



UNIVERSIDAD
DE LA REPUBLICA
URUGUAY



Avances en genómica aplicados al cáncer de mama en pos de una medicina personalizada

Grupo de trabajo 43:

Estefany Carlis

Rosina Casas

Mercedes Castro

Lucía Viera

Orientador: María Laura Chiribao

Departamento: Bioquímica

Índice

1. Resumen	3
2. Fundamentación de la propuesta	4
3. Introducción	5
4. Objetivos General y Específicos	12
5. Metodología	12
6. Resultados	13
a. Genómica del Cáncer de Mama	13
b. Aplicaciones de la genómica en el manejo clínico del cáncer de mama	16
<i>i. Clasificación del CM según su perfil de expresión génica</i>	16
<i>ii. Biomarcadores moleculares pronósticos y predictivos</i>	18
<i>iii. Farmacogenómica</i>	22
c. Situación en Uruguay	24
d. Medicina Personalizada	25
7. Conclusiones y perspectivas	25
8. Agradecimientos	25
9. Referencias Bibliográficas	26
10. Anexos: Tablas y Figuras	37

Resumen

En las últimas décadas con el advenimiento de las técnicas genómicas de alto rendimiento, comenzó a ser posible el análisis de la secuencia del genoma y el perfil de expresión génica de largas series de cánceres de mama (CM). En este trabajo, se reconocen las fortalezas y limitaciones de las nuevas técnicas genómicas, las micromatrices y la secuenciación de nueva generación, y los avances genómicos en cáncer de mama gracias a su introducción en el campo de investigación clínica. La secuenciación de nueva generación ha permitido identificar tanto en el exoma como en la región no codificante, mutaciones frecuentes, amplificaciones de regiones cromosómicas, polimorfismos de un solo nucleótido y otras variantes que contribuyen al proceso de carcinogénesis o de diseminación a distancia en el CM. La posibilidad de secuenciar el genoma de grandes series de muestras tumorales llevó al surgimiento de consorcios internacionales como el Proyecto Atlas del Genoma del Cáncer y el Cancer Genome Consortium. A través de ellos se ha revelado la gran heterogeneidad genómica que caracteriza al CM. A su vez la secuenciación de regiones no codificantes ha demostrado la existencia de alteraciones en micro ARNs, reguladores post-transcripcionales del ARNm, que estarían involucrados en la carcinogénesis y progresión a metástasis. Las micromatrices, experimentos de alta reproducibilidad y de sencilla interpretación en los datos obtenidos, han hecho importantes contribuciones a la definición de los subtipos intrínsecos del cáncer de mama y al surgimiento de nuevos biomarcadores pronósticos y predictivos, ambos basados en el análisis de los perfiles de expresión génica. Otro campo desarrollado gracias a la introducción de estas técnicas fue la farmacogenómica. En cuanto al CM, es posible el análisis de variantes genéticas interindividuales a nivel de transportadores moleculares, enzimas metabolizadoras o vías de señalización intracelular que se asocian con una respuesta individual distinta a los fármacos de hormonoterapia y quimioterapia usados en el CM. Se destaca el rol de los avances genómicos en CM en el Uruguay, tanto en la práctica clínica como en la investigación científica. Por último, se reconoce el papel de dichos avances en el desarrollo de una medicina personalizada que permita un tratamiento individualizado evitando efectos adversos, gastos innecesarios y por sobretodo que logre aumentar la sobrevida y la calidad de vida de los pacientes.

Fundamentación de la propuesta:

El cáncer es una de las enfermedades más prevalentes a nivel mundial, siendo actualmente responsable del 20% de las muertes en países desarrollados. Se estima que aproximadamente un tercio de la población desarrollará algún tipo de cáncer a lo largo de su vida. Como es sabido el origen de dicha patología está en la acumulación de distintas mutaciones genéticas que le confieren a las células la capacidad de multiplicarse sin control así como el potencial de invadir otros tejidos. A su vez, dentro de un mismo tumor existe una gran heterogeneidad genética entre las distintas poblaciones celulares. El desarrollo tecnológico en los últimos años ha permitido el estudio masivo de genes, generando una nueva rama dentro de la investigación biológica conocida como genómica. El Proyecto Genoma Humano fue la base para el desarrollo exponencial en este campo ya que ha proporcionado información para generar bases de datos de genomas que hoy en día se utilizan para investigar los perfiles de expresión génica del cáncer, entre otras aplicaciones. A su vez, los métodos de secuenciación masiva hacen posible reducir el tiempo y costo del análisis de cientos de miles de genes a la vez. Los estudios de genómica del cáncer han estado enfocados en la identificación de aquellos cambios genéticos que confieren susceptibilidad al desarrollo tumoral, así como el tipo de mutaciones que se encuentran en un tumor primario que le otorgan ciertas características importantes para la terapéutica y el pronóstico. Estos estudios han revelado la existencia de diferencias en el perfil genómico del tumor de cada individuo, lo cual sienta la base de la pregunta de investigación planteada en este trabajo: ¿es posible a través de las nuevas tecnologías genómicas alcanzar una medicina personalizada en el tratamiento del cáncer de mama (CM)? En el presente estudio se presenta una revisión de los avances en genómica en el CM, enfocada a la clasificación molecular de los tumores, la identificación de biomarcadores pronósticos y predictivos y la predicción de la respuesta a fármacos según polimorfismos genéticos. Esta medicina del futuro será posible en tanto seamos capaces de identificar las variaciones genéticas en cada persona y de interpretar esta información para aplicarla a la práctica médica. La importancia de la práctica individualizada radica en lograr un tratamiento adecuado evitando efectos adversos, gastos innecesarios y por sobre todo aumentar la sobrevida y la calidad de vida de los pacientes.

Introducción

Según la Organización Mundial de la Salud el **cáncer** es la quinta causa de muerte a nivel mundial (1). El cáncer es una enfermedad caracterizada por la proliferación celular descontrolada debida a la pérdida de los mecanismos del control del ciclo celular. Esto se debe a la adquisición de modificaciones a nivel genético que pueden ser del tipo mutación puntual, translocación, amplificación, deleción o incluso ganancia o pérdida de un cromosoma completo. Dichas modificaciones genéticas le confieren a las células la capacidad de invadir de forma progresiva y por distintas vías, órganos próximos o incluso diseminarse a distancia (metástasis); características que definen a un tumor como maligno. Éstas anomalías pueden ser provocadas por distintos agentes carcinógenos tales como la radiación ionizante, la radiación ultravioleta, productos químicos, el humo del tabaco y algunos agentes infecciosos (2)(3). Las mutaciones somáticas pueden ser adquiridas durante la replicación normal del ADN, al no corregirse los errores que se producen durante dicho proceso. Este tipo de mutaciones somáticas son las que se encuentran en los cánceres esporádicos. Sin embargo, algunos individuos presentan mutaciones a nivel germinal que son heredadas, las que le confieren susceptibilidad al desarrollo de algunos cánceres, llamados cánceres hereditarios o familiares (Figura 1) (4).

De acuerdo con la última información disponible, las muertes por cáncer constituyen aproximadamente un cuarto (23.8%) del total de las defunciones registradas en Uruguay cada año (5). Anualmente se registran casi 15000 casos nuevos y mueren más de 7700 uruguayos por cáncer. Según datos de la Comisión Honoraria de Lucha Contra el Cáncer, en Uruguay el **cáncer de mama** (CM) es el tumor maligno más frecuente en mujeres, 1 de cada 10 lo desarrollarán a lo largo de su vida. Presenta una tasa de incidencia de 74,75 casos nuevos cada 100.000 habitantes por año, lo que supone que aproximadamente 5 mujeres por día sean diagnosticadas de CM. La mortalidad por CM es de 18,89/100.000 por año. Tanto incidencia como mortalidad varían según el rango etario, mostrando un aumento exponencial a partir de los 40 años (Figura 2). Sin embargo, en las dos últimas décadas se ha observado una tendencia al descenso leve pero sostenida de la mortalidad por CM (5). La clasificación del CM ha sido y es de gran importancia en el manejo terapéutico

de los pacientes. Tradicionalmente la clasificación mediante técnicas de inmunohistoquímica (IHQ) permite diferenciar tres subtipos de CM con diferentes comportamientos biológicos según la expresión del receptor de estrógenos (RE), del receptor de progesterona (RP), y la sobre-expresión del receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER2). El 80% de los CM son *receptores hormonales positivos*. Estos tumores responden bien a la terapia hormonal con Tamoxifeno, un antagonista del RE y con inhibidores de la aromatasas, que suprimen la producción de estrógeno. Los tumores con expresión de RP integran también este grupo de tumores. Un 40% de los tumores RE positivos son RP negativos, los cuales responden en menor medida al Tamoxifeno. Los tumores *HER2 positivos* representan un 13-20% de los CM, de ellos más del 50% son RE y RP negativos. HER2 es usado en la práctica clínica como un marcador de mal pronóstico y como predictor de buena respuesta al tratamiento con el anticuerpo humanizado monoclonal específico anti-HER2, el Trastuzumab (6). Los tumores *triple negativos* (RE, RP y HER2 negativos) constituyen un 10-15%. Este grupo representa un conjunto heterogéneo de tumores con distintas características morfológicas, clínicas y comportamiento biológico. Actualmente se ha incorporado un cuarto biomarcador identificado por IHQ, el Ki-67, una proteína nuclear no histona que es expresada en todas las fases del ciclo celular excepto en la fase G0 por lo cual es utilizado como marcador de proliferación celular y peor pronóstico (6-8).

Dado el origen genético del cáncer, una de las ramas de la ciencia que se dedica a comprender la base patogénica del mismo, entre otros objetos de estudio, es la **Genómica**. Su objetivo es la identificación y estudio de los genes, sus funciones e interacciones, para llegar a comprender y explicar un fenotipo. Existen dos ramas de esta ciencia, la genómica estructural y la funcional, la primera se centra en el conocimiento físico de la estructura del genoma y la segunda en el estudio del resultado de la expresión génica y su correlación con el fenotipo (9). Los avances tecnológicos en el campo de la genómica han permitido la secuenciación de todo el genoma humano, y gracias a esto se han encontrado decenas de miles de mutaciones somáticas en los diferentes tipos de cáncer. La evidencia sugiere que sólo una pequeña minoría de estas mutaciones son esenciales para el desarrollo del cáncer, conocidas como mutaciones conductoras, mientras que a la mayoría, llamadas

mutaciones pasajeras, no se le reconoce importancia biológica significativa en el proceso de carcinogénesis (10)(11). El desarrollo de la genómica ha sido posible gracias a las nuevas técnicas de alto rendimiento que se han desarrollado para el estudio del genoma y del transcriptoma. Éstas surgieron de la interacción entre la química, la ingeniería, la informática y la biología molecular, dando lugar a la biotecnología (12). Las técnicas que han generado mayor impacto en ésta última década son la secuenciación masiva en paralelo y las micromatrices o microarreglos de ADN; las mismas son llamadas técnicas de alto rendimiento por la gran cantidad de datos que procesan en poco tiempo y a menores costos, características que han permitido ampliar su disponibilidad.

Las **micromatrices o microarreglos de ADN**, han tenido un papel protagonista en el desarrollo de la genómica. La base de la tecnología de las micromatrices o chips de ADN es la automatización y robotización de las técnicas clásicas de biología molecular, Southern y Northern blot, siendo el fundamento de la técnica la hibridación de ácidos nucleicos. La principal ventaja con respecto a éstas es la posibilidad de inmovilizar en un chip miles de sondas de ADN, permitiendo el análisis de genomas completos en un solo experimento. Una micromatriz de ADN consiste en una serie de sondas de ADN complementarias a los genes que se desean estudiar, que están fijadas a una superficie sólida con una disposición regular (13). La muestra diana es marcada y puede ser según el tipo de experimento, ADN (búsqueda de secuencias específicas o de variaciones); o ARN (análisis de perfiles de expresión). Un experimento típico con micromatrices sigue los siguientes pasos: fabricación de la matriz, preparación de la muestra que incluye amplificación y marcaje de la misma con fluorocromos, hibridación y análisis de los resultados (13). Existen dos tipos de micromatrices, la de ADNc y la de oligonucleótidos cortos, como se muestra en la figura 3. Los análisis de perfiles de expresión con micromatrices pueden utilizar dos esquemas, el de un color o el de dos colores. En el esquema de un color los perfiles de cada muestra son generados en diferentes chips usando un solo fluorocromo y luego se superponen las imágenes para compararlas. Por el contrario, el esquema de dos colores compara dos muestras marcadas con fluorocromos diferentes e hibridadas en un mismo chip. Las imágenes se obtienen por superposición de

