

**SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET**

ANA MAJIĆ

**UČINKOVITOST DUALNE HORMONSKE TERAPIJE AROMATAZNIM
INHIBITOROM I FULVESTRANTOM U HORMONSKOM NEOADJUVANTNOM
LIJEČENJU LOKALNO UZNAPREDOVALOG RAKA DOJKE**

Doktorski rad

Split, 2026.

Doktorski rad izrađen je u sklopu Kliničkog bolničkog centra Split, Klinika za onkologiju i radioterapiju.

Voditelj rada: prof. dr. sc. Eduard Vrdoljak

ZAHVALA

Hvala do neba mojoj obitelji i svim bliskim i dragim ljudima koji su na nebrojeno načina, a da toga nisu ni svjesni, pomogli da dovedem do kraja izradu ove doktorske disertacije.

Hvala mentoru prof. dr. sc. Eduardu Vrdoljaku, na prilici da u životu radim ono što volim, i na velikom trudu da u tome svakodnevno napredujem.

SADRŽAJ

1.	UVOD.....	1
1.1	Epidemiologija raka dojke.....	2
1.2	Etiologija raka dojke.....	3
1.3	Klinička slika raka dojke.....	6
1.4	Dijagnostika raka dojke.....	6
1.5	Patologija raka dojke.....	7
1.5.1	Histološki tipovi raka dojke.....	8
1.5.2	Stupanj diferencijacije raka dojke.....	8
1.5.3	Patološki stadij raka dojke.....	9
1.5.4	Molekularna klasifikacija raka dojke.....	10
1.5.5	Prognostički čimbenici.....	13
1.5.6	Prognostički multigenski testovi.....	15
1.6	Liječenje raka dojke.....	16
1.6.1	Liječenje lokalnog i lokoregionalno uznapredovalog raka dojke.....	16
1.6.2	Liječenje metastatske bolesti.....	29
1.6.3	Problematika istraživanja.....	31
2.	CILJEVI ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZA.....	32
2.1	Ciljevi istraživanja.....	33
2.2	Hipoteza.....	33
3.	ISPITANICE, USTROJ ISTRAŽIVANJA I POSTUPCI.....	34
3.1	Ispitanice.....	35
3.1.1	Kriteriji uključenja.....	35
3.2	Ustroj istraživanja.....	35
3.3	Postupci.....	36
4.	STATISTIČKA ANALIZA.....	37
5.	REZULTATI RADA.....	40
5.1	Obilježja bolesnica, tumora i liječenja.....	41
5.2	Rezultati ishoda učinkovitosti i sigurnosti.....	43
5.3	Prediktori ishoda liječenja.....	45
6.	RASPRAVA.....	48
7.	ZAKLJUČCI.....	54
8.	SAŽETAK.....	56
9.	LAIČKI SAŽETAK.....	58
10.	SUMMARY.....	60
11.	LAY SUMMARY.....	62
12.	ŽIVOTOPIS.....	64
13.	REFERENCE.....	66

POPIS KRATICA I OZNAKA

ADH	Atipična duktalna hiperplazija (engl. <i>Atypic ductal hyperplasia</i>)
AI	Aromatazni inhibitori (engl. <i>Aromatase inhibitors</i>)
AJCC	Američko društvo za rak (engl. <i>The American Joint Comittee on Cancer</i>)
ALH	Atipična lobularna hiperplazija (engl. <i>Atypic lobular hyperplasia</i>)
BCS	Poštedni operativni zahvat dojke (engl. <i>Breast conserving surgery</i>)
BMI	Indeks tjelesne mase (engl. <i>Body mass index</i>)
BRCA1	engl. <i>Breast cancer gene 1</i>
BRCA2	engl. <i>Breast cancer gene 2</i>
BSO	Bilateralna salpingoovarijektomija (engl. <i>Billateral Salpingo Ovariectomy</i>)
CDH1	Kadherin-1 (engl. <i>cadherin-1</i>)
CDK4/6	Ciklin-ovisne kinaze 4/6 (engl. <i>Cyclin-dependent kinases 4/6</i>)
CI	Interval pouzdanosti (engl. <i>Confidence interval</i>)
CT	Računalna tomografija (engl. <i>Computerized tommography</i>)
DCIS	Duktalni karcinom <i>in situ</i> (engl. <i>Ductal carcinoma in situ</i>)
DNA	Deoksiribonukleinska kiselina (engl. <i>Deoxyribonucleic Acid</i>)
ER	Estrogen receptor (engl. <i>Estrogen receptor</i>)
HER2	Receptor humanog epidermalnog faktora rasta 2 (engl. <i>Human epidermal growth factor receptor 2</i>)
HR	Omjer rizika (engl. <i>Hazard ratio</i>)
IHC	Imunohistokemija (engl. <i>Immunohystochemistry</i>)
IQR	Interkvartilni raspon (engl. <i>Interquartile range</i>)
ITC	Izolirane tumorske stanice (engl. <i>Isolated tumor cells</i>)
ITT	Populacija s namjerom liječenja (engl. <i>Intention to treat</i>)
LCIS	Lobularni karcinom <i>in situ</i> (engl. <i>Lobular carcinoma in situ</i>)
LHRH	Hormon oslobađanja luteinizirajućeg hormona (engl. <i>Luteinizing Hormone-Releasing Hormone</i>)
LVI	Limfovaskularna invazija (engl. <i>Lymphovascular invasion</i>)
MMG	Mamografija (engl. <i>Mammography</i>)
MRI	Magnetska rezonanca (engl. <i>Magnetic Resonance Imaging</i>)
mTOR	engl. <i>Mamalian target of rapamycin</i>
NACT	Neoadjuvantna kemoterapija (engl. <i>Neoadjuvant chemotherapy</i>)
NAT	Neoadjuvantna terapija (engl. <i>Neoadjuvant therapy</i>)

NET	Neoadjuvantna endokrina terapija (engl. <i>Neoadjuvant endocrine therapy</i>)
NOS	Duktalni invazivni rak dojke, nespecificiran drugačije (engl. <i>No otherwise specified</i>)
PALB2	engl. <i>Partner and localizer of BRCA2</i>
PARP	engl. <i>Poly ADP-ribose polymerase</i>
PCR	Patološki kompletan odgovor (engl. <i>Pathological complete response</i>)
PET	Pozitronska emisijska tomografija (engl. <i>Positron emission tomography</i>)
PI3K	engl. <i>Phosphoinositide 3-kinase</i>
PPP	Populacija prema protokolu (engl. <i>Population per protocol</i>)
PR	Progesteronski receptor (engl. <i>Progesteron receptor</i>)
PTEN	engl. <i>Phosphatase and tensin homolog</i>
RCB	Indeks rezidualnog opterećenja karcinomom (engl. <i>Residual Cancer Burden</i>)
RS	Rezultat za vjerojatnost povrata (engl. <i>Recurrence score</i>)
RTG	Rendgen (engl. <i>Roendgen</i>)
RT-PCR	Kvalitativna molekularna metoda reverzne transkripcije lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu (engl. <i>Real time polymerase chain reaction</i>)
SERM	Selektivni modulator estrogenskih receptora (engl. <i>Selective estrogen receptor modulator</i>)
SLNB	Biopsija limfnog čvora stražara (engl. <i>Sentinel lymph node biopsy</i>)
TDM1	engl. <i>Trastuzumab – emtasin</i>
TDXD	engl. <i>Trastuzumab – deruxtecan</i>
TNBC	Trostruko negativni rak dojke(engl. <i>Triple negative breast cancer</i>)
TNM	Tumor limfni čvorovi metastaze (engl. <i>Tumor Node Metastasis</i>)
TP53	engl. <i>Tumor protein p53</i>
UZV	Ultrazvuk (engl. <i>Ultrasound</i>)

1. UVOD

1.1 Epidemiologija raka dojke

Najčešće dijagnosticirana maligna bolest kod žena diljem svijeta je rak dojke. Prema podacima GLOBOCAN-a, 2022. godine u svijetu je dijagnosticirano oko 2,3 milijuna slučajeva raka dojke. Od iste je dijagnoze umrlo preko 600 000 žena. Dobno – standardizirana stopa za svjetsko stanovništvo iznosi 46,8/100 000, i ona varira u različitim dijelovima svijeta. Dok je incidencija najveća u razvijenijim zemljama (Sjeverna Amerika, Europa), smrtnost je veća u nerazvijenim zemljama (1). Po broju oboljelih, u Europi se rak dojke kod žena nalazi na prvom mjestu. 2022. godine u Europi (EU 27) je s rakom dojke dijagnosticirano oko 375 000 žena, dok je 96 000 žena umrlo. Stopa incidencije (prosjeak EU-27) je bila 147,6/100 000 žena, dok je stopa smrtnosti (prosjeak EU-27) 30,4/100 000 žena (standardizirano). Uzimajući u obzir ove podatke, procjenjuje se da će 1 od 11 žena razviti rak dojke do 74. godine života (2).

U 2022. godini smrtni slučajevi od raka dojke činili su 7,4 % svih smrtnih slučajeva od raka; među ženama, rak dojke činio je 16,4 % svih smrtnih slučajeva od raka. U Republici Hrvatskoj od raka dojke obolijeva četvrtina novodijagnosticiranih žena, te je najčešće sijelo raka u žena. Prema zadnjim dostupnim podacima Registra za rak, u 2022. godini dijagnosticirano je 3088 slučajeva raka dojke (incidencija 154,78/100 000), a od raka dojke umrlo je 707 žena (stopa 35,5/100 000) (3). Prema rezultatima CONCORD-3 studije kod žena kojima dijagnosticiranih tijekom 2010. – 2014., 5-godišnje preživljenje od raka dojke dostiglo je 89,5 % u Australiji i 90,2 % u Sjedinjenim Američkim Državama, ali međunarodne razlike ostaju vrlo velike, s razinama niskima i do 66,1 % u Indiji. 5-godišnje preživljenje nastavilo se povećavati do 2010.–2014. u većini zemalja Srednje i Južne Amerike, istočne i zapadne Azije te u cijeloj Europi. Unatoč tome, preživljenje ostaje niže u istočnoj Europi nego u drugim dijelovima kontinenta (4).

Polovica svih slučajeva raka dojke dijagnosticiranog u žena dogodila se u dobnoj skupini 45-69 godina. Kod muškaraca, kao i kod žena, oko dvije trećine svih smrtnih slučajeva od raka dojke dogodilo se u dobnoj skupini 70+ godina. Oko 20 % slučajeva dijagnosticira se u žena u dobi mlađoj od 50 godina (5). Incidencija raka dojke u Hrvatskoj je u porastu posljednjih desetljeća, dijelom zbog poboljšanog probira kroz implementaciju Nacionalnog programa ranog otkrivanja raka dojke koji postoji od 2006. godine. Do sada je završeno osam ciklusa programa. Svake godine snimi se oko 150.000 mamografija uz ukupni odaziv žena oko 67 %. U prvih provedenih šest ciklusa programa otkriveno je 8304 karcinoma dojke. Zahvaljujući programima probira, više od 60 % dijagnosticiranih slučajeva otkriveno je u ranom,

lokaliziranom stadiju, što je rezultiralo značajnim pomakom k ranijim stadijima dijagnosticiranja (engl. *stage shift*) i ukupno boljim ishodima liječenja. Prema rezultatima 2,2 % svih smrtnih slučajeva žena u Hrvatskoj uzrokovano je rakom dojke u 2022. godini, što je znatno niže od prosjeka EU (3,3 %), te je druga zemlje po očekivanom preživljenju od raka dojke (6,7).

1.2 Etiologija raka dojke

Više rizičnih čimbenika utječu na pojavnost raka dojke (8). Najvažniji među njima je starija životna dob. Dulja izloženost estrogenima tijekom života (rane *menarche*, kasna menopauza, nuli paritet, starija životna dob pri prvom porodu, korištenje hormonske nadomjesne terapije) nose povećan rizik za razvoj raka dojke (9). Povezanosti između indeksa tjelesne mase (engl. *Body Mass Index*) i rizika od raka dojke u postmenopauzalnih žena daje se više pozornosti u posljednjih nekoliko godina.

