

Utjecaj dodatka trastuzumaba adjuvantnoj kemoterapiji HER 2 pozitivnog raka dojke u svakodnevnoj kliničkoj praksi

Ban, Marija

Doctoral thesis / Disertacija

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:534595>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-06**



Repository / Repozitorij:

[MEFST Repository](#)



Sveučilište u Splitu

Medicinski fakultet

Marija Ban

**UTJECAJ DODATKA TRASTUZUMABA ADJUVANTNOJ
KEMOTERAPIJI HER 2 POZITIVNOG RAKA DOJKE U
SVAKODNEVNOJ KLINIČKOJ PRAKSI**

Doktorska disertacija

Split, 2018.

Rad je izrađen u Klinici za onkologiju i radioterapiju KBC-a Split i Kliničkom zavodu za patologiju, sudsku medicinu i citologiju KBC-a Split.

Voditelj rada:

prof. dr. sc. Eduard Vrdoljak

Veliku zahvalnost na stručnoj pomoći i bodrenju u izradi ove doktorske disertacije kao i na cijelom svojem profesionalnom putu dugujem svojem Učitelju i mentoru ovog rada prof. dr. sc. Eduardu Vrdoljaku.

Hvala prof. dr. sc. Snježani Tomić, dipl. ing. Vesni Čapun i dr. Jeleni Viculin za pomoć i suradnju pri izradi ovog rada.

Ovaj rad posvećujem svojim roditeljima Luci i Anti kao kapljicu zahvalnosti za oceane bezuvjetne ljubavi i povjerenja.

SADRŽAJ

	Str.
1. UVOD	8
1. 1. Etiologija i epidemiologija raka dojke	8
1. 2. Klinička slika raka dojke	11
1. 3. Dijagnostika raka dojke	11
1. 4. Patologija raka dojke	12
1.4.1. Histološki tipovi raka dojke	13
1.4.2. Stupanj diferencijacije raka dojke	14
1.4.3. Određivanje patološkog stadija bolesti	14
1.4.4. Molekularni biomarkeri i molekularna klasifikacija raka dojke	18
1. 5. Prognostički čimbenici	20
1.5.1. Prognostički multigeni testovi	22
1. 6. Liječenje raka dojke	24
1.6.1. Liječenje ranog i lokalno uznapredovalog raka dojke	24
1.6.1.1. Kirurško liječenje raka dojke	24
1.6.1.2. Radioterapija raka dojke	25
1.6.1.3. Neoadjuvantno sustavno liječenje	26
1.6.1.4. Adjuvantno sustavno liječenje	27
1.6.1.4.1. Adjuvantna kemoterapija	27
1.6.1.4.2. Adjuvantna endokrina terapija	28

1.6.2. Adjuvantno liječenje HER 2 pozitivnog raka dojke	30
1.6.2.1. Trastuzumab u adjuvantnom liječenju HER 2 pozitivnog raka dojke	31
1.6.2.2. Ostali lijekovi ispitivani u adjuvantnom liječenju HER 2 pozitivnog raka dojke	35
1.6.3. Liječenje metastatskog raka dojke	37
1. 7. Problematika istraživanja	40
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZA	42
2. 1. Ciljevi istraživanja	42
2. 2. Hipoteza	42
3. ISPITANICE I METODE ISTRAŽIVANJA	43
3. 1. Ispitanice	43
3.1.1. Kriteriji uključenja	43
3.1.2. Kriteriji isključenja	43
3. 2. Određivanje veličine uzorka	44
3. 3. Imunohistokemijske analize	44
3. 4. Statistički postupci	47
4. REZULTATI	48
4. 1. Obilježja bolesnica	48
4. 2. Analiza preživljenja bez znakova bolesti	51

4. 3.	Analiza ukupnog preživljenja	56
4. 4.	Analiza specifičnog preživljenja od raka dojke	61
5.	RASPRAVA	67
6.	ZAKLJUČCI	72
7.	SAŽETAK	73
8.	SUMMARY	74
9.	LITERATURA	75
10.	ŽIVOTOPIS	86

POPIS I TUMAČ SKRAĆENICA

AC	doksorubicin/ciklofosfamid
AC-T	doksorubicin/ciklofosfamid-paklitaksel
AC-TH	doksorubicin/ciklofosfamid-paklitaksel/Herceptin
AI	aromatazni inhibitori
AJCC	<i>engl.</i> American Joint Committee on Cancer
AP	alkalna fosfataza
ASCO/CAP	<i>engl.</i> American Society of Clinical Oncology / College of American Pathologists
BRCA1	gen karcinoma dojke 1 (<i>engl.</i> breast cancer gene 1)
BRCA2	gen karcinoma dojke 2 (<i>engl.</i> breast cancer gene 2)
CDK4/6	kinaze ovisne o ciklinima 4/6 (<i>engl.</i> cyclin dependent kinases 4/6)
DCIS	duktalni karcinom <i>in situ</i>
ER	estrogenski receptori
FAC	5-fluorouracil/doksorubicin/ciklofosfamid
FEC	5-fluorouracil/epirubicin/ciklofosfamid
HER 2	ljudski receptor za epidermalni čimbenik rasta 2 (<i>engl.</i> human epidermal growth factor receptor 2)
IHC	imunohistokemija (<i>engl.</i> immunohistochemistry)
ITC	izolirane tumorske stanice (<i>engl.</i> isolated tumor cells)
KBC	klinički bolnički centar
LHD	laktat-dehidrogenaza

LIN	lobularna intraepitelna neoplazija
MR	magnetska rezonanca (<i>engl.</i> magnetic resonance)
MSCT	višeslojna kompjutorizirana tomografija (<i>engl.</i> multislice computed tomography)
mTOR	<i>engl.</i> mammalian target of rapamycin
NOS	nespecificiran drugačije (<i>engl.</i> no otherwise specified)
OECD	<i>engl.</i> Organisation for Economic Co-operation and Development
PARP	<i>engl.</i> poly (adenosinephosphate-ribose) polymerase
PD-1/PDL-1	<i>engl.</i> programmed death receptor/programmed death ligand -1
PET	pozitronska emisijska tomografija (<i>engl.</i> positron emission tomography)
RANK	<i>engl.</i> receptor activator of nuclear factor kappa B
RR	relativni rizik
RT PCR	<i>engl.</i> real time polymerase chain reaction
RTG	Rentgen
RS	<i>engl.</i> recurrence score
SAD	Sjedinjene Američke Države
SEER	<i>engl.</i> Surveillance, Epidemiology, and End Results
SISH	<i>engl.</i> silver <i>in situ</i> hibridisation
TCH	paklitaksel/ciklofosamid/Herceptin
T-DM1	trastuzumab-emtanzin
TNM	<i>engl.</i> Tumor Node Metastasis - klasifikacijski sustav
UZV	Ultrazvuk

VEGF vaskularni endotelni čimbenik rasta (*engl.* vascular endothelial growth factor)

Vs nasuprot (*engl.* versus)

1. UVOD

1. 1. Etiologija i epidemiologija raka dojke

Rak dojke najčešća je maligna bolest žena u svijetu, s čak 1,671 milijun novooboljelih žena u 2012. godini (1). Prema procjeni GLOBOCAN-a, dobno-standardizirana stopa za svjetsko standardno stanovništvo iznosi 43,1/100 000, sa značajnim varijacijama u različitim regijama svijeta (1). Incidencija je veća u razvijenim zemljama, a kreće se od 19 na 100 000 u istočnoj Africi do 123 na 100 000 u bjelkinja u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) (1). Godine 2012. od raka dojke diljem svijeta umrlo je više od 520 000 žena (1). U Europi je rak dojke na prvome mjestu po broju oboljelih žena (ukupno 458 718 žena, sa standardiziranom stopom incidencije 71,1/100 000) te na prvom mjestu po smrti žena od malignih bolesti (ukupno 131 347 žena, sa standardiziranom stopom smrtnosti 16,1/100 000) (1).

Hrvatska se sa standardiziranom stopom incidencije od 60,9/100 000 nalazi na dvadeset četvrtom mjestu, a na petnaestom mjestu po smrtnosti (16,7/100 000) (2). Prema rezultatima studije EURO CARE 5, petogodišnje preživljenje od raka dojke iznosi 78,7%. Prema procjenama OECD-a (*engl.* Organisation for Economic Co-operation and Development), Hrvatska je među vodećim zemljama u Europskoj uniji po mortalitetu od raka dojke i jedna od rijetkih koja bilježi porast mortaliteta u periodu od 2003. do 2013. godine (3, 4). Pojavnost raka dojke raste svugdje u svijetu, no u razvijenim zemljama bilježi se pad smrtnosti, što se u najvećoj mjeri pripisuje napretku u onkološkom liječenju te programima ranog otkrivanja bolesti (1).

Prema podacima Registra za rak Republike Hrvatske, 2014. godine od raka dojke oboljele su 2644 žene (gruba stopa 120,5/100 000, dobno standardizirana stopa na svjetsko standardno stanovništvo: 66/100 000 i dobno standardizirana stopa na europsko stanovništvo: 66/100 000) (2). Dobna raspodjela govori da većinom obolijevaju postmenopauzalne žene, a petina je slučajeva dijagnosticirana u žena mlađih od 50 godina. U svim dobnim skupinama bilježi se porast incidencije. Ako se analiziraju trendovi mortaliteta, vidljivo je da porast postoji samo u dobnj skupini iznad 70 godina, ali ne primjerice u dobnj skupini između 50 i 70 godina. Ako ne postoji biološka razlika u raku dojke u postmenopauzalnih žena starijih od 50 godina i starijih od 70 godina, moguće objašnjenje za povećanu smrtnost starijih žena leži vjerojatno u stadiju bolesti pri dijagnozi te nejednakostima u dostupnosti i/ili kvaliteti zdravstvene skrbi. Isto tako, moguće su razlike u određivanju osnovnih uzroka smrti, između starijih žena s više komorbiditeta i mlađih žena s rakom dojke (5). Nakon uvođenja Nacionalnog programa za

rano otkrivanje raka dojke naglo je porasla incidencija u dobnoj skupini između 50 i 69 godina što i jest ciljana skupina za program probira (5). Nacionalni program probira započeo je 2006. godine, a održana su četiri ciklusa s prosječnim odazivom od 60% (5).

Pojavnost raka dojke povezana je s više rizičnih čimbenika poput starije životne dobi, obiteljske anamneze, povećane izloženosti ženskim spolnim hormonima (bilo endogenima ili egzogenima), pretilosti, konzumacije alkohola, prisutnosti benignih bolesti dojke i ranije izloženosti zračenju (6). Životna dob predstavlja najvažniji rizični čimbenik za nastanak raka dojke. Nadalje, dugotrajna izloženost ženskim spolnim hormonima (prije svega estrogenima) u žena s ranom *menarchom*, kasnom menopauzom, nuliparitetom, dobi pri prvom porodu starijom od 35 godina te korištenjem hormonske nadomjesne terapije također se povezuje s povećanim rizikom za obolijevanje od raka dojke (7). Indeks tjelesne mase predstavlja neovisni rizični čimbenik za razvoj raka dojke u postmenopauzalnih žena, posebno luminalnih podtipova (8). Povezanost povišenog indeksa tjelesne mase i raka dojke u premenopauzalnih žena nije izražena (8). Meta-analiza više od 1000 epidemioloških studija pokazala je da rizik od raka dojke raste povećanjem indeksa tjelesne mase (relativni rizik (RR) iznosi 1,1 za svakih pet jedinica povećanja indeksa tjelesne mase, 95% CI (*engl.* confidence interval) (1,1-1,2)) (9). Konzumacija alkohola također je jasno povezana s pojavnošću raka dojke uz linearnu povezanost porasta rizika s količinom konzumiranog alkohola (10). Proliferativne lezije dojke poput lobularnog karcinoma *in situ*, potom atipične duktalne i lobularne hiperplazije mogu biti povezane s povećanom učestalošću raka dojke. Tako je analiza 19 462 bolesnice s lobularnim *in situ* rakom dojke iz baze podataka SEER (*engl.* Surveillance, Epidemiology, and End Results) pokazala kumulativnu incidenciju invazivnog raka dojke 11,3% (95% CI (10,7 - 11,9)) na 10 godina i 19,8% (95% CI (18,8 - 20,9)) na 20 godina praćenja (11).

Pozitivna obiteljska anamneza predstavlja vrlo heterogen rizični čimbenik s različitim utjecajem na rizik ovisno o broju oboljelih, stupnju srodstva s oboljelima te životnoj dobi kada se bolest javila (6). Oko 20-25% bolesnica ima pozitivnu obiteljsku anamnezu, dok je nasljeđivanje poznatih genetskih čimbenika rizika, uključujući mutacije BRCA (*engl.* breast cancer gen) 1 i BRCA 2 gena odgovorno za najviše 10% oboljelih (6). U sklopu obiteljske anamneze mogu se izdvojiti dva entiteta: nasljedni rak dojke i takozvani obiteljski rak dojke.

Nasljedni rak dojke povezan je s mutacijama u genima s visokom penetracijom, vertikalnim prijenosom s majke ili oca na dijete i često je povezan i s pojavnosti drugih zloćudnih tumora

(12). Često se javljaju u mlađoj životnoj dobi i ponašaju se po obrascu autosomno-dominantnog nasljeđivanja. Obiteljski rak dojke dijeli određeni dio, ali ne i sva obilježja, nasljednog raka dojke. Iako se obiteljski rak dojke pojavljuje s većom učestalosti u određenoj obitelji u odnosu na opću populaciju, nema obrazac nasljeđivanja ni mlađu životnu dob pri pojavi bolesti kao nasljedni rak (12, 13). Obiteljski rak dojke može biti povezan s nakupljanjem sporadičnih slučajeva unutar obitelji, genetskim varijacijama u nisko penetrirajućim genima, zajedničkim okolišnim čimbenicima ili kombinacijom navedenih čimbenika (13). Nastanak raka dojke rezultat je složene interakcije multiplih čimbenika uključujući genetske, socioekonomske i čimbenike okoliša. Doprinos čimbenika okoliša i životnog stila jasno se vidi u porastu incidencije raka dojke među Japankama koje žive u Sjedinjenim Američkim Državama, ali i trendu povećanja incidencije raka dojke u Japanu, što se objašnjava preuzimanjem zapadnjačkog načina života (14).

Danas se među zdravom populacijom pokušavaju pronaći žene s povećanim rizikom obolijevanja od raka dojke. Prije svega potrebno je uzeti detaljnu osobnu i obiteljsku anamnezu te ukoliko se primijete određeni rizični čimbenici isti se mogu izmjeriti i procijeniti pomoću primjerice Gailovog ili Tyrer-Cuzickova modela i onda u skladu s rezultatima uputiti osobu na daljnje testiranje i savjetovanje o mjerama redukcije rizika (15-17). Mjere za redukciju rizika pojave raka dojke uključuju: promjene stila života (održavanje optimalne tjelesne težine, redovita tjelesna aktivnost, nekonzumiranje alkohola) i redovite kontrolne preglede, kemoprevenciju te kiruršku profilaksu. Prve se dvije mjere odnose na cijelu populaciju, dok se druge dvije mjere odnose na visokorizične žene i primjenjuju se tek nakon detaljne analize svih važnih čimbenika i odluke multidisciplinarnog tima. Lijekovi koji se mogu koristiti za redukciju rizika jesu selektivni modulatori estrogenih receptora: tamoksifen, raloksifen i lasofoksifen. Interes za primjenu tamoksifena u preventivne svrhe dolazi od dobro poznatog učinka na značajno smanjenu pojavnost raka kontralateralne dojke kada se primjenjuje adjuvantno (18). Primjena tamoksifena u kemoprevenciji raka dojke dovela je do značajnog smanjenja incidencije invazivnog raka dojke u rizičnoj populaciji žena (19-23). Skupna analiza studija s tamoksifenom pokazala je 38% smanjenje rizika pojave invazivnog raka dojke u odnosu na placebo ($P < 0,001$, 95% CI(8 - 46)) uz povećan relativni rizik od raka endometrija (95% CI(1,5-4,0), $P = 0,0005$) (23). Selektivni modulator estrogenih receptora druge generacije raloksifen kemijski je drugačiji od tamoksifena, ima sličan antiestrogeni učinak i značajno manje djeluje na endometriju (24, 25). I tamoksifen i raloksifen značajno smanjuju rizik pojavnosti hormonski ovisnog raka dojke, dok na pojavnost hormonski

neovisnog raka dojke nemaju značajniji učinak (23, 25). I treći lijek iz skupine selektivnih modulatora estrogenskih receptora lasofoksifen pokazao je antiestrogeni učinak, bez povećanja pojavnosti raka endometrija, što može sugerirati povoljniji terapijski profil u odnosu na tamoksifen (26). U kemoprevenciji raka dojke ispitivani su i aromatazni inhibitori egzemestan i anastrozol u postmenopauzalnih žena, no zasad nisu u uporabi u navedenoj indikaciji (27, 28).

1. 2. Klinička slika raka dojke

Rani rak dojke najčešće se prezentira kao bezbolni čvorić u dojci i/ili kao patološki nalaz mamografije ili drugih slikovnih metoda poput ultrazvuka (UZV) ili magnetske rezonance (MR) dojki. Kod uznapredovale bolesti može doći do promjena na koži, egzulceracije tumora, pojave krvavog iscjetka iz bradavice, promjene oblika i veličine dojke. Isto tako, kod uznapredovalih tumora mogu se klinički otkriti i povećani limfni čvorovi u pazuhu (29). U 5-10% bolesnica bolest se prezentira kao *de novo* metastatska bolest koja može biti asimptomatska ili se prezentirati simptomima udaljenih presadnica poput boli u kostima, otežanog disanja, žutice i sl. (30). Udio pojedinih stadija pri dijagnozi različit je u različitim dijelovima svijeta te bi se moglo općenito reći da se u siromašnijim zemljama svijeta bolest otkriva u uznapredovalim stadijima (31).

1. 3. Dijagnostika raka dojke

Pri sumnji na rak dojke potrebno je uzeti osobnu i obiteljsku anamnezu, obaviti klinički pregled dojki i ostali somatski status (ovisno o nalazu u dojci i/ili simptomima) te obaviti laboratorijsku i slikovnu dijagnostiku s ciljem definiranja stupnja proširenosti bolesti.

Kliničkim pregledom dojki definiraju se pozicija, veličina, konzistencija, osjetljivost i pomičnost tumorske tvorbe te status pazušnih i supraklavikularnih limfnih čvorova.

Laboratorijske pretrage uključuju krvnu sliku, biokemijske pretrage krvi (obavezno alkalnu fosfatazu (AP), laktat dehidrogenazu (LDH), transaminaze, bilirubin) (32).

Za definitivni dokaz zloćudne bolesti danas je beziznimno potrebna tkivna dijagnostika. Materijali se uzimaju biopsijom širokom iglom ili otvorenom (kirurškom) biopsijom (33). Predoperativni patohistološki nalaz bioptata treba opisati: histološki tip i nuklearni gradus

tumora, status estrogenskih receptora (ER), progesteronskih receptora (PR) i HER 2 (*engl.* human epidermal growth factor receptor 2) status i ako je moguće vaskularnu invaziju. U bolesnica s inoperabilnim rakom dojke određuju se još i proliferacijski biljeg Ki67 te imunofenotip tumora. Konačni patohistološki nalaz (iz operativnog materijala, ako je bolesnica kirurški liječena) uključuje: broj i veličinu svih tumora u uzorku tkiva dojke; histološki tip tumora; nuklearni i histološki gradus tumora; evaluaciju i status resekcijskih rubova; ukupan broj izvađenih i pozitivnih limfnih čvorova; veličinu najvećeg metastatskog depozita u limfne čvorove i nalaz proboja kapsule limfnog čvora; peritumorsku vaskularnu invaziju; proširenost *in situ* komponente; status ER i PR (postotak pozitivnih stanica i intenzitet bojanja) ako je nalaz negativan na biopsiji iglom ili nije učinjeno bojanje; HER 2 status; Ki67; surogatni imunofenotip tumora te ostale promjene (proliferacija epitela, ravna atipija i sl.).

Prije biopsije treba napraviti bilateralnu mamografiju, UZV dojki i regionalnih limfnih čvorova. Magnetska rezonanca dojki radi se po preporuci multidisciplinarnog tima. Nakon pozitivne biopsije, u slučaju uznapredovalih stadija bolesti, patoloških kliničkih i/ili laboratorijskih nalaza, dolaze u obzir dodatne pretrage: scintigrafija kostiju, rentgen (RTG)/kompjutorizirana tomografija (CT) (*engl.* computed tomography) toraksa, UZV/CT abdomena i zdjelice. PET (*engl.* positron emission tomography) nije rutinska metoda izbora za procjenu stupnja proširenosti bolesti te se primjenjuje po odluci tima (32, 33).

Kada se obave sve navedene pretrage, prije započinjanja bilo kakvog modaliteta liječenja, bolesnica mora biti prikazana multidisciplinarnom timu.

1. 4. Patologija raka dojke

Rak dojke predstavlja heterogenu skupinu bolesti koje se razlikuju po histološkim, molekularnim i kliničkim osobitostima (34). Tradicionalno se u klasifikaciji raka dojke koriste kliničko-patološki i nekoliko molekularnih markera (35). Određuje se histološki tip tumora, stupanj diferencijacije, ER i PR, HER 2 status, proliferacijski biljeg Ki67, procjena vaskularne invazije te se procjenjuje stupanj proširenosti u regionalne limfne čvorove (35). Ipak, navedenim parametrima ne uspijeva se potpuno obuhvatiti biološku i kliničku heterogenost raka dojke. Napredak u razvoju molekularnih tehnika uključujući imunohistokemijske metode, *in situ* hibridizaciju, RT PCR (*engl.* real time polymerase chain

reaction) i sekvencioniranje nove generacije te razvoj bioinformatike produbljuje spoznaje o raku dojke i otvaraju vrata personaliziranoj ili preciznoj medicini. Cilj presonalizirane medicine jest da na temelju boljeg razumijevanja genskih specifičnosti tumora omogući odabir najboljeg mogućeg liječenja za bolesnice s rakom dojke. U sljedećim pododjeljcima bit će prikazani patološki parametri koji su važni u kliničkoj praksi.

1.4.1. Histološki tipovi raka dojke

Rak dojke nastaje iz duktalnog i lobularnog epitela. Proliferativne promjene epitela dojke uključuju: hiperplaziju, atipičnu hiperplaziju, karcinom *in situ* i invazivni karcinom (36). Osim karcinoma, u dojci se rijetko (< 1% svih slučajeva) mogu javiti drugi zloćudni tumori poput različitih vrsta sarkoma, primarnog limfoma te presadnica drugih tumora (37). Invazivni karcinomi dojke obuhvaćaju veoma heterogenu skupinu tumora koji se međusobno razlikuju po svojim kliničkim, radiološkim i patohistološkim značajkama. Najčešći histološki tip invazivnog karcinoma dojke jest invazivni duktalni karcinom čija se dijagnoza postavlja isključivanjem svih drugih specijalnih oblika invazivnog karcinoma dojke. Da bi se naglasila ta činjenica većina klasifikacijskih sustava koristi termin *invazivni duktalni karcinom, nespecificiran drugačije* (*engl. no otherwise specified, NOS*), na koji otpada 70-80% svih invazivnih karcinoma dojke, dok specijalni tipovi karcinoma predstavljaju 20-30% invazivnih karcinoma (32). Patohistološki oblici raka dojke navedeni su u tablici 1.

Tablica 1. Histopatološki tipovi raka dojke

In situ karcinomi

Duktalni *in situ* karcinom

Pagetova bolest

Invazivni oblici karcinoma dojke

Uobičajeni karcinom dojke nespecificiran (NOS)

Upalni

Medularni, NOS

Medularni s limfoidnom stromom

Mucinozni (papilarni, predominantno mikropapilarni)

Tubularni

Lobularni

Pagetova bolest i infiltracija

Nediferencirani

Planocelularni

Adenoidni cistični

Sekretorni

Kribriformni

1.4.2. Stupanj diferencijacije raka dojke

Nakon definiranja histološkog tipa tumora, u svim je invazivnim karcinomima potrebno odrediti histološki stupanj diferenciranosti. Preporučuje se korištenje Nottinghamskog sustava (Elston-Ellisova modifikacija Scarff-Bloom-Richardsonovog sustava) (35). Navedenim se sustavom na temelju morfoloških obilježja (stvaranje tubula, nuklearni pleomorfizam i broj mitoz) tumori razvrstavaju u tri stupnja zloćudnosti: niski (G I, 3-5 bodova, dobro diferenciran), srednji (G II, 6 i 7 bodova, srednje diferenciran) ili visoki (G III, 8 i 9 bodova, slabo diferenciran) stupanj.

