

Gradu Amaierako Lana / Trabajo Fin de Grado
Medikuntzako Gradua / Grado en Medicina

Oncotype DX en cáncer de mama.

Identificación de grupos de riesgo e impacto económico.

Autor:
Teresa Santa Cruz Sarasqueta
Director:
Julio Moreno Domingo

© 2019, Teresa Santa Cruz Sarasqueta

Basurto, 16 de abril de 2019

RESUMEN

Existe un grupo de mujeres con cáncer de mama cuyos factores predictivos y pronósticos no son suficientes a la hora de tomar una decisión en cuanto al tratamiento con quimioterapia. En este grupo de mujeres está justificado el uso de determinadas plataformas genéticas como el Oncotype DX, con el fin de ajustar más el tratamiento y evitar sobretamientos.

Objetivos: **a)** Identificar los subgrupos de alto riesgo (Recurrence Score (RS) ≥ 25) y candidatos a quimioterapia en función de la edad y el perfil molecular. **b)** Describir la variación del subtipo molecular según el punto de corte del Ki67 utilizado en el grupo de mujeres de alto riesgo. **c)** Cuantificar el impacto económico de la realización de Oncotype DX en los subgrupos financiados por Osakidetza. **d)** Identificar subgrupos en los que el Oncotype DX tiene mayor impacto económico.

Metodología: Estudio observacional transversal con reclutamiento retrospectivo, realizado en pacientes diagnosticados de cáncer de mama infiltrante desde el 1 de enero de 2012 hasta el 31 de enero de 2019 en la Unidad Funcional de Mama del el Hospital Universitario de Basurto. Las principales variables de resultado son el Ki67, el Recurrence Score y los costes del tratamiento. Además se recogen edad, tamaño tumoral y afectación ganglionar. El análisis estadístico ha consistido en estadística descriptiva y comparación de medias mediante la T de Student y el análisis de varianza; y comparación de proporciones mediante la Chi cuadrado de Pearson.

Resultados: Se analizan 328 mujeres con una edad media de 57 años (mediana 56 años y DS 9), el 65% son Luminales B (Ki67 $> 14\%$). El Recurrence Score es mayor de 26 en el 16% de la muestra. Las mujeres con un Ki67 $<14\%$ son más jóvenes que las de Ki67 $>14\%$ ($p=0,005$). RS >25 se asocia con un Ki67 $>14\%$ y con el subtipo molecular Luminales B ($p<0,0005$). Existe un 30,8% de RS de alto grado con un Ki67 $<20\%$. Se observa una diferencia de 2.408.844€ a favor del uso de Oncotype. Esta se debe únicamente al uso del Oncotype en postmenopáusicas.

Conclusiones: Las mujeres de mayores de 50 años presentan mayor Ki67 que las menores de 50, y a su vez mayor riesgo de presentar valores altos en el Recurrence Score. Los subtipos moleculares Luminales B son los que más riesgo poseen de

presentar RS altos. Entre las mujeres de Recurrence Score de alto riesgo, con el punto de corte Ki67 en 20%, un 21% de los tumores pueden ser considerados de bajo riesgo (Luminales A) cuando biológicamente no lo son.

Con el uso de Oncotype DX, la recomendación inicial de tratamiento se modifica en 197 (64,5%) pacientes lo que supone un ahorro a la práctica clínica habitual de 2.408.844€, lo cual, depende fundamentalmente del grupo de las postmenopáusicas.

En las mujeres premenopáusicas de RS riesgo intermedio se debe individualizar la indicación de quimioterapia adyuvante, puesto que el beneficio del tratamiento con quimioterapia en pacientes con RS 16-20 sería de 1,6% y en RS 21-25 del 6,5% en términos de riesgo de recurrencia.

ÍNDICE

RESUMEN.....	I
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS	6
3. METODOLOGÍA.....	6
3.1 DISEÑO Y SUJETOS A ESTUDIO.....	6
3.2 VARIABLES.....	7
3.3 CASOS ONCOTYPE FINANCIADOS POR OSAKIDETZA.....	8
3.4 CUANTIFICACIÓN DE COSTES.....	9
3.5 ANALISIS ESTADÍSTICO	9
4. RESULTADOS	10
4.1 ASOCIACIÓN DE LA EDAD CON FACTORES ANALIZADOS.....	11
4.2 ASOCIACIÓN DE LOS FACTORES ANALIZADOS CON EL KI67.....	12
4.3 ASOCIACIÓN DE LOS FACTORES ANALIZADOS CON EL RECURRENCE SCORE DEL ONCOTYPE.....	13
4.4 COSTE DE TRATAMIENTO	14
5. DISCUSIÓN	18
6. CONCLUSIONES	22
7. BIBLIOGRAFÍA	23

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama¹ es el tumor maligno más frecuente entre las mujeres de todo el mundo. En España se diagnostican unos 26.000 casos al año, lo que representa casi el 30% de todos los tumores del sexo femenino. En el País Vasco, 1555 casos nuevos de cáncer de mama se diagnosticaron en el 2018.

La mayoría de los casos se diagnostican entre los 35 y los 80 años. Las tasas de incidencia y el número de casos aumentan lentamente en el mundo, lo que podría deberse al envejecimiento de la población y a un diagnóstico más precoz gracias al cribado. Se estima que el riesgo de padecer cáncer de mama a lo largo de la vida es de 1 de cada 8 mujeres (12,5%).

En España fallecen unas 6000 mujeres al año por cáncer de mama, un 16,7% de todos los fallecimientos por cáncer del sexo femenino en nuestro país. Mientras los casos e incidencias aumentan, el número de muertes está estabilizado en nuestro país, y las tasas de mortalidad descienden, debido principalmente a mejores resultados de los tratamientos y a la detección precoz de esta neoplasia.

Los factores pronósticos se relacionan con la supervivencia global y con otros resultados intermedios como la supervivencia libre de progresión y la tasa de respuesta. Los factores predictivos son las características de la paciente, del tumor o del tratamiento que se relacionan con las probabilidades de respuesta al mismo y ayuda a la personalización del tratamiento.²

La importancia de diferenciar entre factor pronóstico y factor predictivo radica en el conocimiento de qué pacientes se van a beneficiar del tratamiento, y aquellos en los que la exposición a la quimioterapia u otras opciones terapéuticas van a mejorar el pronóstico, la calidad de vida o la supervivencia. No obstante, siempre hay que valorar los posibles efectos secundarios del tratamiento citotóxico en función de comorbilidades asociadas.