los datos leídos en distintos carriles de un mismo chip (14). Las principales ventajas de esta tecnología son su alta reproducibilidad, la posibilidad de estudiar genomas completos debido a su elevadísima densidad de sondas, el análisis paralelo de distintas muestras, la automatización, la precisión de los datos y la sencillez en la interpretación de los datos mediante herramientas bioinformáticas (14) (15). La aplicación de esta tecnología a la cuantificación del nivel de expresión de un gen es equiparable a la técnica de PCR en tiempo real. La versatilidad de ésta técnica permite utilizarla para establecer perfiles de expresión diferencial de genes en distintas condiciones experimentales, análisis de polimorfismos, presencia de mutaciones puntuales, identificación de blancos terapéuticos, etc.(13). En oncología se utilizan para asociar el patrón génico de un tumor con su comportamiento clínico, clasificar los tumores con respecto al mismo, predecir la respuesta a tratamientos y el pronóstico de supervivencia (9). Por otro lado la **secuenciación de nueva generación** (SNG) o **secuenciación masiva paralela** (MPS) son un conjunto de diferentes tecnologías de alto rendimiento capaces de secuenciar largas cantidades de ADN de forma paralela (en una sola reacción) a menor costo y tiempo en comparación con los métodos tradicionales. El desarrollo de la SNG se basó en el método de secuenciación de Sanger, conocido como secuenciado de primera generación. Este método fue publicado en el año 1977 por el Dr. Frederick Sanger y col. (16). La secuenciación de Sanger está basada en el empleo de dideoxinucleótidos (ddNTPs) de manera que cuando uno de estos nucleótidos se incorpora a una cadena de ADN en crecimiento, ésta no puede continuar elongándose. El proceso se completa leyendo manualmente la secuencia del ADN de interés (Figura 4) (12). Actualmente el método de Sanger sigue utilizándose para el secuenciado de pequeñas cantidades de fragmentos de ADN y es considerado el gold- standard en la citogenética clínica, debido a que es el método con mayor disponibilidad y mayor precisión, a pesar de su bajo rendimiento. Las limitaciones del método de Sanger se pueden visualizar en el hecho de que un genoma humano entero tardaría 60 años en ser secuenciado y costaría entre 5-30 millones de dólares (17). Numerosas innovaciones y perfeccionamientos de la técnica fueron surgiendo desde 1980, permitiendo la automatización de algunos pasos de la técnica, reduciendo esfuerzos manuales y fuentes de error. Entre ellos cabe mencionar la

introducción de un instrumento comercializado por Applied Biosystems Inc, que utilizaba nucleótidos marcados con un fluoróforo para la identificación de los fragmentos de síntesis terminados en cada uno de los ddNTPs. El impacto del mismo se sustentó en la posibilidad de simplificar los procesos manuales. Luego se hizo posible la combinación de las cuatro reacciones en una sola, disminuyendo los costos en reactivos y los requerimientos de ADN (12). Estos avances fueron permitiendo el estudio de genomas de distintos organismos los cuales actualmente son los genomas de referencia que sirven de base a los instrumentos de SNG. A diferencia del método de Sanger donde la obtención de los fragmentos de ADN, la electroforesis en gel y la detección de los mismos son procesos distintos, la SNG es un proceso de reacciones en serie escalonadas que conllevan en general los mismos pasos. Las técnicas de SNG siguen un esquema general donde el primer paso es la *construcción de una biblioteca de fragmentos de ADN*. El ADN a ser secuenciado es fragmentado y se le adhiere al extremo terminal de cada segmento un adaptador universal y específico según la plataforma de secuenciación que se utilice. Éstos sirven de cebadores para la amplificación y secuenciación en pasos posteriores. El segundo paso consiste en la *amplificación de la biblioteca de fragmentos de ADN* in situ sobre una superficie sólida. Estos fragmentos son inmovilizados y esparcidos, a través de pequeñas secuencias complementarias a los adaptadores y fijas a la superficie. Las estrategias de amplificación varían de una plataforma a otra como se muestra en la Tabla 1. La amplificación es un paso necesario para lograr una señal suficiente que permita detectar la secuencia de cada fragmento de ADN. A pesar de que es sabido que se introducen errores de secuenciación debido a que la ADN polimerasa no es 100% precisa, esto se compensa al secuenciar muchas copias de un mismo fragmento disminuyendo así la cantidad relativa de errores para una misma secuencia. Estos primeros pasos constituyen la clave de la SNG que explica su alto rendimiento. El tercer paso lo constituyen las *reacciones de secuenciación* propiamente dichas. Éstas consisten en un paso de adición de nucleótidos, seguido de la detección de la identidad del nucleótido incorporado en cada clona formada por los productos de la amplificación de un mismo fragmento de ADN. Este ciclo de reacciones se repite hasta secuenciar todo el largo del fragmento. Existen también diferencias en las reacciones de secuenciación

entre las distintas plataformas (Tabla 1) (12). El primer método desarrollado para el secuenciado en gran escala fue el pirosecuenciado (454 Life Sciences) en 2005, el cual combinó la PCR en emulsión como novedoso método para la amplificación de los fragmentos de ADN y un sustrato que permite la secuenciación basada en pirofosfato (Figura 5)(18). Más tarde en 2007 se desarrolló el Illumina (Figura 6), seguido en 2010 por el Ion Torrent. Los instrumentos de SNG conducen la secuenciación y detección simultáneamente, de forma automatizada sin requerir un esfuerzo manual, y en una plataforma que permite secuenciar cientos de miles o billones de micro-reacciones durante cada corrida. La enorme cantidad de datos obtenidos requiere de la bioinformática para poder ser analizados. La SNG permite identificar mutaciones recurrentes, rearrreglos cromosómicos complejos y detectar todo tipo de variación genómica en un único experimento, incluyendo variantes de nucleótido único o mutaciones puntuales, pequeñas inserciones y deleciones, inversiones, traslocaciones y duplicaciones (19). Dentro de las aplicaciones de la SNG se destacan dos, una se enfoca en el secuenciado del genoma entero (WGS) y la otra estudia el exoma (la porción codificante del genoma) (WES). El WGS tiene gran utilidad en el campo preclínico a la hora de determinar nuevas aberraciones genéticas involucradas en el desarrollo de una enfermedad, especialmente en una entidad tan compleja como el cáncer. En el presente menos de un 10% del genoma ha sido caracterizado, por lo cual son necesarios más estudios que utilicen la WGS para reconocer la funcionalidad o rol del resto del genoma. Esta limitación hace que poca información de valor sea obtenida clínicamente con la WGS, por lo que es más rentable para el ámbito clínico la WES o la SNG de paneles de genes relacionados con la enfermedad. De esta forma se obtienen las regiones del ADN de interés previo al secuenciado. El WES sirve para ayudar al clínico a confirmar diagnósticos difíciles. A su vez se suele utilizar a nivel preclínico para identificar mutaciones recurrentes y genes de alta probabilidad de mutación relacionados con enfermedades. Dentro de las desventajas de éste diseño se destacan el hecho de que no suele detectar variantes en regiones no-codificantes y que los métodos de capturas de exones (previos al secuenciado) pueden no capturar todos éstos (17)(20). Las técnicas de SNG han disminuido el costo de la secuenciación en más de 100.000 dólares en los pasados 5 años, lo cual ha

permitido extender la disponibilidad de su uso y así generar múltiples aplicaciones en el campo de la investigación. A partir de la introducción de estas técnicas se han podido encontrar nuevos potenciales blancos terapéuticos, correlacionar perfiles genómicos con perfiles fenotípicos e identificar líneas germinales en los cánceres hereditarios. Su potencial ha permitido el desarrollo de nuevas aplicaciones que permitirán en un futuro cercano el diagnóstico temprano de enfermedades. Actualmente muchas de las aplicaciones de la SNG están dirigidas a responder preguntas de investigación. Sin embargo, también tiene un papel relevante en la identificación de factores de susceptibilidad con finalidad preventiva, en estudios de farmacogenómica para predecir respuesta a fármacos y en la realización de pruebas genéticas para diagnóstico y pronóstico de las enfermedades. Estos avances han permitido el surgimiento del concepto de medicina personalizada basada en el genoma (17) (19). Aunque estos adelantos técnicos son muy prometedores, en la actualidad todavía son muy complejos y costosos para la mayoría de los laboratorios y requieren un personal especializado y preparado para su correcta realización. La tecnología SNG está en continua mejora y adaptación. A pesar de que todos estos parámetros se consideran críticos para una adecuada aplicación, el beneficio potencial en la mejora de los diagnósticos y su utilidad en futuros tratamientos personalizados supera las desventajas que existen actualmente (21).

La **Medicina Personalizada** es un enfoque para el tratamiento de las enfermedades que se beneficia de nuestra comprensión de las bases genómicas y los mecanismos de una patología dada para implementar las intervenciones terapéuticas apropiadas a cada paciente. Con el aumento de la investigación de la genómica del cáncer nuestra comprensión de los mecanismos que impulsan el desarrollo y la progresión de este grupo de enfermedades se ampliarán. Los estudios científicos básicos de las alteraciones moleculares representan la base para la medicina personalizada, igualmente importantes son los estudios clínicos que permiten conocer los resultados del paciente en respuesta a las estrategias terapéuticas específicas con la consideración de las características moleculares de la patología y del paciente (22).

Objetivo General:

Realizar una revisión bibliográfica acerca de los últimos avances en la genómica del cáncer de mama y dilucidar su posible aplicación como herramienta para la medicina personalizada.

Objetivos Específicos:

- 1- Analizar los estudios vinculados al perfil de expresión génica en cáncer de mama que utilizan técnicas genómicas de alto rendimiento.
- 2- Estudiar los aportes de la genómica en la clasificación y búsqueda de nuevos marcadores predictivos y pronósticos en el cáncer de mama.
- 3- Analizar la influencia de la variabilidad genética interindividual en la respuesta a los fármacos utilizados en la actualidad.
- 4- Conocer cuáles son los avances de la genómica en cáncer de mama aplicados en el área clínica y de investigación en Uruguay.

Metodología:

El presente es un estudio de tipo revisión sistemática. Se realizó una búsqueda bibliográfica utilizando las bases de datos PubMed y Science Direct a través del acceso a texto completo que provee el portal Timbó en Uruguay. Se utilizaron las palabras claves: breast cancer, genomic, microarray, next generation sequencing, pronostic markers, molecular profiling, molecular classification, personalizad treatment; combinadas con el operador booleano "AND". Se estableció un intervalo temporal de publicación entre 1/1/2004 y el 1/7/2014. En primera instancia se buscaron revisiones sistemáticas y a partir de sus citas bibliográficas se recuperaron otros artículos originales. A su vez se planificó una entrevista con el Dr. Prof. Alfonso Cayota y la Dra. Prof. Adj. Nora Artagaveytia, quienes pertenecen al Departamento Básico de Medicina. Él es el coordinador del Programa de Investigación en Cáncer del Instituto Pasteur Montevideo. La Dra. Artagaveytia es oncóloga de la Unidad de Mastología del Hospital de Clinicas y está a cargo del Banco de Tumores de la DNS de las FFAA de Uruguay. Desde el 2009 ambos participan del estudio "Molecular Profiling of Stage II and III Breast Cancer in Latin American women receiving standard of care treatment". Un estudio multicéntrico que incluye a Argentina, USA, México, Uruguay, Chile y Brasil, diseñado y financiado por el "US-Latin America Cancer Research Network Project".

Resultados:

Genómica del Cáncer de Mama

En las últimas dos décadas, se ha vuelto posible el análisis de la secuencia de todo el genoma de un tumor en dos o tres días utilizando las técnicas de SNG. El primer objeto de interés en la investigación del cáncer fue conocer de manera precisa todas las mutaciones somáticas del exoma que ocurren durante el desarrollo y progresión de un tumor. En 2009 fue publicada la primera secuencia obtenida del exoma de un CM invasor lobular con receptores hormonales positivos. Se analizaron el tumor primario y las metástasis que aparecieron 9 años después en el mismo paciente (23). Al analizar la frecuencia con que se detectaban las mutaciones, encontraron una gran heterogeneidad dentro del tumor primario, el cual estaba formado por distintas poblaciones celulares cada una con diferentes conjuntos de mutaciones puntuales. A su vez se hallaron 32 mutaciones somáticas, puntuales, no conservativas presentes en las metástasis, de las cuales 19 no fueron detectadas en el tumor primario, lo cual sugirió que nuevos eventos genéticos pueden ser responsables de la progresión de la enfermedad (23). Siguiendo esta línea de investigación, en 2010 se publicó la secuencia del genoma completo de un CM basal-like (10). Desde entonces, cientos de secuencias de exomas o genomas completos de CM han sido obtenidos (24–27). Científicos de todo el mundo han reunido sus esfuerzos por secuenciar el genoma del cáncer con el fin de generar una base de datos única. El Proyecto Atlas del Genoma del Cáncer (PAGC) organizado por el National Cancer Institute comenzó en 2005 usando SNG para documentar las mutaciones genéticas que fundamentan el desarrollo de varios tipos de cáncer, incluido el de mama. En 2008 el Internacional Cancer Genome Consortium comenzó el mapeo genómico de 50 tipos de cáncer con investigadores de varias regiones del mundo (7). Estos estudios globales han sentado la base de la investigación sobre la asociación del perfil de expresión genómico de los tumores y su comportamiento biológico. En el PAGC, 510 CM fueron caracterizados por su histología, inmunohistoquímica, perfil de expresión de ARNm, de microARN y de metilación del ADN, polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs), secuenciación de todo el exoma y proteoma. Se identificaron 28319 mutaciones puntuales, 4 mutaciones dinucleotidas y 2302 inserciones o

deleciones. De éstas variantes genómicas 619 fueron reportadas en genes involucrados en la carcinogénesis y se hallaron nuevas mutaciones en genes cercanos a los ya conocidos como implicados en el CM (28). Sin embargo, se han hallado cada una de éstas variantes en menos del 10% de los tumores. Sólo existen 3 genes para los cuales más del 10% de los tumores muestran mutaciones: P53, mutado en el 40%, PIK3 en el 25% y GATA3 mutado en el 10%. A su vez se sabe que 10 regiones del genoma muestran amplificación y cada una se halla sólo entre 5-15% de los cánceres de mama. Entre ellas, la amplificación del gen HER2 en el cromosoma 17, es de gran importancia en el CM debido a su mayor prevalencia, valor pronóstico y papel como blanco del Trastuzumab. Estos resultados han revelado la gran heterogeneidad genómica del CM, debido a ello se entiende que el CM no es una única patología sino un conjunto de desórdenes neoplásicos molecularmente distintos (7).