1.4.3. Određivanje patološkog stadija bolesti

Svim bolesnicama s histološki dokazanim rakom dojke treba odrediti stadij bolesti, pri čemu se najčešće koristi TNM (*engl.* Tumor Node Metastasis) klasifikacija sustava AJCC-a (*engl.* American Joint Committee on Cancer), što je prikazano u tablicama 2 i 3 (35).

Tablica 2. TNM klasifikacija raka dojke

Primarni tumor (T)

TX	Primarni tumor se ne može procijeniti
T0	Nema dokaza za postojanje primarnog tumora
Tis	Karcinom <i>in situ</i>
(DCIS)	
T1	Tumor ≤ 20 mm u najduljem promjeru
	T1mi Tumor ≤ 1 mm
	T1a Tumor > 1 mm i ≤ 5 mm
	T1b Tumor > 5 mm i ≤ 10 mm
	T1c Tumor > 10 mm i ≤ 20 mm
T2	Tumor > 20 mm i ≤ 50 mm
T3	Tumor > 50 mm
T4	Tumor bilo koje veličine s direktnim širenjem u (a) torakalnu stjenku ili (b) kožu, kako je navedeno ispod
	T4a Širenje u torakalnu stijenku, ne uključujući pektoralni mišić
	T4b Edem (uključujući <i>peau d'orange</i>) ili ulceracija kože dojke, satelitski čvor u koži ograničen na istu dojku
	T4c Uključuje prisustvo i T4a i T4b

Patološki (pN)

- pNX** Zahvaćenost regionalnih limfnih čvorova ne može se procijeniti (npr. prethodno odstranjeni)
- pN0** Bez presadnica u regionalnim limfnim čvorovima histološki ili prisutnost samo izoliranih tumorskih stanica (*engl.* isolated tumor cells, ITC)
pN0 (i+) Samo ITC u regionalnim limfnim čvorovima (nakupina malignih stanica < 0,2 mm)
pN0 (mol+) Pozitivan molekularni nalaz RT-PCR, bez ITC nakupina
- pN1** Mikropresadnice ili presadnice u 1-3 pazušna limfna čvora i/ili klinički negativni unutarnji mamarni čvorovi s mikroskopskom ili makroskopskom bolešću koja je otkrivena disekcijom sentinel limfnih čvorova
- pN1mi Mikropresadnice ($\geq 0,2$ mm do $\leq 2,0$ mm)
- pN1a Presadnice u 1-3 pazušna limfna čvora te da je barem jedna presadnica > 2 mm
- pN1b Presadnice u ipsilateralne unutarnje mamarne limfne čvorove, isključujući ITC
- pN1c Kombinacija pN1a i pN1b
- pN2** Presadnice u 4-9 pazušnih limfnih čvorova ili pozitivni unutarnji mamarni limfni čvorovi prema slikovnim metodama, u odsutnosti presadnica u pazušne limfne čvorove
- pN2a Presadnice u 4-9 pazušnih limfnih čvorova (najmanje jedan tumorski depozit mora biti $\geq 2,0$ mm)

pN2b Presadnice u klinički uočljive povećane unutarnje mamarne limfne čvorove uz patološki negativne pazušne limfne čvorove

pN3 Presadnice u deset ili više pazušnih limfnih čvorova; u infraklavikularne limfne čvorove; u istostrane unutarnje mamarne limfne čvorove detektirane slikovnim metodama uz prisutnost jednog ili više pozitivnih pazušnih limfnih čvorova razine I i II; u više od tri pazušna limfna čvora i mikroskopske ili makroskopske presadnice definirane sentinel biopsijom u klinički negativnih unutarnjih marnih limfnih čvorova; u istostrane supraklavikularne limfne čvorove

pN3a Presadnice u deset ili više pazušnih limfnih čvorova (najmanje jedan tumorski depozit mora biti veći od 2,0 mm) ili presadnice u infraklavikularne limfne čvorove

pN3b pN1a ili pN2a u prisutnosti pozitivnih istostranih unutarnjih marnih limfnih čvorova definirano slikovnim metodama ili pN2a u prisutnosti pN1b

pN3c Presadnice u istostrane supraklavikularne limfne čvorove

Udaljene presadnice

M0 nema kliničkih ni radioloških znakova udaljenih presadnica

cM0 (i+) bez kliničkih i radioloških znakova bolesti, prisutne tumorske stanice ili depoziti tumorskih <2 mm detektirani mikroskopski ili molekularnim tehnikama u cirkulirajućoj krvi, koštanoj srži ili drugom tkivu koje isključuje regionalne limfne čvorove

pM1 bilo koji patohistološki dokaz presadnica u udaljene organe, limfne čvorove koji nisu regionalni, presadnice > 2 mm

Tablica 3: Sustav određivanja stadija raka dojke prema AJCC-u

Stadij	T	N	M
0	Tis	N0	M0
IA	T1	N0	M0
IB	T0-T1	N1mi	M0
IIA	T0-1	N1	M0
	T2	N0	M0
IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
IIIA	T0-2	N2	M0
	T3	N1-2	M0
IIIB	T4	N0-2	M0
IIIC	Bilo koji T	N3	M0
IV	Bilo koji T	Bilo koji N	M1

1.4.4. Molekularni biomarkeri i molekularna klasifikacija raka dojke

Pri procjeni prognoze bolesti te odgovora na liječenje uz histološki tip, stupanj diferencijacije i stadij bolesti, od vitalne je važnosti biologija tumora (34). Danas se rutinski određuju razine ekspresije ER i PR, definira se indeks proliferacije primjenom Ki67 protutijela i HER 2 status (35). Temeljem navedenih parametara definiramo molekularne podtipove raka dojke. Genomskom analizom raka dojke pokazano je da je unatoč tome što svaki pojedinačni tumor ima jedinstveni genski ekspresijski profil, tumore moguće grupirati u karakteristične reproducibilne skupine s nekim zajedničkim osobitostima (34, 38). Podtipovi raka dojke najprije su klasificirani u ovisnosti o ER ekspresiji (39). Estrogen receptor pozitivni tumori imali su eksprimirane ER i PR vezane gene karakteristične za luminalne epitelne stanice pa su nazvani luminalnima. Kasnije su analize pokazale da je luminalna kategorija heterogena u odnosu na ekspresiju drugih gena i ishod bolesti (40). Luminalna skupina tumora nadalje je podijeljena u A i B podskupinu. Općenito je luminalna B kategorija karakterizirana ekspresijom ER-a, koja je praćena visokom proliferacijom i/ili HER 2 ekspresijom i niskom ili odsutnom PR ekspresijom. HER 2 skupina karakterizirana je aktivacijom HER 2 gena.

Skupina tumora nalik bazalnima (*engl.* basal-like) označena je gubitkom ER i HER 2 vezanih gena i pojačanom aktivnošću gena koji su karakteristični za bazalne stanice i visokom proliferacijskom aktivnošću. Skupina tumora nalik na normalno tkivo dojke (*engl.* normal breast-like) ima trostruko negativan fenotip, ali ne i gene karakteristične za bazalne stanice, a ekspresijski profil sličan je onome u normalnom tkivu dojke. Genskim ekspresijskim profiliranjem trostruko negativnih tumora isti su se podijelili u šest skupina: bazalnom nalik I, bazalnom nalik II, mezenhimalni, mezenhimalni nalik na matične stanice, imunomodulatorni i luminalni androgen receptor pozitivni (41). Genomske su klasifikacije temeljene na integrativnoj analizi genskog ekspresijskog profila skupe, relativno nedostupne, teže reproducibilne i za dio analiza zahtijevaju svježije tkivo (35, 42). Zbog toga se u svakodnevnoj kliničkoj praksi primjenjuju jeftinije metode poput imunohistokemije i RT PCR za analizu manjeg broja gena/proteina koji su se u modelima molekularne klasifikacije pokazali kao najvažniji za zamjensko definiranje molekularnih podtipova (35). To su, kao što je navedeno, ER i PR, HER 2 status i Ki67 na temelju kojih su definirana četiri zamjenska molekularna podtipa raka dojke: luminalni A, luminalni B, HER 2 pozitivni i trostruko negativni rak dojke. Svaka od navedenih skupina ima različitu gensku ekspresiju, prirodni tijek bolesti, metastatski potencijal i odgovor na različite modalitete liječenja. Obilježja navedenih podskupina opisana su u tablici 4. Iako je identifikacija intrinzičnih podtipova pomogla u razumijevanju biologije raka dojke i povećala nadu u bolju predikciju odgovora na liječenje, njezina je primjena u kliničkoj praksi bila manje uspješna (35). Ciljano se liječenje još uvijek zasniva na statusu hormonskih receptora i HER 2, neovisno o molekularnoj klasifikaciji (35). Unatoč ograničenoj kliničkoj primjenjivosti, genetsko ekspresijsko profiliranje dovelo je do uvođenja molekularnih multigenetskih testova koji se uglavnom koriste za procjenu potrebe primjene dodatnog sistemskog liječenja.

Tablica 4. Molekularni podtipovi raka dojke (43)

	Luminalni A	Luminalni B	HER 2 pozitivni	Trostruko negativni
Ekspresija gena	Ekspresija citokreatina i visoka ekspresija gena za HR i gena pridruženih genima za ER	Ekspresija citokreatina i umjerena do slaba ekspresija gena za hormonske receptore i njima pridruženih gena	Ekspresija HER 2/neu gena; niska ekspresija gena za ER i njima pridruženih gena	Visoka ekspresija bazalnih epitelnih gena, bazalnih citokeratina, niska ekspresija gena za ER i HER 2/neu i njima pridruženih gena
Učestalost	Oko 50% raka dojke	Oko 20% raka dojke	Oko 15% raka dojke	Oko 15% raka dojke
ER/PR status	ER/PR +	ER/PR +	ER/PR-	ER/PR -
HER 2/neu status	Neg.	HER 2/neu ekspresija varijabilna (+/-)	HER 2/neu +	HER 2/neu – (trostruko negativni)
Biološke osobitosti		Izraženija proliferacija u odnosu na Luminalni A	Visoka proliferacijska aktivnost	Visoka proliferacijska aktivnost

1. 5. Prognostički čimbenici

Kao što je već navedeno, rak dojke jest heterogena skupina bolesti na čiju prognozu utječu brojni prognostički čimbenici poput: veličine primarnog tumora, zahvaćenosti limfnih čvorova, stupanj diferencijacije tumora, histološki podtip tumora, limfokapilarna invazija,

status ER i PR, HER 2 status, proliferacijski biljeg Ki67 te genski profil spomenut ranije u ovom radu.

a) Veličina primarnog tumora

Veličina primarnog tumora predstavlja jedan od najvažnijih čimbenika koji utječu na pojavu diseminacije bolesti i preživljenje. Iako je veličina primarnog tumora povezana s rizikom zahvaćanja pazušnih limfnih čvorova ona predstavlja neovisan prognostički čimbenik. Naime, u populaciji bolesnica s negativnim limfnim čvorovima veličina primarnog procesa ima značajan utjecaj na preživljenje bolesnica (44).

b) Status regionalnih limfnih čvorova

Status regionalnih limfnih čvorova predstavlja najvažniji prognostički čimbenik i kao takav ima ključnu ulogu pri utvrđivanju stadija karcinoma dojke (44). Iako postoji izravna povezanost između broja zahvaćenih limfnih čvorova i prognoze bolesti, prihvaćena je pojednostavljena shema, koja se koristi i u AJCC-ovu sustavu stupnjevanja, kojom se bolesnice dijele u četiri prognostičke skupine (negativni limfni čvorovi, 1-3 zahvaćena limfna čvora, 4-9 zahvaćenih limfnih čvorova, 10 i više zahvaćenih limfnih čvorova (35, 44).

c) Stupanj diferencijacije tumora

Vrlo važan prognostički čimbenik; bolesnice s dobro diferenciranim karcinomima (G I) imaju statistički značajno dulje preživljenje od onih sa srednje i slabo diferenciranim (G II, G III) karcinomima (45).

d) Histološki tip tumora

Važnost histološkog podtipa invazivnog karcinoma na prognozu bolesti potvrđena je u nizu studija. Tubularni, invazivni kribriformni, mucinozni, adenoid cistični i papilarni podtipovi imaju bolju prognozu u usporedbi s invazivnim duktalnim NOS karcinomom (46, 47). Prognostičko je značenje medularnog karcinoma još uvijek nerazjašnjeno. Invazivni lobularni karcinomi imaju sličnu prognozu kao i invazivni duktalni karcinomi (48).

e) Vaskularna invazija

Ekstenzivna vaskularna invazija predstavlja neovisan negativni prognostički čimbenik (49).

f) Status ER i PR

Predstavlja najvažniji prediktivni čimbenik. Bolesnice s karcinomima negativnima na ER i PR nemaju koristi od endokrine terapije. S druge strane, prognostički utjecaj hormonskih receptora manje je jasan. Dok većina studija ukazuje na bolju prognozu bolesnica s hormonski pozitivnim karcinomima, postoje i one gdje hormonski status nema statistički značajan utjecaj na preživljenje (50, 51). Navedena nepodudarnost može se dijelom objasniti i tehničkim razlozima, pouzdanijim definiranjem pozitivnosti hormonskih receptora imunohistokemijskim metodama u usporedbi s biokemijskim (52).

g) HER 2 status

Prekomjerna izraženost HER 2 receptora, koju nalazimo u 12-20% bolesnica, rezultira agresivnijim tijekom bolesti te predstavlja najznačajniji prediktivni čimbenik učinkovitosti anti-HER 2 terapije. HER 2 status ima i prognostičku važnost; u bolesnica s pozitivnim limfnim čvorovima predstavlja značajan negativni prognostički čimbenik.

h) Ki67 proliferacijski biljeg

Ki67 predstavlja jedan od najvažnijih proliferacijskih biljega. Ukazuje na udio malignih stanica koje su u fazi rasta. Većina studija koje su istraživale prognostičku važnost ovog proliferacijskog biljega u bolesnica s negativnim limfnim čvorovima pokazala je da njegova povišena vrijednost rezultira statistički značajno lošijim preživljenjem bez povrata bolesti i ukupnim preživljenjem (51). U bolesnica s lokalno uznapredovalom bolešću koje primaju neoadjuvantnu kemoterapiju, prekemoterapijska vrijednost ovog biljega ima prediktivni značaj za odgovor na terapiju (terapija je učinkovitija kod viših vrijednosti Ki67), a postkemoterapijska vrijednost ovog biljega korelira s kliničkim odgovorom i ima prognostički značaj (bolja prognoza u onih s niskom vrijednosti Ki67) (53).

1.5.1. Prognostički multigeni testovi

Prognostički multigeni testovi koji se danas koriste u karcinomu dojke jesu brojni i uključuju Mammaprint/Amsterdamsku signaturu, Oncotype DX, PAM50, EndoPredict, Breast cancer Index i Blueprint molekularnu signaturu (54-59). Bez obzira na minimalno

podudaranje specifičnih gena uključenih u multigenске testove, većina njih osigurava svrstavanje bolesnica s ER pozitivnim, HER 2 negativnim tumorima bez minimalnog zahvaćanja limfnih čvorova (N1) ili s njime, u skupinu niskog i visokog rizika, a za Oncotype DX i PAM50 i intermedijarnog rizika za povrat bolesti. Tri najčešća korištena multigenска testa jesu Oncotype DX, Mammaprint i PAM50.

U testu Oncotype DX, na temelju ekspresijskog profila, generira se broj (*engl.* recurrence score (RS)), koji se klasificira kao nizak (<18), intermedijaran (18-30) ili visok (≥ 30), a njime se predviđa rizik povrata bolesti u sljedećih deset godina (55). Rezultati prospektivne randomizirane studije TAILOR X, u koju su uključene 10 253 žene, pokazali su da je u bolesnica s $RS < 11$ u petogodišnjem razdoblju stopa povrata bolesti vrlo niska (preživljenje bez znakova bolesti 93,8% i preživljenje bez znakova udaljenog povrata bolesti 99,3%) te bi u tih bolesnica sama endokrina terapija, bez kemoterapije, bila dovoljna (60). U skupini bolesnica s intermedijarnim RS (11-25), koje su bile randomizirane primati endokrinu terapiju ili endokrinu terapiju i kemoterapiju, nakon devetogodišnjeg praćenja, stopa preživljenja bez invazivnog povrata bolesti jest 83,3% za endokrinu terapiju i 84,3% za endokrinu terapiju i kemoterapiju (HR:1,08; 95% CI:0,94-1,24, $P=0,26$) (61). Ukupno je preživljenje u bolesnica na endokrinoj terapiji iznosilo 93,9%, a u onih koje su primile i endokrinu terapiju i kemoterapiju 93,8%. Korist od kemoterapije pokazana je u žena mlađih od 50 godina, s RS: 16-25.

U testu Mammaprint, analizom 70 gena, procjenjuje se rizik pojave metastatske bolesti i svrstava bolesnice u skupinu niskog ili visokog rizika (54). U studiji MINDACT na 6000 bolesnica uspoređena je vrijednost Mammaprinta i tradicionalnih kliničkih i patoloških kriterija (Adjuvant Online) za identifikaciju bolesnica s ER pozitivnim N0 i N1 ranim rakom dojke koje bi mogle imati dobar klinički ishod bez kemoterapije (62). Rezultati studije upućuju na superiornost genomskog profiliranja u odnosu na Adjuvant Online u analiziranoj skupini bolesnica (62).

U testu PAM50, na temelju algoritma, izračunava se RS kao i u Oncotype DX testu, i bolesnice klasificira kao one s niskim, visokim i intermedijarnim rizikom povrata bolesti (59).

1. 6. Liječenje raka dojke

Liječenje raka dojke uključuje lokalno, odnosno lokoregionalno liječenje (kirurški zahvat i radioterapiju) i sustavno liječenje (kemoterapiju, endokrinu terapiju, biološku terapiju samostalno ili u kombinacijama te simptomatsko-potpornu terapiju). Odabir modaliteta i strategija liječenja definira se u multidisciplinarnom timu. Strategija liječenja temelji se na obilježjima samog tumora (stadij i biologija bolesti) i obilježjima bolesnice uvažavajući dostupnost i cijenu liječenja te stopu stvarne kliničke koristi pojedinog lijeka (30, 63, 64). Rak dojke u muškaraca, na koji otpada 1% od ukupnog broja oboljelih, liječi se slično raku dojke u postmenopausalnih žena, s izuzetkom u kojem se pri davanju aromataznih inhibitora treba suprimirati testikularnu steroidogenezu (65-67).

1.6.1. Liječenje ranog i lokalno uznapredovalog raka dojke

U rani i lokalno uznapredovali rak ubrajaju se stadiji I, IIA, IIB i IIIA (T3N1M0).

1.6.1.1. Kirurško liječenje raka dojke

Kod bolesnica s ranim rakom dojke liječenje obično započinje kirurškim zahvatom – pošteđnim ili mastektomijom. U više kliničkih studija dokazano je da mastektomija ima jednak ishod u odnosu na pošteđne zahvate (npr. kvadrantektomija, segmentektomija) nakon kojih se adjuvantno ordinira radioterapija, po pitanju lokalne kontrole i ukupnog preživljenja u bolesnica sa stadijem I i II (67-71). Pošteđni kirurški zahvati kontraindicirani su kod trudnica, kojima bi nakon operacije, a tijekom trudnoće, bila indicirana radioterapija; kod bolesnica s difuznim mikrokalcifikatima; kod bolesnica kod kojih veličina tumora kompromitira radikalnost operativnog zahvata. Relativnu kontraindikaciju predstavlja i prethodna radioterapija dojke ili prsne stijenke, aktivne bolesti vezivnog tkiva (prije svega sklerodermija i lupus) te tumori veći od 5 cm. Mastektomija se primjenjuje kod bolesnica kod kojih nije indiciran pošteđni zahvat. U novije se vrijeme razmatra korist od mastektomije kontralateralne, zdrave dojke. Nedavna meta-analiza pokazala je da primjena profilaktičke mastektomije ne doprinosi apsolutnom smanjenju rizika pojave udaljenih presadnica (72). Nadalje, u skupini bolesnica s rakom dojke koje imaju povećan rizik nasljednog/obiteljskog raka dojke profilaktička mastektomija kontralateralne dojke doprinosi smanjenju relativnog i

apsolutnog rizika u pojavi metakronog kontralateralnog raka dojke (RR=0,04 (95% CI:0,02; 0,09); RD=-24,0% (95% CI: -35.6%; -12.4%)), bez učinka na produljenje ukupnog preživljenja (72). Kontralateralna mastektomija mogla bi se razmatrati samo u žena mlađih od 35 godina i nositeljica mutacija BRCA1/2 i to samo nakon genetskog savjetovanja i odluke multidisciplinarnog tima (72). Kod bolesnica s klinički negativnim pazuhom danas se savjetuje mapiranje limfnog čvora čuvara i biopsija istog, čime se smanjuje učestalost postoperativnih komplikacija poput boli u ramenu, gubitka osjeta i limfedema. Preporuka se temelji na kliničkim ispitivanjima u kojima nije dokazana značajna razlika između biopsije limfnog čvora čuvara i disekcije pazuha u detektiranju zahvaćenih limfnih čvorova (73, 74). Ako se prilikom biopsije limfnog čvora čuvara u navedenoj skupini bolesnica pronađu do tri zahvaćena limfna čvora, nije potrebna daljnja disekcija pazuha, što je potvrđeno u studiji ACOSOG Z0011 (75). U navedenoj studiji bolesnice s T1 i T2 tumorima podvrgnute su poštenj kirurgiji dojke i biopsiji limfnog čvora čuvara. Bolesnice s manje od tri pozitivna limfna čvorova randomizirane su na disekciju pazušnih limfnih čvorova ili praćenje. Nakon medijana praćenja od oko šest godina lokoregionalni povrat bolesti iznosio je 4,3% u bolesnica s disekcijom pazuha i 2,8% kod bolesnica s biopsijom limfnog čvora čuvara ($P=0,11$). Medijan ukupnog preživljenja bio je oko 92% u obje skupine (76). Disekcija I i II razine pazušnih limfnih čvorova primjenjuje se kod bolesnica s klinički pozitivnim limfnim čvorovima ili citološki/histološki pozitivnim limfnim čvorovima, kod bolesnica nakon neoadjuvantne kemoterapije ili ako nisu pronađeni limfni čvorovi pazuha prilikom biopsije istih. Potrebno je odstraniti barem deset limfnih čvorova. Disekcija se širi na razinu III limfnih čvorova samo ako su zahvaćeni limfni čvorovi razine II i III (77).

1.6.1.2. Radioterapija raka dojke

Nakon poštenog kirurškog zahvata u većine bolesnica indicirano je provođenje radioterapije na cijelu dojku, te dodatna doza na sijelo tumora, a ovisno o stadiju bolesti zrači se i područje regionalne limfne drenaže (71). Rezultati istraživanja pokazuju da izostavljanje radioterapije nakon poštenog kirurškog zahvata ne kompromitira uspješnost liječenja u populaciji bolesnica starijih od 70 godina sa stadijem bolesti I i hormonski pozitivnim tumorima kojima se ordinira endokrina terapija (78). Nakon mastektomije radioterapija na područje torakalne stijenke indicirana je kod bolesnica s tumorima od 5 cm i većim, zahvaćenima resekcijskim rubovima i negativnim rubovima, ali manjim od 1 mm (79). Radioterapija na regionalnu

limfnu drenažu kod bolesnica s pozitivnim limfnim čvorovima smanjuje učestalost lokalnog i udaljenog povrata bolesti te produljuje preživljenje bez znakova bolesti (80, 81) i ukupno preživljenje (82-85). U slučaju kad je nakon operativnog zahvata potrebno provesti i adjuvantnu kemoterapiju i radioterapiju, najprije se provede kemoterapija, potom radioterapija (86). Kod bolesnica koje su liječene neoadjuvantnom kemoterapijom, a potom operativnim zahvatom, indikacija za radioterapiju postavlja se na temelju početnog stadija bolesti.

1.6.1.3. Neoadjuvantno sustavno liječenje

Odluka o neoadjuvantnoj sustavnoj terapiji i njezinim modalitetima donosi se na temelju kliničkog (i radiološkog) stadija bolesti (lokalno uznapredovali i/ili inoperabilni rak dojke) te molekularno-patološkim obilježjima raka dojke (64). Smisao ovog pristupa nalazi se u smanjenju primarnog tumora i postizanju boljih kirurških rezultata uz istodobnu eradikaciju mikropresadnica bolesti. Stupanj povezanosti potpunog patološkog odgovora i parametara preživljenja najizraženiji je u trostruko negativnim, nešto manje izražen u HER 2 pozitivnim i najmanje izražen u luminalnim tumorima (87). Dugotrajni je ishod bolesti jednak neovisno o tome ordinira li se kemoterapija prije ili nakon operacije (88). Mogu se primijeniti isti kemoterapijski protokoli, preferencijalno kombinacija antraciklina i taksana (doksorubicin/ciklofosamid-paklitaksel, AC-T) (64). U neoadjuvantnom liječenju HER 2 pozitivnih bolesnica, uz kemoterapiju se primjenjuje anti-HER 2 terapija, monoklonalna protutijela trastuzumab i pertuzumab, gdje je kombinacija oba protutijela uz kemoterapiju dovela do značajno veće stope potpunog patološkog odgovora u odnosu na primjenu samo jednog protutijela uz kemoterapiju (89-91). U studiji Neosphere (faza II) dodatak pertuzumaba trastuzumabu i docetakselu doveo je do statistički značajnog povećanja stope potpunog patološkog odgovora u dojci (29% naspram 45,8%, $P=0,0141$; 95% CI(3,5-30,1)) (90). Sigurnost neoadjuvantne primjene kombinacije dualne anti-HER 2 blokade pertuzumabom i trastuzumabom uz kemoterapijske protokole s antraciklinom ili bez njega ispitala se u studiji TRYPHENA (91). Stope potpunog patološkog odgovora iznosile su 57% - 66%; nije bilo značajne razlike u kardiotoksičnosti (91).

