER-positive HER2-negative breast cancer adds independent information to conventional clinical risk factors. *Clin Cancer Res.* 2011;17(18):6012-20.
32. Sestak I, Buus R, Cuzick J et al. Comparison of the performance of 6 prognostic signatures for estrogen receptor-positive breast cancer: a secondary analysis of a randomized clinical trial. *JAMA Oncol.* 2018;4(4):545-53.
33. Martin M, Brase JC, Calvo L 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(2):R38.
34. Oliveira LJC, Amorim LC, Megid TBC et al. Gene expression signatures in early breast cancer: better together with clinicopathological features. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2022;14(175):103708.