

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

TEJA MUSIZZA

**VREDNOTENJE UČINKOVITOSTI ZDRAVLJENJA BOLNIK S HER2-
POZITIVNIM RAKOM DOJKE S TRASTUZUMABOM**

**EVALUATION OF EFFICACY OF TREATMENT WITH TRASTUZUMAB IN
PATIENTS WITH HER2 POSITIVE BREAST CANCER**

DIPLOMSKA NALOGA

Ljubljana, 2010

Diplomsko delo sem opravljala na Onkološkem inštitutu Ljubljana pod mentorstvom prof. dr. Aleša Mrharja, mag. farm. in somentorstvom Monike Sonc, mag. farm. spec.

Zahvala

Prisrčna hvala mojemu mentorju prof. Alešu Mrharju in somentorici Moniki Sonc za vso potrpežljivost, spodbude in pomoč. Hvala dr. Eriki Matos za vse skupne sestanke ter omogočanje nemotenega dela na Onkološkem Inštitutu. Iskrena hvala tudi Mojci Šelih za ves njen čas in nepogrešljivo pomoč, za posredovanje znanja in za nasvete. Hvala asistentu Marku Obradoviću za inštrukcije iz statistike. Hvala še vsem, ki so kakorkoli pomagali pri nastajanju te diplome, zlasti pa mojim domačim, prijateljem in Markotu. Hvala, da ste verjeli vame in me spodbujali. Bogu hvala za vse!

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo samostojno izdelala pod vodstvom mentorja prof. dr. Aleša Mrharja, mag. farm. in somentorice Monike Sonc, mag. farm. spec.

Teja Musizza

Ljubljana, maj 2010

Predsednik diplomske komisije: prof. dr. Joško Osredkar, mag. farm.

Član diplomske komisije: doc. dr. Jožko Cesar, mag. farm.

VSEBINA

VSEBINA	i
POVZETEK	iii
ABSTRACT	iv
SEZNAM OKRAJŠAV	v
1 UVOD	1
1.1 Rak dojk.....	1
1.1.1 HER2 pozitivni rak dojk	3
1.2 Odkrivanje, diagnostika in potek zdravljenja	4
1.2.1 Odkrivanje raka dojk	4
1.2.2 Diagnostične preiskave	4
1.2.3 Potek zdravljenja.....	10
1.3 Trastuzumab	14
1.3.1 Farmakodinamika	16
1.3.2 Farmakokinetika	18
1.3.3 Neželeni učinki	19
1.3.4 Interakcije z drugimi zdravili	20
2 NAMEN DELA	21
3 MATERIALI IN METODE DELA	22
3.1 Projekt eHER2	22
4 REZULTATI.....	28
4.1 Število sodelujočih bolnikov.....	28
4.2 Osnovni podatki	28
4.2.1 Status bolnic.....	28
4.2.2 Histopatološke značilnosti bolnic.....	31
4.3 Vrste dopolnilnega zdravljenja.....	35
4.3.1 Sheme zdravljenja s citostatiki	35
4.3.2 Druge učinkovine	35
4.3.3 Hormonsko zdravljenje.....	36
4.3.4 Kombinacije zdravljenja sočasno s trastuzumabom	36
4.3.5 Obsevanje	37

4.4	Trastuzumab	37
4.4.1	<i>Režim odmerjanja trastuzumaba.....</i>	37
4.4.2	<i>Trajanje zdravljenja s trastuzumabom.....</i>	38
4.4.3	<i>Celokupni in povprečni odmerek trastuzumaba.....</i>	42
4.4.4	<i>Neželeni učinki – kardiotsičnost</i>	43
4.4.5	<i>Drugi neželeni dogodki.....</i>	46
4.5	Preživetje brez bolezni.....	49
4.5.1	<i>Prosti interval.....</i>	49
4.5.2	<i>Krivulje preživetja brez bolezni</i>	50
4.5.3	<i>Coxova regresija</i>	57
5	RAZPRAVA.....	60
6	SKLEP	66
7	LITERATURA	68

POVZETEK

Trastuzumab je humanizirano monoklonsko protitelo proti HER2-receptorjem, ki so čezmerno izraženi pri približno 20–30 % tumorjev dojk in so povezani z agresivnejšo obliko bolezni. Njegov doprinos k preživetju so potrdili v številnih kliničnih raziskavah pri metastatski bolezni in nato še v dopolnilnem zdravljenju. Trastuzumab se v Sloveniji v rutinski klinični praksi uporablja za zdravljenje metastatske bolezni od leta 2001, po objavi podatkov raziskav v dopolnilnem zdravljenju pa tudi za zdravljenje zgodnjega raka dojk od avgusta 2005 naprej.

V diplomski nalogi smo izvedli raziskavo na 199 slovenskih bolnicah s HER2-pozitivnim zgodnjim rakom dojk, ki so bile zdravljene s trastuzumabom na Onkološkem inštitutu Ljubljana med letoma 2005 in 2008. Namen je bil preveriti učinkovitost in varnost zdravljenja s trastuzumabom s poudarkom na kardiotsičnosti. Delo je potekalo v okviru projekta Evidenca zdravljenja bolnic s HER2 pozitivnim rakom dojk (eHER2). Podatke iz kartotek bolnic in iz spletne baze podatkov Web Doctor smo vnašali v elektronsko podatkovno bazo eHER2. V sodelovanju z Inštitutom za biostatistiko in medicinsko informatiko v Ljubljani smo izvedli retrospektivno statistično analizo, podrobneje pa smo obravnavali preživetje brez bolezni ter vpliv različnih napovednih dejavnikov nanj s pomočjo metode Kaplan-Meier in Coxove regresije.

Dobljeni rezultati so bili primerljivi z rezultati drugih mednarodnih adjuvantnih kliničnih raziskav, le da je bilo preživetje brez bolezni nekoliko slabše, predvsem na račun večjega deleža bolnic s slabšo prognozo v našem vzorcu (v povprečju večji tumorji in število prizadetih bezgavk ob postavitvi diagnoze). V primerjavi z raziskavo iz leta 2008 na slovenskih bolnicah iz obdobja pred dopolnilnim zdravljenjem s trastuzumabom je bilo preživetje brez bolezni po 1,5 leta boljše za 7,5 % (absolutna vrednost). S tem smo potrdili učinkovitost dopolnilnega zdravljenja s trastuzumabom. Potrdili smo tudi pomen drugih napovednih dejavnikov poteka bolezni. Preživetje je bilo po pričakovanjih slabše pri bolnicah s prizadetimi bezgavkami, z večjimi tumorji ter s prisotno vaskularno in perinevralno invazijo. Pri evalvaciji spremljanja kardiotsičnosti trastuzumaba smo ugotovili, da so pri več kot polovici bolnic merili srčno funkcijo manj pogosto kot v priporočilih (1- do 3-krat tekom zdravljenja). Pri petih bolnicah je tekom zdravljenja prišlo do znižanja iztisnega deleža levega prekata ali znakov srčnega popuščanja. Pri štirih bolnicah (2,01 %) je bilo zdravljenje s trastuzumabom zaradi kardiotsičnosti ukinjeno.

ABSTRACT

Trastuzumab is a humanized monoclonal antibody against HER2 receptors which are over expressed in approximately 20-30 % of breast tumours and are associated with the more aggressive form of the disease. Its contribution to improvement of survival has been confirmed in numerous clinical trials in the metastatic as well as in the adjuvant setting. In Slovenia trastuzumab has been used in routine clinical practice for the treatment of metastatic breast cancer since 2001 and after publication of adjuvant trials, also for the treatment of early breast cancer since August 2005.

In the graduation thesis we conducted a study on 199 Slovenian patients with HER2 positive early breast cancer, who were treated with trastuzumab at the Institute of Oncology Ljubljana between 2005 and 2008. Objective of the study was to evaluate efficacy and safety of treatment with trastuzumab with emphasis on cardiotoxicity. Research was carried out within the scope of the project Evaluation of Treatment of Patients with HER2 Positive Breast Cancer (eHER2). We entered patient data from Web Doctor database and from patient records into an electronic database eHER2. A retrospective statistical analysis was conducted in cooperation with the Institute for Biostatistics and Medical Informatics in Ljubljana and a thorough analysis of the disease free survival (DFS) and the influence of different prognostic factors on the DFS using Kaplan-Meier method and Cox' regression.

The results obtained were comparable with the results of larger international adjuvant clinical trials. Disease free survival was slightly lower mainly due to higher percentage of patients with poor prognosis in the observed population (larger tumor size, number of involved lymph nodes at the time of diagnosis). In comparison with the retrospective study conducted in 2008 on Slovenian patients prior to adjuvant trastuzumab treatment we found 7,5 % absolute difference in 1,5 year disease free survival rate, thus confirming the efficacy of adjuvant trastuzumab treatment. We have also confirmed prognostic value of other factors; disease free survival was, as expected, lower in patients with positive lymph nodes, larger tumors and in patients with vascular and perineural invasion. Evaluating monitoring of cardiotoxicity of trastuzumab we found that more than a half of patients had less frequent heart monitoring as recommended (one to three measurements throughout the whole treatment). LVEF drop and symptoms of heart failure were found in five patients. Trastuzumab treatment was discontinued in four patients (2,01 %) due to cardiotoxicity.

SEZNAM OKRAJŠAV

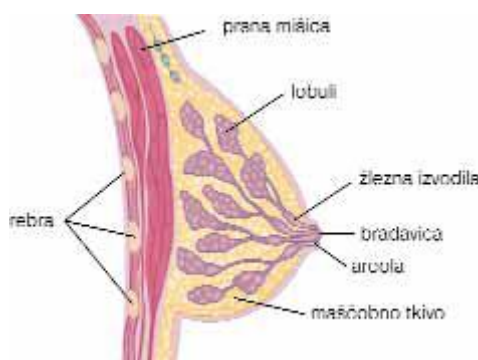
5-FU	5-fluorouracil
ABTI	aspiracijska biopsija s tanko iglo
ADCC	antibody-dependent cellular cytotoxicity (od protiteles odvisna celično posredovana citotoksičnost)
AI	aromatazni inhibitor
ALTTO	Adjuvant Lapatinib and/or Trastuzumab Treatment Optimisation Study
ASCO	American Society of Clinical Oncology
AT	doksorubicin, docetaksel
AUC	area under the curve (površina pod krivuljo plazemske koncentracije)
BCIRG 006	Breast Cancer International Research Group 006 Trial
BOOP	Bronchiolitis obliterans organizirana pljučnica
CAP	College of American Pathologists
CDK	od ciklina odvisne kinaze
CHO	chinese hamster ovary cells (ovarijske celice kitajskega hrčka)
CMF	ciklofosamid, metotreksat, 5-fluorouracil
CT	ciklofosamid, docetaksel
CTCAE v3.0	Common Toxicity Criteria for Adverse Events, version 3.0
DCIS	duktalni karcinom <i>in situ</i>
DIP	debeloigelna punkcija
DNK	deoksiribonukleinska kislina
AC	doksorubicin, ciklofosamid
EC	epirubicin, ciklofosamid
ECD	ekstracelularna domena
EGFR	receptor za epidermalni rastni dejavnik
eHER2	Evidenca zdravljenja bolnic s HER2-pozitivnim rakom dojk
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (encimskoimunski test)
ER	estrogenski receptorji
ErbB2	protein, ki je del družine receptorjev epidermalnih rastnih dejavnikov, kratica erbB2 izvira iz podobnosti z »v-erb-b2 erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 2, neuro/glioblastoma derived oncogene homolog (avian)« (sinonim za HER2)

FAC	5-fluorouracil, doksorubicin, ciklofosfamid
FEC	5-fluorouracil, epirubicin, ciklofosfamid
FISH	fluorescentna hibridizacija <i>in situ</i>
HER2	receptor za humani epidermalni rastni dejavnik 2
HERA	The Herceptin Adjuvant (Breast International Group [BIG] 01-01) Trial
HR	hormonski receptorji
HT	hormonsko zdravljenje
IBMI	Inštitut za biostatistiko in medicinsko informatiko
IDC	invazivni duktalni karcinom
IGF-IR	receptor za inzulinu podoben rastni dejavnik tipa 1
IgG	imunoglobulin G (protitelo)
IHC	imunohistokemična metoda
ILC	invazivni lobularni karcinom
IZ	interval zaupanja
LCIS	lobularni karcinom <i>in situ</i>
LHRH	luteinizirajoči hormon sproščujoči hormon
LVEF	left ventricular ejection fraction (iztisni delež levega ventrikla)
MedDRA	Medical Dictionary for Regulatory Activities
MRM	modificirana radikalna mastektomija
MUGA	multigated acquisition scan (radioizotopna ventrikulografija)
muMAb	murinsko (mišje) protitelo
NCCTG N9831	North Central Cancer Treatment Group N9831 Trial
NSABP B-31	National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-31 Trial
RO	razmerje ogroženosti
P	paklitaksel
PR	progesteronski receptorji
SAE	Serious Adverse Event (resni neželeni dogodek)
SERM	selektivni modulatorji estrogenskih receptorjev
SmPC	povzetek glavnih značilnosti zdravila
TAC	docetaksel, doksorubicin, ciklofosfamid
TC	docetaksel, karboplatin
TCH	docetaksel, karboplatin, trastuzumab
UZ	ultrazvok (preiskava srčne funkcije z ultrazvokom)

1 UVOD

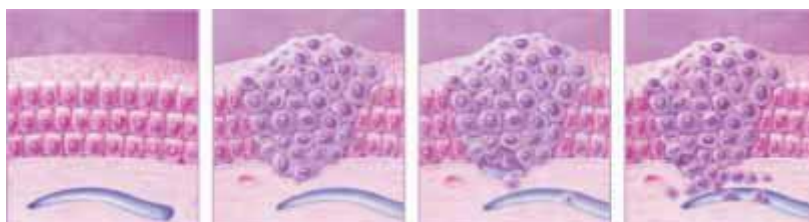
1.1 Rak dojk

Zgradba dojke. Dojka leži na veliki prsni mišici in sega od ključnice navzdol do šestega ali sedmega rebra ter od prsnice do pazduhe. Je parni organ, ki ga sestavljajo mlečne žleze (mikroskopsko drobni žlezni mešički, ki so urejeni v režnjiče – lobule, iz njih pa izhajajo izvodila – duktusi, ki vodijo proti prsni bradavici, okrog katere je temneje pigmentiran kolobar kože – areola). Lobuli in duktusi sestojijo iz celic vrhnjice (epitelnih celic), prostor med njimi pa izpolnjuje oporno tkivo – stroma iz maščevja in veziva, v katerem potekajo meazgovnice, žile in živci. Včasih v stromi najdemo tudi limfatično tkivo. Lobule in duktuse od strome loči poseben sloj, ki ga imenujemo bazalna membrana. (1, 2)



Slika 1: Zgradba dojke. (1)

Nastanek raka dojke. Izraz rak dojke zaobjema več različnih malignih bolezni, katerim pa je skupna nenadzorovana delitev in razrast spremenjenih, rakavih celic. Le-te se lahko vraščajo v okoliška tkiva in jih okvarjajo, pogosto, zlasti v napredovali bolezni, pa prodrejo v limfni in krvni obtok ter tako dosežejo oddaljene organe. Tam nastajajo novi tumorji, tako imenovani zasevki ali metastaze.



Slika 2: Razvoj raka dojke. (1)

Rak dojk najpogosteje vznikne v epitelnih strukturah, to je v duktusih in lobulih. To vrsto raka imenujemo **karcinom**. V najzgodnejšem obdobju rakave celice od veziva (strome) dojke loči bazalna membrana. To obliko imenujemo **neinvazivni karcinom** ali **karcinom in situ**. O **invazivnem karcinomu** govorimo takrat, ko so rakave celice že predrle bazalno membrano in se lahko širijo v okoliška tkiva dojke.

Najpogostejši histološki tipi karcinomov dojk.

- **Duktalni karcinom in situ – DCIS** (intraduktalni karcinom) je najzgodnejša oblika karcinoma dojk (stadij 0): karcinom je omejen na duktuse. Ta oblika praviloma ne tvori tipljivega tumorja, odkrijemo ga z mamografijo. Ozdravimo ga skoraj stoodstotno, brez ustreznega zdravljenja pa se prej ali slej razvije v invazivni karcinom.

- **Lobularni karcinom in situ – LCIS** je mikroskopska sprememba, pri kateri v lobulih najdemo nenormalne celice. Iz njih se le redko neposredno razvije invazivni karcinom, vendar imajo ženske, pri katerih je bil diagnosticiran lobularni karcinom in situ, bistveno večje tveganje, da bodo v prihodnosti dobile invazivni karcinom bodisi v isti ali drugi dojki.

- **Invazivni duktalni karcinom – IDC** je karcinom, ki je vzniknil v mlečnih izvodilih in že prodril v stromo dojke, od koder se lahko po limfi in krvi razširi v druge organe. Invazivni duktalni karcinom je najpogostejša vrsta raka dojk, saj je v tej kategoriji 70 do 80 odstotkov vseh malignih tumorjev dojk.

- **Invazivni lobularni karcinom – ILC** je karcinom, ki je vzniknil v lobulih in se razširil v stromo dojke. Podobno kot invazivni duktalni karcinom se lahko razširi v druge organe. V to kategorijo sodi 10 do 15 odstotkov malignih tumorjev dojk.

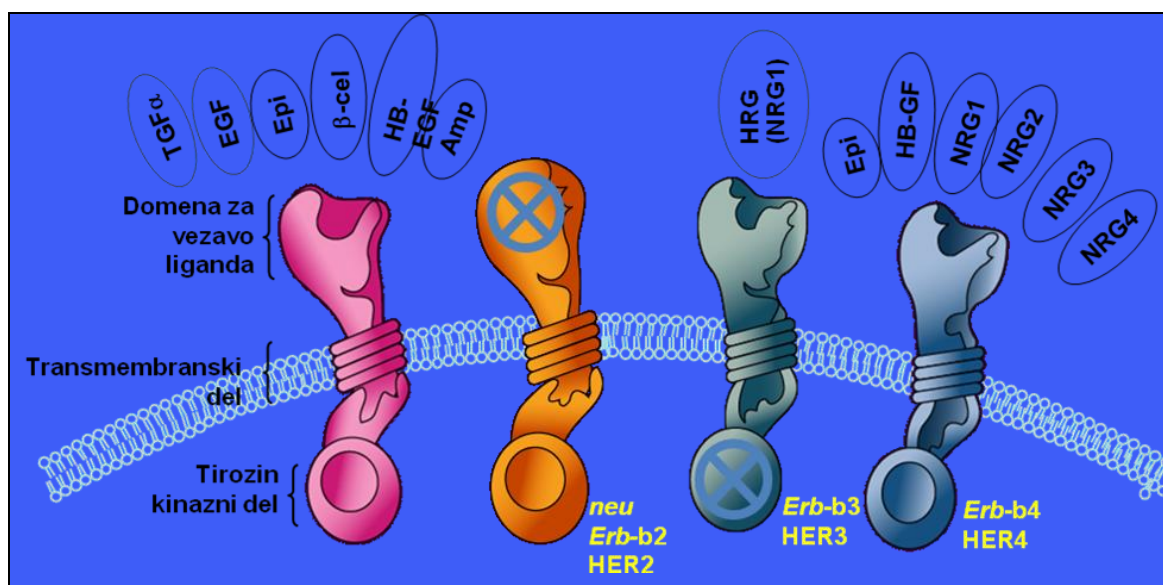
Redkejšje vrste invazivnega raka dojk so še: medularni, mucinozni, papilarni in vnetni rak.

Še redkejšje so nekatere vrste raka, ki ne vzniknejo iz epitelnih celic. Iz celic strome se lahko razvijejo **sarkomi**, iz limfatičnega tkiva pa **maligni limfomi**.

O **zgodnjem (operabilnem) raku dojk** govorimo, kadar je tumor omejen na primarno mesto nastanka oz. so prizadete zgolj istostranske pazdušne bezgavke. Za **lokalno napredovali rak dojk** je značilen velik tumor (>5 cm), ki lahko vrašča v okoliška tkiva, ali pa se je močno razširil na pazdušne ali druge bezgavke. Posebna oblika lokalno napredovalega raka dojke je vnetni rak dojk. V primeru, da so prisotni oddaljeni zasevki, pa govorimo o **metastatskem raku dojk**.

1.1.1 HER2 pozitivni rak dojk

Na celični membrani in v notranjosti tumorskih celic so različni proteini, vključeni v signalne poti, ki nadzorujejo celično rast in razmnoževanje. Takšno vlogo imajo tudi humani ErbB- ali HER-receptorji, ki so transmembranski glikoproteini in spadajo v družino tirozinkinaz. Predstavniki so HER1 (imenovan tudi EGFR – receptor za epidermalni rastni faktor), HER2, HER3 in HER4. (6)



Slika 3: Predstavniki HER-receptorjev in njihovi ligandi (vir: prezentacija, ASCO 2005).

Receptorji ErbB začnejo in uravnavajo signalni kaskadni sistem v citoplazmi. Po vezavi liganda pride najprej do dimerizacije (nekovalentna povezava dveh enakih ali različnih tipov receptorjev ErbB), ki sproži intrinzično tirozinkinazno aktivnost.

HER2-receptor (185 kDa) nima lastnega liganda, je pa preferenčni heterodimerni partner ostalih ErbB-receptorjev. Z dimerizacijo s HER3 tvori najaktivnejši dimer, ki sproži v celici ključne signalne poti, ki spodbujajo delitev in transformacijo celice. Stimulacija teh receptorjev je torej povezana tudi z nenadzorovano rastjo, nesmrtnostjo, invazivnostjo in metastaziranjem spremenjenih tumorskih celic. (6)

Receptorji HER2 se čezmerno izražajo pri 20–30 % bolnic z rakom na dojk in so povezani s slabšo prognozo. Normalna celica ima na svoji površini ok. 20.000 HER2-proteinov, HER2-pozitivna tumorska celica pa kar 2.000.000. Gen HER2 je protoonkogen na kromosomu 17, v primeru HER2-pozitivnega raka dojk je ta gen pomnožen.

HER2-pozitivni tumorji so agresivnejši in so navadno ob odkritju bolezni večji v primerjavi s HER2-negativnimi tumorji, pogosteje so že prizadete pazdušne bezgavke, čas do ponovitve bolezni pa je bil pri bolnicah brez dopolnilne tarčne terapije krajši. (10) Pogosteje zasevajo v možgane in jetra. HER2-pozitivni tumorji naj bi bili občutljivejši na antracikline, učinkovitost hormonskega zdravljenja pa naj bi bila manjša (hormonsko odvisnih je približno 50 % HER2-pozitivnih rakov dojk). (10)

1.2 Odkrivanje, diagnostika in potek zdravljenja

1.2.1 Odkrivanje raka dojk

Veliko zatrdlin, za katere se po opravljenih preiskavah izkaže, da so rakave, odkrijejo ženske same s samopregledovanjem. Najpogostejši znak je zatrdlina, ki ne boli, se ne spreminja z menstruacijskim ciklom, je ves čas na istem mestu v dojki in raste. Z rednim mesečnim pregledovanjem dojk je mogoče zatipati zatrdlino v velikosti 1–2 cm. Drugi, manj pogosti znaki so uvlečena bradavica, ranica na bradavici ali ekcemu podobno spremenjena koža kolobarja ob bradavici, krvav izcedek iz bradavice, omejena rdečina kože ali cela pordela dojka.

Pomembna preiskava za zgodnje odkrivanje raka dojk je mamografija, ki lahko zasledí raka, ko je še netipen. Več raziskav je pokazalo, da redna mamografija po 50. letu zmanjša umrljivost za rakom dojk za okrog 30 odstotkov. Večina evropskih držav priporoča, da naj bi ženske v tej starosti hodile na mamografijo vsako drugo leto in jih tudi organizirano vabijo na preglede v okviru presejalnih programov. (1, 5)

1.2.2 Diagnostične preiskave

Pravilen diagnostični postopek obsega anamnezo (še posebej onkološka družinska anamneza in ginekološka anamneza) in t. i. trojno diagnostiko, ki obsega klinični pregled, slikovno diagnostiko in patomorfološko diagnostiko. (7)

Cilji diagnostičnih postopkov so:

- potrditev diagnoze
- opredelitev razširjenosti bolezni
- določitev patohistoloških značilnosti tumorja
- pomoč pri načrtovanju zdravljenja

Pri kliničnem pregledu smo pozorni na morebitna zunanja vidna znamenja, sumljiva za raka dojk (inspekcija), nato pa pri ležeči bolnici otipamo bezgavke v nadključnični jami, pazdušne bezgavke, na koncu pa pretipamo še dojko (palpacija). S tem ocenimo velikost tumorja in prizadetost bezgavk (T- in N-status). (7)

V slikovni diagnostiki uporabljamo več metod. Mamografija je temeljna slikovna preiskava v diagnostiki raka dojk in je indicirana pri:

- tipljivih lezijah pri ženskah starejših od 35 let (vedno slikamo obe dojki),
- vedno, kadar je potrjena diagnoza rak dojk s patomorfološko preiskavo ne glede na starost bolnice,
- za mamografsko vodeno biopsijo z debelo iglo, vakuumsko asistirano biopsijo in ABTI.

Ultrazvok je dopolnilna preiskava razen pri ženskah, mlajših od 35 let, za razlikovanje cist od drugih lezij, za identifikacijo lezij v mamografsko nepreglednem tkivu ali za ultrazvočno vodeno biopsijo z debelo iglo, vakuumsko asistirano biopsijo in ABTI.

Magnetna resonanca se zaradi zahtevnosti, dolgotrajnosti, cene in omejene dostopnosti uporablja le v izbranih indikacijah. (7)

Patomorfološka biopsija je ključna za postavitev diagnoze in za odločitev o najprimernejšem zdravljenju. Uporabljene metode so: aspiracijska biopsija s tanko iglo (ABTI) ali citološka punkcija, debeloigelna punkcija, vakuumsko asistirana biopsija in kirurška biopsija, ki pa se danes redko uporablja. (7) S citopatološko preiskavo (na vzorcu celic) lahko razmeroma hitro opredelimo malignost tumorja in vrsto, ne moremo pa zanesljivo določiti invazivnosti in drugih histoloških lastnosti, ki so nujne za načrtovanje zdravljenja (stopnjo malignosti, status hormonskih receptorjev, HER2-status ipd.). Te lahko določimo le s histopatološko preiskavo vzorca tkiva tumorja.