Gracias a los factores pronósticos y predictivos se pueden diseñar distintas estrategias de tratamiento y conocer el pronóstico de cada paciente. Cobran especial importancia en los tumores en estadios tempranos, permitiendo así ajustar el

tratamiento, de tal forma que se intente minimizar tanto los infratratamientos como los sobretratamientos.

Los factores pronósticos pueden ser dependientes del paciente (edad, estado general, comorbilidades y hábitos) o dependientes del tumor (estadiaje TNM, receptores hormonales, HER2, Ki67, subtipos moleculares y perfiles genéticos). Por otro lado, los factores predictivos son los siguientes: algunos perfiles genéticos como el Oncotype Dx, receptores hormonales, HER2.²

Los **receptores de estrógenos** han sido considerados desde hace tiempo una variable pronóstica fundamental en el cáncer de mama y un factor predictivo clave para la respuesta a la hormonoterapia.

El **tamaño macroscópico** se considera como uno de los más importantes factores pronósticos, y junto con la **afectación ganglionar** constituyen dos de los tres criterios utilizados para el estadiaje. Existe una relación directa entre tamaño tumoral y la probabilidad de metástasis ganglionares axilares. Las pacientes en las que el tamaño del tumor es de 2 cm o menos tienen un pronóstico y una supervivencia mejor comparada con las pacientes con tumores más grandes.

La presencia de **HER2** es un factor pronóstico de la supervivencia total y del periodo libre de enfermedad. La expresión de esta proteína está asociada con un pobre grado histológico, extensión a ganglios axilares y número de ganglios afectados. Sin embargo, la buena respuesta al tratamiento con Trastuzumab ha mejorado el pronóstico. Por consiguiente también es considerado un factor predictivo de respuesta al tratamiento.

El **Ki67**³ es una forma de medir la proliferación celular del tumor, este está incluido dentro del grado histológico tumoral, al tener en cuenta las mitosis celulares. Ha demostrado tener un papel importante en la regulación del ciclo celular. Además, existe una relación entre la expresión de Ki67 y la respuesta a la quimioterapia, pues pacientes con nivel de expresión elevado de la proteína responden mejor a este tratamiento.

Las conferencias de consenso de St. Gallen⁴, que se realizan cada dos años, sientan las bases del tratamiento del carcinoma de mama en base a las evidencias

disponibles. Se recalcan las pautas de tratamiento médico en función de los diferentes subtipos moleculares en los que se subclasifica el carcinoma de mama. La clasificación está basada la determinación inmunohistoquímica de RE, RP, Ki67 y HER2.

Los diferentes subtipos moleculares presentan tanto implicaciones pronósticas como diferentes recomendaciones terapéuticas.

Se describen los siguientes subtipos moleculares:

- **Luminal A:** carcinomas de mama RE+/HER2- con Ki67<14%.
- **Luminal B (HER2-):** carcinomas de mama RE+/HER2- con Ki67 >14%
- **Luminal B (HER2+):** carcinomas de mama RE+/HER2+ con Ki67 >14%.
- **HER2+ no luminal:** carcinoma de mama HER2+, que no expresa RE ni RP, independientemente del valor de Ki67
- **Triple negativo:** carcinoma de mama que no expresa RE, RP, ni HER2, independientemente del valor de Ki67.

En 2017, tuvo lugar la 15th St. Gallen International Breast Cancer Conference⁴ donde se establecieron los criterios para la indicación del tratamiento médico tanto con quimioterapia como hormonoterapia así como la indicación de realizar plataformas de expresión genética para basar las indicaciones de tratamiento quimioterápico.

Se llegó a la conclusión de que existe un grupo de pacientes que no necesitan ni quimioterapia ni el apoyo de plataformas genéticas para su manejo: pacientes con pT1a/b, grado 1 (G1), ER alta expresión (Luminales A), N0, HER2 negativo y Ki67<14%.

Por otro lado, las mujeres que deben recibir tratamiento quimioterápico son las de las siguientes características: tumores con subtipo molecular triple negativo, tumores HER2 positivo de estadio mayor a pT1b pN0 y con afectación ganglionar macrometastásica.

Existe un grupo heterogéneo de tumores en los que las indicaciones de quimioterapia no están claramente establecidas, los cuales serían aquellos de tamaño entre 1-5 cm, con índices de proliferación intermedios, N0, Luminales A y B HER2 negativos. En

la conferencia de St. Gallen se concluye que esta población sería la que más se beneficiase de plataformas de análisis genéticos para definir el beneficio de la terapia quimioterápica en cada caso en particular.

Los autores de la guía clínica de SEOM⁵, indican que el uso de quimioterapia entre los tumores Luminales estaría justificado en grupos de alto riesgo, definido por sus características clínicas o perfil genómico. En este grupo se incluirían mujeres con tumores T2-T4, N2-N3, afectación linfovascular extensa, Ki67 elevado, baja expresión de receptores hormonales, premenopáusicas, y riesgos intermedios o altos en los resultados de plataformas genéticas.

Por otro lado, en los protocolos de la NCCN⁶, se indica quimioterapia en caso de afectación macrometastásica ganglionar (>2mm) en 1 o más ganglios y tumores con estadios T4. En aquellos tumores T1 con un tamaño <0,5cm, nivel de evidencia del uso de quimioterapia no es alto. Además, en los tumores de >0,5 cm indican el uso de plataformas de tests genómicos.

Existen varios ensayos de expresión génica disponibles en el mercado que proporcionan información pronóstica en el cáncer de mama con receptores hormonales positivos.

El Oncotype DX⁷ es una prueba que evalúa un conjunto de 21 genes en las células que se obtienen de las muestras del tumor. Calcula el resultado Recurrence Score (RS) que es individualizado para cada paciente y tiene un valor dentro del rango de 0 a 100. Permite clasificar a las pacientes en tres niveles de riesgo de recidiva: riesgo bajo, intermedio, o alto, según sea el valor RS<18, entre 18 y 30, >31, respectivamente. Aunque los paneles de expertos recomiendan el uso de la prueba de 21 genes, quedan dudas sobre si la quimioterapia es beneficiosa para la mayoría de los pacientes, que tienen una puntuación de recurrencia de rango medio.

El estudio TAILORx se diseñó para conocer si la quimioterapia es beneficiosa para las mujeres con una puntuación de recurrencia de rango medio de 11 a 25. Para evitar el infratratamiento, se establecieron en este estudio puntos de corte más bajos para las categorías de riesgo que los definidos en los estudios de validación iniciales.