Kod bolesnica s visokohormonski ovisnim rakom dojke i niskom proliferativnom aktivnošću, može se razmotriti i primjena neoadjuvantne endokrine terapije kroz šest mjeseci. Kod postmenopauzalnih bolesnica najčešće se primjenjuju aromatazni inhibitori, a kod premenopauzalnih bolesnica aromatazni inhibitor uz ovarijsku supresiju (92).

1.6.1.4. Adjuvantno sustavno liječenje

Adjuvantno sustavno liječenje uključuje kemoterapiju, endokrinu terapiju i terapiju usmjerenu na HER 2 receptore te bifosfonate.

1.6.1.4.1. Adjuvantna kemoterapija

Odluka o primjeni adjuvantne kemoterapije temelji se na veličini tumora, stupnju zahvaćenosti limfnih čvorova, histološkom tipu i gradusu tumora, prisutnosti vaskularne invazije s jedne strane te izraženosti ER, PR, HER 2 receptora, Ki67 i imunofenotipu tumora. Adjuvantna kemoterapija obično se savjetuje bolesnicama s pozitivnim limfnim čvorovima, HER 2 pozitivnim tumorima i trostruko negativnim tumorima. Odluka o primjeni kemoterapije u luminalnih tipova tumora, koji od iste imaju najmanju korist, donosi se na temelju procjene drugih rizičnih čimbenika (93). Pri donošenju odluka mogu pomoći algoritmi poput Adjuvant Online i neki od prognostičkih testova (94-96). Meta-analiza koja je evaluirala učinak adjuvantne kemoterapije (protokoli nisu uključivali taksane) kroz 15-godišnji period pokazala je da kemoterapija temeljena na antraciklinima (najčešće FEC (5-fluorouracil/epirubicin/ciklofosfamid) ili protokolu FAC (5-fluorouracil/doksorubicin/ciklofosfamid)) smanjuje relativni godišnji rizik smrti od raka dojke za 38% u populaciji bolesnica koje su imale manje od 50 godina pri postavljanju dijagnoze, odnosno za 20% u onih s 50-69 godina pri postavljanju dijagnoze (97). Dodatno poboljšanje preživljenja bez povrata bolesti, a u nekim studijama i ukupnog preživljenja, postignuto je kada se u adjuvantnoj kemoterapiji uz antracikline ordiniraju i taksani, a najučinkovitijom se pokazala tjedna aplikacija paklitaksela (98-100). Uspoređujući trodnevnu aplikaciju protokola AC (adriamicin/ciklofosfamid), nakon koje je slijedila tjedna aplikacija paklitaksela, s dvotjednom, u kojoj su primjenjivani faktori stimulacije rasta granulocitnih kolonija (filgrastim), pokazalo se da dvotjedna aplikacija donosi 26% smanjenja rizika povrata bolesti ($P=0,01$) i 31% smanjenje rizika od smrti ($P=0,013$) (101). U pokušaju daljnje optimalizacije kemoterapijskog liječenja, provedena je studija NSABP B36 koja je imala za cilj provjeriti hoće li šest ciklusa protokola FEC donijeti dulje preživljenje bez znakova bolesti u odnosu na četiri ciklusa protokola AC u ranom raku dojke te je nakon osmogodišnjeg praćenja pokazano da razlike nema (82,8% FEC naspram 83% AC, HR:1,04, 95% CI(0,85-1,26), $P=0,70$), a učestalost nuspojava gradusa 3 i 4 bila je značajno veća uz protokol FEC (102). Na temelju navedene studije, protokol FEC isključen je kao adjuvantni kemoterapijski protokol (64).

Zaključno bi se moglo reći da je optimalni adjuvantni kemoterapijski protokol danas AC-T za većinu bolesnica. Kod bolesnica koje imaju kardiološke komorbiditete, mogu se potencijalno ordinirati protokoli koji ne sadrže antracikline (64).

1.6.1.4.2. Adjuvantna endokrina terapija

Endokrina terapija kao najstarija ciljana terapija u onkologiji indicirana je kod bolesnica koje imaju izražene ER i PR bez obzira na razinu izraženosti i intenzitet bojanja (64). U liječenju premenopauzalnih bolesnica u obzir dolaze tamoksifen, totalna hormonska blokada (ovarijektomija ili LHRH agonisti) uz aromatazni inhibitor ili tamoksifen. U postmenopauzalnih bolesnica koriste se aromatazni inhibitori (AI) i tamoksifen. Adjuvantna primjena tamoksifena smanjuje relativni godišnji rizik povrata bolesti za 39% i rizik od smrti za 31% neovisno o primjeni adjuvantne kemoterapije, dobi, menopauzalnom statusu i statusu limfnih čvorova pazuha (18). Adjuvantno liječenje tamoksifenom prema dosadašnjim standardima traje pet godina (97). Međutim, rezultati studija ATLAS i aTTom, u kojima se ispitivao učinak produljene primjene tamoksifena (do deset godina ukupno) na redukciju rizika povrata bolesti i smrtnosti od raka dojke, pokazali su korist od produljene primjene tamoksifena te danas desetogodišnja primjena tamoksifena predstavlja važnu terapijsku opciju za određenu subpopulaciju bolesnica, primjerice onih koji nakon pet godina terapije tamoksifenom nisu u menopauzi, a za koje se procijeni da bi mogle imati koristi od produljenog liječenja, ali i za one postmenopauzalne bolesnice u kojih je primjena AI kontraindicirana (103, 104). Osim tamoksifena u premenopauzalnih bolesnica, posebno onih koje imaju nešto veći rizik povrata bolesti, terapija izbora jest totalna hormonska blokada koja uključuje ili ovarijektomiju ili LHRH agonist u kombinaciji s AI (105, 106). Uspoređujući učinkovitost kombinacije totalne hormonske blokade i egzemestana, odnosno tamoksifena, u trajanju od pet godina, studija TEXT pokazala je da je skupina pacijentica koja je uz ovarijalnu blokadu primala egzemestan imala statistički dulje preživljenje bez znakova bolesti (88,8% naspram 92,85%, 95% CI(0,55-0,80), HR:0,66) dok razlike u ukupnom preživljenju nije bilo (HR:1,14, 95% CI(0,81-1,51; $P=0,37$) (106). U studiji SOFT koja je dizajnirana da bi se u premenopauzalnih bolesnica ispitala korist od dodatka ovarijske supresije tamoksifenu i uloga kombinacije ovarijske supresije i AI, pacijentice su randomizirane tako da su primale tamoksifen, tamoksifen uz ovarijsku supresiju ili egzemestan uz ovarijsku supresiju. Nakon petogodišnjeg praćenja nije bilo razlike u stopi preživljenja bez znakova bolesti između

pacijentice koje su primale tamoksifen u odnosu na kombinaciju ovarijske supresije i tamoksifena (84,7% naspram 86,6%, HR:0,83, 95% CI(0,66-1,04, $P=0,37$) (105). Analiza podskupina pokazala je da pacijentice s većim rizikom povrata bolesti, one koje su primale kemoterapiju, imaju veću korist od dodavanja ovarijske blokade te je petogodišnje preživljenje u navedenoj skupini iznosilo 78% uz tamoksifen, 82,5% uz tamoksifen i ovarijsku blokadu i 85,7% uz ovarijsku blokadu i egzemestan. Podskupina bolesnica koja nije primala adjuvantnu kemoterapiju nije imala značajniju korist od dodatka ovarijske blokade s obzirom na to da je pri samom tamoksifenu 95% bolesnica bilo bez znakova bolesti. Združena analiza studija SOFT i TEXT, nakon medijana praćenja od devet godina, pokazala je apsolutno poboljšanje preživljenja bez znakova bolesti od 4% kada se uz ovarijsku supresiju primjeni egzemestan u odnosu na tamoksifen (86,8% naspram 82,8%, HR:0,77; 95%CI (0,67-0,90), $P=0,0006$) (107). Razlike u ukupnom preživljenju nije bilo. Aromatazni inhibitori u postmenopauzalnih bolesnica ispitivali su se kao sekvencijska endokrina terapija, a nakon 2-3 godine tamoksifena; kao inicijalna adjuvantna terapija te kao produljena terapija nakon završetka adjuvantne primjene tamoksifena u trajanju od pet godina (108, 109). Sekvencijska primjena tamoksifen/AI u odnosu na sam tamoksifen ispitivala se u nekoliko studija koje su pokazale prednost kombinacije sekvencijske primjene tamoksifen/AI u odnosu na sam tamoksifen (108-110). U dvije studije pokazao se dobitak i u ukupnom preživljenju: kombinacija tamoksifen/anastrozol naspram tamoksifena (HR:0,53; 95% CI(0,28-0,99), $P=0,045$) i kombinacija tamoksifen/egzemestan naspram tamoksifena (HR:0,83; 95%CI (0,69-1,00), $P=0,05$) u podskupini ER pozitivnih bolesnica (108, 109). Meta-analiza triju studija (ABSCG8, ARNO 95 i ITA) pokazala je značajnu dobit u ukupnom preživljenju u grani koja je primala i tamoksifen pa anastrozol (111). Uspoređujući grane unutar studija ATAC i BIG 1-98 u kojima su bolesnice primale tamoksifen ili anastrozol odnosno letrozol kroz pet godina, pokazana je superiornost AI u odnosu na tamoksifen u smislu poboljšanja preživljenja bez znakova bolesti, (BIG 1-98: HR:0,81, 95% CI(0,76-0,94), $P=0,003$ i ATAC studija: HR:0,85, 95% CI(0,76-0,94), $P=0,003$), razlike u ukupnom preživljenju nije bilo (112, 113). Produljena endokrina terapija letrozolom, a nakon 4,5-6 godina primjene tamoksifena, ispitivana je u studiji MA17. Terapija letrozolom dovela je do dobiti u ukupnom preživljenju u podskupini bolesnica s pozitivnim limfnim čvorovima (HR:0,61, 95% CI(0,38-0,98), $P=0,04$) (114).

Iz navedenog se vidi neupitna korist od adjuvantne endokrine terapije. Odabir lijeka, sekvencioniranje i duljinu trajanja liječenja treba donijeti na temelju dokaza iz kliničkih

studija i vrlo pažljive procjene rizika povrata bolesti i bioloških obilježja svake pojedine bolesnice.

Poznati su učinci endokrine terapije (prije svega s AI), a i same menopauze (prirodne ili uzrokovane liječenjem) na smanjenje gustoće kostiju. Isto tako, zna se da je u luminalnih tumora najčešće sjelo presadnica upravo kost. U pokušaju da se očuva koštano zdravlje i poboljša ishod liječenja istraživala se upotreba bifosfonata u adjuvantnom liječenju raka dojke. Meta-analiza je pokazala da adjuvantna primjena bifosfonata u postmenopauzalnih bolesnica značajno smanjuje rizik povrata bolesti (RR:0,86, 95% CI (0,78-0,94), $2P=0,002$), rizik pojave udaljenih presadnica (RR:0,82, 95% CI (0,74-0,92), $2P=0,003$) i pojave presadnica u kost (RR:0,72, 95% CI (0,60-0,86) te rizik od smrti od raka dojke (RR:0,82, 95% CI (0,73-0,93, $2P=0,0002$) (115).

1.6.2. Adjuvantno liječenje HER 2 pozitivnog raka dojke

HER 2 pozitivni rak dojke označava podskupinu raka dojke u kojem je prekomjerno izražen HER 2/neu gen i posljedično HER 2 proteinski receptor koji pripada četveročlanjoj obitelji transmembranskih tirozin-kinaznih receptora koji su važni za proliferaciju tumorskih stanica. Podskupini HER 2 pozitivnog raka dojke pripada 15-20% od ukupnog broja karcinoma dojke (116). Obilježja HER 2 pozitivnog raka dojke jesu agresivno biološko ponašanje i posljedično lošija prognoza bolesti (116). Nakon operativnog zahvata većini bolesnica s HER 2 pozitivnim tumorima ordinira se sustavno onkološko liječenje koje uključuje kemoterapiju i anti-HER 2 terapiju te, ukoliko je tumor hormonski ovisan, endokrinu terapiju. Kemoterapija i anti-HER 2 terapija mogu se potencijalno izostaviti u bolesnica s T1a tumorima, u bolesnica sa značajnim kardiološkim komorbiditetima te u bolesnica visoke životne dobi, naravno temeljem individualne procjene svake bolesnice pojedinačno.

Osnovu ciljane biološke terapije u adjuvantnom liječenju, usmjerene na anti-HER 2, čini monoklonalno protutijelo trastuzumab koje se može primijeniti uz kemoterapiju taksanima, endokrinu terapiju i radioterapiju. Adjuvantno liječenje trastuzumabom traje ukupno godinu dana. Primjenjuje se u trotjednim intervalima kao intravenska infuzija s udarnom dozom od 8 mg/kg, a potom, pri ostalim aplikacijama, u dozi od 6 mg/kg. Razvijen je i supkutani oblik trastuzumaba s fiksnom dozom od 600 mg koji se također primjenjuje u trotjednim intervalima u trajanju od godine dana.

1.6.2.1. Trastuzumab u adjuvantnom liječenju HER 2 pozitivnog raka dojke

Trastuzumab je rekombinantno humanizirano IgG1 monoklonsko protutijelo za receptor humanog epidermalnog faktora rasta 2 (HER 2). Visokim afinitetom i specifičnošću veže se za poddomenu IV jukstamembranske regije ekstracelularne domene HER 2. Vežanje trastuzumaba za HER 2 inhibira signalni put HER 2 neovisan od liganda i sprječava proteolitičko cijepanje njegove ekstracelularne domene, što predstavlja aktivacijski mehanizam HER 2. Kao rezultat toga, trastuzumab je i u pokusima *in vitro* i na životinjama inhibirao proliferaciju ljudskih tumorskih stanica koje imaju povećanu ekspresiju HER 2. Osim toga, trastuzumab je snažan posrednik stanične citotoksičnosti ovisne o protutijelima. U *in vitro* uvjetima pokazalo se da se trastuzumabom posredovana stanična citotoksičnost ovisna o protutijelima odvija s većim afinitetom na tumorskim stanicama koje imaju povećanu ekspresiju HER 2 u usporedbi s tumorskim stanicama koje nemaju povećanu ekspresiju HER 2.

Trastuzumab se u kliničkim ispitivanjima primjenjivao najprije u metastatskoj bolesti, kao monoterapija u liječenju bolesnica s HER 2 pozitivnim metastatskim rakom dojke nakon progresije na jednu ili više linija liječenja gdje je polučena stopa odgovora od 18%, s medijanom vremena do progresije bolesti od 3,2 mjeseca 95% CI (2,8 – 4,1) (117).

Dodatak trastuzumaba kemoterapijskoj osnovici, paklitakselu ili docetakselu, u prvolinijskom liječenju metastatskog HER 2 pozitivnog raka dojke doveo je do statistički i klinički značajnog učinka na razinu odgovora tumora na liječenje (50% naspram 32% ($P<0,001$) za paklitaksel i 61% naspram 34% ($P=0,0002$) za docetaksel), produljenja vremena do progresije bolesti (medijan 7,4 naspram 4,6 mjeseci ($P<0,001$) za paklitaksel, te za docetaksel: medijan 11,7 naspram 6,1 mjeseci ($P=0,0001$)) te najvažnije, produljenja ukupnog preživljenja (medijan ukupnog preživljenja se povećao s 22,7 na 31,2 mjesec za docetaksel ($P=0,0325$), i s 20,3 na 25,1 mjesec za paklitaksel ($P=0,01$)) (118, 119).

Slijedom tih rezultata trastuzumab je u kombinaciji s kemoterapijom postao standard u liječenju HER 2 pozitivnog metastatskog raka dojke. Jasno, sljedeći logičan korak bio je ispitati učinak dodatka trastuzumaba adjuvantnoj kemoterapiji raka dojke.

Četiri istraživanja – HERA, NSABP B – 31, N9831 i BCIRG 006 – pokazala su jasnu kliničku korist dodatka trastuzumaba adjuvantnoj kemoterapiji HER 2 pozitivnog raka dojke i

to u smislu značajnog produljenja preživljenja bez znakova bolesti i ukupnog preživljenja (120-123).

U studiji HERA, 5081 bolesnica randomizirana je da nakon kemoterapije bude praćena, primi trastuzumab jednu godinu ili dvije. Uključila je bolesnice s pozitivnim limfnim čvorovima i one s negativnim limfnim čvorovima ako su imale tumor od 1 cm ili veći. Nakon medijana praćenja od jedne godine pokazala se redukcija rizika povrata bolesti od 46% u bolesnica koje su primale trastuzumab u odnosu na one koje nisu (HR:0,54 95% CI(0,43-0,67), $P<0,0001$) (120). Nakon dvogodišnjeg praćenja pokazala se i prednost u ukupnom preživljenju (HR:0,66, 95% CI(0,47-0,91), $P=0,0115$) (124). Zbog klinički i statistički značajnog poboljšanja ishoda liječenja, dopušteno je pacijenticama iz opservacijske grane primati trastuzumab. Nakon medijana praćenja od 11 godina pacijentice koje su primile trastuzumab u trajanju od jedne godine imale su značajno manji rizik povrata bolesti u odnosu na opservacijsku granu (HR:0,76, $P<0,0001$) (125). Primjena trastuzumaba kroz dvije godine nije donijela dodatnu korist u odnosu na jednogodišnju primjenu (125).

U studiji NSABP B31, HER 2 pozitivne bolesnice s pozitivnim limfnim čvorovima primile su četiri trodnevna ciklusa kemoterapije po protokolu AC nakon kojih je slijedila aplikacija paklitaksela u jednoj grani, a u drugoj su bolesnice počele primati trastuzumab paralelno s paklitakselom.

U studiji N9831 uključene su HER 2 pozitivne bolesnice s pozitivnim limfnim čvorovima, bolesnice s negativnim limfnim čvorovima uz uvjet da su imale tumore veće od 1 cm i hormon-receptor negativne, odnosno bolesnice koje su imale ER negativni i PR pozitivni tumor uz uvjet da su veći od 2 cm. Randomizacija je bila slična kao u studiji NSABP B31, s tim da je primijenjen tjedni paklitaksel. Studija je imala tri grane: kemoterapiju po AC-T protokolu; kemoterapiju po AC-T protokolu uz konkomitantnu primjenu taksana i trastuzumaba i kemoterapiju (AC-T) sa sekvencijskom primjenom trastuzumaba. Združena analiza ove dvije studije, iz koje je izbačena grana sa sekvencijskom primjenom trastuzumaba, jasno je dokazala statistički i klinički značajnu korist od konkomitantne primjene taksana uz trastuzumab (123). Desetogodišnje ukupno preživljenje se povećalo sa 75,2% na 84% ($P<0,001$; HR:0,63) i desetogodišnje preživljenje bez znakova bolesti sa 62,2% na 73,7% ($P<0,001$, HR:0,60) (123).

Od nabrojanih velikih studija koje su ispitivale korist od adjuvantnog trastuzumaba u liječenju HER 2 pozitivnog raka dojke jedino je studija BCIRG 006 u protokol uključila kemoterapiju

koja ne uključuje antracikline. Bolesnice s HER 2 pozitivnim rakom dojke i zahvaćenim limfnim čvorovima ili one visokorizične s nezahvaćenim limfnim čvorovima, randomizirane su primati kemoterapiju po protokolu ACT (docetaksel) ili navedenu kemoterapiju nakon koje je slijedila jednogodišnja primjena trastuzumaba (ACTH) ili kombinacija docetaksela, karboplatine i jednogodišnje primjene trastuzumaba (TCH). Nakon medijana praćenja od 10,3 godine, obje grane koje su uključile trastuzumab pokazale su značajniju dobit u preživljenju bez znakova bolesti (67,9% za AC-T; 73% ($P < 0,0001$) za TCH i 74,6% ($P < 0,01$) za ACTH (126). Razlike u preživljenju bez znakova bolesti između dviju studijskih grana koje su uključile trastuzumab nije bilo (126). Međutim, u TCH grani studije bilo je značajno manje kardioloških nuspojava u odnosu na ACTH (126).

Jednogodišnja primjena trastuzumaba uz kemoterapiju u studijama HERA, BCIRG 006, N9831 i NSABP B31 donijela je klinički i statistički značajno produljenje ukupnog preživljenja i preživljenja bez znakova bolesti (120-123). Istraživanje FinHer također je pokazalo pozitivne rezultate u smislu produljenja preživljenja bez znakova bolesti, unatoč tome što je istraživanje imalo manji uzorak i što je primjena adjuvantnog trastuzumaba prema protokolu trajala samo devet tjedana, a ne uobičajenih godinu dana (127). Bolesnice s HER 2 pozitivnim rakom dojke s pozitivnim limfnim čvorovima i visoko rizične bolesnice s negativnim limfnim čvorovima bile su randomizirane primati tri ciklusa docetaksela ili vinorelbina, potom tri ciklusa kemoterapije po protokolu FEC, a onda su HER 2 pozitivne bolesnice ($n=232$) bile randomizirane na praćenje ili primjenu trastuzumaba.

Istraživanje PACS 004, u kojem su HER 2 pozitivne bolesnice randomizirane primati adjuvantnu antraciklinsku kemoterapiju s docetakselom ili bez njega, nakon čega su HER 2 pozitivne bolesnice nakon kemoterapije randomizirane na jednogodišnju primjenu trastuzumaba odnosno praćenje, nije pokazalo pozitivan učinak trastuzumaba u adjuvantnom liječenju HER 2 pozitivnog raka dojke te je, logično, uzrokovalo znanstvenu diskusiju o stvarnom impaktu trastuzumaba u adjuvantnom liječenju (128).

Rezultati svih navedenih istraživanja korišteni su, skupno i na individualnoj bazi, u meta-analizama koje su pokazale značajan statistički i klinički doprinos trastuzumaba u produljenju preživljenja bez znakova bolesti i ukupnog preživljenja u liječenju ranog HER 2 pozitivnog raka dojke (129-132). Danas je, slijedom svega navedenog, jednogodišnja primjena trastuzumaba, započeta konkomitanto s taksanima, standard u adjuvantnom liječenju HER 2 pozitivnom raku dojke.

S ciljem redukcije simptomatskog kardiološkog morbiditeta koji prati terapiju trastuzumabom i prema pivotalnim studijama iznosi od 0,8-14,2%, dizajnirane su studije kojima je cilj provjeriti je li kraće trajanje primjene trastuzumaba neinferiorno u odnosu na jednogodišnje i ima li razlike u kardiološkom komorbiditetu (133). Isto tako, kratkotrajnija primjena trastuzumaba, ako bi se na temelju studija pokazala neinferiornom, bila bi financijski povoljnija, osobito u zemljama s nižim izdvajanjem za zdravstvo. Tako su u studijama Short HER i SOLD uspoređivane devetotjedna naspram jednogodišnje primjene trastuzumaba, a u studijama PHARE, PERSEPHONA i grčkoj studiji šestomjesečna primjena naspram jednogodišnje primjene trastuzumaba (134-137). Studije su dizajnirane da pokažu neinferiornost kraće primjene trastuzumaba u odnosu na standardnu jednogodišnju i sve su negativne osim studije PERSEPHONA (137).

U studiji Short HER pacijentice s HER 2 pozitivnim rakom dojke randomizirane su na primanje kemoterapije i godinu dana trastuzumaba, nasuprot kemoterapije i devet tjedana trastuzumaba (134). Primarni su ciljevi bili preživljenje bez znakova bolesti i ukupno preživljenje. U analizi ukupne studijske populacije petogodišnje preživljenje bez znakova bolesti nije pokazalo neinferiornost kraćeg trajanja liječenja, međutim, u analizi skupine bolesnica sa stadijem I i II naspram stadija III izgleda da bi kraća primjena mogla biti neinferiora. Nije bilo razlike u petogodišnjem preživljenju. U bolesnica s dugotrajnijom primjenom trastuzumaba bilo je više neželjenih kardioloških posljedica.