Določanje napovednih (prognostičnih in prediktivnih) dejavnikov. Številne lastnosti tumorjev lahko napovedujejo potek bolezni, to so prognostični dejavniki. Najpomembnejši prognostični dejavniki so: stadij bolezni, histološki tip tumorja, stopnja malignosti in proliferacijska aktivnost tumorja. Določamo tudi prisotnost invazije v krvne in/ali limfne žile (vaskularna oz. limfovaskularna invazija) ter prisotnost perinevralne invazije (širjenje tumorskih celic vzdolž živčnih vlaken).

Pri določanju stopnje malignosti tumorja ocenjujemo atipijo jeder, mitotsko aktivnost in stopnjo diferenciacije. Na podlagi tega tumorje razvrščamo v tri skupine: med tumorje nizke (gradus 1), srednje (gradus 2) ali visoke stopnje malignosti (gradus 3). Proliferacijsko aktivnost najenostavneje ovrednotimo z določanjem mitotske aktivnosti (število mitoz na 10 polj velike povečave) in podamo oceno: mitoze 1, 2 ali 3.

Klasični napovedni dejavniki za odziv na zdravljenje (prediktivni dejavniki) pa so npr. hormonski receptorji, danes pa tudi HER2-receptorji. Oboji napovedujejo boljšo oz. slabšo prognozo. (7) Najslabšo prognozo imajo npr. bolnice, ki imajo »trojno negativne« tumorje (tj. ER, PR in HER2-negativne) in HER2-pozitivne, hormonsko neodvisne tumorje, boljšo pa bolnice s hormonsko odvisnimi in HER2-negativnimi tumorji.

TNM-klasifikacija in stadij bolezni. TNM-klasifikacija, po kateri ocenimo velikost tumorja in njegovo vraščanje v okolišnje strukture, prizadetost bezgavk in pojav metastaz, nam pomaga opredeliti stadij (razširjenost) bolezni ob začetku zdravljenja in je tako tudi pomemben napovedni dejavnik uspešnosti zdravljenja oziroma preživetja. (13)

Preglednica I: TNM-klasifikacija, povzeto po AJCC Cancer Staging Manual, 6. izdaja, 2002.

Primarni tumor (T)

Tx primarni tumor neocenljiv

T0 primarni tumor ni najden

Tis karcinom in situ

Intraduktalni karcinom in situ (DCIS)

Lobularni karcinom in situ (LCIS)

Morbus Paget brez spremljajočega tumorja (Mb. Paget s spremljajočim tumorjem klasificiramo glede na tumor)

T1 ≤ 2,0 cm v največjem premeru

T1mic: mikroinvazija 0,1 cm ali manj v največjem premeru

T1a: > 0,1–0,5 cm v največjem premeru

T1b: > 0,5–1,0 cm v največjem premeru

T1c: > 1,0–2,0 cm v največjem premeru

T2 > 2,0–5,0 cm v največjem premeru

T3 > 5,0 cm v največjem premeru

T4 tumor vrašča v steno prsnega koša ali kožo, ne glede na velikost

T4a: vrašča v steno prsnega koša, a ne v m. pectoralis

T4b: edem kože (vključno s peau d'orange); ali razjeda na koži dojke; ali satelitski kožni zasevki, omejeni na isto dojko

T4c: T4a + T4b

T4d: vnetni karcinom

(se nadaljuje)

Regionalne bezgavke (N)	
Nx	regionalne bezgavke neocenljive (npr. predhodno odstranjene)
N0	regionalne bezgavke brez zasevkov
N1	zasevki v premičnih istostranskih pazdušnih bezgavkah
N2	zasevki v istostranskih pazdušnih bezgavkah, ki so zraščene med seboj ali z okolico; ali zasevki v bezgavkah ob istostranski a. mammarii interni, če ob tem pazdušne bezgavke niso prizadete <i>N2a: zasevki v istostranskih pazdušnih bezgavkah, ki so zraščene med seboj ali z okolico</i> <i>N2b: zasevki v bezgavkah ob istostranski a. mammarii interni, če ob tem pazdušne bezgavke niso prizadete</i>
N3	zasevki v istostranskih infraklavikularnih bezgavkah z ali brez zasevkov v pazdušnih bezgavkah; ali zasevki v bezgavkah ob istostranski a. mammarii interni, če so ob tem prisotni zasevki v pazdušnih bezgavkah; ali zasevki v istostranskih supraklavikularnih bezgavkah z ali brez prizadetosti pazdušnih bezgavk ali bezgavk ob a. mammarii interni <i>N3a: zasevki v istostranskih infraklavikularnih bezgavkah</i> <i>N3b: zasevki v bezgavkah ob a. mammarii interni ob sočasni prizadetosti pazdušnih bezgavk</i> <i>N3c: zasevki v istostranskih supraklavikularnih bezgavkah</i>
Oddaljene metastaze (M)	
Mx	oddaljeni zasevki niso opredeljeni
M0	brez oddaljenih zasevkov
M1	prisotni oddaljeni zasevki

Preglednica II: Stadiji bolezni, povzeto po AJCC Cancer Staging Manual, 6. izdaja, 2002.

Stadij bolezni	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	T1*	N0	M0
II A	T0	N1	M0
	T1*	N1	M0
	T2	N0	M0
II B	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
III A	T0	N2	M0
	T1*	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
III B	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
	T4	N2	M0
III C	katerikoli T	N3	M0
IV	katerikoli T	katerikoli N	M1

* T1 vključno s Tmic

Status hormonskih receptorjev. Hormonski receptorji (estrogenski-ER, progesteronski-PR) se nahajajo v različnih tkivih po telesu. Glavna funkcija ER je predvsem regulacija transkripcije DNK in s tem vpliv na rast in delitev celic. Prisotni so v celici oz. v jedru, kjer se po vezavi liganda (estrogena) vežejo na specifično mesto DNK in sprožijo prepis zaporedja DNK v mRNK. PR-receptorji imajo podobno vlogo. ER-receptorji se v dojki nahajajo predvsem v celicah mlečnih žlez in v vsakem mesečnem ciklu glede na nivo estrogena pripravijo dojke za morebitno nosečnost.

Kadar je nastal rak hormonsko odvisen, taisti ER-receptorji po vezavi estrogena spodbujajo rast in delitev tumorske celice. Približno 60–80 % vseh rakov dojk je bodisi ER- bodisi PR-pozitivnih ali oboje. Status hormonskih receptorjev je ena glavnih bioloških lastnosti tumorja, status ER je pomemben za napoved odgovora na hormonsko zdravljenje, status PR pa za napoved poteka bolezni. Hormonsko odvisni tumorji so tisti, pri katerih je vsaj 10 % imunohistokemično pozitivno obarvanih tumorskih celic (tako za ER kot za PR), večje ko so vrednosti teh receptorjev, boljša je napoved. (11)

Hormonsko odvisni tumorji imajo boljšo prognozo bolezni, saj rastejo počasneje kot hormonsko neodvisni in je pri njih poleg citostatskega možno tudi hormonsko zdravljenje.

Določanje HER2-statusa. HER2-status je trenutno najpomembnejši neodvisni napovedni dejavnik poteka bolezni (11), na Onkološkem inštitutu v Ljubljani ga določajo od leta 2000. V veljavi sta 2 metodi: imunohistokemična (IHC) – za določanje prekomerne izraženosti HER2-receptorjev in fluorescentna hibridizacija *in situ* (FISH) – za ugotavljanje pomnožitve gena HER2.

Imunohistokemična metoda je semikvantitativna. S pomočjo protiteles, na katera je vezano barvilo (kromogen), ugotavljamo prisotnost določenega antigena v tumorski celici, v našem primeru HER2-receptorja na površini tumorske celice. Protitelo se veže na zunanjo domeno HER2-receptorja, nato pa pod mikroskopom opazujemo intenziteto membranske reakcije in delež obarvanih celic, na podlagi tega karcinom uvrstimo v eno od štirih skupin: negativna reakcija (0), šibko pozitivna reakcija (+1), zmerno pozitivna reakcija (+2) in močno pozitivna reakcija (3+). Stopnji obarvanja 0 ali 1+ pomenita, da je tumor HER2 negativen, pri 2+ je HER2-status nejasen in ga je potrebno potrditi še z drugo metodo, 3+ pa pomeni čezmerno izraženost HER2-proteina, torej, da je tumor HER2 pozitiven.

Fluorescentna hibridizacija *in situ* je molekularna citogenetska metoda za detekcijo in lokalizacijo določenega zaporedja DNK na kromosomu. Gre za prilagajanje posebne označene sonde, ki se veže na komplementarno mesto oz. na iskano verigo DNK v jedru, na poseben način obarvan histološki preparat nato analiziramo pod fluorescentnim mikroskopom. Za natančnejšo interpretacijo rezultatov uporabljamo dve sondi. Z eno prikažemo število signalov gena (rdeče obarvanje), z drugo pa število centromerov kromosoma 17 in s tem število kromosomov 17 (zeleno obarvanje). Pri analizi vzorca se preštejejo signali v 60 jedrih tumorskih celic. Gen HER2 je pomnožen, če je razmerje med številom signalov gena HER2 in številom signalov centromera kromosoma 17 večji ali enak dve. Če je ta količnik manjši, pomnožitve gena ni. (11)

Kot možno alternativo obeh zgoraj opisanih metod za določanje HER2-statusa so preučevali tudi **določanje serumske koncentracije ekstracelularne domene (ECD) HER2-receptorja**. Zaradi proteolitične cepitve HER2-proteina in sproščanje ECD s površine celic v kri lahko s pomočjo encimskoimunskega testa (ELISA) v serumu določamo njeno koncentracijo. Vendar pa se je izkazalo, da test slabo korelira z dejanskim HER2-statusom in zato v ta namen ni uporaben. Ugotovili pa so statistično pomembno povezavo med povišano serumsko koncentracijo ECD HER2-receptorja pred začetkom zdravljenja in slabšim preživetjem brez bolezni pri zgodnjem raku dojk. (40) Pri bolnicah z metastatskih rakom dojk lahko znižanje serumske koncentracije ECD med zdravljenjem napove odziv na sistemsko zdravljenje, ki vključuje trastuzumab. (41) Vendar pa študije niso enoznačno pokazale korelacije serumske koncentracije ECD HER2 z odzivom, zato se za odločitve o zdravljenju še vedno uporablja klasična slikovna diagnostika.

Rutinske preiskave za zamejitev bolezni. Pred začetkom zdravljenja ali ob ponovitvi bolezni opravimo še nekaj rutinskih preiskav za zamejitev bolezni oz. da se prepričamo o odsotnosti oddaljenih zasevkov (metastaz). Osnovne preiskave za stadij I in II so bilateralna mamografija, rentgen pljuč in preiskave krvi, pri stadijih III in IV pa še ultrazvok trebuha, scintigrafija skeleta (7) in včasih limfoscintigrafija.

1.2.3 Potek zdravljenja

Možnosti zdravljenja posamezne bolnice so odvisne od številnih dejavnikov. Ti vključujejo njeno starost, menopavzno stanje, splošno zdravstveno stanje in želje bolnice, predvsem pa biološke lastnosti njenega tumorja in razširjenost bolezni. Uporabljamo vse tri načine onkološkega zdravljenja: kirurško, obsevanje in sistemsko zdravljenje.

Kirurško zdravljenje – operacija je običajno prva faza zdravljenja zgodnjega, operabilnega raka dojk. Glede na obsežnost operacije ločimo radikalno mastektomijo, modificirano radikalno mastektomijo (MRM) in resekcijo dojk.

Namen je lokalni nadzor nad boleznijo ob najmanjši možni nakazi bolnice in dokončna histopatološka diagnoza bolezni dojk. (1)

Obsevanje – radioterapija je potrebno za več kot 80 % bolnic z rakom dojk. Običajno se bolnice obseva po operaciji z namenom uničiti morebitne ostale maligne celice v dojki in s tem preprečiti lokalno ponovitev bolezni. V primeru inoperabilnega raka dojk pa je cilj obsevanja zmanjšanje oz. popolno uničenje tumorske mase v dojki in/ali regionalnih bezgavkah. Kostne metastaze obsevajo tudi z namenom lajšanja bolečin. Obsevanje ni indicirano pri bolnicah z nizkim tveganjem za ponovitev bolezni. (1)

Sistemsko zdravljenje (adjuvantno, neoadjuvantno, metastatsko) obsega citostatsko in tarčno zdravljenje, pod slednje pa uvrščamo hormonsko in biološko zdravljenje ter zdravljenje z majhnimi tarčnimi molekulami. Vsako od teh značilno izboljša možnost ozdravitve operabilnega in lokalno napredovalega raka dojk, pri razsuti bolezni pa nudi možnost večletne zazdravitve bolezni in značilno podaljša preživetje ob dobri kakovosti življenja. (7)

Zdravljenje s citostatiki. Operabilni rak dojk zdravimo s kombinacijo citostatikov, ki so se v kliničnih raziskavah izkazale kot najbolj učinkovite, medtem ko za zdravljenje razsute bolezni, ko je domet zdravljenja samo zazdravitev, uporabljamo manj toksične monoterapevtske sheme. Najpogostejše vrste citostatikov so:

- antraciklini (doksorubicin, epirubicin, liposomalni doksorubicin)
- taksani (docetaksel, paklitaksel)
- derivati platine (cisplatin, karboplatin)
- antimetaboliti (5-fluorouracil, kapecitabin, gemcitabin, metotreksat)
- alkilirajoči citostatiki (ciklofosfamid, ifosfamid)
- vinka alkaloidi (vinkristin, vinblastin, etopozid, navelbin)

Preglednica III: Najpogostejše citostatske sheme (kombinacije).

CMF	ciklofosfamid, metotreksat, 5-FU
antracikline vsebujoče sheme:	
FAC (CAF)	5-FU, doksorubicin, ciklofosfamid
FEC (CEF)	5-FU, epirubicin, ciklofosfamid
AC	doksorubicin, ciklofosfamid
EC	epirubicin, ciklofosfamid
antracikline in taksane vsebujoče sheme:	
TAC	docetaksel, doksorubicin, ciklofosfamid
AT	doksorubicin, docetaksel
AC-P	doksorubicin, ciklofosfamid→paklitaksel
FEC-doce	5-FU, epirubicin, ciklofosfamid→docetaksel
taksane vsebujoče sheme:	
TC	docetaksel, karboplatin
CT	ciklofosfamid, docetaksel

Kemoterapija ni usmerjeno zdravljenje, temveč deluje na vse vrste rakavih celic, najbolj pa prizadene hitro deleče se celice. Obstajajo pa določene biološke značilnosti tumorskih celic, ki napovedujejo večji ali manjši odgovor na določen citostatik. Tako na katerikoli citostatik bolje odgovorijo tumorji visokega gradusa in visoke proliferativne aktivnosti, slabše pa hormonsko odvisni tumorji. Bolnice s HER2-pozitivnimi tumorji imajo večjo korist od antraciklinov kot tiste s HER2-negativnimi. Bolnice s trojno negativnim rakom dojk pa naj bi po najnovejših spoznanjih dobro odgovorile na alkilirajoče citostatike (ciklofosfamid) in na derivate platine. (7) Taksani pa se osnovni citostatski shemi dodajajo predvsem pri bolnicah z lokalno napredovalim rakom dojk.

Neželeni učinki citostatikov so posledica njihove neselektivnosti, saj okvarijo vse hitro deleče se celice v telesu. Akutni neželeni učinki so: alopecija, slabost in bruhanje, okvare sluznic, zavora delovanja kostnega mozga s febrilno nevtropenijo, utrujenost, bolečine v mišicah, nevrosenzorične motnje in amenoreja. Pozni neželeni učinki pa lahko vključujejo: amenorejo, neplodnost, okvare srca (antraciklini), motnje spomina in koncentracije ter zelo redko okvare ledvic. (7)

Tarčno zdravljenje.

a) *Hormonsko zdravljenje (HT).* Hormonsko zdravljenje je indicirano le pri hormonsko odvisnih rakah, uspešno pa je pri 45–80 % bolnic. Z zdravljenjem preprečujemo spodbujanje rasti rakavih celic s strani ženskih spolnih hormonov tako, da zaviramo

njihovo nastajanje oz. preprečujemo njihovo vezavo na hormonske receptorje v tumorju. Dopolnilno hormonsko zdravljenje se vedno predpisuje po zaključenem citostatskem zdravljenju in mora trajati vsaj 5 let. (9)

Pri premenopavznih bolnicah, ko večina spolnih hormonov nastaja v jajčnikih, se uporablja kastracija za zaviranje delovanja jajčnikov in selektivne modulatorje estrogenskih receptorjev.

Preglednica IV: HT pri premenopavznih bolnicah.

kastracija	ovarijska ablacija: kirurška ali z obsevanjem ovarijska supresija: medikamentozna z LHRH-agonisti (goserelin)
antiestrogeni	SERM (selektivni modulatorji estrogenskih receptorjev): tamoksifen in toremifen

LHRH-agonisti reverzibilno zavirajo delovanje jajčnikov preko hipotalamus-hipofizne osi, običajno so v kombinaciji z drugimi hormonskimi zdravili (tamoksifen), bolnica pa naj bi jih prejela vsaj 2 leti.

Pri pomenopavznih bolnicah, ko večina ženskih spolnih hormonov nastaja v perifernih tkivih (zlasti v maščevju), se uporablja aromatazne inhibitorje (AI), SERM-tamoksifen, čisti antiestrogen fulvestrant in progestine.

Preglednica V: HT pri pomenopavznih bolnicah.

antiestrogeni	SERM: tamoksifen čisti antiestrogen: fulvestrant (zasede ER receptorje)
aromatazni inhibitorji	anastrozol, letrozol, eksemestan
progestini	megestrol acetat, medoksiprogesteron acetat

Tamoksifen kot selektivni modulator estrogenskih receptorjev preprečuje vezavo ženskih spolnih hormonov na hormonske receptorje, uporablja se tako pri zgodnjem kot metastatskem, hormonsko odvisnem raku dojk.

Aromatazni inhibitorji (AI) preprečijo nastanek ženskih spolnih hormonov v perifernih tkivih. Anastrozol in letrozol sta nesteroidni učinkovini, eksemestan pa steroidna.

Za nekatere, zlasti pomenopavzne bolnice pa se je izkazalo za učinkovitejše, če so po 2 ali 3 letih zdravljenja s tamoksifenom prešle na zdravljenje z AI.

Progestini se danes redkeje uporabljajo, predvsem pri metastaskem raku dojk kot hormonska terapija 2. ali 3. reda.

Neželeni učinki HT so posledica zmanjšanja ravni spolnih hormonov: navali vročice s potenjem, pridobivanje telesne teže, zadrževanje vode v telesu, motnje spomina, motnje spolnosti, prezgodnja osteoporoza (AI), pri tamoksifenu pa tudi tromboembolija. (7)

b) Zdravljenje z biološkimi zdravili (»mabi«). V primeru HER2-pozitivnega raka dojk je trenutno najučinkovitejše monoklonsko protitelo proti HER2-receptorju, trastuzumab (Herceptin®) (več v poglavju 1.3).

Pri razsutem raku dojk se je za učinkovito izkazalo tudi zdravljenje z zaviralcem angiogeneze, tarčnim zdravilom bevacizumab (Avastin®), ki je monoklonsko protitelo za žilni rastni dejavnik VEGF. Dodatek bevacizumaba h kemoterapiji lahko za nekaj mesecev podaljša preživetje brez napredovanja bolezni. Neželeni učinki bevacizumaba so lahko povišan krvni tlak, krvavitve, proteinurija idr. (7)

c) Zdravljenje z majhnimi tarčnimi molekulami (»nibi«). V primeru, ko HER2 pozitiven rak dojk ni odziven na zdravljenje s trastuzumabom oz. pride do progressa bolezni, se uporablja mala tarčna molekula, tirozin kinazni inhibitor lapatinib, v kombinaciji s citostatikom kapecitabinom. Lapatinib je dvojni blokator, saj blokira tako HER2- kot HER1-receptorje in naj bi bil zato še učinkovitejši, prednost pa je tudi v tem, da lahko kot mala molekula prehaja hematoencefalno pregrado in naj bi s tem preprečeval in zdravil možganske zasevke.

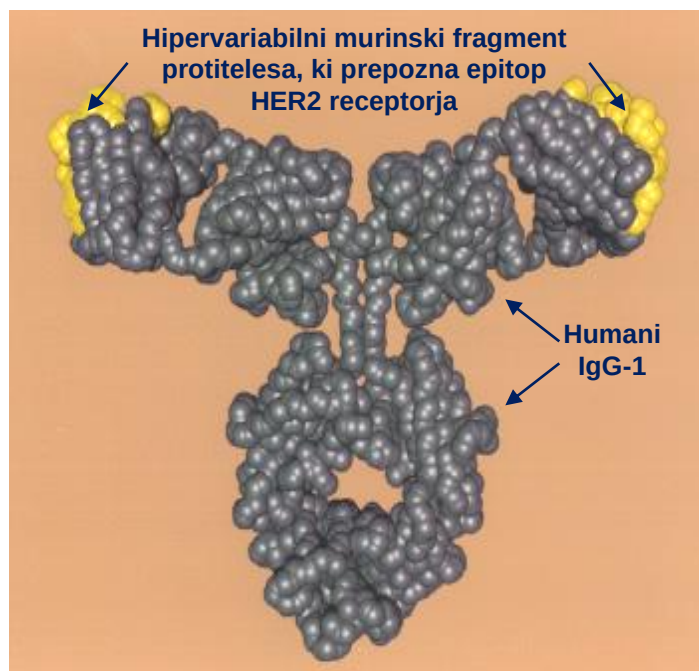
Lapatinib pogosto povzroča okvare kože in sluznic, drisko, dispepsijo, utrujenost, poročali pa so tudi o kardiotsičnosti.

Spremljajoča terapija. Običajno so zaradi neželenih učinkov zdravljenja potrebna spremljajoča zdravila, ki le-te blažijo. Pri intravenski aplikaciji citostatikov in bioloških zdravil so pogosto potrebni glukokortikoidi (deksametazon, metilprednizolon) in antihistaminiki (klemastin), zaradi pogoste spremljajoče slabosti in bruhanja pa antiemetiki (npr. granisetron, ondansetron, aprepitant). Neredek zaplet pa je lahko tudi febrilna nevtropenija kot posledica zaviralnega učinka citostatikov na kostni mozeg. V ta namen bolnice prejmejo zdravila za spodbujanje imunske odzivnosti (filgrastim, pegfilgrastim).

1.3 Trastuzumab

Trastuzumab je rekombinantno humanizirano monoklonsko protitelo IgG1 (148,4 kDa, glikozilirano) proti receptorjem humanega epidermalnega rastnega faktorja 2 (HER2).

Pridobiva se z izolacijo iz celične kulture sesalcev (CHO – ovarijske celice kitajskega hrčka) s kontinuirano perfuzijo. (18)



Slika 4: Molekula trastuzumaba (vir: prezentacija, ASCO 2005).

Molekulo trastuzumaba so dobili tako, da so v ogrodje ustreznega človeškega protitelesa IgG1 vgradili variabilni del murinskega protitelesa muMAb 4D5, ki je izkazoval aktivnost proti HER2-receptorjem v miših. Nastalo humanizirano protitelo je zelo homologno nativnemu človeškemu imunoglobulinu (95 %), ima nekoliko večjo afiniteto do ekstracelularne domene HER2-receptorja kot njegov predhodnik in seveda manj alergičnih reakcij ob aplikaciji. (23)

Indikacije. Trastuzumab je indiciran za zdravljenje bolnikov tako z metastatskim kot tudi z zgodnjim HER2-pozitivnim rakom dojk.

Pri metastatskem zdravljenju se trastuzumab lahko daje kot:

- monoterapija za zdravljenje tistih bolnikov, ki so predhodno za svojo metastatsko bolezen že prejeli najmanj dve liniji kemoterapije, in bolnikov s hormonsko

odvisnimi tumorji, pri katerih je bolezen napredovala po predhodnem hormonskem zdravljenju,

- v kombinaciji s taksanom za zdravljenje tistih bolnikov, ki še niso prejeli kemoterapije za metastatsko bolezen in za katere antraciklini niso primerni,
- v kombinaciji z zaviralcem aromataze za zdravljenje bolnic v pomenopavzi z metastatsko obliko raka dojk s pozitivnimi hormonskimi receptorji, ki predhodno niso bile zdravljene z trastuzumabom. (18, 8)

Pri bolnikih z zgodnjo obliko HER2-pozitivnega raka dojk se lahko trastuzumab daje kot del dopolnilnega zdravljenja običajno po operaciji in zaključeni kemoterapiji (neoadjuvantni ali adjuvantni) z antraciklini, lahko se ga prejema v monoterapiji ali pa sočasno s taksani oz. s hormonskimi učinkovinami.

Odmerjanje in način uporabe. Trastuzumab se daje v obliki 90-minutne intravenske infuzije. Če bolniki uveljavljani odmerki dobro prenašajo, lahko naslednje odmerke damo v 30-minutni infuziji. Vsaj šest ur po začetku prve infuzije oz. dve uri po začetku vseh nadaljnjih infuzij moramo bolnika skrbno nadzorovati zaradi nevarnosti pojava neželenih učinkov, kot so zvišana telesna temperatura, mrzlica, dispneja, slabost, bruhanje in drugi simptomi, povezani z infuzijo.

Pri metastatskem raku dojk je priporočen tedenski režim aplikacije trastuzumaba vse do progresa bolezni. Ob prvi infuziji je uveljavljani odmek 4 mg/kg telesne mase, vsi nadaljnji tedenski odmerki pa so 2 mg/kg telesne mase.