Existen otros test genómicos como el test Mammaprint Score que evalúa en la muestra tumoral un conjunto de 70 genes, y clasifica a las mujeres en dos grupos pronósticos, las de bajo riesgo y las de alto riesgo. Tiene un alto nivel de evidencia respecto al riesgo de recurrencia en 5 años en pacientes tratadas con hormonoterapia exclusivamente. El Prosigna o PAM50, evalúa 50 genes y también calcula el posible beneficio de la quimioterapia junto con el riesgo de recurrencia a distancia en 10 años.^{8,9}

Oncotype y Mammaprint son los dos test con mayor evidencia en cuanto a su pronóstico, sin embargo, Mammaprint Score no puede considerarse factor predictivo, a diferencia de Oncotype.

Es importante determinar qué tipo de pacientes tienen bajo riesgo de desarrollar una enfermedad metastásica, pues este grupo de pacientes estaría sobretratado en caso de ser tratado con quimioterapia adyuvante. La adecuada clasificación de estos pacientes les evitaría las complicaciones derivadas de la toxicidad de estos tratamientos y disminuiría de forma importante los costos del tratamiento.

Existe sobrada evidencia de la asociación del Ki67 con el tamaño tumoral, tumores más pequeños poseen índices menores de Ki67, así como con el estado de los receptores hormonales. Su relación con la afectación linfática, la invasión linfovascular, o el HER2 es más controvertida^{2,10}. Estos autores tampoco encuentran asociación con la edad.

También se ha visto que el Ki67 se relaciona con el riesgo de recidiva medido por el score del Oncotype.¹¹

En cuanto a la edad como factor pronóstico, las mujeres diagnosticadas con cáncer de mama a los 20-30 años parecen tener un peor pronóstico que las mujeres diagnosticadas en la mediana edad. Las jóvenes con cáncer de mama tienen más probabilidad de tener afectación axilar linfática, ser RE negativas, HER2 positivo y tumores triple negativo. Además, es más probable que se presenten en una etapa avanzada o tengan un diagnóstico tardío debido a un bajo índice de sospecha y a no ser población objetivo del cribado. Estos factores predisponen a más recidivas locorregionales y a metástasis a distancia que contribuyen al peor resultado en

mujeres jóvenes. Estos resultados sugieren que las mujeres jóvenes con cáncer de mama, deberían ser consideradas como pacientes de alto riesgo y recibir tratamiento citotóxico adyuvante.²

Otros autores demuestran una mayor recomendación de QT en mujeres <50 años que en las >50. También se ve la asociación entre la edad, grado de diferenciación, T y empleo de quimioterapia con el RS del Oncotype.¹²

Finalmente, existe un grupo de mujeres con cáncer de mama cuyos factores predictivos y pronósticos no son suficientes a la hora de tomar una decisión en cuanto al tratamiento con quimioterapia. En este grupo de mujeres está justificado el uso de determinadas plataformas genéticas como el Oncotype, con el fin de ajustar más el tratamiento y evitar sobretamientos.

2. OBJETIVOS

- Identificar los subgrupos de alto riesgo (Recurrence Score>25) y candidatos a quimioterapia en función de la edad y el perfil molecular (subtipo molecular-Luminal A/B).
- Describir la variación del subtipo molecular según el punto de corte del Ki67 (<20, 20-30, >30) utilizado en el grupo de mujeres de alto riesgo.
- Cuantificar el impacto económico de la realización de Oncotype DX en los subgrupos financiados por Osakidetza.
- Identificar subgrupos en los que el Oncotype DX tiene mayor impacto económico a favor o en contra como posible sugerencia de modificación de las indicaciones financiables.

3. METODOLOGÍA

3.1 DISEÑO Y SUJETOS A ESTUDIO.

Se trata de un estudio observacional transversal con reclutamiento retrospectivo, realizado en pacientes diagnosticados de cáncer de mama infiltrante desde el 1 de enero de 2012 hasta el 31 de enero de 2019 en la Unidad Funcional de Mama del el Hospital Universitario de Basurto. Se incluyen los tumores Luminal A y Luminal B

HER2 negativos, en los cuales se ha realizado la plataforma genética Oncotype DX para definir la indicación o no de tratamiento quimioterápico adyuvante.

3.2 VARIABLES

3.2.1 Dependientes

3.2.1.1 Recurrence Score (RS): medido por la plataforma Oncotype DX, analiza 21 genes de las células tumorales y sirve como valor predictivo y pronóstico.

- Para el análisis de datos esta variable se ha dividido en 3 grupos: bajo riesgo (0-10), riesgo intermedio (11-25) y alto riesgo (≥ 25 -100).

3.2.1.2 Ki67: valor que mide la proliferación celular.

- Para el análisis de datos se utilizan dos variables: una con un punto de corte en 14%, y otra con dos puntos de corte en 20% y 30%.

3.2.2 Independientes

3.2.2.1 Edad en el momento del diagnóstico.

- Para el análisis de datos se ha dividido en <50 y >50 años.

3.2.2.2 Subtipo molecular:

- Luminal A: RE+/HER2- con Ki67 $<14\%$.
- Luminal B: RE+/HER2- con Ki67 $>14\%$.

3.2.2.3 Estadio T patológico, categorizado según la clasificación TNM de la AJCC.¹³

- T1: Tumor < 2 cm. en su mayor dimensión.
 - o T1a: tamaño tumoral $<0,5$ cm.
 - o T1b: tamaño tumoral 0,5-1cm.
 - o T1c: tamaño 1-2cm.
- T2: tamaño 2-5 cm.

- T3: >5cm.

3.2.2.4 Afectación ganglionar N¹³

- pNx: no evaluables.
- pN0: no afectación histológica.
- pN1mi: micrometástasis (> 0.2 mm, ninguna > 2.0 mm).
- pN1a: metástasis en 1 a 3 ganglios axilares linfáticos.

3.3 CASOS ONCOTYPE FINANCIADOS POR OSAKIDETZA

Osakidetza financia el test de Oncotype en los casos que no presenten afectación ganglionar, o si la hay, que sea micrometastásica, junto con los siguientes criterios:

- **0,5 a 1 cm:** Al menos dos de los tres siguientes criterios:
 - Grado histológico 3
 - Ki 67 \geq 14%
 - Invasión linfovascular extensa
- **1 a 2 cm:** Todos excepto los que cumplan los dos siguientes criterios:
 - Grado 1
 - Ki 67<14%
- **2 a 5 cm**

Todos excepto los grado 3.