En el desarrollo tumoral también se ha visto que las regiones no codificantes del ADN tienen un rol preponderante, dentro de éstas se encuentran los microARN (miARN). Estos son pequeños ARNs de 18 a 23 nucleótidos de longitud (29), los cuales se han agrupado en tres categorías principales: miRNAs, los pequeños ARNs de interferencia (siARNs) y los ARN asociados a Piwi (piARNs) (30)(31). Los miembros mejor caracterizados de esta familia son miRNAs, que se estima comprenden el 1-5% del genoma animal, haciéndolos una de las clases más abundantes de reguladores de la expresión génica. Se encuentran involucrados en la diferenciación celular, la muerte celular, proliferación y organización de la cromatina (30). Los miARNs regulan la expresión génica a través de un mecanismo post-transcripcional, incluyendo la degradación de los ARN mensajeros (ARNm) y la represión de su traducción. Se estima que los miARNs regulan más del 30% de los genes codificadores de proteínas. Pueden funcionar como reguladores maestros, impactando en una variedad de vías celulares de señalización de las funciones celulares normales, así como del desarrollo y progresión del cáncer. Numerosos estudios destacan su participación en la etiopatogenia de una variedad de enfermedades humanas, entre ellas el cáncer (29). Existen miARNs que actúan como supresores de tumores, regulando ARNm que codifican proteínas encargadas de promover la iniciación y progresión del tumor. Por lo tanto, la pérdida de función de éstos, debida a delección, mutación o silenciamiento, conduce a un

incremento inapropiado del ARNm objetivo, lo que contribuye a la transformación maligna. Los miARNs que actúan como oncogenes tienen como objetivo los ARNm que codifican proteínas supresoras tumorales. La sobreexpresión o la amplificación de éstos produce una modulación negativa de la proteína supresora tumoral, contribuyendo a la transformación maligna (30).

En el CM se han identificado varios miARN involucrados en su desarrollo y progresión. Se han reconocido perfiles de expresión característicos de miARN según el subtipo de tumor (32). En un estudio con el fin de identificar miRNAs capaces de regular la transición de carcinoma ductal in situ a carcinoma ductal invasivo donde se analizaron 94 biopsias, se encontró un patrón de nueve miARN que eran específicos para la invasión y cinco miRNAs se asociaron con menor supervivencia libre de metástasis y global (33). Se halló un aumento en la expresión de let-7d, miR-210 y miR-221 en el carcinoma invasor, siendo baja su expresión en el carcinoma ductal in situ, lo cual sugiere que están implicados en la progresión del CM in situ al invasor (33).

En el CM se han descubierto alteraciones en ciertos miARNs que actúan como promotoras de metástasis al perder su función supresora. Los individuos con dicha alteración tienen una peor supervivencia general y libre de enfermedad (34–40). Por el contrario también existen miRNAs supresores de metástasis (41–54) (Tabla 2). El miR-21 es uno de los miRNAs más importante asociado con la migración e invasión de las células del CM que contribuye al desarrollo de metástasis (55). Un estudio en el que participaron 344 pacientes con CM primario, mostró que el miR-21 es altamente sobre expresado en el tumor en comparación con los tejidos de mama normales (37). A su vez ésta elevada expresión se asocia con agresividad tumoral que incluye alto grado histológico, receptores hormonales negativos y carcinoma ductal. Niveles altos de miR-21 se asociaron a menor sobrevida general y libre de enfermedad (56).

Varios estudios han demostrado que los ciertos miRNAs detectados en sangre fueron capaces de distinguir a los pacientes con cáncer del control sano (57). Perfiles específicos de miARN pueden asociarse con la respuesta a la terapia, la supervivencia y con la sobrevida libre de enfermedad (30). En un intento de identificar los miARNs específicos expresados tanto en suero como en el tejido tumoral, un estudio utilizó métodos de SNG en 13 pacientes con CM y 10 controles. Entre los miARNs expresados en ambas muestras, el miR-222 se

incrementó significativamente en el suero de los pacientes con CM, así los autores concluyeron que podría servir de biomarcador diagnóstico de CM (58). Es importante destacar que este perfil de miARN no sólo ayuda a determinar el fenotipo del CM, sino también a revelar posibles dianas terapéuticas y marcadores de pronóstico. Actualmente el universo de los miARN y sus implicancias en el CM está en el campo de la investigación. Una mejor comprensión de la red de genes relacionados con los miARN abrirá nuevas ventanas para el diagnóstico y la terapia del CM.

Aplicaciones de la genómica en el manejo clínico del cáncer de mama

Clasificación del CM según su perfil de expresión génica

El comportamiento del cáncer esporádico está determinado por las mutaciones somáticas, por lo cual podría suponerse que una clasificación basada en los perfiles de expresión genética de los tumores puede proveer datos pronósticos más acertados que los que brinda el paradigma clínico-patológico. En el año 2000, Perou y col. demostraron, mediante microarreglos de ADN, que el CM podía ser dividido en diferentes entidades moleculares conocidas como los *subtipos intrínsecos del CM*: Luminal A, Luminal B, HER2-enriquecido, Normal-like y el Basal-like (59). Posteriormente se reconocieron el Luminal C y Claudin-low, aunque son menos utilizados en la práctica clínica (60). El *subtipo Luminal* incluye tumores RE positivos con perfil de expresión similar al tejido epitelial luminal normal de la mama y se diferencian en tres clases. Los *Luminal A* son tumores RE y RP positivos, HER2 negativos y con baja expresión de Ki-67 (<14%). Comprenden el 40% de los CM, son de bajo grado histológico, han sido asociados con un pronóstico favorable con tasas de supervivencia mayores que los demás grupos, son sensibles a la terapia hormonal y menos sensibles a los agentes citotóxicos. El grupo *Luminal B* comprende tumores RE positivos, con expresión variable de RP y del HER2, una alta expresión de genes de proliferación (Ki-67), inestabilidad genómica y mutaciones en el gen TP53. Los tumores Luminal B representan el 20% de los cánceres de mama, son tumores de alto grado, se asocian con un peor pronóstico y alto riesgo de recaída. El subtipo *Luminal C* se caracteriza por la alta expresión de un conjunto de genes que comparte con los subtipos HER2-enriquecido y Basal-like. El resto de los subtipos son RE negativos. El subtipo *HER2-enriquecido* es definido por la alta

expresión de los genes de proliferación del cluster HER2/neu y la ausencia de expresión RE y RP. Comprende el 20-30% de los tumores mamarios y están asociados con un peor pronóstico que los Luminal A. El subtipo *Normal-like* se caracteriza por expresión de genes relacionados con el tejido adiposo y células estromales. El subtipo *Basal-like* comparte un perfil de expresión de genes con las células del epitelio basal normal: citoqueratina 5,6 y17, integrinas, laminina. Comprenden el 15% de todos los CM y tienen un mal pronóstico. Son los tumores denominados triples negativos (TN) ya que son RE, RP y HER2 negativos. Sin embargo los TN son un grupo más heterogéneo, de los cuales un 70% aproximadamente pertenecen al subtipo Basal-like. Los tumores del subtipo *Claudin-low* son TN, y se caracterizan por la alta expresión de genes asociados a la transición del epitelio al mesénquima. Se asocian con tasas de supervivencia intermedias entre las de los subtipos Luminal y Basal-like (61)(6). Los subtipos intrínsecos tienen una muy buena correlación con la clasificación tradicional basada en IHQ (tabla 3). El PAGC con el advenimiento de los métodos de SNG pudo estudiar las aberraciones genéticas de cada subtipo intrínseco descrito antes por Perou. Los resultados mostraron una mayor diversidad de genes mutados en los subtipos Luminal A y B. Sin embargo, las tasas de mutaciones fueron mayores en los tumores HER2 enriquecido y basal-like. Los subtipos intrínsecos difieren no sólo en la frecuencia sino también en el tipo de mutaciones y genes implicados. Los tumores Luminal A albergaron los genes mutados más significativos siendo los más frecuentes PIK3CA (45%), MAP3K1, GATA3, TP53, CDH1 y MAP2K4. Los Luminal B exhibieron una gran diversidad de genes mutados, hallando TP53 y PIK3CA cada uno con 29% de prevalencia. En contraste, los tumores Basal-like presentaron mutaciones en TP53 en el 80% de los casos y no mostraron la mayoría de las mutaciones de los tumores luminales, excepto PIK3CA (9%). Los tumores HER2-enriquecidos mostraron en un 80% amplificación del gen HER2, mutaciones en TP53 (72%) y PIK3CA (39%) así como otras mutaciones importantes no vistas en los otros subtipos (Tabla 4) (28). Esta gran heterogeneidad genómica del CM se ve reflejada en la respuesta diferencial a los tratamientos que tienen las pacientes según las características moleculares del tumor, lo cual ha llevado a la introducción de la medicina personalizada al subtipo tumoral (8) (Tabla 5).

Biomarcadores moleculares pronósticos y predictivos

Por muchos años, bajo el paradigma clínico-patológico fueron utilizados en la práctica clínica distintos factores pronósticos para estimar la probabilidad de recurrencia en el CM y para la toma de decisiones terapéuticas. Estos son el tipo y grado histológico, la estadificación TNM, la presencia de RE/RP, HER2 y/o el Ki-67 (61). Aún hoy se siguen utilizando como la base fundamental de las decisiones sobre la implementación de terapia sistémica adyuvante (8). En los últimos 20 años el avance tecnológico en SNG y micromatrices ha hecho posible el surgimiento del paradigma genómico del CM, éste ofrece un nuevo enfoque para el pronóstico individual de un paciente a través de la interpretación del patrón de expresión de genes específicos en su tumor. Esto dio lugar a una clasificación más acertada de los tumores, la identificación de los tumores con comportamiento más agresivo y la posibilidad de estimar con mayor precisión el riesgo de recurrencia y evitar los tratamientos adyuvantes innecesarios o inefectivos en los estadios tempranos (61). El primer paso hacia este nuevo paradigma fue la clasificación genómica del CM de Perou que correlacionó el perfil de expresión génica con los marcadores conocidos RE, RP, HER2 y Ki-67. Subsiguientemente fueron surgiendo estudios que asociaban los perfiles de expresión génica en muestras almacenadas de tumores con los resultados clínicos conocidos de dichos pacientes, con el fin de identificar factores genómicos pronósticos y predictivos. Un biomarcador pronóstico es aquel que provee información sobre el resultado probable de la enfermedad independientemente del tratamiento. En cambio, un biomarcador predictivo identifica los pacientes que podrían beneficiarse de una intervención específica (61). Así comenzaron a desarrollarse paneles de genes comerciales con valor pronóstico y predictivo para el CM, los *test multi-genéticos* (TMG). El desarrollo de los mismos fue impulsado por la necesidad de evitar el sobretratamiento tanto como el infratratamiento con terapias sistémicas adyuvantes en el CM en estadios tempranos dadas sus consecuencias. Los TMG están actualmente comenzando a utilizarse en la práctica clínica, aportando información extra para estimar el riesgo de recurrencia y en función de ello decidir la estrategia terapéutica. Los paneles comercialmente disponibles son Oncotype Dx, Mamma Print, PAM50, GGI MapQuant, EndoPredict, Breast Cancer Index (Tabla 6). Oncotype Dx, Mamma Print y

PAM50 son los que se encuentra más evidencia científica en la literatura y los de mayor disponibilidad comercial, por lo cual se profundizará en ellos (7)(61). **Oncotype Dx™** (OD) es un test que cuantifica la expresión de 21 genes por RT-PCR y se aplica al ARN extraído de tejido tumoral incluido en parafina. Fue diseñado en EEUU, luego de haber identificado 250 genes de función relevante en la biología del carcinoma de subtipo luminal, que fueron analizados en un total de 447 pacientes de 3 estudios separados. Éstos permitieron generar un perfil de 21 genes y un algoritmo para calcular el Score de Recurrencia (RS). El RS toma valores entre 0 y 100, y permite clasificar a los pacientes en tres categorías: bajo riesgo ($RS < 18$), riesgo intermedio ($18 \leq RS \leq 30$) y alto riesgo ($RS \geq 31$), las cuales según los resultados del estudio NSABP-14 asocian un riesgo de recurrencia a 10 años de 7, 14 y 30%, respectivamente (62). Los estudios retrospectivos de validación de OD más importantes fueron NSABP-14 y NSABP- B20, ambos utilizaron muestras tumorales archivadas de ensayos clínicos randomizados. En el NSABP-14, se evaluó el *poder pronóstico* del RS para cuantificar el riesgo de recurrencia a 10 años, en mujeres con CM en estadios I o II, RE/RP positivo, con ganglios negativos que habían recibido 5 años de Tamoxifeno. Se observó que una baja expresión de genes asociados con estrógenos y una alta expresión de genes de proliferación e invasión y/o de HER2 predecía un alto riesgo de recurrencia. A su vez OD fue evaluado como *factor predictivo* del beneficio de la adición de quimioterapia adyuvante (QA) al tratamiento con Tamoxifeno en el NSABP-B20 (62). Este estudio reveló que el grupo de pacientes de alto riesgo con un $RS \geq 31$, recibieron el máximo beneficio de la QA con una reducción del riesgo de recurrencia (RRR) a los 10 años de 27,6%, mientras que las de bajo riesgo tuvieron un mínimo beneficio (RRR de 3,78%). Pacientes con riesgo intermedio que recibieron Tamoxifeno y QA no tuvieron diferencias significativas en su riesgo de recurrencia en comparación con las que sólo recibieron Tamoxifeno (61)(7). En 2006 comenzó el ensayo clínico prospectivo de fase III TAILORx que fue diseñado para evaluar las implicancias terapéuticas de OD en una gran población representativa con el objetivo principal de determinar si la QA tiene un beneficio significativo en el resultado a largo plazo de las pacientes con riesgo intermedio según el RS (63). Para la evaluación se reclutaron 7000 pacientes de EEUU y Canadá con riesgo intermedio las cuales fueron aleatorizadas, en un grupo

estarán recibiendo Tamoxifeno y QA, y en el otro sólo Tamoxifeno (64). Se espera que los resultados estén disponibles en 2017.

