

1. UVOD

1. Karcinom dojke

Karcinom dojke je najčešći karcinom kod žena u većini zemalja u svijetu, uključujući i zemlje u razvoju. U 2006. godini u Evropskoj Uniji incidenca karcinoma dojke je bila 109.8/100000, a mortalitet 38.4/100000 oboljelih žena godišnje. Od 1990. godine incidenca je u porastu za 1,5% godišnje. Zbog napretka u ranoj dijagnostici i adjuvantnom tretmanu smrtnost od karcinoma dojke je u stalnom opadanju u većini zapadnih zemalja. Uprkos tome karcinom dojke je vodeći uzrok smrtnosti od karcinoma kod žena [1, 2]. Karcinom dojke čini oko 20 % svih maligniteta. Incidenca i mortalitet znatno variraju diljem svijeta [3]. Mnogi molekularni markeri su dostupni za bolje razumijevanje tumorogeneze, progresije bolesti i mogućnosti adekvatne terapije karcinoma dojke kod žena.

Većina zrelih studija su dizajnirane u eri kada je adjuvantna terapija određivana prema riziko faktorima prema kojima veći rizik zahtijeva intenzivniji tretman. Prognostički i prediktivni faktori odgovora na terapiju, kao što su hormonska receptorska ekspresija za odgovor na endokrinu terapiju, postali su nezaobilazni u određivanju adjuvantne terapije karcinoma dojke [4]. Karcinom dojke se smatra heterogenom bolešću kod koje šanse da jedan tretmanski program dovede do benefita nisu realistične [5]. Rana detekcija i napredna terapija počeli su da redukuju smrtnost u nekim zemljama. Upotrebom ekspresije DNA profila postoji mogućnost predviđanja kliničkog razvoja bolesti kod svakog pacijenta ponaosob.

U pogledu produženja preživljavanja kod karcinoma dojke, relevantno je pitati se da li da očekujemo lijek od ove bolesti. Većina studija baziranih na populaciji, a u pogledu na izlječenje karcinoma dojke su uglavnom bile negativne mada su neke od njih bile pozitivne i daju mjesta optimizmu.

1. 1. 1. Epidemiologija karcinoma dojke

Karcinom dojke je najčešća maligna bolest u žena [6]. Kod muškaraca je prava rijetkost. Pojavljuje se kod jednog muškarca na 100 slučajeva karcinoma dojke u žena [7]. Učestalost je različita u različitim krajevima svijeta, bolest je iznimka prije puberteta, rijetkost prije tridesete godine, a zatim joj učestalost raste i dostiže maksimum u dobi od oko 50 godina [8]. S povećanjem ženine životne dobi, rizik od karcinoma dojke raste [9]. Posljednjih godina se zapaža povećanje broja oboljelih u mlađim životnim skupinama [10]. Smatra se da će svaka deseta bolesnica oboljeti od ove bolesti [11]. Stopa smrtnosti zaostaje u odnosu na porast broja bolesnika, što se u prvom redu tumači poboljšanjem rane dijagnostike, a zatim napretkom u liječenju [12].

Procjene o nivou incidence i mortaliteta od svih karcinoma, (takođe i od karcinoma dojke) dostupne su u projektu Internacionalne Agencije za ispitivanje karcinoma GLOBOCAN 2008. Karcinom dojke je daleko najčešći karcinom među ženama sa procijenjenim 1,38 milion novih slučajeva karcinoma dijagnostifikovanih u 2008. godini (23% svih karcinoma), i čini drugi po redu od ukupnog broja (10,9% od svih karcinoma). Danas je to najčešći karcinom i u razvijenim i u nerazvijenim zemljama sa oko 690 000 novih slučajeva procijenjenih po regionima. Incidenca varira od 19,3 na 100 000 žena u istočnoj Africi do 89,7 na 100 000 žena u Zapadnoj Europi, i visoka je (viša od 80 na 100 000) u razvijenim regionima sa izuzetkom Japana, i niska (niža od 40 na 100 000) u većini regiona u razvoju.

Stopa smrtnosti je mnogo manja (približno 6-19 na 100 000) zbog sve boljeg preživljavanja od karcinoma dojke u razvijenim regionima. Kao rezultat svega toga, karcinom dojke je peti po uzroku smrtnosti ukupno, ali je i dalje najčešći uzrok smrti od karcinoma kako u zemljama u razvoju (269 000 smrti, 12,7 % od ukupnih), tako i u razvijenim regionima, gdje se procijenjuje 189 000 smrti. U Evropskoj Uniji broj novih slučajeva karcinoma dojke iznosio je 332 000 dijagnostifikovanih za 2008 godinu. Smrtnost od karcinoma dojke za Evropsku Uniju 2008 godine iznosila je 89 000 [9].

Ukupan broj oboljelih od karcinoma u Republici Srpskoj prema podacima Instituta za Javno zdravstvo Republike Srpske u 2008. godini iznosi 4107. Za region Banja Luka taj podatak iznosi 2229 registrovanih pacijenata sa

karcinomom. Broj novooboljelih od karcinoma dojke u Republici Srpskoj je bio ukupno 426 dok je u regionu Banja Luka taj broj iznosio 252. Standardizovana stopa incidence od karcinoma dojke na 100 000 stanovnika za Republiku Srpsku u 2008. godini iznosi 33,4 %. Broj umrlih od slučajeva karcinoma dojke u Republici Srpskoj iznosio je 168, a za region Banja Luke iznosio je 97. U 2010. godini karcinom dojke je na prvom mjestu u odnosu na sve malignitete i učestvuje sa 17, 2 %, a što se tiče smrtnosti u 2010. godini od karcinoma dojke je umrlo 15,9 % žena. Broj oboljelih od karcinoma dojke u 2010. godini za Republiku srpsku je 411, a za region banjaluke 192. Standardizovana stopa incidence od karcinoma dojke je 31,6 na 100 000 stanovnika, a stopa mortaliteta je 11, 7 na 100 000 stanovnika. [13].

Republika Srpska	Godina						
	2001.	2002.	2003.	2004.	2006.	2008.	2010.
Incidenca karcinoma Dojke	287	383	344	348	334	426	411
Stopa incidence na 100 000 Stanovnika	40,9	54,5	49,0	49,4	47,53	33,4	31,6
% novootkrivenih slučajeva karcinoma dojke	19,6	19,5	19,1	17,8	18,5	19,7	17,2

Tabela 1. Incidencija karcinoma dojke u Republici Srpskoj

1. 1. 2. Prognostički faktori u karcinomu dojke

U cilju predviđanja ishoda bolesti kao i stepena rizika od pojave recidiva u upotrebi su prognostički faktori. Osobine tumorskog tkiva koje utiču na prognozu nazivaju se prognostički faktori. U literaturi je opisan veliki broj prognostičkih faktora koji utiču na dužinu preživljavanja pacijentkinja operisanih od karcinoma dojke [14]. Kombinacijom pojedinačnih faktora dobijaju se prognostički indeksi na osnovu kojih se može dobiti više podataka o biološkom ponašanju, toku i ishodu svakog tumora. Prognostički faktori moraju da imaju određene karakteristike: da poseduju značajnu i nezavisnu vrijednost procjene koja se može klinički testirati i

dokazati: moraju biti vjerodostojni, reproduktivni i široko prihvatljivi, moraju biti jasno klinički određeni i klinički primjenjivi. Do sada opisani i dobro proučeni prognostički faktori su: dob, rasa, menstrualni status, veličina primarnog tumora, histološka forma tumora, histološki i nuklearni gradus, hormonski receptorski status, HER-2 amplifikacija i/ili over-ekspresija, stanje axilarnih limfnih čvorova, lokalizacija tumora u dojci, prisustvo udaljenih metastaza i drugi [15].

Veličina primarnog tumora je vrlo značajan prognostički faktor. Generalno se smatra da je prognoza bolja što je tumor manji i u većini radova se pokazao kao značajan u dužini preživljavanja. Desetogodišnje preživljavanje pacijentkinja sa tumorom manjim od 1 cm je 80%, za tumore od 3-4 cm je 55%, a za tumore veće od 5 cm je 45%, a da oni već kod prvog pregleda imaju metastaze u 75% slučajeva [16].