En algún caso puntual se ha realizado Oncotype DX en tumores Luminal A pN1a (1-3 adenopatías positivas).

3.4 CUANTIFICACIÓN DE COSTES.¹⁴

Tabla 1. Costes de los tratamientos y Oncotype

	Consumo de Recursos	Coste unitario
Evaluación RS-Oncotype DX	1	2,620€/test
Quimioterapia		
• TAC	6	2185,29€/ 6ciclos
• TC	4	1535,93€/ 4 ciclos
• CAF	6	2251€/ 6 ciclos
• AC	4	1489€/ 4 ciclos
• AC-Paclitaxel	4+12	3596,73€/ 4 +12 ciclos
Hormonoterapia		
• Tamoxifeno	1	0,27€/dosis diaria
• Inhibidores aromatasa	1	3,09€/ dosis diaria
G-CSF	1	78€/ciclo de quimioterapia
Ingresos por toxicidad	1	1620,8€/ingreso
Costes de seguimiento	1	129,19€/consulta
Productividad	1	1881€/ mes de baja

Se asume un 15% de ingresos por toxicidad.

3.5 ANALISIS ESTADÍSTICO

Se ha realizado una estadística descriptiva, utilizando media y desviación estándar para las variables continuas, y proporciones para las variables categóricas. Para analizar la asociación de factores clínicos y moleculares con la edad se han comparado las medias en las diferentes categorías de estas variables con la T de Student o el análisis de varianza. El análisis de la asociación del Ki67 (en >14 % y ≤14%) y el Recurrence Score (del 0-10, 11-25, ≥25) con otras características se ha estudiado con la Chi-cuadrado de Pearson. Se ha considerado diferencias estadísticamente significativas con valores $p < 0,05$. El programa estadístico utilizado ha sido el SPSS v.23.

4. RESULTADOS

Se analizan 328 mujeres con una edad media de 57 años (mediana 56 años y DS 9). Como se muestra en la **Tabla 2** un 76% de estas son mayores de 50 años, un 65% son Luminales B y Ki 67 > 14%. El Recurrence Score es <10 en un 20%, de 11-25 en un 63% y mayor de 26 en el 16% de la muestra. En cuanto al tamaño tumoral, el 81% corresponde a estadios T1 y el 19% a estadios T2 o T3. Finalmente, en cuanto al estado de los ganglios linfáticos, un 26% tienen afectación ganglionar (micrometástasis o N1).

Tabla 2. Características clínicas y moleculares de la muestra.

		N	%
Edad	<50	77	23,5%
	≥50	251	76,5%
Subtipo Molecular	Luminal A	116	35,4%
	Luminal B	212	64,6%
Ki67	≤14	116	35,4%
	>14	212	64,6%
Recurrence Score	RS≤10	68	20,7%
	RS 11-25	208	63,4%
	RS ≥25	52	15,9%
Estadio T	pT1a, pT1b	41	12,5%
	pT1c	224	68,3%
	pT2, pT3	63	19,2%
Estadio N	pN0	243	74,1%
	pNmic	81	24,7%
	N1a	4	1,2%

4.1 ASOCIACIÓN DE LA EDAD CON FACTORES ANALIZADOS.

En la **Tabla 3**, se presentan las medias de edad en función de factores clínicos y factores moleculares. Las edades son mayores en estadios precoces, T1 frente a T2, y N0 frente a N1. Estas diferencias no alcanzan significación estadística. En cuanto al Ki67 las mujeres con un valor $\leq 14\%$ son más jóvenes (55,2 años) que las de $>14\%$ (58,2 años). Esta diferencia es estadísticamente significativa: $p=0,005$. Por lo tanto, los Luminales B presentan mayor media de edad de forma estadísticamente significativa.

Las mujeres con un Recurrence Score ≥ 25 tienen una media de cerca de 59 años y las de $RS < 25$ una media de 56 años. Esta diferencia no es estadísticamente significativa ($p=0,17$).

Tabla 3. Asociación de la edad con factores clínicos y moleculares.

		EDAD		P valor
		Media	Desviación estándar	
Estadio T	T1	57.58	8.91	0,08
	T2	55.54	10.64	
Estadio N	pN0	57.70	9.28	0,09
	pNmic, pN1	55.73	9.18	
Ki67	≤ 14	55.24	9.15	0,005
	> 14	58.25	9.20	
RS	< 25	56.88	9.24	0,17
	≥ 25	58.81	9.44	
Subtipo Molecular	Luminal A	55.24	9.15	0,005
	Luminal B	58.25	9.20	

4.2 ASOCIACIÓN DE LOS FACTORES ANALIZADOS CON EL KI67.

En la **Tabla 4** se describen las diferencias en función de un Ki67 bajo ($\leq 14\%$) o alto ($>14\%$). En cuanto al RS, las mujeres con una puntuación <25 tienen un 59% Ki67 $>14\%$ y en las de $RS \geq 25$ son 92% las que tiene un Ki67 $>14\%$. Esta diferencia es estadísticamente significativa ($p < 0,0005$). Únicamente un 7,7 % de tumores Luminal A presentan un RS de alto riesgo.

Respecto a la edad, las mujeres con un Ki67 $>14\%$ tienen una media de edad de 58,3 años, y las de $\leq 14\%$ una media de 55,5 años ($p < 0,005$).

En cuanto a los factores clínicos, ni el Estadio T, ni el Estadio N, se asocian al Ki67.

Tabla 4. Asociación entre factores clínicos, Recurrence Score y edad con el Ki67.

		Ki67				P valor
		≤ 14		> 14		
		N	%	N	%	
Estadio T	pT1a, pT1b	15	36,6%	26	63,4%	0,5
	pT1c	75	33,5%	149	66,5%	
	pT2, pT3	26	41,3%	37	58,7%	
Estadio N	pN0	84	34,6%	159	65,4%	0,6
	pNmic, pN1	32	37,6%	53	62,4%	
RS	<25	112	40,6%	164	59,4%	$<0,0005$
	≥ 25	4	7,7%	48	92,3%	
Edad (media, DS)		55,5 (9,1)		58,3 (9,2)		0,005

En la **Tabla 5**, se puede observar la relación entre los factores clínicos, pero esta vez el Ki67 subdividido en 3 grupos (≤ 20 , 20-30, ≥ 30). No se observan diferencias estadísticamente significativas entre los distintos subgrupos de estadio T y N y el Ki67.