U studiji SOLD pacijentice su randomizirane primati kombinaciju docetaksela i trastuzumaba devet tjedana, potom tri ciklusa kemoterapije po protokolu FEC, a onda je jedna skupina praćena, a druga je nastavila primati trastuzumab još 14 aplikacija (135). Primarni cilj studije bilo je preživljenje bez znakova bolesti te nije dokazana neinferiornost kraće primjene trastuzumaba (HR:1,39, 90% CI(1,12 - 1,72)).

U fazi III studije PHARE, 3384 bolesnice primile su barem četiri ciklusa kemoterapije i šest mjeseci adjuvantno trastuzumab i onda su bile randomizirane na nastavak primjene trastuzumaba do ukupno godinu dana ili na prestanak primjene trastuzumaba (137). Radilo se o studiji koja je trebala pokazati neinferiornost kraćeg trajanja primjene trastuzumaba; granica neinferiornosti postavljena je na apsolutnoj razlici od 2% u učestalosti povrata bolesti. Nakon 3,5 godina praćenja studija je bila negativna (HR:1,15) (137). Učestalost kardioloških neželjenih posljedica pri kraćem trajanju primjene trastuzumaba bila je značajno manja (1,9% naspram 5,7%, $P < 0,0001$) (137).

Slične je rezultate pokazala grčka studija u kojoj su bolesnice primale četiri ciklusa kemoterapije po protokolu FEC s povećanom gustoćom doze, a nakon toga konkomitantno s docetakselom u dvotjednim intervalima (uz potporu sa stimulatorom rata granulocitnih kolonija) započet je i trastuzumab u jednoj skupini šest mjeseci, a u drugoj godinu dana (136). Trogodišnje preživljenje bez znakova bolesti bilo je 95,7% naspram 93,3% u prilog jednogodišnje primjene trastuzumaba (HR:1,57 95% CI(0,86-2,10), $P=0,137$). Nije bilo značajne razlike u ukupnom preživljenju ni kardiotoksičnosti.

Rezultati studije PERSEPHONA pokazali su neinferiornost šestomjesečne primjene trastuzumaba u odnosu na jednogodišnju (138). Četverogodišnja stopa preživljenja bez znakova bolesti u obje je skupine bolesnica iznosila 89% (95%CI(88-91)). HR granica za neinferiornost postavljena je na 1,29 te je izračunati HR:1,05 pokazao neinferiornost šestomjesečne primjene trastuzumaba. U skupini bolesnica koja je primala trastuzumab šest mjeseci bilo je dvostruko manje neželjenih kardioloških događaja (4% naspram 8%, $P<0,0001$).

Na pitanje kako liječiti male HER 2 pozitivne karcinome koji se nisu proširili u limfne čvorove i je li njima potrebna cjelokupna kemoterapija koja uključuje i antracikline i taksane, pokušala je odgovoriti studija faze II (APT) s jednom granom gdje su bolesnice primale kemoterapiju koja se sastojala od 12 tjednih aplikacija paklitaksela konkomitantno s trastuzumabom u trajanju od godine dana (139). U studiju je uključeno 410 bolesnica i prijavljeno sedmogodišnje preživljenje bez znakova bolesti je 93,3%. Samo je 36 bolesnica (9%) imalo tumore između 2 i 3 cm, a sve ostale bolesnice tumore T1b ili T1c. Isto tako, 2/3 bolesnica imale su HER pozitivne tumore. Studija je ponudila novu opciju za bolesnice s manjim HER 2 pozitivnim tumorima i negativnim limfnim čvorovima, s tim da veoma pažljivo treba evaluirati i druge čimbenike rizika pri odluci o liječenju ovim protokolom.

1.6.2.2. Ostali lijekovi ispitivani u adjuvantnom liječenju HER 2 pozitivnog raka dojke

Iako su inkorporacijom trastuzumaba rezultati liječenja znatno poboljšani, još uvijek se javljaju povrati bolesti te su znanstvenici pokušali s dodatnom ciljanom terapijom poboljšati ishode liječenja. Ispitivani su lapatinib, tirozin kinazni inhibitor, mala molekula koja djeluje na EGFR i HER 2; neratinib: ireverzibilni inhibitor EGFR, HER 2 i HER 4 i antiangiogeno

protutijelo bevacizumab te pertuzumab; protutijelo usmjereno na subdomenu dva HER 2 receptora.

U studiji ALTTO, nakon neoadjuvantne studije neoALTTO u kojoj je dualna anti-HER 2 blokada lapatinibom i trastuzumabom značajno povisila stopu potpunog patološkog odgovora, pokušala se ta dobit prenijeti u adjuvantno liječenje (140). Pacijentice su randomizirane u četiri grupe: kontrolna grupa s trastuzumabom, monoterapija lapatinibom (ranije zatvorena), kombinacijska grupa lapatinib/trastuzumab i sekvencijska grana trastuzumab pa lapatinib. Studija je bila negativna – ni konkomitantna ni sekvencijska primjena lapatiniba i trastuzumaba nije donijela dobit u preživljenju bez bolesti ni u ukupnom preživljenju.

Potencijalna dobit bevacizumaba, monoklalnog anti-VEGF protutijela kemoterapiji i trastuzumabu ispitivana je u studiji BETH (faza 3) (141). Bolesnice su u jednoj grani primale kemoterapiju temeljenu na antraciklinima, a u drugoj neantraciklinsku terapiju i trastuzumab započet konkomitantno s kemoterapijom. Obje su skupine bolesnica onda randomizirane na primanje ili neprimanje bevacizumaba uz kemoterapiju i trastuzumab. Nakon medijana praćenja od 38 mjeseci, pokazalo se da dodatak bevacizumaba ne produljuje preživljenje bez znakova invazivnog povrata bolesti ni u antraciklinskoj ni u neantraciklinskoj grani studije.

U vremenu dok trastuzumab još nije bio standard u adjuvantnom liječenju u pojedinim zemljama, tirozin-kinazni inhibitor lapatinib (koji djeluje preko HER 1 i HER 2 receptora) bio je testiran u adjuvantnom liječenju HER 2 pozitivnih bolesnica s ranim rakom dojke nakon kemoterapije u studiji TEACH (142). Studija nije pokazala dobit u preživljenju bez znakova bolesti (87% naspram 83%, HR:0,83 95% CI(0,70-1,00) $P=0,053$) ni u ukupnom preživljenju (94% naspram 94%) u bolesnica kojima je dodan lapatinib kroz godinu dana (142).

Drugi tirozin-kinazni inhibitor ispitivan u adjuvantnom liječenju HER 2 pozitivnog raka dojke jest neratinib koji se za razliku od lapatiniba ireverzibilno veže i na HER 4 receptor. U studiji ExteNET bolesnice su nakon završetka adjuvantne kemoterapije i trastuzumaba randomizirane primiti neratinib odnosno placebo u trajanju od godine dana (143). Dvogodišnje preživljenje bez znakova bolesti u skupini s neratinibom bilo je 90,2% naspram 87,7% (HR:0,67, 95% CI(0,50-0,91), $P=0,0091$). U podskupini bolesnica s hormonski ovisnim rakom dojke dodatak neratiniba donio je statistički značajno povećanje preživljenja bez invazivnog povrata bolesti u odnosu na placebo (95,4% naspram 91,2%, 95%CI(0,33-0,77), $P=0,001$). Navedena se korist temelji na pretpostavci da neratinib modulira osjetljivost hormonskih receptora na endokrinu terapiju. Najčešće su nuspojave gradusa III i IV u skupini

s neratinibom bili proljevi i mučnina te je primjerice proljev gradusa III imalo 40% bolesnica (143).

Slijedeći ohrabrujuće rezultate dodatka pertuzumaba kombinaciji kemoterapije i trastuzumaba u liječenju metastatskog raka dojke te u neoadjuvantnom liječenju, pertuzumab se u studiji APHINITY ispitivao u adjuvantnoj primjeni. U toj su studiji HER 2 pozitivne bolesnice s pozitivnim limfnim čvorovima i visokorizične bolesnice s negativnim limfnim čvorovima randomizirane na standardnu kemoterapiju, trastuzumab i placebo odnosno pertuzumab (144). Povrat bolesti zabilježen je u 8,7% u skupini koja je primala placebo i u 7,1% slučajeva u skupini koja je primala pertuzumab (HR:0,81, 95% CI(0,66-1,00), $P=0,045$). U skupini bolesnica s pozitivnim limfnim čvorovima trogodišnja stopa preživljenja bez znakova invazivne bolesti bila je 92% uz pertuzumab i 90,2% uz placebo (HR:0,77, 95% CI(0,62-0,96), $P=0,02$). U skupini s negativnim limfnim čvorovima, dodatak pertuzumaba nije donio dobit u preživljenju bez invazivnog povrata bolesti ($P=0,62$).

U tijeku su i studije koje ispituju ulogu adjuvantne primjene T-DM1, a opet slijedeći rezultate postignute u liječenju metastatske bolesti.

U zaključku, temeljem svega navedenog, jasno je da adjuvantna jednogodišnja primjena trastuzumaba u liječenju HER 2 pozitivnog raka dojke predstavlja zlatni standard koji je globalno prihvaćen. Temeljem gore navedenih studija otvaraju se pitanja deeskalacije liječenja poput kraćeg trajanja primjene trastuzumaba, odnosno deeskalacije kemoterapije uz jednogodišnju primjenu trastuzumaba za bolesnice s manjim rizicima te dodatak pertuzumaba, odnosno neratiniba bolesnicama s većim rizicima. Potrebne su svakako daljnje analize biomarkera s ciljem probira bolesnica koje će od pojedinog liječenja imati najveću korist. Uvažavajući vrijedne rezultate kliničkih studija, svakoj bolesnici treba pristupiti individualno u skladu s obilježjima njezine bolesti i nje same. I ne manje važno, pozicioniranje svih navedenih lijekova ovisi o dostupnim sredstvima izdvojenima za zdravstveni sustav.

1.6.3. Liječenje metastatskog raka dojke

U 20-30 % bolesnica kojima je dijagnosticiran rani rak dojke tijekom vremena doći će do povrata bolesti, bilo lokalnog, lokoregionalnog ili pojave udaljenih presadnica (30). Metastatski rak dojke kao *de novo* bolest javlja se u 5-10% ukupne populacije bolesnica s

rakom dojke (30). Cilj onkološkog liječenja bolesnica s metastatskim rakom dojke jest što je moguće više produljiti ukupno preživljenje uz postizanje / očuvanje kvalitete života (30). U bolesnica s luminalnim tipovima tumora savjetuje se najprije eksplorirati sve linije endokrine terapije (145). Premenopauzalne bolesnice mogu se liječiti tamoksifenom ili kombinacijom ovarijske supresije uz jedan od lijekova koji se primjenjuju u postmenopauzalnih bolesnica, uključujući nesteroidne aromatazne *inhibitore* (anastrozol i letrozol), steroidni aromatazni inhibitor egzemestan, selektivni estrogenski *downregulator* fulvestrant i progestin (megestrol-acetat) (30). Nekoliko studija i meta-analiza pokazale su nešto bolji učinak aromataznih inhibitora u odnosu na tamoksifen u postmenopauzalnih bolesnica (146-150). Korak dalje u liječenju metastatskih hormonski ovisnih tumora dojke bio je razvoj fulvestranta koji se u prvolinijskom liječenju pokazao superiornijim u odnosu na anastrozol (151-153). Nažalost, dio bolesnica s hormonski ovisnim rakom dojke inicijalno je rezistentan na endokrinu terapiju, a u drugog se dijela bolesnica rezistencija nakon početnog odgovora razvije kasnije. U pokušajima rješavanja rezistencije na endokrinu terapiju ispitivani su brojni terapijski principi od kojih su u kliničkoj primjeni kombinacija mTOR (*engl.* mammalian target of rapamycin) inhibitora everolimusa/egzemestan i kombinacija CDK4/6 (*engl.* cyclin dependent kinases) inhibitora (palbociklib, ribociklib i abemaciclib) s aromataznim inhibitorima ili fulvestrantom. U studiji BOLERO 2 bolesnice s metastatskim hormonski ovisnim rakom dojke, koje su razvile progresiju bolesti tijekom liječenja nesteroidnim aromataznim inhibitorom, randomizirane su primati egzemestan ili kombinaciju egzemestan/everolimus te je dodatkom everolimusa postignuta dobit u medijanu preživljenja bez progresije bolesti (11,4 naspram 4,1 mjesec, HR:0,38, $P<0,001$) (154). Učinkovitost i sigurnost primjene CDK4/6 inhibitora ispitivala se u prvoj liniji liječenja u kombinaciji s aromataznim inhibitorom u odnosu na placebo / aromatazni inhibitor. Sve su studije pokazale gotovo dvostruko dulje preživljenje bez progresije bolesti te ono iznosi 20 i više mjeseci (155-158). Značajno produljenje preživljenja bez progresije bolesti pokazalo se i u drugoj liniji liječenja gdje su CDK4/6 primjenjivani s fulvestranom u odnosu na fulvestrant / placebo (159, 160). Unatoč ohrabrujućim rezultatima navedenih studija, još uvijek u potpunosti nije razjašnjeno sekvencioniranje endokrinih manipulacija kroz linije liječenja i optimalan odabir bolesnica (30). Kada se kod bolesnica s metastatskim hormonski ovisnim rakom dojke eksploriraju sve linije endokrine terapije, indicirana je kemoterapija, naravno ako to opće stanje bolesnice dopušta. Inače, kemoterapija se u navedenoj skupini indicira i u prvoj liniji kada se radi o visceralnoj krizi koja zahtijeva što brži terapijski odgovor. Kemoterapija se primjenjuje kod trostruko negativnih bolesnica te kod HER 2 pozitivnih bolesnica kada se ona kombinira s

anti-HER 2 terapijom. Primjena kombinacijskih protokola donosi veću stopu odgovora, dulje vrijeme do progresije bolesti, ali bez značajnijeg utjecaja na produljenje ukupnog preživljenja u odnosu na sekvencijsku monokemoterapiju te veću učestalost neželjenih posljedica (30, 161). Danas se koriste antraciklini (epirubicin, doksorubicin i u novije vrijeme pegilirani liposomalni doksorubicin), taksani (paklitaksel, docetaksel i albumin-vezani paklitaksel), antimetaboliti (kapecitabin i gemcitabin), netaksanski inhibitori mikrotubula diobenog vretena (eribulin i vinorelbin); iksabepilon i karboplatin. Kemoterapija se obično ordinira do progresije bolesti, pojave neprihvatljive toksičnosti i postizanja kumulativne doze pojedinih citostatika (npr. antraciklina) (162). U pokušaju poboljšanja rezultata liječenja trostruko negativnih i luminalnih HER 2 negativnih bolesnica ispitivan je učinak bevacizumaba (monoklalnog protutijela usmjerenog protiv vaskularnog endotelijalnog čimbenika rasta) u kombinaciji s kemoterapijom u prvoj i u drugoj liniji liječenja gdje je polučeno statistički značajno produljenje preživljenja bez progresije bolesti bez učinka na ukupno preživljenje (163-167).

Poseban terapijski izazov predstavlja podskupina trostruko negativnih bolesnica koje imaju najagresivniji tijek i posljedično najlošiju prognozu kod kojih je kemoterapija zapravo, zasad, jedini učinkoviti način liječenja. U pokušaju poboljšanja ishoda liječenja ovih bolesnica, ispituju se brojni terapijski pristupi koji uključuju antiandrogenu terapiju, PARP (*engl.* poly-ADP-ribose-polymerase) inhibitore (npr. olaparib) i imunoterapiju (blokada PD-1/PDL-1 (*engl.* programmed death receptor/programmed death ligand -1)) (168).

U liječenju HER 2 pozitivnog podtipa metastatskog raka dojke primjenjuje se ciljano biološko liječenje koje uključuje monoklonalna protutijela (trastuzumab i pertuzumab), tirozin kinazni inhibitor lapatinib te konjugat citostatika i protutijela (trastuzumab-emtansin, T-DM-1) (30). Standardno je prvolinijsko liječenje do nedavno podrazumijevalo kombinaciju taksana i trastuzumaba temeljem Martyjeve i Slamonove studije koje su pokazale dobit u preživljenju dodatkom trastuzumaba (118, 119). Korak dalje u razvoju liječenja metastatskog HER 2 pozitivnog raka dojke jest introdukcija pertuzumaba, monoklalnog protutijela koje inhibira dimerizaciju HER 2 s ostalim HER receptorima i tako spriječava rast i proliferaciju tumorske stanice (169). Dodatak pertuzumaba dotadašnjem prvolinijskom liječenju koje je uključivalo taksan i trastuzumab, dovodi do produljenja medijana preživljenja bez progresije bolesti (12,4 naspram 18,5 mjeseci, HR:0,62; 95% CI(0,51-0,75%, $P<0,001$) (170) i ukupnog preživljenja za klinički i statistički značajnih 15,7 mjeseci (40,8 naspram 56,6 mjeseci, HR:0,64, $P=0,0002$) te se danas kombinacija taksan/trastuzumab/pertuzumab smatra optimalnim

prvolinijskim protokolom (30, 171). U drugolinijskom liječenju, preferira se kod većine bolesnica T-DM1 koji je u usporedbi s dotadašnjom terapijom izbora (kombinacija lapatinib/kapecitabin) donio poboljšanje preživljenja bez progresije bolesti (9,6 mjeseci naspram 6,4 mjeseci; HR:0,65; 95% CI(0,55-0,77; $P<0.001$) i ukupnog preživljenja (30,9 mjeseci naspram 25,1 mjesec, HR:0,68; 95% CI(0,55-0,85; $P<0.001$) (172). Dolazak novih lijekova donosi napredak u liječenju, ali i ostavlja brojna otvorena pitanja poput izbora terapijskih opcija u starijih bolesnica i bolesnica sa samo koštanom bolesti te načina kako liječiti bolesnice nakon standardne dvije linije anti-HER 2 liječenja i sl.(30).

Bolesnica s metastatskim rakom dojke zahtijeva multidisciplinarnu skrb. Značajan udio bolesnica ima koštane presadnice koje uzrokuju bolove i koje su povezane s pojavom neželjenih koštanih događaja poput patoloških fraktura i posljedične nepokretnosti. U takvih se bolesnica primjenjuju palijativna radioterapija na najugroženija koštana sijela i bifosfonati. Bifosfonati, uključujući pamidronat i zolendronat, smanjuju učestalost i odgađaju pojavu neželjenih koštanih događaja (173, 174). Zolendronat se pokazao superiornijim u odnosu na pamidronat, osobito u litičkim lezijama (175). U novije se vrijeme u palijativnom liječenju koštanih presadnica koristi i denosumab, monoklonalno protutijelo usmjereno protiv RANK (*engl.* receptor activator of nuclear kappa-B) liganda u osteoklastima. Denosumab u odnosu na zolendronat značajno produljuje vrijeme do prvog neželjenog koštanog događaja (HR:0,82, 95% CI(0,71-0,95), $P<0,001$) i vrijeme od prvog do sljedećeg neželjenog koštanog događaja (RR:0,77; 95% CI(0,66-0,89; $P=0,001$) (176). Unatoč korisnim učincima na koštano zdravlje, niti jedan od navedenih lijekova nije utjecao na produljenje ukupnog preživljenja.

1. 7. Problematika istraživanja

Standard u adjuvantnom liječenju HER 2 pozitivnih bolesnica s ranim rakom dojke jest kombinacija kemoterapije i trastuzumaba (177). Ipak, unatoč naizgled jasnim rezultatima kliničkih istraživanja, svjedoci smo da se isti često ne mogu preslikati u rezultate liječenja u svakodnevnom kliničkom radu (178-180). Vjerojatni razlozi za neuspjeh translacije rezultata kliničkih istraživanja u svakodnevnu kliničku praksu proizlaze iz različitog odabira bolesnika u kliničkim studijama i svakodnevnoj praksi, organizacijskih problema, zakonskih okvira, dostupnosti lijekova, korištenja višedisciplinarnog rada, kao i razine onkološke skrbi općenito. Stoga je jedini način spoznavanja prave vrijednosti pojedinog lijeka, njegovo ispitivanje u

svakodnevnim uvjetima, kroz istraživanja faze IV, nacionalne onkološke baze podataka i retrospektivne analize. Važna je komponenta ovakvih ispitivanja i procjena troškova, posebno u tranzicijskim zemljama s ograničenim sredstvima za zdravstvo.

Iz tog smo razloga odlučili istražiti stvarni utjecaj trastuzumaba u adjuvantnom liječenju raka dojke u svakodnevnom radu u Klinici za onkologiju i radioterapiju Kliničkog bolničkog centra (KBC) Split.

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZA

2. 1. Ciljevi istraživanja

Osnovni je cilj ovog istraživanja uvidjeti je li dodatak trastuzumaba adjuvantnom liječenju HER 2 pozitivnog raka dojke donio korist bolesnicama, a u mjerenju učinka ispitat će se povezanost dodatka trastuzumaba adjuvantnom liječenju HER 2 pozitivnog raka dojke s dužinom ukupnog preživljenja.

Sporedni su ciljevi istraživanja prikazati:

- povezanost dodatka trastuzumaba adjuvantnom liječenju HER 2 pozitivnog raka dojke s dužinom preživljenja bez bolesti
- povezanost dodatka trastuzumaba adjuvantnom liječenju HER 2 pozitivnog raka dojke s dužinom specifičnog preživljenja od raka dojke
- povezanost dodatka trastuzumaba s kliničkim pokazateljima kao što su: dob bolesnice, histološki tip tumora, gradus, izraženost estrogenskih i progesteronskih receptora
- povezanost dodatka trastuzumaba s provedenim metodama liječenja: vrsta operativnog zahvata, neoadjuvantna kemoterapija, radioterapija, hormonska terapija

2. 2. Hipoteza

Očekujemo da će dodatak trastuzumaba adjuvantnom liječenju HER 2 pozitivnog raka dojke donijeti statistički i klinički značajnu dobit u ukupnom preživljenju, preživljenju bez bolesti i specifičnom preživljenju od raka dojke.

3. ISPITANICE I METODE ISTRAŽIVANJA

3. 1. Ispitanice

U istraživanje su uključene bolesnice oboljele od ranog HER 2 pozitivnog raka dojke liječene u Klinici za onkologiju i radioterapiju KBC-a Split u razdoblju od 1. siječnja 2003. do 31. prosinca 2011. Bolesnice dijagnosticirane 2007. godine isključene su iz analize jer su te godine uključivane u kliničke studije s adjuvantnim trastuzumabom.

3.1.1. Kriteriji uključanja

Bolesnice liječene od 2003. do 2007. godine uključene su u istraživanje tek nakon što su pregledane sve povijesti bolesti bolesnica kojima je dijagnosticiran rani rak dojke (T1-3, N0-3, M0) u Klinici za onkologiju i radioterapiju KBC-a Split i koje su primile kemoterapiju. Za sve navedene bolesnice HER 2 status tumora određen je u Zavodu za patologiju KBC-a Split te su potom HER 2 pozitivne bolesnice uključene u istraživanje (prije 2007. godine nije se određivao HER 2 status te je isti morao biti naknadno određen).

Bolesnice liječene od 2008. do 2011. godine morale su imati cjelovitu medicinsku dokumentaciju iz koje se jasno vidi da se radi o ranom HER 2 pozitivnom raku dojke, da su inicijalno liječene adjuvantnom kemoterapijom i da su primile trastuzumab adjuvantno ili tijekom liječenja kemoterapijom ili nakon završetka liječenja kemoterapijom. Svim ispitanicama morale su biti dostupne parafinske kocke za imunohistokemijsku analizu HER 2 statusa.

3.1.2. Kriteriji isključenja

Iz istraživanja su isključene HER 2 pozitivne bolesnice koje su nisu primile kemoterapiju, koje su odbile predloženu kemoterapiju, koje nisu bile kvalitetno praćene, bolesnice čije parafinske kocke nisu dostupne kao i sve one koje su nakon prikaza multidisciplinarnom timu liječene i praćene u drugim ustanovama.

3. 2. Određivanje veličine uzorka

Da bi se dokazala razlika kumulativnog petogodišnjeg preživljenja od 16% između skupine koja je primila trastuzumab u odnosu na onu koja nije, s razinom značajnosti $P < 0,05$, sa snagom istraživanja 86%, potrebna je veličina uzorka od minimalno 100 ispitanica po skupini.