Meta analiza 12 prospektivnih kliničkih studija pokazala je da svako povećanje BMI-a od 5 kg/m² odgovara povećanju rizika od raka dojke za 2 %. Međutim, pokazano je da bi kod žena koje su premenopauzalne viši BMI mogao biti zaštitni faktor u riziku od raka dojke (10). Konzumacija alkohola ima jasnu povezanost s povećanim rizikom za razvoj raka dojke. Ono povećava rizik od raka dojke kod žena, čak i kod žena koje piju jedno piće dnevno te se povećan rizik dokazao kod žena u premenopauzi i u postmenopauzi. Konzumacija dodatnog 1 standardnog pića dnevno bila je povezana s većim rizikom od raka dojke u premenopauzi (RR = 1,03 (95 % CI: 1,01-1,06)) i postmenopauzi (HR = 1,10 (95 % CI: 1,08-1,12)) (11). Alkohol povišuje razinu estrogena u krvi, što aktivira puteve povezane s estrogenom i pojačava proizvodnju estrogenskih receptora. Benigne proliferativne bolesti dojke mogu rezultirati povećanom učestalošću raka dojke. Rizik varira ovisno o stupnju proliferacije epitela i prisutnosti atipije (12). Proliferacija epitela bez atipije rezultira približno 2 puta većim rizikom od raka dojke (RR = 1,76; 95 % CI : 1,58–1,95), dok proliferacija epitela s atipijom daje približno 4 puta veći rizik (RR = 3,93; 95 % CI: 3,24–4,76) (13). Biopsijom potvrđene dijagnoze atipične duktalne hiperplazije (ADH), atipične lobularne hiperplazije (ALH) i lobularnog karcinoma in situ (LCIS) povećavaju rizik od raka dojke kod žena, prema podacima različitih studija 3-5 puta većem riziku za ADH i ALH i 4-10 puta za LCIS u usporedbi sa ženama s neproliferativnom bolešću (14).

Dobro istražen i vrlo heterogen rizični čimbenik je obiteljska anamneza. Govoreći o obiteljskoj anamnezi kao rizičnom čimbeniku za razvoj raka dojke, razlikujemo dva entiteta –

nasljedni rak dojke i obiteljski rak dojke. Nasljedni rak dojke uključuje specifične, nasljedne mutacije gena koje se prenose po tipu autosomno-dominantnog nasljeđivanja. Posljednjih desetljeća provedena su brojna istraživanja koja su dovela do identifikacije takvih gena, čiji je poremećaj funkcije povezan s povećanim rizikom od pojave raka dojke ili jajnika. Najvažniji su geni BRCA1 i BRCA2 (engl. *breast cancer gene 1 i 2*) koji djeluju kao tumor supresorski geni. Odgovorni su za oko 10 % oboljelih (15). Otkrivanje postojanja mutacija u genima BRCA1 ili BRCA2, u 65 % ili 45 % nositelja mutacija nosi povećan rizik za razvoj raka dojke, ovisno o vrsti mutacije. Danas postoje jasne smjernice o molekularnoj dijagnostici, definirajući skupinu bolesnica koji bi trebale biti testirane, a kod kojih postoji najveći rizik od pojave mutacija u genima BRCA1, BRCA2 ili drugih gena povezanih s nastankom raka dojke. Prema smjernicama, bolesnice koje zahtijevaju potrebu provođenja genetskog testiranja kako bi se procijenila prisutnost mutacija BRCA1 i/ili BRCA2 su one s dijagnozom raka dojke do 35. godine. Pregled bi također trebalo provesti kod svih s dijagnozom raka dojke do 40. godine čiji je tumor karakteriziran nedostatkom estrogenskih i progesteronskih receptora i prekomjerne izražajnosti HER2 receptora (engl. *human epidermal growth factor receptor 2*) - trostruko negativan rak dojke (engl. *triple negative breast cancer*, TNBC).

Genetsko savjetovanje se također preporučuje bolesnicama s bilateralnim rakom dojke i obiteljskom anamnezom raka dojke i/ili jajnika, posebno ako se tumor pojavio do 50. godine života, kao i kod svih muškaraca kojima je dijagnosticiran rak dojke (16,17). Ponekad nekoliko osoba u obitelji može imati rak dojke čak i ako ne postoje specifične genske mutacije. U takvim slučajevima govorimo o obiteljskom raku dojke. Rizici povezani s obiteljskim rakom dojke mogu varirati ovisno o određenim čimbenicima. Rizik se može gotovo udvostručiti kod bolesnica s krvnim srodnikom prvog stupnja, poput majke, sestre ili kćeri, koji je imao rak dojke. Što je više krvnih srodnika prvog stupnja pogođeno, to je rizik veći.

Osim biologije (još uvijek neotkrivenih genskih i epigenskih čimbenika) smatra se da i obiteljsko okruženje, kao što je zajednički način života, navike i prehrana mogu imati ulogu u obiteljskom riziku od raka dojke (18). S ciljem postizanja otkrivanja raka dojke u što ranijem stadiju kod rizičnih populacija, usmjeravanja limitiranih zdravstvenih resursa ka optimalnoj populaciji, a samim tim i postizanja boljih rezultata izlječenja i preživljenja od raka dojke, razvijeni su brojni modeli za mjerenje i procjenu rizika od razvoja raka dojke. Ovi modeli koriste čimbenike poput dobi, genetike, načina života i obiteljske anamneze. Prvi koji je razvijen bio je Gailov model koji procjenjuje petogodišnji i doživotni rizik od invazivnog raka dojke kod žene koristeći osobnu anamnezu (reproduktivnu, medicinsku) i obiteljsku anamnezu

(srodnici prvog koljena) i sveobuhvatniji Tyrer-Cuzickov (IBIS) model koji koristi podatke o dobi, težini, gustoći dojki, genetici (poput BRCA gena) i osobnu/obiteljsku anamnezu (19,20).

Danas, s razvojem umjetne inteligencije razvijaju se i moderniji modeli koji mogu analizirati složene medicinske snimke (ultrazvučne slike, mamograme) i genomske podatke za vrlo točnu dijagnozu i prognozu (21). Ovisno o rezultatima ovih testova, osobe se mogu uputiti na provođenje daljnjih testiranja te savjetovanje o postojanju mjera za redukciju rizika. Važno pitanje kada se raspravlja o redukciji rizika za razvoj raka dojke je na koje se osobe treba usmjeriti. Općenito, veći naglasak stavljen je na strategije za smanjenje rizika na one s najvećim rizikom od razvoja raka dojke. Najvažnije mjere kojima možemo postići smanjenje rizika za pojavu raka dojke uključuju: promjenu načina života (optimalna tjelesna težina, tjelesna aktivnost, izbjegavanje konzumacije alkohola), redukcija estrogenske izloženosti kroz smanjenje izloženosti fitoestrogenima te ograničeno korištenje hormonske nadomjesne terapije, redovite samopreglede i specijalističke preglede, kemoprevenciju te kiruršku profilaksu (22).

Lijekovi za kemoprevenciju dostupni su ženama s visokim rizikom, iako se još uvijek nedovoljno koriste. Dva selektivna modularna lijeka za estrogenske receptore (engl. *Selective Estrogen Receptor Modulator*, SERM), tamoksifen i raloksifen, odobrena su za sprječavanje razvoja raka dojke kod žena s visokim rizikom. Primjena tamoksifena u kemoprevenciji smanjila je rizik od pojave invazivnog raka dojke za 49 % ukupno, a u svim dobnim podskupinama za više od 40 %. Također je smanjio incidenciju duktalnog karcinoma in situ (DCIS) za 50 %, lobularnog karcinoma in situ (LCIS) za 56 % i atipične hiperplazije za 86 % (23). Raloksifen, selektivni estrogenski modulator druge generacije je odobren dijelom na temelju prospektivnog, randomiziranog ispitivanja u kojem se uspoređivao s tamoksifenom. Ispitivanje koje je uspoređivalo raloksifen s tamoksifenom uključivalo samo žene u postmenopauzi. Rizik od razvoja invazivnog raka dojke bio je sličan između dva lijeka, dok je u skupini s raloksifenom zabilježena je 38 % niža incidencija raka maternice i za oko 30% niža incidencija tromboembolijskih događaja (24). Aromatazni inhibitori (AI) inhibiraju enzim aromatazu, koji je odgovoran za perifernu pretvorbu androgena u estrogene. Kada se koristi u liječenju raka dojke u ranom stadiju u adjuvantnom okruženju, anastrozol je povezan s 50 % relativnim smanjenjem rizika od razvoja kontralateralnog raka dojke (25). Usprkos dobrim rezultatima iz kliničkih studija, AI još uvijek nisu u upotrebi u kemoprevenciji. Osim kemoprevencije, može se razmotriti i opcija kirurške prevencije kod onih koji imaju visoki rizik. Bilateralna mastektomija razuman je pristup za žene koje imaju poznatu mutaciju u genima BRCA1, BRCA2, TP53, PALB2, CDH1 ili PTEN, dok se mastektomija kao kirurška

profilaksa preporučuje se za pacijentice sa dokazanim mutacijama u genima CHEK2 ili ATM ako pacijentica ima člana obitelji s rakom dojke (26). Bilateralna salpingo-ooforektomija (engl. *Bilateral Salpingo Ovariectomy*) može se razmotriti za smanjenje rizika kod žena s genetski visokim rizikom. BSO smanjuje rizik od raka dojke kod nositeljica mutacija BRCA 1 i 2 u premenopauzi za približno 50 %, slično kao i tamoksifen, u usporedbi sa smanjenjem od 90 % kod sličnih žena koje se podvrgavaju bilateralnoj mastektomiji (27). BSO također smanjuje rizik od raka jajnika kod tih žena za 90 % (28).

1.3 Klinička slika raka dojke

Rani rak dojke najčešće je asimptomatski, posebno ako se otkrije tijekom programa probira za rak dojke (29). Veći tumori mogu se prezentirati kao bezbolni čvorić u dojci. Uznapredovali oblici bolesti mogu se prezentirati s kožnim promjenama, ulceracijama, prisutnosti sukrvice ili promjenom oblika i/ili veličine dojke (30). U oko 5-10 % slučajeva bolest se prezentira kao metastatska i u takvim slučajevima se prezentira simptomima udaljenih presadnica, kao što su bol u kostima, otežano disanje i sl (31).

1.4 Dijagnostika raka dojke

Kod postavljanja sumnje na rak dojke, potrebno je provesti razgovor s bolesnicom uz uzimanje potpune osobne i obiteljske anamneze, obaviti detaljan somatski pregled, te klinički pregled dojki te učiniti laboratorijsku i slikovnu dijagnostiku s nakanom određivanja stupnja proširenosti bolesti. Provodeći klinički pregled utvrđujemo veličinu, smještaj, konzistenciju, osjetljivost i pomičnost promjene u dojci, te palpacijski definiramo status lokoregionalnih limfnih čvorova, pazušnih i supraklavikularnih. Osnovna laboratorijska dijagnostika uključuje krvnu sliku, biokemijske pretrage krvi – alkalnu fosfatazu (AP), laktat dehidrogenazu (LDH), transaminaze, bilirubin. Slikovna dijagnostika raka dojke je okosnica probira, dijagnoze, preoperativne procjene i praćenja raka dojke. Glavne metode su mamografija (MMG), ultrazvuk (UZV) i magnetska rezonancija (MR), svaka sa svojim prednostima i nedostacima (32). Osnovni dokaz postojanja raka dojke danas je tkivna dijagnostika. Uzorci za patohistološku analizu se dobivaju biopsijom širokom iglom ili otvorenom (kirurškom) biopsijom (33). Patohistološki nalaz bioptičkog materijala treba opisati histološki tip tumora, gradus tumora, status estrogenskih receptora (ER), status progesteronskih receptora (PR),

HER2 status, vrijednost proliferacijskog biljega Ki-67, limfovaskularnu i perineuralnu invaziju.

Ukoliko je bolesnica operirana, konačni patohistološki nalaz iz operativnog materijala treba definirati broj i veličinu svih tumora unutar primljenog materijala; histološki i nuklearni gradus tumora; analizu rubova resekcije; ukupan broj uzetih i analiziranih limfnih čvorova, s opisom veličine najvećeg metastatskog tumorskog fokusa te nalazom proboja kapsule limfnog čvora; limfovaskularnu i perineuralnu invaziju; udio *in situ* komponente; status ER i PR receptora, ako je nalaz negativan na bioptičkom materijalu, ili nije analiziran, HER2 status, vrijednost indeksa Ki-67; imunofenotip tumora, patološki stadij bolesti, te ostale promjene ukoliko su nađene (proliferacija epitela, atipija i sl.).