Tabla 5. Asociación entre factores clínicos y Ki67 en 3 grupos.

		Ki67						P valor
		≤20		20-30		≥30		
		N	%	N	%	N	%	
Estadio T	pT1a, pT1b	30	73,2%	1	2,4%	10	24,4%	0,334
	pT1c	146	65,2%	20	8,9%	58	25,9%	
	pT2, pT3	48	76,2%	4	6,3%	11	17,5%	
Estadio N	pN0	165	67,9%	18	7,4%	60	24,7%	0,221
	pNmic, pN1	59	69,4%	7	8,2%	19	22,4%	

4.3 ASOCIACIÓN DE LOS FACTORES ANALIZADOS CON EL RECURRENCE SCORE DEL ONCOTYPE.

En la **Tabla 6**, se presenta la asociación del Recurrence Score con factores clínicos y moleculares. No se observan diferencias significativas en la puntuación de RS en Estadio T o N. En cuanto al Ki67 y subtipo molecular, mientras en una puntuación <10 en el Recurrence Score el 60% son Luminales B o Ki67 >14%, en las mujeres con puntuación ≥25, las Luminales B y Ki67 >14% alcanzan el 92%, con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0005$).

Tabla 6. Asociación entre Recurrence Score con las características clínicas y moleculares.

		Recurrence Score						P valor
		RS ≤10		RS 11-25		RS ≥25		
		N	%	N	%	N	%	
Subtipo Molecular	Luminal A	28	41,2%	84	40,4%	4	7,7%	<0,0005
	Luminal B	41	60,3%	124	59,6%	48	92,3%	
Estadio T	pT1a, pT1b	10	14,7%	25	12,0%	6	11,5%	0,9
	pT1c	44	64,7%	143	68,8%	37	71,2%	
	pT2, pT3	14	20,6%	40	19,2%	9	17,3%	
Estadio N	pN0	46	67,6%	159	76,4%	38	73,1%	0,4
	pNmic, pN1	22	32,4%	49	23,6%	14	26,9%	

En la **Tabla 7**, se observa la asociación entre el Recurrence Score y el Ki67 dividido en ≤ 20 , 20-30 y ≥ 30 . Observando la **Tabla 4**, se ve que con un $RS > 25$ hay un 7% con $Ki < 14\%$. En la **Tabla 7**, vemos que hay un 30,8% con un $Ki67 < 20\%$.

Tabla 7. Asociación de RS con Ki67 en 3 grupos (≤ 20 , 20-30, ≥ 30).

	Ki67						P valor
	$\leq 20\%$		20-30%		$\geq 30\%$		
	N	%	N	%	N	%	
Recurrence Score RS ≤ 10	53	77,9%	5	7,4%	10	14,7%	<0,0005
RS 11-25	155	74,5%	15	7,2%	38	18,3%	
RS ≥ 26	16	30,8%	5	9,6%	31	59,6%	

Como se ve en la **Tabla 8**, según las indicaciones de Osakidetza para realizar el test Oncotype, entre los tumores de 0,5-1 cm, 1-2cm y 2-5 cm, en todos ellos el resultado de Recurrence Score más frecuente ha sido el intermedio 11-25 (61%, 63,8%, 62,9% respectivamente). Esta asociación no es estadísticamente significativa: $p=0,732$.

Tabla 8. Recurrence Score en los subtipos T financiados por Osakidetza.

	Estadio T						P valor
	0,5-1 cm		1-2 cm		2-5 cm		
	N	%	N	%	N	%	
Recurrence Score RS ≤ 10	10	24,4%	44	19,6%	14	22,6%	0,732
RS 11-25	25	61,0%	143	63,8%	39	62,9%	
RS ≥ 25	6	14,6%	37	16,5%	9	14,5%	

4.4 COSTE DE TRATAMIENTO

Se han calculado los costes del tratamiento con quimioterapia (QMT) y/o hormonoterapia antes y después del uso del Oncotype DX, resumidos en la **Tabla 9**.

El régimen de quimioterapia que se ha tenido en cuenta ha sido CAF 6 Ciclos. A los gastos de quimioterapia y hormonoterapia se les ha sumado el coste de las consultas de seguimiento, calculado en 6 consultas (774€) a las mujeres tratadas con quimioterapia, y 2 consultas (258€) a las tratadas únicamente con hormonoterapia.

Además, se ha calculado también el gasto supuesto por G-CSF administrado en cada ciclo de QMT, lo que supone 468 €/6ciclos. Suponiendo que un 15% de las pacientes a las que han tratado con QMT presentan toxicidad, se ha calculado el coste de los ingresos (1620€/ingreso). Por último, teniendo en cuenta la productividad laboral, se han estimado 12 meses de baja (22.572€) en las mujeres tratadas con quimioterapia y 6 meses (11.286€) en las que no.

Tabla 9. Costes divididos y totales antes y después de Oncotype.

	N	HT- Tamoxifeno (5 años)	HT- Inh. Aromatasa (5 años)	CAF (6 ciclos)+ HT	QT+HT+Otros*	Total
Pre Oncotype						10.082.297€
<50	77			211.211€	2.063.600€	
>50	251			1.980.390€	8.018.697€	
Oncotype						7.673.453€
<50					2.088.172€	
RS 0-10	12				175.872€	
RS 11-25	56				1.647.520€	
RS >26	9			71.318€	264.780€	
>50		5904€		24.687€	5.585.281€	
RS 0-10	56		315.784€		1.108.968€	
RS 11-25	152		857.128€		3.010.056€	
RS >26	43				1.466.257€	

*Otros: seguimiento, G-CSF, ingresos por toxicidad, baja laboral.

Se observa una diferencia de 2.408.844€ a favor del uso de Oncotype. Destacar que esta diferencia se debe únicamente al uso del Oncotype en postmenopáusicas, pues en premenopáusicas la diferencia es de -24.572€. En caso de que a las premenopáusicas de riesgo intermedio (RS 11-25) se les tratase únicamente con hormonoterapia, el gasto sería a favor del uso de Oncotype, pues la diferencia ascendería a 802.212€, 3.211.056€ en total.

En la **Tabla 10**, se observan los gastos desglosados en función del subtipo molecular. Se ve que existe un mayor ahorro con el Oncotype en el subtipo Luminal B. Además, se observa que entre las premenopáusicas, únicamente las Luminales B reducen el gasto tras el Oncotype. Por lo tanto, el balance negativo del uso del Oncotype en premenopáusicas se debe exclusivamente a los subtipos Luminales A.