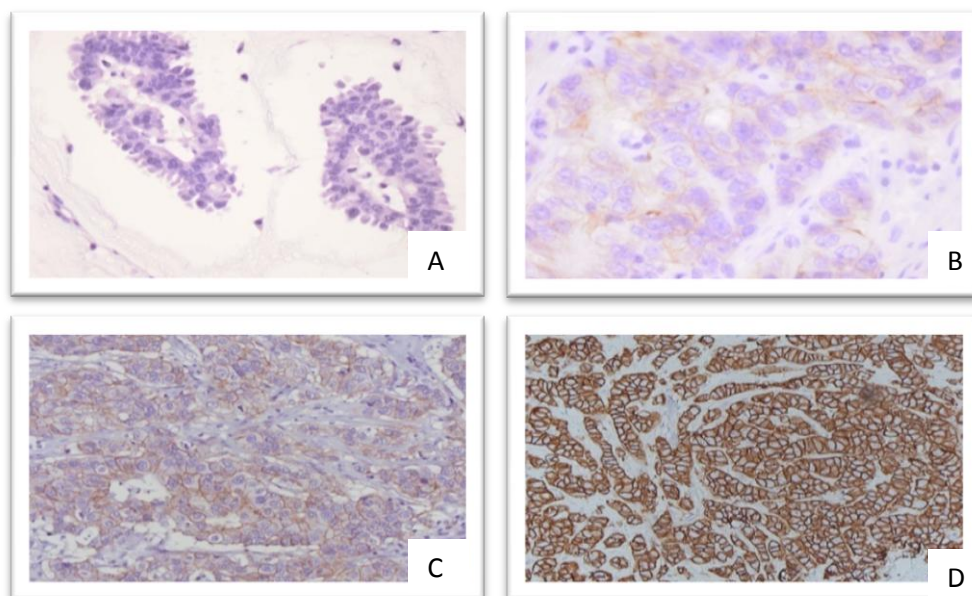
Uvidom u medicinsku dokumentaciju dobiveni su demografski i klinički podatci. Podatci o datumu povrata bolesti dobiveni su iz povijesti bolesti bolesnica. Datumi smrti prikupljeni su iz Matičnog ureda Split. Bolesnice su praćene do 1. kolovoza 2015.

3. 3. Imunohistokemijske analize

Imunohistokemijske analize obavljene su u Laboratoriju za imunohistokemiju Kliničkog zavoda za patologiju, sudsku medicinu i citologiju KBC-a Split. Kod većine bolesnica koje su liječene u razdoblju 2003. – 2007. nije rutinski određivan HER 2 status. Isti će se odrediti pomoću imunohistokemije (IHC), a u onih s nesigurnim rezultatom imunohistokemijskog bojanja (score 2+), napravljeno je dodatno testiranje metodom dvostruke srebrene *in situ* hibridizacije (*engl.* dual color silver in situ hybridisation - SISH). Reprezentativni uzorci tumora u parafinskim kockama rezani su na debljinu 5 μm . Primijenjeno je protutijelo Ventana Medical Systems, Inc. (Ventana) PATHWAY anti-HER 2/neu (4B5), zečje monoklonalno protutijelo, prema uputi proizvođača, u automatiziranom bojaču Ventana BenchMark ULTRA. Prilikom očitavanja rezultata korištene su smjernice ASCO/CAP za HER 2 testiranje u raku dojke iz 2013. godine (181). (Tablica 5 i Slika 1)

Tablica 5. Način očitavanja rezultata Her 2/neu testiranja imunohistokemijskom metodom (181).

Rezultat	Kriteriji
Negativan (SCORE 0)	Negativno ili nepotpuno, jedva vidljivo bojanje membrana u $\leq 10\%$ invazivnih tumorskih stanica
Negativan (SCORE 1+)	Nepotpuno, jedva vidljivo bojanje membrana u $>10\%$ invazivnih tumorskih stanica
Nesiguran (SCORE 2+)	Potpuno, slabo do umjereno membransko bojanje u $>10\%$ invazivnih tumorskih stanica
Pozitivan (SCORE 3+)	Potpuno, jako membransko bojanje u $>10\%$ invazivnih tumorskih stanica



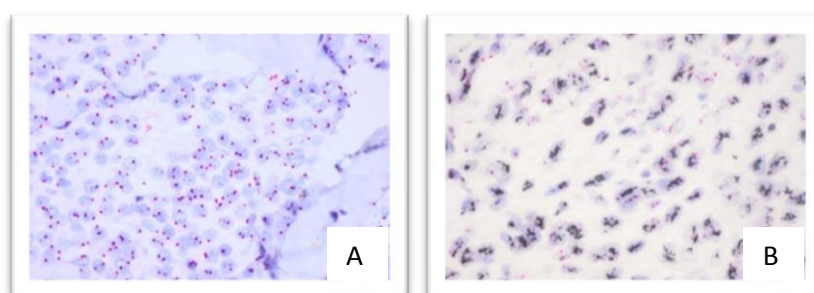
(A. Nema membranske obojanosti tumorskih stanica; B. 1+ jedva vidljivo, inkompletno membransko bojanje, u tek po kojoj tumorskoj stanici; C. 2+ umjereno kompletno membransko bojanje tumorskih stanica; D. 3+ jako kompletno membransko bojanje tumorskih stanica.)

Slika 1. Imunohistokemijsko bojanje HER 2 receptora.

U slučajevima nesigurnog (score 2+) imunohistokemijskog bojanja učinjena je dodatna analiza istog parafinskog bloka tumorskog tkiva metodom dual-color SISH-a. Koristio se UltraView SISH DNP Detection Kit (Ventana Medical Systems, Inc.), a sam postupak bojanja proveden je standardiziranim i valoriziranim postupkom, prema naputku proizvođača, u Ventana BenchMark ULTRA automatiziranom bojaču. Prilikom očitavanja rezultata korištene su ASCO/CAP smjernice za HER 2 testiranje u raku dojke iz 2013. godine (181). (Tablica 6 i Slika 2.) Bojanje se vršilo na najmanje 20 stanica, nakon što je pažljivo pregledan cijeli rez da bi se definiralo područje potencijalne amplifikacije HER 2 gena. Ukoliko je populacija heterogena, bojanje se provodilo u području najizraženije HER 2 amplifikacije, ukoliko je populacija stanica u tom području predstavljala >10% tumorskih stanica na analiziranom rezu.

Tablica 6. Način očitavanja rezultata Her 2/neu testiranja dual color SISH metodom (181)

Rezultat	Kriteriji
Negativan	HER 2/CEP17 omjer <2,0 sa srednjim brojem kopija HER 2 gena <4,0 signala po stanici
Nesiguran	HER 2/CEP17 omjer <2,0 sa srednjim brojem kopija HER 2 gena $\geq 4,0$ i <6,0 signala po stanici
Pozitivan	HER 2/CEP17 omjer $\geq 2,0$ i/ili srednji brojem kopija HER 2 gena >4,0 signala po stanici



(A. NEGATIVAN SISH: Broj HER 2 kopija <4, HER 2/CEP17 < 2; B. POZITIVAN SISH: Broj HER 2 kopija >4, HER 2/CEP17 >2)

Slika 2. Bojanje HER 2 receptora SISH metodom

U slučaju kada je dobiven nesiguran rezultat s obje metode, ponovljeno je testiranje jednom ili drugom metodom na drugom parafinskom bloku s uzorkom tumorskog tkiva.

3. 4. Statistički postupci

Za analizu povezanosti dodatka trastuzumaba adjuvantnoj kemoterapiji korišten je χ^2 test. U analizi preživljenja bez bolesti, ukupnog preživljenja i specifičnog preživljenja od raka dojke prema svim varijablama korištena je Kaplan-Meierova metoda i log-rank test. Utjecaj ispitivanih varijabli na preživljenje i relativni rizik povrata bolesti, smrtnog ishoda bilo kojeg uzroka i smrtnog ishoda od raka dojke, analizirani su Coxovom uninominalnom i multinominalnom analizom.

Zaključivanje o statističkim hipotezama provedeno je uz razinu značajnosti $P \leq 0,05$ kod svih primijenjenih testova.

Pri statističkoj obradi podataka korišten je program SPSS verzija 16,0 za Windows.

4. REZULTATI RADA

4. 1. Obilježja bolesnica

U razdoblju od 1. siječnja 2003. do 31. prosinca 2011. godine u Klinici za onkologiju i radioterapiju KBC-a Split, liječeno je 258 HER 2 pozitivnih bolesnica s ranim rakom dojke. Od 258 bolesnica uključenih u studiju njih 40% (N=103) primilo je kemoterapiju bez dodatka trastuzumaba, a 60% (N=155) je konkomitantno ili nakon kemoterapije primilo trastuzumab.

Medijan praćenja bolesnica iznosio je 77,2 mjeseca (min.-maks.: 5,3-144,3 mjeseca). Medijan praćenja bolesnica koje nisu primile trastuzumab iznosio je 107,3 mjeseca (min.-maks.: 5,3-149,3 mjeseca), a bolesnica koje su primile trastuzumab 70,2 mjeseca (min.-maks.: 10,6-91,5 mjeseci).

Medijan životne dobi bolesnica iznosio je 58 godina (min.-maks.: 27-85 godina). Medijan životne dobi bolesnica koje nisu primile trastuzumab, iznosio je 56 godina (min.-maks.: 37-78 godina), a onih koje jesu 59 godina (min.-maks.: 27-85 godina). Skupine se nisu statistički značajno razlikovale prema životnoj dobi ($z=1,28$; $P=0,199$).

U tablici 7 prikazana su obilježja bolesti i bolesnica, a u tablici 8 modaliteti provedenog liječenja bolesnica u odnosu na primjenu trastuzumaba.

Tablica 7. Obilježja bolesti i bolesnica u odnosu na primjenu trastuzumaba

		Trastuzumab	
		Ne (N, %)	Da (N, %)
		(kohorta A)	(kohorta B)
Histološki tip	Duktalni invazivni	89 (86,4)	135 (87,1)
	Lobularni invazivni	8 (7,8)	7 (4,5)
	Duktalni + lobularni	4 (3,9)	5 (3,2)
	Ostali	2 (1,9)	8 (5,2)
Gradus tumora	1	1 (1)	6 (3,9)

	2	55 (53,4)	64 (41,6)
	3	47 (45,6)	78 (50,6)
	Nepoznat	0	7 (4,5)
Stadij bolesti	IA	18 (17,5)	39 (25,2)
	IB	0	2 (1,3)
	IIA	26 (25,2)	42 (27,1)
	IIB	21 (20,4)	31 (20)
	IIIA	17 (16,5)	22 (14,2)
	IIIB	6 (5,8)	9 (5,8)
	IIIC	15 (14,6)	9 (5,8)
	Nepoznat	0	1 (0,6)
	Estrogenski receptori	Negativni	35 (34)
Pozitivni		68 (66)	98 (63)
Progesteronski receptori	Negativni	40 (39)	72 (46,5)
	Pozitivni	63 (61)	79 (51)
	Nepoznati	0	4 (2,6)
Životna dob (godine)	<50	34 (32,3)	41 (26,4)
	50-58	26 (25,2)	35 (22,6)
	59-65	17 (16,5)	34 (21,9)
	>65	26 (25,2)	45(29,1)

Tablica 8. Modaliteti provedenog liječenja bolesnica u odnosu na primjenu trastuzumaba

		Trastuzumab	
		Ne (N, %)	Da (N, %)
		(kohorta A)	(kohorta B)
Vrsta kirurškog zahvata	Mastektomija	80 (77,7)	100 (64,9)
	Kvadrantektomija	20 (19,4)	51 (33,1)
	Biopsija	2 (1,9)	2 (1,3)
	Nepoznata	1 (1)	1 (0,6)
Neoadjuvantna kemoterapija	Ne	101 (98)	148 (95,4)
	Da	2	7 (4,5)
Adjuvantna kemoterapija	CMF	18 (17,5)	5 (3,2)
	FEC	70 (68)	86 (55,4)
	AC-T	12 (11,7)	53 (34,8)
	AC-T D.D.	1 (1)	7 (4,5)
	Ostali protokoli	2 (1,9)	4 (2,5)
Adjuvantna radioterapija	Ne	33 (32)	39 (25)
	Da	70 (68)	116 (75)
Adjuvantna endokrina terapija	Ne	28 (27)	49 (32)
	Da	75 (73)	106 (68)

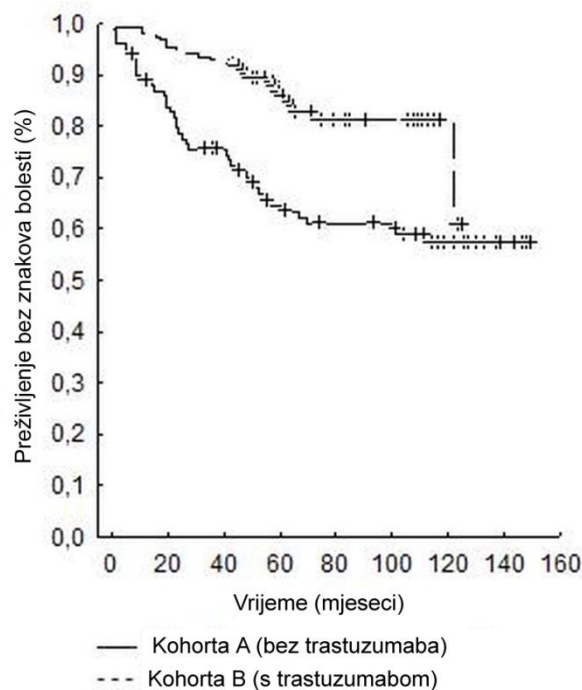
4. 2. Analiza preživljenja bez znakova bolesti

Od ukupnog broja (N=258) ispitanica njih je 254 uzeto u analizu preživljenja bez znakova povrata bolesti. Povrat bolesti zabilježen je u 79 (30%) od ukupnog broja bolesnica: od čega njih 50 (19,6%) u kohorti A (bolesnice koje nisu primile trastuzumab) i 29 (11,3%) u kohorti B (bolesnice koje su primile trastuzumab). Za četiri ispitanice podatci su nepoznati (Tablica 9).

Tablica 9. Broj i postotak povrata bolesti u ispitanica u odnosu na primjenu trastuzumaba.

Grupa	Ukupan broj, N	Broj događaja, N	Cenzorirani	
			N	%
Kohorta A (bez trastuzumaba)	100	50	50	50,0%
Kohorta B (s trastuzumabom)	154	29	125	81,2%
Ukupno	254	79	175	68,9%

Na slici 3 prikazana je Kaplan - Meierova krivulja preživljenja bez znakova bolesti. Medijan preživljenja bez znakova bolesti u kohorti B (uz trastuzumab) iznosi 107 mjeseci (95% CI:100,93-113,16) – iscrtkana linija, a u kohorti A (bez trastuzumaba) iznosi 92 mjeseca (95% CI(83,43-104,24); LR=11,6, $P<0,001$) – puna linija. Medijan preživljenja bez znakova bolesti je za 15 mjeseci duži u bolesnica koje su primile trastuzumab u odnosu na one koje nisu primale.



Slika 3. Kaplan - Meierova krivulja preživljenja bez znakova bolesti u odnosu na primjenu trastuzumaba

Kumulativno petogodišnje preživljenje bez znakova bolesti u kohorti B je 87,7% (95% CI (82,4-90,4%)), dok je u kohorti A 57,2% (95% CI (47-67,4)).

Uninominalna Coxova analiza pokazala je da bolesnice koje nisu primile trastuzumab imaju 2,6 puta veći rizik od povrata bolesti ($P < 0,001$) (Tablica 11), dok je multinominalna analiza pokazala 2,2 puta veći rizik povrata bolesti ($P = 0,012$) (Tablica 12).

U sljedećim su tablicama prikazani rezultati Coxove regresijske uninominalne analize za preživljenje bez povrata bolesti obzirom na varijable koje se odnose na obilježja tumora - tablica 10, i varijable koje se odnose na provedeno liječenje - tablica 11.

Tablica 10. Coxova regresijska uninominalna analiza za preživljenje bez znakova bolesti u odnosu na varijable koje opisuju karakteristike bolesti

		RR	95% CI	P
Histološki tip	Duktalni invazivni*	1,1	0,57-2,1	0,767
	Ostalo			
Gradus	1,2*	1,1	0,71-1,73	0,633
	3			
Stadij	IA, IB*	2,2	1,6-3,1	0,001
	IIA, IIB			
	IIIA, IIIB, IIIC			
Estrogenski receptori	Negativni*	0,89	0,57-1,4	0,636
	Pozitivni			
Progesteronski receptori	Negativni*	0,94	0,6-1,5	0,793
	Pozitivni			
Dobne skupine	<50*	1	0,85-1,3	0,702
	50-58			
	59-65			
	>65			

*referentni nivo, RR: relativni rizik

Tablica 11. Coxova regresijska uninominalna analiza za preživljenje bez znakova povrata bolesti u odnosu na provedeno liječenje

		RR	95% CI	P
Operativni zahvat	Mastektomija	15,5	1,1-3,5	0,030
	Kvadrantektomija*			
Radioterapija	Ne *	1,6	0,94-2,7	0,083
	Da			
Kemoterapija	AC-T (AC-T D.D.)*			0,221
	AC-T, AC-T D.D. prema CMF	1,7	0,82-3,7	0,149
	AC-T, AC-T D.D. prema FEC	1	0,57-1,8	0,983
Endokrina Terapija	Ne*	0,98	0,60-1,6	0,935
	Da			
Trastuzumab	Ne	2,6	1,6-4,2	<0,001
	Da*			

*referentni nivo, RR: relativni rizik

Coxovom uninominalnom regresijskom analizom preživljenja bez znakova bolesti relativni rizik za povrat bolesti je za 15,5 puta veći u skupini ispitanica s mastektomijom u odnosu na skupinu s kvadrantektomijom ($P=0,03$).

Rezultati multinominalne Coxove regresijske analize za preživljenje bez povrata bolesti prikazani su u tablici 12.

Tablica 12. Cjelokupna Coxova multinominalna regresijska analiza za preživljenje bez povrata bolesti

		RR	95% CI	P
Histološki tip	Duktalni invazivni*	1,2	0,6-2,5	0,575
	Ostalo			
Gradus	1,2	0,95	0,57-1,6	0,83
	3*			
Stadij	IA, IB*	1,8	1,1-2,8	0,011
	IIA, IIB			
	IIIA, IIIB, IIIC			
Estrogenski receptori	Negativni*	1,2	0,50-3	0,696
	Pozitivni			
Progesteronski receptori	Negativni*	0,65	0,3-1,3	0,244
	Pozitivni			
Dobne skupine	<50*	0,97	0,8-1,2	0,789
	50-58			
	59-65			
	>65			
Operativni zahvat	Mastektomija*	0,75	0,35-1,6	0,441
	Kvadrantektomija			
Radioterapija	Ne *	1,3	0,64-2,5	0,490
	Da			
Kemoterapija	CMF*	0,92	0,55-1,55	0,766
	FEC			

AC-T AC-T D.D.

Endokrina terapija	Ne*	1,3	0,48-33	0,638
	Da			
Trastuzumab	Ne	2,2	1,2-3,9	0,012
	Da*			

*referentni nivo, RR: relativni rizik

U multinominalnoj Coxovoj regresijskoj analizi u kojoj su uključene sve istraživane varijable (dob, stadij bolesti, histologija tumora, gradus, ekspresija hormonskih receptora, ekspresija HER2 receptora te modaliteti liječenja – vrsta operacije, vrsta kemoterapije, radioterapija, endokrina terapija, terapija trastuzumabom) dobiveno je da je rizik za povrat bolesti za 1,8 puta veći za svaki porast stadija bolesti ($P=0,011$).

Rizik za povrat bolesti za 2,2 puta je veći u skupini ispitanica koje nisu dobile trastuzumab u odnosu na skupinu koje su lijek dobile ($P=0,012$).

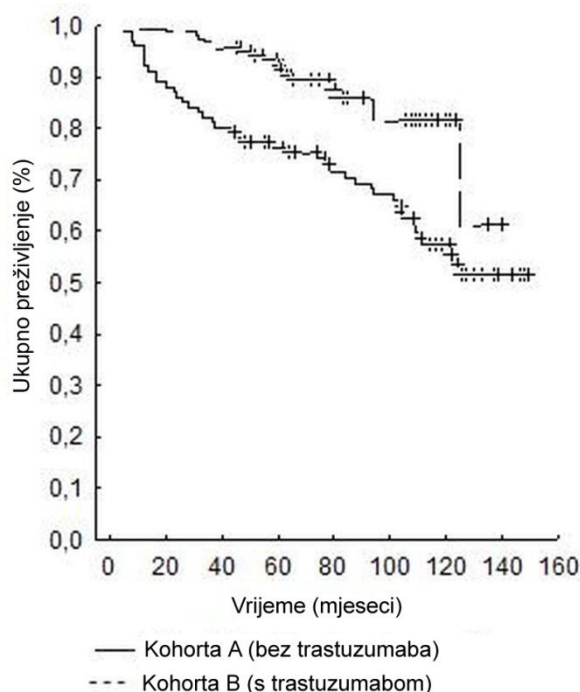
4. 3. Analiza ukupnog preživljenja

U analizu ukupnog preživljenja od ukupnog broja od 258 bolesnica ušlo je 255 bolesnica. Umrla je 61 (23,9%) bolesnica. Od umrlih bolesnica 43 (16,8%) nisu primale trastuzumab (kohorta A), a 18 (7%) je primalo. Za tri ispitanice podatci su nepoznati. Podatci su prikazani u tablici 13.

Tablica 13: Ukupno preživljenje ispitanica u odnosu na adjuvantno liječenje trastuzumabom.

Grupa	Ukupan broj, N	Broj događaja, N	Cenzorirani	
			N	%
kohorta A (bez trastuzumaba)	101	43	58	57,4%
Kohorta B (s trastuzumabom)	154	18	136	88,3%
Ukupno	255	61	194	76,1%

Na slici 4 prikazana je Kaplan-Meirova krivulja ukupnog preživljenja. Medijan preživljenja bolesnica koje su primile trastuzumab iznosi 123 mjeseca, (95% CI(115-131)) – iscrtkana linija, a ispitanica koje nisu primile trastuzumab iznosi 108 mjeseci (95% CI(97-118)). Slijedi da je medijan ukupnog preživljenja za 15,3 mjeseci veći u ispitanica koje su primile trastuzumab u odnosu na one koje nisu primale (LR=11,6, $P<0,001$).



Slika 4. Kaplan-Meierova krivulja ukupnog preživljenja ispitanica u odnosu na primjenu trastuzumaba

U tablicama 14 i 15 prikazani su rezultati Coxove regresijske uninominalne analize za ukupno preživljenje s obzirom na varijable koje se odnose na obilježja tumora i u odnosu na provedeno liječenje .

Tablica 14. Coxova regresijska uninominalna analiza za ukupno preživljenje u odnosu na varijable koje opisuju karakteristike bolesti

		RR	95% CI	P
Histološki tip	Duktalni invazivni*	1,1	0,54-2,4	0,750
	Ostalo			
Gradus	1,2*	1,3	0,79-2,2	0,291
	3			
Stadij	IA, IB*	2,1	1,4-3,1	<0,001
	IIA, IIB			
	IIIA, IIIB, IIIC			
Estrogenski receptori	Negativni*	0,71	0,43-1,2	0,204
	Pozitivni	8		
Progesteronski receptori	Negativni*	0,69	0,42-1,15	0,159
	Pozitivni			
Dobne skupine	<50*	1,16	0,93-1,45	0,194
	50-58			
	59-65			
	>65			

*referentni nivo, RR: relativni rizik

Relativni rizik za smrtni ishod je 2,1 put veći porastom stadija bolesti ($P<0,001$).

Tablica 15. Coxova regresijska uninominalna analiza za ukupno preživljenje u odnosu na provedeno liječenje

		RR	95% CI	P
Operativni zahvat	Mastektomija	3,0	1,3-7	0,011
	Kvadrantektomija			
	*			
Radioterapija	Ne *	1,34	0,77-2,4	0,275
	Da			
Kemoterapija	AC-T (AC-T			0,606
	D.D.)*			
	AC-T, AC-T	1,2	0,49-2,9	0,696
	D.D. prema CMF			
	AC-T, AC-T	0,85	0,43-1,7	0,634
	D.D. prema FEC			
Endokrina terapija	Ne*	0,86	0,5-1,5	0,594
	Da			
Trastuzumab	Ne	2,6	1,6-4,2	<0,001
	Da*			

*referentni nivo, RR: relativni rizik

Iz Coxove uninominalne regresijske analize ukupnog preživljenja vidi se da je relativni rizik od smrti tri puta veći u bolesnica kojima je urađena mastektomija u odnosu na one s kvadrantektomijom ($P=0,011$).

Vjerojatnost za smrtni ishod je 2,6 puta veća u skupini bolesnica koje nisu primile trastuzumab u odnosu na one koje su primile trastuzumab ($P<0,001$).

Rezultati multinominalne Coxove regresijske analize za ukupno preživljenje prikazani su u tablici 16.