Pri zgodnjem raku dojk sta možna tako tedenski kot 3-tedenski režim aplikacije, bolnike pa je potrebno zdraviti 1 leto ali do ponovitve bolezni. Pri tedenskem režimu so odmerki enaki kot pri metastatskem zdravljenju, pri 3-tedenskem režimu pa je uveljavljani odmek 8 mg/kg telesne mase, vsak nadaljnji odmek pa 6 mg/kg telesne mase v 90-minutni infuziji. (18)

Cena in dostopnost. Trastuzumab je registriran pod zaščiteno imenom Herceptin[®], v ZDA ga trži podjetje Genentech, v Evropi pa farmacevtsko podjetje Roche. Pri nas je na voljo v 150 mg vialah s praškom za koncentrat za raztopino za infundiranje.

Herceptin[®] je kot biološko zdravilo zaradi narave pridobivanja zelo drago, ena 150 mg viala stane 679,6 € (22), 1-letno dopolnilno zdravljenje ene bolnice s Herceptinom[®] pa stane v povprečju 35.339,2 €.



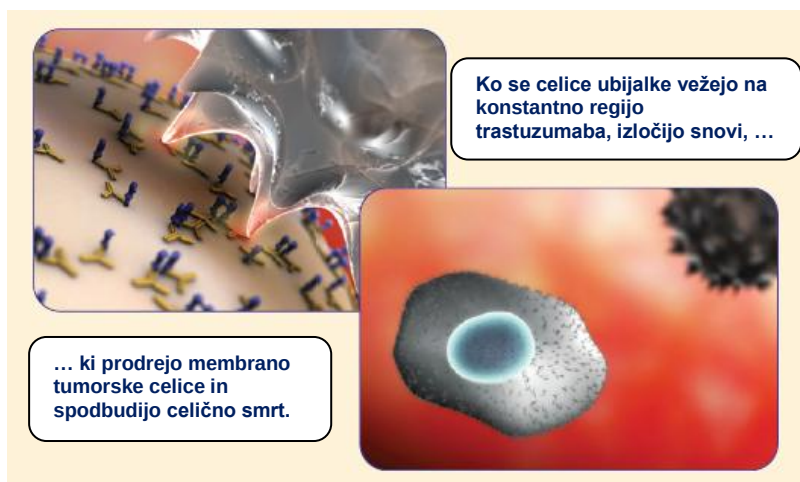
Slika 5: Izgled zdravila Herceptin®.

Slovenskim bolnicam s HER2-pozitivnim metastatskim rakom dojk je Herceptin® dostopen že od leta 2001, za zdravljenje zgodnje oblike HER2-pozitivnega raka dojk pa je na voljo od leta 2005, ko so bila zagotovljena sredstva za vse bolnice, ki to zdravilo potrebujejo. Ocenjujejo, da potrebuje v Sloveniji zdravljenje s Herceptinom® od 150 do 200 bolnic letno. (5)

1.3.1 Farmakodinamika

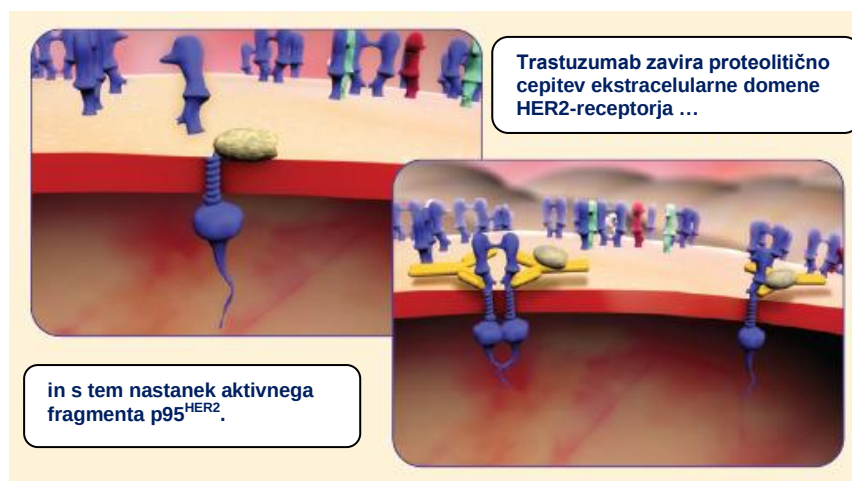
Trastuzumab ima štiri glavne mehanizme delovanja:

- aktivacija od protiteles odvisne celične citotoksičnosti (ADCC) oz. indukcija imunskega odziva



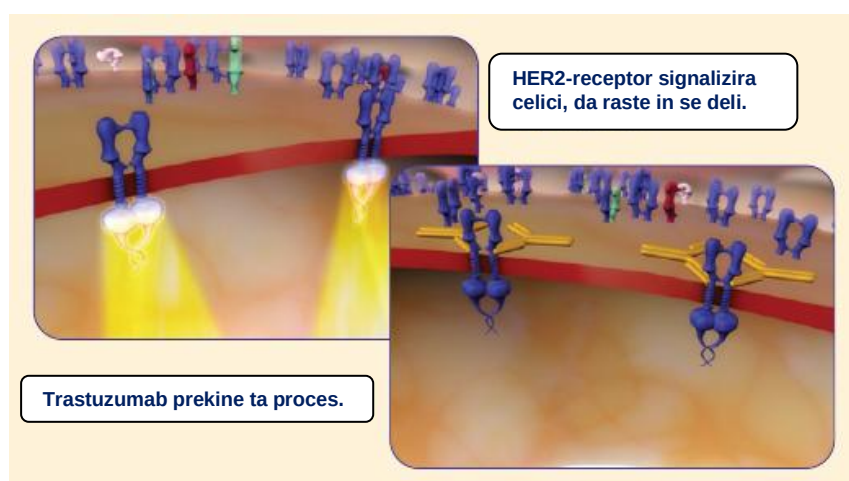
Slika 6: Posredovanje od protiteles odvisne celične citotoksičnosti (Intelektualna lastnina F. Hoffmann-La Roche Ltd.).

- preprečevanje odcepitve ekstracelularne domene HER2 in s tem nastajanja zelo aktivne oblike p95^{HER2}



Slika 7: Zaviranje nastanka p95^{HER2} (Intelektualna lastnina F. Hoffmann-La Roche Ltd.).

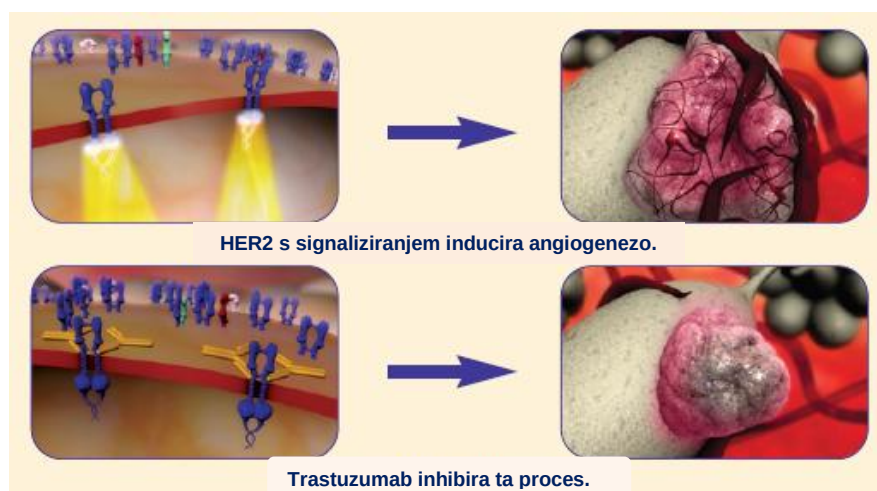
- inhibicija celične proliferacije, ki jo spodbuja HER2



Slika 8: Zaviranje celične proliferacije (Intelektualna lastnina F. Hoffmann-La Roche Ltd.).

Trastuzumab preprečuje tvorbo dimerov, ki vsebujejo HER2-protein, kar bi sicer sprožilo intrinzično tirozin kinazno aktivnost preko intra- ali intermolekularne fosforilacije (stimulacija teh receptorjev je pomembna pri procesih, povezanih z nenadzorovano rastjo, nesmrtnostjo, invazivnostjo in metastaziranjem spremenjenih celic).

- inhibicija angiogeneze, ki jo uravnava HER2



Slika 9: Zaviranje angiogeneze, ki jo regulira HER2-receptor (Intelektualna lastnina F. Hoffmann-La Roche Ltd.).

Nekatere *in vitro* raziskave pa so potrdile še naslednje možne mehanizme delovanja:

- zmanjšanje količine izraženega receptorja HER2 (HER2 »downregulation«) s pospeševanjem endocitoze in razgradnje receptorja (24),
- indukcija p27 – p27 je protein, katerega glavna funkcija je ustaviti ali upočasniti delitev celice v fazi G1 (je zaviralec od ciklina odvisnih kinaz (CDK)) (24),
- v predkliničnih raziskavah je trastuzumab sinergistično povečal učinek citostatikov, kar je vodilo do staze celice in celične smrti. (8)

Mehanizem rezistence. Kljub začetnemu odgovoru na zdravljenje s trastuzumabom lahko pri tumorjih pride do rezistence oz. do ponovitve ali poslabšanja bolezni v manj kot enem letu. Predlagani mehanizmi razvoja rezistence proti trastuzumabu so naslednji:

- sprememba gena, ki kodira ekstracelularno domeno HER2-receptorja, kar prepreči vezavo trastuzumaba,
- spodbujanje celične proliferacije preko drugih signalnih poti (npr. prisotnost HER1/HER3-heterodimerov in HER1-homodimerov, močnejša IGF-IR signalizacija),
- upad oz. zmanjšana izraženost proteina p27. (25)

1.3.2 Farmakokinetika

Trastuzumab je protein z veliko molekulsko maso in s hidrofilnimi lastnostmi. Kot tak ima **majhen volumen porazdelitve** (2,95 l) in slabo prodira skozi tkiva, zato je večinoma

omejen na plazmo in zunajcelične prostore. To je tudi glavni razlog, da je trastuzumab kot monoklonsko protitelo neuporaben pri zdravljenju možganskih metastaz, saj ne prehaja hemato-encefalne bariere. (18)

Privzem v celice poteka predvsem s fagocitozo in pinocitozo. Presnavlja se s proteolitičnimi encimi, glavna mesta metabolizma pa so pljuča, gastrointestinalni trakt in jetra, manj pa tudi vranica in ledvica. (6) Hitrost metabolične razgradnje je odvisna od vrste proteina; trastuzumab ima kot imunoglobulin IgG **dolg razpolovni čas** (28,5 dni), kar omogoča konstantno izpostavljenost tumorskih celic, **očistek** je 225 ml/h. Pot eliminacije pa še ni popolnoma znana. Očistek se je s povečanjem odmerka zmanjšal, proučevanje vpliva karakteristik bolnikov (kot sta starost ali serumski kreatinin) pa je pokazalo, da pri skupinah bolnikov ni bilo sprememb v razpoložljivosti trastuzumaba.

Aplikacija je v obliki 30- oz. 90-minutne intravenske infuzije, stanje dinamičnega ravnovesja se doseže po približno 20 tednih. Trastuzumab se lahko daje v 3-tedenskem ali 1-tedenskem režimu. (18)

1.3.3 Neželeni učinki

Najpogostejši neželeni učinki so:

- **vročina in mrazenje, bolečina v prsnem košu in glavobol** (običajno med ali po 1. infuziji trastuzumaba), to reakcijo se da običajno ublažiti z upočasnitvijo hitrosti infuzije ali s simptomatskim zdravljenjem (npr. paracetamol), redko so potrebna močnejša zdravila ali celo prekinitev infuzije;
- **srčna disfunkcija** se lahko izrazi pri več kot 1 % bolnic, dodatek trastuzumaba klasični kemoterapiji z antraciklini zelo poveča verjetnost za pojav srčnih zapletov, saj sta obe učinkovini kardiotsični (delujeta sinergistično). Mehanizem kardiotsičnosti trastuzumaba ni popolnoma znan, so pa HER2-receptorji izraženi tudi v srčnem tkivu, kjer sodelujejo predvsem pri obnavljanju celic. Bolnikom je potrebno pred uvedbo zdravljenja in nato periodično med zdravljenjem spremljati srčno funkcijo. Previdnost je potrebna pri zdravljenju bolnikov s simptomatskim srčnim popuščanjem, s hipertenzijo ali boleznijo koronarnih arterij v anamnezi, pri zgodnjem raku dojk pa pri bolnikih, ki imajo iztisni delež levega prekata (LVEF) 55 % ali manj. Če LVEF pade za 10 točk od začetne vrednosti IN pod 50 %, dajanje trastuzumaba prekinemo in ponovno opravimo meritev LVEF v približno treh tednih;

- drugi pogosti ($\geq 10\%$), za bolnice neprijetni neželeni učinki so še: kožni izpuščaj, bolečina v trebuhu, astenija, driska, slabost, bruhanje, artralgiya, mialgiya. (18)

1.3.4 Interakcije z drugimi zdravili

Konkretnih raziskav o medsebojnem delovanju trastuzumaba in drugih zdravil še niso izvedli, vendar pa so do danes znane interakcije z naslednjimi skupinami zdravil (14):

- **abciksimab** je monoklonsko protitelo, za katerega je znano, da poveča tveganje za alergične ali preobčutljivostne reakcije na monoklonska protitelesa. Lahko povzroči trombocitopenijo ter zmanjša terapevtske učinke.

Ocena tveganja: **C (spremljanje terapije);**

- **antraciklini (citostatik):** trastuzumab lahko poveča kardiotoksične učinke antraciklinov (epirubicin, doksorubicin). Pojavnost srčnega popuščanja je dokazano večja pri kombinaciji antraciklinov in trastuzumaba kot pri vsaki učinkovini posebej. Zdravljenje v obeh primerih zahteva redno spremljanje srčne funkcije (ultrazvok srca, ventrikulografija). Ob pojavu srčnega popuščanja je potrebno terapijo ukiniti.

Ocena tveganja: **D (pretehtanje, modifikacija terapije);**

Farmakokinetična raziskava ni pokazala, da bi trastuzumab vplival na AUC epirubicina. Kardiotoksičnost povezana s trastuzumabom je v večji meri reverzibilna, za razliko od tiste, povzročene z antraciklini, se odzove na prenehanje terapije oz. na običajno zdravljenje srčnega popuščanja;

- **zaviralci imunskega odziva:** trastuzumab lahko poveča nevtropenični učinek imunosupresivnih zdravil (anakinra, ciklosporin, deksametazon, metotreksat, paklitaksel, doksorubicin idr.). Bolnike je potrebno redno spremljati za morebiten pojav nevtropenije oz. anemije.

Ocena tveganja: **C (spremljanje terapije);**

- **paklitaksel (taksani):** trastuzumab lahko po nekaterih podatkih zmanjša koncentracijo paklitaksela v serumu. Paklitaksel pa lahko zmanjša očistek in s tem za 1,5-krat poveča koncentracijo trastuzumaba v serumu. Bolnike je treba spremljati za morebiten pojav stranskih učinkov.

Ocena tveganja: **C (spremljanje terapije);**

- **statini:** zaradi podobnega metabolizma zaviralcev endogene sinteze holesterola obstaja možnost interakcij, zato pri bolnicah, ki prejemaajo zdravila za zniževanje holesterola oz. trigliceridov v krvi, le-te pred uvedbo kemoterapije običajno ukinejo.

2 NAMEN DELA

Z diplomsko nalogo želimo retrospektivno vrednotiti uspešnost dopolnilnega (adjuvantnega) zdravljenja s trastuzumabom približno 200 bolnic s HER2-pozitivnim rakom dojk, ki so bile zdravljene v obdobju od avgusta 2005 do konca leta 2008. Delo obsega dopolnjevanje že obstoječe baze podatkov v okviru projekta eHER2 in statistično analizo podatkov. Baza eHER2 je dostopna preko spleta s pomočjo gesla na strežniku Inštituta za biostatistiko in medicinsko informatiko (IBMI).

Namen naloge je spremljati bolnice, ki se zdravijo s trastuzumabom, in tiste, ki jim sledijo po zaključenem dopolnilnem zdravljenju, oceniti preživetje brez bolezni, pogostnost pojava kardiotoksičnosti in drugih neželenih učinkov trastuzumaba, hkrati pa bomo vrednotili tudi ostale podatke o statusu bolnic, značilnosti tumorjev in poteku zdravljenja.

Namen naloge je tudi, da z rednim posodabljanjem podatkovne baze eHER2 omogočimo kontinuirano spremljanje dopolnilnega zdravljenja bolnic s HER2-pozitivnim rakom dojk, dolgoročno pa še oceno celokupnega preživetja in spremljanje metastatskega zdravljenja po progresu bolezni. Tovrstni podatki bodo vsekakor dobrodošli za prihodnje raziskave.

3 MATERIALI IN METODE DELA

Diplomska naloga je potekala v okviru projekta eHER2 (Evidenca zdravljenja bolnic s HER2-pozitivnim rakom dojk). V tej diplomski nalogi smo se omejili na bolnice, ki so trastuzumab prejemale v okviru dopolnilnega zdravljenja, tj. zdravljenja zgodnjega raka dojk, in katerih podatki so bili popolni. Vnos podatkov je potekal na Onkološkem inštitutu Ljubljana, kjer smo imeli dostop do baze eHER2, spletne baze podatkov Web Doctor in do arhiva kartotek bolnic, ki so bile zdravljene s trastuzumabom v okviru dopolnilnega zdravljenja v obdobju od avgusta 2005 do konca leta 2008. Podatke smo vnašali 6 mesecev.

3.1 Projekt eHER2

eHER2 je širše zastavljena raziskava, ki spremlja zdravljenje bolnic s HER2-pozitivnim rakom dojk še najmanj 5 let po zaključku njihovega zdravljenja. Namen projekta je pregled zdravljenja bolnic s HER2-pozitivnim rakom dojk v rutinski klinični praksi in pregled rezultatov zdravljenja zgodnjega, lokalno napredovalega in razsejanega raka dojk, spremljanje neželenih učinkov zdravljenja, spremljanje izidov rutinskega spremljanja srčne funkcije pri bolnicah, ki se zdravijo s trastuzumabom, in razvoj računalniškega orodja za spremljanje rezultatov sistemskega zdravljenja. V nadaljevanju je predstavljen koncept projekta. (15)

Načrt projekta. Projekt je neinterventne, opazovalne, retrospektivne zasnove. Bolnice so zdravljene po ustaljeni klinični praksi. V evidenco vnašamo podatke o zdravljenju bolnic s HER2-pozitivnim rakom dojk. V projektu ni nobenih dodatnih preiskav ali obiskov bolnic. Gre za spremljanje uspešnosti in varnosti zdravljenja s trastuzumabom bolnic s HER2-pozitivnim rakom dojk v Sloveniji in različne preseke znotraj te populacije bolnic. (15)

Opazovana populacija in trajanje projekta. V evidenci spremljamo vse bolnice, ki so prejemale trastuzumab na Onkološkem inštitutu v Ljubljani kot del dopolnilnega zdravljenja od junija 2005 dalje, in vse bolnice s HER2-pozitivnim rakom dojk, zdravljene v letih od 2008 do 2010 z možnostjo podaljšanja projekta.

Pogoj za vnos v evidenco je **histološko potrjen rak dojk, ki je HER2-pozitiven** (imunohistokemično in/ali s fluorescentno hibridizacijo *in situ*).

Vse bolnice bomo spremljali najmanj 5 let, to je do leta 2015, v kolikor projekta ne bi podaljšali. Celoten projekt bo tako trajal najmanj 8 let z možnostjo podaljšanja. (15)

Zaščita in zaupnost podatkov. Za potrebe evidence so razvili računalniški program na Inštitutu za biostatistiko in medicinsko informatiko, ki omogoča vnos podatkov iz zdravstvenih kartotek. Informacijski sistem in dostop do podatkov sta ustrezno zaščiteni. Programi so nameščeni na strežniku z OS linux in delujejo na osnovi spletnih tehnologij z (My)SQL podatkovno bazo. Strežnik je zavarovan s sistemskim požarnim zidom (Cisco ASA) in požarnim zidom, nameščenim na samem strežniku. Uporabniški dostop do strežnika je mogoč le preko 128-bitno šifrirane (SSL) varne spletne povezave z uporabo uporabniškega imena in gesla. Na strežniku se izdeluje tedenska varnostna preslikava vseh podatkov in programov (tedenska varnostna kopija) ter dnevna inkrementalna varnostna preslikava (dnevna varnostna kopija).

Specifični osebni podatki v programu so datum rojstva bolnic in številka kartoteke bolnic, brez imena ali začetnic imena. Tako je onemogočena identifikacija bolnice brez sočasnega vpogleda v medicinsko dokumentacijo na podlagi številke kartoteke, ki je na voljo le pooblaščenemu medicinskemu osebju Onkološkega inštituta. (15)

Obseg zbiranja podatkov. Obseg zbiranja podatkov je nakazan v spodnji preglednici. Vnaša se osnovne podatke bolnic, informacije o njihovem dopolnilnem zdravljenju, v primeru napredovanja bolezni pa še informacije o metastatskem zdravljenju. Gre za veliko število podatkov, zato so za bazo eHER2 razvili poseben računalniški program. Podatke se vnaša z vpisovanjem v ustrezna mesta in z označevanjem možnih izbir. Princip vnašanja je prikazan na Sliki 10.

V okviru projekta spremljamo tudi neželene učinke trastuzumaba, kot je to v standardni klinični praksi. Vodimo tudi evidenco padca iztisnega deleža levega ventrikla in simptomov srčnega popuščanja.

Preglednica VI: Obseg zbiranja podatkov v bazi eHER2.

GLAVNI RAZDELEK	Podrazdelek	podrobno
OSNOVNI PODATKI	Stanje vnosa:	zdravljenje še traja/zaključeno/progres/smrt
	Podatki o bolniku:	št. popisa, datum rojstva, telesna višina, spol, menopavzni status
	Status:	živ/mrtev, datum zadnje kontrole, datum smrti
	Podatki o bolezni:	histološki podatki, HER2- status, HR-status in drugo, stadij bolezni
DOPOLNILNO ZDRAVLJENJE	Zdravljenje:	operacija, radioterapija, antraciklini, taksani, hormonske učinkovine, drugo
	Trastuzumab:	režim, kumulativni odmerek, telesna teža, prekinitev zdravljenja, kardiotskičnost, drugi neželeni učinki
	Prosti interval bolezni:	datum pojava zasevkov oz. drugega raka
	Sočasna zdravila	
METASTATSKO ZDRAVLJENJE	1. do 5. linija	

Slika 10: Prikaz baze eHER2.

Analiza podatkov poteka na Inštitutu za biostatistiko in medicinsko informatiko. Pooblaščen oseba za analizo ima administratorski dostop do podatkovne baze. Po dogovoru z vsemi sodelujočimi partnerji so predvidene naslednje analize: mesečni izpisi števila vnosov, mesečni izpis neželenih učinkov (izpis vsebuje datum rojstva, neželeni učinek, povezavo z zdravilom, opredelitev resnosti in opredelitev stopnje po CTC-

AE, če je stopnje 3 ali 4) ter periodične statistične analize: 1-krat letno deskriptivna statistika karakteristik bolnic in bolezni ter analiza preživetij (preživetja brez bolezni ter celokupnega preživetja) po skupinah bolnic.

Zbrani podatki iz projekta bodo analizirani in objavljeni v strokovni medicinski literaturi in uporabljeni za evalvacijo uspešnosti in varnosti zdravljenja v ustanovi.

Opažene resne neželene učinke poročamo v skladu z veljavno zakonodajo na pristojni organ in imetniku dovoljenja za promet, kot je to predvideno v ustaljeni klinični praksi. (15)

3.2 Obdelava podatkov v okviru diplomske naloge

Osnovno analizo (deskriptivno statistiko) vnesenih podatkov so po dogovoru izvedli na Inštitutu za biostatistiko in medicinsko informatiko (IBMI). Podatki so bili izvoženi v statistični program, končno poročilo s tabelami in grafi pa je bilo izdano v *.pdf obliki.

Za namene kompleksnejše analize, tj. za analizo preživetja brez bolezni po metodi Kaplan-Meier in Coxovo regresijo (univariantni in multivariantni model), smo za določene podatke pridobili izpis od IBMI v programu Microsoft Office Excel 2007. Izpis podatkov po ID-ju bolnice (datum rojstva, datum operacije, datum pojava zasevkov oz. drugega raka, histopatološki podatki tumorja, zdravljenje z antraciklini oz. s taksani) smo nato prenesli v program za statistiko SPSS 13.0.

Tu smo podatke dali v primerno obliko za izračun in izris krivulje preživetja brez bolezni po metodi Kaplan-Meier z namenom preveriti učinkovitost zdravljenja s trastuzumabom.

Metoda Kaplan-Meier se uporablja pri oceni kumulativne verjetnosti preživetja, upošteva vse bolnike ne glede na to, ali je pri njih prišlo do nekega dogodka ali ne (izpostavljeni bolniki). Kjer do dogodka v času spremljanja (še) ni prišlo, se ta podatek krni (angleško: *censored subject*), se pa bolnika še vedno upošteva pri številu izpostavljenih oseb. (26)

Zaradi zelo različnega in v povprečju kratkega časa spremljanja bolnikov smo se v našem primeru omejili na oceno preživetja brez bolezni, za oceno celokupnega preživetja pa podatki še niso dovolj zanesljivi. Za dogodek smo upoštevali pojav zasevkov, pojav drugega primarnega raka, raka na drugi strani ali novega raka in smrt zaradi bolezni. Čas preživetja pa smo računali od datuma operacije do datuma pojava dogodka oz. do datuma

zadnje kontrole, če do dogodka ni prišlo. Pojav dogodka smo označili z 1, ostale bolnike pa smo šteli med krnjene podatke in jih označili z 2.