Tabla 10. Diferencia económica según subgrupos moleculares y edad

	Pre Oncotype	Oncotype	Ahorro
Luminal A			909.897€
<50 años	884.400€	911.804€	-27.431€
>50 años	2.619.654€	1.682.353€	
Luminal B			1.498.947€
<50 años	1.179.200€	1.176.368€	
>50 años	5.399.043€	3.902.928€	
	10.082.297€	7.673.453€	

En la **Tabla 11**, se observan las diferencias económicas en función de la edad según la principal indicación de financiación de Oncotype DX por Osakidetza. Se ve que en el grupo de las premenopáusicas, el balance negativo descrito anteriormente se debe a los grupos de tamaño 1-2cm.

Tabla 11. Diferencias económicas según edad y financiación Oncotype por Osakidetza.

	Pre-Oncotype	Oncotype	Diferencia
<50 años			
0,5-1 cm	187.600€	176.412€	11.188€
1-2 cm	1.340.000€	1.382.416€	-42.416€
2-5cm	536.000€	529.344€	6.656€
>50 años			
0,5-1 cm	1.086.198€	755.259€	330.939€
1-2 cm	5.558.778€	3.896.536€	1.662.242€
2-5cm	1.373.721€	933.486€	440.235€

5. DISCUSIÓN

En nuestra población, un 16% de las pacientes con indicación de realizar Oncotype DX presentan Recurrence Score (RS) ≥ 25 , lo que les otorga un alto riesgo de recidiva y un beneficio de $>15\%$ en términos de reducción de riesgo si se asocia quimioterapia adyuvante.

Las características moleculares difieren según la edad de las pacientes. Por un lado, la edad media de las mujeres con niveles de Ki67 menores del 14% (Luminales A) es inferior a las de niveles $>14\%$ (Luminales B) y por otro, las mujeres jóvenes han presentado un Recurrence Score bajo, lo contrario que las mayores de 50 años. También se ha visto que no hay diferencias de tamaño tumoral ni de afectación ganglionar entre pre y postmenopáusicas.

Múltiples ensayos afirman que entre las mujeres jóvenes es más frecuente encontrar estadios avanzados, características histológicas y biológicas más agresivas, todo ello deriva en un peor pronóstico del cáncer de mama en este grupo de pacientes^{15,16}. Además, a diferencia de nuestros resultados, existe evidencia de que en las mujeres jóvenes también se observan niveles de Ki67 más elevados¹⁷, así como mayores puntuaciones en el Recurrence Score del Oncotype DX¹⁶. Es posible que en nuestros resultados estén implicados factores de confusión que no han sido tenidos en cuenta.

Uno de los grandes determinantes para que las mujeres jóvenes presenten estadios más avanzados, es que no participen en los programas de cribado de cáncer de mama. Además, en este grupo de pacientes la tasa de tumores triple negativo, HER2 puro o T2 y grados 3 es mayor, por lo que la indicación de quimioterapia está establecida. En las mujeres jóvenes de nuestra muestra se observa una tendencia a estadios T más avanzados y a mayor afectación axilar aunque no se alcanzan diferencias estadísticamente significativas.

En este estudio no se observa relación alguna entre los factores clínicos como el tamaño tumoral y la afectación ganglionar con el Ki67. *Panal Cusati M. et al*³, en un estudio transversal de 110 pacientes con estadios iniciales de cáncer de mama encuentran asociación entre los niveles de Ki67 y factores clínicos: tumores con más de 15mm de tamaño se asociaron con niveles de Ki67 mayores al 20%. Se intuye

que a mayor grado histológico, mayor grado de Ki67. Encontraron una asociación inversa significativa entre la expresión de receptores hormonales y expresión de Ki67. A pesar de estos hallazgos, no se encontró relación significativa entre el grado de expresión de Ki67 con la edad y afectación ganglionar. Destacar de este estudio que la muestra de pacientes no es grande, y además la mayoría tienen estadios iniciales de cáncer de mama. Por otro lado, en el metaanálisis de de *Azambuja E. et al.*¹⁸ compuesto en total por 12.155 pacientes, afirman que el mal pronóstico de un Ki67 alto se confirma tanto en pacientes con ganglios afectos como en no afectos. *Molino A. et al.*¹⁰, también afirman la existencia de una relación significativa entre el valor de Ki67 y el tamaño tumoral, y estado de afectación ganglionar, así como con los receptores de hormonas. Existen más estudios que muestran asociación significativa entre el Ki67 elevado, mayor edad, mayor tamaño tumoral y menor expresión de receptores de hormonas^{19,20}.

En este estudio se ha visto que los Luminales B (>14%) tienen mayores niveles de RS. Un resultado similar es descrito por *Singh Thakur S. et al.*¹⁹. Tanto es así, que en un análisis multivariado, afirman que el Ki67 podría predecir el resultado del Oncotype DX con una precisión del 97%. Existen más estudios que han analizado la posibilidad de la sustitución del RS por Ki67, sin hallazgos significativos²¹.

En coherencia con lo descrito por *M. Bello D., et al.*²² este estudio muestra que los factores clínicos no predicen la biología tumoral. Si se confirmara este resultado habría que cuestionarse la utilización de tamaño tumoral como criterio de realización del Oncotype DX. Sin embargo existen otros estudios en los que si observan una asociación donde los tumores <2cm con receptores hormonales positivos tienen muy bajo riesgo de presentar un valor alto en el resultado del Oncotype²³.

Entre nuestros resultados se ha visto que con un punto de corte del Ki67 en 14, existirían un 7% de Luminales A entre los Recurrence Score de alto riesgo. Mientras que si el punto de corte se sitúa en 20, el porcentaje de Luminales A, ascendería a un 31%. Por tanto, hay un 21% de tumores de alto grado que serían considerados Luminales A, con las consecuencias de infratratamiento que ello podría implicar. *Lerma E. et al.*²⁰ concluyen que un punto de corte de 20% se asocia a una disminución de supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad

Siguiendo las guías de quimioterapia en cáncer de mama antes de la implantación del Oncotype, 305 personas de la muestra de este estudio se verían sometidas a tratamiento quimioterápico. Sin embargo, usando el Recurrence Score como guía para decidir el tratamiento, 108 mujeres se tratarían con quimioterapia. Por lo tanto la recomendación inicial de tratamiento se modifica en 197 (64,5%) pacientes y esto supone un ahorro a la práctica clínica habitual de 2.408.844€, 7.344€ por paciente. *Loncaster J. et al*²⁴ en un estudio con una muestra de 201 pacientes, hallan una reducción de 60,3% de indicación de quimioterapia en pacientes con afectación ganglionar negativa, y un 69,2% en aquellos con afectación ganglionar postmenopáusicas. En otro estudio²⁵ también se ha visto una reducción del 38% de personas a las que se les trata con quimioterapia. Por otro lado, *Lux M. P., et al*.²⁶ en su estudio compararon el impacto económico de 4 tests genómicos: Oncotype DX, Mammaprint, Prosigna y Endopredict. Oncotype DX fue la única plataforma genética con ahorros sustanciales de costes.