Tablica 16. Coxova multinominalna regresijska analiza ukupnog preživljenja

		RR	95% CI	P
Histološki tip	Duktalni invazivni*	1,1	0,48-2,50	0,81
	Ostalo			
Gradus	1,2*	0,97	0,55-1,7	0,918
	3			
Stadij	IA, IB*	1,6	0,99-2,7	0,057
	IIA, IIB			
	IIIA, IIIB, IIIC			
Estrogenski receptori	Negativni*	1	0,38-2,8	0,958
	Pozitivni			
Progesteronski receptori	Negativni*	0,45	0,22-1,1	0,093
	Pozitivni			
Dobne skupine	<50*	1,1	0,87-1,5	0,376
	50-58			
	59-65			
	>65			
Operativni zahvat	Mastektomija	0,53	0,2-1,4	0,197
	Kvadrantektomija*			
Radioterapija	Ne *	1,1	0,52-2,3	0,814

	Da			
Kemoterapija	CMF*	1,3	0,72-2,3	0,381
	FEC			
	AC-T, AC-T D.D.			
Endokrina terapija	Ne*	1,7	0,65-4,8	0,27
	Da			
Trastuzumab	Ne	2,3	1,1-4,6	0,019
	Da*			

*referentni nivo, RR: relativni rizik

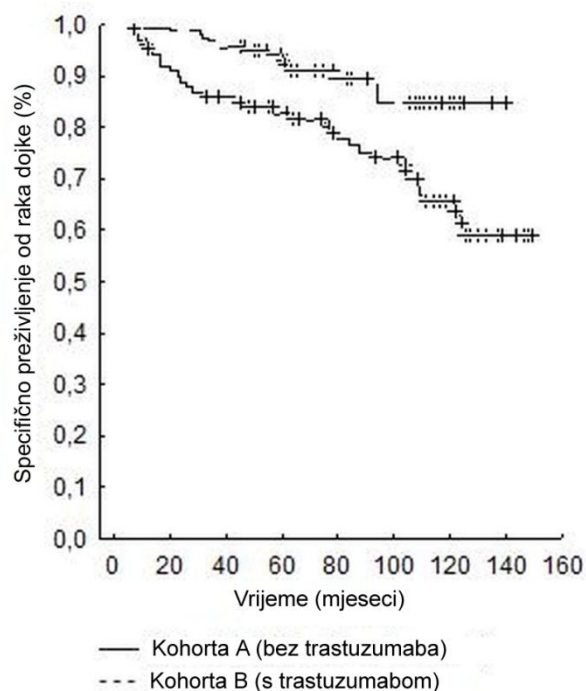
U multinominalnoj Coxovoj regresijskoj analizi u kojoj su uključene sve istraživane varijable (dob, stadij bolesti, histologija tumora, gradus, ekspresija hormonskih receptora, ekspresija HER2 receptora te modaliteti liječenja – vrsta operacije, vrsta kemoterapije, radioterapija, endokrina terapija, terapija trastuzumabom) dobiveno je da relativni rizik smrtnog ishoda raste za 1,6 puta porastom stadija bolesti ($P=0,057$) na razini značajnosti od 94%.

Relativni rizik smrtnog rizika je 2,3 puta veći u bolesnica koje nisu primile trastuzumab u odnosu na skupinu koja je lijek dobila ($P=0,019$).

4. 4. Analiza specifičnog preživljenja od raka dojke

Medijan specifičnog preživljenja od raka dojke iznosio je 130 mjeseci (95% CI(123-136)) u bolesnica liječenih trastuzumabom (iscrtkana linija) i 117 mjeseci u bolesnica koje nisu liječene trastuzumabom (95% CI(106-126)) (puna linija). Medijan specifičnog preživljenja od raka dojke je 13 mjeseci dulji kada se uz adjuvantnu kemoterapiju ordinirao trastuzumab (LR=10,68, $P<0,001$), slika 5.

Kumulativno petogodišnje specifično preživljenje od raka dojke bilo je 93% u skupini koja je primila trastuzumab (95% CI(88,7-97,3), a u skupini koja nije 82,5% (95% CI(74,9-90,1)).



Slika 5. Kaplan-Meierova krivulja specifičnog preživljenja od raka dojke u odnosu na primjenu trastuzumaba

Coxova uninominalna analiza specifičnog preživljenja od raka dojke pokazala je da bolesnice s gradusom tumora 1 i 2 imaju 3,1 puta manji rizik od smrti od raka dojke u odnosu na bolesnice s gradusom 3 ($P < 0,001$) te da svaki porast stadija bolesti donosi 3,1 put veći rizik od smrti od raka dojke ($P < 0,001$).

Uninominalna Coxova analiza koja je uključila modalitete liječenja (vrstu kirurškog zahvata, radioterapiju, endokrinu terapiju i trastuzumab) pokazala je da je rizik smrti od raka dojke 3,1 puta veći u bolesnica koje nisu primile trastuzumab u odnosu na one koje jesu. (Tablice 17 i 18)

Tablica 17. Uninominalna Coxova regresijska analiza specifičnog preživljenja od raka dojke ovisno o obilježjima bolesti

		RR	95% CI	P
Histološki tip	Duktalni invazivni*	1,4	0,62-3,1	0,420
	Ostalo			
Gradus	1,2*	3,1	1,9-5	<0,001
	3			
Stadij	IA, IB*	3,1	1,9-5,2	<0,001
	IIA, IIB			
	IIIA, IIIB, IIIC			
Estrogenski receptori	Negativni*	0,657	0,362-1,2	0,659
	Pozitivni			
Progesteronski receptori	Negativni*	0,784	0,432-1,43	0,425
	Pozitivni			
Dobne skupine	<50*	0,966	0,74-1,3	0,802
	50-58			
	59-65			
	>65			

*referentni nivo, RR: relativni rizik

Tablica 18. Uninominalna Coxova regresijska analiza specifičnog preživljenja od raka dojke ovisno o modalitetima liječenja

		RR	95% CI	P
Operativni zahvat	Mastektomija	7	1,7-29	0,007
	Kvadrantektomija*			
Radioterapija	Ne *	1,64	0,81-3,3	0,173
	Da			
Kemoterapija	CMF*	1,2	0,68-1,2	0,512
	FEC			
	AC-T, AC-T D.D.			
Endokrina terapija	Ne*	0,75	0,4-1,4	0,336
	Da			
Trastuzumab	Ne	3,0	1,5-6	0,002
	Da*			

*referentni nivo, RR: relativni rizik

Multinomialna Coxova analiza koja je uključila životnu dob bolesnica, stadij bolesti, histologiju tumora, gradus tumora, status hormonskih receptora te modalitete liječenja (vrstu kirurškog liječenja, radioterapiju, vrstu kemoterapije, endokrinu terapiju i trastuzumab), pokazala je da je relativni rizik smrti od raka dojke 2,4 puta veći u bolesnica koje nisu primile trastuzumab ($P=0,0037$), tablica 19.

Tablica 19. Coxova multinominalna analiza specifičnog preživljenja od raka dojke

		RR	95% CI	P
Histološki tip	Duktalni invazivni*	1,3	0,49-3,1	0,636
	Ostalo			
Gradus	1,2*	0,891	0,46-1,7	0,730
	3			
Stadij	IA, IB*	2,2	1,2-4,3	0,016
	IIA, IIB			
	IIIA, IIIB, IIIC			
Estrogenski receptori	Negativni*	1,3	0,38-4,6	0,659
	Pozitivni			
Progesteronski receptori	Negativni*	0,55	0,19-1,6	0,269
	Pozitivni			
Dobne skupine	<50*	0,96	0,7-1,3	0,792
	50-58			
	59-66			
	>66			
Operativni zahvat	Mastektomija	0,26	0,1-1,2	0,083
	Kvadrantektomija*			
Radioterapija	Ne *	0,94	0,4-2,4	0,890
	Da			

Kemoterapija	CMF* FEC AC-T, AC-T D.D.	1,4	0,71-2,9	0,301
Endokrina terapija	Ne* Da	1,2	0,36-4,1	0,746
Trastuzumab	Ne Da*	2,4	1,0-5,7	0,0037

*referentni nivo, RR: relativni rizik

5. RASPRAVA

Provođenje prospektivnih randomiziranih kliničkih studija faze III predstavlja standardan način dokazivanja koristi i potencijalne toksičnosti od primjene lijeka (179). One se provode na točno odabranoj populaciji s određenom bolesti i njezinim parametrima, bolesnicima dobrog općeg stanja, idealno uz izostanak ili uz po koji manji, ali dobro kontrolirani, komorbiditet te bez bilo kakvih drugih parametara koji bi mogli potencijalo otežati interpretaciju rezultata studijske intervencije (179). Kontrolna se skupina liječi i prati prema najboljem postojećem standardu liječenja tako da su rezultati i u kontrolnoj skupini optimalni za navedeno liječenje. U ispitivanoj skupini u kojoj se uz navedeni zlatni standard liječenja primijeni studijsko liječenje mogu se polučiti gori ili bolji rezultati u odnosu na kontrolnu granu, koji se opet mogu povezati s učinkom ispitivanog lijeka i/ili toksičnosti. Lijekovi mogu ući u primjenu u kliničku praksu i temeljem rezultata manjih kliničkih studija koje mogu biti i nerandomizirane, a ipak imaju točno određene uključne i isključne kriterije kako bi se osigurala homogenost ispitivane skupine (180). U gore spomenute kliničke studije ne uključuju se ili su relativno malo zastupljene starije dobne skupine te bolesnici koji su potencijalno bolesniji ili manje suradljivi u odnosu na one koji su uključivi u kliničku studiju, a ipak sposobni za provođenje onkološkog liječenja (180).

Dakle, rezultati kliničkih studija koji su uglavnom dobiveni na uskoj studijskoj populaciji primjenjuju se u mnogo heterogenijoj populaciji u redovitoj kliničkoj praksi te u različitim onkološkim institucijama s različitom razinom kvalitete rada s aspekta liječenja, zbrinjavanja neželjenih posljedica i dostupnosti dijagnostičke obrade potrebne za evaluaciju liječenja. Svjedoci smo da se rezultati kliničkih studija nažalost često ne preslikavaju u redovitu kliničku praksu. Tako je primjerice Tannock sa suradnicima usporedio vlastite rezultate liječenja bolesnika s metastatskim kastracijski rezistentnim rakom prostate kemoterapijom docetakselom uz prednisolon s rezultatima iz kliničke studije u kojoj je sudjelovala i institucija u kojoj radi i u kojoj je on prvi autor (178). Pokazao je da je ukupno preživljenje značajno kraće, a toksičnost značajno viša u kliničkoj praksi u odnosu na kliničke studije (178). Takva nas ispitivanja navode na preispitivanje rezultata kliničkih studija i potrebu da se novi lijekovi i načini liječenja ispituju u kliničkoj praksi u različitim populacijama i različitim zdravstvenim sustavima. Primjer različitosti populacije registracijskih studija u odnosu na standardnu populaciju analiziran je u prospektivnoj studiji na 650 HER 2 pozitivnih bolesnica s ranim rakom dojke koje su liječene trastuzumabom te su podatci o bolesnicama, obilježjima tumora i liječenju prikupljeni i uspoređeni s ekstrahiranim podacima iz velikih adjuvantnih

studija s trastuzumabom. Pacijentice iz kliničke prakse značajno su češće bile starije od 50 godina (65% nasuprot 49%; $P<0,0001$), češće su bile ER i/ili PR pozitivne (72% nasuprot 54%, $P<0,0001$), rjeđe su imale tumore veće od 2 cm (39% nasuprot 59%, $P<0,0001$) i visoki gradus (61% nasuprot 67%, $P=0,0241$). Isto tako, pacijentice iz kliničke prakse značajno su češće primile adjuvantnu endokrinu terapiju (70% nasuprot 55%, $P<0,0003$) i značajno rjeđe adjuvantnu kemoterapiju (97% nasuprot 99,7%, $P<0,0001$) u odnosu na bolesnice iz pivotalnih studija (182).

Evaluacija stvarne kliničke koristi od lijekova u kontekstu učinkovitosti, profila toksičnosti te opterećenja za zdravstveni sustav, moguća je kroz retrospektivne analize stvarne populacije liječenih bolesnika, analize kvalitetnih registara za rak na razini pojedine institucije ili, što je još bolje, na razini cijele države te pomoću postmarketinških studija faze IV (179, 180).

Slijedom navedenoga, proveli smo retrospektivnu analizu učinkovitosti trastuzumaba na populaciji bolesnica s HER 2 pozitivnim ranim rakom dojke liječenih u našoj instituciji prije i nakon uvođenja trastuzumaba. Trastuzumab predstavlja temelj liječenja HER 2 pozitivnog raka dojke, kako metastatskog tako i ranog, sa snažnim dokazima koji proizlaze iz kliničkih studija i meta-analiza (120-123, 127, 129-132). Danas je jednogodišnja adjuvantna primjena trastuzumaba široko prihvaćen standard u liječenju. Ipak, poznati su nam rezultati deeskalacijskih studija u kojima se trastuzumab primjenjuje kraće od godine dana te studija APT u kojoj se u malih HER 2 pozitivnih tumora iz kemoterapijskog protokola isključuje primjena antraciklina i ostaju taksani u kombinaciji s trastuzumabom (139). Isto tako se u adjuvantno liječenje HER 2 pozitivnog raka dojke, temeljem rezultata nedavno objavljene studije Aphinity, introducira i pertuzumab (144). Sve navedeno zahtijeva temeljitu analizu postojećeg liječenja trastuzumabom na našoj populaciji kako bismo mogli na optimalnan način usvojiti potencijalne nove standarde liječenja i u budućnosti znati evaluirati njihovu realnu učinkovitost i potencijalnu dodanu vrijednost na našoj populaciji. Drugi aspekt potrebe za ovakvim retrospektivnim analizama jest i činjenica da se prema rezultatima studije EURO CARE 5 Hrvatska nalazi u samom vrhu po smrtnosti od raka (4). Rak dojke kao najčešći tumor u žena s preko 2600 oboljelih godišnje u Hrvatskoj predstavlja značajan javnozdravstveni problem te je potrebno evaluirati sve aspekte raka dojke, od javnozdravstvenih do evaluacije ishoda liječenja (5). U cilju analize stvarne situacije potrebni su nam registri bolesnika, kojih zasad nažalost nema, da bismo egzaktno mogli evaluirati kvalitetu liječenja i pronaći prostora za poboljšanje te isto tako svaku mjeru liječenja farmakoekonomski definirati i u uvjetima ograničenih sredstava za zdravstvo kvalitetnije

rasporediti dostupna sredstva, povećati kvalitetu rada te posljedično poboljšati ishode liječenja.

Unatoč snažnim dokazima iz kliničkih studija i meta-analiza adjuvantne primjene trastuzumaba, dokazi iz kliničke prakse relativno su oskudni. Objavljeno je nekoliko retrospektivnih analiza učinkovitosti i sigurnosti primjene trastuzumaba. U studiji RETROHER analizirane su pacijentice liječene prije uvođenja primjene trastuzumaba i nakon uvođenja trastuzumaba u adjuvantno liječenje (183). Stopa povrata bolesti nakon tri godine praćenja bila je 18,5% u bolesnica koje nisu primile trastuzumab i 7,8% bolesnica koje su trastuzumab primile ($P < 0,0001$), preživljenje bez povrata bolesti bilo je 88,6% s trastuzumabom nasuprot 71% bez trastuzumaba ($P < 0,0001$) i ukupno preživljenje 88,4% bez trastuzumaba nasuprot 96% uz trastuzumab ($P < 0,0001$) (183). Korist od dodatka trastuzumaba pokazala se i u specifičnom preživljenju od raka dojke (93,5% vs 77,3%, $P < 0,0001$) (183). U kanadskoj studiji obavljena je retrospektivna analiza 703 HER 2 pozitivne bolesnice s ranim HER 2 pozitivnim rakom dojke. Od ukupne populacije, njih 68% primilo je trastuzumab (184). U studijskoj kohorti koja nije primila trastuzumab, samo 28% bolesnica primilo je adjuvantnu kemoterapiju. Isto tako, imale su povoljnija inicijalna obilježja poput stadija bolesti, gradusa tumora, prisutnosti limfovaskularne invazije i ekspresije ER. Nakon medijana praćenja od dvije godine, usprkos inicijalno nepovoljnijim obilježjima bolesti, bolesnice koje su adjuvantno primile trastuzumab imale su bolje ishode liječenja. Tako je dvogodišnje preživljenje bez povrata bolesti iznosilo 90,9% uz trastuzumab nasuprot 77,3% bez trastuzumaba ($P = 0,01$) (184). U Sloveniji su isto tako retrospektivno analizirali učinkovitost trastuzumaba u adjuvantnoj primjeni te su dobili rezultate usporedive s pivotalnim studijama (185). U prospektivnoj opservacijskoj studiji provedenoj u Njemačkoj na populaciji žena s ranim HER 2 pozitivnim rakom dojke petogodišnje preživljenje bez znakova povrata bolesti bilo je 82,2% (95% CI (81,2-84,4)), a ukupno preživljenje 90% (95% CI (88,6%-91,4)) (186). Važno je naglasiti da je u studiji, za razliku od registracijskih studija, bilo više bolesnica koje su starije od 65 godina (njih 26%) te da je više od polovine bolesnica imalo negativne aksilarne limfne čvorove (186). Rezultati komparabilni registracijskim studijama pokazali su se i u nizozemskoj studiji (187).

U našoj retrospektivnoj analizi istraživali smo utjecaj dodatka trastuzumaba adjuvantnoj kemoterapiji HER 2 pozitivnog raka dojke na preživljenje bez povrata bolesti, ukupno preživljenje i specifično preživljenje od raka dojke. Radi se o analizi podataka iz jedne institucije u zemlji s relativno niskim izdvajanjima za zdravstveni sustav. Naši su rezultati

pokazali nedvojbenu korist dodatka trastuzumaba u adjuvantnom liječenju HER 2 pozitivnog raka dojke. Rezultati su komparabilni s randomiziranim studijama. Tako je primjerice petogodišnje preživljenje bez povrata bolesti u studiji HERA iznosilo 76,9%, u BCIRG 006 84%, a u ovoj retrospektivnoj studiji 87,7%. Ukupno je petogodišnje preživljenje u studiji HERA iznosilo 86,9%, u BCIRG 006 90%, a u ovoj studiji 92,2%.

Jedna od važnijih razlika između dvije kohorte odnosi se na primijenjene kemoterapijske protokole. Tako je u kohorti bolesnica koje nisu primile trastuzumab njih 68% primilo kemoterapiju temeljenu na antraciklinima, a samo 12,7% kemoterapiju koja je uz antracikline uključila i taksane. U skupini bolesnica koje su primile trastuzumab, kombinaciju taksana i antraciklina primilo je 38,9% bolesnica, a antracikline 55,8% bolesnica. Veća učestalost primjene taksana u skupini bolesnica koje su primile trastuzumab može se objasniti uvođenjem paklitaksela u adjuvantno liječenje raka dojke u gotovo isto vrijeme kada i trastuzumaba. Kemoterapijski protokol CMF primijenjen je u 3,2% bolesnica u skupini s trastuzumabom i u 17,5% bolesnica koje nisu primile trastuzumab. Mogli bismo pretpostaviti da su klinički i statistički značajno bolji analizirani ishodi liječenja u skupini bolesnica koja je primila trastuzumab djelomično uvjetovani i dodavanjem taksana adjuvantnom liječenju. Ipak, ni univarijantne ni multivarijantne Coxove analize nisu potvrdile navedeno.

Nadalje, dvije promatrane skupine razlikovale su se po distribuciji stadija bolesti. U skupini koja je primila trastuzumab, 26,5% bolesnica je pri dijagnozi imalo stadij bolesti I, a 25,8% stadij III. U skupini koja nije primila trastuzumab, stadij I imalo je samo 17,5%, a stadij III 36,9%. Ovaj pozitivan pomak prema većoj učestalosti nižeg stadija bolesti pri dijagnozi mogao bi se povezati s povećavanjem svijesti o raku dojke u općoj populaciji kao i implementaciji Nacionalnog programa ranog otkrivanja raka dojke krajem 2006. godine. Pacijentice se nisu razlikovale po dobi i izraženosti hormonskih receptora. Endokrina terapija i radioterapija sa sličnom se učestalošću primjenjivala unutar obje skupine bolesnica. U skupini koja je primila trastuzumab bilo je nešto više bolesnica koje su primile adjuvantnu radioterapiju, što bi se moglo potencijalno povezati s većom pojavnošću nižih stadija bolesti, posljedično pošteđenih kirurških zahvata koji zahtijevaju postoperativnu radioterapiju.

Potencijalni su nedostaci ove studije retrospektivna analiza podataka i relativno malen broj bolesnica uključen u studiju. Nadalje, tu su i neuravnoteženost između pojedinih parametara bolesti i modaliteta liječenja te različita duljina praćenja navedenih skupina bolesnica. Isto tako, analiza nije obuhvatila toksičnost liječenja trastuzumabom, prije svega zbog relativno

lošije kvalitete vođenja podataka o učestalosti i evaluaciji toksičnosti u povijestima bolesti bolesnica. Ipak, unatoč navedenim nedostacima, studija ima i određene vrijednosti. Provedena je u jednoj ustanovi u kojoj se liječi gotovo četvrtina bolesnica s rakom dojke u Republici Hrvatskoj te su pokazani rezultati na realnoj populaciji bolesnica, liječenih u redovitim kliničkim uvjetima u našoj zemlji, prema smjernicama koje su u to vrijeme bile na snazi. U zaključku, naši su rezultati potvrdili korist od adjuvantne primjene trastuzumaba te su komparabilni s registracijskim studijama, što isto tako potencijalno može biti pokazatelj kvalitete skrbi za navedene bolesnice u našoj ustanovi.

6. ZAKLJUČCI

1. Retrospektivna analiza rađena je na realnoj populaciji liječenoj u KBC-u Split te kao takva daje realnu sliku učinka adjuvantnog trastuzumaba, a posredno i kvalitete rada institucije.
2. Dodatak trastuzumaba u adjuvantom liječenju ranog HER 2 pozitivnog raka dojke doveo je do statistički značajnog povećanja medijana preživljenja bez znakova povrata bolesti (107 mjeseci nasuprot 92 mjeseca, LR:11,6, $P<0,001$).
3. Dodatak trastuzumaba u adjuvantom liječenju ranog HER 2 pozitivnog raka dojke doveo je do statistički značajnog povećanja medijana specifičnog preživljenja od raka dojke (130 mjeseci nasuprot 117 mjeseci, LR:10,7, $P<0,001$).
4. Dodatak trastuzumaba u adjuvantom liječenju ranog HER 2 pozitivnog raka dojke doveo je do statistički značajnog povećanja medijana ukupnog preživljenja od raka dojke (123 mjeseca nasuprot 108 mjeseci, LR:11,6, $P<0,001$).
5. Rezultati su komparabilni s rezultatima registracijskih studija.

7. SAŽETAK

Dodatak trastuzumaba kemoterapiji predstavlja temelj adjuvantnog liječenja HER 2 pozitivnog raka dojke. Kliničke studije i meta-analize dodatka trastuzumaba pokazale su značajnu redukciju rizika povrata bolesti i smrti. Ipak, stvarnu vrijednost bilo kojeg lijeka treba provjeriti u redovitoj kliničkoj praksi u kojoj su uvjeti značajno drugačiji u odnosu na kliničke studije. U cilju evaluacije dodatka trastuzumaba adjuvantnoj kemoterapiji HER 2 pozitivnog raka dojke urađena je retrospektivna analiza rezultata liječenja u Klinici za onkologiju i radioterapiju KBC-a Split. Bolesnice su podijeljene u dvije skupine: jednu liječenu prije uvođenja trastuzumaba i drugu liječenu trastuzumabom. Od 2003. do 2012., 258 konsekutivnih HER 2 pozitivnih bolesnica liječeno je adjuvantom kemoterapijom, njih 103 nisu primile trastuzumab (liječene od 2003. do 2007.), a njih je 155 primilo lijek (liječene od 2008. do 2012.). Bolesnice koje su primile trastuzumab imale su signifikantno dulji medijan preživljenja bez znakova povrata bolesti (107 mjeseci nasuprot 92 mjeseca, LR: 11,6, $P<0,001$); specifičnog preživljenja od raka dojke (130 mjeseci nasuprot 117 mjeseci, LR: 10,7, $P<0,001$) i medijan ukupnog preživljenja (123 mjeseca nasuprot 108 mjeseci LR: 11,6, $P<0,001$).

Ova retrospektivna analiza pokazala je jasnu statistički značajnu korist od dodatka trastuzumaba adjuvantnom liječenju ranog HER 2 pozitivnog raka dojke u svakodnevnoj kliničkoj praksi i potvrdila rezultate registracijskih studija.