Nakon dokazane maligne bolesti dojke, u slučaju postojanja sumnje na proširenost bolesti, koriste se dodatne radiološke pretrage koje uključuju rentgen (RTG) toraksa, ultrazvuk (UZV) abdomena, CT (engl. *computed tomography*) toraksa, abdomena i zdjelice, scintigrafija skeleta. Ovisno o početnom stadiju bolesti primjenjuju se određene pretrage, sukladno smjernicama. Kod ranih stadija raka dojke savjetuje se anamneza, klinički pregled, MMG, UZV i u slučaju potrebe MR dojki, dok se kod sumnje na postojanje presadnica, ovisno o simptomatologiji predlažu daljnje gore navedene pretrage (34). PET (engl. *positron emission tomography*) se savjetuje samo po odluci multidisciplinarnog tima i ne smatra se odgovarajućom metodom za procjenu stupnja proširenosti bolesti (35). Nakon postavljanja dijagnoze i utvrđivanja stupnja proširenosti bolesti, prije početka bilo kakvog onkološkog liječenja bolesnica mora biti prezentirana na multidisciplinarnom timu.

1.5 Patologija raka dojke

Rak dojke je heterogena bolest koja se razlikuje morfološkim, biološkim i kliničkim fenotipovima. Iako tumori mogu pokazivati fenotipska preklapanja, često pokazuju različito biološko ponašanje i odgovor na terapiju (36). Nakon postavljanja početne patološke dijagnoze i potvrde primarnog tumora dojke, daljnja histološka klasifikacija obično se temelji na vrsti i stupnju diferencijacije (vrsta tumora i histološki gradus), pregledom preparata obojenih hematoksilinom i eozinom (H&E), nadopunjeno imunohistokemijom (IHC) i drugim molekularnim testovima. Za nadopunu dijagnostičke klasifikacije raka dojke koristi se određivanje prognostičkih markera i drugih parametara kao što su stadij tumora, prisutnost limfovaskularne invazije (LVI), status margina i opis postojećih prekursorskih lezija, koji

usmjeravaju donošenje odluke o liječenju i nadopunjuju dijagnostičku klasifikaciju raka dojke (37).

Unatoč važnosti kliničke i radiološke procjene stadija raka dojke, patološki stadij ostaje zlatni standard i pruža detaljne informacije o tumoru uključujući potvrdu veličine primarnog tumora, infiltraciju lokalnih struktura, prisutnost metastaza u limfnim čvorovima i procjenu zahvaćanja limfnih čvorova tumorom.

1.5.1 Histološki tipovi raka dojke

Rak dojke može se razviti iz duktalnog i lobularnog epitela. Postoje različite promjene epitelnog tkiva dojke te one uključuju hiperplaziju, atipičnu hiperplaziju, karcinom *in situ* i invazivni karcinom. Više od 95% karcinoma dojke su adenokarcinomi, a svi nastaju iz terminalne duktalno - lobularne jedinice. Zloćudni tumori poput sarkoma, limfoma ili presadnica drugih tumora također se mogu pojaviti u dojci. Dva najčešća histološka tipa invazivnog karcinoma dojke su duktalni karcinom i lobularni karcinom. Invazivni duktalni karcinom nastaje iz mliječnih kanala i čini najčešći oblik karcinoma dojke s učestalošću oko 80 % (38). Invazivni lobularni karcinom nastaje iz lobula koji proizvode mlijeko i drugi je najčešći histološki podtip raka dojke te čini 5–15 % svih dijagnosticiranih karcinoma dojke (39).

Dijagnoza duktalnog invazivnog karcinoma dojke kao najčešćeg histološkog podtipa se postavlja isključivanjem svih drugih specijalnih oblika invazivnog karcinoma dojke. Da bi se to naglasilo, danas većina klasifikacijskih sustava koristi termin *invazivni duktalni karcinom, nespecificiran drugačije* (engl. *no otherwise specified, NOS*). Ostali, rjeđi oblici invazivnog karcinoma dojke uključuju tubularni, mucinozni (koloidni), papilarni, kribriformni, medularni, metaplastični, mikropapilarni, apokrini, neuroendokrini i tumori slični žlijezdama slinovnicama (poput adenoidno-cističnog).

1.5.2 Stupanj diferencijacije raka dojke

Nakon definiranja histološkog tipa tumora, određuje se histološki stupanj diferenciranosti. Standardni sustav koji se koristi diljem svijeta je Nottinghamski histološki stupanj (Elston-Ellisova modifikacija Bloom-Richardsonovog sustava). On procjenjuje 3 mikroskopske značajke koje uključuju stvaranje tubula, nuklearni pleomorfizam i broj mitoz. Na temelju ukupnog zbroja tumori se razvrstavaju u 3 stupnja zloćudnosti: niski (G I, 3 – 5

bodova, dobro diferenciran), srednji (G II, 6 i 7 bodova, srednje diferenciran) ili visoki (G III, 8 i 9 bodova, slabo diferenciran) stupanj (40).

1.5.3 Patološki stadij raka dojke

Pri određivanju patološkog stadija raka dojke najčešće se koristi TNM (engl. *Tumor Node Metastasis*) klasifikacija sustava AJCC (engl. *American Joint Committee on Cancer*). Posljednja verzija klasifikacije prikazana je u Tablici 1 i Tablici 2.

Tablica 1. TNM klasifikacija raka dojke*

Primarni tumor (T)	
TX	Primarni tumor se ne može procijeniti
T0	Nema dokaza o primarnom tumoru
Tis	Karcinom <i>in situ</i> (duktalni karcinom <i>in situ</i> , lobularni karcinom <i>in situ</i> , Pagetova bolest bez tumora)
T1	Tumor ≤ 2 cm u najduljem promjeru
T1mi	Tumor s mikroinvazijom ≤ 1 mm
T1a	Tumor > 1 mm do 5 mm
T1b	Tumor > 5 mm do 10 mm
T1c	Tumor > 10 mm do 20 mm
T2	Tumor > 20 mm do 50 mm
T3	Tumor > 50 mm
T4	Tumor bilo koje veličine sa zahvaćanjem stijenke prsnog koša i/ili kože
T4a	Stijenka prsnog koša, ne uključujući pektoralni mišić
T4b	Zahvaćanje kože (ulceracija kože, edem; uključujući <i>peau d'orange</i> , satelitski čvorovi u koži u istoj dojci)
T4c	Uključuje prisustvo T4a i T4b
T4d	Inflamatorni karcinom
Patološki (pN)	
pNX	Zahvaćenosti regionalnih limfnih čvorova se ne može procijeniti (npr. nisu odstranjeni ili adekvatno analizirani)
pN0	Bez presadnica u regionalnim limfnim čvorovima ili prisutnost samo izoliranih tumorskih stanica (engl. <i>isolated tumor cells</i> , ITC)
pN0(i+)	Prisutne samo ITC (≤ 0,2 mm ili ≤ 200 stanica)
pN0(mol+)	Presadnice dokazane samo molekularnim metodama (engl. <i>real time polymerase chain reaction</i> , RT-PCR), bez ITC nakupina
pN1	Mikropresadnice, presadnice u 1–3 pazušna limfna čvora i/ili klinički okultne unutarnje mamarne mikropresadnice ili presadnice otkrivene sentinel biopsijom
pN1mi	Mikropresadnice > 0.2mm, ali ne veće od 2mm
pN1a	Presadnice u 1–3 pazušna limfna čvora, barem jedna presadnica >2mm
pN1b	Presadnice u ipsilateralne unutarnje mamarne limfne čvorove (sentinel), isključujući ITC
pN1c	Kombinacija pN1a i pN1b
pN2	Presadnice u 4–9 pazušnih limfnih čvorova ili pozitivni unutarnji marni limfni čvorovi prema slikovnim metodama, bez presadnica u pazušnim limfnim čvorovima
pN2a	Presadnice u 4–9 pazušnih limfnih čvorova (najmanje jedan tumorski depozit veći od 2mm
pN2b	Presadnice u klinički uočljive unutarnje mamarne limfne čvorove, uz patološki negativne pazušne limfne čvorove
pN3	Presadnice u 10 ili više pazušnih limfnih čvorova; ili u infraklavikularne limfne čvorove; ili pozitivni istostrani unutarnji marni limfni čvorovi uočene slikovnim metodama uz prisutnost jednog ili više limfnih čvorova razine I i II; u više od tri pazušna limfna čvora i mikroskopske ili makroskopske

pN3a	presadnice dokazane sentinel biopsijom u klinički negativnim mamarnim limfnim čvorovima; u istostrane supraklavikularne limfne čvorove Presadnice u 10 ili više pazušnih limfnih čvorova (najmanje jedan tumorski depozit mora biti veći od 2mm; ili presadnice u infraklavikularne limfne čvorove
pN3b	pN1a ili pN2a u prisutnosti pozitivnih istostranih unutarnjih mamarnih limfnih čvorova uočenih slikovnim metodama ili pN2a u prisutnosti pN1b
pN3c	Presadnice u istostrane supraklavikularne limfne čvorove
M stadij	
M0	Nema kliničkih ili radioloških dokaza udaljenih presadnica
cM0(i+)	Nema kliničkih ili radioloških dokaza udaljenih presadnica, prisutne tumorske stanice ili depoziti ne veći od 0.2mm u krvi, koštanoj srži ili udaljenim limfnim čvorovima bez kliničkih znakova i simptoma postojanja metastaza
cM1	Prisutne udaljene presadnice uočene klinički ili radiološki
pM1	Patohistološki potvrđene udaljene presadnice u udaljene organe, limfne čvorove koji nisu regionalni, presadnice >2mm

* Amin MB, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. CA Cancer J Clin. 2017

Tablica 2. Sustav određivanja stadija raka dojke prema AJCC-u*

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

* Amin MB, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. CA Cancer J Clin. 2017

1.5.4 Molekularna klasifikacija raka dojke

Osim morfološke klasifikacije, molekularna klasifikacija - temeljena na statusu hormonskih receptora ER, PR i HER2 receptora postala je temelj u određivanju strategija liječenja i prognoze. Podtipovi raka dojke najprije su klasificirani u ovisnosti o statusu estrogenskih receptora. ER pozitivni tumori imaju eksprimirane estrogen i progesteron vezane gene koji su karakteristični za luminalne epitelne stanice pa su nazvani luminalnim. Danas je to heterogena skupina bolesti, koja se dijeli u luminal A i luminal B podtip. Tumorske stanice koje su ER-pozitivne ($\geq 1\%$) definirane su kao luminalni A rak dojke. Osim toga, ova vrsta

raka izražava visoke razine PR ($\geq 20\%$) i pokazuje nisku ekspresiju indeksa proliferacije Ki-67 ($< 20\%$), što ukazuje na nisku proliferaciju tumora (41).

Ovaj molekularni podtip je najčešći odgovoran za 50-60 % slučajeva. Luminalni B rak dojke izražava hormonski receptor ER ($\geq 1\%$) i može biti HER2-negativan ili HER2-pozitivan. Obično, ako je luminalni B HER2-negativan, ekspresija PR-a je niska ili nikakva ($< 20\%$), a biomarker Ki-67 je visoko izražen ($\geq 20\%$), ali ako je rak luminalnog B HER2-pozitivan, razine PR-a i Ki-67 variraju (42). Međutim, često pokazuje više razine Ki-67 od luminalnog A, što ukazuje na ubrzano umnažanje tumorskih stanica, brži rast tumora i povezano je s lošijom prognozom (43). HER2 onkoprotein je protein na površini stanice koji sudjeluje u kontroli rasta stanica; međutim, kod karcinoma dojke, njegov gen je često amplificiran, što dovodi do prekomjerne ekspresije HER2 proteina, što potiče nekontroliranu diobu stanica i rast tumora. Ova prekomjerna ekspresija HER2 dovodi do nastanka HER2-pozitivnog raka dojke, koji je karakteriziran odsutnošću hormonskih receptora (ER $< 1\%$ i PR $< 20\%$) i prisutnošću visokih razina HER2 (44). Ovaj podtip raka dalje se dijeli u tri podskupine, naime, HER2-pozitivan ako je rezultat imunohistokemije 3+ ili ako je rezultat 2+ i SISH (engl. *silver-enhanced in situ hybridization*) je pozitivna, HER2-nizak ako je rezultat imunohistokemije 2+ i SISH test je negativan ili ako je rezultat imunohistokemije 1+, te HER2-negativan ako je rezultat imunohistokemije 0 (45). TNBC je definiran odsutnošću hormonskih receptora (ER $< 1\%$ i PR $< 20\%$) i HER2 receptora te predstavlja oko 10 % svih slučajeva raka dojke. Karakteriziraju ga promjene DNA i genetske mutacije, a često je povezan s mutacijama u genu BRCA1. Najagresivniji je među četiri podtipa raka dojke s najvišim indeksom proliferacije Ki-67 i lošijom prognozom. Genetskim ekspresijskim profiliranjem TNBC-a on se može podijeliti u sedam različitih podtipova, uključujući bazalnom nalik 1 (BL1), bazalnom nalik 2 (BL2), mezenhimalni nalik na matične stanice (MSL), mezenhimalni (M), luminalni androgeni receptor (LAR), imunomodulatorni (IM), i tip s niskim kladinom (CL) (46). Na temelju svega navedenog, danas razlikujemo osnovna 4 molekularna podtipa raka dojke: luminalni A, luminalni B, trostruko negativni (TNBC), te HER2 pozitivni rak dojke.