Starosna granica je također jedan od prognostičkih faktora. Granica između dobnih skupina je 35 godina gdje se smatra da je starost pacijentkinje ispod 35 godina lošiji prognostički faktor, a starost preko 35 bolji. Jedan broj autora navodi također da je učestalost recidiva češća u mlađih pacijentkinja [17].

Menstrualni status kao jedan od prognostičkih faktora karcinoma dojke pokazuje da bolju prognozu imaju bolesnice koje su u postmenopauzi, a lošiju one u menopauzi [18].

U gotovo svim radovima se ističe da lateralna lokalizacija tumora ima bolju prognozu, a medijalna ima signifikantno češću pojavu recidiva kod operisanih pacijentica [19].

Pored ovih prognostičkih faktora postoje i brojni drugi biološki markeri koji mogu uticati na prognozu bolesti [20].

Histološki tip tumora je značajan prognostički faktor. Neki tumori imaju tendenciju bržeg a neki sporijeg rasta. Otprilike 75-80% tumora ubraja se u skupinu duktalnih invazivnih karcinoma gdje je petogodišnje preživljavanje oko 50%. Lobularni karcinom se javlja u 10-15% slučajeva, a tubularni u 1-2% slučajeva. Učestalost medularnog karcinoma je od 2-6% i spada u prognostički povoljne karcinome [21].

Ako se radi o duktalnom invazivnom karcinomu onda se određuje histološki gradus. Pri tome se određuju tri histološka parametra: stvaranje žljezdanih tubula, polimorfizam jedara tumorskih ćelija, mitotski indeks. Svi navedeni se boduju sa 1-3 boda, te se nakon zbrajanja bodova diferenciraju u tri gradusa: dobro, umjereno i

slabo diferencirani karcinom. Prognostički su najpovoljniji tumori prvog stepena. Histološki gradus je značajno povezan s učestalošću recidiva i dužinom preživljavanja [22].

Uz histološki gradus moguće je određivati i nuklearni gradus upoređivanjem jedara tumorskih sa jedrima normalnih ćelija, te se na taj način svrstati u tri stepena gdje I stepen označava najmanju, a III stepen najveću atipiju jedara. Što je atipija veća to je preživljavanje kraće [17].

Faktor o čijem prognostičkom značaju postoji jedinstveno mišljenje je prisutnost ili odsutnost aksilarnih metastaza. Za još precizniju dijagnozu bitan je i broj aksilarnih metastaza. Smatra se da je preživljavanje bolesnica sa 1-3 pozitivna axilarna limfna čvora za 25% duže nego kod onih sa 4 ili više. Ukoliko se karcinom dojke dijagnostifikuje kada je dao udaljene metastaze preživljavanje se drastično smanjuje [23].

Prognostički faktori služe da predvide ishod karcinoma dojke. Odluka o uvođenju adjuvantne agresivnije sistemske terapije mora biti opravdana kod pacijenata čija je lošija prognoza predviđena uz korišćenje prognostičkih faktora. Prisustvo ili odsustvo metastaza u aksilarnim limfnim čvorovima, veličina tumora, nuklearni gradus, hormonski receptorski status, i godine pacijenta su dobro poznati prognostički faktori za pacijente sa invazivnim karcinomom dojke. Involviranost limfnih axilarnih čvorova tumorskim ćelijama je najmoćniji prognostički faktor, i otkriva nam da je maligni potencijal stekao sposobnost sistemskog širenja te o porastu rizika od udaljenog metastaziranja. Prisustvo tumorskih embolusa u peritumoralnom endotelijalnom linijskom prostoru je definisano kao limfovaskularna invazija (LVI). Identifikacija limfovaskularne invazije vrši determinaciju pacijenata sa povišenim rizikom za zahvaćenost aksilarnih i udaljenih metastaza [24]. Limfovaskularna invazija je nepovoljan prognostički parametar determinisan patološkom procjenom karcinoma dojke i prediktor je porasta vjerovatnoće axilarnih metastaza. Prisustvo LVI u karcinomu dojke je udruženo sa višim rizikom od lokoregionalnog relapsa, udaljenog relapsa i sveukupnog preživljavanja. Dakle, pacijenti sa malim tumorima sa LVI, bez involviranosti aksilarnih limfonoda imaju potencijalni benifit od adjuvantne terapije [21].

Steroidne receptore možemo definisati kao tkivno specifične intraćelijske jedarne bjelančevine koje vežu steroidne hormone s visokim afinitetom i niskim

kapacitetom. Određuju se imunohistohemijskim analizama. Nalaz steroidnih receptora za estrogen (ER) i progesteron (PgR) u karcinomu dojke je pokazatelj stepena hormonske zavisnosti tumora i služi za pravilan odabir adjuvantne terapije [25, 26].

Ekspresija HER2 receptora u karcinomu dojke označena je kao faktor loše prognoze [27, 28] i u korelaciji je sa većom agresivnošću tumora i lošijom prognozom [29, 20, 31, 32]. Generalno je prihvaćeno da je ekspresija HER2 receptora povezana sa povećanim rastom i metastaziranjem tumorskih ćelija, skraćenim intervalom bez znakova bolesti, kraćim preživljavanjem, niskim nivoom estrogenih receptora i višim histološkim gradusom tumora. HER2 ekspresija je udržena sa većim tumorima, status limfnih čvorova je viši nego kod HER2 negativnih, a i udaljene metastaze se češće nađu kod HER2 pozitivnih što je prognostički lošiji znak [28].

1. 1. 3. Savremene smjernice u liječenju karcinoma dojke

Savremena terapija karcinoma dojke je multidisciplinarna i sastoji se u hirurškoj, zračnoj, citostatskoj, hormonalnoj i imunološkoj terapiji sa specifičnom preporukom baziranom na stadijumu bolesti [20]. Najveći efekt ima kombinacija hirurškog liječenja, zračenja i sistemskog liječenja. Vrsta i redoslijed pojedinih načina liječenja moraju biti planirani u multidisciplinarnoj grupi hirurga-onkologa, radioterapeuta te interniste-onkologa [33]. U svrhu određivanja prognoze i ishoda bolesti kao i donošenju odluke o specifičnom onkološkom liječenju neophodno je poznavati i slijediti TNM klasifikaciju tumora.

Određivanje kliničkog stadija bolesti ili stepena uznapređovalosti bolesti naziva se stadiranje. Stadiranje pretstavlja grupisanje pacijenata shodno utvrđenim karakteristikama tumora. Bazirano je na kliničkim i patološkim nalazima.

Za prognozu i liječenje karcinoma dojke važno je znati klinički stepen raširenosti bolesti. Stadiranje je korisno u odlučivanju izbora terapijskog postupka za pojedine pacijente, upoređivanje rezultata sa drugim tretmanima, a stadij bolesti jedan je od najpouzdanijih prognostičkih faktora [26, 34].

Najčešće korišteni sistem stadiranja karcinoma dojke je American Joint Committee on Cancer (AJCC) i Union Internationale Conte Cancer (UICC). AJCC i UICC sistemi stadiranja koriste kliničko i patološko stadiranje bazirano na TNM

karakteristikama. T predstavlja tumor, N regionalne limfne čvorove i M metastaze [34, 35, 36, 37, 38].

Stadijum 0	Tis	No	Mo
Stadijum I	T1	No	Mo
Stadijum Iia	To	N1	Mo
	T1	N1	Mo
	T2	No	Mo
Stadijum Iib	T2	N1	Mo
	T3	No	Mo
Stadijum IIIa	To	N2	Mo
	T1	N2	Mo
	T2	N2	Mo
	T3	N1 N2	Mo
Stadijum IIIb	T4	N bilo koji	Mo
	T bilo koji	N3	Mo
Stadijum IV	T bilo koji	N bilo koji	M1

Tabela 2. Podjela karcinoma dojke prema stadijumima

Prema St Galenskim preporukama prije svega se uzima endokrini odgovor prilikom izbora terapije. U odnosu na hormonski zavistan ili hormonski nezavistan tumor pacijentkinje se razvrstavaju na pacijentkinje sa niskim, srednjim i visokim rizikom.