Mamma Print® (MP) es un test pronóstico desarrollado en Holanda, basado en el análisis de microarreglos de expresión de 70 genes involucrados en la progresión y diseminación a distancia de un tumor. Según los niveles totales de expresión de dichos genes se divide a los pacientes en dos grupos, de bajo y alto riesgo, que corresponden a una sobrevida libre de metástasis (SLM) a los 10 años de >90% y <90% respectivamente. MP ha sido validado como un fuerte *factor pronóstico* independiente de los parámetros clínico-patológicos y está aprobado para su uso clínico por la FDA desde el 2007 (61). El estudio TRANSBIG demostró que MP tiene poder pronóstico incluso en pacientes con 1-3 ganglios positivos y a su vez un gran valor predictivo negativo para el riesgo de recurrencia a 5 años luego de tratamientos sistémicos adyuvantes (65). En un estudio que involucró a 541 pacientes, se encontró que los pacientes catalogados por MP como bajo riesgo que recibieron Tamoxifeno más QA no tuvieron una RRR significativa a 5 años en comparación con los que sólo recibieron Tamoxifeno. En cambio, aquellos de alto riesgo que recibieron Tamoxifeno y QA tuvieron una SLM a los 5 años de 88% en comparación con los que sólo se trataron con Tamoxifeno que fue de 76% (HR 0,35, IC95% 0,17-0,71) (66). El estudio RASTER fue el primer estudio en evaluar el impacto del uso clínico de MP para la toma de decisiones acerca del tratamiento adyuvante, evidenciando un 20% de cambio de decisiones (67). El 85% de los pacientes de alto riesgo tomaron la decisión de recibir QA. Actualmente se está desarrollando el estudio MINDACT, un ensayo clínico prospectivo randomizado, multicéntrico, de fase III que compara el MP con la herramienta Adjuvant Online (AO) (considera sólo factores clínico-anatomopatológicos) en pacientes con ganglios negativos o 1-3 ganglios (68). Dentro de la evidencia previa, TRANSBIG había demostrado superioridad de MP sobre la herramienta AO en su poder pronóstico en pacientes con ganglios negativos, 34% de los pacientes catalogados de alto riesgo por AO pudieron haber evitado la QA debido a que MP los clasificaba de bajo riesgo. Participan 6700 pacientes, aquellas de alto riesgo a través de ambos MP y AO fueron aconsejadas para recibir QA y las de bajo riesgo en ambos se les recomendó sólo terapia hormonal. Aquellas con pronósticos discordantes fueron randomizadas para recibir su tratamiento

basado en MP o en AO. El objetivo primario del estudio es confirmar que las pacientes con bajo riesgo de MP y alto riesgo en OA pueden de manera segura evitar ser sometidas a QA. En 2011 fueron publicados resultados de la fase piloto (n=800) que muestran concordancia con la hipótesis planteada (69). Nuevos resultados son esperados para el 2015 (7)(61). **PAM50** (Prosigna™) es un panel basado en un conjunto de 50 genes que utiliza la técnica RT-PCR y fue diseñada para estandarizar las técnicas de clasificación del CM en los cuatro subtipos intrínsecos principales: Luminal A, Luminal B, HER2-enriquecido y Basal-like. Cabe aclarar que cuando los resultados son discordantes los pacientes deben ser manejados de acuerdo al subtipo que identifica la IHQ. PAM50 es un factor predictivo de la sobrevida en el CM. PAM50 provee un score pronóstico conocido como ROR que estima la probabilidad de recurrencia a 10 años en pacientes postmenopáusicas con CM precoz y RE positivos que recibieron Tamoxifeno. En 2013 recibió la aprobación de la FDA (7)(61)(70).

Todos estos paneles de expresión genética tienen muy pocos genes en común y a pesar de ello proveen la misma información. Esto es posible debido a que una misma vía molecular es controlada por una gran variedad de genes (61). Algunas de las limitaciones en la disponibilidad de los TMG son los pasos requeridos para su aprobación para uso clínico, es decir el desarrollo de sistemas de control de la reproducibilidad, robustez, precisión y estabilidad (70). Existe otra limitante que es la falta de evidencia científica de nivel I disponible, por lo que se están desarrollando actualmente ensayos clínicos controlados prospectivos, TAILORx y MINDACT para testear la validez de OD y MP, respectivamente (61)(70). Otra limitante es el costo de estas nuevas herramientas, por lo cual en algunos países no están disponibles (8). Sin embargo, el beneficio que puede traer el uso de TMG para los pacientes que podrían evitar la QA en función de su bajo riesgo de recurrencia incluye el ahorro en costos de las drogas, el tratamiento de sus complicaciones y los beneficios clínicos de evitar toxicidades que pueden reducir la expectativa y calidad de vida (8). Estudios de costo-beneficio han sido desarrollados en EEUU, Canada, Israel, UK y Alemania (66)(71)(72). Mo Yang y col. compararon, por primera vez la rentabilidad del uso de OD y MP. Encontraron en OD y MP

diferencias estadísticamente significativas tanto en el costo como en la efectividad, concluyendo que utilizar MP es la estrategia más rentable (73). A pesar de que los TMG no son uniformemente aceptados aún y su baja disponibilidad, muchos clínicos han adoptado el uso de los mismos porque han demostrado ser una herramienta efectiva en la toma de decisiones terapéuticas. Aproximadamente un tercio de las decisiones terapéuticas podrían cambiar basado en el uso de los TMG, con una importante reducción en la QA (61).

Farmacogenómica

La farmacogenómica estudia el rol de las variaciones genéticas interindividuales en los fenotipos de respuesta a fármacos a través de los resultados clínicos y toxicidad de los mismos (74)(75). El objetivo final de los estudios farmacogenómicos es el desarrollo de una medicina personalizada basada en el perfil génico de cada paciente que permita la selección del tratamiento que proporcione el mayor beneficio con toxicidad mínima. Es bien conocido que existen diferencias interindividuales en la respuesta tumoral y la toxicidad de los tejidos normales a las terapias sistémicas en los pacientes con cáncer (3). Hay un creciente reconocimiento de que cambios sutiles en la secuencia del gen como polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), pueden afectar a la función del producto resultante y que dicha variación explicaría las diferencias individuales (76)(77). Se estima que existen 1,4 millones de SNPs en el genoma humano, los cuales pueden afectar a enzimas metabolizadoras de drogas, transportadores de membrana, dianas celulares, vías de señalización y respuestas celulares asociadas a los fármacos (74). Actualmente, varias líneas de evidencia apoyan la utilidad de la farmacogenómica para predecir la eficacia terapéutica, toxicidad y seguridad en el uso de tratamientos sistémicos adyuvantes. Como se vio anteriormente según el subtipo intrínseco de CM se decide el tratamiento sistémico adyuvante: hormonoterapia y/o quimioterapia. Dentro de la hormonoterapia el Tamoxifeno se considera el tratamiento de elección para las mujeres con tumores con RE positivos. Este fármaco es sometido a oxidación hepática por el citocromo P450 (CYP450) produciendo los metabolitos 4-hydroxyTamoxifeno y endoxifeno, que tienen mayor afinidad y potencia para suprimir la proliferación celular (78). El gen CYP2D6 codifica para una monooxigenasa perteneciente al CYP450, el cual es altamente polimórfico

con 63 diferentes alelos conocidos. Los fenotipos asociados con los distintos alelos incluyen los metabolizadores pobres, intermedios, extensos y los ultrarrápidos. En un estudio de pacientes en terapia con Tamoxifeno se correlaciono el fenotipo de la enzima CYP2D6 con los resultados a dicho tratamiento. Los resultados mostraron que los pobre e intermedio metabolizadores tenían mayor riesgo de recurrencia y menor sobrevida libre de enfermedad en comparación con los extensos metabolizadores. Concluyendo que los SNPs de CYP2D6 son un factor pronóstico en pacientes con CM tratados con Tamoxifeno (78). Por otro lado la inactivación del Tamoxifeno y de sus metabolitos es principalmente mediada por las enzimas UDP glucoroniltransferasa. SNPs en dicha enzima podrían afectar la respuesta a la terapia con Tamoxifeno (79). El Letrozol es un inhibidor de la aromatasa usado en mujeres posmenopáusicas con CM RE positivos, donde la principal producción de estrógeno esta mediada por dicha enzima. Un estudio mostró que el SNP rs4646 del gen CYP19 de la aromatasa está asociado con un aumento de la eficacia de Letrozol y por lo tanto la detección de este SNP puede ser una herramienta de predicción útil de respuesta al tratamiento (80). Por el contrario en otro estudio dicho polimorfismo se asoció a una peor respuesta después de 4 meses de tratamiento con letrozol (81).

En cuanto a la quimioterapia ocurre algo similar. Los antimetabolitos son estructuralmente análogos a los nucleótidos por lo cual se incorporan al ADN que está siendo replicado en las células tumorales proliferantes e impiden la elongación del mismo. Los antagonistas de pirimidinas más comúnmente utilizados son 5-Fluorouracilo (5-FU), Gemcitabina (dFdC) y Citarabina (Ara-C). Son profármacos, por lo cual los SNPs en las enzimas que los metabolizan, la timidilato sintasa (TS), metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) y dihidropirimidina deshidrogenasa (DPD), pueden influir en su farmacodinamia. En un estudio con 105 pacientes con CM se mostró que los pacientes homocigotos para cierto SNP de la TS mostraban mayor toxicidad al tratamiento y una menor duración de la respuesta que aquellos heterocigotos o los que portaban el SNP (82). En el caso de la Ciclofosfamida los resultados de un estudio mostraron que en los pacientes portadores de SNPs en genes de la enzima CYP2B6 y los transportadores ABCB1 y SCL22A16, tenían distinta respuesta. Si se administrara con la misma frecuencia en todos los pacientes,

aquellos que no presentan estos SNPs podrían sufrir mayor toxicidad ya que su metabolización del fármaco es más lenta (83). El tratamiento con *Paclitaxel* se ha asociado con una gran variabilidad interindividual a nivel genético en la respuesta y la toxicidad a la droga. Este fármaco ejerce sus efectos antitumorales por la inducción de la apoptosis indirectamente mediante su unión a tubulina β la cual estabiliza los microtúbulos. Se ha sugerido que mutaciones en la tubulina β podrían ser un factor en la resistencia al fármaco. Paclitaxel es un sustrato de la P-glicoproteína, un transportador de membrana codificado por el gen ABCB1. Se han estudiado SNPs de este gen que alteran la expresión de la proteína y su función. Pacientes portadores del SNP 3435CT mostraron una menor supervivencia global que aquellos no portadores (3).

Situación en Uruguay

En la práctica clínica habitual ante pacientes con CM diagnosticado, además de la caracterización de tipo histológico, se realiza sistemáticamente la clasificación del subtipo tumoral mediante IHQ. Este estudio es financiado por el Fondo Nacional de Recursos, debido a la importancia de identificar los tumores según la expresión de RE, RP y Her2, ya que guiará el tratamiento sistémico adyuvante. A pesar de que existe la herramienta PAM50 para clasificación tumoral, su uso en Uruguay aún está limitado a la investigación debido a su costo y baja disponibilidad, sumado a que su eficacia no supera a la de IHQ. Además de estos parámetros la estadificación TNM sigue siendo el pilar principal para la toma de decisiones terapéuticas.

En cuanto al pronóstico usualmente se utilizan los factores clínico anatomopatológicos dado que en este medio no se hallan disponibles los TMG. Sin embargo, según el criterio del médico tratante y la posibilidad económica del paciente, el mismo puede acceder por sus propios medios al OD disponible en Argentina, para valorar el riesgo de recaída y guiar el tratamiento adyuvante. En la actualidad los avances en farmacogenómica y miARN se encuentran aún en el campo de la investigación. En cuanto al perfil de expresión genómico del CM, Uruguay es parte del actual estudio “Molecular Profiling of Stage II and III Breast Cancer in Latin American women receiving standard of care treatment”, donde se busca conocer si el perfil genómico del CM de la población latinoamericana se asemeja a los perfiles conocidos de CM en el mundo,

poblaciones en las cual se ha basado el desarrollo de los tratamientos actuales, con el fin de determinar si su uso es aplicable (84)(85).