Svaka od ovih skupina pokazuje različitu ekspresiju pojedinih gena, ima drugačiji tijek bolesti te odgovor na određene modalitete liječenja. Obilježja podskupina prikazana su i navedena u Tablici 3. Iako standardne patohistološke metode testiranja pružaju vrijedne informacije o podtipovima raka dojke, one nisu jedini odlučujući čimbenici u donošenju odluke o liječenju. Tehnike molekularnog profiliranja, poput testova Oncotype DX mogu pružiti sveobuhvatne informacije o podtipovima. Oni analiziraju obrasce ekspresije više gena i pružaju detaljniju molekularnu klasifikaciju raka dojke. Prediction Analysis of Microarray 50

(PAM50) prvenstveno je dizajniran za pružanje informacija o podtipovima, temelji se na ekspresiji gena koji se koristi za molekularno profiliranje raka dojke. Na temelju obrazaca ekspresije 50 gena mjerenih paralelno s 8 kontrolnih gena PAM50 test definira pet molekularnih podtipova raka dojke: bazalan (Basal), HER2 obogaćen (HER2E), luminalni A (LumA), luminalni B (LumB) i normalan podtip. Njegova prognostička vrijednost je klinički dokazana, te klasifikacija u podtipove na temelju rezultata PAM50 točnije predviđa recidiv i preživljavanje, posebno za luminalne tumore, u usporedbi s uobičajeno korištenim metodama koje se oslanjaju na tradicionalnu imunohistokemijsku analizu (47–49).

Tablica 3. Molekularni podtipovi raka dojke

	LUMINAL A	LUMINAL B	HER2 POZITIVNI	TROSTRUKO NEGATIVNI
Učestalost ER/PR status	Oko 50 % ER/PR +	Oko 20 % ER/PR +	Oko 15 % ER/PR -	15 - 20 % ER/PR -
HER2/neu status	HER2/neu negativan	HER2/neu ekspresija varijabilna (+/-)	HER2/neu pozitivan	HER2/neu negativan
Biološke osobitosti	Niska proliferacija, najbolja prognoza	Izraženija proliferacija u odnosu na luminal A	Visoka proliferacijska aktivnost	Visoka proliferacijska aktivnost

1.5.5 Prognostički čimbenici

Nekoliko poznatih i dobro prihvaćenih prognostičkih čimbenika definirano je kod određivanja prognoze raka dojke, uključujući veličinu tumora, status regionalnih limfnih čvorova, histološki gradus, status hormonskih receptora, HER2/neu status, prisutnost limfovaskularne invazije, Ki-67 proliferacijski biljeg, te u novije vrijeme genski testovi.

a) Veličina primarnog tumora

Veličina tumora je bitan i neovisan prognostički faktor za rak dojke. Izravno je povezana s povećanom vjerojatnošću razvoja presadnica i većim rizikom od zahvaćanja regionalnih limfnih čvorova (50). Novije studije pokazale su da kod bolesnica s ekstenzivnim nodalnim statusom, stadij tumora ostaje prognostički faktor neovisan o drugim čimbenicima, kao što su ER, PR, HER2 i gradus. Kod pacijenata s tumorima T4Nx ili TxN3, tumori T4 imaju lošije ishode od tumora N3 neovisno o drugim prognostičkim čimbenicima (51).

b) Status regionalnih limfnih čvorova

Prisutnost tumorskih stanica u limfnim čvorovima je najvažniji prognostički faktor raka dojke. Rak dojke može metastazirati u aksilarne, unutarne mamarne i supraklavikularne limfne čvorove. Ukupne stope preživljenja su do 40 % niže kod pacijenata s pozitivnim limfnim čvorovima u usporedbi s onima kod kojih su limfni čvorovi negativni (52).

c) Histološki gradus

Histološki gradus vrlo je važan prognostički čimbenik. Brojne studije još od 1991. godine pokazale su da bolesnice s dobro diferenciranim karcinomima (G I)

imaju statistički značajno dulje preživljenje od onih sa srednje i slabo diferenciranim karcinomima (G II, G III) (53). Novije analize pokazale su da histološki gradus ostaje važan prognostički čimbenik, bez obzira na broj pozitivnih limfnih čvorova i veličinu primarnog tumora. Neovisno o T i N stadiju, povećanje histološkog gradusa bilo je povezano sa smanjenjem 10-godišnjeg preživljavanja bez obzira na broj zahvaćenih pazušnih limfnih čvorova ili veličinu primarnog tumora (54).

d) Status hormonskih receptora

Status hormonskih receptora jasan je prediktivni čimbenik raka dojke, no njegov prognostički utjecaj nejasno je definiran. Bolesnice s negativnim hormonskim receptorima nemaju koristi od primanja endokrine terapije. Prema rezultatima brojnih ispitivanja, bolesnice s hormonski pozitivnim karcinomom dojke imaju bolju dugoročnu prognozu (55).

e) HER2/neu status

Prekomjerna ekspresija HER2 receptora je pokazatelj loše prognoze kod raka dojke. Prognostički utjecaj pozitivnosti HER2 je niži kod žena s negativnim limfnim čvorovima u usporedbi s ženama s pozitivnim limfnim čvorovima (56). HER2/neu status jak je prediktivni čimbenik, te određuje učinkovitost anti-HER2 terapije.

f) Prisutnost limfovaskularne invazije

Limfovaskularna invazija u raku dojke značajan je, neovisan pokazatelj loše prognoze, nosi povećan rizik udaljenih presadnica i širenja u limfne čvorove čak i u ranim stadijima raka s negativnim limfnim čvorovima (57).

g) Ki-67 proliferacijski biljeg

Vrijednost Ki-67 proliferacijskog biljega govori koliki je udio stanica tumora u fazi mitoze. Meta analiza pokazala je da visoka ekspresija Ki-67 u bolesnica s ranim karcinomom dojke rezultira lošijom prognozom (58). Rezultati su potvrđeni u analizama podskupina za bolesnice s negativnim i s pozitivnim limfnim čvorovima (59). Njegova važnost izražena je i kod bolesnica koje su liječene neoadjuvantnom terapijom, post terapijska vrijednost ovog biljega povezana je s kliničkim odgovorom i ima prognostički značaj, pacijentice koje imaju niže vrijednosti Ki-67, imaju bolju prognozu (60).

1.5.6 Prognostički multigenski testovi

Danas dostupno molekularno profiliranje uvelike je poboljšalo, personaliziralo liječenje raka dojke. Ovi testovi primarno se oslanjaju na kvantifikaciju ER-a i gena povezanih s proliferacijom te ih kombiniraju u multivarijatne modele.

Na temelju rezultata, identificiraju se bolesnice s visokim rizikom od povrata bolesti koje bi mogle imati koristi od kemoterapije uz adjuvantnu hormonsku terapiju. Oni također pomažu u identificiranju pacijenata s niskim rizikom od povrata bolesti, što ukazuje na to da bi kod takvih bolesnica mogli izbjeći adjuvantnu kemoterapiju (61). Ovi testovi posebno su korisni u „sivoj zoni“, koja uključuje tumore veličine između 1 i 3 cm s 0-3 pozitivna limfna čvora i srednjim vrijednostima biljega Ki-67 (62). Prognostički testovi prve generacije (Oncotype DX, MammaPrint, Genomic Grade Index) znatno su točniji u predviđanju recidiva unutar prvih 5 godina nego u kasnijim godinama. To je postalo ograničenje s primjenom produžene adjuvantne endokrinih terapija. Noviji testovi (Prosigna, EndoPredict, Breast Cancer Index) imaju bolju prognostičku vrijednost za kasne recidive, a istovremeno ostaju prediktivni za rani povrat (63). Oncotype DX jedan je od nekoliko komercijalno dostupnih testova ekspresije gena koji pružaju prognostičke informacije kod raka dojke pozitivnog na hormonske receptore. Rezultati testa pokazuju se kao broj od 0-100 (engl. *recurrence score*, RS), koji se klasificira kao visok, srednji ili nizak i koristi nam za procjenu rizika povrata bolesti u idućih 10 godina (64). Studija TAILOR X, prospektivna, randomizirana klinička studija pokazala je da među 6711 žena s rakom dojke pozitivnim na hormonske receptore, negativnim HER2/neu receptorom, negativnim limfnim čvorovima i srednjim rezultatom recidiva (RS od 11 do 25) na Oncotype DX testu, endokrina terapija nije bila inferiorna kemoterapiji uz endokrinu terapiju, odnosno da nije bilo koristi od dodatka adjuvantne kemoterapije. Rezultati su potvrdili da se ovisno o rezultatima testa može identificirati do 85 % žena s ranim rakom dojke koje se mogu poštediti adjuvantne kemoterapije (65). Mammamprint, test koji analizira 70 gena, na temelju analize gena računa rizik od diseminacije bolesti i svrstava bolesnice u skupinu s niskim ili visokim rizikom (66). Studija MINDACT, nakon 9 godina praćenja pokazala je da bolesnice s visokim kliničkim rizikom, a niskim genomskim rizikom na temelju rezultata Mammamprint testa imaju izvrsne rezultate preživljenja bez udaljenih presadnica kada se liječe samo endokrinom terapijom. Koristi od dodavanja kemoterapije endokrinoj terapiji ostaje mala (2,6 postotnih bodova) i nije povećana niti kod pacijentica s pozitivnim limfnim čvorovima (67).

1.6 Liječenje raka dojke

Liječenje raka dojke uključuje lokalno/lokoregionalno liječenje – kirurški zahvat i radioterapiju, te sustavno liječenje (kemoterapiju, endokrinu terapiju, ciljanu terapiju, imunoterapiju, simptomatsko-suportivnu terapiju). Odluka o odabira određenog modaliteta liječenja donosi se isključivo na multidisciplinarnom timu, ovisno o značajkama bolesti (stadij, biologija bolesti) i obilježjima bolesnice, sukladno važećim kliničkim smjernicama za liječenje raka dojke, a uvažavajući dostupnost određenih terapijskih opcija.

1.6.1 Liječenje lokalnog i lokoregionalno uznapredovalog raka dojke

1.6.1.1 Kirurško liječenje raka dojke

Bolesnice s ranim, operabilnim rakom dojke najčešće se primarno liječe kirurgijom, pošteditim zahvatom ili mastektomijom. Neke pacijentice s ranim rakom dojke, osobito HER2 pozitivnim ili trostruko negativnim, prvo primaju sustavnu terapiju, a potom budu podvrgnute operativnom zahvatu. Nekoliko randomiziranih kliničkih studija uspoređivale su učinkovitost mastektomije i pošteditog zahvata uz adjuvantnu radioterapiju, te su sve pokazale da imaju jednake ishode liječenja (68,69). I kod mlađih pacijentica, nije bilo razlike u ukupnom preživljenju kod onih koje su imale poštediti zahvat uz radioterapiju i onih koje su imale mastektomiju (70). Odluka o odabiru optimalnog kirurškog zahvata donosi se u suradnji liječnika i bolesnice, nakon prezentiranja bolesnici mogućnosti u pogledu dugoročnog preživljavanja, rizika od lokalnog recidiva i kozmetičkih ishoda, te utjecaja na kvalitetu života. Poštediti zahvat omogućava bolesnici očuvanje dojke, bez utjecaja na rezultate onkoloških ishoda. Relativno je kontraindiciran je kod trudnica koje bi zahtjevale primjenu adjuvantne radioterapije nakon operacije. Apsolutne kontraindikacije uključuju veličinu tumora koja bi kompromitirala radikalnost operativnog zahvata te prisustvo difuznih mikrokalifikata.