Nizak rizik; limfonod negativan tumor i sve sljedeće odlike: $p \leq 2$ cm, i GR I i odsustvo perivaskularne invazije i HER2-neu gen nepreizražen ili ne amplificiran i dob ≥ 35 .g.

Srednji rizik; limfonod negativna bolest i najmanje jedna od sljedećih odlika: $pT > 2$ cm ili GR II-III, ili prisustvo peritumoralne vaskularne invazije ili HER2-neu gen preizražen ili amplificiran ili dob ≤ 35 .g

Limfonod pozitivna bolest: (1-3 uključena limfna čvora) i HER2-neu gen niti preizražen niti amplificiran

Visoki rizik: limfonod pozitivna bolest: (1-3 uključena nodusa) i HER2-neu gen preizražen ili amplificiran

Limfonod pozitivan: 4 ili više uključenih nodusa [39,40].

Hirurška terapija se bazira na radikalnim i poštenim operacijama. Indikacije za radikalnu operaciju su difuzni i multicentrični karcinomi, nemogućnost primjene

radioterapije zbog kontraindikacija nakon poštudne terapije. Indikacije za poštudnu operaciju su nepalpabilni tumori To, Ttis, N0 M0, T1 a,b,c, N0 M0 stadijuma.

Bez obzira na nodalni status, većina relapsa se pojavljuje u periodu od 3 godine nakon hirurgije, nastajući najčešće u kostima. Ovi podaci sugerišu da je veliki broj pacijentkinja već prilikom postavljanja inicijalne dijagnoze imao razvijenu, ne detektabilnu, metastatsku bolest. Sve ovo je bio razlog, a što je i potvrđeno rezultatima velikog broja studija, prihvaćanja korištenja adjuvantne (postoperativne) hemioterapije [41].

U adjuvantnoj hemioterapiji trebaju se koristiti kombinovani režimi. U N+ i N0, režimi sa antraciklinima su pokazali neznatnu superiornost u efikasnosti nad intravenskim CMF. Četiri ciklusa AC pokazuju sličnost kao i šest ciklusa CMF (što je potvrdio i St Galen-ski konsenzus), i da je adekvatan tretman za ER/PR pozitivne tumore, dok za ER/PR negativni tumori su kandidati za prolongiranu terapiju, uključujući 4 ciklusa paclitaxela pa 4AC [42].

Karcinom dojke jeste hormonski zavisna bolest kod kojeg je efikasno hormonsko liječenje. Prednosti hormonskog liječenja nad citostaticima jeste to što su neželjeni efekti liječenja blaži i prihvatljiviji. Hormonsko liječenje je indikovano kod bolesnica koje nisu akutno životno ugrožene metastazama (u kostima i mekim tkivima). Tu se ubraja Tamoxifen, antiestrogeni, noviji inhibitori aromataza, ili pak medoksiprogesteron. Osnovni nedostatak hormonske terapije je što na nju odgovaraju samo hormonski zavisni tumori. Pravilnim izborom i kombinovanjem različitih mogućnosti hormonskog liječenja i drugih terapijskih postupaka možemo tokom dugog razdoblja postići za bolesnice zadovoljavajući učinak [43].

Bolesnice s prisutnim receptorom za faktor rasta HER2, primjenom trastuzumab-a (Trastuzumab) mogu postići remisiju metastatske bolesti. Uloga tog lijeka u adjuvantnom liječenju još se proučava, a dosadašnji trajali pokazuju redukciju rizika od rekurencije, produžetak slobodnog intervala bez znakova bolesti i preživljavanje, što je i dovelo do ubrzane registracije lijeka u adjuvantnom liječenju. Još se očekuju rezultati velikih kliničkih studija (HER, BCIRG 006, i dr.) o optimalnoj dužini primjene lijeka: jedna godina, dvije ili kraće (FinHer studija) [44]. Metastatski karcinom dojke još je neizlječiva bolest. Iako su uvedeni novi citostatici, njihove kombinacije, ipak se metastatska bolest ne može posve uništiti niti izliječiti [45].

1. 2 . Patogeneza metastaziranja

Metastaziranje je proces stvaranja tumorskih depozita udaljenih od primarne lokalizacije bolesti. Metastaza se definiše kao implantat-usadak tumorskih ćelija u udaljena tkiva od primarnog nastanka tumora. Invazivno svojstvo tumorskih ćelija omogućava im prodor u krvni i limfni sistem što olakšava i ubrzava širenje tumora [46].

Tumori imaju veoma različit potencijal metastaziranja, zavisno od histološkog tipa i specifičnih strukturnih promjena unutar samog tumora. Ponekad se metastaze manifestuju i prije samog primarnog tumora. Metastaze nastaju od subpopulacije veoma agresivnih ćelija, koje se javljaju rano u toku razvoja, progresije primarnog tumora. Metastatski potencijal ćelije obuhvata niz svojstava: pokretljivost, sposobnost invazije i ulaska u krvne sudove, sposobnost preživljenja u cirkulaciji, sposobnost diobe i rasta na udaljenim mjestima. Metastaziranje je složen slijed događaja koji se moraju uspješno okončati da bi došlo do diseminacije bolesti [47].

1. 2. 1. Invazivnost tumora

Invazivnost tumora predstavlja aktivnu migraciju neoplastičnih ćelija iz tkiva i njihovog nastanka u druga, susjedna ili udaljena tkiva. Invazija tkiva i kretanje ćelija kroz tkiva nije osobina samo tumorskih ćelija. Dok je migracija normalnih ćelija strogo regulisana međučelijskom saradnjom, metastaza tumora je poremećeno kretanje ćelija koje su zaobišle homeostatske međučelijske kontrolne mehanizme u tkivima. Invazija i metastaziranje dvije su stalne osobine malignih tumora [48]. Ti se procesi zbivaju u nekoliko koraka:

- invazija kroz bazalnu membranu
- infiltracija ekstracelularnog matriksa
- penetracija u krvne i limfne žile
- mogućnost preživljavanja u cirkulaciji
- neoangiogeneza-kao uslov bez kojeg ne može preživjeti.

Ulazak tumorskih ćelija u krvne i limfne sudove je preduslov nastajanja

metastaza. Čelije ulaze u cirkulaciju pojedinačno ili u grupama. Kod veoma agresivnih tumora ulazak ćelija u cirkulaciju je brz i svakodnevan. Samo mali broj cirkulišućih tumorskih ćelija, manje od 0,01% stvara metastatske kolonije [49]. Cirkulišuće ćelije koriste različite mehanizme da se zadrže u cirkulaciji ciljnog organa. Skoro 80% cirkulišućih ćelija su pojedinačne i direktno se prislanjaju na intaktnu ili oštećenu endotelnu površinu. Pored toga, grupe tumorskih ćelija mogu embolizirati sitne krvne sudove. Između endotela i subentotelne membrane, tumorske ćelije se zadržavaju 8 do 24 sata. Tada se događa lokalna razgradnja bazalne membrane, a tumorske ćelije pružaju pseudopodije kroz nastale defekte. Nakon toga slijedi izlazak tumorskih ćelija i često ponovno zatvaranje i uspostavljanje cirkulacije u pogođenom krvnom sudu [50].

Ćelije koje izlaze iz krvnih sudova dalje proliferiraju i stvaraju tumorske kolonije. Metstaza zahtijeva stvaranje novih krvnih sudova kad dostigne veličinu od 0,5 cm. Novostvorene krvne žile tumora jesu nepotpune te u njih lako prodiru ćelije primarnog tumora [51].