Opazovano obdobje po metodi Kaplan-Meier razdelimo na časovne intervale, ki jih določimo z dnem pojava dogodka oz. krnjenja. Za vsak časovni interval najprej ocenimo »pogojno« verjetnost preživetja (tj. $1 - \text{razmerje med številom dogodkov in številom preživelih oz. izpostavljenih tveganju v danem intervalu}$), nato pa te ocene za vsak naslednji interval kumulativno množimo. (26)

V programu SPSS smo podatke analizirali s funkcijo: Analyze/Survival/Kaplan-Meier, nato pa smo še dodatno primerjali razlike med preživetjem brez bolezni posameznih skupin bolnikov glede na druge dejavnike, kot so starost ob postavitvi diagnoze, gradus, mitotska aktivnost, prizadetost bezgavk, vaskularna in perinevralna invazija, status hormonskih receptorjev, stadij bolezni in shemo zdravljenja. To smo storili tako, da smo v meniju funkcije Kaplan-Meier pod mesto »Factor« vnesli posamezno spremenljivko. Signifikantnost razlik med preživetjem smo ocenjevali s p-vrednostjo po Log Rank testu (v kolikor je ta manjša od 0,05, je razlika statistično pomembna).

Po metodi Kaplan-Meier smo torej ugotavljali statistične povezave med preživetjem brez bolezni in posameznimi spremenljivkami. Spremenljivke, pri katerih je kazalo, da imajo statistično pomemben vpliv, smo preverili še v Coxovem modelu proporcionalnih ogroženosti.

Coxova regresija je stopenjska analiza, katere ključna domneva je, da se razmerje ogroženosti s časom ne spreminja (model proporcionalnih ogroženosti). Predpostavi hipotetično osnovno funkcijo preživetja in nato preverja vpliv posameznih spremenljivk neodvisno od druge. Tako dobimo bolj zanesljiv podatek o tem, ali so razlike v preživetju signifikantne in ali so posledica zgolj ene ali več spremenljivk. Univariantni model nam prikaže razmerje ogroženosti (RO) glede na osnovno oz. referenčno vrednost spremenljivke (0), multivariantni model pa lahko še razkrije moč oz. signifikantnost ene spremenljivke v primerjavi z drugimi.

Najprej smo posamezne spremenljivke preverili v univariantnem modelu, nato pa smo tiste, ki so imele signifikanten vpliv ($p < 0,05$), vključili še v multivariantni model. Zaradi majhnega števila dogodkov v vzorcu (23 dogodkov) smo bili za natančno analizo omejeni na preverjanje vpliva le po dveh spremenljivk hkrati, saj bi sicer potrebovali vsaj 10-krat več dogodkov, kot je načrtovanih spremenljivk v modelu. Pravilneje bi bilo v

multivariantni model vključiti vse relevantne spremenljivke, vendar dobljeni rezultati v našem primeru ne bi bili zanesljivi. Ravno tako smo naleteli na težave, če je bilo pri določeni spremenljivki veliko manjkajočih podatkov. V tem primeru Coxov multivariantni model upošteva le tiste bolnike, ki imajo podatke za vse spremenljivke v modelu, s tem zmanjša število bolnikov in posledično zanesljivost rezultatov. Taki kombinaciji spremenljivk smo se zato skušali izogniti.

Predpostavljali smo, da se vpliv naših spremenljivk s časom ne spreminja, in smo tako v programu SPSS podatke analizirali s funkcijo: Analyse/Survival/Cox Regression. Pod mesto »Covariates« smo vnašali posamezne spremenljivke oz. več spremenljivk, nato pa izbrali še »metodo«, ki pomeni kriterij vnosa spremenljivk v model. Za univariantni model smo izbrali metodo »Enter«, ki zagotovi vnos spremenljivke v vsakem primeru, za multivariantni model pa metodo »Backward LR«, ki v prvem koraku doda v model vse spremenljivke in preveri statistično značilnost, v sledečih korakih pa odstrani tiste spremenljivke, ki niso signifikantne ($p > 0,05$ oz. $0,10$).

4 REZULTATI

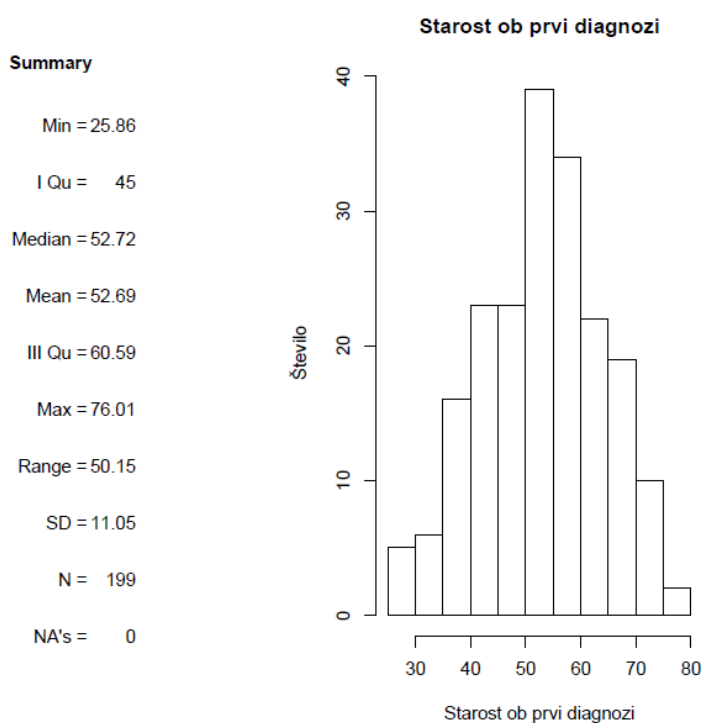
Vsi rezultati, ki so predstavljeni v tej diplomski nalogi, razen analize preživetja brez bolezni in Coxove regresije, so povzeti iz poročila »Spremljanje zdravljenja bolnikov s HER2-pozitivnim rakom dojk«, IBMI, september 2009. (19)

4.1 Število sodelujočih bolnikov

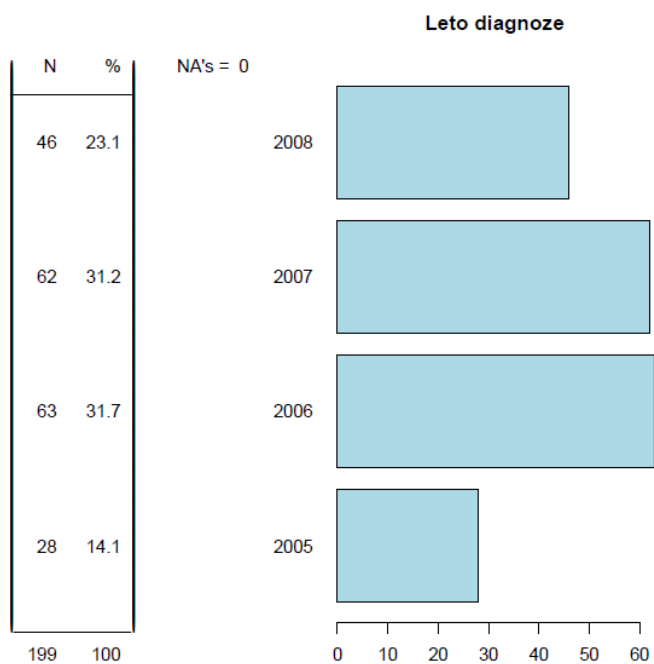
V analizo smo vključili vzorec 199 bolnikov, od tega 197 bolnic in 2 bolnika, kar predstavlja dobro polovico populacije bolnikov z zgodnjim HER2-pozitivnim rakom dojk, ki so bili zdravljeni na Onkološkem inštitutu Ljubljana med letoma 2005 in 2008, med drugim smo izločili tudi tiste bolnice, katerih podatki so bili nepopolni za analizo. V nadaljevanju besedila smo se odločili za poenoteno uporabo besede bolnica oz. bolnice (v ženskem spolu), saj gre pri raku dojk večinoma za bolezen pri ženskah in le izjemoma pri moških.

4.2 Osnovni podatki

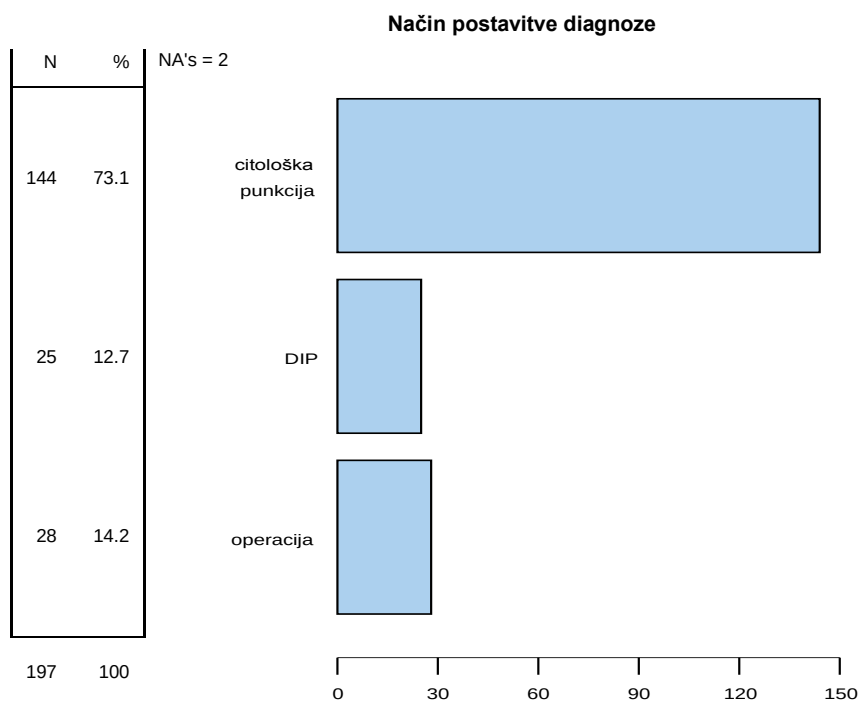
4.2.1 Status bolnic



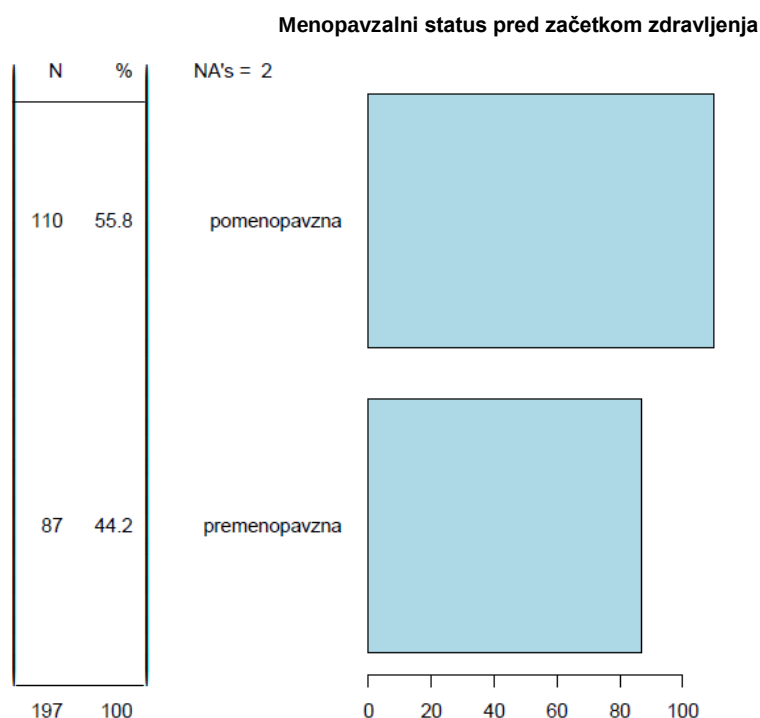
Slika 11: Porazdelitev bolnic glede na starost ob prvi diagnozi.



Slika 12: Porazdelitev bolnic glede na leto postavitve prve diagnoze.



Slika 13: Porazdelitev bolnic glede na način postavitve diagnoze.



Slika 14: Porazdelitev bolnic glede na menopavzni status pred začetkom zdravljenja.

Povprečna starost bolnic in bolnikov ob postavitvi diagnoze je bila 53 let (najmlajša bolnica je imela 26 let, najstarejša pa 76 let), od vseh 197 bolnic jih je bilo pred začetkom zdravljenja 110 že v pomenopavznem obdobju, ostalih 87 pa v premenopavznem obdobju. V zajetem vzorcu je največ bolnic iz leta 2006 in 2007 (skupaj 125 od 199). Po objavi podatkov o uporabi trastuzumaba v dopolnilnem zdravljenju junija 2005 so začeli z rutinskim dopolnilnim zdravljenjem s trastuzumabom v Sloveniji avgusta 2005, zato je iz leta 2005 zajetih manj bolnic.

Najpogostejši način postavitve diagnoze je bila citološka punkcija (pri 144 bolnicah), ki je tudi sicer najhitrejša in najenostavnejša metoda, debeloigelnna punkcija (DIP) je bila večinoma opravljena, kadar je bilo predvideno predoperativno zdravljenje. Pri 28 bolnicah so karcinom dokončno histološko potrdili pri operaciji, vendar je bil sum na raka dojke potrjen že po predhodnih slikovnih raziskavah.

4.2.2 Histopatološke značilnosti bolnic

Preglednica VII: Histološke značilnosti tumorjev.

	Število	Odstotek
Tip tumorja		
IDC	187	94,0
ILC	5	2,5
drugo	7	3,5
Gradus^I		
3	149	76,8
2	44	22,7
1	1	0,5
Ni podatka	5	
Mitoze^{II}		
3	83	48,5
2	62	36,3
1	26	15,2
Ni podatka	28	
ER-status		
pozitiven	100	50,3
negativen	99	49,7
PR-status		
pozitiven	67	33,7
negativen	132	66,3
Vaskularna invazija		
da	12	6,1
ne	106	53,5
ni podatka	81	40,4
Perinevralna invazija		
da	23	11,6
ne	125	63,1
ni podatka	51	25,3

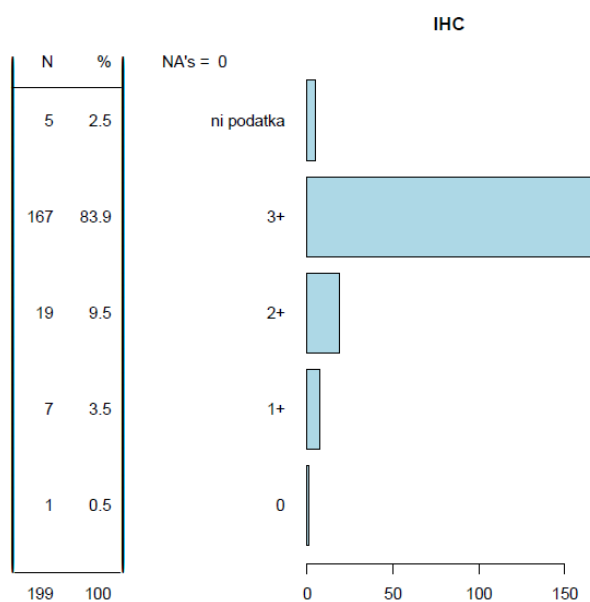
Preglednica VIII: Porazdelitev bolnic glede na status hormonskih receptorjev.

ER-status	PR-status	
	negativen	pozitiven
negativen	94 (47,24 %)	5 (2,51 %)
pozitiven	38 (19,10 %)	62 (31,16 %)

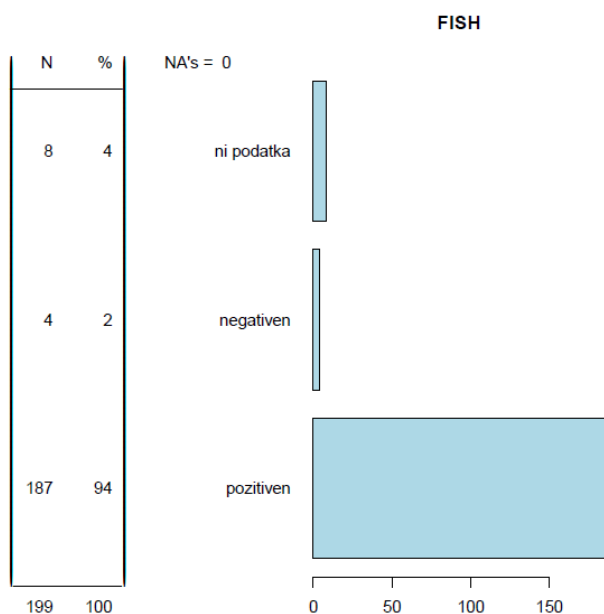
HER2-status. Vse bolnice, vključene v analizo, so imele pozitiven HER2-status, ki so ga določili bodisi imunohistokemično (IHC) bodisi po metodi fluorescentne hibridizacije *in situ* (FISH), večinoma pa po obeh metodah.

^I Gradus označuje stopnjo diferenciacije tumorja.

^{II} Mitoze (oz. mitotski indeks) označujejo pogostnost delitve celice.



Slika 15: Porazdelitev bolnic glede na HER2-status določen imunohistokemično (IHC).

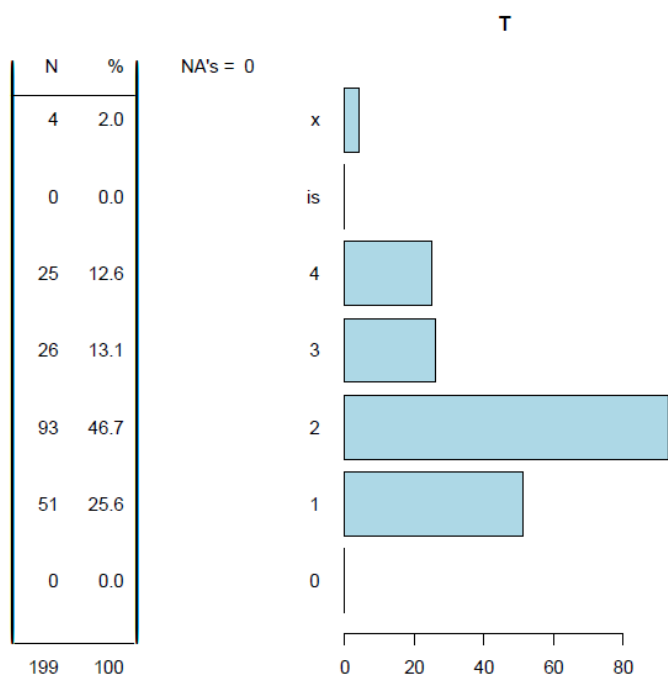


Slika 16: Porazdelitev bolnic glede na HER2-status določen po metodi fluorescentne hibridizacije *in situ* (FISH).

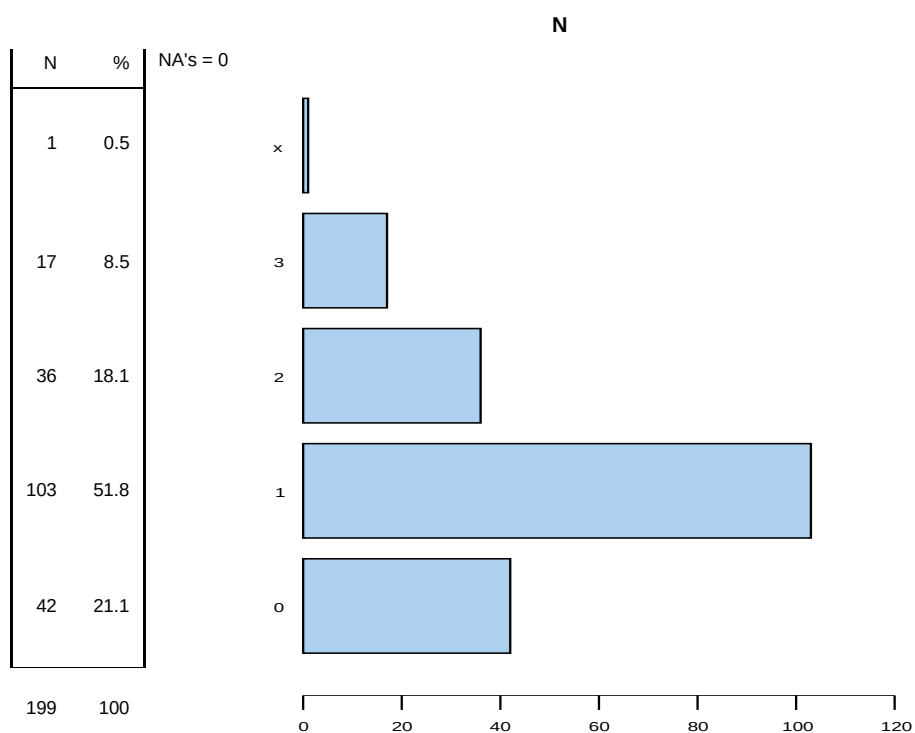
Preglednica IX: Porazdelitev bolnic glede na HER2-status, določen po obeh metodah.

IHC	FISH		
	pozitiven	negativen	ni podatka
3+	155	4	8
2+	19	0	0
1+	7	0	0
0	1	0	0
ni podatka	5	0	0

Značilnosti tumorjev glede na **TNM**-status.

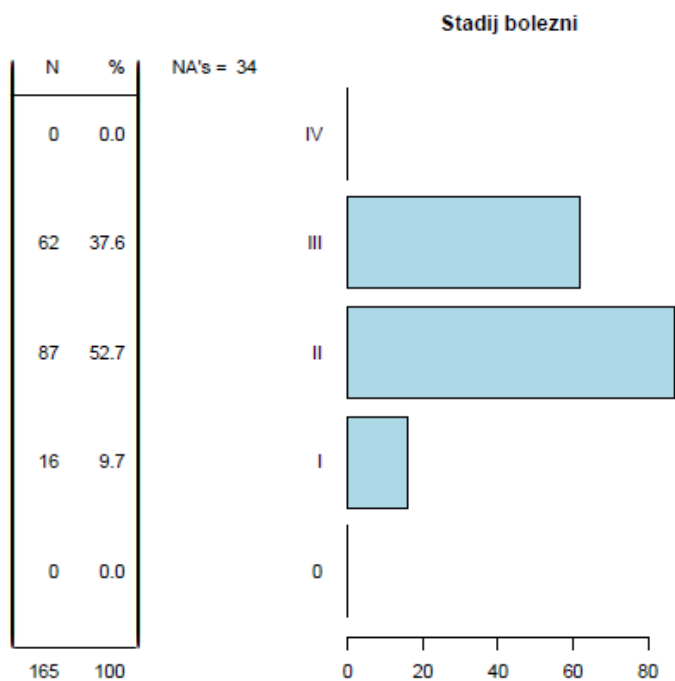


Slika 17: Porazdelitev bolnic glede na velikost tumorja (T).^{III}

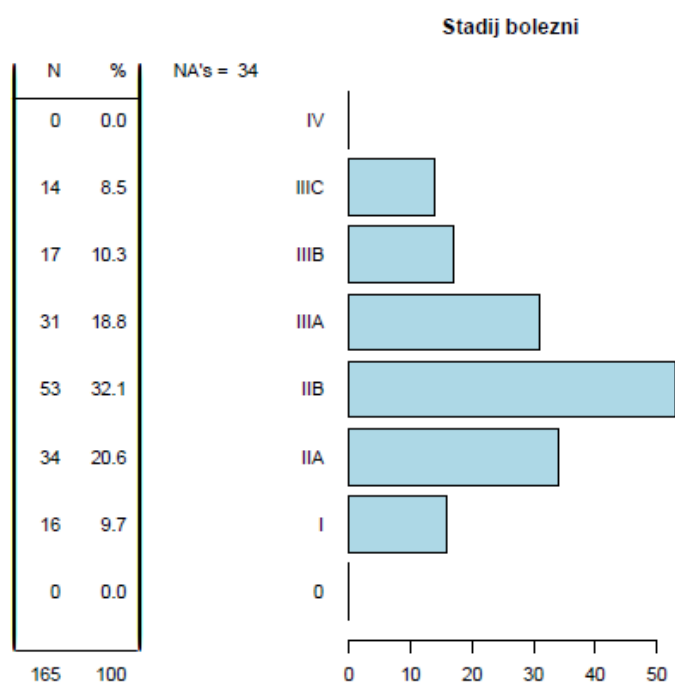


Slika 18: Porazdelitev bolnic glede na prizadetost regionalnih bezgavk (N).

^{III} X označuje, da je primarni tumor (regionalne bezgavke oz. zasevki) neocenljiv.



Slika 19: Porazdelitev bolnic glede na stadij bolezni ob prvi postavitvi diagnoze.



Slika 20: Porazdelitev bolnic glede na stadij bolezni ob prvi postavitvi diagnoze – podskupine.

Za 34 bolnic stadija bolezni ni bilo mogoče določiti, ker ni bilo vseh potrebnih podatkov; bodisi velikosti tumorja, prizadetosti bezgavk ali prisotnosti oddaljenih metastaz. V takšnih primerih je stadij po definiciji neocenljiv.

4.3 Vrste dopolnilnega zdravljenja

4.3.1 Sheme zdravljenja s citostatiki

147 bolnic je prejelo dopolnilno (adjuvantno) zdravljenje, predoperativno (neoadjuvantno) zdravljenje pa je prejelo 52 bolnic, od katerih pa 1 bolnica ni imela predvidene operacije po zaključenem zdravljenju (bolnica je operacijo odklonila).

Preglednica X: Porazdelitev bolnic glede na kemoterapijo (antraciklini z ali brez taksanov, samo taksani in ostalo).

	<i>Število</i>	<i>Odstotek</i>
antraciklini + taksani	114	57.29
antraciklini	65	32.66
taksani	15	7.54
ostalo	5	2.51

Antracikline je prejelo skupaj 89,95 % bolnic, taksane pa dodatno 57,29 % bolnic. 7,54 % bolnic je prejelo samo taksane in le 2,51 % bolnic je prejelo shemo brez antraciklinov in taksanov.

4.3.2 Druge učinkovine

Preglednica XI: Porazdelitev števila bolnic, zdravljenih z drugimi citostatiki poleg antraciklinov in taksanov.