Relativnu kontraindikaciju za poštediti zahvat može biti ranije provedena radioterapija prsne stijenke ili dojke, kao i postojanje bolesti koje zahvaćaju vezivno tkivo kao što je lupus ili sklerodermija, te postojanje tumora većeg od 5 cm. Mastektomija se kao kirurški pristup primjenjuje kod onih koje nisu kandidati za poštediti zahvat, koje ne žele poštediti zahvat ili obaveznu postoperativnu zaštitnu radioterapiju. Profilaktička mastektomija zdrave dojke ne rezultira smanjenjem rizika od pojave udaljenih presadnica. Iako nema utjecaja na ukupno

preživljenje, kod bolesnica kod kojih je poznato da su u povećanom riziku za pojavu nasljednog/obiteljskog raka dojke, profilaktička mastektomija smanjuje rizik od pojave raka dojke u drugoj dojci (71). Nakon provedenog genskog savjetovanja, te u skladu s odlukom multidisciplinarnog tima, kontralateralna mastektomija može se kao metoda prevencije razmatrati kod mladih pacijentica, ispod 35 godina, koje su nositeljice BRCA 1, 2 mutacije. Status pazušnih limfnih čvorova važan je čimbenik u donošenju odluke o adjuvantnom (zaštitnom) liječenju, te planiranju radioterapije. Limfna drenaža dojke obuhvaća pazušne limfne čvorove, unutarnje mamarne, supra i infraklavikularne limfne čvorove. Kod disekcije pazuha u klasičnom pristupu potrebno je bilo analizirati 10 limfnih čvorova da bi se mogao definirati patološki stadij. Ukoliko se pronađu višebrojni limfni čvorovi u aksilarnim etažama I i II, potrebna je i eksploracija i uzorkovanje etaže III (72). S obzirom na visok stupanj limfedema nakon radikalnog kirurškog zahvata disekcije pazuha, danas se sve više koristi SLNB (engl. *sentinel lymph node biopsy*).

Milanska studija i studija NSABP B-32 koje su uspoređivale primarno disekciju aksile i SLNB te disekciju samo u slučaju pozitivnog nalaza SLNB-a nisu pokazale postojanje razlike u pogledu ukupnog preživljenja i preživljenja bez progresije bolesti (73,74). Kvaliteta života bila je bolja kod pacijentica koje su imale SLNB (75). Ukoliko se kod SLNB-a kod bolesnica s klinički negativnim pazuhom, T1 i T2 tumorima nađu manje od tri pozitivna limfna čvora, nije potrebna daljnja disekcija aksile. Studija ASCOZOG Z0011 pokazala je da kod takvih pacijentica nije bilo razlike u lokalnom povratu, vremenu do progresije bolesti ili ukupnom preživljenju ukoliko su nakon SLNB-a primale adjuvantnu lokoregionalnu radioterapiju, a nisu podvrgnute disekciji pazuha (76). Slične rezultate pokazala je i studija AMAROS, koja je dokazala neinferiornost radioterapije u odnosu na disekciju aksile. 5-godišnji aksilarni povrat bio je 0,43 % (95 % CI:0,00-0,92) nakon disekcije aksilarnih limfnih čvorova u odnosu na 1,19 % (0,31-2,08) nakon radioterapije lokoregionalne limfne drenaže (77).

Dugogodišnje praćenje rezultata studije OTOASOR također je potvrdilo da radioterapija limfne drenaže, bez pristupanja disekciji aksile ne povećava rizik od povrata bolesti u odabranih pacijentica s invazivnim rakom dojke u ranom stadiju ($cT \leq 3$ cm, $cN0$) i $pN1(sn)$. Radioterapija regionalne limfne drenaže na temelju ovih rezultata trebala bi biti odabran pristup liječenju bolesnica s presadnicama u sentinel limfne čvorove (78). Novije studije pokazale su da je kod pacijentica s prognostički dobrim tumorima, manjim od 2 cm, i negativnim predoperativnim nalazom pazuha sigurno izbjeći čak i SLNB, uz primjenu zaštitne radioterapije na područje dojke i regionalne limfne drenaže (79). Danas se sve više pristupa de-eskalaciji kirurškog liječenja aksile, s ciljem smanjenja postoperativnih komplikacija,

razvoja limfedema, a temeljem rezultata gore navedenih studija isto se može postići bez utjecaja na onkološke ishode liječenja.

1.6.1.2 Radioterapija raka dojke

Radioterapija raka dojke provodi se kao dio zaštitnog liječenja nakon poštodne operacije dojke, kod pacijentica s pozitivnim limfnim čvorovima, ili nakon mastektomije u slučajevima velikih tumora, ili pozitivnih/bliskih resekcijskih rubova. Radioterapija dojke nakon poštodnog zahvata smanjuje rizik od povrata bolesti i ima pozitivan utjecaj na ukupno preživljenje (80). Danas se standardno primjenjuje doza od 40 do 42.5 Gy u 15-16 frakcija, dok se kod pacijentica s visokorizičnim karakteristikama (dob <50 godina, tumori visokog histološkog gradusa, fokalno pozitivni resekcijski rubovi) primjenjuje dodatna doza zračenja ciljano na mjesto tumora (81). Nakon poštodnog kirurškog zahvata radioterapija se može izbjeći kod pacijentica starijih od 70 godina, s luminalnim A tumorima i stadijem bolesti I, koje primaju zaštitnu endokrinu terapiju, bez kompromitiranosti uspješnosti liječenja (82). Kod bolesnica koje su imale poštadni kirurški zahvat, te potvrđenu zahvaćenost limfnih čvorova primjenjuje se radioterapija na područje regionalne limfne drenaže. Primjenom zaštitne radioterapije u takvim slučajevima dolazi do smanjenja učestalosti lokalnog povrata bolesti te udaljene diseminacije, uz produljenje ukupnog preživljenja i preživljenja bez znakova bolesti (83,84). U slučaju mastektomije i pozitivnih limfnih čvorova, radioterapija na područje torakalne stijenke i regionalne limfne drenaže smanjuje rizik od povrata bolesti i rizik od smrtnosti (85). Ukoliko se kod bolesnice planira primijeniti i kemoterapija, prvo se daje kemoterapija, a potom radioterapija. Kod bolesnica koje su liječene neoadjuvantno, odluka o indikacijama za provođenje radioterapije postavlja se na temelju početnog stadija bolesti.

1.6.1.3 Adjuvantno liječenje raka dojke

Adjuvantno sustavno liječenje raka dojke uključuje primjenu kemoterapije, hormonske terapije, ciljane terapije usmjerene na HER 2 receptore, terapiju ciljanim lijekovima te bifosfonate.

1.6.1.3.1 Adjuvantno liječenje kemoterapijom

Odluka o davanju adjuvantne kemoterapije donosi se multidisciplinarno i temelji se na više čimbenika, koji uključuju veličinu tumora, histološki tip i gradus tumora, zahvaćenost limfnih čvorova, izraženosti ER, PR, HER2 receptora, vrijednosti Ki-67 biljega, imunofenotipu tumora. U slučajevima kada indikacija nije jasna, a imamo mogućnost korištenja istih, u odluku o primjeni adjuvantne kemoterapije uključujemo i rezultate multigenskih testova. Meta-analize su pokazale smanjenje smrtnosti od raka dojke za 20–25 % kod bolesnica koje su primale CMF protokol (ciklofosfamid, metotreksat i fluorouracil) ili četiri ciklusa AC protokola (antraciklin i ciklofosfamid) u usporedbi s bolesnicama koje nisu primale adjuvantnu kemoterapiju (86). S ciljem optimalizacije kemoterapijskog liječenja, studija NSABP B36 imala je za cilj ispitati učinkovitost u vidu ukupnog preživljenja 6 ciklusa FEC protokola u odnosu na 4 ciklusa AC protokola, te je pokazala da razlike u preživljenju nema, a da je toksičnost kod ordinacije FEC protokola značajno veća (gradus 3 i 4). Na temelju rezultata ove studije, FEC (fluorouracil, doksorubicin, ciklofosfamid) je isključen kao adjuvantni kemoterapijski protokol, a AC je definiran kao prvi izbor (87). Dodatak taksana (docetaksela ili paklitaksela) kemoterapiji koja sadrži antracikline smanjuje smrtnost od raka dojke za dodatnih 10–15 % (88). Dodatna korist može se postići povećanjem gustoće primjene kemoterapije (89). Uspoređujući trotjednu aplikaciju AC protokola, nakon koje slijedi tjedna aplikacija paklitaksela s dvotjednom, pokazano je da dvotjedna aplikacija donosi 26 % smanjenje rizika od povrata bolesti ($P=0,01$) i smanjenje rizika od smrti ($P=0,013$) (90). Rezultati meta-analiza pokazuju da adjuvantna kombinacijska kemoterapija antraciklinima i taksanima smanjuje stopu smrtnosti od raka dojke za oko 40 % tijekom prvih 10 godina nakon postavljanja dijagnoze bez obzira na dob pacijentice ili karakteristike tumora. S obzirom na potencijalnu kardiotoksičnost antraciklina, te kumulativnu dozu koja nam ograničava njihovu primjenu, u adjuvantnom liječenju ispitivani su i protokoli koji ne sadrže antracikline. Rezultati su pokazali neinferiornost protokola koji ne sadrži antracikline. Nakon 5 godina, stopa preživljavanja bez bolesti bila je značajno superiornija za TC (ciklofosfamid, docetaksel) u usporedbi s AC (86 % vs 80 %; $HR = 0,67$; 95 % CI: 0,50–0,94; $p = 0,015$). Ukupne stope

preživljavanja za TC i AC bile su 90 % odnosno 87 %; (HR = 0,76; 95 % CI: 0,52–1,10; p = 0,13) (91). Usprkos ovim rezultatima, nedavna meta-analiza iz 2023.godine pokazala je da su protokoli adjuvantnog liječenja liječenja antraciklinom i taksanom najučinkovitiji u smanjenju recidiva i smrtnosti od raka dojke, pogotovo kod pacijentica s visokim rizikom od povrata bolesti. Stoga je procjena dugoročnog rizika od recidiva, uzimajući u obzir i planiranu primjenu endokrine terapije ili anti-HER2 lijekove, ključni čimbenik u odabiru vrste kemoterapije (92).

1.6.1.3.2 Adjuvantno liječenje hormonskom terapijom

Hormonska (endokrina) terapija u sklopu adjuvantnog liječenja primjenjuje se u slučaju izražene pozitivnosti hormonskih receptora, neovisno o intezitetu bojanja ili razini izraženosti. Tamoksifen je prvi lijek primjenjivan kao adjuvantna hormonska terapija, kod premenopauzalnih i postmenopauzalnih bolesnica. Studije ATLAS i aTTom ispitivale su učinkovitost produljene primjene tamoksifena (do ukupnog trajanja od 10 godina) te su pokazale korist od produljene primjene u vidu smanjenog rizika od povrata bolesti te smrtnosti od raka dojke, kao i smanjenja rizika od pojave tumora u kontralateralnoj dojci (93,94). Premenopauzalne pacijentice s povećanim rizikom za povrat bolesti imaju indicaciju za primjenu totalne hormonske blokade (kemijske ili kirurške).

Dvije studije, SOFT i TEXT uspoređivale su učinkovitost zajedničke primjene kompletne hormonske blokade i hormonske terapije egzemestanom ili tamoksifenom u trajanju od 5 godina. Nakon 9 godina praćenja preživljenje bez znakova bolesti je bilo statistički značajno bolje za kombinaciju egzemestana i ovarijske supresije nego za kombinaciju s tamoksifenom; 86,8% naspram 82,8% (HR = 0,77; 95 % CI: 0,67–0,90; p = 0,0006). Nije bilo značajne razlike u ukupnom preživljenju (95). Posljednja analiza rezultata pokazala je da se 12-godišnje preživljenje bez znakova bolesti (engl. *Disease Free Survival*, DFS) nastavilo značajno poboljšavati kod pacijentica koje su primale egzemestan + ovarijsku supresiju u odnosu na kombinaciju tamoksifen + ovarijska supresija; 4,6 % apsolutno poboljšanje (HR = 0,79; 95 % CI: 0,70–0,90; p < 0,001) ali ne i ukupno preživljenje (90,1 % naspram 89,1 % (HR = 0,93; 95 % CI: 0,78–1,11, p < 0,001). Među pacijenticama s HER2 negativnim tumorima (86,0 % populacije), apsolutno poboljšanje 12-godišnjeg ukupnog preživljenja s egzemestanom + ovarijska supresija bilo je 2,0 %; (HR = 0,85; 95 % CI: 0,70–1,04) i 3,3 % kod onih koje su primale kemoterapiju (45,9 % populacije). Korist ukupnog preživljenja bila je klinički značajna kod pacijenata s visokim rizikom (žena u dobi < 35 godina i onih s tumorima > 2 cm ili gradusa 3) koje su primale kemoterapiju (96).