Medicina Personalizada

Los avances en genómica que se han desarrollado a lo largo de este trabajo muestran que el CM es tremendamente heterogéneo a nivel molecular determinando comportamientos biológicos y respuestas a los tratamientos dispares, por lo que requiere de un abordaje personalizado (11)(86). La ciencia aplicada ha tomado la información generada en relación con la genómica de los subtipos de CM y sus resultados clínicos para adecuar los tratamientos oncológicos de hormonoterapia, Trastuzumab y quimioterapia. Para guiar dichas decisiones basándose en el perfil de expresión génica de un tumor particular se han desarrollado herramientas predictivas que han empezado a considerarse en la práctica médica. La medicina personalizada en los pacientes con CM es una gran meta que requerirá mayor expansión del conocimiento genómico de esta patología y sus subtipos así como de la formación médica en esta nueva área de conocimiento para lograr una correcta implementación (22).

Conclusiones y perspectivas:

Las técnicas genómicas de alto rendimiento han permitido la adquisición de nuevos conocimientos sobre la biología del cáncer. El desarrollo de nuevas tecnologías de la mano de la bioinformática se mantiene en continuo avance. Todo ello ha permitido la consolidación de la genómica. La oncología es uno de los campos que se ha beneficiado del progreso de la genómica tanto a nivel diagnóstico, pronóstico como de tratamiento. Como hemos visto en la literatura analizada el CM no escapa a ello. Cada vez más los conocimientos adquiridos en la investigación genómica van a poder ser aplicados a la clínica, lo cual tendrá un importante impacto en el paradigma del manejo clínico del cáncer.

Agradecimientos:

Los autores quieren agradecer al Dr. Prof. Alfonso Cayota y a la Dra. Prof. Adj. Nora Artagaveytia del Departamento Básico de Medicina (Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, UdelaR) por sus aportes en el tema sobre la realidad uruguaya. Agradecen también a la Prof. Asist. María Laura Chiribao (Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UdelaR) por su dedicación y lectura crítica de la monografía.

Referencias Bibliográficas:

1. OMS | Datos y estadísticas [Internet]. World Health Organization; [cited 2014 Sep 1]. Available from: <http://www.who.int/research/es/>
2. Artagaveytia, N.; Barquet, V.; Cairoli, E.; Cayota A. Temas de Neoplasias. Aspectos moleculares y celulares del cáncer. 1era ed. Oficina del Libro F, editor. Montevideo; 2009.
3. Ayoub N, Lucas C, Kaddoumi A. Genomics and Pharmacogenomics of Breast Cancer: Current Knowledge and Trends. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2011;12:1127–40.
4. Vinay Kumar, Jon.C. Aster, Nelson Fausto AKA. Capítulo 7: Neoplasias. In: Elsevier, editor. *ROBBINS Y COTRAN Patología estructural y funcional.* 8va ed. Barcelona; 2010. p. 259–330.
5. Barrios EARGM. MC. Situación Epidemiológica del Uruguay en relación al Cáncer. Mayo 2014. [Internet]. Uruguay; 2014 p. 1–52. Available from: http://www.comisioncancer.org.uy/uc_352_1.html
6. Vuong D, Simpson PT, Green B, Cummings MC, Lakhani SR. Molecular classification of breast cancer. *Virchows Arch* [Internet]. 2014 Jul [cited 2014 Aug 5];465(1):1–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24878755>
7. Van de Vijver MJ. Molecular tests as prognostic factors in breast cancer. *Virchows Arch Off J Eur Soc Pathol* [Internet]. 2014 Mar [cited 2014 Jun 5];464(3):283–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24487789>
8. Goldhirsch a, Winer EP, Coates a S, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thürlimann B, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol* [Internet]. 2013 Sep [cited 2014 Jul 9];24(9):2206–23. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3755334&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
9. Benítez J. *Genómica del Cáncer.* Madrid; 2014 p. 1–8.
10. Ding L, Ellis MJ, Li S, Larson DE, Chen K, Wallis JW, et al. Genome remodelling in a basal-like breast cancer metastasis and xenograft. *Nature* [Internet]. Nature Publishing Group; 2010 Apr 15 [cited 2014 Jul 25];464(7291):999–1005. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2872544&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

11. Baird RD, Caldas C. Genetic heterogeneity in breast cancer: the road to personalized medicine? *BMC Med* [Internet]. *BMC Medicine*; 2013 Jan [cited 2014 Aug 9];11(151):151. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3689054&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
12. Mardis ER. Next-generation sequencing platforms. *Annu Rev Anal Chem (Palo Alto Calif)* [Internet]. 2013 Jan [cited 2014 Jul 9];6:287–303. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23560931>
13. Medina-torres EA, Espinosa-rosales F. Microarreglos: Tecnología con aplicaciones en el campo de la salud humana. *Alergia, Asma e Inmunol Pediátricas*. 2009;18(2):52–9.
14. Stears RL, Martinsky T, Schena M. Trends in microarray analysis. *Nat Med* [Internet]. 2003 Jan;9(1):140–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12514728>
15. Aguado, M.; Blanco MM. DNA microarrays in microbiology. *RVCC*. 2007;1(2):125–34.
16. Sanger F, Nicklen S. DNA sequencing with chain-terminating. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1977;74(12):5463–7.
17. Rizzo JM, Buck MJ. Key principles and clinical applications of “next-generation” DNA sequencing. *Cancer Prev Res (Phila)* [Internet]. 2012 Jul [cited 2014 Jul 10];5(7):887–900. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22617168>
18. Margulies M, Egholm M, Altman WE, Attiya S, Bader JS, Bemben L a, et al. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature* [Internet]. 2005 Sep 15 [cited 2014 Jul 10];437(7057):376–80. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1464427&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
19. Ku CS, Cooper DN, Ziogas DE, Halkia E, Tzaphlidou M, Roukos DH. Research and clinical applications of cancer genome sequencing. *Curr Opin Obstet Gynecol* [Internet]. 2013 Feb [cited 2014 Sep 10];25(1):3–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23108289>
20. Ku CS, Cooper DN, Roukos DH. Clinical relevance of cancer genome sequencing. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2013 Apr 7 [cited 2014 Aug 27];19(13):2011–8. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3623977&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

21. Desmedt C, Voet T, Sotiriou C, Campbell PJ. Next generation sequencing in breast cancer□: first take home messages. *Curr Opin Oncol*. 2013;24(6):597–604.
22. Coleman WB. Breast cancer personalized medicine: challenges and opportunities. *Am J Pathol* [Internet]. American Society for Investigative Pathology; 2013 Oct [cited 2014 Aug 5];183(4):1036–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23978519>
23. Shah SP, Morin RD, Khattra J, Prentice L, Pugh T, Burleigh A, et al. Mutational evolution in a lobular breast tumour profiled at single nucleotide resolution. *Nature* [Internet]. 2009 Oct 8 [cited 2014 Jul 10];461(7265):809–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19812674>
24. Banerji S, Cibulskis K, Rangel-Escareno C, Brown KK, Carter SL, Frederick AM, et al. Sequence analysis of mutations and translocations across breast cancer subtypes. *Nature* [Internet]. 2012 Jun 21 [cited 2014 Jul 9];486(7403):405–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22722202>
25. Stephens PJ, Tarpey PS, Davies H, Van Loo P, Greenman C, Wedge DC, et al. The landscape of cancer genes and mutational processes in breast cancer. *Nature* [Internet]. 2012 Jun 21 [cited 2014 Jul 10];486(7403):400–4. Available from: <http://www.readcube.com/articles/10.1038/nature11017>
26. Nik-Zainal S, Alexandrov LB, Wedge DC, Van Loo P, Greenman CD, Raine K, et al. Mutational processes molding the genomes of 21 breast cancers. *Cell* [Internet]. 2012 May 25 [cited 2014 Jul 9];149(5):979–93. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3414841&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
27. Shah SP, Roth A, Goya R, Oloumi A, Ha G, Zhao Y, et al. The clonal and mutational evolution spectrum of primary triple-negative breast cancers. *Nature* [Internet]. 2012 Jun 21 [cited 2014 Jul 9];486(7403):395–9. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3863681&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
28. The Cancer Genome Atlas. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature* [Internet]. 2012 Oct 4 [cited 2014 Jul 9];490(7418):61–70. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3465532&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

29. Singh R, Mo Y-Y. Role of microRNAs in breast cancer. *Cancer Biol Ther* [Internet]. 2013 Mar;14(3):201–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24938874>
30. Rovira C, Güida MC, Cayota A. MicroRNAs and other small silencing RNAs in cancer. *IUBMB Life* [Internet]. 2010 Dec [cited 2014 Aug 22];62(12):859–68. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21154820>
31. Ghildiyal M.; Zamore P.D. Small silencing RNAs: an expanding universe. *Nat Rev Genet.* 2009;10(2):94–108.
32. Lowery AJ, Miller N, Devaney A, McNeill RE, Davoren PA, Lemetre C, et al. MicroRNA signatures predict oestrogen receptor, progesterone receptor and HER2/neu receptor status in breast cancer. *Breast Cancer Res* [Internet]. 2009 Jan [cited 2014 Sep 2];11(3):R27. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2716495&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
33. Volinia S, Galasso M, Elena M, Wise TF, Palatini J, Huebner K. Breast cancer signatures for invasiveness and prognosis defined by deep sequencing of microRNA. 2012;
34. Radojicic J, Zaravinos A, Vrekoussis T, Kafousi M, Spandidos D a., Stathopoulos EN. MicroRNA expression analysis in triple-negative (ER, PR and Her2/neu) breast cancer. *Cell Cycle* [Internet]. 2011 Feb 1 [cited 2014 Sep 8];10(3):507–17. Available from: <http://www.landesbioscience.com/journals/cc/article/14754/>
35. Ma L, Young J, Prabhala H, Pan E, Mestdagh P, Teruya-feldstein J, et al. miR-9, a MYC/MYCN-activated microRNA, regulates E-cadherin and cancer metastasis. *Nat Cell Biol.* 2010;12(3):247–56.
36. Moriarty CH, Pursell B, Mercurio AM. miR-10b targets Tiam1: implications for Rac activation and carcinoma migration. *J Biol Chem* [Internet]. 2010 Jul 2 [cited 2014 Sep 8];285(27):20541–6. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2898316&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
37. Si M-L, Zhu S, Wu H, Lu Z, Wu F, Mo Y-Y. miR-21-mediated tumor growth. *Oncogene* [Internet]. 2007 Apr 26 [cited 2014 Sep 8];26(19):2799–803. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17072344>
38. Kong W, Yang H, He L, Zhao J, Coppola D, Dalton WS, et al. MicroRNA-155 is regulated by the transforming growth factor beta/Smad pathway and contributes to epithelial cell plasticity by targeting RhoA. *Mol Cell Biol*

- [Internet]. 2008 Nov [cited 2014 Jul 23];28(22):6773–84. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2573297&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
39. Gebeshuber C a, Zatloukal K, Martinez J. miR-29a suppresses tristetrapirolin, which is a regulator of epithelial polarity and metastasis. *EMBO Rep* [Internet]. 2009 Apr [cited 2014 Aug 22];10(4):400–5. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2672883&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 40. Huang Q, Gumireddy K, Schrier M, le Sage C, Nagel R, Nair S, et al. The microRNAs miR-373 and miR-520c promote tumour invasion and metastasis. *Nat Cell Biol* [Internet]. Nature Publishing Group; 2008 Feb [cited 2014 Aug 3];10(2):202–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ncb1681>
 41. Tavazoie SF, Alarcón C, Oskarsson T, Padua D, Bos PD, Gerald WL, et al. Endogenous human microRNAs that suppress breast cancer metastasis. *Nature*. 2008;451(7175):147–52.
 42. Foekens J a, Sieuwerts AM, Smid M, Look MP, de Weerd V, Boersma AWM, et al. Four miRNAs associated with aggressiveness of lymph node-negative, estrogen receptor-positive human breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2008 Sep 2;105(35):13021–6. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2529088&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 43. Yu Z, Willmarth NE, Zhou J, Katiyar S, Wang M, Liu Y, et al. microRNA 17/20 inhibits cellular invasion and tumor metastasis in breast cancer by heterotypic signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2010 May 4 [cited 2014 Sep 8];107(18):8231–6. Available from: <http://www.pnas.org/content/107/18/8231.long>
 44. Pandey DP, Picard D. miR-22 inhibits estrogen signaling by directly targeting the estrogen receptor alpha mRNA. *Mol Cell Biol* [Internet]. 2009 Jul [cited 2014 Sep 8];29(13):3783–90. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2698751&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 45. Wu, F.; Zhu, S.; Ding, Y.; Beck W. MY. MicroRNA-mediated regulation of Ubc9 expression in cancer cells Fangting. *Clin cancer Res*. 2009;15(5):1550–7.
 46. Valastyan S, Reinhardt F, Benaich N, Calogrias D, Attila M, Wang ZC, et al. A Pleiotropically Acting microRNA, miR-31, Inhibits Breast Cancer Metastasis. *Cell*. 2010;137(6):1032–46.