	<i>Število</i>	<i>Odstotek</i>
ciklofosamid	185	92.96
5-fluorouracil	75	37.69
metotreksat	2	1.01
kapecitabin	1	0.50
karboplatin	1	0.50

Preglednica XII: Porazdelitev bolnic glede na kombinacijo drugih citostatikov (++ pomeni sočasno, + pa zaporedno).

	<i>Število</i>	<i>Odstotek</i>
ciklofosamid	109	54.77
5-fluorouracil++ciklofosamid	73	36.68
5-fluorouracil++ciklofosamid++metotreksat	2	1.01
ciklofosamid+kapecitabin	1	0.50
karboplatin	1	0.50
Skupaj	186	93.47

Ciklofosfamid je največ bolnic (109) prejelo v kombinaciji z antraciklini (shema EC 105 bolnic, shema AC 4 bolnice) oz. s taksani (shema CT 8 bolnic), 73 bolnic je prejelo kombinacijo ciklofosfamida in 5-fluorouracila z antraciklini (shema FEC 72 bolnic, shema FAC 1 bolnica), 2 bolnici sta prejeli kombinacijo 5-fluorouracila, ciklofosfamida in metotreksata (shema CMF), 1 bolnica je v okviru citostatskega zdravljenja prejela karboplatin skupaj z docetakselom in trastuzumabom (shema TCH), 1 bolnica pa je najprej prejela ciklofosfamid v okviru sheme EC, nato pa nadaljevala s kapecitabinom.

4.3.3 Hormonsko zdravljenje

Preglednica XIII: Porazdelitev bolnic glede na prejeto hormonsko zdravljenje.

	<i>Število</i>	<i>Odstotek</i>
tamoksifen	43	46.24
aromatazni inhibitor	44	47.31
tamoksifen → aromatazni inhibitor	4	4.30

Bolnice s pozitivnimi hormonskimi receptorji so po zaključenem citostatskem zdravljenju nadaljevale s hormonskim zdravljenjem. Premenopavne bolnice so prejemale tamoksifen v monoterapiji ali v kombinaciji z inhibitorjem LHRH, goserelinom (20 bolnic), pomenopavne bolnice pa so pričele zdravljenje z aromataznim inhibitorjem (44 bolnic) ali s tamoksifenom, 4 od teh bolnic pa so po 2- do 3-letnem zdravljenju s tamoksifenom prešle na aromatazni inhibitor.

4.3.4 Kombinacije zdravljenja sočasno s trastuzumabom

Preglednica XIV: Vrste sočasnega zdravljenja s trastuzumabom.

	<i>Število</i>	<i>Odstotek</i>
s taksani	114	57.29
s hormonskimi učinkovinami	92	46.23
v monoterapiji	33	16.58
z lapatinibom	3	1.50
z drugimi učinkovinami	3	1.50

33 bolnic je trastuzumab prejelo samostojno po zaključeni kemoterapiji oz. po operaciji, ostalih 166 pa v eni od spodaj navedenih kombinacij.

Preglednica XV: Kombinacije zdravljenja s trastuzumabom (++ pomeni sočasno, + HT pomeni sočasno zdravljenje s hormonskimi učinkovinami po zaključeni kemoterapiji).

	<i>Število</i>	<i>Odstotek</i>
trastuzumab ++ taksani	73	36.68
trastuzumab ++ HT	49	24.62
trastuzumab ++ taksani + HT	38	19.10
trastuzumab v monoterapiji	33	16.58
trastuzumab ++ lapatinib ++ HT	3	1.51
trastuzumab ++ taksani ++ ciklofosfamid + HT	2	1.01
trastuzumab ++ taksani ++ karboplatin	1	0.50
vsota	199	100.00

111 bolnic je prejelo trastuzumab najprej sočasno s taksani (običajno 12 tednov), nato samostojno do 1 leta z ali brez hormonskih učinkovin. 2 bolnici sta trastuzumab najprej prejeli sočasno s taksanom in ciklofosfamidom, nato pa nadaljevali še s hormonskimi učinkovinami. Ena bolnica je prejela trastuzumab v okviru sheme TCH.

9 bolnic je bilo vključenih v multicentrično klinično raziskavo ALTTO, 2 bolnici sta bili razvrščeni v 1. roko (trastuzumab 3-tedensko, 52 tednov), 4 bolnice v 3. roko (trastuzumab tedensko, 12 tednov, premor 6 tednov, lapatinib, 34 tednov) in 3 bolnice v 4. roko (trastuzumab 3-tedensko + sočasno lapatinib, 52 tednov). Skupaj 7 bolnic je tako poleg trastuzumaba prejelo še lapatinib, od tega 3 sočasno.

4.3.5 Obsevanje

130 bolnic je bilo v okviru dopolnilnega zdravljenja obsevanih, od tega 127 v času zdravljenja s trastuzumabom.

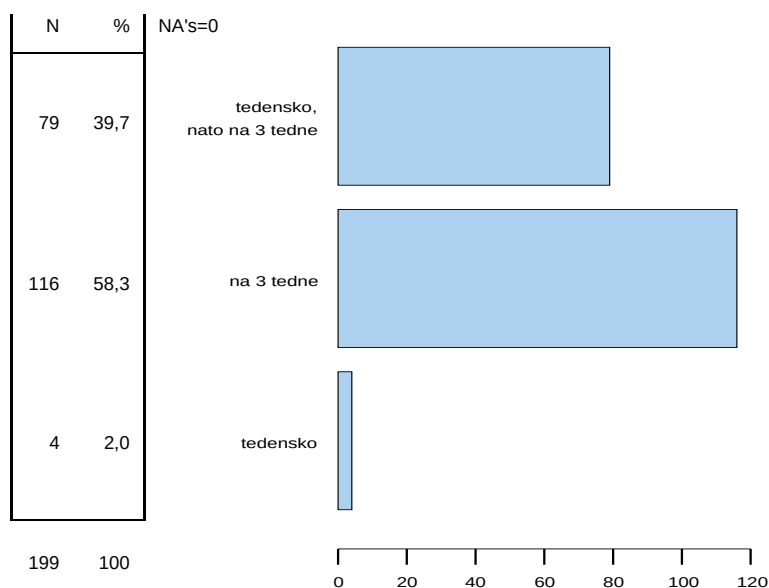
4.4 Trastuzumab

Vseh 199 bolnic je v okviru dopolnilnega zdravljenja prejelo trastuzumab. 44 (22.11 %) bolnic zdravljenja s trastuzumabom do časa analize še ni zaključilo. 6 (3.02 %) bolnic je trastuzumab prejelo že v okviru predoperativnega (neoadjuvantnega) zdravljenja.

4.4.1 Režim odmerjanja trastuzumaba

Najpogostejši režim odmerjanja je bil na 3 tedne (pri 116 bolnicah), 79 bolnic je trastuzumab najprej prejelo po tedenskem režimu (običajno 12 tednov skupaj z

aplikacijami citostatika, npr. taksana), nato pa po 3-tedenskem režimu. Le 4 bolnice so trastuzumab ves čas prejemale po tedenskem režimu.



Slika 21: Porazdelitev bolnic glede na režim odmerjanja trastuzumaba.

4.4.2 Trajanje zdravljenja s trastuzumabom

Pri 195 bolnicah je bilo načrtovano trajanje zdravljenja 1 leto v skladu s trenutnimi smernicami zdravljenja. Na Onkološkem inštitutu je sočasno potekala tudi multicentrična klinična raziskava ALTTO, katere namen je proučiti učinkovitost nove tarčne molekule lapatinib v dopolnilnem zdravljenju samostojno ali v kombinaciji s trastuzumabom. Bolnice so randomizirane v 4 skupine (roke):

1. roka: trastuzumab 3-tedensko, 52 tednov
2. roka: lapatinib, 52 tednov
3. roka: trastuzumab tedensko 12 tednov, premor 6 tednov, lapatinib 34 tednov
4. roka: trastuzumab 3-tedensko + sočasno lapatinib, 52 tednov

4 bolnice, ki so bile vključene v 3. roko raziskave ALTTO (trastuzumab, premor, lapatinib), so bile po protokolu s trastuzumabom zdravljene 12 tednov.

Prekinitve zdravljenja s trastuzumabom. Od 195 bolnic jih je 20 med zdravljenjem s trastuzumabom imelo prekinitve, od tega jih je 16 imelo po eno prekinitve, 3 bolnice so imele dve prekinitvi in 1 bolnica tri prekinitve. V povprečju je posamična prekinitve trajala

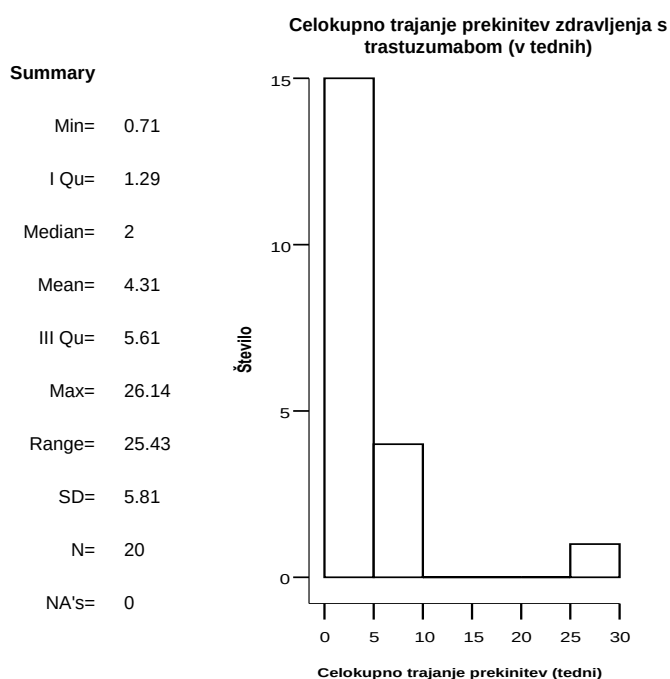
3,45 tedna (mediana 2 tedna), celokupno trajanje prekinitev na bolnico pa je bilo v povprečju 4,31 tedna (mediana 2 tedna).

Preglednica XVI: Vzroki za prekinitev, neželeni učinki trastuzumaba.

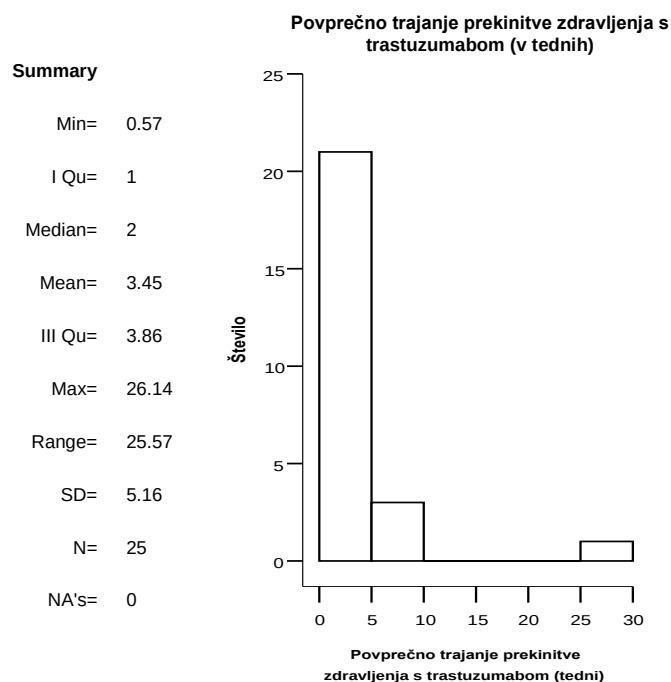
	<i>Število</i>	<i>Odstotek</i>
bicitopenija	1	0,50
kožne spremembe	2	1,01
sum na okvaro srčne mišice: - padec LVEF	3	1,51
- klinični znaki	2	1,01
sum na BOOP	1	0,50

Preglednica XVII: Vzroki za prekinitev, drugi vzroki.

	<i>Število</i>	<i>Odstotek</i>
sočasna okužba	7	3,52
na željo bolnice	5	2,51
načrtovana prekinitev zaradi operacije	2	1,01
drugo: -ugotovljena hipotiroza	1	0,50
-nevtropenija zaradi sočasne kemoterapije	1	0,50



Slika 22: Celokupno trajanje prekinitev zdravljenja s trastuzumabom (v tednih) pri posameznih bolnicah s prekinitvami.



Slika 23: Trajanje posamične prekinitve (v tednih).

Predčasen zaključek zdravljenja s trastuzumabom. Od 155 bolnic, ki so zdravljenje s trastuzumabom zaključile, je 11 bolnic (5,53 %) zdravljenje zaključilo predčasno, 6 bolnic zaradi ponovitve bolezni, 4 bolnice zaradi neželenih učinkov trastuzumaba (kardiotoksičnost), v enem primeru pa je bilo zdravljenje ukinjeno na željo bolnice.

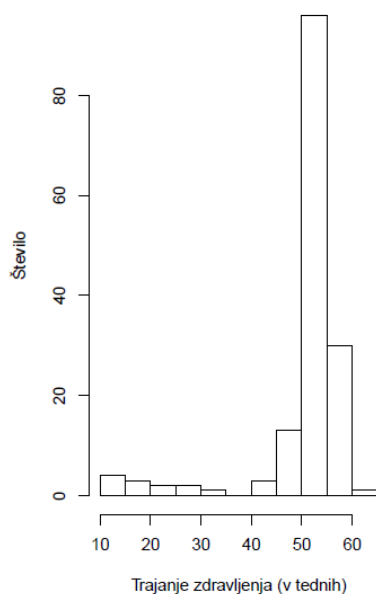
Preglednica XVIII: Vzroki predčasnega zaključka zdravljenja.

	Število	Odstotek
napredovanje bolezni (progres)	6	3.02
neželeni učinki – kardiotoksičnost	4	2.01
na željo bolnice	1	0.50

Trajanje zdravljenja. Slika 24 prikazuje dejanski čas zdravljenja, kjer smo upoštevali oz. odšteli čas trajanja prekinitev. Povprečno trajanje zdravljenja s trastuzumabom pri 155 bolnicah, ki so zdravljenje zaključile, je bilo 50,56 tednov (mediana 53,86 tednov) z odštetimi prekinitvami. Slika 25 prikazuje celokupno trajanje zdravljenja s trastuzumabom, ki je v povprečju 51,04 tedna (mediana 54 tednov), vključujoč čas trajanja prekinitev.

Summary

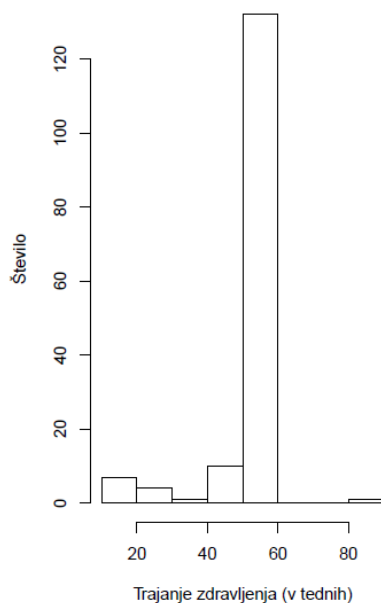
Min = 11.86
 I Qu = 51
 Median = 53.86
 Mean = 50.56
 III Qu = 54.43
 Max = 63
 Range = 51.14
 SD = 9.7
 N = 155
 NA's = 44



Slika 24: Porazdelitev trajanja zdravljenja s trastuzumabom, prekinitve so odštete.

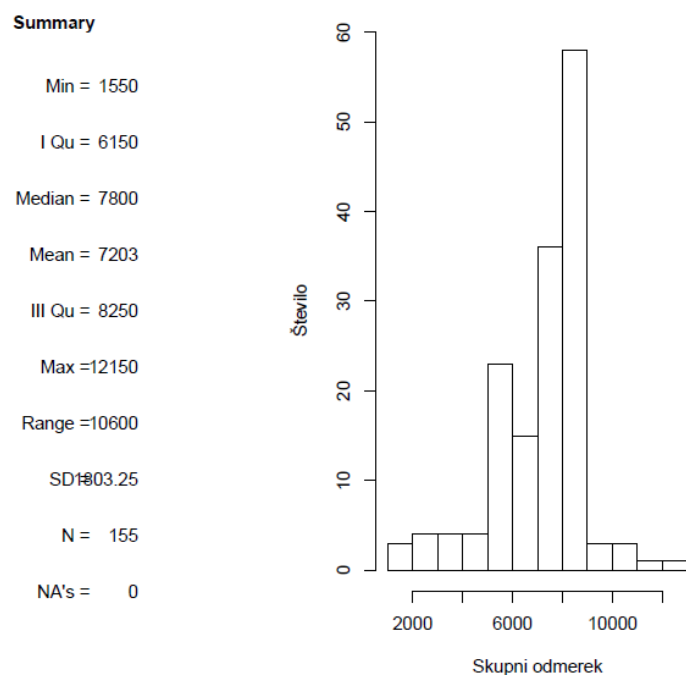
Summary

Min = 11.86
 I Qu = 51.14
 Median = 54
 Mean = 51.04
 III Qu = 55
 Max = 89.14
 Range = 77.29
 SD = 10.1
 N = 155
 NA's = 44

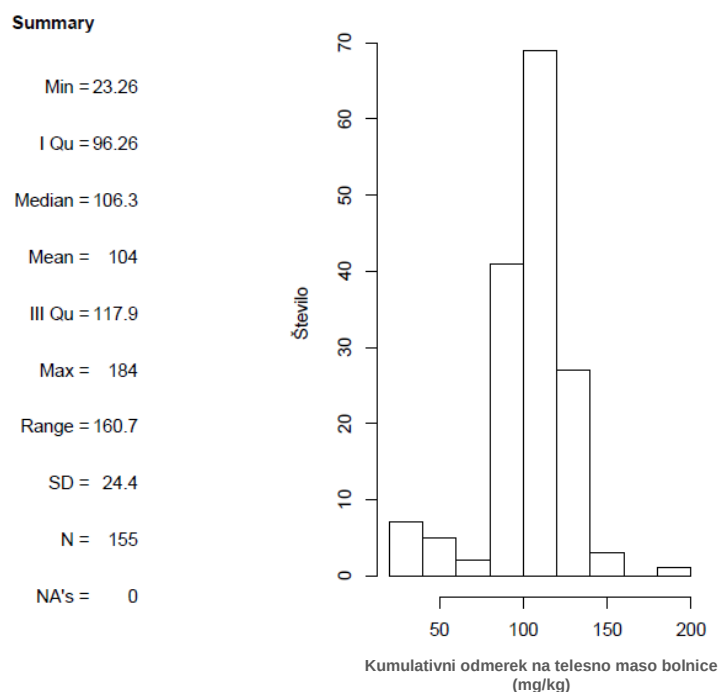


Slika 25: Porazdelitev celokupnega trajanja zdravljenja s trastuzumabom, od datuma 1. aplikacije do zadnjega dne zadnjega cikla trastuzumaba. Zadnji dan zadnjega cikla trastuzumaba je opredeljen kot 21. dan od zadnje aplikacije trastuzumaba pri 3-tedenskem režimu oz. kot 7. dan od zadnje aplikacije pri tedenskem režimu.

4.4.3 Celokupni in povprečni odmerek trastuzumaba



Slika 26: Porazdelitev celokupnega odmerka trastuzumaba (v mg) za bolnice, ki so zdravljenje zaključile.



Slika 27: Porazdelitev kumulativnega odmerka trastuzumaba na telesno maso (v mg/kg) za bolnice, ki so zdravljenje zaključile.

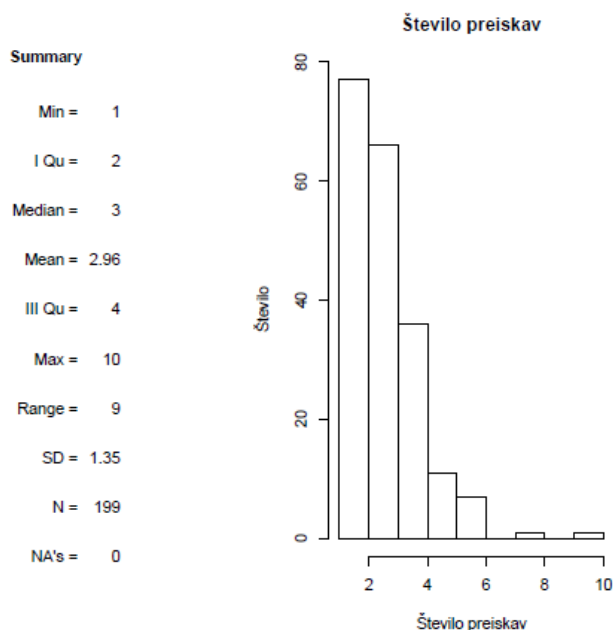
Pri bolnicah, ki so zaključile zdravljenje s trastuzumabom, je bil povprečni celokupni (kumulativni) odmerek 7203 mg (mediana 7800 mg), kumulativni odmerek trastuzumaba na telesno maso bolnice pa je bil 104 mg/kg (mediana 106,3 mg/kg). Predviden odmerek za dopolnilno zdravljenje je 110 mg/kg. Pri 3-tedenskem režimu je uveljavni odmerek 8 mg/kg, nato sledi 17 ciklov vzdrževalnega odmerka 6 mg/kg na 3 tedne. Pogosto pričujemo tudi s tedenskim režimom skupaj s sočasnim prejetjem taksana (skupaj 12 tednov), nato sledi 3-tedenski režim. Uveljavni odmerek je torej 4 mg/kg, sledi 11 ciklov vzdrževalnega odmerka 2 mg/kg na teden, nato pa še 14 ciklov vzdrževalnega odmerka 6 mg/kg na 3 tedne). V povprečju so bolnice prejele 95 % predvidenega odmerka.

4.4.4 Neželeni učinki – kardiotsičnost

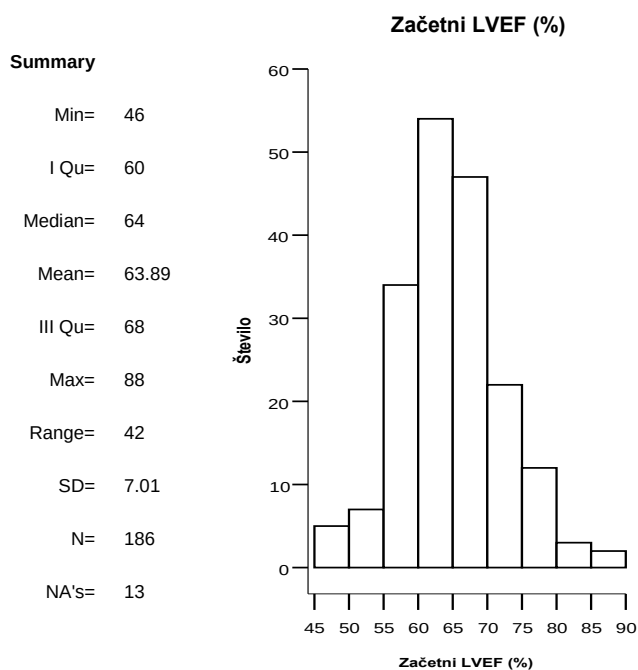
Za spremljanje srčne funkcije so bile bolnice napotene na pregled oz. oceno iztisnega deleža levega ventrikla (LVEF) bodisi z ultrazvokom (UZ) bodisi z ventrikulografijo (MUGA).

Preglednica XIX: Število vseh opravljenih preiskav – kadarkoli med zdravljenjem.

	Število	Odstotek
UZ	144	72.36
MUGA	115	57.79

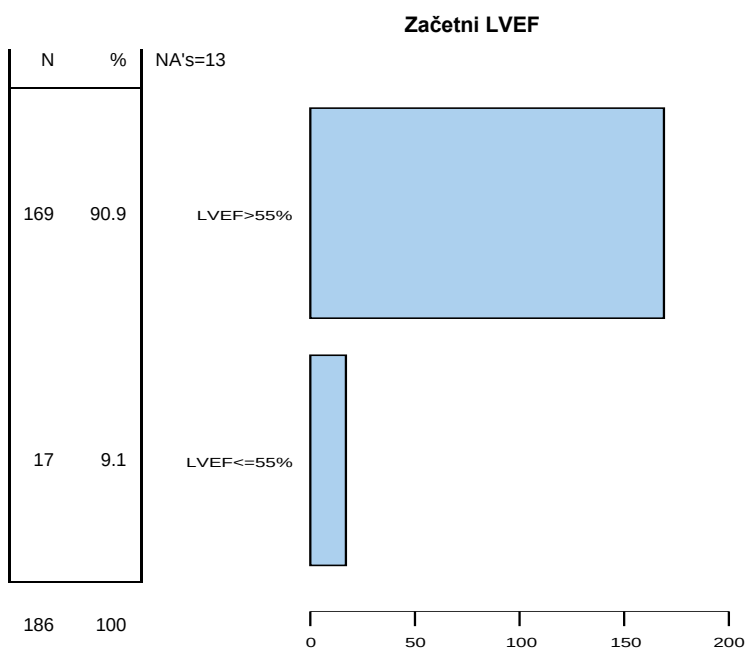


Slika 28: Porazdelitev števila preiskav na bolnico. 22 bolnic je imelo med zdravljenjem eno preiskavo, 54 dve, 67 tri, 37 bolnic štiri, 19 bolnic pa je imelo 5 preiskav ali več.

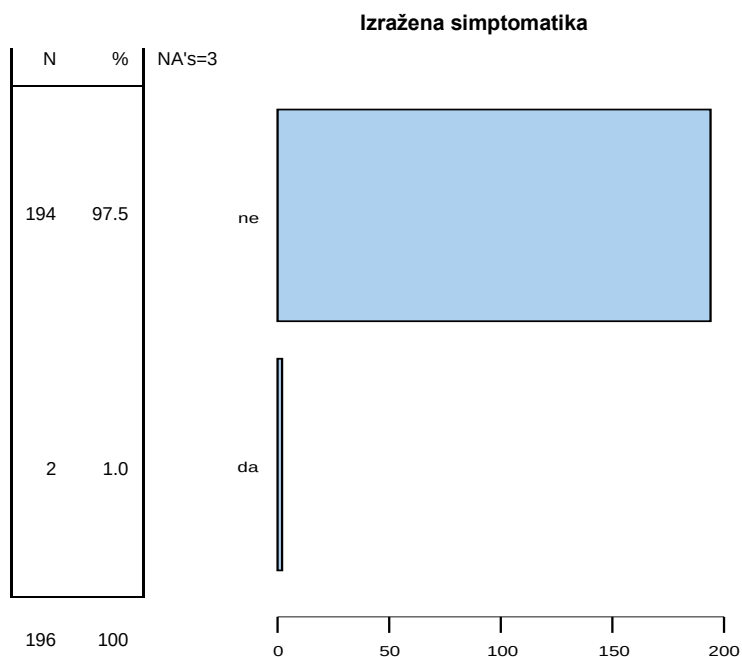


Slika 29: Porazdelitev bolnic glede na začetne vrednosti LVEF (%).