8. SUMMARY

Doctoral dissertation title:

The impact of adding trastuzumab to adjuvant chemotherapy of HER 2 positive breast cancer in daily clinical practice

Trastuzumab added to chemotherapy is the cornerstone of adjuvant treatment of early HER2 positive breast cancer. Clinical trials and metaanalyses of adjuvant trastuzumab have shown significant reduction in risk of recurrence and death. Nevertheless, the real magnitude of the effect of any drug must be reevaluated in daily clinical conditions, due to the fact that daily clinical practice often differs from conditions in clinical trials. In order to measure the benefit of adding adjuvant trastuzumab in HER 2 positive early breast cancer treatment, we have performed retrospective analysis in a single institution on consecutive patients divided in two cohorts: one, treated in "pre-trastuzumab" and the other in "trastuzumab era". Between 2003 and 2012, 258 consecutive HER 2 positive patients with early breast cancer have been treated with adjuvant chemotherapy, 103 patients did not receive trastuzumab (patients treated from 2003 till 2007), and 155 received trastuzumab (patients treated from 2008 till 2012). Patients who received trastuzumab experienced significantly longer median disease-free survival (107 months vs 92 months, LR: 11,6, $P<0,001$); breast cancer-specific survival (130 months vs 117 months, LR: 10,7, $P<0,001$) and median overall survival (123 months vs 108 months LR: 11,6, $P<0,001$). The benefits of adding trastuzumab were independent of chemotherapy regimen and endocrine therapy.

This retrospective analysis has shown a clear, statistically significant benefit of adjuvant trastuzumab in treatment of early HER2 positive breast cancer in daily clinical practice and confirmed the results of the registration clinical trials.

9. LITERATURA

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, i sur. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2012;136:E359-86.
2. Šekerija M, Novak P, Šelentić Đ, Lončar J, Čukelj P. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske. 2018; Bilten 40.
3. De Angelis R, Sant M, Coleman MP, i sur. Cancer survival in Europe 1999–2007 by country and age: results of EURO-CARE-5—a population-based study. *The Lancet Oncology* 2014;15:23-34.
4. Allemani C, Matsuda T, Di Carlo V, i sur. Global surveillance of trends in cancer survival 2000–14 (CONCORD-3): analysis of individual records for 37 513 025 patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries. *The Lancet* 2018;391:1023-75.
5. Šekerija M. Potencijalni uzroci trendova pojavnosti i smrtnosti od raka dojke u Hrvatskoj. Zbornik radova XXVII znanstvenog sastanka "Bolesti dojke" Zagreb, 2017;1-11.
6. McPherson K SC, Dixon JM 321(7261):624-628. ABC of breast diseases. Breast cancer-epidemiology, risk factors, and genetics. *BMJ* 2000;321:624-628.
7. MacMahon B. Epidemiology and the causes of breast cancer. *Int J Cancer* 2006;118:2373-8.
8. Han D, Nie J, Bonner MR, i sur. Lifetime adult weight gain, central adiposity, and the risk of pre- and postmenopausal breast cancer in the Western New York exposures and breast cancer study. *Int J Cancer* 2006;119:2931-7.
9. Vrieling A, Buck K, Kaaks R, Chang-Claude J. Adult weight gain in relation to breast cancer risk by estrogen and progesterone receptor status: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat*;123:641-9.
10. Hamajima N, Hirose K, Tajima K, i sur. Alcohol, tobacco and breast cancer--collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58,515 women with breast cancer and 95,067 women without the disease. *Br J Cancer* 2002;87:1234-45.
11. Wong SM, King T, Boileau JF, Barry WT, Golshan M. Population-Based Analysis of Breast Cancer Incidence and Survival Outcomes in Women Diagnosed with Lobular Carcinoma In Situ. *Ann Surg Oncol*;24:2509-17.
12. Lynch HT, Watson P, Conway TA, Lynch JF. Clinical/genetic features in hereditary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1990;15:63-71.
13. Pharoah PD, Day NE, Duffy S, Easton DF, Ponder BA. Family history and the risk of breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer* 1997;71:800-9.
14. Deapen D, Liu L, Perkins C, Bernstein L, Ross RK. Rapidly rising breast cancer incidence rates among Asian-American women. *Int J Cancer* 2002;99:747-50.
15. Gail MH, Brinton LA, Byar DP, i sur. Projecting individualized probabilities of developing breast cancer for white females who are being examined annually. *J Natl Cancer Inst* 1989;81:1879-86.
16. Gail MH, Costantino JP. Validating and improving models for projecting the absolute risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:334-5.
17. Tyrer J, Duffy SW, Cuzick J. A breast cancer prediction model incorporating familial and personal risk factors. *Stat Med* 2004;23:1111-30.
18. Early Breast Cancer Trialists Colaborative Group. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet* 2005;365:1687-717.

19. Cuzick J, Forbes J, Edwards R, i sur. First results from the International Breast Cancer Intervention Study (IBIS-I): a randomised prevention trial. *Lancet* 2002;360:817-24.
20. Fisher B, Costantino JP, Wickerham DL, i sur. Tamoxifen for prevention of breast cancer: report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 Study. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:1371-88.
21. Powles T, Eeles R, Ashley S, i sur. Interim analysis of the incidence of breast cancer in the Royal Marsden Hospital tamoxifen randomised chemoprevention trial. *Lancet* 1998;352:98-101.
22. Veronesi U, Maisonneuve P, Sacchini V, Rotmensz N, Boyle P. Tamoxifen for breast cancer among hysterectomised women. *Lancet* 2002;359:1122-4.
23. Cuzick J, Powles T, Veronesi U, i sur. Overview of the main outcomes in breast-cancer prevention trials. *Lancet* 2003;361:296-300.
24. Cummings SR, Eckert S, Krueger KA, i sur. The effect of raloxifene on risk of breast cancer in postmenopausal women: results from the MORE randomized trial. Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation. *JAMA* 1999;281:2189-97.
25. Vogel VG, Costantino JP, Wickerham DL, i sur. Effects of tamoxifen vs raloxifene on the risk of developing invasive breast cancer and other disease outcomes: the NSABP Study of Tamoxifen and Raloxifene (STAR) P-2 trial. *JAMA* 2006;295:2727-41.
26. Cummings SR, Ensrud K, Delmas PD, i sur. Lasofoxifene in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2010;362:686-96.
27. Goss PE, Ingle JN, Ales-Martinez JE, i sur. Exemestane for breast-cancer prevention in postmenopausal women. *N Engl J Med* 2011;364:2381-91.
28. Cuzick J, Sestak I, Forbes JF, i sur. Anastrozole for prevention of breast cancer in high-risk postmenopausal women (IBIS-II): an international, double-blind, randomised placebo-controlled trial. *Lancet*;383:1041-8.
29. Harris J MM. Diseases of the breast. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2004.
30. Cardoso F, Costa A, Senkus E, i sur. 3rd ESO-ESMO International Consensus Guidelines for Advanced Breast Cancer (ABC 3). *Ann Oncol* 2016;28:16-33.
31. da Costa Vieira RA, Biller G, Uemura G, Ruiz CA, Curado MP. Breast cancer screening in developing countries. *Clinics (Sao Paulo)* 2017;72:244-53.
32. HJ. Burstein MM. Malignant Tumors of the Breast. In: De Vita VT, Lawrence TS, Rosenberg SA, eds. *Cancer: principles and practice of oncology*. 8th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins 2008:1606-54.
33. Separovic R, Ban M, Silovska T, i sur. [Clinical Guidelines for Diagnosis, Treatment and Monitoring of Patients with Invasive Breast Cancer Croatian Oncology Society]. *Lijec Vjesn* 2015;137:143-9.
34. Rakha EA, Reis-Filho JS, Baehner F, i sur. Breast cancer prognostic classification in the molecular era: the role of histological grade. *Breast Cancer Res* 2010;12:207.
35. Hortobagi G, Connlloy JL, D Orsi CJ, Edge SB, Mittendorf EA, Rugo HS, Solin LJ, Weaver DL, Winchester DJ, Giuliano A. Breast. u.: Amin MB et al *AJCC Cancer staging manual*, Eighth edition 2017:589-636.
36. Dupont WD, Page DL. Risk factors for breast cancer in women with proliferative breast disease. *N Engl J Med* 1985;312:146-51.
37. Haberthur F, Feichter GE, Torhorst JK. [Sarcoma of the breast: what is the contribution of immunohistochemistry and flow cytometry?]. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 1993;53:811-3.
38. Rakha EA, Green AR. Molecular classification of breast cancer: what the pathologist needs to know. *Pathology* 2016;49:111-9.

39. Perou CM, Borresen-Dale AL. Systems biology and genomics of breast cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010.;3.
40. Aleskandarany MA, Green AR, Benhasouna AA, i sur. Prognostic value of proliferation assay in the luminal, HER2-positive, and triple-negative biologic classes of breast cancer. *Breast Cancer Res* 2012.;14:R3.
41. Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, i sur. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *J Clin Invest* 2011;121:2750-67.
42. Curtis C, Shah SP, Chin SF, i sur. The genomic and transcriptomic architecture of 2,000 breast tumours reveals novel subgroups. *Nature* 2012;486:346-52.
43. Prat A, Pineda E, Adamo B, i sur. Clinical implications of the intrinsic molecular subtypes of breast cancer. *Breast* 2015;24:26-35.
44. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer* 1989;63:181-7.
45. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 1991;19:403-10.
46. Rosen PR, Groshen S, Saigo PE, Kinne DW, Hellman S. A long-term follow-up study of survival in stage I (T1N0M0) and stage II (T1N1M0) breast carcinoma. *J Clin Oncol* 1989;7:355-66.
47. Thurman SA, Schnitt SJ, Connolly JL, i sur. Outcome after breast-conserving therapy for patients with stage I or II mucinous, medullary, or tubular breast carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004;59:152-9.
48. Sastre-Garau X, Jouve M, Asselain B, i sur. Infiltrating lobular carcinoma of the breast. Clinicopathologic analysis of 975 cases with reference to data on conservative therapy and metastatic patterns. *Cancer* 1996;77:113-20.
49. Truong PT, Yong CM, Abnousi F, i sur. Lymphovascular invasion is associated with reduced locoregional control and survival in women with node-negative breast cancer treated with mastectomy and systemic therapy. *J Am Coll Surg* 2005;200:912-21.
50. McGuire WL, Clark GM. Prognostic factors and treatment decisions in axillary-node-negative breast cancer. *N Engl J Med* 1992;326:1756-61.
51. Mirza AN, Mirza NQ, Vlastos G, Singletary SE. Prognostic factors in node-negative breast cancer: a review of studies with sample size more than 200 and follow-up more than 5 years. *Ann Surg* 2002;235:10-26.
52. Gaffney EV, Halpin DP, Blakemore WS. Relationship between low estrogen receptor values and other prognostic factors in primary breast tumors. *Surgery* 1995;117:241-6.
53. Nishimura R, Osako T, Okumura Y, Hayashi M, Arima N. Clinical significance of Ki-67 in neoadjuvant chemotherapy for primary breast cancer as a predictor for chemosensitivity and for prognosis. *Breast Cancer* 2010;17:269-75.
54. Buyse M, Loi S, van't Veer L, i sur. Validation and clinical utility of a 70-gene prognostic signature for women with node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2006;98:1183-92.
55. Paik S, Shak S, Tang G, i sur. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N Engl J Med* 2004;351:2817-26.
56. Fitzal F, Filipits M, Rudas M, i sur. The genomic expression test EndoPredict is a prognostic tool for identifying risk of local recurrence in postmenopausal endocrine receptor-positive, her2neu-negative breast cancer patients randomised within the prospective ABCSG 8 trial. *Br J Cancer* 2015;112:1405-10.
57. Sgroi DC, Sestak I, Cuzick J, i sur. Prediction of late distant recurrence in patients with oestrogen-receptor-positive breast cancer: a prospective comparison of the breast-cancer

index (BCI) assay, 21-gene recurrence score, and IHC4 in the TransATAC study population. *Lancet Oncol* 2013;14:1067-76.

58. Krijgsman O, Roepman P, Zwart W, *i sur.* A diagnostic gene profile for molecular subtyping of breast cancer associated with treatment response. *Breast Cancer Res Treat* 2012.;133:37-47.

59. Bastien RR, Rodriguez-Lescure A, Ebbert MT, *i sur.* PAM50 breast cancer subtyping by RT-qPCR and concordance with standard clinical molecular markers. *BMC Med Genomics* 2012;5:44.

60. Sparano JA, Gray RJ, Makower DF, *i sur.* Prospective Validation of a 21-Gene Expression Assay in Breast Cancer. *N Engl J Med* 2015;373:2005-14.

61. Sparano JA, Gray RJ, Makower DF, *i sur.* Adjuvant Chemotherapy Guided by a 21-Gene Expression Assay in Breast Cancer. *N Engl J Med* 2018.

62. Cardoso F, van't Veer LJ, Bogaerts J, *i sur.* 70-Gene Signature as an Aid to Treatment Decisions in Early-Stage Breast Cancer. *N Engl J Med* 2016;375:717-29.

63. Cherny NI, Dafni U, Bogaerts J, *i sur.* ESMO-Magnitude of Clinical Benefit Scale version 1.1. *Ann Oncol* 2017;28:2340-66.

64. Senkus E, Kyriakides S, Ohno S, *i sur.* Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2015;26 Suppl 5:v8-30.

65. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin* 2015;65:5-29.

66. Giordano SH, Valero V, Buzdar AU, Hortobagyi GN. Efficacy of anastrozole in male breast cancer. *Am J Clin Oncol* 2002;25:235-7.

67. Fisher B, Anderson S, Bryant J, *i sur.* Twenty-year follow-up of a randomized trial comparing total mastectomy, lumpectomy, and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer. *N Engl J Med* 2002;347:1233-41.

68. Arriagada R, Le MG, Rochard F, Contesso G. Conservative treatment versus mastectomy in early breast cancer: patterns of failure with 15 years of follow-up data. Institut Gustave-Roussy Breast Cancer Group. *J Clin Oncol* 1996;14:1558-64.

69. Clarke M, Collins R, Darby S, *i sur.* Effects of radiotherapy and of differences in the extent of surgery for early breast cancer on local recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet* 2005;366:2087-106.

70. Veronesi U, Cascinelli N, Mariani L, *i sur.* Twenty-year follow-up of a randomized study comparing breast-conserving surgery with radical mastectomy for early breast cancer. *N Engl J Med* 2002;347:1227-32.

71. Early Breast Cancer Trialists CG. Effect of radiotherapy after breast-conserving surgery on 10-year recurrence and 15-year breast cancer death: meta-analysis of individual patient data for 10,801 women in 17 randomised trials. *The Lancet* 2011;378:1707-16.

72. Fayanju OM, Stoll CR, Fowler S, Colditz GA, Margenthaler JA. Contralateral prophylactic mastectomy after unilateral breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Ann Surg* 2014;260:1000-10.

73. Veronesi U, Paganelli G, Viale G, *i sur.* A randomized comparison of sentinel-node biopsy with routine axillary dissection in breast cancer. *N Engl J Med* 2003;349:546-53.

74. Mansel RE, Fallowfield L, Kissin M, *i sur.* Randomized multicenter trial of sentinel node biopsy versus standard axillary treatment in operable breast cancer: the ALMANAC Trial. *J Natl Cancer Inst* 2006;98:599-609.

75. Giuliano AE, McCall L, Beitsch P, *i sur.* Locoregional recurrence after sentinel lymph node dissection with or without axillary dissection in patients with sentinel lymph node metastases: the American College of Surgeons Oncology Group Z0011 randomized trial. *Ann Surg* 2010;252:426-32.

76. Giuliano AE, Ballman K, McCall L, i sur. Locoregional Recurrence After Sentinel Lymph Node Dissection With or Without Axillary Dissection in Patients With Sentinel Lymph Node Metastases: Long-term Follow-up From the American College of Surgeons Oncology Group (Alliance) ACOSOG Z0011 Randomized Trial. *Ann Surg* 2016;264:413-20.
77. Axelsson CK, Mouridsen HT, Zedeler K. Axillary dissection of level I and II lymph nodes is important in breast cancer classification. The Danish Breast Cancer Cooperative Group (DBCG). *Eur J Cancer* 1992;28:1415-8.
78. Hughes KS, Schnaper LA, Bellon JR, i sur. Lumpectomy plus tamoxifen with or without irradiation in women age 70 years or older with early breast cancer: long-term follow-up of CALGB 9343. *J Clin Oncol* 2013;31:2382-7.
79. Nielsen HM, Overgaard M, Grau C, Jensen AR, Overgaard J. Study of failure pattern among high-risk breast cancer patients with or without postmastectomy radiotherapy in addition to adjuvant systemic therapy: long-term results from the Danish Breast Cancer Cooperative Group DBCG 82 b and c randomized studies. *J Clin Oncol* 2006;24:2268-75.
80. Poortmans PM, Struikmans H, Bartelink H. Regional Nodal Irradiation in Early-Stage Breast Cancer. *N Engl J Med* 2015;373:1879-80.
81. Whelan TJ, Olivetto IA, Parulekar WR, i sur. Regional Nodal Irradiation in Early-Stage Breast Cancer. *N Engl J Med* 2015;373:307-16.
82. Overgaard M, Hansen PS, Overgaard J, i sur. Postoperative radiotherapy in high-risk premenopausal women with breast cancer who receive adjuvant chemotherapy. Danish Breast Cancer Cooperative Group 82b Trial. *N Engl J Med* 1997;337:949-55.
83. Overgaard M, Jensen MB, Overgaard J, i sur. Postoperative radiotherapy in high-risk postmenopausal breast-cancer patients given adjuvant tamoxifen: Danish Breast Cancer Cooperative Group DBCG 82c randomised trial. *Lancet* 1999;353:1641-8.
84. Ragaz J, Olivetto IA, Spinelli JJ, i sur. Locoregional radiation therapy in patients with high-risk breast cancer receiving adjuvant chemotherapy: 20-year results of the British Columbia randomized trial. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:116-26.
85. McGale P, Taylor C, Correa C, i sur. Effect of radiotherapy after mastectomy and axillary surgery on 10-year recurrence and 20-year breast cancer mortality: meta-analysis of individual patient data for 8135 women in 22 randomised trials. *Lancet* 2014;383:2127-35.
86. Bellon JR, Come SE, Gelman RS, i sur. Sequencing of chemotherapy and radiation therapy in early-stage breast cancer: updated results of a prospective randomized trial. *J Clin Oncol* 2005;23:1934-40.
87. Cortazar P, Zhang L, Untch M, i sur. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. *Lancet* 2014;384:164-72.
88. Mauri D, Pavlidis N, Ioannidis JP. Neoadjuvant versus adjuvant systemic treatment in breast cancer: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:188-94.
89. de Azambuja E, Holmes AP, Piccart-Gebhart M, i sur. Lapatinib with trastuzumab for HER2-positive early breast cancer (NeoALTTO): survival outcomes of a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial and their association with pathological complete response. *Lancet Oncol* 2014;15:1137-46.
90. Gianni L, Pienkowski T, Im YH, i sur. 5-year analysis of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in patients with locally advanced, inflammatory, or early-stage HER2-positive breast cancer (NeoSphere): a multicentre, open-label, phase 2 randomised trial. *Lancet Oncol* 2016;17:791-800.
91. Schneeweiss A, Chia S, Hickish T, i sur. Pertuzumab plus trastuzumab in combination with standard neoadjuvant anthracycline-containing and anthracycline-free chemotherapy regimens in patients with HER2-positive early breast cancer: a randomized phase II cardiac safety study (TRYPHAENA). *Ann Oncol* 2013;24:2278-84.

92. Barroso-Sousa R, Silva DD, Alessi JV, Mano MS. Neoadjuvant endocrine therapy in breast cancer: current role and future perspectives. *Ecancermedicalsecience* 2016;10:609.
93. Berry DA, Cirincione C, Henderson IC, i sur. Estrogen-receptor status and outcomes of modern chemotherapy for patients with node-positive breast cancer. *JAMA* 2006;295:1658-67.
94. Ravdin PM, Siminoff LA, Davis GJ, i sur. Computer program to assist in making decisions about adjuvant therapy for women with early breast cancer. *J Clin Oncol* 2001;19:980-91.
95. Bevers TB. Ultrasound for the screening of breast cancer. *Curr Oncol Rep* 2008;10:527-8.
96. Albain KS, Barlow WE, Shak S, i sur. Prognostic and predictive value of the 21-gene recurrence score assay in postmenopausal women with node-positive, oestrogen-receptor-positive breast cancer on chemotherapy: a retrospective analysis of a randomised trial. *Lancet Oncol* 2010;11:55-65.
97. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet* 2005;365:1687-717.
98. Henderson IC, Berry DA, Demetri GD, i sur. Improved outcomes from adding sequential Paclitaxel but not from escalating Doxorubicin dose in an adjuvant chemotherapy regimen for patients with node-positive primary breast cancer. *J Clin Oncol* 2003;21:976-83.
99. Mamounas EP, Bryant J, Lembersky B, i sur. Paclitaxel after doxorubicin plus cyclophosphamide as adjuvant chemotherapy for node-positive breast cancer: results from NSABP B-28. *J Clin Oncol* 2005;23:3686-96.
100. Sparano JA, Wang M, Martino S, i sur. Weekly paclitaxel in the adjuvant treatment of breast cancer. *N Engl J Med* 2008;358:1663-71.
101. Citron ML, Berry DA, Cirincione C, i sur. Randomized trial of dose-dense versus conventionally scheduled and sequential versus concurrent combination chemotherapy as postoperative adjuvant treatment of node-positive primary breast cancer: first report of Intergroup Trial C9741/Cancer and Leukemia Group B Trial 9741. *J Clin Oncol* 2003;21:1431-9.
102. A Samuel J, W Wilson J, Bandos H, i sur. Abstract S3-02: NSABP B-36: A randomized phase III trial comparing six cycles of 5-fluorouracil (5-FU), epirubicin, and cyclophosphamide (FEC) to four cycles of adriamycin and cyclophosphamide (AC) in patients (pts) with node-negative breast cancer. *SABCS, 2015. S3-02 p.*
103. Davies C, Pan H, Godwin J, i sur. Long-term effects of continuing adjuvant tamoxifen to 10 years versus stopping at 5 years after diagnosis of oestrogen receptor-positive breast cancer: ATLAS, a randomised trial. *Lancet* 2013;381:805-16.
104. Richard GG, Daniel R, Kelly H, i sur. aTTom: Long-term effects of continuing adjuvant tamoxifen to 10 years versus stopping at 5 years in 6,953 women with early breast cancer. *J Clin Oncol* 2013;31:5-10.
105. Francis PA, Regan MM, Fleming GF. Adjuvant ovarian suppression in premenopausal breast cancer. *N Engl J Med* 2015;372:1673.
106. Pagni O, Regan MM, Walley BA, i sur. Adjuvant exemestane with ovarian suppression in premenopausal breast cancer. *N Engl J Med* 2014;371:107-18.
107. Francis PA, Pagni O, Fleming GF, i sur. Tailoring Adjuvant Endocrine Therapy for Premenopausal Breast Cancer. *N Engl J Med* 2018.
108. Kaufman B, Mackey JR, Clemens MR, i sur. Trastuzumab plus anastrozole versus anastrozole alone for the treatment of postmenopausal women with human epidermal growth factor receptor 2-positive, hormone receptor-positive metastatic breast cancer: results from the randomized phase III TAnDEM study. *J Clin Oncol* 2009;27:5529-37.

109. Coombes RC, Kilburn LS, Snowdon CF, i sur. Survival and safety of exemestane versus tamoxifen after 2-3 years' tamoxifen treatment (Intergroup Exemestane Study): a randomised controlled trial. *Lancet* 2007;369:559-70.
110. Boccardo F, Rubagotti A, Puntoni M, i sur. Switching to anastrozole versus continued tamoxifen treatment of early breast cancer: preliminary results of the Italian Tamoxifen Anastrozole Trial. *J Clin Oncol* 2005;23:5138-47.
111. Jonat W, Gnant M, Boccardo F, i sur. Effectiveness of switching from adjuvant tamoxifen to anastrozole in postmenopausal women with hormone-sensitive early-stage breast cancer: a meta-analysis. *Lancet Oncol* 2006;7:991-6.
112. Howell A, Cuzick J, Baum M, i sur. Results of the ATAC (Arimidex, Tamoxifen, Alone or in Combination) trial after completion of 5 years' adjuvant treatment for breast cancer. *Lancet* 2005;365:60-2.
113. Thurlimann B, Keshaviah A, Coates AS, i sur. A comparison of letrozole and tamoxifen in postmenopausal women with early breast cancer. *N Engl J Med* 2005;353:2747-57.
114. Goss PE, Ingle JN, Martino S, i sur. Randomized trial of letrozole following tamoxifen as extended adjuvant therapy in receptor-positive breast cancer: updated findings from NCIC CTG MA.17. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:1262-71.
115. Adjuvant bisphosphonate treatment in early breast cancer: meta-analyses of individual patient data from randomised trials. *Lancet* 2015;386:1353-61.
116. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 1987;235:177-82.
117. Cobleigh MA, Vogel CL, Tripathy D, i sur. Multinational study of the efficacy and safety of humanized anti-HER2 monoclonal antibody in women who have HER2-overexpressing metastatic breast cancer that has progressed after chemotherapy for metastatic disease. *J Clin Oncol* 1999;17:2639-48.
118. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, i sur. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med* 2001;344:783-92.
119. Marty M, Cognetti F, Maraninchi D, i sur. Randomized phase II trial of the efficacy and safety of trastuzumab combined with docetaxel in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer administered as first-line treatment: the M77001 study group. *J Clin Oncol* 2005;23:4265-74.
120. Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, i sur. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005;353:1659-72.
121. Romond EH, Perez EA, Bryant J, i sur. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005;353:1673-84.
122. Slamon D, Eiermann W, Robert N, i sur. Adjuvant trastuzumab in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med*;365:1273-83.
123. Perez EA, Suman VJ, Davidson NE, i sur. Sequential versus concurrent trastuzumab in adjuvant chemotherapy for breast cancer. *J Clin Oncol* 2014;29:4491-7.
124. Smith I, Procter M, Gelber RD, i sur. 2-year follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer: a randomised controlled trial. *Lancet* 2007;369:29-36.
125. Cameron D, Piccart-Gebhart MJ, Gelber RD, i sur. 11 years' follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive early breast cancer: final analysis of the HERceptin Adjuvant (HERA) trial. *Lancet* 2011;389:1195-205.
126. Slamon DJ, Eiermann W, Robert NJ, i sur. Abstract S5-04: Ten year follow-up of BCIRG-006 comparing doxorubicin plus cyclophosphamide followed by docetaxel (AC'T)

with doxorubicin plus cyclophosphamide followed by docetaxel and trastuzumab (AC'TH) with docetaxel, carboplatin and trastuzumab (TCH) in HER2+ early breast cancer 2015. S5-04 p.