47. R Spizzo, M S Nicoloso, L Lupini, Y Lu, J Fogarty, S Rossi, B Zagatti, M Fabbri A, Veronese, X Liu, R Davuluri, C M Croce, G Mills, M Negrini and GAC. miR-145 participates with TP53 in a death-promoting regulatory loop and targets estrogen receptor- α in human breast cancer cells. *Cell Death Differ*. 2013;17(2):246–54.
48. Hurst DR, Edmonds MD, Scott GK, Benz CC, Vaidya KS, Welch DR. Breast cancer metastasis suppressor 1 up-regulates miR-146, which suppresses breast cancer metastasis. *Cancer Res [Internet]*. 2009 Feb 15 [cited 2014 Sep 9];69(4):1279–83. Available from: <http://cancerres.aacrjournals.org/content/69/4/1279.long>
49. Li X-F, Yan P-J, Shao Z-M. Downregulation of miR-193b contributes to enhance urokinase-type plasminogen activator (uPA) expression and tumor progression and invasion in human breast cancer. *Oncogene [Internet]*. 2009 Nov 5 [cited 2014 Sep 8];28(44):3937–48. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19701247>
50. Hailong Wu, Shoumin Zhu and Y-YM. Suppression of cell growth and invasion by miR-205 in breast cancer. *Cell Res*. 2009;19(4):439–48.
51. Leivonen S-K, Mäkelä R, Ostling P, Kohonen P, Haapa-Paananen S, Kleivi K, et al. Protein lysate microarray analysis to identify microRNAs regulating estrogen receptor signaling in breast cancer cell lines. *Oncogene [Internet]*. 2009 Nov 5 [cited 2014 Sep 8];28(44):3926–36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19684618>
52. Li Q-Q, Chen Z-Q, Cao X-X, Xu J-D, Xu J-W, Chen Y-Y, et al. Involvement of NF- κ B/miR-448 regulatory feedback loop in chemotherapy-induced epithelial-mesenchymal transition of breast cancer cells. *Cell Death Differ [Internet]*. 2011 Jan [cited 2014 Sep 8];18(1):16–25. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3131865&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
53. Dangi-Garimella S, Yun J, Eves EM, Newman M, Erkeland SJ, Hammond SM, et al. Raf kinase inhibitory protein suppresses a metastasis signalling cascade involving LIN28 and let-7. *EMBO J [Internet]*. 2009 Feb 18 [cited 2014 Sep 8];28(4):347–58. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2646152&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
54. Reddy SDN, Pakala SB, Ohshiro K, Rayala SK, Kumar R. MicroRNA-661, a c/EBP α target, inhibits metastatic tumor antigen 1 and regulates its functions. *Cancer Res [Internet]*. 2009 Jul 15 [cited 2014 Sep

8];69(14):5639–42. Available from:
<http://cancerres.aacrjournals.org/content/69/14/5639.long>

55. Han M, Liu M, Wang Y, Chen X, Xu J, Sun Y, et al. Antagonism of miR-21 reverses epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cell phenotype through AKT/ERK1/2 inactivation by targeting PTEN. *PLoS One* [Internet]. 2012 Jan [cited 2014 Sep 8];7(6):e39520. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3382593&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
56. Qian B, Katsaros D, Lu L, Preti M, Durando A, Arisio R, et al. High miR-21 expression in breast cancer associated with poor disease-free survival in early stage disease and high TGF-beta1. *Breast Cancer Res Treat* [Internet]. 2009 Sep [cited 2014 Sep 8];117(1):131–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18932017>
57. Kosaka N, Iguchi H, Ochiya T. Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Sci* [Internet]. 2010 Oct [cited 2014 Jul 9];101(10):2087–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20624164>
58. Wu Q, Wang C, Lu Z, Guo L, Ge Q. Analysis of serum genome-wide microRNAs for breast cancer detection. *Clin Chim Acta* [Internet]. 2012 Jul 11 [cited 2014 Sep 10];413(13-14):1058–65. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009898112000988>
59. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees C a, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* [Internet]. 2000 Aug 17;406(6797):747–52. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3465532&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
60. Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2001 Sep 11;98(19):10869–74. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=58566&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
61. Kittaneh M, Montero AJ, Glück S. Molecular Profiling for Breast Cancer: A Comprehensive Review. *Libr Académica*. 2013;5(Biomarkers Cancer):61–70.
62. Mamounas EP, Tang G, Fisher B, Paik S, Shak S, Costantino JP, et al. Association between the 21-gene recurrence score assay and risk of locoregional recurrence in node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer: results from NSABP B-14 and NSABP B-20. *J Clin Oncol*

- [Internet]. 2010 Apr 1 [cited 2014 Jul 27];28(10):1677–83. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2849763&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
63. National Cancer Institute. Clinical Trials (PDQ®) [Internet]. Hormone Therapy With or Without Combination Chemotherapy in Treating Women Who Have Undergone Surgery for Node-Negative Breast Cancer (The TAILORx Trial). 2006 [cited 2014 Sep 10]. Available from: <http://www.cancer.gov/clinicaltrials/search/view?cdrid=472066&version=healthprofessional>
 64. National Cancer Institute. The TAILORx Breast Cancer Trial [Internet]. 2010 [cited 2014 Sep 10]. p. 1. Available from: <http://www.cancer.gov/clinicaltrials/noteworthy-trials/tailorx>
 65. Buyse M, Loi S, van't Veer L, Viale G, Delorenzi M, Glas AM, et al. Validation and clinical utility of a 70-gene prognostic signature for women with node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* [Internet]. 2006 Sep 6 [cited 2014 Jul 21];98(17):1183–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16954471>
 66. Retèl VP, Joore M a, Knauer M, Linn SC, Hauptmann M, Harten WH Van. Cost-effectiveness of the 70-gene signature versus St. Gallen guidelines and Adjuvant Online for early breast cancer. *Eur J Cancer* [Internet]. 2010 May [cited 2014 Jul 27];46(8):1382–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20359886>
 67. Bueno-de-Mesquita JM, van Harten WH, Retel VP, van't Veer LJ, van Dam FS a M, 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* [Internet]. 2007 Dec [cited 2014 Jul 14];8(12):1079–87. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18042430>
 68. EORT European organisation for research and treatment of cancer. A prospective , randomised study comparing the 70-gene expression signature with common clinical-pathological criteria in selecting patients for adjuvant chemotherapy in node-negative (Microarray In Node negative Disease may Avoid ChemoTherapy) . Bruselas; 2006.
 69. Rutgers E, Piccart-Gebhart MJ, Bogaerts J, Delalogue S, Veer LV 'T, Rubio IT, et al. The EORTC 10041/BIG 03-04 MINDACT trial is feasible: results of the pilot phase. *Eur J Cancer* [Internet]. Elsevier Ltd; 2011 Dec [cited 2014 Jul 27];47(18):2742–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22051734>

70. Harbeck N, Sotlar K, Wuerstlein R, Doisneau-Sixou S. Molecular and protein markers for clinical decision making in breast cancer: today and tomorrow. *Cancer Treat Rev* [Internet]. Elsevier Ltd; 2014 Apr [cited 2014 Jul 27];40(3):434–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24138841>
71. Hall PS, McCabe C, Stein RC, Cameron D. Economic evaluation of genomic test-directed chemotherapy for early-stage lymph node-positive breast cancer. *J Natl Cancer Inst* [Internet]. 2012 Jan 4 [cited 2014 Jul 9];104(1):56–66. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22138097>
72. Rouzier R, Pronzato P, Chéreau E, Carlson J, Hunt B, Valentine WJ. Multigene assays and molecular markers in breast cancer: systematic review of health economic analyses. *Breast Cancer Res Treat* [Internet]. 2013 Jun [cited 2014 Jul 27];139(3):621–37. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3695325&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
73. Yang M, Rajan S, Issa AM. Cost effectiveness of gene expression profiling for early stage breast cancer: a decision-analytic model. *Cancer* [Internet]. 2012 Oct 15 [cited 2014 Jul 27];118(20):5163–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22359236>
74. Yan L, Beckman R. Pharmacogenetics and pharmacogenomics in oncology therapeutic antibody development. *Biotechniques* [Internet]. 2005 Oct [cited 2014 Aug 26];39(10 Suppl):S565–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18957038>
75. Freedman AN SLFW. Cancer pharmacogenomics and pharmacoepidemiology setting a research agenda to accelerate translation. *J Natl Cancer Inst*. 2010;102:1698–705.
76. Bao T, Davidson NE. Gene Expression Profiling of Breast Cancer. *Adv Surg*. 2008;42:249–60.
77. Stearns V, Davidson NE, Flockhart D a. Pharmacogenetics in the treatment of breast cancer. *Pharmacogenomics J* [Internet]. 2004 Jan [cited 2014 Sep 7];4(3):143–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15024382>
78. Schroth W, Goetz MP, Hamann U, Fasching PA, Schmidt M, Winter S, et al. NIH Public Access. 2014;302(13):1429–36.
79. Lazarus, P.; Blevins-Primeau, A.; Zheng, Y; Sun D. Potential Role of UGT Pharmacogenetics in Cancer Treatment and Prevention: Focus on Tamoxifen. *Ann N Y Acad Sci*. 2009;1155:99–111.

80. Colomer R, Monzo M, Tusquets I, Rifa J, Baena JM, Barnadas A, et al. A single-nucleotide polymorphism in the aromatase gene is associated with the efficacy of the aromatase inhibitor letrozole in advanced breast carcinoma. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2008 Feb 1 [cited 2014 Sep 7];14(3):811–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18245543>
81. Garcia-Casado Z, Guerrero-Zotano A, Llombart-Cussac A, Calatrava A, Fernandez-Serra A, Ruiz-Simon A, et al. A polymorphism at the 3'-UTR region of the aromatase gene defines a subgroup of postmenopausal breast cancer patients with poor response to neoadjuvant letrozole. *BMC Cancer* [Internet]. 2010 Jan;10:36. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2830181&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
82. Largillier R, Etienne-Grimaldi M-C, Formento J-L, Ciccolini J, Nebbia J-F, Ginot A, et al. Pharmacogenetics of capecitabine in advanced breast cancer patients. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2006 Sep 15 [cited 2014 Aug 18];12(18):5496–502. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17000685>
83. Bray J, Sludden J, Griffin MJ, Cole M, Verrill M, Jamieson D, et al. Influence of pharmacogenetics on response and toxicity in breast cancer patients treated with doxorubicin and cyclophosphamide. *Br J Cancer* [Internet]. Nature Publishing Group; 2010 Mar 16 [cited 2014 Sep 7];102(6):1003–9. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2844036&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
84. Gomez J. Abstract P6-04-16: Molecular Profiling of Stage II and III Breast Cancer in Latin American Women Receiving Standard-of-Care Treatment. *Cancer Res* [Internet]. 2011 Apr 26 [cited 2014 Sep 10];70(24 Supplement):P6–04–16–P6–04–16. Available from: http://cancerres.aacrjournals.org/cgi/content/meeting_abstract/70/24_Mee tingAbstracts/P6-04-16
85. Gomez J. US-Latin American Cancer Research Network: An Opportunity to Collaborate on Quantitative Image Research. Bethesda, Maryland; 2011 p. 1–42.
86. Lee C, Ph D, Morton CC. Structural Genomic Variation and Personalized Medicine. *N Engl J Med*. 2008;358(7):740–1.
87. Registro Nacional de Cáncer CHLCC. *CANCER DE MAMA en Uruguay*. Montevideo, Uruguay; 2010 p. 1–6.

88. Vermeeren, V□; Michiels L. Evolution towards the implementation of point-of-care biosensors. In: Prof. Pier Andrea Serra, editor. Biosensors for Health, Environment and Biosecurity [Internet]. Hasselt: InTech; 2011 [cited 2014 Aug 16]. p. 127–48. Available from: <http://www.intechopen.com/books/biosensors-for-health-environment-and-biosecurity/evolution-towards-the-implementation-of-point-of-care-biosensors>

Anexos: Figuras y tablas

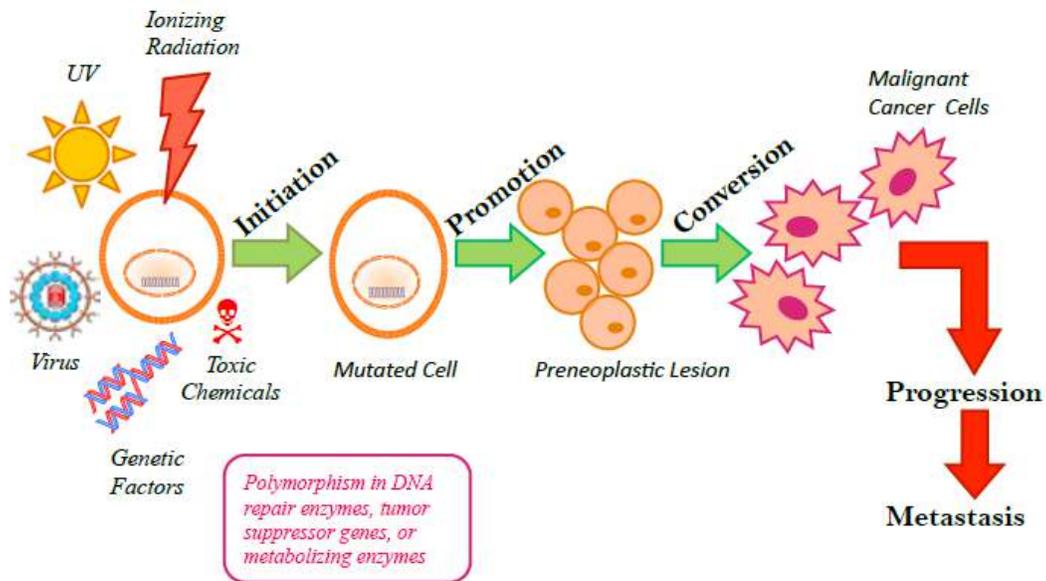


Fig 1. Carcinogénesis

El primer paso de la carcinogénesis es la iniciación, la cual requiere de la exposición de las células normales a carcinógenos. Éstos producen alteraciones genéticas que si no son reparadas resultan en mutaciones celulares irreversibles. Las células mutadas tienen ventaja en el crecimiento selectivo, confiriéndoles el potencial de desarrollar una subpoblación de células neoplásicas. Durante la segunda fase, la promoción, carcinógenos u otros factores alteran el ambiente a favor del crecimiento de la subpoblación de células mutadas por sobre las células normales. En algún punto se da la conversión a células tumorales. Las mutaciones genéticas involucradas en la carcinogénesis permiten la activación de oncogenes, bloquean genes supresores tumorales, alteración de los genes de reparación del ADN y/o inhibición de los genes apoptóticos.