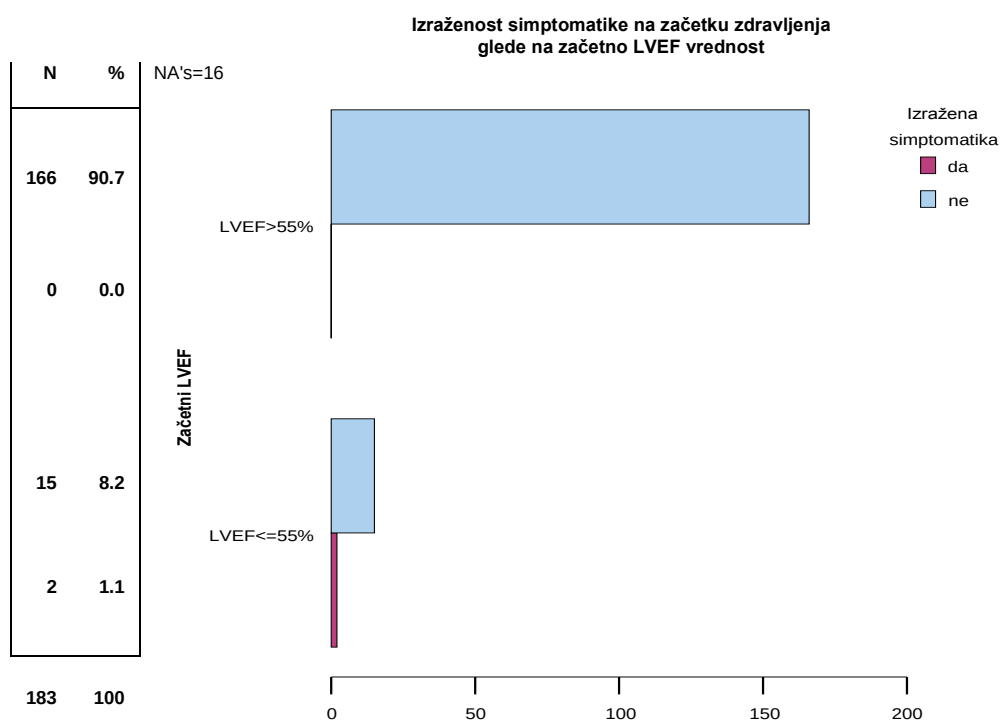
Ob prvi kontroli srčne funkcije je bila vrednost LVEF pri 169 bolnicah normalna, tj. večja od 55 %, pri 17 bolnicah je bila enaka ali nižja od 55 %. Pri 13 bolnicah ocena LVEF ni bila zabeležena, izvid ultrazvoka pa je bil v mejah normale.



Slika 30: Začetna vrednost LVEF (<=55% oz. >55%).



Slika 31: Porazdelitev bolnic glede na izraženost simptomatike srčnega popuščanja na začetku zdravljenja.



Slika 32: Izraženost simptomatike na začetku glede na vrednost LVEF.

Izmed 17 bolnic, ki so ob prvi kontroli imeli nižjo začetno LVEF vrednosti ($\leq 55\%$), sta 2 bolnici imeli tudi izraženo simptomatiko srčnega popuščanja, vendar pa so bili vsi nadaljnji izvidi pri obeh bolnicah v mejah normale, tako da z zdravljenjem nista prekinili.

Kot že omenjeno v poglavju 4.4.2, je imelo med zdravljenjem s trastuzumabom 5 bolnic prekinitev zdravljenja zaradi suma na okvaro srčne mišice, 4 bolnice (2,01 %) pa so zaradi posledic kardiotoksičnosti trastuzumaba zdravljenje predčasno zaključile.

4.4.5 *Drugi neželeni dogodki*

Beležili smo vse neželene dogodke, ki so jih navedle bolnice, tako jih je veliko posledica tudi sočasnega zdravljenja s citostatiki, hormonskimi učinkovinami ali z drugimi zdravili. V glavnem pa smo bili pozorni na neželene učinke, povezane s trastuzumabom. 168 (84,42 %) bolnic je poročalo o vsaj enem od navedenih neželenih dogodkov.

Preglednica XX: Število bolnic s posameznim neželenim dogodkom.

	<i>Število</i>	<i>Odstotek</i>
zvišana telesna temperatura, mrzlica	51	25.63
utrujenost	94	47.24
drugo (Preglednica XXII:)	144	72.36
bolnice brez neželenih dogodkov (N.D.)	31	15.58

Preglednica XXI: Neželeni dogodki glede na resnost in čas pojava.

	<i>Število</i>	<i>Odstotek</i>
bolnice s posameznim N.D.	168	84.42
N.D. 3. ali 4. stopnje	34	17.09
resni N.D.	19	9.55
N.D. ob prvi infuziji trastuzumaba	58	29.15
N.D. po prvi infuziji trastuzumaba	154	77.39

34 bolnic je imelo hud neželeni dogodek, tj. stopnje 3 ali 4 po kriteriju CTCAE v 3.0 (20) (stopnja 3: neželen učinek povzroča hude težave, potrebno je lahko tudi zdravljenje neželenega učinka in/ali bolnik je hospitaliziran; stopnja 4: bolnik je življenjsko ogrožen), 19 bolnic pa je imelo resni neželeni dogodek (*SAE – serious adverse event*; tj. v primeru smrti, neposredne življenjske ogroženosti, nove hospitalizacije, podaljšanja hospitalizacije, dolgotrajne ali izrazite nezmožnosti ali nesposobnosti, prirojene anomalije, nujnega posredovanja za preprečitev zgornjega neželenega učinka ali če se meni, da gre za klinično pomembno stanje), od tega jih je 6 imelo resne neželene učinke, povezane s trastuzumabom. Ob prvi aplikaciji trastuzumaba smo neželene dogodke beležili pri 58 bolnicah (predvsem zvišana telesna temperatura, mrzlica, utrujenost, slabost), pri 154 bolnicah pa so se neželeni dogodki pojavili kasneje. (21)

Preglednica XXII: Klasifikacija drugih neželenih dogodkov po podatkovni bazi MedDRA glede na organske sisteme.

Organski sistem	Neželeni dogodek	Število	Odstotek
Motnje reprodukcije in dojk	klimakterične težave	43	21.6
	krvavitev iz nožnice	4	2.0
	bolečine v področju jajčnikov	1	0.5
	suha sluznica genitalij	1	0.5
Bolezni živčevja	periferna nevropatija	43	21.6
	vertoglavica	10	5.0
	glavobol	10	5.0
	nestabilnost nog	2	1.0
	kolaps	1	0.5
	nevropatska bolečina na predelu, kjer je bil prej izpuščaj	1	0.5
	šumenje v ušesih	1	0.5
	pareza desne polovice telesa	1	0.5
	omotica	1	0.5
	izpuščaj	30	15.1
	spremembe nohtov	27	13.6
Bolezni kože in podkožja	izpadanje trepalnic in obrvi	2	1.0
	kožna sprememba nad prsnico	1	0.5
	fotosenzibilnost kože	1	0.5
	srbečica kože	1	0.5
	okužba	29	14.6
	herpes zoster	2	1.0
Bolezni prebavil	spremembe na sluznici ust, stomatitis	26	13.1
	driska	20	10.1
	slabost	19	9.5
	bruhanje	11	5.5
	sprememba okusa	6	3.0
	zaprtje	5	2.5
	sveža kri v blatu	4	2.0
	krči v trebuhu	2	1.0
	bolečine v epigastriju	2	1.0
	napenjanje	1	0.5
	krči v spodnjem delu trebuha	1	0.5
	nevtropenija	14	7.0
	anemija	4	2.0
Bolezni krvi in limfatičnega sistema	febrilna nevtropenija	3	1.5
	bicitopenija	1	0.5
	levkocitoza	1	0.5
	levkopenija	1	0.5
	mikrocitna anemija	1	0.5
	trombocitopenija	1	0.5
	otekanje okončin	28	14.1
	zvišan krvni tlak	13	6.5
Žilne bolezni	rdečica	7	3.5

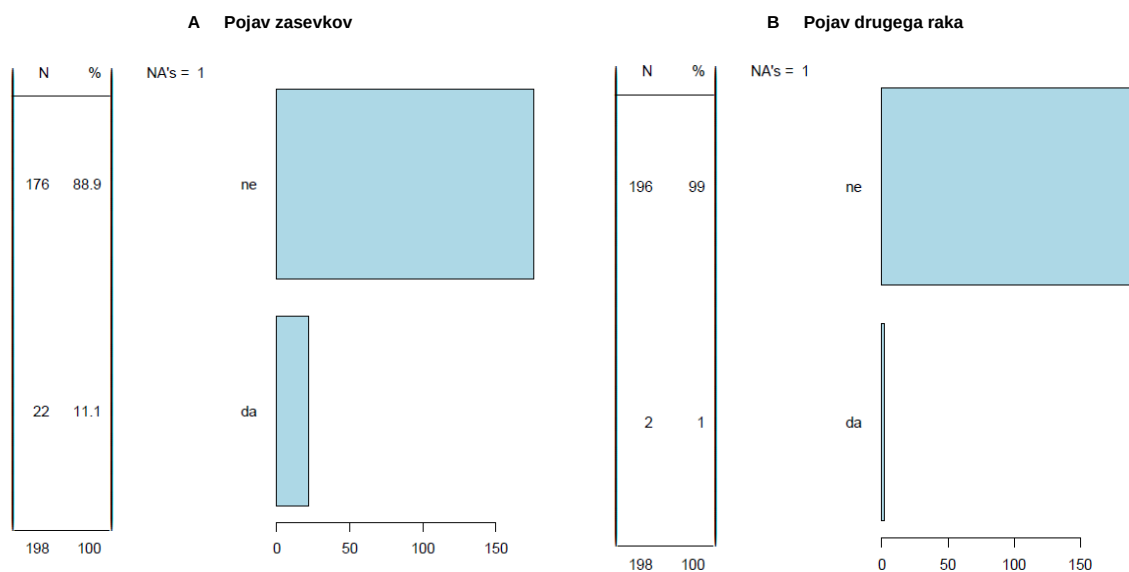
Organski sistem	Neželeni dogodek	Število	Odstotek
	nizek krvni tlak	2	1.0
	težave z žilami	1	0.5
	globoka venska tromboza	1	0.5
Bolezni dihal, prsnega koša in mediastalnega prostora	epistaksa	11	5.5
	dispneja	10	5.0
	dražec kašelj	8	4.0
	spremembe nosne sluznice	3	1.5
	hripavost	2	1.0
	bolečine v grlu	1	0.5
	občasne bolečine pri globokem vdihu	1	0.5
	sprememba barve glasu	1	0.5
Preiskave	spremembe jetrnih testov	7	3.5
	hiperglikemija	4	2.0
	povečanje telesne mase	2	1.0
	patološki ščitnični hormoni	1	0.5
	osteopenija	1	0.5
	hujšanje	1	0.5
Splošne težave in spremembe na mestu aplikacije	alergična reakcija	10	5.0
	reakcija na mestu vboda	4	2.0
	bolečina v prsih	2	1.0
	dušenje, angioedem vek in ustnic	1	0.5
	otekanje ustnic in jezika, težje dihanje	1	0.5
Psihiatrične motnje^{IV}	motnje koncentracije	2	1.0
	nemir	2	1.0
	nespečnost	1	0.5
	motnje spomina	1	0.5
	tresenje	1	0.5
	brezvoljnost	1	0.5
Očesne bolezni	motnje vida	5	2.5
	poslabšanje vida	4	2.0
	solzenje	4	2.0
	spremembe očesne sluznice	3	1.5
	melanoza desnega očesa	1	0.5
Srčne bolezni	tahikardija	2	1.0
	simptomi paroksizmov		
	supraventrikularne tahikardije	1	0.5
	prehodni ishemični napad - TIA	1	0.5
Bolezni sečil	pogostejše in občasno pekoče mikcije	1	0.5
	občutek napihnjenosti, manjše odvajanje vode	1	0.5
Presnovne in prehranske motnje	slabši apetit	1	0.5

^{IV} Depresija in anksioznost nista navedeni, saj je v vseh primerih bolnic s temi motnjami šlo za že predhodno ugotovljena stanja.

4.5 Preživetje brez bolezni

4.5.1 Prosti interval

Prosti interval oz. čas brez bolezni smo opredelili kot čas od operacije do pojava dogodka, tj. smrt, pojav drugega primarnega raka, raka na drugi strani ali novega raka in pojav zasevkov. Do pojava zasevkov je prišlo pri 22 bolnicah, do pojava drugega raka pa pri 2 bolnicah.



Slika 33: Pojav zasevkov (A) in pojav drugega primarnega raka, raka na drugi strani ali novega raka (B).

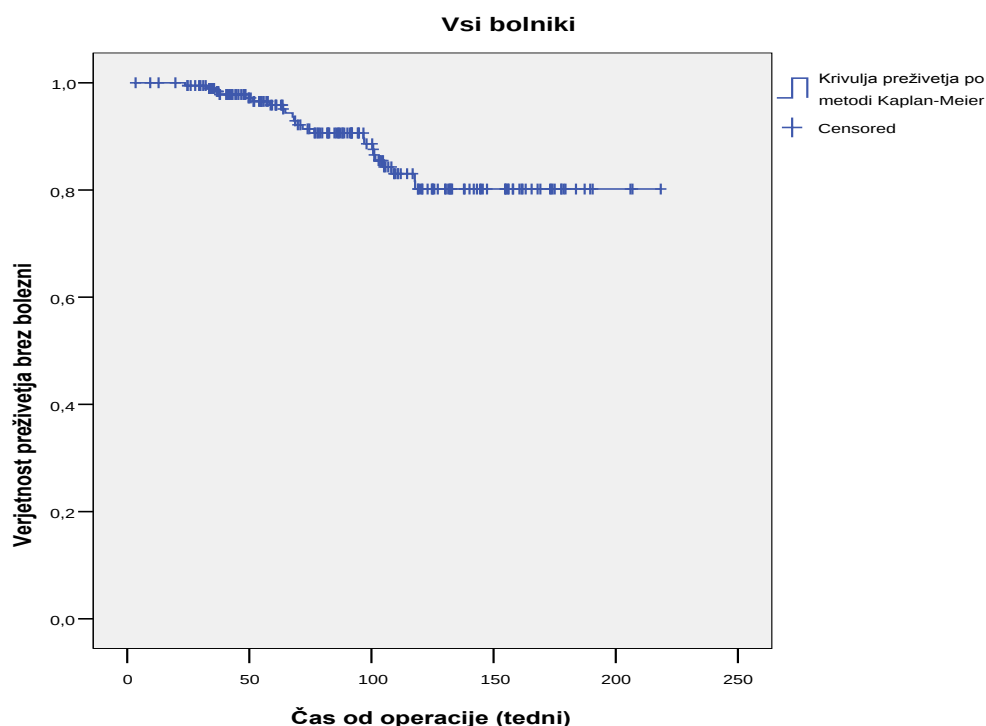
Pri 199 bolnicah smo beležili 8 smrti, ki so bile vse posledica predhodne ponovitve in nato poslabšanja bolezni.

Preglednica XXIII: Število smrti bolnic glede na predhodno ponovitev bolezni – status živ/mrtev (vrstice), pojav zasevkov oz. drugega raka (stolpci).

	da	ne	vsota
živ	16	175	191
mrtev	8	0	8
vsota	24	175	199

4.5.2 Krivulje preživetja brez bolezni

Preživetje brez bolezni smo ocenjevali od datuma operacije do datuma zadnje kontrole oz. pojava dogodka, kot je smrt, pojav drugega primarnega raka, raka na drugi strani ali novega raka in pojav zasevkov, po metodi Kaplan-Meier. Upoštevali smo 198 bolnic (od 199, saj 1 bolnica ni imela operacije) in pri njih beležili 23 dogodkov.

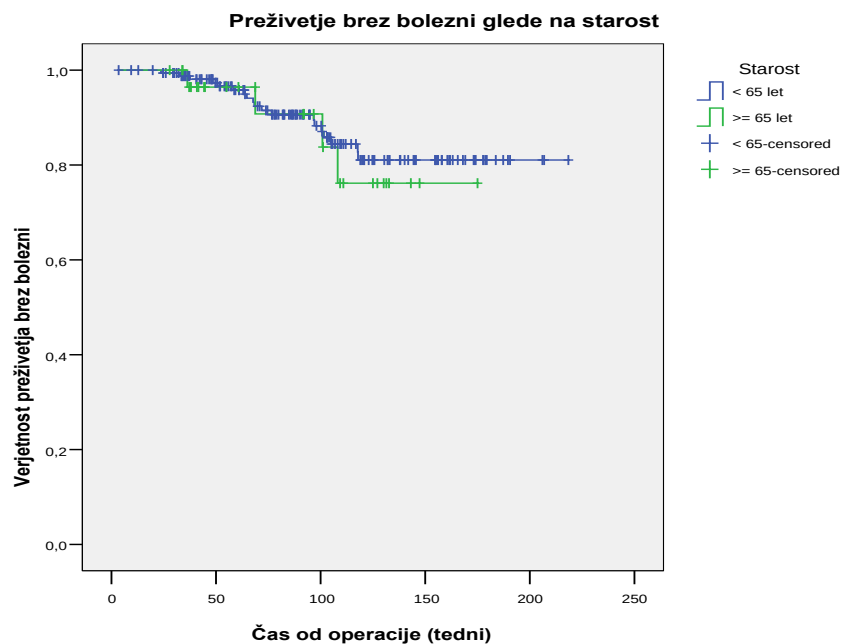


Slika 34: Krivulja preživetja brez bolezni za vse bolnice.

Mediana časa spremljanja je bila 93,7 tedna (21,9 meseca oz. 1,82 leta).

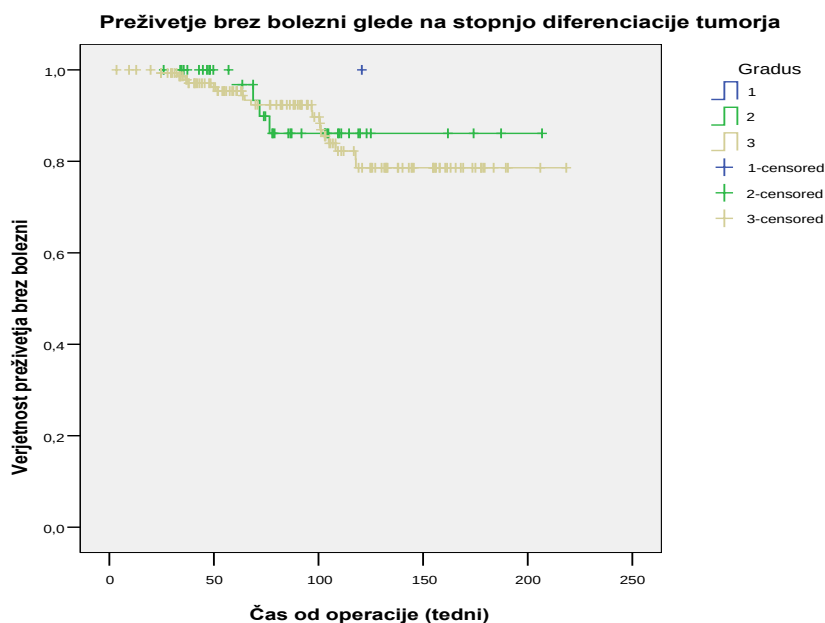
Po enem letu je bila verjetnost preživetja 96,5 %, po 18 mesecih 90,5 %, po dveh letih pa 84 %, ocena povprečnega časa preživetja brez bolezni pa je 191 tednov (44,6 meseca oz. 3,7 leta). Mediana časa preživetja še ni bila dosežena.

Na slikah od 37 do 48 so narisane krivulje preživetja brez bolezni glede na starost bolnic, lastnosti tumorja in citostatsko zdravljenje. Preverjali smo, ali med krivuljami posameznih skupin prihaja do razlik in jih nato ovrednotili še s Coxovo metodo regresije.



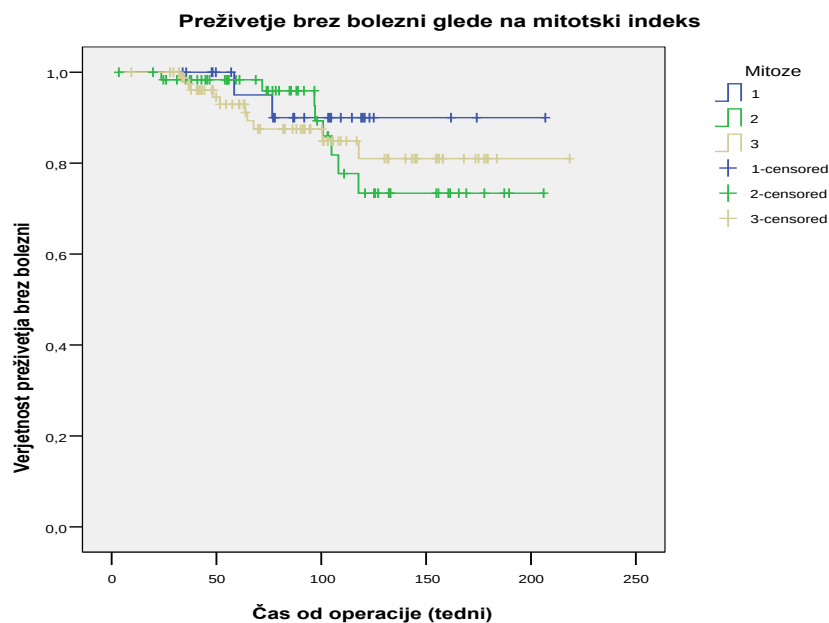
Slika 35: Krivulja preživetja brez bolezni glede na starost.

Bolnice smo razdelili v dve starostni skupini: v skupino mlajših od 65 let in skupino starih 65 let in več. Med krivuljama ni bilo statistično pomembnih razlik.

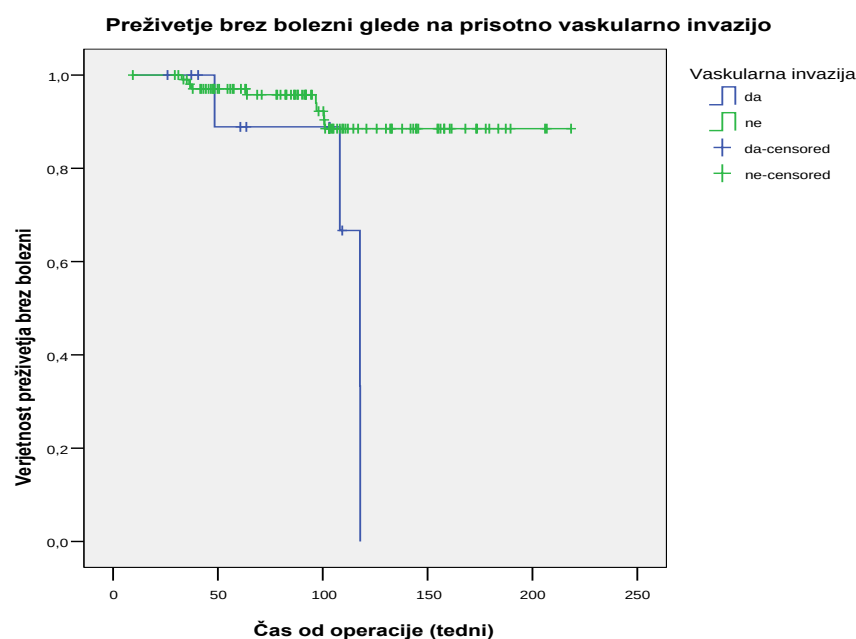


Slika 36: Krivulja preživetja brez bolezni glede na stopnjo diferenciacije tumorja (gradus).

Dobljene krivulje sicer nakazujejo pričakovane razlike, vendar te niso statistično pomembne.

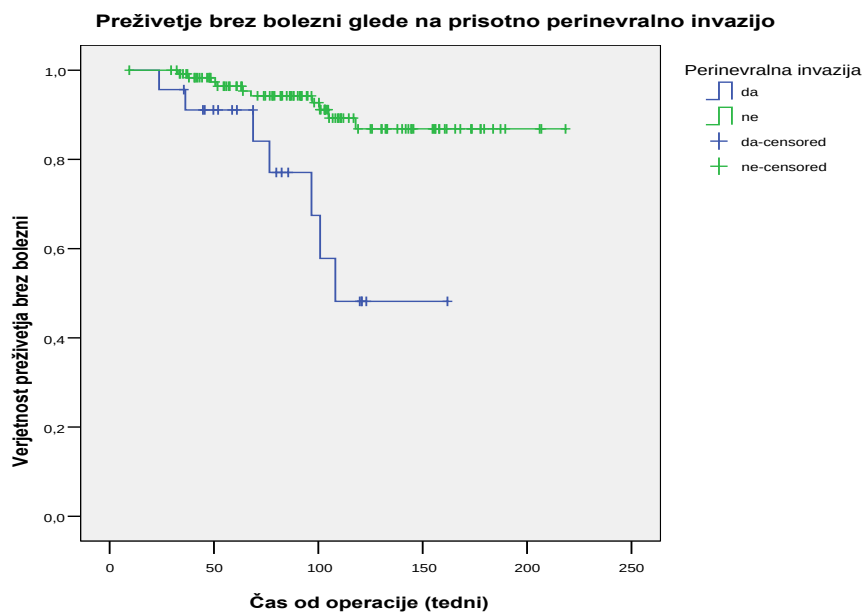


Slika 37: Krivulja preživetja brez bolezni glede na mitotski indeks (mitoze).
Dobljene krivulje nakazujejo razlike, vendar te niso statistično pomembne.