Pozitivni rezultati pokazali su se i za vrijeme do pojave udaljenih presadnica. Kod postmenopauzalnih pacijentica, prva terapija adjuvantnog izbora, ukoliko nema kontraindikacija za primjenu istih, su AI. AI se primjenjuju kao inicijalna hormonska terapija, nakon 2-3 godine davanja tamoksifena, ili kao produljena terapija nakon 5 godina primjene tamoksifena. Studije ATAC i BIG 1-98 uspoređivale su bolesnice koje su primale tamoksifen ili anastrozol odnosno letrozol u vremenskom razdoblju od 5 godina i pokazale bolju učinkovitost AI u odnosu na tamoksifen; BIG 1-98 (HR = 0,81; 95 % CI: 0,76–0,94; p = 0,003) i ATAC (HR = 0,85; 95% CI: 0,76-0,94, p = 0,003), dok se u ukupnom preživljenju nije pokazala značajna razlika. Danas su dostupni rezultati dugogodišnjeg praćenja ovih studija koji potvrđuju dugoročnu superiorniju učinkovitost i sigurnost anastrozola u odnosu na tamoksifen kao početne adjuvantne terapije postmenopauzalnih pacijentica (25,97). Kombinacijska hormonska terapija u kojoj se daje tamoksifen kroz 2-3 godine, a potom AI pokazala je značajnu dobit u ukupnom preživljenju za bolesnice koje su primale tamoksifen/egzemestan ili tamoksifen/anastrozol naspram samog tamoksifena (98,99). Meta-analiza tri studije (ABCSG8, ARNO95 i ITA) potvrdila je superiornost kombinacijske hormonske terapije i za anastrozol (100). Produljena hormonska terapija letrozolom, nakon 4,5 - 6 godina primjene tamoksifena ispitivana je u MA17 studiji. Bolesnice s zahvaćenim limfnim čvorovima imale su dobit od produljene terapije letrozolom, gledajući rezultate ukupnog preživljenja (HR = 0,61; 95 % CI: 0,38–0,98; p = 0,04) (101).

Danas su u fazi ispitivanja oralni selektivni estrogen degradatori, kao što je lijek giredestrant. Rezultati kliničkog ispitivanja lidERA pokazali su nakon medijana praćenja od 32,3 mjeseca 92,4 % bolesnica koje su liječene giredestrantom nije imalo povrat invazivne bolesti naspram 89,6 % skupine koja je primala standardnu endokrinu terapiju. Primjena giredestranta rezultirala je 30 %-tnim smanjenjem rizika od razvoja invazivne bolesti u usporedbi s bolesnicama koje su primale standardnu endokrinu terapiju (102).

Dok je učinkovitost adjuvantne hormonske terapije neosporno potvrđena gore navedenim rezultatima, odabir odgovarajuće vrste lijeka, optimalno trajanje liječenja, te odluku o sekvencioniranju hormonske terapije treba donijeti na temelju procjene rizika povrata bolesti te karakteristika pojedine bolesnice.

1.6.1.3.3 Adjuvantno liječenje HER2-pozitivnog raka dojke

HER2-pozitivni rak dojke čini 15-20 % svih karcinoma dojke. Kod ovakvih podtipova karcinoma dojke prekomjerno je izražen HER2/neu gen te posljedično HER2 receptor na tumorskim stanicama. Ovaj podtip raka dojke ima biološki agresivnije ponašanje i posljedično lošiju prognozu (103). Osnovu biološke terapije u adjuvantnom liječenju bolesnica s HER2-pozitivnim karcinomom dojke čini monoklonalno protutijelo trastuzumab, koji se daje u kombinaciji s kemoterapijom, hormonskom terapijom i radioterapijom. U liječenju HER2-pozitivnog raka dojke značajno je izdvojiti 7 kliničkih studija provedenih na više od 13000 bolesnica, od kojih su četiri velika klinička ispitivanja – N9831, HERA, BCIRG 006 i NSABP B – 31 pokazala su jasnu kliničku korist dodatka trastuzumaba adjuvantnoj kemoterapiji HER2-pozitivnog raka dojke (104,105). Meta analiza provedena na 7 kliničkih studija pokazala je da je primjena adjuvantnog trastuzumaba smanjila rizik od povrata bolesti (HR = 0,66; 95 % CI: 0,62-0,71; $p < 0,0001$) i smrt od raka dojke (HR = 0,67, 95 % CI: 0,61-0,73; $p < 0,0001$). Apsolutni 10-godišnji rizik povrata bolesti smanjen je za 9,0 %, a 10-godišnja smrtnost od raka dojke za 6,4 % (106). Na temelju ovih rezultata danas je kemoterapija uz jednogodišnju primjenu trastuzumaba standard u adjuvantnom liječenju raka dojke s prekomjerno izraženim HER2 receptorom. S ciljem smanjenja potencijalne toksičnosti ovakve kombinacijske terapije u adjuvantnom liječenju, dizajnirane su studije koje su ispitivale mogućnost deeskalacije terapije.

Kod bolesnica s malim tumorima koji se nisu proširili u limfne čvorove može se sigurno izbjeći primjena antraciklina te se adjuvantni trastuzumab primjeniti u kombinaciji s tjednim paklitakselom. 10-godišnje praćenje APT studije pokazalo je da je adjuvantna terapija paklitakselom i trastuzumabom standard liječenja za pacijentice s malim, HER2-pozitivnim rakom dojke bez zahvaćanja limfnih čvorova (107,108). Osim trastuzumaba, u adjuvantnom liječenju koristi se i pertuzumab, monoklonalno protutijelo koje djeluje sprječavajući dimerizaciju HER2/HER3 receptora. APHINITY studija ispitivala je njegovu primjenu u kombinaciji s trastuzumabom u adjuvantnom liječenju. Finalni rezultati pokazali su da je ukupno preživljenje bilo 92,7 % kod bolesnica liječenih pertuzumabom uz trastuzumab u odnosu na 92,0 % u skupini koja je primala placebo (HR = 0,83, 95 % CI: 0,68-1,02; $p = 0,078$). Korist primjene dvojne antiHER2 terapije pokazana je kod pacijentica s pozitivnim limfnim čvorovima i kod pacijentica s pozitivnim i negativnim hormonskim receptorima (109).

U adjuvantnom liječenju HER2-pozitivne bolesti kod pacijentica koje imaju ostatnu bolest nakon provedenog neoadjuvantnog liječenja primjenjuju se dva antitijelo – lijek konjugata, T-DM1(trastuzumab emtansine) i TDXd (trastuzumab – deruxtecan, antitijelo-lijek

konjugat koji se sastoji od trastuzumaba kovalentno vezanog za inhibitor topoizomerase i derukstekan). Rezultati ispitivanja KATHERINE pokazali su da je preživljenje bez invazivne bolesti bilo je značajno veće u skupini koja je primala T-DM1 nego u skupini s trastuzumabom (HR = 0,50; 95% CI: 0,39-0,64; $p < 0,001$), te je na temelju ovih rezultata primjena TDM1 bila zlatni standard (110). No nakon što je TDxd u studiji DESTINY-Breast05 pokazao smanjenje rizika od povrata invazivne bolesti ili smrti za 50% u usporedbi s TDM1 (HR 0,47; 95 %CI: 0,34-0,66; $p < 0,001$), danas je indiciran u adjuvantnom liječenju ostatne bolesti nakon provedene neoadjuvantne terapije (111).

1.6.1.3.4 Adjuvantno liječenje ciljanim lijekovima

Nakon dokazane koristi primjene CDK4/6 inhibitora i PARP (*engl.* poly ADP-ribose polymerase) inhibitora u liječenju metastatskog raka dojke, njihova primjena ispitivana je i u adjuvantnom liječenju. Abemaciclib, CDK4/6 inhibitor, ispitivan je u adjuvantnom liječenju u studiji MonarchE (112). Dodatak abemacicliba endokrinoj terapiji kroz dvije godine smanjio je rizik od povrata bolesti nakon 4 godine za 6,4 % (HR = 0,66; 95 % CI: 0,578-0,762, $p < .0001$) kod bolesnica s visokorizičnim hormonski pozitivnim HER negativnim rakom dojke. Posljednja analiza ove studije pokazala je i korist primjene abemacicliba na ukupno preživljenje. Rezultati su pokazali da je nakon 76,2 mjeseca praćenja u medijanu, abemaciclib u kombinaciji s hormonskom terapijom rezultirao je 15,8 % nižim rizikom od smrti u usporedbi sa samom hormonskom terapijom (HR = 0,842, 95 % CI: 0,722-0,981, $p = 0,027$), zadovoljavajući unaprijed određenu granicu značajnosti. Sedmogodišnji OS bio je 86,8 % naspram 85,0 % (113). Osim abemacicliba, u adjuvantnom liječenju primjenjuje se i ribociklib. Rezultati studije NATALEE, nakon 34 mjeseca praćenja pokazali su da je dodatak ribocikliba adjuvantnoj hormonskoj terapiji kroz 3 godine smanjio rizik od invazivnog povrata bolesti za 25 % (114). Posljednja analiza nakon duljeg praćenja potvrdila je značajnu korist kombinacijskog liječenja ribociklibom i hormonskom terapijom u usporedbi s hormonskom terapijom u monoterapiji za preživljenje bez invazivne bolesti (HR = 0,715; 95 % CI: 0,609-0,840, $p < .0001$), 90,8 % naspram 88,1 % nakon 3 godine i 88,5 % naspram 83,6 % nakon 4 godine (apsolutno poboljšanje od 2,7 % odnosno 4,9 %) (115). PARP inhibitori lijekovi su koji djeluju na blokiranje PARP enzima, onemogućavajući tumorskim stanicama popravak vlastite DNA (*engl.* Deoxyribonucleic Acid) molekule. Lijek Olaparib iz skupine PARP inhibitora ispitivan je i odobren u adjuvantnom liječenju raka dojke u bolesnica s visoko rizičnim HER2 negativnim rakom dojke i dokazanim mutacijama u BRCA1/2 genima. Studija OlympiA

pokazala je da je kod ovakvih bolesnica s visokim rizikom diseminacije bolesti adjuvantna terapija olaparibom nakon završetka lokalnog liječenja i neoadjuvantne ili adjuvantne kemoterapije bila je povezana sa značajno duljim preživljenjem bez invazivne ili udaljene bolesti u odnosu na placebo. Nakon medijana praćenja od 6 godina, apsolutna razlika u preživljenju bez invazivne bolesti između dvije skupine bila je 9,4 % u korist dodavanja olapariba. Dodatak Olapariba u adjuvantnoj terapiji smanjio je rizik od smrti za 38 %. Stopa ukupnog preživljenja bila je 87,5 % u skupini s olaparibom u odnosu na 83,2 % u skupini s placebom (116).

1.6.1.3.5 Adjuvantno liječenje bifosfonatima

Bifosfonati su lijekovi koji sprječavaju gubitak koštane mase, anti resorptivni lijekovi koji se koriste za liječenje koštanih bolesti dugi niz godina, liječenju hiperkalcemije, koštanih presadnica malignih bolesti. Korist njihove primjene u adjuvantnom liječenju ranog raka dojke potvrđena je u više kliničkih ispitivanja. Primjerice, AZURE studija pokazala je da primjena zolendronične kiseline u adjuvantnom liječenju raka dojke smanjuje rizik od pojave koštanih presadnica i, kod žena u menopauzi, poboljšava ishode bolesti (117). Meta analiza 7 studija koje su ispitivale primjenu bifosfonata u adjuvantnom liječenju pokazala je značajnu korist kod postmenopauzalnih bolesnica s ranim rakom dojke (118). Primjena zoledronične kiseline rezultirala je statistički značajno boljim ukupnim preživljenjem (pet studija, 6414 pacijenata; HR = 0,81; 95 % CI: 0,70-0,94). Novija meta analiza s podacima o preko 18000 bolesnica pokazala je da je primjenom adjuvantnih bifosfonata kod postmenopauzalnih pacijentica došlo do vrlo značajnog smanjenja recidiva (HR = 0,86, 95 % CI: 0,78-0,94; 2p=0,002), udaljenog recidiva (HR = 0,82, 95 % CI: 0,74-0,92; 2p=0,0003), pojave bolesti u kostima (HR = 0,72, 95 % CI: 0,60-0,86; 2p=0,0002) i smrtnosti od raka dojke (HR = 0,82, 95 % CI: 0,73-0,93; 2p=0,002) (119). Kod premenopauzalnih pacijentica, korist od dodatka bifosfonata u adjuvantnom liječenju nije pokazana.