Ako se ne uspostavi angiogeneza tm ćelije mogu preživjeti kratko vrijeme i dostići veličinu od 1 do 2 mm ali nakon toga odumiru. Angiogeneza u suštini najviše odgovara morfološkom zarastanju rane. Angiogeneza tumora, neoangiogeneza, može se dogoditi u različitim vremenskim fazama rasta tumora. Uslovljena je fenotipskim i genotipskim promjenama u ćelijama tumora. Ne zna se da li je podsticajni mehanizam hipoksija u tkivu domaćina u kojem su se naselile tumorske ćelije, ili tumorske ćelije luče faktore, ili se pak radi o jednom ili drugom [52]. U svakom slučaju djelovanje može biti direktno na endotelne ćelije krvnih žila ili se radi o upalnim ćelijama, koje onda svojim produktima potiču stvaranje krvnih kapilara [53]

Tumori nemaju bogatu limfnu mrežu. Komunikacija tumorskih ćelija sa limfnim sudovima događa se na periferiji tumora. Ulazeći u limfne sudove, tumorske ćelije bivaju nošene do limfonoda, gdje se zaustavljaju u subkapsularnom sinusu. Jedan dio ćelija se zadržava i proliferira u samom limfonodu. Ali već 10 do 60 minuta nakon ulaska u limfnu žlijezdu, značajan dio tumorskih ćelija doseže, a zatim ulazi u eferentne sudove, te regionalnu ili sistemsku vensku drenažu zbog brojnih limfo-hematogenih komunikacija. Regionalne limfne žlijezde dakle ne funkcionišu kao mehanička barijera širenju tumora. Limfgena i hematogena diseminacija se javljaju istovremeno [47].

1. 2. 2. Uticaj različitih faktora za nastanak metastaza

Distribucija metastaza po pojedinim organima je različita, zavisno od histološkog tipa i anatomske lokalizacije tumora. Metastaze se najčešće lociraju u prvom kapilarnom sjedištu na putu cirkulišućih ćelija (sarkomi u plućima, tumori kolona u jetri, tumori pluća u mozgu). Pojedini tumori metastaziraju na mjesta koja ne mogu biti objašnjena anatomske razlozima, nego posebnim organ-specifičnim afintetom.

Eksperimenti na životinjama govore da bi sva tri mehanizma mogla imati uticaja na pojavu organ-specifičnog metastaziranja.

1. 2. 3. Skrining udaljenih metastaza

Iako se kod velikog broja žena karcinom dojke dijagnostikuje u ranom stadiju bolesti, kada je potpuno izlječenje bolesti moguće, ipak će se kod 24%-30% žena sa nodus negativnom bolesti, i u 50-60% sa nodus pozitivnom bolesti, razviti relaps bolesti. Dodatno će u 6-10% metastatska bolest biti dijagnostikovana inicijalno, u momentu postavljanja dijagnoze [54]. Metastatski karcinom dojke predstavlja heterogeno oboljenje koje se može manifestovati na mnogo načina. U trenutku kada karcinom dostigne metastatski stadij, već je prošao niz genetskih mutacija i fenotipskih ekspresija što ima za rezultat enormnu varijabilnost kliničkog toka bolesti, zahvaćenosti organa te rezistencije ili senzitivnosti na različite terapijske intervencije. Postoji niz terapijskih opcija u liječenju metastatskog karcinoma dojke, uključujući nove hemioterapijske agense, hormonalne i biološke terapije, kao i imunoterapije. Da bi se pravilno postavili ciljevi liječenja metastatskog karcinoma dojke, vrlo je važno analizirati prirodni tok neliječenog karcinoma dojke te puteve i način razvoja metastatske bolesti [55].

Na osnovu dobro određenih prognostičkih faktora kao što su veličina tumora, status limfnih čvorova, histološki gradus, status hormonskih receptora, HER-2 i starost pacijentkinje može se predvidjeti rizik pojave udaljenih metastaza [56]. Mjesta udaljenih metastaza u određenom procentu variraju od tipa tumora. Za razliku od duktalnih karcinoma, lobularni karcinomi pokazuju tendenciju širenja po seroznim površinama. HER-2 pozitivni tumori pokazuju sklonost širenja u visceralne organe i centralni nervni sistem. . Hormonski pozitivni tumori učestalo

se šire u kosti i ostaju ograničeni na kosti duži vremenski period [57]. Povrat bolesti kod ER negativnih tumora najčešće se javlja tokom 5 godina od momenta postavljanja dijagnoze. ER pozitivni tumori nose postojaniji rizik od povrata bolesti, koji se proteže na 10-15 godina nakon dijagnoze.

Noviji dijagnostički testovi, koji se koriste u dijagnostikovanju bolesti prije razvoja simptoma uključuju CT, NMR, PET sken, tumorske markere (CEA, CA 15-3, CA 27-29) ili tehnike za otkrivanje okultnih karcinomskih ćelija, kao što su biopsija koštane srži ili esej za cirkulišuće tumorske ćelije. Tumorski markeri mogu da predvide povrat bolesti 2 do 9 mjeseci prije razvoja simptoma. Biopsijom koštane srži detektovano je prisustvo izolovanih karcinomskih ćelija u 36% pacijentkinja sa ranim karcinomom dojke, dok je prisustvo citokeratin pozitivnih ćelija nezavisan prediktivni faktor [58].

1. 3. Značaj steroidnih receptora kod karcinoma dojke

1. 3. 1. Istorijat i značaj steroidnih receptora

Prvi podaci o uticaju funkcije jajnika na karcinom dojke kod žena datira jos iz vremena Schizinglera davne 1889. godine. Nakon 1950. godine ozbiljnije se razmatra o mogućnosti da se zračenjem jajnika spriječi relaps bolesti nakon mastektomije kod karcinoma dojke. Jensenovo otkriće estrogenih receptora 60-tih godina omogućilo je da se pomoću laboratorijskih parametara provodi ciljano hormonsko liječenje. Određivanje prisutnosti steroidnih receptora u primarnom metastatskom tumoru prijeko je potreban uslov za primjenu hormonske terapije. Značaj steroidnih receptora u patogenezi i prognozi karcinoma dojke poznata je decenijama i uloga srodnih receptora za estrogen i progesteron (ER i PR) razmatrana je u brojnim studijama. Molekularni mehanizam aktivacije steroidnih receptora je poznat. Neki od ovih gena su važni u fiziologiji dojke a drugi su takođe važni za proliferaciju i preživljavanje ćelija karcinoma dojke. Poslije vezivanja ER, estrogen može aktivirati transkripciju sa vezivanjem DNA na specifični niz promoter u ciljnom genu [59].

Estrogen i njegovi receptori su kritični za razvoj karcinoma dojke i predstavljaju cilj za uspješnu prevenciju i terapiju. Na određen način, cilj svih

oblika endokrine terapije su estrogeni receptori. Progesteronski receptori su važni u normalnom tkivu dojke i u razvoju karcinoma dojke, ali izgleda da je njihova uloga u razvoju karcinoma ograničena. Progesteronski receptori su, ipak, kao i estrogenski, važan prediktivni faktor u procjeni odgovora na endokrinu terapiju kod pacijentica sa karcinomom dojke.

ER postoje u dvije izoforme, ER α i ER β , produktima dva različita gena. Oba podtipa se nalaze u normalnom tkivu dojke, mada je samo ER α značajan za razvoj normalne mliječne žlijezde. ER α je visoko prisutan u premalignim lezijama dojki. ER β može poslužiti da spriječi stimulatorne efekte ER α , a visoka ekspresija je u korelaciji sa dobrim odgovorom na antiestrogenu terapiju. ER su identifikovani kao faktori regulacije transkripcije ekspresije specifičnih gena u jedru, od kojih su neki važni za proliferaciju i preživljavanje ćelija karcinoma dojke. Nakon vezivanja sa estrogenom, ER može aktivirati gensku transkripciju vezivanjem DNA sa sekvencom specifičnog promotera u ciljnim genima. ER indukovana genska ekspresija mijenja se interakcijom sa koregulatornim proteinima. Različit ćelijski odgovor na modulare kao što je tamoksifen, može biti povezana sa tkivno-specifičnim nivoima različitih koregulatornih proteina.

Direktni efekti estrogena na tkiva osjetljiva na estrogen su posredovani preko ER. ER se nalaze u hormonski osjetljivim tkivima, u niskom nivou u normalnom tkivu dojke, a u najvećim koncentracijama u približno 2/3 svih karcinoma dojke. ER posreduju u većini bioloških efekata estrogena na dojke i svi antiestrogeni su dizajnirani da se upliću u taj proces, mada treba zapamtiti da ER mogu biti aktivirani, u odsustvu liganda, faktorima rasta, koji dovode do povećanja broja intracelularnih sekundarnih glasnika. Jedino se razumijevanjem kompleksne interakcije estrogena sa ER može dobiti značajan uvid u mehanizme djelovanja antiestrogena [60].

1. 3. 2. Struktura steroidnih receptora

1. 3. 2. 1. Struktura estrogenih receptora.