Extraída de (3)



CANCER DE MAMA EN URUGUAY: 2005-2009

Tasa específica por edad



Registro Nacional de Cáncer – Uruguay
COMISION HONORARIA DE LUCHA
CONTRA EL CANCER

Fig 2. Tasas de Incidencia y Mortalidad para el Cáncer de Mama en Mujeres Uruguayas, período 2005-2009, según edad.

Extraído de (87)

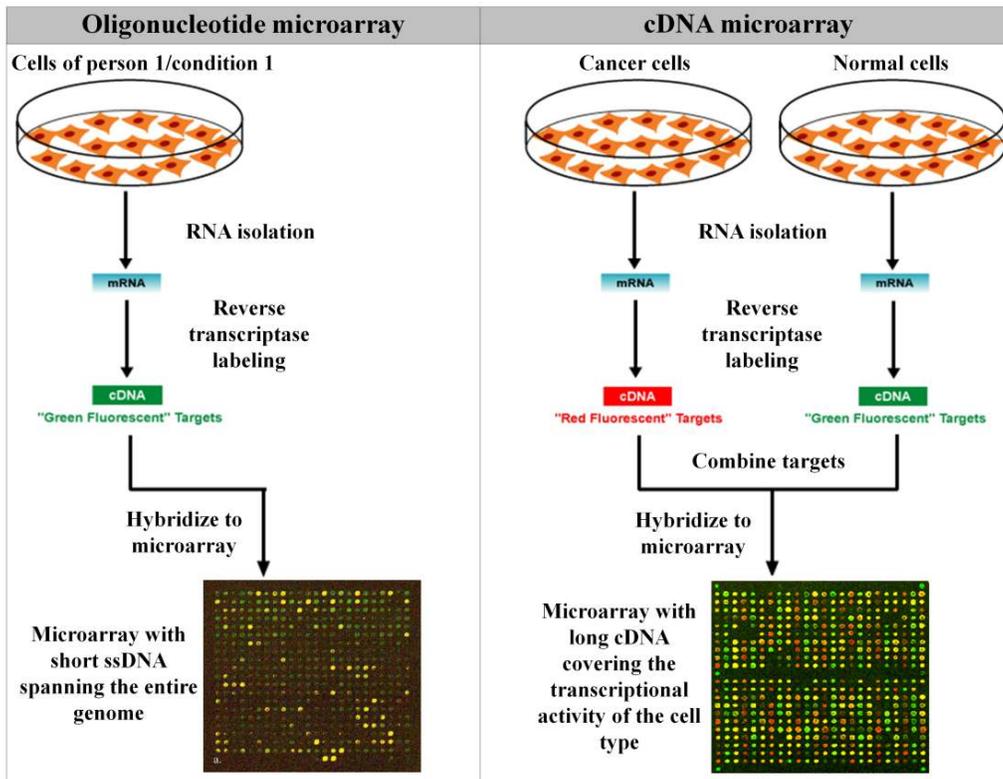


Fig 3. Diagrama esquemático de un microarreglo de oligonucleótidos (izquierda) y un microarreglo de ANDc (derecha).

Las micromatrices de oligonucleótidos analizan la presencia o ausencia de fragmentos genéticos en la muestra de un paciente. El chip se construye con sondas que cubren gran parte del genoma. La ventaja es que se pueden detectar gran cantidad de variantes genéticas en un solo test. Como desventaja el costo por paciente es elevado dado que se requiere un chip por cada test individual.

La micromatriz de ANDc es una técnica más rentable. Consiste en la obtención y comparación de perfiles de expresión de dos muestras: el ARN control (tejido normal) y el ARN problema (por ejemplo tejido tumoral). Marcadas con un fluorocromo de diferente color (Cy3 y Cy5) ambas muestras se hibridarán en un mismo chip. El cual se construye con sondas de algunos loci o alelos de interés. Las diferencias de intensidades de fluorescencia indicarán si algún gen de la muestra de estudio se encuentra sobreexpresado o reprimido. Se puede observar la activación (verde), represión (rojo) y/o mismos niveles de expresión en ambas muestras (amarillo) (14).

Extraído de (88)

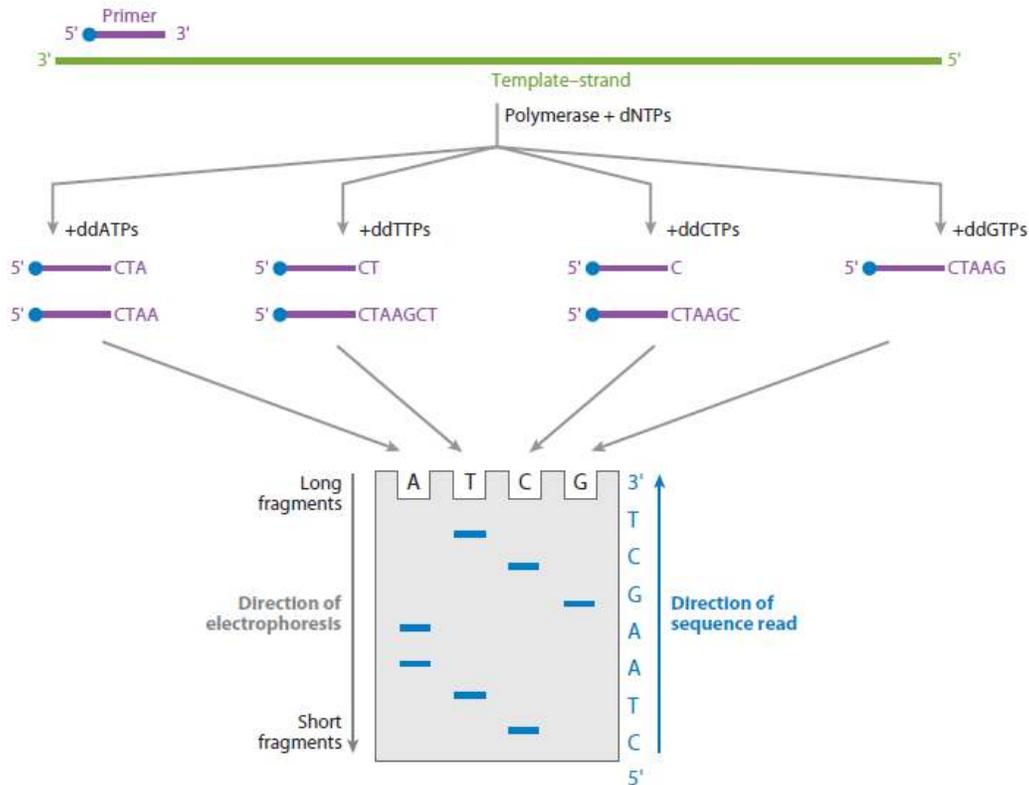


Fig 4. Método de secuenciación de Sanger

Se aísla y se clona el ADN que se desea secuenciar, luego se desnaturaliza y se emplea una sola hebra. Se utilizan cuatro tubos de reacción, cada uno con el ADN molde de hebra simple que se desea secuenciar, la ADN polimerasa, el cebador y los cuatro nucleótidos trifosfatados y uno de los 4 dideoxinucléotido en cada tubo de reacción (ddATP, ddTTP, ddGTP y ddCTP). En cada uno de estos tubos se producen fragmentos de ADN de distintas longitudes, terminando todos en el lugar en el que se incorporó el dideoxinucléotido correspondiente. Los productos de las 4 reacciones son sometidos a electroforesis en gel de poliacrilamida en carriles adyacentes. La posición de los fragmentos es identificada por el ^{32}P con el cual están marcados los nucleótidos, de manera que el gel se revela en una placa de rayos X. El método de lectura de la secuencia se realiza de arriba hacia abajo en el corrido electroforético, es decir del fragmento de menor longitud al de mayor.

Extraído de (12)

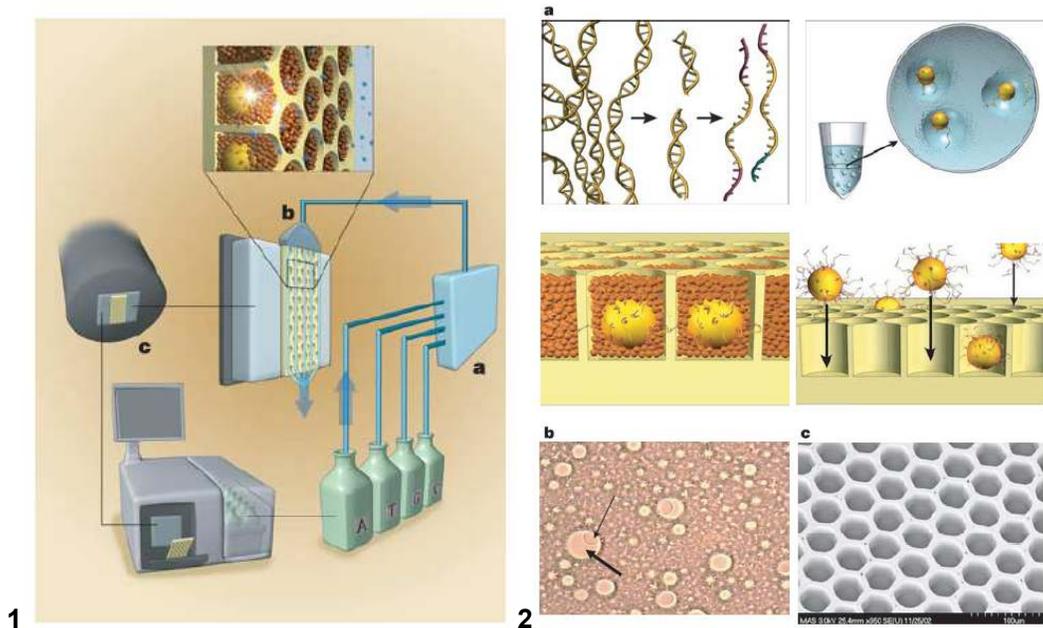


Fig. 5 Pirosecuenciado, a la izquierda, Instrumento de secuenciación y a la derecha, Preparación de la muestra.

1- El Instrumento de secuenciado consiste en un sistema de fluidos (a), una cámara de flujo que contiene el portaobjetos de fibra óptica (b) y un conjunto de visualización basado en una cámara CCD (c) y una computadora que controla el proceso.

2a - Para la preparación de la muestra, el ADN se fragmenta, se le ligan adaptadores y se desnaturaliza para obtener ADN simple hebra (arriba izquierda). Cada fragmento se une a una perla las cuales son capturadas en gotitas de emulsión. La amplificación ocurre dentro de cada gotita por PCR en emulsión. Cada perla se rodea de 10 millones de copias de un fragmento de ADN (arriba derecha). Luego se desnaturaliza el ADN y se coloca cada perla rodeada de ADN en un pocillo del portaobjetos (abajo derecha). Los reactivos necesarios para la pirosecuenciación se colocan en los pocillos (abajo izquierda) b- Fotografía de microscopio electrónico muestra las gotitas de emulsión (flecha gruesa) con las perlas (flecha fina). c - Fotografía de microscopio de barrido muestra el portaobjetos de fibra óptica vacío.

Extraído de (18).