1.6.1.4 Neoadjuvantno liječenje raka dojke

Neoadjuvantna terapija (NAT) u početku je uvedena kao terapijska opcija za liječenje lokalno uznapredovalih, granično operabilnih ili neoperabilnih bolesti kako bi postale moguće pristupačnije za operaciju ili kako bi se omogućila poštena operacija dojke kod bolesnica kod kojih je bila moguća isključivo mastektomija zbog uznapredovalosti bolesti. Danas, korist primjene neoadjuvantne terapije je značajno veća. Omogućuje nam procjenu odgovora tumora

na sistemsku terapiju in vivo što nam pomaže u donošenju odluka o daljnjem liječenju, rezultira poboljšanjem dugoročnih ishoda, posebno kod agresivnih podtipova poput trostruko negativnog i HER2-pozitivnog raka dojke; te nam pruža priliku za translacijska istraživanja radi otkrivanja biomarkera odgovora i otpornosti (120,121). Kod pacijentica koje su podvrgnute NAT-u, studije nisu pokazale povećan rizik od lokalnog recidiva nakon poštenog zahvata u usporedbi s mastektomijom (122). NAT također može smanjiti razinu bolesti u pazušnim limfnim čvorovima i samim time smanjiti potrebu za radikalnim zahvatom, disekcijom aksile. Izbjegavanje disekcije aksile donosi značajne koristi bolesnicama, smanjenje limfedema i posljedično poboljšanje kvalitete života (123). Trenutni neoadjuvantni protokoli uključuju kemoimunoterapiju za bolesnice s trostruko negativnom bolešću, kemoterapiju u kombinaciji s ciljanom anti – HER2 terapijom za bolesnice s HER2-pozitivnom bolešću te kemoterapiju ili endokrinu terapiju za bolesnice s pozitivnim hormonskim receptorima i negativnim HER2 statusom. Relevantne smjernice za liječenje raka dojke preporučuju neoadjuvantnu kemoterapiju kao preferirani tretman za rak dojke stadija II-III, trostruko negativan ili HER2-pozitivan, te za upalnu ili lokalno uznapredovalu bolest bez obzira na status hormonskih receptora ili HER2 status (124).

1.6.1.4.1 Neoadjuvantno liječenje kemo/kemoimunoterapijom

Danas, nakon što su rezultati kliničkih ispitivanja pokazali da je NAT jednako učinkovita kao adjuvantna terapija u smislu ukupnog preživljenja i preživljenja bez progresije bolesti, upotreba NAT-a proširila se na ranije stadije bolesti, posebno u slučaju trostruko negativnih i HER2-pozitivnih karcinoma dojke (125). Nekoliko je studija pokazalo da imunofenotip tumora, definiran ekspresijom ER, PR i HER2 receptora, utječe na odgovor tumora na NAT. Količina ostatne (rezidualne) invazivne bolesti može se kvantificirati na kontinuiranoj skali metodom rezidualnog opterećenja rakom (*engl.* Residual Cancer Burden, RCB), koja je validirana kao prognostička mjera za sve podtipove raka dojke (126). Najbolji rezultat nakon provednog liječenja je patološki kompletan odgovor (*engl.* pathological complete response, pCR). Pokazano je da je postizanje pCR-a povezano sa značajno poboljšanim ishodima liječenja (127). Ova je povezanost jasno izražena kod TNBC-a i HER2-pozitivnog raka dojke, ali značajno slabija kod luminalnih podtipova.

Za bolesnice luminalnim ranim rakom dojke, optimalni odabir bolesnica za NAT i idealan NAT pristup koji treba koristiti nisu toliko jasni, budući da studije nisu pokazale razliku u preživljavanju bez bolesti ili ukupnom preživljenju uz primjenu neoadjuvantne u odnosu na

adjuvantnu kemoterapije, a stope pCR-a su niže (128). Stope pCR-a kreću se od 0 do 18 %. Lobularni i luminalni A tumori imaju manju vjerojatnost postizanja pCR-a, iako imaju bolje dugoročne ishode (129). Luminalni B podtip, visoka proliferacijska aktivnost, nedostatak progesteronskog receptora, visoka razina tumor-infiltrirajućih limfocita pozitivno su povezani s povećanim stopama pCR-a, ali lošijim ishodima (130,131). Bolesnice s trostruko negativnim (ER/PR, HER2 negativnim) ili HER2 pozitivnim tumorima imaju najveće stope pCR-a kao odgovor na NAT (132,133).

U neoadjuvantnom liječenju HER2 pozitivnog raka dojke uz kemoterapiju se primjenjuje kombinacija trastuzumaba i pertuzumaba. Kombinacija ovih protutijela s kemoterapijom dovela je do značajno veće stope patološkog odgovora u odnosu na primjenu samo jednog (134,135). Dva randomizirana ispitivanja faze II (NeoSphere i TRYPHAENA) pružila su uvjerljive dokaze o značajnom poboljšanju stopa pCR-a dodavanjem pertuzumaba kombinaciji trastuzumaba i kemoterapije u neoadjuvantnom pristupu. U ispitivanju NeoSphere, skupina bolesnica liječena kombinacijom trastuzumaba i pertuzumaba uz docetaksel pokazala je najveću stopu pCR-a od 46% nakon 12 tjedana neoadjuvantnog liječenja. U ispitivanju TRYPHAENA pokazalo se da je kombinacija trastuzumaba, pertuzumaba i kemoterapije dobro podnošljiva, s niskom incidencijom simptomatske sistoličke disfunkcije lijeve klijetke (primarni cilj studije). Postignute stope pCR-a bile su od 57 % - 66 %, posebno kod onih bolesnica liječenih sa šest ciklusa protokola koji ne sadrži antracikline, koje su postigle stopu pCR-a od 66% (136). Na temelju ovih rezultata standard neoadjuvantnog pristupa u liječenju HER2-pozitivnog raka dojke je dvostruka terapija usmjerena na HER2 s trastuzumabom i pertuzumabom koji se primjenjuju istodobno ili sekvencijalno s polikemoterapijom - antraciklin-taksan ili karboplatin-taksan. Ipak, ne treba zanemariti činjenicu da antraciklini nose rizik akutnih i dugotrajnih nuspojava, uključujući febrilnu neutropeniju, kardiotsičnost, a liječenje docetakselom, karboplatinom, trastuzumabom i pertuzumabom često je povezano neuropatskim te gastrointestinalnim nuspojavama.

Novi iskorak u neoadjuvantnom liječenju HER2-pozitivnog raka dojke je polučan introdukcijom TDXd-a. Studija DESTINY-Breast11 koja je ispitala primjenu TDXd u neoadjuvantnom pristupu pokazala je apsolutnu razliku u stopi pCR-a između TDXd-THP i ddAC-THP od 11,2% (95 % CI: 4,0%-18,3%, $p = 0,003$) (137). Ovi rezultati pokazali su statistički i klinički značajno poboljšanje stope pCR-a u odnosu na standardni protokol s antraciklinima, uz niže stope ozbiljnih nuspojava i hematoloških toksičnosti. Planiranje daljnjeg liječenja, nakon provedene neoadjuvantne terapije HER2-pozitivnog raka dojke ovisi o postignutoj stopi patološkog odgovora. Bolesnicama koji postignu pCR obično se

preporučuje nastavak terapije usmjerene na HER2 u ukupnom trajanju od 1 godine, što obuhvaća i neoadjuvantnu i adjuvantnu terapiju. Međutim, za bolesnice koje imaju rezidualnu bolest nakon neoadjuvantne kemoterapije temeljene na HER2, dosada je na temelju rezultata studije KATHERINE primjena TDM1 bila standard u liječenju (110). No, nakon analize studije DESTINY-Breast05, koja je pokazala da je postneoadjuvantni T-DXd rezultirao je značajno većom vjerojatnošću preživljavanja bez invazivne bolesti u odnosu na T-DM1, T-DXd bi trebao biti terapija izbora (111). TNBC ostaje najizazovniji podtip raka dojke za liječenje s ograničenim ciljanim terapijama, što rezultira višim stopama recidiva i većim rizikom od smrtnosti (138). Postizanje pCR-a nakon neoadjuvantne kemoterapije povezano je sa značajno smanjenjem rizika od recidiva i boljim preživljenjem kod TNBC-a (139,140). Otprilike 30–40 % bolesnica s TNBC-om postiže pCR nakon standardne neoadjuvantne kemoterapije na bazi antraciklina, ciklofosfamida i taksana (141).

Derivati platine su citotoksični spojevi koji oštećuju DNK, što dovodi do prekida lanca DNK i moguće posljedične apoptoze stanica; ovakav mehanizam djelovanja čini ih posebno aktivnima u stanicama raka s nedostatkom popravka DNK, poput onih s BRCA mutacijama ili poremećajem homologne rekombinacije. Nekoliko je ispitivanja istraživalo moguću bolju učinkovitost platine kod pacijenata s TNBC-om. Meta analiza 9 randomiziranih studija pokazala je da je kemoterapija na bazi platine značajno je povećala stopu pCR-a s 37,0% na 52,1% (HR = 1,96, 95 % CI:1,46–2,62, $p < 0,001$) (142). Pembrolizumab, monoklono antitijelo protiv programirane smrti 1 (PD-1), pokazao se kao učinkovita terapija u liječenju metastatskog TNBC-a (143). Studija KEYNOTE-522 ispitala je primjenu pembrolizumaba u kombinaciji s kemoterapijom u neoadjuvantnom pristupu. Potpuni patološki odgovor u skupini koja je primala pembrolizumab i kemoterapiju postignut je kod 64,8 % bolesnica (95 % CI: 59,9-69,5), te kod 51,2 % (95 % CI:44,1-58,3) u skupini koja je liječena placebom i kemoterapijom (procijenjena razlika u liječenju, 13,6 postotnih bodova; 95 % CI: 5,4-21,8; $p < 0,001$) (144).

Finalni rezultati s analizom ukupnog preživljenja pokazali su da je neoadjuvantna terapija pembrolizumabom uz kemoterapiju, te nastavkom adjuvantnog liječenja pembrolizumabom rezultirala značajnim poboljšanjem ukupnog preživljenja. Ukupno preživljenje nakon 60 mjeseci bilo 86,6 % (95 % CI: 84,0-88,8) kod bolesnica liječenih pembrolizumabom i kemoterapijom, u odnosu na 81,7 % (95 % CI: 77,5-85,2) u skupini koja je liječena placebom i kemoterapijom ($p = 0,002$) (145). Kod bolesnica koje postignu kompletni odgovor, liječenje se nastavlja adjuvantnim pembrolizumabom, dok se kod onih s

ostatnom bolešću i dokazanom BRCA mutacijom savjetuje primjena sekvencijskog olapariba i pembrolizumaba. Danas je ovaj pristup standard u neoadjuvantnom liječenju TNBC-a.