Además, se ha visto que en el grupo de las mujeres premenopáusicas, existe un balance negativo en contra de Oncotype DX. Este resultado se debe principalmente a los subtipos Luminales A y tamaño tumoral 1-2cm. Un explicación para este resultado podría ser que entre el grupo de Luminales A en premenopáusicas, un 88% de ellas tienen un RS de riesgo intermedio (RS 11-25), por lo que todas ellas serían tratadas con quimioterapia, aumentando el precio total por el precio añadido de la prueba Oncotype DX en cada una de ellas. Lo mismo ocurriría con el tamaño 1-2cm, pues en ese grupo un 76% corresponde a estadios de riesgo intermedio. Sin embargo esta diferencia negativa es tan pequeña, 24.572€, que podría deberse a factores del cálculo de los costes no tenidos en cuenta. Por ello se debe individualizar el tratamiento con quimioterapia en premenopausicas con RS intermedios, ya que si este es de 16-20, el beneficio está en torno a 1,6%, y si el RS es de 21-25, el beneficio alcanza un 6,5% en términos de reducción de riesgo.

Por otro lado, los grupos en los que mayores diferencias ha habido a favor del Oncotype, han sido las postmenopáusicas, tanto los grupos Luminales A y B, y aquellos de tamaño 1-2cm. Esto también puede deberse a lo mencionado anteriormente, ya que un 60% de tumores de 1-2cm en postmenopáusicas, tienen

riesgos intermedios en el Oncotype DX, pero esta vez, son tratadas únicamente con hormonoterapia, por lo que el gasto disminuye.

El Oncotype DX ha demostrado ser una herramienta fundamental en las mujeres con cáncer de mama en estadios precoces para definir la indicación de quimioterapia adyuvante, en aquellas en las que su indicación es discutida por sus características clínicas. Su realización bajo indicación precisa, no solo presenta un importante impacto económico, si no también una estrecha relación con la paciente sometida a la prueba, pues evita la quimioterapia y con ello una mayor afectación psicológica ante el riesgo de recidiva, riesgo de complicaciones y grave deterioro en su calidad de vida, evitando también secuelas tardías como neurotoxicidad y toxicidad cardiaca.

Este estudio presenta ciertas limitaciones. No describe tasas de recidivas locales ni sistémicas por no considerarse objeto del mismo, y precisar mayor tiempo de seguimiento de la cohorte de pacientes. Además, todas las pacientes tienen estadios de cáncer precoces, por lo cual, puede ser que la potencia estadística sea insuficiente para encontrar diferencias en los factores clínicos en función de factores moleculares. También hay que señalar que en el análisis de costes no se han tenido en cuenta los costes asociados a las recurrencias del tumor u otros factores.

El beneficio que aporta la realización de la plataforma Oncotype DX, no solo se mide en términos económicos si no en información pronóstica y sobre todo predictiva de tratamiento con quimioterapia. De hecho, en las actualizaciones de las diferentes guías clínicas ya se incluye como decisorio a la hora de indicar el tratamiento con quimioterapia adyuvante. En términos económicos, está claro que en la población postmenopáusica, supone una inversión que ahorra costes. En la población premenopáusica, el ahorro es menor. Si en pacientes premenopáusicas, con un RS intermedio se individualizara la indicación de quimioterapia, se incrementaría el ahorro en costes y se disminuiría la morbilidad.

El conocer la ganancia en supervivencia aportada por el Recurrence Score requiere seguimiento a largo plazo y una prolongación de esta línea de investigación.

6. CONCLUSIONES

Un 16% de nuestras pacientes han obtenido un Recurrence Score de alto riesgo (≥ 25). Las mujeres de mayor edad presentan mayor Ki67, y a su vez mayor riesgo de presentar valores altos en el Recurrence Score. Los subtipos moleculares Luminales B son los que más riesgo poseen de presentar RS altos.

Entre las mujeres de Recurrence Score de alto riesgo, un 21% de los tumores pasan de Luminales B a Luminales A cuando el punto de corte de Ki67 utilizado es 20% en lugar de 14%. Esto supone que muchas pacientes sean consideradas de bajo riesgo cuando biológicamente no lo son. Se considera un corte adecuado Ki-67 de 14 para evitar infratratamientos.

Con el uso de Oncotype DX, la recomendación inicial de tratamiento se modifica en 197 (64,5%) pacientes y esto supone un ahorro a la práctica clínica habitual de 2.408.844€. Esta diferencia a favor del uso de Oncotype, depende fundamentalmente del grupo de las postmenopáusicas, sobre todo en los Luminales B y tamaños 1-2cm.