Estrogeni receptor (ER) kod čovjeka je član familije steroidnih receptora, koji funkcioniše kao faktor ligandom-indukovane DNA transkripcije. U odsustvu hormona, Estrogeni receptor je zarobljen unutar jedra ciljne ćelije i ostaje u

neaktivnom stanju vezanjem sa proteinima toplotnog šoka (HSPs) i/ili u multiproteinskom inhibitornom kompleksu. Poznato je da je transdukcija estrogenog signala posredovana sa najmanje dva različita estrogena receptora, ER α i nedavno otkrivenim ER β . ER α i ER β imaju sličnu strukturu, predstavljenu visokim nivoom konverzacije aminokiselina unutar DNA vezujuće oblasti (DBD), umjerenom konverzijom aminokiselina u C-terminalu, ligand-vezujućoj oblasti (LBD) i značajnom razlikom na amino krajevima. Vezivanje estrogena uzrokuje konformacije ER, receptor se odvaja od HSP-kompleksa i biva fosforilisan. Postoji najmanje pet mjesta fosforilacije na estrogenim receptorima, 4 serina na aminokiselinama 104, 106, 118 i 167 i na tirosinu 537 u LBD. Ligandom vezan, fosforilisan estrogeni receptor biva podvrgnut dimerizaciji i kao homodimer ili heterodimer se vezuje sa specifičnim estrogen-odgovarajućim DNA elementom. Sa ovog mjesta na DNA, receptor povećava transkripciju sa najbližeg promotera [60, 61].

1. 3. 2. 2. Struktura progesteronskih receptora

Progesteronski receptori (PR) postoje u dvije izoforme (PR-A i PR-B), kao produkti jednog gena. Progesteronski receptori su važni u lobulo-alveolarnom razvoju i odnos dvije izoforme je kritičan za pravilnu strukturu i funkciju žlijezde. Uloga izoformi u karcinomu dojke još nije jasna. Moguća je povezanost prekomjernog broja PR-A sa rezistencijom na tamoksifen, dok povećana produkcija PR-B može biti povezana sa povećanim rizikom od razvoja karcinoma dojke [60].

1. 3. 3. Steroidni receptori kao prognostički i prediktivni faktor

Otkriće receptora za steroidne hormone objasnilo je mehanizam hormonske zavisnosti tumora, posebno tumora dojke [62]. Steroidne receptore možemo definisati kao tkivno specifične intraćelijske jedarne bjelančevine koje vežu steroidne hormone s visokim afinitetom i niskim kapacitetom. Određuju se imunohistohemijskim analizama. Nalaz steroidnih receptora za estrogen (ER) i progesteron (PR) u karcinomu dojke je pokazatelj stepena hormonske zavisnosti tumora i služi za pravilan odabir adjuvantne terapije [25, 26].

Mnogobrojni radovi pokazali su dobru korelaciju količine estrogenskih i progesteronskih receptora i odgovora na endokrinu terapiju. ER/PR pozitivni tumori imaju 60-70% bolji odgovor na terapiju u poređenju sa mjanje od 10% u ER/PR negativnih tumora.

ER pozitivni/PR negativni tumori imaju srednji odgovor na terapiju od oko 40%. Hormonski receptorski status je jedini preporučeni molekularni marker koji se koristi prilikom terapijske odluke [25, 26, 34].

Šansa da tumor koji posjeduje hormonske receptore odgovori na hormonsku terapiju je daleko veća nego kod hormon negativnih tumora. Odgovor je bolji što je vrijednost receptora veća [23, 63, 64, 65, 66]. Pozitivni ER i PgR, određeni imunohistohemijski, smatraju se kada je $\geq 10\%$ ćelija pozitivno [67].

Generalno, receptor pozitivni tumori imaju bolju prognozu [26, 68, 69]. Određivanje estrogenskih i progesteronskih receptora u tumorima dojke postalo je obavezni dio protokola kako u svijetu tako i kod nas i rutinski se određuje kao prediktivni tumorski odgovor na hormonsku terapiju [70].

Autori navode da postoji statistički značajna ekspresija nuklearnog estrogenog receptora kao i progesteronskog receptora kod dobro diferenciranih tumora (histološki i nuklearni gradus I) u odnosu na slabije diferencirane tumore. To samo potvrđuje da su hormonski zavisni tumori, nižeg nuklearnog gradusa, dobro diferencirani i imaju bolju kliničku prognozu. To konkretno znači da će tumori višeg gradusa (slabije diferencirani), odnosno hormonski nezavisni tumori, brže recidivirati i dati udaljene metastaze, a samim tim te pacijentkinje će imati i kraće vrijeme do recidiva i kraće preživljavanje [60, 93].

1. 3. 4. Endokrini odgovor-izbor endokrine terapije

Nakon identifikacije steroidnih receptora, potvrđen je njihov neosporan značaj kao važan biomarker u procjeni odgovora na različite endokrine terapije te je postavljena je hipoteza o boljem odgovoru ER/PR pozitivnih tumora na endokrinu terapiju. Retrospektivne studije na pacijenticama sa metastatskom bolešću, koje su u najvećem broju primale tamoxifen, podržale su ovu ideju.

PR negativni tumori reaguju slabije na endokrinu terapiju od PR pozitivnih tumora, mada neki i od PR negativnih tumora imaju korist od ove terapije.

Prospektivna studija sprovedena ranih 1980-ih, jasno je pokazala da povišen nivo PR značajno i nezavisno korelira sa povećanim stepenom odgovora na terapiju, dužim vremenom koristi od terapije i dužim sveukupim preživljavanjem pacijentica sa metastatskom bolešću liječenih tamoxifenom. Retrospektivno je, međutim, zapaženo da neki PR negativni tumori reaguju na endokrinu terapiju, što dovodi u pitanje originalnu hipotezu o PR, po kojoj takvi tumori ne bi trebalo da reaguju na endokrinu terapiju, zbog nefunkcionalnog signalnog puta ER. U skorije vrijeme sprovedene su dvije retrospektivne studije, koje su uključile 15 871 pacijenticu sa ranim stadijumom karcinoma liječenih tamoxifenom, kod kojih je nivo ER/PR određen u dvije centralne laboratorije korišćenjem standardizovane metodologije. Pacijentice sa ER/PR pozitivnim tumorima imale su veću korist od adjuvantne primjene tamoxifena od pacijentica sa PR negativnim tumorima. ER i PR su nezavisni prediktivni faktori ishoda u multivarijantnim analizama. Prisustvo PR je direktno povezano sa kvantitativnim nivoom ER. Prediktivna vrijednost PR kod pacijentica tretiranih adjuvantnom terapijom tamoksifenom odsustvo PR je povezano sa slabijim odgovorom na tamoxifen [60].

Postoji hipoteza da prisustvo PR ukazuje na funkcionalan put ER i na tumor čiji je rast visoko zavisan o estrogenu, samim tim, trebao bi odgovoriti na različite oblike hormonalne terapije. ER pozitivni tumori bez PR imali bi slabiji odgovor na endokrinu terapiju. Ova hipoteza potvrđena je u nekoliko studija. Oko 75% karcinoma dojke je ER pozitivno i preko polovine ovih tumora pokazuje ekspresiju PR. Manje od 10% tumora pokazuje ekspresiju PR u odsustvu ER, a oko 20% je ER/PR negativno. Studije takođe pokazuju da se nivo ER i PR može promijeniti tokom prirodnog razvoja bolesti ili kao rezultat terapije. Nivo PR se smanjuje dramatičnije, oko polovine tumora kompletno gubi ekspresiju PR, kada nastaje rezistencija na endokrinu terapiju. Ovi ER+/PR- tumori postaju mnogo agresivniji sa slabijim preživljavanjem nakon gubitka PR, u poređenju sa tumorima koji su zadržali ekspresiju PR. ER+/PR- tumori, koji nisu primarno tretirani imaju svoje jedinstvene epidemiološke faktore rizika [4, 60].