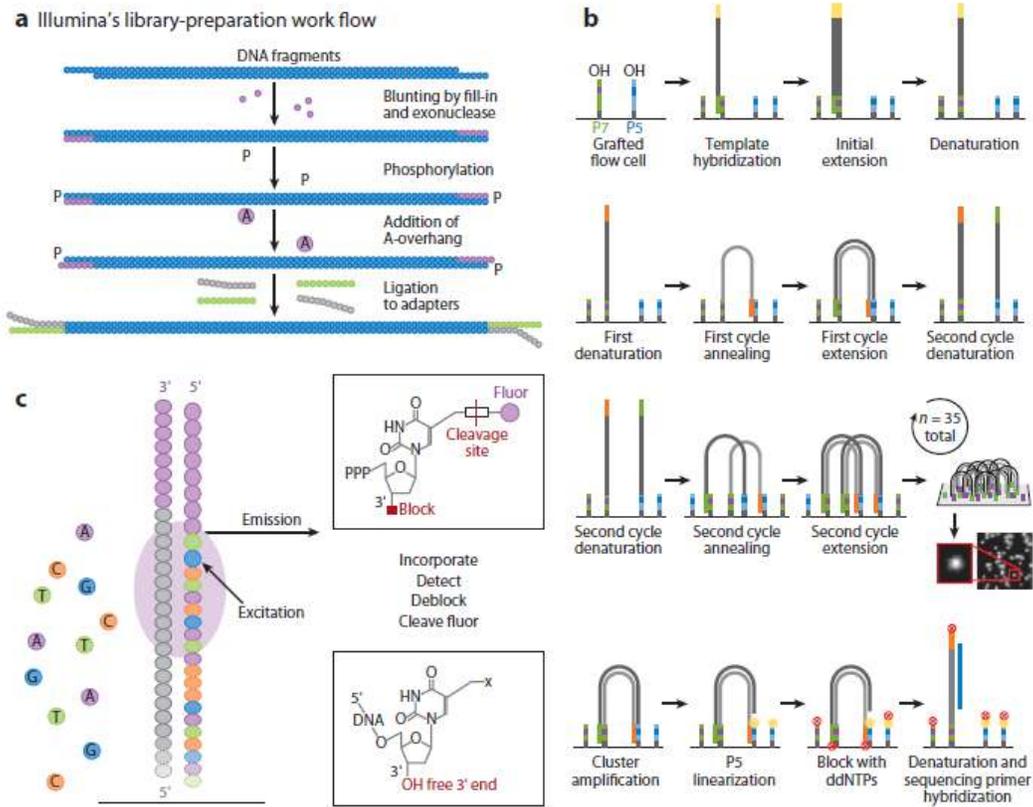


Figure 3

(a) Illumina® library-construction process. (b) Illumina cluster generation by bridge amplification. (c) Sequencing by synthesis with reversible dye terminators.

Fig 6. Illumina®.

Se prepara la biblioteca de fragmentos de AND unidos a adaptadores (a). La amplificación consiste en una reacción por puentes (b). La reacción de secuenciación consiste en la adición de los 4 nucleótidos marcados con un fluoróforo diferente, estos son incorporados por la polimerasa y la reacción se bloquea debido a un grupo bloqueador que tienen en la posición 3'OH de la ribosa. Se lavan los nucleótidos no incorporados, la señal de fluorescencia de cada cluster es leída y por último los fluoróforos son clivados y los extremos 3'OH desbloqueados para continuar la elongación de los fragmentos (c).

Extraído de (12)

Table 1. Comparison of NGS platforms

Sequencing platform	Library/template preparation	Sequencing reaction chemistry	Maximum read length, bp	Run time, d	Maximum throughput per run (total bp sequenced)	Strengths	Limitations
Illumina HiSeq 2000	Bridging amplification	Reverse terminator	100	2 ^a , 11 ^b	95–600 Gb ^d	Most widely used platform; large throughput	All samples on flow cell sequenced at same read length
Illumina MiSeq	Bridging amplification	Reverse terminator	250	0.17 ^a , 1.1 ^b	440 Mb–7 Gb	Short run times	Low number of total reads (~15 million)
Roche Genome Sequencer FLX	Emulsion PCR	Pyrosequencing	400	0.4	0.5–0.6 Gb	Longer reads; fast run times	High reagent cost; lowest number of total reads (~1 million)
Solid/ABI 5500	Emulsion PCR	Ligation sequencing	75	2 ^a , 7 ^b	90–300 Gb	Independent flow cell lanes; high capacity for multiplexing	Short read lengths
Ion Personal Genome Machine	Emulsion PCR	Ion sequencing	200	0.1	1 Gb	Low-cost scalable machine	Low number of total reads (~11 million)
Complete Genomics	PCR on DNA nanoballs	Ligation sequencing	70	12	20–60 Gb	Complete service for human sequencing	High cost per sample; only available for human resequencing
Helicos	Single molecule	Reverse terminator	55	8	21–35 Gb	No amplification bias	Machine not widely used; sequencing service available through company
PacBio RS	Single molecule	Real-time	1,000	<0.1 ^c	N/A	Potential for longest read lengths and shorter run times	Highest error rates

NOTE: Amplification-based and single-molecule sequencing technologies have been referred to as second- and third-generation sequencing technologies, respectively, in the literature (16). The term third-generation sequencing has also been used to refer to near-term nanopore sequencing technologies. Nanopore sequencing is not covered in this review, and readers are directed to an article by Branton and colleagues (90).

Abbreviation: N/A, not applicable.

^aSingle-end sequencing.

^bPair-end sequencing.

^cCompany estimate.

^dTwo flow cells.

Tabla 1. Comparación de las distintas plataformas de Secuenciación de Nueva Generación

Extraída de (17)

ARN promotores	ARN supresores
metástasis	metástasis
miR-335	miR-7
miR-126	miR-17/20
miR-206	miR-22
miR-21	miR-30
miR-210	miR-31
miR-221	miR-126
miR-9	miR-145
miR-10b	miR-146
miR-21	miR-193b
miR-29a	miR-205
miR-155	miR-206
miR-373/520	miR-335,
	miR-448
	miR-661
	let-7.

Tabla 2. microARN asociados con una función supresora o promotora en el desarrollo del CM (34–54).

Table 2. Surrogate definitions of intrinsic subtypes of breast cancer

Intrinsic subtype	Clinico-pathologic surrogate definition	Notes
Luminal A	<p>'Luminal A-like' <i>all of:</i> ER and PgR positive HER2 negative Ki-67 'low'^a Recurrence risk 'low' based on multi-gene-expression assay (if available)^b</p>	The cut-point between 'high' and 'low' values for Ki-67 varies between laboratories. ^a A level of <14% best correlated with the gene-expression definition of Luminal A based on the results in a single reference laboratory [23]. Similarly, the added value of PgR in distinguishing between 'Luminal A-like' and 'Luminal B-like' subtypes derives from the work of Prat et al. which used a PgR cut-point of ≥20% to best correspond to Luminal A subtype [24]. Quality assurance programmes are essential for laboratories reporting these results.
Luminal B	<p>'Luminal B-like (HER2 negative)' ER positive HER2 negative and <i>at least one of:</i> Ki-67 'high' PgR 'negative or low' Recurrence risk 'high' based on multi-gene-expression assay (if available)^b</p> <p>'Luminal B-like (HER2 positive)' ER positive HER2 over-expressed or amplified Any Ki-67 Any PgR</p>	'Luminal B-like' disease comprises those luminal cases which lack the characteristics noted above for 'Luminal A-like' disease. Thus, either a high Ki-67 ^a value or a low PgR value (see above) may be used to distinguish between 'Luminal A-like' and 'Luminal B-like (HER2 negative)'.
Erb-B2 overexpression	'HER2 positive (non-luminal)' HER2 over-expressed or amplified ER and PgR absent	
'Basal-like'	'Triple negative (ductal)' ER and PgR absent HER2 negative	There is an 80% overlap between 'triple-negative' and intrinsic 'basal-like' subtype. Some cases with low-positive ER staining may cluster with non-luminal subtypes on gene-expression analysis. 'Triple negative' also includes some special histological types such as adenoid cystic carcinoma.

^aA majority of the Panel voted that a threshold of ≥20% was indicative of 'high' Ki-67 status. Others, concerned about the high degree of inter-laboratory variation in Ki-67 measurement [26] and the possibility for undertreatment of patients with luminal disease who might benefit from chemotherapy, would use a lower (local laboratory specific) cut-point to define Ki-67 'high' or use multi-gene-expression assay results, if available.

^bThis factor was added during Panel deliberations after circulation of the first draft of the manuscript, to reflect a strong minority view. Although neither the 21-gene RS nor the 70-gene signature was designed to define intrinsic subtypes, a concordance study noted that over 90% of cases with a low RS and almost 80% of those with a 70-gene low-risk signature were classified as Luminal A [95].

Tabla 3. Subtipos intrínsecos del Cáncer de Mama

Extraído de (8)

Table 1 Most frequently mutated breast cancer genes

Gene mutation	Function	Approximate mutation frequency (%)				
		Overall	Luminal A	Luminal B	HER2-enriched	Basal-like
PIK3CA	catalytic subunit of PI3 kinase; key signal transduction enzyme involved in cellular growth, survival and insulin signaling	25-36	40-45	29	39	9
TP53	tumor suppressor; key regulator of cell cycle, DNA repair, apoptosis	27-37	12	29	72	80
GATA3	transcription factor which regulates luminal epithelial cell differentiation in the mammary gland	4-11	14	15	2	2
MAP3K1	kinase that activates ERK and JNK kinase pathways	3-8	13	5	4	0
MLL3	histone-lysine N-methyltransferase involved in transcriptional co activation	7	8	6	7	5
CDH1	cell-cell adhesion glycoprotein; loss-of-function mutations in E-cadherin are a feature of lobular breast cancer	7	9-10	5	5	0

Tabla 4. Mutaciones genéticas más frecuentes en el Cáncer de Mama.

Extraído de (11)

Table 3. Systemic treatment recommendations

Subtype ^e	Type of therapy	Notes on therapy
'Luminal A-like'	Endocrine therapy is the most critical intervention and is often used alone.	Cytotoxics may be added in selected patients. Relative indications for the addition of cytotoxics accepted by a majority of the Panel included: (i) high 21-gene RS (i.e. >25), if available; (ii) 70-gene high risk status, if available; (iii) grade 3 disease; (iv) involvement of four or more lymph nodes (a minority required only one node). The Panel was almost equally divided as to whether young age (<35 years) <i>per se</i> was an indication to add cytotoxics. Studies suggest a wide geographical divergence in the threshold indications for the inclusion of cytotoxics for the treatment of patients with luminal disease [96].
'Luminal B-like (HER2 negative)'	Endocrine therapy for all patients, cytotoxic therapy for most.	
'Luminal B-like (HER2 positive)'	Cytotoxics + anti-HER2 + endocrine therapy	No data are available to support the omission of cytotoxics in this group.
'HER2 positive (non-luminal)'	Cytotoxics + anti-HER2	Threshold for use of anti-HER2 therapy was defined as pT1b or larger tumour or node-positivity.
'Triple negative (ductal)'	Cytotoxics	
'Special histological types' ^a		
A. Endocrine responsive	Endocrine therapy	
B. Endocrine non-responsive	Cytotoxics	Adenoid cystic carcinomas may not require any adjuvant cytotoxics (if node negative).

^aSpecial histological types: endocrine responsive (cribriform, tubular and mucinous); endocrine non-responsive (apocrine, medullary, adenoid cystic and metaplastic).

Tabla 5. Recomendaciones del Consenso Internacional de Expertos de St. Gallen 2013 para el Tratamiento Sistémico del Cáncer de Mama primario según el subtipo intrínseco.

Extraído de (8)

Table 4 Commercially available prognostic gene-expression-based tests for breast cancer

Gene expression test	Oncotype DX®	MammaPrint®	"Intrinsic gene molecular classification/PAM50/Prosigna™	MapQuant DX®	EndoPredict®	Breast Cancer Index SM (HoxB13:IL17BR/MGI)
Provider	Genomic Health	Agendia BV	NanoString Technologies Inc.	Qiagen (formerly Ipsogen Inc.); still available?	Sividon Diagnostics	bioTheragnostics
Assay	21-gene recurrence score	70-gene signature	"Intrinsic gene" list or 50-gene PCR	97-gene signature or 8-gene qRT-PCR	qRT-PCR 8 prognostic genes, 3 normalization gene	2-gene HOXB13:IL17R/ molecular-grade index
RNA isolated from	Formalin-fixed, paraffin-embedded tumor tissue	Frozen or formalin-fixed, paraffin-embedded tumor tissue	Frozen or formalin-fixed, paraffin-embedded tumor tissue	Frozen or formalin-fixed, paraffin-embedded tumor tissue	Formalin-fixed, paraffin-embedded tumor tissue	Formalin-fixed, paraffin-embedded tumor tissue
Outcome	Disease-free relapse at 10 years	Distant metastasis at 5 years	Disease-free, distant metastasis-free and overall survival	Good (GGI I) or poor (GGI III) prognosis	Distant metastasis at 10 years	Relapse-free and overall survival
Clinical Application	Prediction of recurrence risk in ER+ BC treated with tamoxifen	Prognosis of N0 BC, <5 cm diameter	Classification of invasive breast cancers	Molecular grading, for ER+, histological grade II BC	Prognosis of endocrine-treated BC	Prognostic in ER+ BC, prediction of response to tamoxifen
Risk groups identified	Three risk groups based on recurrence score	Dichotomous; good or poor prognosis	Classification of tumors into luminal A, luminal B, HER2, and basal-like subtypes	Dichotomous; GGI I or GGI III	Dichotomous; low risk or high risk	Continuous variable; risk of recurrence score

ER estrogen receptor, BC breast carcinoma, GGI Genomic Grade Index

Tabla 6. Comparación de los Test multigenéticos con valor pronóstico para el Cáncer de Mama comercialmente disponibles.

Extraído de (7)