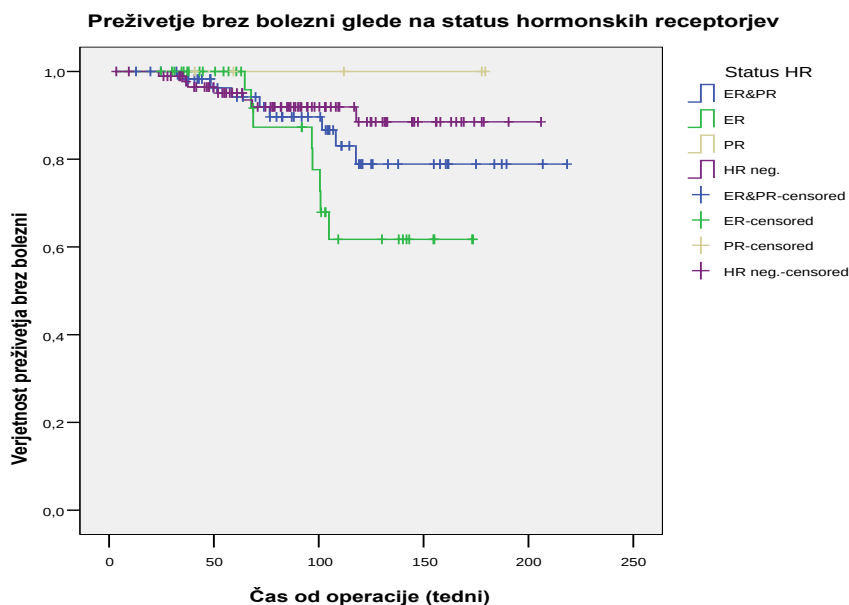
Slika 38: Krivulja preživetja brez bolezni glede na prisotno vaskularno invazijo. Za 80 bolnic ni bilo podatka.

Preživetje brez bolezni je bilo po 18 mesecih pri bolnicah z vaskularno invazijo statistično pomembno krajše ($p = 0,003$, regresija logrank), to je 88 %, v primerjavi s 95 % preživetjem pri skupini, ki ni imela vaskularne invazije. Mediana časa preživetja je bila pri bolnicah z vaskularno invazijo 118 tednov.



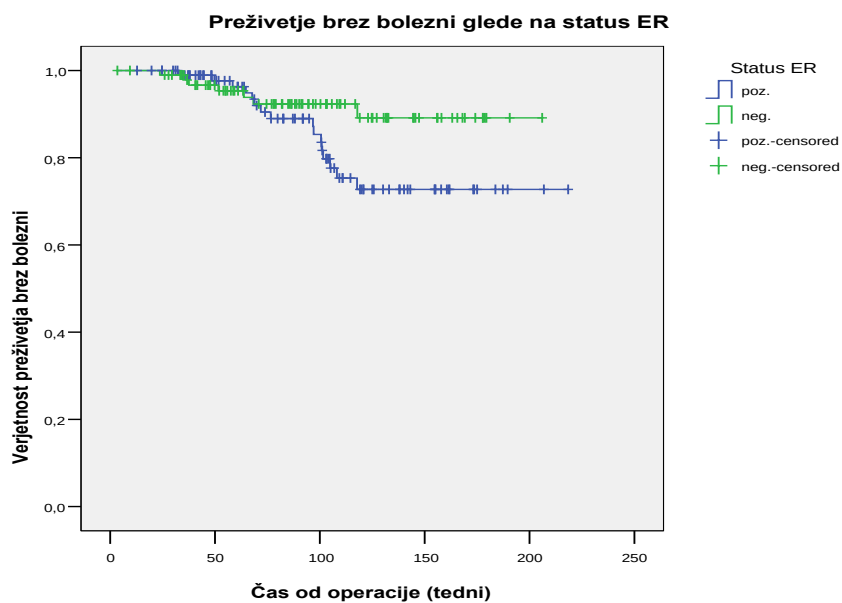
Slika 39: Krivulja preživetja glede na prisotno perinevralno invazijo. Za 50 bolnic ni bilo podatka.

Preživetje brez bolezni je bilo po 18 mesecih pri bolnicah s perinevralno invazijo statistično pomembno krajše ($p = 0,001$, regresija logrank), to je 77 %, v primerjavi s 94 % preživetjem pri skupini, ki ni imela perinevralne invazije. Mediana časa preživetja je bila pri bolnicah s perinevralno invazijo 108 tednov.



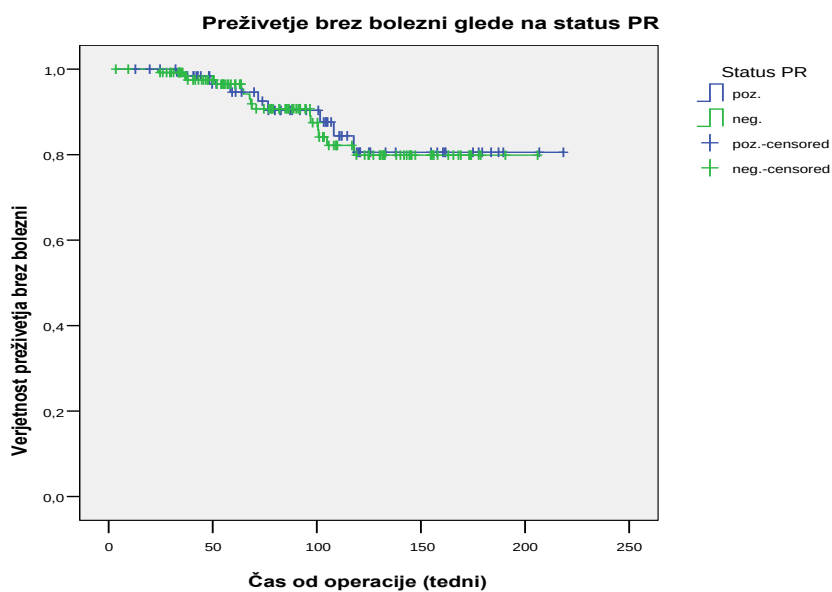
Slika 40: Krivulja preživetja brez bolezni glede na status hormonskih receptorjev.

Dobljene krivulje so neskladne s pričakovanji, med njimi so sicer nakazane razlike, vendar te niso statistično pomembne.



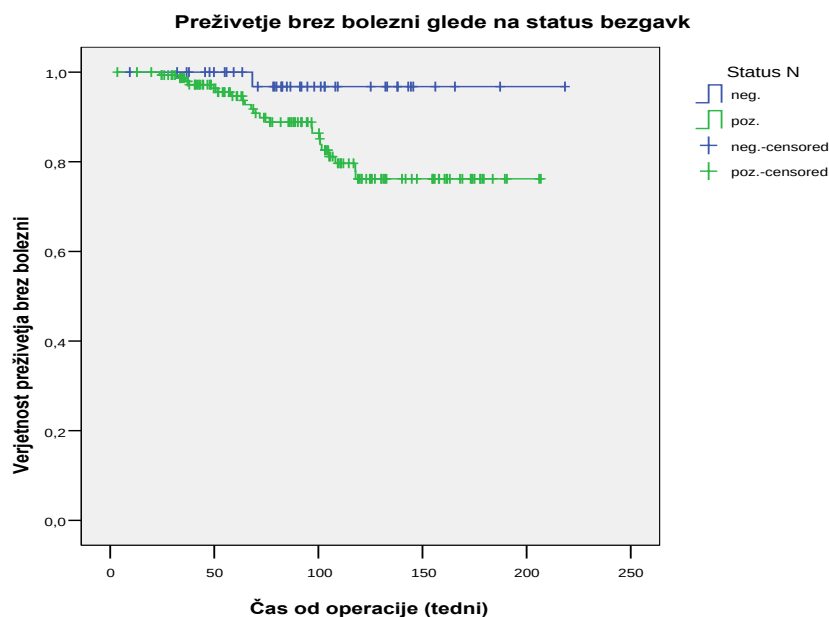
Slika 41: Krivulja preživetja brez bolezní glede na status ER.

Dobljeni krivulji sta neskladni s pričakovanji, razlike so blizu meje signifikantnosti ($p = 0,130$, regresija logrank).



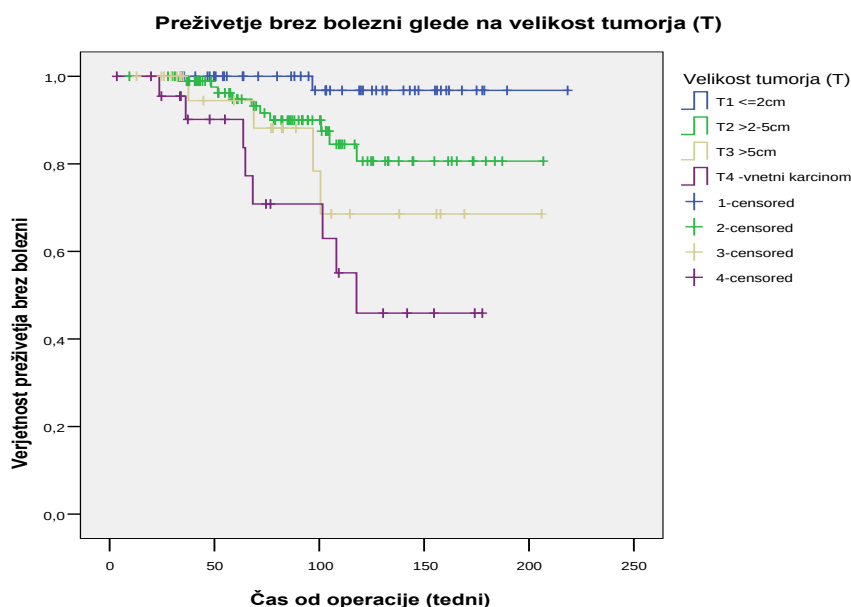
Slika 42: Krivulja preživetja brez bolezní glede na status PR.

Med krivuljama po pričakovanju ni signifikantnih razlik.



Slika 43: Krivulja preživetja brez bolezni glede na prizadetost regionalnih bezgavk.

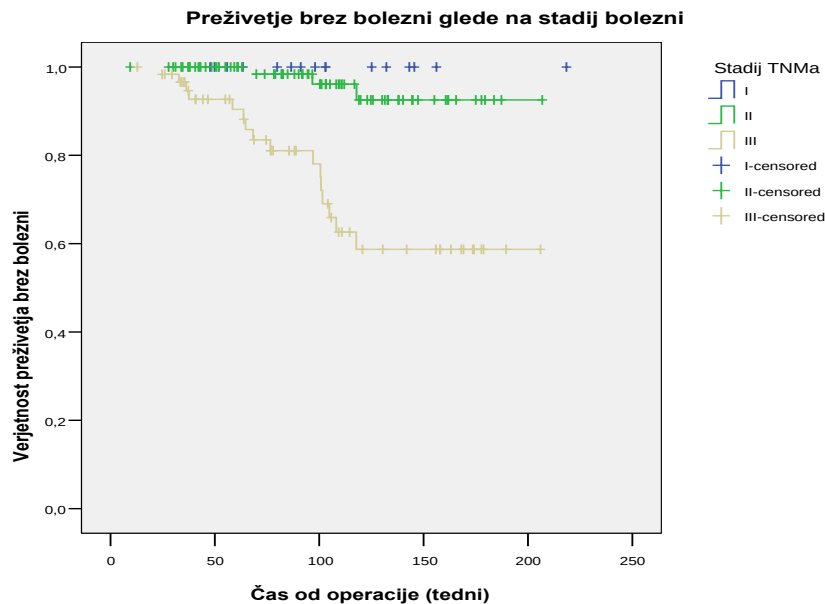
Po pričakovanjih je preživetje brez bolezni po 18 mesecih pri bolnicah s pozitivnimi bezgavkami (88 %) slabše kot pri skupini z negativnimi bezgavkami (96 %). Razlika je statistično pomembna ($p = 0,040$, regresija logrank). Mediana časa spremljanja še ni bila dosežena.



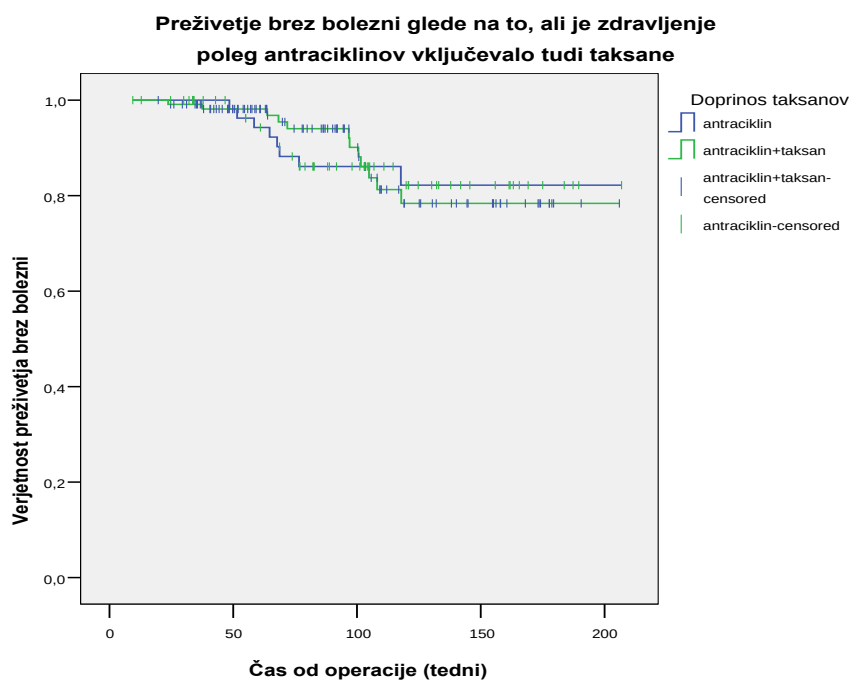
Slika 44: Krivulja preživetja brez bolezni glede na velikost tumorja ob postavitvi diagnoze (T). V analizo nismo vključili 4 bolnic, katerih primarni tumor je bil neocenljiv (Tx).

Krivulje se med seboj statistično pomembno razlikujejo ($p < 0,001$, regresija logrank).

Preživetje po 18 mesecih je bilo v skupini T1 100 %, T2 90 %, T3 88 % in T4 70 % (mediana časa preživetja za T4 je bila 118 tednov).



Slika 45: Krivulja preživetja brez bolezni glede na stadij bolezni ob postavitvi diagnoze. Med krivuljami je bila ugotovljena pomembna statistična razlika ($p < 0,001$, regresija logrank). Medtem ko v 1. skupini (stadij I) v času spremljanja še ni prišlo do dogodka, je bilo dvoletno preživetje brez bolezni v 2. skupini (stadij II) 96 %, v 3. skupini (stadij III) pa 69 %. Mediana časa spremljanja še ni bila dosežena.



Slika 46: Krivulja preživetja brez bolezni glede na to, ali je zdravljenje poleg antraciklinov vključevalo tudi taksane.

Zanimal nas je doprinos taksanov k uspešnosti zdravljenja. Bolnic, ki so prejemale tako antracikline kot taksane, je bilo 114, samo antracikline pa je prejelo 65 bolnic. Med krivuljama ni statistično pomembne razlike.

4.5.3 Coxova regresija

Univariantni model. Rezultate univariantne analize smo predstavili kot razmerje ogroženosti (RO) s 95 % intervalom zaupanja (IZ) ob predpostavki, da se učinek posameznih spremenljivk ne spreminja s časom.

Preglednica XXIV: Coxova regresija – rezultati univariantne analize.

Spremenljivka	RO	(95 % IZ)	p
Starost: ≥ 65 let vs. < 65 let	1,249	(0,425-3,674)	0,686
Gradus			0,943
2 vs. 1	2617,411	(0-3E+102)	0,946
3 vs. 1	3152,294	(0-4E+102)	0,945
Mitoze			0,713
2 vs. 1	1,851	(0,393-8,716)	0,436
3 vs. 1	1,842	(0,403-8,409)	0,431
Vaskularna invazija: DA vs. NE	5,211	(1,550-17,520)	0,008

Spremenljivka	RO	(95 % IZ)	p
Perinevralna invazija: DA vs. NE	4,721	(1,792-12,438)	0,002
ER: poz. vs. neg.	2,154	(0,886-5,237)	0,091
PR: poz. vs. neg.	0,916	(0,388-2,162)	0,841
Hormonski receptorji			0,217
ER&PR vs. HR neg.	1,538	(0,558-4,244)	0,406
samo ER vs. HR neg.	2,943	(1,066-8,122)	0,037
samo PR vs. HR neg.	0,000	(0,000-∞)	0,982
Status bezgavk: poz. vs. neg.	6,237	(0,840-46,291)	0,073
Prizadetost bezgavk			< 0,001
N1 vs. N0	2,514	(0,303-20,896)	0,393
N2 vs. N0	8,722	(1,073-70,918)	0,043
N3 vs. N0	26,633	(3,371-210,452)	0,002
Velikost tumorja			0,004
T2 vs. T1	6,996	(0,894-54,750)	0,064
T3 vs. T1	12,059	(1,345-108,135)	0,026
T4 vs. T1	25,079	(3,134-200,693)	0,002
Stadij bolezni (TNM)			< 0,001
II vs. I	4233,292	(0,000-2E+75)	0,921
III vs. I	36418,785	(0,000-1E+76)	0,901
Doprinos taksanov			
antraciklin+taksan vs. antraciklin	1,023	(0,418-2,505)	0,960

Multivariantni model. Glede na rezultate univariantne analize smo poskusili izvesti še regresijo v multivariantnem modelu. Najprej smo v modelu primerjali vpliv vaskularne in perinevralne invazije, v drugem modelu pa vpliv prizadetosti bezgavk in velikosti tumorja. Rezultate multivariantne analize smo predstavili kot razmerje ogroženosti (RO) s 95 % intervalom zaupanja (IZ) ob predpostavki, da se učinek posameznih spremenljivk ne spreminja s časom.

Preglednica XXV: Rezultati multivariantne analize, primerjava vaskularne in perinevralne invazije.

	RO	(95 % IZ)	p
vaskularna invazija: DA vs. NE	3,856	(0,906-16,414)	0,068
perinevralna invazija: DA vs. NE	5,763	(1,514-21,929)	0,010

Bolnice s prisotno perinevralno invazijo so skoraj 6-krat bolj ogrožene za ponovitev bolezni kot bolnice brez perinevralne invazije ($p = 0,010$), vpliv vaskularne invazije pa je na meji statistične značilnosti ($p = 0,068$).

Preglednica XXVI: Rezultati multivariantne analize, primerjava prizadetosti bezgavk in velikosti tumorja.

	RO	(95 % IZ)	p
prizadetost bezgavk: N3 vs. N0	19,176	(2,378-154,645)	0,006
N2 vs. N0	5,880	(0,706-49,003)	0,102
N1 vs. N0	2,158	(0,259-17,976)	0,477
velikost tumorja: T4 vs. T1	14,320	(1,763-116,329)	0,013
T3 vs. T1	11,193	(1,219-102,741)	0,033
T2 vs. T1	6,983	(0,888-54,921)	0,065

Prizadetost bezgavk se je za statistično pomembno izkazala le v primeru statusa N3, tj. prizadetost 10 bezgavk ali več, bolnice so v tem primeru 19-krat bolj ogrožene, kot če bezgavke niso prizadete (N0) ($p = 0,006$). Za nekoliko močnejši dejavnik pa se je izkazala velikost tumorja (T): če je tumor ob diagnozi večji od 5 cm (T3), je bolnica 11-krat bolj ogrožena ($p = 0,033$), če gre za vnetni karcinom (T4), pa je bolnica 14-krat bolj ogrožena ($p = 0,013$) kot bolnica z velikostjo tumorja do 2 cm (T1).

Dodatna analiza s stadijem bolezni (TNM-status) ni bila statistično pomembna, ravno tako analiza, ki je vključevala status hormonskih receptorjev.

Glede na število spremenljivk, velikost vzorca, število dogodkov, število manjkajočih podatkov ter razpršenost podatkov širši multivariantni model ni bil mogoč. Tudi v predstavljenem modelu je potrebna previdnost pri interpretaciji zaradi širokih intervalov zaupanja.

5 RAZPRAVA

5.1 Osnovni podatki

Iz osnovnih podatkov o statusu in histopatoloških značilnosti bolnic lahko po pričakovanjih razberemo, da gre v primeru HER2-pozitivnih tumorjev za agresivnejšo obliko raka dojk s slabo prognozo. Ob diagnozi je bilo namreč 76,8 % tumorjev slabo diferenciranih (gradus 3), 46,7 % tumorjev je bilo večjih od 2 cm (T2), 13,1 % jih je bilo večjih od 5 cm (T3), 12,6 % pa je bilo vnetnih oz. ulceriranih karcinomov (T4d, T4b), bezgavke pa so bile prizadete pri 78,4 % bolnic.

HER2-status bolnic so določali po obeh veljavnih in validiranih metodah, tj. imunohistokemično (IHC) in/ali po metodi fluorescentne hibridizacije *in situ* (FISH). Pri analizi rezultatov obeh metod za določanje HER2-statusa smo opazili, da je bil pri 8 bolnicah rezultat IHC-testa negativen (0 ali 1+), praviloma te bolnice ne bi bile primerne za zdravljenje s trastuzumabom, vendar pa je bil naknadno opravljen FISH-test pozitiven in bolnice so bile vključene v terapijo. Ravno tako je bil FISH-test pri 4 bolnicah negativen, IHC-test pa pozitiven (3+). S tem lahko zaključimo, da je za zanesljivo oceno HER2-statusa priporočljiva izvedba testa po obeh metodah, kar je v skladu z najnovejšimi smernicami ASCO/CAP 2007. (39) V prejšnjih smernicah so ponovno testiranje z metodo FISH priporočali le pri rezultatih 2+ po imunohistokemični metodi. Vendar nobena metoda nima prednosti, imunohistokemična metoda pa je zelo variabilna. Na Onkološkem inštitutu že od leta 2005 določajo HER2-status pri vseh bolnicah z obema metodama.

Po pričakovanjih je večina bolnic (179) v okviru dopolnilnega zdravljenja (adjuvantnega ali neoadjuvantnega) prejela antracikline, saj je HER2-pozitivni rak agresivnejši, zato večina bolnic prejme tudi antracikline, ki veljajo za najučinkovitejši citostatik. 114 bolnic je poleg antraciklinov prejelo še taksane, 65 bolnic je prejelo samo antracikline, 15 pa samo taksane po eni od veljavnih shem. Le 5 bolnic ni prejelo ne taksanov ne antraciklinov. Od 114 bolnic, ki so prejemale oba citostatika, jih je 91 imelo pozitivne bezgavke, 67 pa pozitivne bezgavke in tumorje ≥ 2 cm, torej jih je imelo več kot pol ob začetku zdravljenja slabšo prognozo, zato so tudi prejemale intenzivnejšo kemoterapijo.

Taksane je prejelo skupaj 129 bolnic, od tega večina (114 bolnic) sočasno s trastuzumabom. V času zdravljenja teh bolnic se je namreč že nakazovala prednost sočasnega prejetja taksanov in trastuzumaba v primerjavi z zaporednim. Pri shemi, ki na začetku vključuje antraciklin in nato taksan, se lahko trastuzumab daje bodisi sočasno s

taksanom bodisi zaporedno po taksanu. Lahko se daje tudi sočasno s taksanom in karboplatinom brez antraciklinov (shema TCH). Prednost sočasnega zdravljenja s taksani je bila dokončno potrjena decembra 2009, ko so Perez in sodelavci ugotovili trend za 25 % manjše tveganje za ponovitev bolezni v prid sočasnemu zdravljenju. (30)

5.2 Zdravljenje s trastuzumabom

Zdravljenje s trastuzumabom je na Onkološkem inštitutu Ljubljana potekalo po veljavnih smernicah. Najpogostejši režim odmerjanja je bil po pričakovanju na 3 tedne (116 bolnic, 58,3 %), ki je tudi sicer bolnicam prijaznejši, 39,7 % (79 bolnic) pa je trastuzumab prejemale najprej po tedenskem režimu (običajno 12 tednov skupaj s taksanom), nato pa nadaljevalo s 3-tedenskim režimom. Vse 4 bolnice, ki so imele samo tedenski režim, so bile vključene v raziskavo ALTTO in so trastuzumab prejemale po protokolu 3. roke, to je v tedenskih odmerkih 12 tednov.

Povprečno trajanje zdravljenja s trastuzumabom je bilo pri bolnicah, ki so zdravljenje zaključile, 51 tednov, torej malo manj kot 1 leto, predvsem na račun 15 bolnic, ki so zdravljenje zaključile predčasno oz. so bile zdravljene po zgoraj omenjenem protokolu raziskave ALTTO. Mediana trajanja zdravljenja pa je bila 54 tednov, kar potrjuje dejstvo, da je večina bolnic s trastuzumabom zaključila po enem letu in to po 3-tedenskem režimu, ki že sam po sebi traja 54 tednov (18 ciklov), torej dlje kot bi trajal tedenski režim, to je 52 tednov (52 ciklov). 6 bolnic je zdravljenje s trastuzumabom zaključilo predčasno zaradi ponovitve bolezni oz. progressa. Razlog bi lahko bil v neuspešnem predhodnem zdravljenju (neuspešno odstranjen tumor oz. prizadete bezgavke, slab odgovor na kemoterapijo), v zelo slabi začetni prognozi teh bolnic, lahko pa tudi v razvoju rezistence na trastuzumab. Vseeno bolnicam v metastatski liniji pogosto ponovno uvedejo trastuzumab. Ta odločitev je nemalokrat prepuščena izkušnjam zdravnikov.