En el grupo de premenopáusicas de riesgo intermedio se debe individualizar la indicación de quimioterapia adyuvante, puesto que el beneficio del tratamiento en pacientes con RS 16-20 sería de 1,6% y en RS 21-25 del 6,5% en términos de reducción de riesgo. Considerando la indicación establecida de RS ≥ 25 , esto supone un beneficio $>15\%$ en términos de recurrencia con quimioterapia adyuvante.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Aecc.es [Internet] Asociación Española Contra el Cáncer. Pronóstico del Cáncer de Mama: Mortalidad y Esperanza de vida. 2018 [cited 11 March 2019]. Disponible en: <https://www.aecc.es/es/todo-sobre-cancer/tipos-cancer/cancer-mama/mas-informacion/evolucion-cancer-mama>.
2. Sesp.m.es [Internet] Factores pronósticos y predictivos en cáncer de mama. Una visión evolutiva de la morfología a la genética. Fundación Española de Senología y Patología Mamaria. 2017 [cited 11 March 2019].
3. Panal Cusati M, Herrera de la Muela M. Correlación entre la expresión de Ki67 con factores clásicos pronósticos y predictivos en el cáncer de mama precoz. *Revista de Senología y Patología Mamaria*. 2014; 27 (4): 147-196.
4. Curigliano G, Burstein HJ, E PW, Gnant M, Dubsy P, Loibl S, Colleoni M, Regan MM, Piccart-Gebhart M, Senn HJ, et al. De-escalating and escalating treatments for early-stage breast cancer: the St. Gallen International Expert Consensus Conference on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2017. *Ann Oncol*. 2017; 28:1700–12.
5. Ayala de la Peña F, Andrés R, Garcia-Sáenz JA, Manso L, Margelí M, Dalmau E. SEOM clinical guidelines in early stage breast cancer (2018). *Clin Transl Oncol*. 2019 Jan; 21(1):18-30.
6. Gradishar W, Anderson B. NCCN Guidelines ® Insights Breast Cancer, Version 1.2017. 2017 April; 15 (4).
7. Sparano J, Robert J M. Adjuvant Chemotherapy Guided by a 21-Gene Expression Assay in Breast Cancer. *The New England Journal of Medicine*. 2018; 379:111-121.
8. E. Senkus, S. Kyriakides. Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* (2015) 26 (suppl 5): v8-v30
9. Györffy, B, Hatzis, C, Sanft, T, Hofstatter, E, Aktas, B, & Pusztai, L. (2015). Multigene prognostic tests in breast cancer: past, present, future. *Breast cancer research: BCR*, 17(1): 11.

10. Molino A, Micciolo R, Turazza M, Bonetti F, Piubello Q, Bonetti A, Nortilli R, Pelosi G, Cetto GL. Ki-67 immunostaining in 322 primary breast cancers: associations with clinical and pathological variables and prognosis. *Int J Cancer*. 1997 Aug 22; 74(4): 433-7
11. Thakur SS, Li H, Chan AMY, Tudor R, Bigras G, Morris D, Enwere EK, Yang H. The use of automated Ki67 analysis to predict Oncotype DX risk-of-recurrence categories in early-stage breast cancer. *PLoS One*. 2018 Jan 5; 13(1):e0188983.
12. Williams AD, Reyes SA, Arlow RL, Tchou J, De La Cruz LM. Is Age Trumping Genetic Profiling in Clinical Practice? Relationship of Chemotherapy Recommendation and Oncotype DX Recurrence Score in Patients Aged < 50 Years versus ≥ 50 Years, and Trends Over Time. *Ann Surg Oncol*. 2018 Oct; 25(10):2875-2883.
13. AJCC Cancer Staging Form Supplement. 8th edition. American Joint Committee on Cancer. 2018
14. Ibarrodo O, Freundlich F, Alvarez I, Dominguez S, Martinez del Prado P, Plazaola A, Mar J. Análisis coste-utilidad del test multigénico Oncotype DX® en el Sistema Vasco de Salud mediante un modelo de simulación de eventos discretos. Septiembre 2017. 37º Jornadas de Economía de la Salud.
15. Nixon AJ1, Neuberg D, Hayes DF, Gelman R, Connolly JL, Schnitt S, Abner A. Relationship of patient age to pathologic features of the tumor and prognosis for patients with stage I or II breast cancer. *J Clin Oncol*. 1994 May; 12(5):888-94.
16. Lee, H. B, & Han, W (2014). Unique features of young age breast cancer and its management. *Journal of breast cancer*, 17(4): 301–307.
17. Shokouh T Z, Ezatollah, A, & Barand, P. (2015). Interrelationships Between Ki67, HER2/neu, p53, ER, and PR Status and Their Associations With Tumor Grade and Lymph Node Involvement in Breast Carcinoma Subtypes: Retrospective-Observational Analytical Study. *Medicine*, 94(32), e1359.
18. de Azambuja E, Cardoso F, de Castro G Jr, Colozza M, Mano MS, Durbecq V, Sotiriou C, Larsimont D, Piccart-Gebhart MJ, Paesmans M. Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12,155 patients. *Br J Cancer*. 2007 May 21; 96(10):1504-13.

19. Thakur SS, Li H, Chan AMY, Tudor R, Bigras G, Morris D, Enwere EK, Yang H. The use of automated Ki67 analysis to predict Oncotype DX risk-of-recurrence categories in early-stage breast cancer. *PLoS One*. 2018 Jan 5; 13(1):e0188983.
20. Enrique Lerma Puertas, Alberto Gallardo Alcaniz, Bárbara García Valdecasas, Rolando Terán Gúzman, Paola Murata Yonamine, Agustí Barnadas Molins. Análisis multivariado del Ki67 como factor pronóstico en cáncer de mama. En: Congreso de la Mama. Madrid 2015.
21. Tan AC, Li BT, Nahar K, Danieletto S, Fong ES, Curren T, Parasyn A, Middleton P, Wong H, Smart D, Rutovitz JJ, McCloud P, Hughes TM, Marx GM. Correlating Ki67 and other prognostic markers with Oncotype DX recurrence score in early estrogen receptor-positive breast cancer. *Asia Pac J Clin Oncol*. 2018 Apr; 14(2):e161-e166.
22. Bello DM, Russell C, McCullough D, Tierno M, Morrow M. Lymph Node Status in Breast Cancer Does Not Predict Tumor Biology. *Ann Surg Oncol*. 2018 Oct; 25(10):2884-2889.
23. Huang JL, Kizy S, Marmor S, Altman A, Blaes A, Beckwith H, Tuttle TM. Tumor grade and progesterone receptor status predict 21-gene recurrence score in early stage invasive breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat*. 2018 Dec; 172(3):671-677.
24. Loncaster J, Armstrong A, Howell S, Wilson G, Welch R, Chittalia A, Valentine WJ, Bundred NJ. Impact of Oncotype DX breast Recurrence Score testing on adjuvant chemotherapy use in early breast cancer: Real world experience in Greater Manchester, UK. *Eur J Surg Oncol*. 2017 May; 43(5):931-937.
25. Chin-Lenn L, De Boer RH, Segelov E, Marx GM, Hughes TM, McCarthy NJ. The impact and indications for Oncotype DX on adjuvant treatment recommendations when third-party funding is unavailable. *Asia Pac J Clin Oncol*. 2018 Dec; 14(6):410-416.
26. Lux MP, Nabieva N, Hildebrandt T, Rebscher H, Kümmel S, Blohmer JU, Schrauder MG. Budget impact analysis of gene expression tests to aid therapy decisions for breast cancer patients in Germany. *Breast*. 2018 Feb; 37:89-98.