1. 4. Prognostički značaj HER 2 receptora kod karcinoma dojke

1. 4. 1. Struktura, biologija i mehanizam djelovanja HER2

Među prognostičkim faktorima uz patohistološku dijagnozu velik značaj u daljem toku bolesti imaju biohemijska i imunohistohemijska određivanja. Najznačajniji parametri koji mogu doprinijeti pravilnom izboru terapije su Human Epidermal Growth factor Receptor -2 (HER 2 neu onkogen)-dalje u tekstu HER2, kako se ovaj gen najčešće označava u literaturi, p53 i Bcl-2, cathepsin B, p27, PCNA, cyclinD, Ki-67 i Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). Jedan od najznačajnijih tumorskih markera za karcinom dojke je HER2 koji ima prognostički i prediktivni značaj [71].

HER2 protoonkogen kodira transmembranski protein koji predstavlja receptor sa tirozin kinaznom aktivnošću. Otkriven je 1981. godine kao transformišući onkogen kod indukovanih neuralnih (neu) tumora pacova [71]. Normalne humoralne ćelije posjeduju vrlo male količine HER2 proteina na površini ćelijskih membrana. Nakon njegove aktivacije dolazi do kaskade signala za rast koji kulminiraju u aktivaciji gena. Efekat ove aktivacije je reorganizacija citoskeleta, promjene u ćelijskom motilitetu, ćelijskoj adhezivnosti i aktivnosti proteaza [37, 38, 72]. Ove ćelijske promjene mogu uticati i na interakciju citostatika sa ćelijom [73]. Prisustvo HER2 ima značaj za prognozu bolesti, predviđanje terapijskog odgovora i predstavlja značajnu terapijsku metu za humanizovano monoklono antitijelo. U tumorskom tkivu se može odrediti broj genskih kopija HER2, glasnička RNA, proteina na površini ćelije, a iz seruma se određuje oslobođeno ekstracelularno područje receptorskog proteina.

HER2 pozitivni karcinomi dojke pokazuju veću agresivnost nego drugi tipovi karcinoma dojke. Takođe su manje osjetljivi na hormonsku terapiju [74]. Brojne studije su dokazale prognostički značaj prisustva HER2 u karcinomima dojke. HER2 ekspresija je udružena sa nepovoljnim prognostičkim parametrima i to odsustvo estrogenih receptora, metastazama u aksilarne limfne čvorove, p53 mutacijom i visokim jedarnim stepenom malignosti [36, 75, 76, 77, 78]. HER2 onkogen se nalazi samo u oko 30% malignih tumora dojke. Indikator je loše prognoze bolesti [75].

Tkivo dojke se može testirati na HER2, i rutinski test se preporučuje za

većinu žena sa karcinomom dojke zato što rezultati mogu doprinijeti boljim odlukama i terapijskim preporukama. Kada god karcinom dojke recidivira ili se širi, trebalo bi izvršiti testiranje HER2 [36].

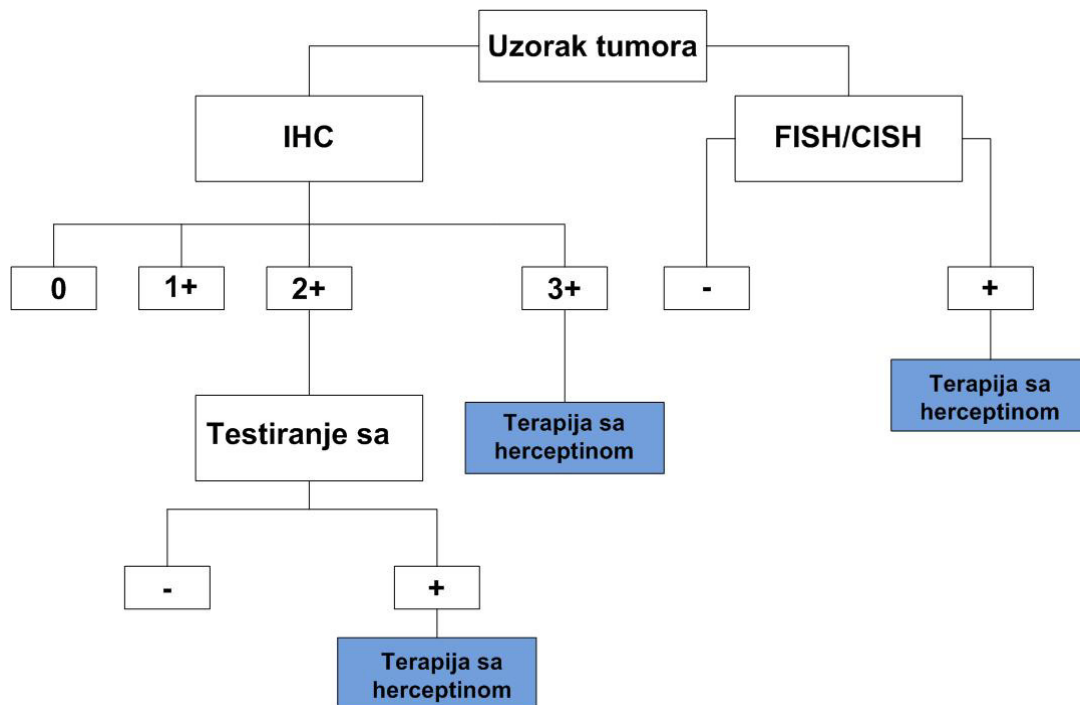
1. 4. 2. Dijagnostički algoritam HER2

Određivanje ekspresije humanog epidermalnog faktora rasta HER 2 u karcinomu dojke postalo je neophodan vodič za kliničku upotrebu monoklonalnih antitijela (trastuzumab) i zlatni standard u dijagnostičkom algoritmu karcinoma dojke. Osnovne metode testiranja su imunohistohemijska, kojom se identifikuje povećana proteinska ekspresija humanog epidermalnog faktora rasta HER 2 na ćelijskoj membrani i *in situ* hibridizacija, korišćenjem fluorescencije (fluorescentna *in situ* hibridizacija) ili hromogena (hromogena *in situ* hibridizacija), kojom se determiniše postojanje genske amplifikacije. Postoje brojni faktori koji mogu da utiču na rezultate testiranja, a u vezi su sa antitijelima/probama, opštom metodologijom rada i iskustvom. U mnogim zemljama postoje nacionalni vodiči za testiranje humanog epidermalnog faktora rasta HER 2 sa ciljem da se sve korišćene procedure standardizuju i tako osigura visoka pouzdanost nalaza. Opšta je preporuka da sve laboratorije u kojima se vrši testiranje humanog epidermalnog faktora rasta HER 2, bez obzira na korišćenu metodu, moraju biti uključene u sisteme unutrašnje i spoljašnje provjere kvaliteta [79].

Iako bi testiranje moralo biti standardizovano činjenica je da se u određivanju HER2 statusa, prvenstveno imunohistohemijskom metodom, mogu javiti značajne varijabilnosti. Ove varijacije u vezi su sa brojnim preanalitičkim i analitičkim faktorima, kao što su vrijeme fiksacije, vrsta primarnog antitijela i korišćene metode, kao i subjektivne varijacije u interpretiranju nalaza i skorovanju [80]. Mnoge zemlje do danas su sačinile uputstva za procedure HER2 testiranja i protokole koji su formirani na nacionalnom nivou i prosljeđeni svim dijagnostičkim centrima u zemlji. Iako se ovi nacionalni protokoli među sobom razlikuju u pojedinim segmentima oni se kontinuirano upoređuju i unaprijeđuju, kako bi se dobilo što više podataka o faktorima koji utiču na HER2 testiranje i odgovor na terapiju monoklonalnim antitijelima. Visok nivo reproducibilnosti i pouzdanosti HER 2 testiranja, kao i precizan odabir bolesnica kandidatkinja za anti HER2 terapiju krajnji je cilj ovih nastojanja [81, 82].

Opšte je prihvaćena preporuka da se HER2 testiranje izvodi kod svih bolesnica sa invazivnim karcinomom dojke u vreme dijagnostikovanja bolesti. Svršishodnost ranog testiranja leži u činjenici da se HER2 pozitivnost razvija u ranom stadijumu kancerogeneze, kao i da HER2 status primarnog tumora korelira sa metastatskim žarištima. Uzimanje i obrada tkivnih uzoraka prije HER2 testiranja (tkivni procesing) može značajno da utiče na rezultat. Stoga, potrebno je standardizovati sve metodološke korake i korišćene procedure, uključujući vrijeme od ekscizije do fiksacije tkiva, serijsko sječenje uzorka prije fiksacije, trajanje fiksacije, tip fiksacije i čuvanje parafinskih kalupa i pločica [83].