Bolnice so v povprečju prejele 95 % (to je 104 mg/kg, mediana 106 mg/kg) predvidenega odmerka 110 mg/kg, predvsem na račun bolnic s prekinitvami in predčasnim zaključkom zdravljenja ter štirih bolnic v 3. roki raziskave ALTTO. Nizek odmerek smo opazili tudi pri 2 bolnicah s prekomerno telesno maso, saj je bil ta prilagojen na idealno in ne na dejansko telesno maso, prenizek odmerek trastuzumaba pa seveda lahko botruje slabšemu izidu bolezni.

Neželeni učinki – kardiotoksičnost. V povzetku glavnih značilnosti zdravila za Herceptin® so zapisana priporočila za spremljanje srčne funkcije zaradi kardiotoksičnosti trastuzumaba. Vsem potencialnim kandidatom za zdravljenje s trastuzumabom, še posebej če so bili predhodno zdravljeni z antraciklini in ciklofosfamidom, je potrebno preveriti osnovno srčno funkcijo pred začetkom zdravljenja, jo redno spremljati med zdravljenjem (vsake 3 mesece), po končanem zdravljenju pa po 6, 12 in 24 mesecih. (18) Posodobljena priporočila za spremljanje kardiotoksičnosti Britanskega nacionalnega inštituta za raziskave raka iz leta 2009 pa priporočajo meritve pred začetkom zdravljenja s trastuzumabom po 4 in 8 mesecih ter po zaključku zdravljenja za tiste bolnike, ki so med zdravljenjem potrebovali ukrepanje zaradi kardiovaskularnih zapletov. (28) Skupaj torej vsaj 3 oz. 4 meritve. Pri našem vzorcu pa vidimo, da je bilo število preiskav srčne funkcije relativno nizko (v povprečju le 3 na bolnico), 22 bolnic je imelo tekom zdravljenja le eno meritev LVEF, 54 bolnic dve, 67 bolnic tri meritve in le 37 bolnic je imelo 4 meritve, 19 bolnikov pa je imelo 5 ali več meritev. Razlog lahko pripišemo dolgoletnim izkušnjam zdravnikov pri zdravljenju metastatskega raka dojk, ko nekatere bolnice trastuzumab prejemajo dlje časa kot v dopolnilnem zdravljenju, tudi več let. Tudi bolnicam se je zgodilo, da so, kot je bilo zapisano v popisih, na pregled pozabile. Problem do neke mere predstavlja tudi sama preiskava z radioizotopno ventrikulografijo (MUGA), saj uporablja intravensko aplikacijo radioaktivnega izotopa tehnecija, ki sicer v tako nizkih odmerkih ni nevaren, se pa pogostejšim preiskavam raje izogibamo. Glede na to, da je bil pri 4 bolnicah (2,01 %) trastuzumab ukinjen zaradi znižane vrednosti LVEF oz. zaradi simptomatike srčnega popuščanja, bi bilo potrebno pogostejše spremljanje srčne funkcije. Tudi sicer se kardiotoksični učinki trastuzumaba pojavijo pri več kot 1 % bolnikov. (18) Perez in sodelavci, 2008, so v okviru raziskave NCCTG N9831 ugotovili višjo incidenco srčnih zapletov pri skupini s trastuzumabom v primerjavi s kontrolno skupino, vendar za manj kot 4 %. (29)

Drugi neželeni dogodki. V prvi vrsti smo bili pozorni na pogostejše opisane neželene učinke trastuzumaba. Pri 51 (25,63 %) bolnicah se je pojavila zvišana telesna temperatura in mrzlica (v večini primerov je ta prenehala ob dodatku paracetamola), pri 94 (47,24 %) bolnicah pa se je pojavila utrujenost (ti. »*fatigue*« – utrujenost, šibkost, bolečine v kosteh in mišicah). Druge neželene dogodke smo beležili pri skupaj 144 bolnicah, upoštevali smo vsak dogodek, ki se je pojavil v času zdravljenja s trastuzumabom (lahko tudi kot posledica sočasne kemoterapije oz. hormonskih učinkovin ter drugih stanj bolnice). Pogostejši

neželeni učinki, značilni za hormonske učinkovine, so bili klimakterične težave in otekanje okončin. Periferna nevropatija ali mravljinčenje, spremembe na sluznici ust, stomatitis, driska, slabost in nevtropenija so bili v izvidih pogosti neželeni učinki, povezani s citostatskimi učinkovinami. Kot posledica nevtropenij so bile pogostejše okužbe, ki smo jih po pričakovanjih opazili tudi pri naši populaciji. Spremembe nohtov so neželen učinek, ki je lahko povezan s citostatiki, pa tudi s trastuzumabom. Izpuščaj, ki se je pojavil pri 15,1 % bolnic, je bil v večini primerov povezan s prejetjem trastuzumaba. Ostali neželeni dogodki so se pojavili redkeje oz. pri posameznih bolnicah. Pri štirih bolnicah so ugotavljali hiperglikemijo, kljub poprej dobro kontrolirani sladkorni bolezni. Ravno tako se je pri 6,5 % bolnic pojavila hipertenzija (bodisi pri bolnicah, ki so že ime imele z zdravili kontroliran krvni tlak, bodisi pri zdravih bolnicah), vendar so tudi v klinični raziskavi HERA opazili višji odstotek pojava hipertenzije pri skupini s trastuzumabom v primerjavi s kontrolno skupino. (18) Možni razlog bi lahko bilo podporno zdravljenje s kortikosteroidi, saj lahko ti zmanjšajo toleranco za ogljikove hidrate kot tudi povzročijo hipertenzijo.

Zdravljenje raka dojk, kot tudi drugih onkoloških bolezni, je povezano z relativno veliko neželenih dogodkov in učinkov, ki se jim ne da vedno izogniti, lahko pa se jih zdravi in tako ustrezno obvladuje, da bolnik zaključi predvideno zdravljenje. Iz razmerja tveganja in koristi za bolnika pri onkoloških zdravljenjih izhaja sprejemljivost za relativno pogostejše neželene učinke zdravljenja kot pri drugih boleznih, ki niso za bolnika življenje ogrožajoče. Zaradi neželenih učinkov trastuzumaba je zdravljenje začasno prekinilo 9 bolnic, tj. 4,5 %.

5.3 Učinkovitost zdravljenja

V tem delu razprave se bomo za primerjavo dobljenih rezultatov oprli predvsem na štiri glavne klinične raziskave uporabe trastuzumaba v dopolnilnem zdravljenju (HERA, NSABP B-31, NCCTG N9831 in BCIRG 006) in na raziskavo, ki je bila izvedena v Sloveniji, o poteku bolezni pri HER2-pozitivnih bolnicah. (11)

Enoletno preživetje brez bolezni za vse bolnice je bilo 96,5 %, dvoletno 84 %, ker pa smo pri dveh letih imeli že širok interval zaupanja, smo odčitali še preživetje brez bolezni po 18 mesecih (1,5 leta), ki je bilo 90,5 %. Rezultat je spodbuden, saj je verjetnost preživetja brez bolezni večja kot pri skupini HER2-pozitivnih bolnic, ki v okviru dopolnilnega zdravljenja niso prejemale trastuzumaba (Ribnikar in sodelavci, 2008). V tej skupini je bilo 18-

mesečno preživetje brez bolezni le 83 %. Še vedno pa je to preživetje nižje kot pri bolnicah s HER 2-negativnim rakom dojk (Ribnikar in sodelavci, 2008); pri njih je bilo 18-mesečno preživetje 96 %, vendar je tu potrebno znova poudariti, da gre pri HER2-pozitivnih bolnicah za agresivnejšo obliko raka dojk. Naš rezultat je primerljiv tudi z raziskavo HERA (Piccart-Gebhart in sodelavci, 2005; Smith in sodelavci, 2007), kjer je bilo 18-mesečno preživetje za skupino s trastuzumabom 91 % (2-letno 87 %), za kontrolno skupino brez trastuzumaba pa le 84,7 %. Združena analiza dveh severnoameriških študij (NSABP B-31 in NCCTG N9831) je pokazala 95 % 18-mesečno preživetje, vendar pa sta bili ti dve raziskavi že v začetku drugače zastavljeni; kriteriji za vključitev v študijo so bili strožji in vse bolnice so prejemale enako kemoterapijo po shemi AC→T. (34) Podobno velja za raziskavo BCIRG 006, ki je pokazala 93 % 2-letno preživetje. (31)

Naš vzorec je bil vzet iz realne populacije ali bolje rečeno: razpolagali smo s t. i. »real life« podatki, zato je natančna statistična primerjava s katerokoli klinično raziskavo, kjer so bile okoliščine, prejeta kemoterapija in ne nazadnje tudi randomizacija bolnic strožje nadzorovani, omejena. Mediana časa spremljanja naših bolnic je bila razmeroma kratka, le 21,9 mesecev. Imeli smo tudi majhno število bolnic (le 199 v primerjavi z nekaj tisoč bolnicami v ostalih adjuvantnih raziskavah). V vzorcu smo imeli tudi precej več bolnic s slabo prognozo, tumorji so bili ob diagnozi v povprečju večji, večji je bil tudi delež bolnic s prizadetimi bezgavkami. V raziskavi HERA je bilo npr. 39,2 % bolnic s tumorji 0–2 cm (pri nas le 25,6 %), 44,6 % bolnic s tumorji >2–5 cm (pri nas 46,7 %) in 4,4 % bolnic s tumorji >5 cm (pri nas 13,1 %), 11 % bolnic pa je prejemale neoadjuvantno kemoterapijo, zato velikost tumorja ni bila določena. Na račun števila bolnic v stadiju T1 smo imeli v vzorcu več bolnic s T3- in T4-tumorji. To so bolnice z vnetnim karcinomom (T4d) in dve bolnici z ulceriranim rakom dojk (T4b), skupaj 12,6 %. Podobno velja za prizadetost bezgavk. Imeli smo tudi večji delež bolnic s predoperativnim (neoadjuvantnim) zdravljenjem, skupaj 26,1 % (52 bolnic). Kriterij vključitve v zgoraj omenjene klinične raziskave je bil med drugim tudi operabilni rak dojk, po operaciji, zato je bilo število neoadjuvantnih shem tam znatno manjše. Glede na vse to smo priča zelo dobrim kliničnim rezultatom, za razširitev na slovensko populacijo HER2-pozitivnih bolnic pa bi vsekakor potrebovali daljši čas spremljanja.

V nadaljevanju smo ugotavljali vpliv posameznih napovednih dejavnikov na preživetje brez bolezni. Prizadetost bezgavk ob postavitvi diagnoze je eden izmed najpomembnejših dejavnikov. Po pričakovanjih je bilo 18-mesečno preživetje brez bolezni pri bolnicah s

pozitivnimi bezgavkami 88 %, kar je manj kot pri skupini z negativnimi bezgavkami (96 %). Ta razlika je vidna tudi v raziskavi Ribnikar in sodelavci, 2008, kjer je bilo 18-mesečno preživetje 76 % pri bolnicah s pozitivnimi bezgavkami oz. 93 % pri bolnicah z negativnimi bezgavkami.

S Coxovim univariantnim modelom smo ugotovili značilni vpliv tudi drugih dejavnikov, tj. velikosti tumorja, vaskularne in perinevralne invazije. Za starost, gradus, mitoze, hormonske receptorje in stadij bolezni pa smo sicer ugotovili pričakovani trend (ta se zlasti lepo vidi pri krivuljah preživetja po metodi Kaplan-Meier), vendar ta ni bil statistično pomemben. Ravno v velikih 95-odstotnih intervalih zaupanja in majhni signifikantnosti ($p > 0,100$) se kažejo pomanjkljivosti oz. omejitve našega vzorca. V svoji raziskavi je Grašič-Kuharjeva (doktorska disertacija, 2008) potrdila signifikanten vpliv na preživetje brez bolezni vseh že uveljavljenih napovednih dejavnikov, kot so gradus, mitoze, vaskularna in perinevralna invazija, status hormonskih receptorjev in stadij bolezni. (27) V našem vzorcu žal nismo uspeli potrditi vseh. Glavni vzrok je predvsem veliko število manjkajočih podatkov, ki niso bili zapisani v kartoteki bolnic, kot tudi relativno majhen vzorec in majhno število dogodkov. Za zanesljivejšo analizo bi v bodoče nujno potrebovali popolnejše podatke.

Pri ugotavljanju vpliva statusa hormonskih receptorjev smo dobili neobičajne rezultate, ki jih težko obrazložimo. Status progesteronskih receptorjev sicer po pričakovanju ni imel večjega vpliva, pri pozitivnih estrogenskih receptorjih pa smo pričakovali ravno nasproten trend. Za naš vzorec se je izkazalo, da je pri bolnicah z ER+ preživetje slabše kot pri tistih z ER-, kar je ravno nasprotno z ugotovitvami drugih adjuvantnih raziskav. Slabši odziv bi sicer lahko pripisali dejstvu, da HER2-pozitivni tumorji že v osnovi pomenijo večjo intrinzično rezistenco na hormonsko zdravljenje in tudi sicer je HER2-status najmočnejši neodvisni napovedni dejavnik poteka bolezni. Dejansko pa je lahko ta rezultat tudi popolnoma slučajen, saj je povezava na meji statistične značilnosti. Analizo bi bilo dobro ponoviti na večjem vzorcu HER2-pozitivnih bolnic in po daljšem času spremljanja.

Preverjali smo tudi doprinos taksanov k osnovni kemoterapevtski shemi z antraciklini. Med krivuljama ni bilo signifikantnih razlik, vendar pa je to lahko posledica dejstva, da se taksane poleg antraciklinov predpisuje zlasti tistim bolnicam, ki imajo slabšo prognozo, tj. s pozitivnimi bezgavkami in večjimi tumorji ob postavitvi diagnoze. Lahko rečemo, da je dodatek taksanov vsaj izničil vpliv slabih prognostičnih dejavnikov, podobno kot trastuzumab izniči vpliv prekomerne izraženosti HER2-receptorjev. (38)

6 SKLEP

S pričujočo raziskavo smo potrdili dobro učinkovitost trastuzumaba pri slovenskih bolnicah, saj je bilo 1,5 letno preživetje brez bolezni za približno 7,5 % (absolutna vrednost) boljše kot pri skupini bolnic, ki trastuzumaba ni prejela. Nekoliko slabše preživetje v primerjavi z drugimi mednarodnimi adjuvantnimi raziskavami lahko obrazložimo z dejstvom, da so imele naše bolnice v povprečju slabšo prognozo pred začetkom zdravljenja.

Trastuzumab so bolnice relativno dobro prenašale, le pri 9 bolnicah je bilo zdravljenje zaradi neželenega učinka prekinjeno. Pri 4 bolnicah (2,01 %) pa so zaradi posledic kardiotsičnosti trastuzumaba zdravljenje ukinili. Kardiotsičnost trastuzumaba je že od začetka predmet raziskav, saj je ob vedno daljšem preživetju bolnic vse bolj pomembno zmanjšati dolgoročne toksične učinke njihovega zdravljenja. S tem namenom veljavne smernice priporočajo redno spremljanje srčne funkcije pred začetkom, med in po zaključku zdravljenja. To je vsekakor področje, ki ga je pri nas potrebno spodbuditi, saj je bilo v povprečju opravljenih relativno malo meritev LVEF. Danes je tudi znano, da lahko z uporabo terapevtskih shem, ki ne vključujejo antracikline oz. upoštevajo najbolj ugodno zaporedje aplikacije teh učinkovin, zmanjšamo verjetnost okvare srca.

HER2-status velja za najpomembnejši neodvisni napovedni dejavnik poteka bolezni pri raku dojke. Seveda pa imajo pomemben vpliv tudi drugi dejavniki. Čeprav z nekoliko omejeno statistično značilnostjo smo z analizo po metodi Kaplan-Meier in s Coxovim modelom pokazali, da prizadetost bezgavk, velikost tumorja, vaskularna in perinevralna invazija pomembno vplivajo na preživetje brez bolezni. Ne gre zanemariti tudi doprinos taksanov k terapiji. Antraciklini veljajo za najmočnejši citostatik in pri HER2-pozitivnih bolnicah dosežejo dober odgovor, kljub temu so pogosto v terapevtsko shemo vključeni tudi taksani, zlasti pri bolnicah s slabšo prognozo, kjer izboljšajo tako preživetje brez bolezni kot celokupno preživetje. (37)

Čeprav so možnosti zdravljenja onkoloških bolnikov v Sloveniji dobre, rak dojke še vedno odkrivamo relativno pozno v primerjavi z drugimi evropskimi državami. Ravno zato so v Sloveniji aprila 2008 na Onkološkem inštitutu Ljubljana pričeli z izvajanjem državnega presejalnega programa za raka dojke DORA, ki z vnaprejšnjim vabljenjem omogoča

ženskam med 50. in 69. letom presejalni pregled dojk z mamografijo. Mamografija namreč lahko zazna sumljive lezije v dojki, tudi ko so te še netipne. V približno eno in polletnem obdobju (april 2008–september 2009) so rak dojk odkrili pri 0,89 % bolnic, ki so se odzvale vabilu, tj. 29 od 3252 bolnic. (36) Vedno bolj pa se seveda spodbuja tudi samopregledovanje dojk, ki je priporočljivo za vse ženske po 20. letu starosti.

Zgodba razvoja trastuzumaba iz obetavne učinkovine v zdravilo Herceptin® je vsekakor prvovrstna uspešnica. Sledijo ji že nove tarčne molekule, pa tudi za trastuzumab raziskujejo nove možnosti in indikacije. Tako sta na primer v teku dve klinični študiji o uporabi trastuzumaba v okviru predoperativnega (neoadjuvantnega) zdravljenja, v letošnjem letu pa je bil trastuzumab registriran tudi za zdravljenje HER2-pozitivnega napredovalega in metastatskega raka želodca. Poročajo namreč, da je 15–25 % bolnikov z rakom želodca HER2-pozitivnih, pri *in vivo* poskusih s presajenim tkivom HER2-pozitivnega raka želodca človeka pa so potrdili statistično pomemben protitumorski učinek trastuzumaba. V bodoče načrtujejo tudi raziskavo kombinacije trastuzumaba in bevacizumaba (zaviralec angiogeneze) ter kombinacije trastuzumaba in pertuzumaba (zaviralec dimerizacije HER2-receptorja, zlasti HER2/HER3). (35)

Elektronska baza podatkov eHER2 predstavlja inovativen pristop k načrtovanju raziskav. V svoji programski zasnovi predstavlja zelo obširen projekt in nudi možnost za različen nabor podatkov, ki bi v določenem času za določeno raziskavo zanimal naročnika. Naša raziskava je bila prva, ki je obravnavala vnesene podatke v tej bazi, zato smo se pri delu srečevali s številnimi izzivi. Bazo eHER2 smo v določenih segmentih po dogovoru in s sodelovanjem avtorja programa z namenom lažje statistične analize vsebinsko in oblikovno posodobili. V teku so že nove raziskave, ki bodo imele na voljo večji nabor bolnic z daljšim časom spremljanja in kjer lahko pričakujemo še zanesljivejše rezultate. S pričujočim diplomskim delom smo pomembno prispevali k posodobitvi te baze ter odprli pot novim obetajočim raziskavam.

7 LITERATURA

1. Borštnar S, Čufer T, Pajk B, *et al.*: Rak dojke: Kaj morate vedeti, 2. dopolnjena izdaja, Ljubljana, Onkološki inštitut, 2006 (<http://www.onko-i.si>)
2. Kaučič M: Kirurško zdravljenje raka dojke in rekonstrukcija dojke, Ljubljana, Društvo onkoloških bolnikov Slovenije, 2006
3. Bilban-Jakopin C, Žgajnar J, *et al.*: Smernice zdravljenja raka dojk, Ljubljana, Onkološki inštitut, 2004 (<http://www.onko-i.si>)
4. Register raka Republike Slovenije: Incidenca raka v Sloveniji 2006, Poročilo RR št. 48, Ljubljana, Onkološki Inštitut, 2009
(http://www.onko-i.si/fileadmin/onko/datoteke/dokumenti/LP_2006.pdf)
5. Zorko D, Petrič Grabnar G: Vse kar morate vedeti o raku dojk, Priloga Novic Europa Donna, september 2008; 21–28
6. Rožman S: Lastnosti in razvoj trastuzumaba (Herceptin®), Lekarništvo 3/2008; 36: 21–29
7. Novaković S, *et al.*: Onkologija: raziskovanje, diagnostika in zdravljenje raka, 1. izdaja, Ljubljana, Mladinska knjiga, 2009
8. <http://www.gene.com/gene/products/information/oncology/herceptin/moa.html>
9. Čufer T: Hormonsko zdravljenje invazivnega raka dojk, Onkologija, VIII/1, junij 2004; 25–28
10. Matos E, Pajk B, Borštnar S, Čufer T: Dopolnilno zdravljenje bolnic z rakom dojke s trastuzumabom, Onkologija, X/2, december 2006; 109–112
11. Ribnikar D, Fink Š, Frković Grazio S, Lešničar H, Sadikov A, Čufer T: Potek bolezni pri bolnicah s HER-2 pozitivnim rakom dojk, Onkologija, XII/2, december 2008; 94–98
12. Matos E: Novosti v dopolnilnem zdravljenju HER2-pozitivnega raka dojke, Onkologija, XII/1. junij 2008; 57–60
13. <http://www.medenosrce.net/>
14. Lexi-Comp® ONLINE™ (<http://www.lexi.com/>)
15. Evidenca zdravljenja bolnic s HER2 pozitivnim rakom dojk; Protokol »eHER2«, verzija 1.0, 28. 11. 2007, Izvajalec OI Ljubljana, Čufer T, Matos E
16. Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, *et al.*: Trastuzumab after Adjuvant Chemotherapy in HER2-Positive Breast Cancer, N Engl J Med 2005; 353: 1659–72

17. Smith I, Procter M, Gelber RD, *et al.*: 2-year follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer: a randomised controlled trial, *Lancet* 2007; 369: 29–36
18. Herceptin® - Povzetek glavnih značilnosti zdravila. Roche Registration Limited.
19. Spremljanje zdravljenja bolnikov s HER2 pozitivnim rakom dojk; poročilo IBMI, Lara Lusa, september 2009
20. http://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/docs/ctcae3.pdf
21. Spremljanje zdravljenja bolnikov s HER2 pozitivnim rakom dojk; farmakovigilanco poročilo IBMI, Lara Lusa, januar 2010
22. Register zdravil Republike Slovenije, 2009, Ministrstvo za zdravje, JAZMP, Inštitut za varovanje zdravja RS, Ljubljana
23. Carter P, Presta L, Gorman CM, *et al.*: Humanization of an anti-p185^{HER2} antibody for human cancer therapy, *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 1992; 89: 4285–89
24. Molina MA, Codony-Servat J, Albanell J, Rojo F, Arribas J, Baselga J: Trastuzumab (Herceptin), a humanized anti-HER2 receptor monoclonal antibody, inhibits basal and activated HER2 ectodomain cleavage in breast cancer cells, *Cancer Research*, 2001; 61: 4744–49
25. Nahta R, Esteva FJ: Herceptin: mechanisms of action and resistance, Elsevier, *Cancer Letters*, 2006; 232: 123–138
26. Forthofer RN, Lee ES, Hernandez M: Biostatistics: A Guide to Design, Analysis, and Discovery, 2nd Edition, Elsevier Inc., 2007
27. Grašič-Kuhar C: Napovedni dejavniki za pozno ponovitev bolezni in smrt pri operabilnem raku dojke, doktorska disertacija, Ljubljana 2009
28. Jones AL, Barlow M, Barrett-Lee PJ, Canney PA, *et al.*: Management of cardiac health in trastuzumab-treated patients with breast cancer: updated United Kingdom National Cancer Research Institute recommendations for monitoring, *British Journal of Cancer*, 2009; 100: 684–692
29. Perez EA, Suman VJ, Davidson NE, *et al.*: Cardiac Safety Analysis of Doxorubicin and Cyclophosphamide Followed by Paclitaxel With or Without Trastuzumab in the North Central Cancer Treatment Group N9831 Adjuvant Breast Cancer Trial, *Journal of Clinical Oncology*, 2008; 26: 1231–38
30. 32nd Annual San Antonio Breast Cancer Symposium, 2009, Abstract 80; <http://sabcs.org/>

31. 32nd Annual San Antonio Breast Cancer Symposium, 2009, Abstract 62; <http://sabcs.org/>
32. Romond EH, Perez EA, Bryant J, *et al.*: Trastuzumab plus Adjuvant Chemotherapy for Operable HER2-Positive Breast Cancer, *N Engl J Med*, 2005; 353: 1673–84
33. Jahanzeb M: Adjuvant Trastuzumab Therapy for HER2-Positive Breast Cancer, *Clinical Breast Cancer*, 2008; 8: 324–333
34. ASCO Annual Meeting 2007, Abstract 512; <http://www.asco.org/portal/site/ascov2>
35. Herceptin[®] monograph, edition 2007; F Hoffmann-La Roche Ltd, Switzerland
36. <http://dora.onko-i.si/>
37. De Laurentiis M, Canello G, D'Agostino D, *et al.*: Taxane-Based Combinations as Adjuvant Chemotherapy of Early Breast Cancer: A Meta-Analysis of Randomized Trials, *Journal of Clinical Oncology*, 2008; 26: 44–53
38. ASCO Annual Meeting 2007, Abstract 1018; <http://www.asco.org/portal/site/ascov2>
39. Guideline Summary: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor HER2 Testing in Breast Cancer, *Journal of Oncology Practice*, 2007; 3: 48–50
40. Ludovini V, Gori S, Colozza M, Pistola L, *et al.*: Evaluation of serum HER2 extracellular domain in early breast cancer patients: correlation with clinicopathological parameters and survival, *Annals of Oncology*, 2008; 19: 883–890
41. Fornier MN, Seidman AD, Schwartz MK, Ghani F, Thiel R, Norton L, Hudis C: Serum HER2 extracellular domain in metastatic breast cancer patients treated with weekly trastuzumab and paclitaxel association with HER2 status by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization and with response rate, *Annals of Oncology*, 2005; 16: 234–239