127. Joensuu H, Bono P, Kataja V, i sur. Fluorouracil, epirubicin, and cyclophosphamide with either docetaxel or vinorelbine, with or without trastuzumab, as adjuvant treatments of breast cancer: final results of the FinHer Trial. *J Clin Oncol* 2009;27:5685-92.

128. Spielmann M, Roche H, Delozier T, i sur. Trastuzumab for patients with axillary-node-positive breast cancer: results of the FNCLCC-PACS 04 trial. *J Clin Oncol* 2009;27:6129-34.

129. Viani GA, Afonso SL, Stefano EJ, De Fendi LI, Soares FV. Adjuvant trastuzumab in the treatment of her-2-positive early breast cancer: a meta-analysis of published randomized trials. *BMC Cancer* 2007;7:153-60.

130. O'Sullivan CC, Bradbury I, Campbell C, i sur. Efficacy of Adjuvant Trastuzumab for Patients With Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Positive Early Breast Cancer and Tumors \leq 2 cm: A Meta-Analysis of the Randomized Trastuzumab Trials. *J Clin Oncol* 2015;33:2600-8.

131. Dahabreh IJ, Linardou H, Siannis F, Fountzilias G, Murray S. Trastuzumab in the adjuvant treatment of early-stage breast cancer: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Oncologist* 2008;13:620-30.

132. Yin W, Jiang Y, Shen Z, Shao Z, Lu J. Trastuzumab in the adjuvant treatment of HER2-positive early breast cancer patients: a meta-analysis of published randomized controlled trials. *PLoS One* 2011;6:e21030.

133. Moja L, Tagliabue L, Balduzzi S, i sur. Trastuzumab containing regimens for early breast cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2012:CD006243.

134. Pier Franco C, Giancarlo B, Antonio F, i sur. 9 weeks vs 1 year adjuvant trastuzumab in combination with chemotherapy: Results of the phase III multicentric Italian study Short-HER. *J Clin Oncol* 2018;35:501-16.

135. Joensuu H, Fraser J, Wildiers H, et al. Effect of adjuvant trastuzumab for a duration of 9 weeks vs 1 year with concomitant chemotherapy for early human epidermal growth factor receptor HER2 positive breast cancer: The sold randomized clinical trial. *JAMA Oncol* 2018.

136. Mavroudis D, on behalf of the Breast Cancer Investigators of the Hellenic Oncology Research Group AG, Saloustros E, i sur. Six versus 12 months of adjuvant trastuzumab in combination with dose-dense chemotherapy for women with HER2-positive breast cancer: a multicenter randomized study by the Hellenic Oncology Research Group (HORG). *Ann Oncol* 2015;26:1333-40.

137. Pivot X, Romieu G, Debled M, i sur. 6 months versus 12 months of adjuvant trastuzumab for patients with HER2-positive early breast cancer (PHARE): a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013;14:741-8.

138. Earl HM, Hiller L, Vallier EL, i sur. PERSEPHONE: 6 versus 12 months (m) of adjuvant trastuzumab in patients (pts) with HER2 positive (+) early breast cancer (EBC): Randomised phase 3 non-inferiority trial with definitive 4-year (yr) disease-free survival (DFS) results. *J Clin Oncol* 2018;36:506-11.

139. Tolaney SM, Barry WT, Dang CT, i sur. Adjuvant paclitaxel and trastuzumab for node-negative, HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2015;372:134-41.

140. Alvaro M-A, Eileen McCormick H, Christian J, i sur. Updated results from the phase III ALTTO trial (BIG 2-06; NCCTG (Alliance) N063D) comparing one year of anti-HER2 therapy with lapatinib alone (L), trastuzumab alone (T), their sequence (Tâ†'L) or their combination (L+T) in the adjuvant treatment of HER2-positive early breast cancer. *J Clin Oncol* 2017;35:502-10.

141. Slamon DJ, Swain SM, Buyse M, i sur. Abstract S1-03: Primary results from BETH, a phase 3 controlled study of adjuvant chemotherapy and trastuzumab bevacizumab in patients with HER2-positive, node-positive or high risk node-negative breast cancer 2013. S1-03 p.
142. Goss PE, Smith IE, O'Shaughnessy J, i sur. Adjuvant lapatinib for women with early-stage HER2-positive breast cancer: a randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013;14:88-96.
143. Chan A, Delaloge S, Holmes FA, i sur. Neratinib after trastuzumab-based adjuvant therapy in patients with HER2-positive breast cancer (ExteNET): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2016;17:367-77.
144. von Minckwitz G, Procter M, de Azambuja E, i sur. Adjuvant Pertuzumab and Trastuzumab in Early HER2-Positive Breast Cancer. *N Engl J Med* 2017;377:122-31.
145. Higgins MJ, Wolff AC. Therapeutic options in the management of metastatic breast cancer. *Oncology (Williston Park)* 2008;22:614-23; discussion 23, 27-9.
146. Bonnetterre J, Thurlimann B, Robertson JF, i sur. Anastrozole versus tamoxifen as first-line therapy for advanced breast cancer in 668 postmenopausal women: results of the Tamoxifen or Arimidex Randomized Group Efficacy and Tolerability study. *J Clin Oncol* 2000;18:3748-57.
147. Nabholz JM, Buzdar A, Pollak M, i sur. Anastrozole is superior to tamoxifen as first-line therapy for advanced breast cancer in postmenopausal women: results of a North American multicenter randomized trial. Arimidex Study Group. *J Clin Oncol* 2000;18:3758-67.
148. Paridaens RJ, Dirix LY, Beex LV, i sur. Phase III study comparing exemestane with tamoxifen as first-line hormonal treatment of metastatic breast cancer in postmenopausal women: the European Organisation for Research and Treatment of Cancer Breast Cancer Cooperative Group. *J Clin Oncol* 2008;26:4883-90.
149. Vergote I, Bonnetterre J, Thurlimann B, i sur. Randomised study of anastrozole versus tamoxifen as first-line therapy for advanced breast cancer in postmenopausal women. *Eur J Cancer* 2000;36 Suppl 4:84-5.
150. Gibson L, Lawrence D, Dawson C, Bliss J. Aromatase inhibitors for treatment of advanced breast cancer in postmenopausal women. *Cochrane Database Syst Rev* 2009:CD003370.
151. Robertson JF, Llombart-Cussac A, Rolski J, i sur. Activity of fulvestrant 500 mg versus anastrozole 1 mg as first-line treatment for advanced breast cancer: results from the FIRST study. *J Clin Oncol* 2009;27:4530-5.
152. Ellis MJ, Llombart-Cussac A, Feltl D, i sur. Fulvestrant 500 mg Versus Anastrozole 1 mg for the First-Line Treatment of Advanced Breast Cancer: Overall Survival Analysis From the Phase II FIRST Study. *J Clin Oncol* 2015;33:3781-7.
153. Robertson JFR, Bondarenko IM, Trishkina E, i sur. Fulvestrant 500 mg versus anastrozole 1 mg for hormone receptor-positive advanced breast cancer (FALCON): an international, randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet* 2016;388:2997-3005.
154. Yardley DA, Bosserman LD, O'Shaughnessy JA, i sur. Paclitaxel, bevacizumab, and everolimus/placebo as first-line treatment for patients with metastatic HER2-negative breast cancer: a randomized placebo-controlled phase II trial of the Sarah Cannon Research Institute. *Breast Cancer Res Treat* 2013;154:89-97.
155. Finn RS, Crown JP, Lang I, i sur. The cyclin-dependent kinase 4/6 inhibitor palbociclib in combination with letrozole versus letrozole alone as first-line treatment of oestrogen receptor-positive, HER2-negative, advanced breast cancer (PALOMA-1/TRIO-18): a randomised phase 2 study. *Lancet Oncol* 2014;16:25-35.
156. Finn RS, Martin M, Rugo HS, i sur. Palbociclib and Letrozole in Advanced Breast Cancer. *N Engl J Med* 2016;375:1925-36.

157. Hortobagyi GN, Stemmer SM, Burris HA, i sur. Ribociclib as First-Line Therapy for HR-Positive, Advanced Breast Cancer. *N Engl J Med* 2016;375:1738-48.
158. di Leo A TM, Campone M, Sohn J, Paluch-Shimon S. 236O_PR - MONARCH 3: Abemaciclib as initial therapy for patients with HR+/HER2- advanced breast cancer. *Ann Oncol* 2017;28 10.1093/annonc/mdx440:v605-v49.
159. Turner NC, Ro J, Andre F, i sur. Palbociclib in Hormone-Receptor Positive Advanced Breast Cancer. *N Engl J Med* 2017;373:209-19.
160. George W. Sledge, Jr., Masakazu T, Patrick N, i sur. MONARCH 2: Abemaciclib in Combination With Fulvestrant in Women With HR+/HER2⁺ Advanced Breast Cancer Who Had Progressed While Receiving Endocrine Therapy. *J Clin Oncol* 2017;0:JCO.2017.73.7585.
161. Carrick S, Parker S, Wilcken N, Ghersi D, Marzo M, Simes J. Single agent versus combination chemotherapy for metastatic breast cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2005:CD003372.
162. Gennari A, Stockler M, Puntoni M, i sur. Duration of chemotherapy for metastatic breast cancer: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *J Clin Oncol* 2011;29:2144-9.
163. Miles DW, Chan A, Dirix LY, i sur. Phase III study of bevacizumab plus docetaxel compared with placebo plus docetaxel for the first-line treatment of human epidermal growth factor receptor 2-negative metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:3239-47.
164. Robert NJ, Dieras V, Glaspy J, i sur. RIBBON-1: randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III trial of chemotherapy with or without bevacizumab for first-line treatment of human epidermal growth factor receptor 2-negative, locally recurrent or metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2009;29:1252-60.
165. Miller K, Wang M, Gralow J, i sur. Paclitaxel plus bevacizumab versus paclitaxel alone for metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2007;357:2666-76.
166. Valachis A, Polyzos NP, Patsopoulos NA, Georgoulas V, Mavroudis D, Mauri D. Bevacizumab in metastatic breast cancer: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Breast Cancer Res Treat* 2010;122:1-7.
167. Vrdoljak E, Marschner N, Zielinski C, i sur. Final results of the TANIA randomised phase III trial of bevacizumab after progression on first-line bevacizumab therapy for HER2-negative locally recurrent/metastatic breast cancer. *Ann Oncol* 2016;27:2046-52.
168. Khosravi-Shahi P, Cabezon-Gutierrez L, Custodio-Cabello S. Metastatic triple negative breast cancer: Optimizing treatment options, new and emerging targeted therapies. *Asia Pac J Clin Oncol*;14:32-9.
169. Harbeck N, Beckmann MW, Rody A, i sur. HER2 Dimerization Inhibitor Pertuzumab - Mode of Action and Clinical Data in Breast Cancer. *Breast Care (Basel)* 2013;8:49-55.
170. Baselga J, Cortes J, Kim SB, i sur. Pertuzumab plus trastuzumab plus docetaxel for metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2012;366:109-19.
171. Swain SM, Baselga J, Kim SB, i sur. Pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel in HER2-positive metastatic breast cancer. *N Engl J Med*;372:724-34.
172. Verma S, Miles D, Gianni L, i sur. Trastuzumab emtansine for HER2-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med* 2012;367:1783-91.
173. Conte PF, Latreille J, Mauriac L, i sur. Delay in progression of bone metastases in breast cancer patients treated with intravenous pamidronate: results from a multinational randomized controlled trial. The Aredia Multinational Cooperative Group. *J Clin Oncol* 1996;14:2552-9.
174. Rosen LS, Gordon D, Kaminski M, i sur. Zoledronic acid versus pamidronate in the treatment of skeletal metastases in patients with breast cancer or osteolytic lesions of multiple myeloma: a phase III, double-blind, comparative trial. *Cancer J* 2001;7:377-87.

175. Rosen LS, Gordon DH, Dugan W, Jr., i sur. Zoledronic acid is superior to pamidronate for the treatment of bone metastases in breast carcinoma patients with at least one osteolytic lesion. *Cancer* 2004;100:36-43.
176. Stopeck AT, Lipton A, Body JJ, i sur. Denosumab compared with zoledronic acid for the treatment of bone metastases in patients with advanced breast cancer: a randomized, double-blind study. *J Clin Oncol* 2010;28:5132-9.
177. Guarneri V, Frassoldati A, Bruzzi P, i sur. Multicentric, randomized phase III trial of two different adjuvant chemotherapy regimens plus three versus twelve months of trastuzumab in patients with HER2- positive breast cancer (Short-HER Trial; NCT00629278). *Clin Breast Cancer* 2008;8:453-6.
178. Templeton AJ, Vera-Badillo FE, Wang L, i sur. Translating clinical trials to clinical practice: outcomes of men with metastatic castration resistant prostate cancer treated with docetaxel and prednisone in and out of clinical trials. *Ann Oncol*;24:2972-7.
179. Sargent D. What constitutes reasonable evidence of efficacy and effectiveness to guide oncology treatment decisions? *Oncologist* 2010;15 Suppl 1:19-23.
180. George SL. Reducing patient eligibility criteria in cancer clinical trials. *J Clin Oncol* 1996;14:1364-70.
181. Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, i sur. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol*;31:3997-4013.
182. Arpino G, Michelotti A, Truini M, i sur. Demographic, tumor and clinical features of clinical trials versus clinical practice patients with HER2-positive early breast cancer: results of a prospective study. *J Canc Res Clin Oncol* 2015;142:669-78.
183. Vici P, Pizzuti L, Natoli C, i sur. Outcomes of HER2-positive early breast cancer patients in the pre-trastuzumab and trastuzumab eras: a real-world multicenter observational analysis. The RETROHER study. *Breast Cancer Res Treat* 2014;147:599-607.
184. Seal MD, Speers CH, O'Reilly S, Gelmon KA, Ellard SL, Chia SK. Outcomes of women with early-stage breast cancer receiving adjuvant trastuzumab. *Curr Oncol* 2012;19:197-201.
185. Matos E, Zakotnik B, Kuhar CG. Effectiveness of adjuvant trastuzumab in daily clinical practice. *Radiol Oncol* 2014;48:403-7.
186. Dall P, Koch T, Gähler T, i sur. Trastuzumab in Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Positive Early Breast Cancer: Results of a Prospective, Noninterventional Study on Routine Treatment Between 2006 and 2012 in Germany. *The Oncologist* 2016;22:131-8.
187. Seferina SC, Lobbezoo DJA, de Boer M, i sur. Real-Life Use and Effectiveness of Adjuvant Trastuzumab in Early Breast Cancer Patients: A Study of the Southeast Netherlands Breast Cancer Consortium. *The Oncologist* 2015;20:856-63.

10. ŽIVOTOPIS

Osobni podatci:

Ime i prezime: Marija Ban, dr. med., spec. radioterapije i onkologije

Kućna adresa: Ulica Brune Bušića 5, 21000 Split, Republika Hrvatska

Telefon/Fax: +385 (0)21/536 796 / +385 (0)98/169 42 23

E-mail: ajiramm@net.hr

Datum i mjesto rođenja: 2. siječnja 1979., Split, Republika Hrvatska

Državljanstvo: hrvatsko

Nacionalnost: Hrvatica

Radna adresa: Klinika za onkologiju i radioterapiju

Klinički bolnički centar "Split"

Spinčićeva ulica 1, 21000 Split, Republika Hrvatska

Telefon: +385 (0)21/556 639

Obrazovanje, akademski stupnjevi i aktivnosti:

- Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, 2004.
- 2005. – 2008. rad u Domu zdravlja kao obiteljski liječnik
- 2008. – 2012. specijalizacija radioterapije i onkologije u Klinici za onkologiju i radioterapiju KBC-a Split
- 2009. – 2011. stručni poslijediplomski studij „Klinička onkologija“ na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu
- 2010. – 2013. doktorski poslijediplomski studij „Biologija novotvorina“ na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Splitu
- 2012. – danas, specijalist onkologije i radioterapije, Klinika za onkologiju i radioterapiju KBC-a Split
- 2013. – danas, asistent na Katedri za Kliničku onkologiju na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Splitu

Područje užeg interesa:

- Rak dojke
- Tumori probavnog sustava
- Tumori mekih tkiva

Članstva i funkcije u znanstvenim i strukovnim organizacijama:

- Hrvatsko onkološko društvo
- Hrvatska udruga za promicanje kliničkih istraživanja u onkologiji – tajnica
- Hrvatska liječnička komora
- Hrvatski liječnički zbor

Radovi koji se citiraju u indeksnim publikacijama:

1. Vrdoljak E, Boban M, **Ban M**. Jesu li nam potrebni centri za rak dojke? *Med Jad* 2011;41 (3-4):171-175.
2. Vrdoljak E, Boban M, **Ban M**. Lapatinib in the treatment of HER-2 overexpressing breast cancer. *Journal of BUON* 2011;16:393-399.
3. Matković V, Haller H, Vrdoljak E, Čorušić A, Boraska Jelavić T, Strinić T, Karnjuš Begonja R, Barišić D, Tomić S, Kukura V, **Ban M**, i ostali. Kliničke upute za dijagnozu, liječenje i praćenje bolesnica oboljelih od raka jajnika. *Liječ Vijesn* 2013;135:235-241.
4. Karnjuš Begonja R, Vrdoljak E, Čorušić A, Haller H, Boraska Jelavić T, Matković V, Strinić T, Barišić D, Tomić S, Kukura V, **Ban M** i ostali. Kliničke upute za dijagnozu, liječenje i praćenje bolesnica oboljelih od raka maternice. *Liječ Vijesn* 2013;135:230-234.
5. Jelavić TB, Miše BP, Strikic A, **Ban M**, Vrdoljak E. Adjuvant chemotherapy in locally advanced cervical cancer after treatment with concomitant chemoradiotherapy – room for improvement? *Anticancer Res.* 2015 Jul;35(7):4161-5.
6. Bišof V, Juretić A, Trivanović D, Dintinjana RD, Šarčević B, Jakić-Razumović J, **Ban M**, Bošković L, Mise B-, Bura M, Stančić-Rokotov D. Clinical recommendations for diagnosis treatment and monitoring of patients with cancer of unknown primary site. *Lijec Vjesn.* 2015 Mar-Apr;137(3-4):65-9
7. Šeparović R, **Ban M**, Silovska T, Oresković LB, Soldić Ž, Podolski P, Pleština S, Gugić D, Petković M, Jakić-Razumović J, Vojnović Z, Miše BP, Tomić S, Stanec Z, Vrdoljak DV, Drinković I, Brkljačić B, Mustač E, Utrobičić I, Vrdoljak E; Clinical guidelines for diagnosis, treatment and monitoring of of patients with invasive breast cancer - CROATIAN ONCOLOGY SOCIETY. *Lijec Vjesn.* 2015 May-Jun;137(5-6):143-9. Croatian
8. **Ban M**, Viculin J, Tomic S, Capkun V, Strikic A, Mise BP, Utrobicic I, Vrdoljak E. Retrospective analysis of efficacy of trastuzumab in adjuvant treatment of HER 2 positive early breast cancer - single institution experience. *Neoplasma.* 2016;63(5):761-7. doi: 10.4149/neo_2016_513
9. Bošković L, Gašparić M, Petrić Miše B, Petković M, Gugić D, **Ban M**, Jazvić M, Dabelić N, Belac Lovasić I, Vrdoljak E. Optimisation of breast cancer patients' follow-up – potential way to improve cancer care in transitional countries *Eur J Cancer Care* 2017. e12514, doi: [10.1111/ecc.12514](https://doi.org/10.1111/ecc.12514)
10. **Ban M**, Miše BP, Majić A, Dražić I, Vrdoljak E. Efficacy and safety of palbociclib in heavily pretreated patients with HR+/HER2- metastatic breast cancer. *Future Oncol.* 2018;14(6):537-544

Publicirani radovi u ostalim časopisima:

1. Vrdoljak E, Bošković L, Petrić Miše B, Boraska Jelavić T, Viculin J, Strikić A, **Ban M.** News in oncological treatment. Medix, 2012.(100)179-187.

Sudjelovanje u pisanju medicinskih knjiga:

1. Vrdoljak E, Šamija M, Kusić Z, Petković M, Gugić D, Krajina Z. Klinička Onkologija. Medicinska naklada, Zagreb, 2018.
2. Vrdoljak E, Šamija M, Kusić Z, Petković M, Gugić D, Krajina Z. Klinička Onkologija. Medicinska naklada, Zagreb, 2013.
3. Vrdoljak E, **Ban M.** Malignancies and intensive care medicine. Monduzzi Editore 2009.

Kongresni sažetci:

1. Vrdoljak E, Berić Jozić G, Bošković L, **Ban M.** Suvremeno sustavno i lokalno liječenje metastatskog raka dojke. Zbornik radova 19. Znanstvenog sastanka o bolestima dojke. 2009; 65-91.
2. Vrdoljak E, Berić Jozić G, Bošković L, **Ban M.** Perspektive sustavnog liječenja raka dojke – individualizirana ciljana terapija. Zbornik radova 20. Znanstvenog sastanka o bolestima dojke. 2010;35-48.
3. Vrdoljak E, **Ban M.** Jesu li nam potrebni centri za rak dojke kao središta izvrsnosti za dijagnostiku i liječenje. Zbornik radova 21. Znanstvenog sastanka o bolestima dojke. 2011;43-51.
4. Vrdoljak E, **Ban M.** Da li je kombinacija kemoterapije i imunoterapije nova paradigma u liječenju raka dojke? Zbornik radova 23. Znanstvenog sastanka o bolestima dojke. 2013;107-114.
5. Vrdoljak E, Viculin J, Strikić A, Hrepić D, **Ban M.** Single institution experience in adjuvant treatment of HER 2 positive breast cancer patients. CEOC 2013. Opatija 14.-18.6.2013.
6. Vrdoljak E, **Ban M.** Potporno liječenje raka dojke – kada specifično liječenje a kada palijativna skrb? Zbornik radova 24. Znanstvenog sastanka o bolestima dojke. 2014: 89-99.
7. Vrdoljak E, **Ban M.** Imunoterapija metastatskog raka dojke u Hrvatskoj i u svijetu – „revolucija“ u onkološkom liječenju na djelu. Zbornik radova 25. Znanstvenog sastanka o bolestima dojke. 2015.
8. Vrdoljak E, **Ban M.** Liječenje trostruko negativnog raka dojke – trenutni standard liječenja I nadolazeći lijekovi. Zbornik radova 26. Znanstvenog sastanka o bolestima dojke. 2016.
9. Vrdoljak E, **Ban M.** Uloga androgenih receptora kod hormonski ovisnog i hormonski neovisnog raka dojke. Zbornik radova 27. Znanstvenog sastanka o bolestima dojke. 2017.
10. **Ban M,** Dražić I, Buljubašić M, Bajić Ž, Petrić Miše B, Strikić A, Božić M, Ledina D, Vrdoljak E. Differences in overall survival of primary and secondary metastatic breast cancer patients: a retrospective cohort study. CEOC, Opatija, 2018.
11. **Ban M,** Dražić I, Buljubašić M, Bajić Ž, Petrić Miše B, Strikić A, Božić M, Ledina D, Vrdoljak E. Correlation of the progression free survival after 1st line treatment with overall survival changes in metastatic breast cancer: a retrospective cohort study. CEOC, Opatija, 2018.