Imunohistohemija je primarna metoda utvrđivanja HER2 statusa kojom se, primjenom anti HER2 antitijela, u svrhu terapijskog tretmana, odvajaju jasnopozitivni (skor 3+) od negativnih (skor 0/1+) slučajeva i, takođe, vrši trijaža graničnih (skor 2+) slučajeva koji zahtijevaju dalje ispitivanje FISH ili CISH tehnikom, kako bi se utvrdilo da li pokazuju gensku amplifikaciju. Od 2007. godine, po američkim i kanadskim preporukama za HER2 testiranje, pozitivni slučajevi karcinoma dojke (3+ skor) definišu se kao tumori sa potpunim, jakim membranskim bojenjem u više od 30% tumorskih ćelija, dok se jako membransko bojenje u manje od 30% tumorskih ćelija, kao i slabo do umjereno kompletno membransko bojenje u najmanje 10% ćelija vrednuje skorom 2+. Skor 1+ podrazumjeva nekompletno membransko bojenje u više od 10% tumorskih ćelija, dok skor 0 označava membransko bojenje u manje od 10% tumorskih ćelija [82, 84]. Tumačenje imunohistohemijskih bojenja može biti subjektivno i može uticati na rezultat HER2 testa, naročito kada je u pitanju diferencijacija između 2+ i 3+ rezultata [85]. Zato u većini nacionalnih protokola za HER2 testiranje, koji postoje u mnogim zemljama svijeta, stoje jasne preporuke i standardi za tumačenje imunohistohemijskih rezultata.



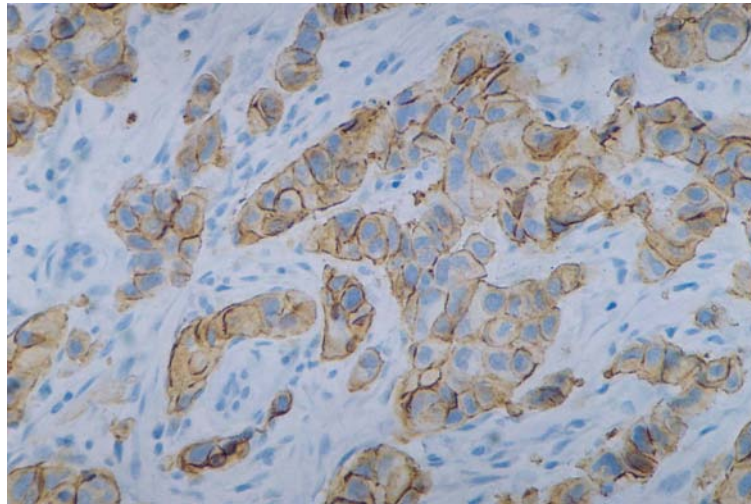
Slika 1. Dijagnostički algoritam HER 2

Određivanje HER2 je imunohistohemijska reakcija. Prilikom IHH bojenja i određivanja receptora postoji različita imunohistohemijska izražajnost. Oni se izražavaju sa 4 različite vrijednosti HER2 0/neg, HER2 poz +, HER2 poz ++, HER2 poz +++.

Kada je HER2 pozitivan +, sigurno da se radi o negativnom tumoru koji neće odgovoriti na terapiju monoklinalnim antitijelom, a HER2 +++ je siguran znak da će tumor odgovoriti na terapiju monoklinalnim antitijelom.

Siva zona je nesigurno područje su tumori koji imaju dva plusa HER2++. U takvoj situaciji se vrše dodatna bojenja, ali sada se više ne boje receptori na površini ćelije (transmembranski receptori), nego se radi CISH ili FISH metoda koje ustvari vizualiziraju (najčešće imunofluorescentno) HER2 gene koji su smješteni u jedri ćelije i rezultat čijeg podražaja je povećana koncentracija HER2 na površini ćelije. Da bi se dokazala HER2 gen amplifikacija radi se više metoda, ali najrasprostranjenije su dvije FISH (fluorescence in situ hybridization), a druga je CISH (chromogenic in situ hybridization). Moguće je još PCR (polimerase chain reaction) zatim southern blot, zatim increased her2 m RNA transcript (RT-PCR I northern blot). Najprihvatljivije su FISH I CISH. Kod nas je standardizirana CISH metoda i pokazuje amplifikaciju HER2 gena u jedru što je onda siguran znak

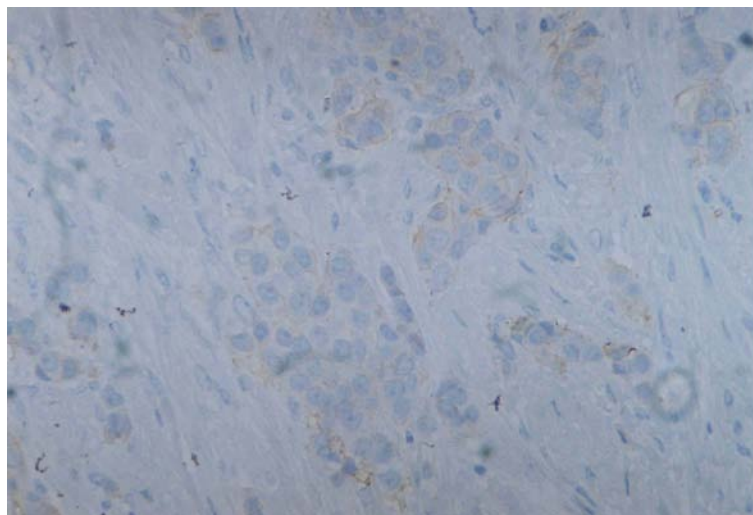
HER2 pozitivnosti tumora ako se preko 50% ćelija boji pokazuje prisustvo HER2 [86, 94].



Slika 2 Duktalni invazivni karcinom dojke, visoka membranska ekspresija HER2/neu (HER2 3+)(anti HER2/neu x 250)

Da rezimiramo, tumori koji su indikacija za terapiju monoklonalnim antitijelom su tumori imunohistohemijski pozitivni tri plusa, a tumori sa dva plusa nakon dodatnog ispitivanja FISH i CISH, metodom sa više od 50% ćelija koje se boje na HER2 gen su takođe kandidati za terapiju monoklonalnim antitijelom dok FISH i CISH negativan tumor nije indikacija za terapiju monoklonalnim antitijelom.

Trastuzumab se kod sistemske bolesti (proširena bolest sa metastazama) daje u kombinaciji sa citostaticima. Kombinacija citostatika i Trastuzumaba ovisna je o prisustvu nekih drugih receptora—izomeraze, p 53. Međutim Trastuzumab se može davati i u adjuvantnom liječenju—kod ranog karcinoma dojke (niži stadij), a najčešće nakon završene hemioterapije i to u trajanju od najčešće od jedne godine svake tri nedelje uz obavezan kardiološki monitoring i kad se daje adjuvantno i u sistemske terapiji.



Slika 3. Duktalni invazivni karcinom dojke,
osustvo membranske ekspresije HER2/*neu* (HER2 0)
(anti HER2/*neu* x 250);

1. 4. 3. Mehanizam djelovanja monoklonalnih antitijela

Interes za HER2 revitalizovan je otkrićem humanizovanog monoklonalnog antitijela protiv HER2 (Herceptin®/trastuzumab) koji je razvio *Genentech* (San Francisco, CA, USA). Trastuzumab djeluje na više različitih načina, ali jedan od najznačajnijih mehanizama dejstva je aktivacija imunog odgovora organizma, koji putem antitijelo-zavisne ćelijski posredovane citotoksičnosti (ADCC, *antibody-dependent cellular cytotoxicity*) dovodi do smrti tumorske ćelije [87]. Efikasnost ovog lijeka u tretmanu bolesnica sa agresivnom formom. HER2 pozitivnih karcinoma dojke prvi put je dokazana 1998. godine, u kliničkoj studiji u kojoj je Trastuzumab korišten kao druga i treća linija monoterapije kod žena sa metastatskom bolešću koje su prethodno bile tretirane hemioterapijom [80]. Dokazano je da Trastuzumab primenjen u prvoj liniji metastatskog karcinoma dojke u kombinaciji sa taksanima poboljšava sve parametre kliničkog odgovora uključujući i preživljavanje [88,89].

U skorije vreme, prospektivne randomizirane studije koje je sproveo u Americi *National Surgical Adjuvant Breast Project* (NSABP) B-31 i *Breast Cancer Interugroup Study* (N-9831) u Evropi (*Trastuzumab@ Adjuvant trial* (HERA)) dokazale su da adjuvantna primena trastuzumaba u trajanju od 1 godine, nakon primenjene standardne hemioterapije, dovodi do smanjenja rizika od recidiva i

smanjenja mortaliteta kod bolesnica sa HER2 pozitivnim ranim stadijumom karcinoma dojke [70, 90, 91].

Obzirom na to da je terapija Trastuzumabom efikasna sarno kod bolesnica sa dokazanom tumorskom HER2 amplifikacijom izuzetno je značajan pravilan odabir bolesnica za tretman ovim lijekom. Potencijalne posljedice koje proizilaze iz lažno pozitivnih, kao i lažno negativnih rezultata veoma su ozbiljne a kreću se od visoke cijene troškova, neadekvatnog tretmana, mogućih neželjenih kardiotsičnih efekata koji se opisuju u kombinovanoj primjeni sa doksorubicinom, do lošijeg toka i ishoda bolesti za bolesnice kojima je terapija bila potrebna a nisu je primile [70].

1. 5. Adjuvantna terapija karcinoma dojke

Terapija karcinoma dojke je multidisciplinarna. i izrazito kompleksna. Osnovni modaliteti liječenja su: hirurški, radioterapijski, hemioterapijski i hormonalni [92, 95].

Hirurško liječenje: Hirurški zahvat je prva metoda terapije operabilnog karcinoma dojke (stadij I i II). Danas se najčešće primjenjuje radikalna mastektomija sa uklanjanjem cijele dojke i aksilarnih limfnih čvorova. Sve se češće kod malih tumora provodi poštedni zahvat sa odstranjenjem određenog broja regionalnih limfonoda tzv. poštedna operacija. Nakon ovakvog zahvata obavezna je **radioterapija**. Poštedni hirurški zahvat sa radioterapijom daje jednake mogućnosti izliječenja kao radikalna mastektomija, a za ženu je prihvatljiviji jer daje bolji kvalitet života. Kontraindikacije za poštedni zahvat su veći tumori, multicentrični, sa klinički zahvaćenim regionalnim limfonodima, te pacijentice kod kojih mogu postojati kontraindikacije za postoperativno zračenje. Zračenje nakon poštednog hirurškog zahvata smanjuje pojavu lokalnog recidiva sa 25% na 5%, tj smanjuje stopu rizika za recidiv za 75%.

Nakon radikalne mastektomije, također se kod nekih pacijentica provodi lokoregionalno zračenja. Lokalno uznapredovali karcinom dojke, iako nediseminiran, ne operiše se primarno, nego se najprije tretira hemioterapijom (neoadjuvantna hemoterapija), a kada se dovoljno smanji, provodi se hirurško liječenje [96].

Hemioterapija karcinoma dojke: Uzrok smrti od karcinoma dojke su njegove metastaze u udaljene organe: pluća, jetra, mozak, kosti i drugo. Također je poznato da kod nekih pacijentica tumor metastazira veoma rano, čak prije nego što se dijagnostikuje. Ako se nakon operacije dokažu metastaze u aksilarnim limfnim čvorovima postoji vjerojatnoća prisustva udaljenih mikrometastaza koje se ne mogu dokazati dijagnostičkim metodama. Zbog toga se kod tih pacijentica nakon hirurškog liječenja provodi adjuvantna hemioterapija sa ciljem da uništi mikrometastaze i tako poboljša ukupno preživljenje (overall survival-OS) [97]. Hemioterapija se takođe provodi kod metastatskog karcinoma dojke i to kod kožnih metastaza i infiltracije, plućnih i pleuralnih metastaza sa izlievom, jetrenih metastaza sa ascitesom i drugih. Na pojavu moždanih metastaza hemoterapija nema uticaja, jer većina citostatika ne prolazi krvno-moždanu (hematoencefaličnu) barijeru. Hemioterapija kod metastatske bolesti je palijativan tretman. Od citostatika kod karcinoma dojke se najčešće koriste antraciklini, taksani, ciklofosfamidi 5-Fluorouracil, kapecitabin i drugi [98].

Hormonska terapija karcinoma dojke: Hormonska terapija se provodi isključivo kod tumora koji posjeduju pozitivne steroidne (hormonske) receptore (ER, PgR). Oko dvije trećine karcinoma dojke su hormonski zavisni. Hormonska terapija je veoma efikasna terapija kod visoke ekspresije hormonskih receptora, a odgovor na hormonalnu terapiju se postiže u 80% slučajeva. Hormonska terapija se daje adjuvantno nakon operacije kod svih pacijentica sa hormonski zavisnim tumorima. Kod lokalno uznapredovalih tumora takođe se može dati kao neoadjuvantna terapija. Kod metastatske bolesti, posebno kod koštanih metastaza, hormonalna terapija redovno daje dobar odgovor. Mijenjanjem vrsta hormonalne terapije nakon progresije bolesti, može se nekada postići kvalitetan život za duži niz godina. Kao adjuvantna terapija kod premenopauzalnih žena daje se antiestrogen tamoxifen [99]. Efekat tamoxifena je poboljšan ako se zaustavi funkcija ovarija sa LHRH agonistom zoladexom. U postmenopauzalnih žena koristi se kao prva linija terapije tamoxifen ili inhibitori aromatize (letrozol, anastrozol, egzemestan). Kod uznapredovalog i metastatskog tumora premenopauzalnih žena koje nisu ranije dobijale hormonsku terapiju daje se tamoxifen i LHRG agonist Zoladex. Ako su ranije dobijale tamoxifen, uklanja se ovarijalna funkcija (Zoladex ili radiokastracija) i daju inhibitori aromataze. Kao treća linija hormonske terapije koriste se gestageni, megestrol acetate. Kada

bolest progredira nakon aromataza inhibitora, daje se fulvestrant (čisti antiestrogen) koji u potpunosti blokira estrogenske receptore i dezintegrira ih.

. **Ciljana terapija monoklonalnim antitijelima:** Intenzivna istraživanja posljednjih godina otkrila su u tumorskoj ćeliji karcinoma dojke prisustvo mnogobrojnih specifičnih gena odgovornih za ponašanje ovog tumora. Do sada je kod karcinoma dojke ustanovljeno više od 70 specifičnih gena, od kojih neki već imaju primjenu u kliničkoj praksi. Ovi geni produkuju specifične proteine koji se ponašaju kao receptori faktora rasta (epidermal growth factor receptor- EGFR, vascular endothel growth factor receptor-VEGFR, i drugi) i sa njima pokreću biološke procese rasta u ćeliji. Tako je ustanovljeno da oko 25% karcinoma dojke posjeduje na svojoj ćelijskoj membrani u visokoj koncentraciji HER2 receptor (human epidermal growth factor receptor ErbB-2). Ovaj se receptor ponaša kao antigen, pa je za njega sintetizovano specifično monoklonalno antitijelo (Trastuzumab) koje cilja i vezuje se za HER-2 receptor, blokira ga, onemogućava njegovo spajanje sa faktorom rasta i na taj način inhibira prenos signala za biološke procese rasta i razvoja tumora [100].

Uvođenje Trastuzumaba u terapiju pokazalo se efikasnim u regresiji tumora i produženju života kod metastatske bolesti ako se koristi sam ili u kombinaciji sa citostaticima. Također, u kliničkim studijama na oko 12000 žena, dokazano je da Trastuzumab kada se daje kao adjuvantna terapija kod ranog, nemetastatskog karcinoma dojke, smanjuje rizik od smrti za 48% [101]. U toku su istraživanja mnogih lijekova iz područja ciljane terapije ne samo kod karcinoma dojke nego i drugih tumora, a koja će, nadamo se, bitno poboljšati izlječivost karcinoma.