1.6.1.4.2 Neoadjuvantno liječenje endokrinom terapijom

Za razliku od jasno definiranog pristupa neoadjuvantnom liječenju kemoterapijom, uloga neoadjuvantne endokrine terapije (NET) u bolesnica s luminalnim tumorima još uvijek nije dobro definirana u svakodnevnoj kliničkoj praksi. NET je valjana mogućnost liječenja nekih luminalnih karcinoma dojke, posebno kod žena u postmenopauzi, kao alternativa kemoterapiji. Osigurava slične stope poštodne kirurgije dojke s manje nuspojava (146). Primjenom NET-a dulje od 3 mjeseca postiže se mogućnost postizanja poštodnog operativnog zahvata između 40 % i 80 % (75). Danas se AI, anastrozol, letrozol i egzemestan smatraju standardom u neoadjuvantnom hormonskom liječenju. Više randomiziranih kliničkih studija uspoređivalo je tamoksifen i aromatazne inhibitore (147–149). Sve one dokazale su superiornost primjene aromataznih inhibitora u odnosu na tamoksifen. Združena analiza pokazala je statistički značajnu korist u korist AI u odnosu na tamoksifen za stopu kliničkog odgovora (HR = 1,69; 95 % CI: 1,36-2,10; $p < 0,001$) i stopu radiološkog odgovora (HR = 1,49; 95 % CI: 1,18-1,89; $p < 0,001$) (150). Osim monoterapije AI i tamoksifenom u neoadjuvantnom liječenju ispitivana je i kombinacija AI i fulvestranta. Združeni rezultati ispitivanja CARMINA02 i HORGEN koji su ispitivali kombinaciju fulvestranta i aromataznih inhibitora nisu pokazali značajne razlike u pogledu BCS-a, patološkog odgovora i ukupnog preživljenja. Preživljenje bez povrata bolesti i ukupno preživljenje nakon 5 godina bili su 83,7 % (95 % CI: 77,9-88) odnosno 92,7 % (95 % CI: 88,2-95,6) (151). ALTERNATE studija nije potvrdila superiornost kombinacijskog liječenja, ESDR (engl. *endocrine sensitive disease rate*), definirana kao pCR ili mPEPI 0 (ypT1-2N0/N1mic/Ki-67 $\leq 2,7\%$) nakon 6 mjeseci neoadjuvantnog fulvestranta ili anastrozola plus fulvestrant bio je 22,8 % odnosno 20,5 %; niti jedan nije bio značajno viši od 18,7 % s anastrozalom samim (152). S obzirom na potrebno duže vrijeme do postizanja očekivanog odgovora kod davanja hormonske terapije, jedan od nejasnih pristupa u neoadjuvantnom hormonskom liječenju je i optimalno trajanje terapije. Prekratka primjena terapije može rezultirati nedovoljnim vremenom za postizanje maksimalnog odgovora, dok duže trajanje terapije nosi rizik od potencijalne progresije bolesti pod terapijom. Kliničke studije su pokazale da se duljim trajanjem neoadjuvantne endokrine terapije postižu bolji odgovori. Ukupne stope odgovora (ORR) bile su u rasponu od 20 % do 70 % s 3-4 mjeseca NET-a i do 88 % s 12 mjeseci. pCR je postignut u 0-17,5 % slučajeva, povećavajući se s duljim trajanjem terapije

(153). U većini navedenih kliničkih ispitivanja, terapija se primjenjivala 3 – 6 mjeseci, dok se danas najčešće preporuča primjena u trajanju od 6-9 mjeseci (154).

1.6.2 Liječenje metastatske bolesti

Kod 5-10 % žena bolest se dijagnosticira u metastatskom stadiju, dok će kod 20-30 % bolesnica dijagnosticiranih s inicijalno ranim rakom dojke usprkos adjuvantnom liječenju doći do povrata bolesti, ili pojave udaljenih presadnica (31). Kao i u adjuvantnom liječenju, odluka o liječenju metastatske bolesti donosi se temelju više faktora, uključujući imunofenotip tumora (155). Posebnu skupinu bolesnica čine one koje se nalaze u visceralnoj krizi, koja je po definiciji životno ugrožavajuće stanje, karakterizirano disfunkcijom organa zbog širenja presadnica. Kod njih je, zbog potrebe za brzim odgovorom najčešće potrebno liječenje kemoterapijom. Dok polikemoterapijski protokoli rezultiraju boljom učinkovitošću, sa sobom nose i značajno veću toksičnost, stoga se savjetuje primjena monokemoterapije do progresije bolesti, ili neprihvatljive toksičnosti. Cilj liječenja metastatskog raka dojke je poboljšati duljinu i kvalitetu života, a ne postići izlječenje. Pristup liječenju treba biti personaliziran, nužno je procijeniti korist i toksičnost terapije, uzimajući u obzir opće stanje, potencijalnu korist terapije i želje bolesnice. Ukoliko se radi o bolesnicama s luminalnim tipom tumora, preporuča se provođenje endokrine terapije. Premenopauzalne bolesnice trebaju liječenje započeti s ovarijskom supresijom, te nastaviti prema smjernicama za liječenje postmenopauzalnih bolesnica (31).

Dugo godina temelj liječenja bolesnica s metastatskim, hormonski ovisnim rakom dojke bila je hormonska terapija AI, ili fulvestrantom. Meta-analiza su pokazale bolji učinak AI u usporedbi s tamoksifenom, dok nijedna nije dokazala razliku u učinkovitosti između pojedinih AI (156–158). Fulvestrant je u metastatskoj bolesti, pokazao superiornost u odnosu na anastrozol (159). Kombinacija anastrozola i fulvestranta u usporedbi s monoterapijom anastrozalom u studiji SWOG S0226 pokazala je pozitivne rezultate u vidu ukupnog preživljenja (49,8 naspram 42,0 mjeseca (HR = 0,82; 95%CI: (0,69- 0,98); p = 0,03) (160).

Danas je, na temelju rezultata 8 randomiziranih kliničkih studija, standardno prvolinijsko liječenje kombinacija CDK4/6 inhibitora i hormonske terapije. Učinkovitost palbocikliba, ribocikliba i abemacicliba ispitivana je u više kliničkih ispitivanja u prvoj i drugoj liniji liječenja, a u kombinaciji s različitim hormonskim partnerima. Sve studije pokazale su da je kombinacijsko liječenje rezultiralo preživljenjem bez progresije bolesti od oko 24 mjeseca, dvostuko duljim u usporedbi s hormonskom monoterapijom (161–166). Meta-analiza pokazala

je statistički značajno poboljšanje vremena do progresije bolesti za bolesnice liječene inhibitorom CDK4/6 u kombinaciji s hormonskom terapijom u odnosu na one liječene samo hormonskom terapijom (HR = 0,547 (95 % CI: 0,504-0,594), $p < 0,0001$), kao i smanjenje rizika od smrti (HR = 0,763; 95 % CI: 0,683-0,852; $p < 0,0001$) (167).

Nažalost, rezistencija na endokrinu terapiju je česta, i brojni mehanizmi dovode do njenog nastanka. Jedan je aktivacija mTOR (engl. *mammalian target of rapamycin*) signalnog puta. U studiji BOLERO 2 everolimus u kombinaciji s egzemestanom pokazao dobit u medijanu preživljenja bez progresije bolesti bolesnice koje su razvile progresiju bolesti tijekom liječenja AI (168). Pacijentice s dokazanom mutacijom u ESR1 genu, koja rezultira rezistencijom na AI imaju kao terapijsku opciju lijek elacestrant, peroralni SERD. EMERALD studija pokazala je da je kod pretretiranih bolesnica vrijeme do progresije bolesti bilo je dulje ukoliko su primale elacestrant (HR = 0,70; 95% CI: 0,55-0,88; $p = 0,002$), u ukupnoj populaciji i u populaciji s dokazanom ESR1 mutacijom (HR = 0,55; 95 % CI: 0,39-0,77; $p = 0,0005$) (169). Oko 40 % pacijentica s metastatskim luminalnim rakom dojke ima mutaciju PIK3CA gena. Lijek alpelisib, ispitivan u studiji SOLAR nakon progresije na prvolinijsku hormonsku terapiju u kombinaciji s fulvestrantom, pokazao je korist u vidu preživljenja bez progresije bolesti u usporedbi s placebom (11,0 mjeseci naspram 5,7 mjeseci (HR = 0,65; 95 % CI: 0,50-0,85; $p < 0,001$) (170). Liječenje bolesnica s HER2-pozitivnom metastatskom bolešću temelji se na kontinuiranoj upotrebi antiHER terapije, do progresije bolesti ili neprihvatljive toksičnosti. Do sada je prvolinijski standard u liječenju na temelju rezultata CLEOPATRA studije bio primjena taksana u kombinaciji s trastuzumabom i pertuzumabom. Dodatak pertuzumaba rezultirao je duljim medijanom preživljenja bez progresije bolesti (12,4 naspram 18,5 mjeseci, HR = 0,62; 95 % CI: 0,51-0,75%, $p < 0,001$) i duljim ukupnim preživljenjem (40,8 naspram 56,6 mjeseci; HR = 0,64; $p = 0,0002$) (171). No nedavni rezultati studije DESTINY-Breast09, pokazali su da je TDXd kao prvolinijska terapija doveo do medijana preživljenja bez progresije bolesti od 40,7 mjeseci kod bolesnica koje su primale TDXd plus pertuzumab naspram 26,9 mjeseci kod onih liječenih standardnim protokolom taksana, trastuzumaba i pertuzumaba (HR = 0,56; 95 % CI: 0,44-0,71; $p < 0,00001$) (172).

U drugoj liniji liječenja primjenjuju se TDM1 i TDXd. Studija EMILIA, pokazala je da je T-DM1 značajno produžio preživljenje bez progresije bolesti i ukupno preživljenje, s manjom toksičnošću u usporedbi s kombinacijom lapatiniba i kapecitabina (173). TDXd je u studiji DESTINY-Breast03 pokazao superiornost naspram TDM-1. Rizik od progresije bolesti ili smrti bio je niži, uz veću učestalost intersticijske bolesti pluća i pneumonitisa (174). U daljnjim linijama liječenja koristi se lapatinib, tirozin-kinazni inhibitor u kombinaciji s

kapecitabinom (175). Među HER2-pozitivnim karcinomima dojke, veliki udio njih eksprimira niske razine HER2 koje ih ne klasificiraju kao HER2-pozitivne tumore, te su gore navedene terapijske opcije neučinkovite kod pacijenata s "niskim HER2" statusom. T-DXd je kod ove skupine bolesnica u studiji DESTINY-Breast04 doveo do smanjenja rizika od progresije bolesti te rizika od smrti za oko 50 % u usporedbi s bolesnicama koje su liječene kemoterapijom prema izboru liječnika (176). Pacijentice s metastatskom bolesti i dokazanom BRCA1/2 mutacijom, kandidati su za liječenje PARP inhibitorima. Studije OlympiAD i EMBRACA pokazale su da primjena PARP inhibitora kod ove skupine bolesnica rezultira značajno duljim vremenom do progresije bolesti u usporedbi s kemoterapijom po izboru liječnika (177,178).

1.6.3 Problematika istraživanja

Uloga neoadjuvantne hormonske terapije, bilo kao monoterapije ili u kombinaciji s drugim terapijama još uvijek nije jasno definirana. U našoj studiji želimo istražiti mogućnost poboljšanja ishoda neoadjuvantnog liječenja dvojnog hormonskog terapijom AI i fulvestrantom kod bolesnica s lokoregionalno uznapredovalim, hormonski osjetljivim rakom dojke. Standardna klinička praksa je primjena neoadjuvantne hormonske terapije jednim lijekom, najčešće AI, u trajanju od 6-9 mjeseci nakon čega slijedi pokušaj operativnog liječenja (u slučaju granično operabilnih tumora i pozitivnog odgovora na liječenje). Učinak dvojne terapije s fulvestrantom i AI na dubinu odgovora, radiološki mjereno i patološki potvrđeno (na konačnom patohistološkom materijalu), resektabilnost bolesti, te u konačnici na ishode liječenja je klinički važno pitanje koje je predmet ovog istraživanja. U eri skupih novih lijekova koji se istražuju u neoadjuvantnom liječenju luminalnih tumora, fulvestrant je široko dostupna terapijska opcija koja pruža visoke stope kliničkog odgovora kada se doda standardnoj terapiji AI, što ga čini vrijednom opcijom liječenja, posebno u zdravstvenim sustavima s ograničenim resursima. Optimalna dužina liječenja neoadjuvantnom hormonskom terapijom, jer je očekivano vrijeme do najboljeg odgovora dulje kod endokrine terapije nego kod kemoterapije vrijedan je, ali nedovoljno definiran cilj koji bismo istraživali u našoj studiji.

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZA

2.1 Ciljevi istraživanja

Primarni cilj istraživanja bila je procjena učinkovitosti dvojne hormonske kombinirane terapije s fulvestrantom i AI, mjerena patološkim odgovorom.

Sekundarni ciljevi uključivali su ciljeve ishoda i sigurnosti.

- Ciljevi ishoda bili su promjene u vrijednostima Ki-67 u odnosu na predterapijsku vrijednost, kao i klinički i radiološki odgovori, te procjena utjecaja trajanja neoadjuvantne hormonske terapije na primarni ishod liječenja.
- Ciljevi sigurnosti uključivali su učestalost nuspojava povezanih s liječenjem, hematoloških i nehematoloških. Također smo procijenili udio bolesnica koje su doživjeli smanjenje doze, privremene prekide ili trajni prekid terapije zbog toksičnosti. Stupnjevanje nuspojava rađeno je prema Zajedničkim kriterijima terminologije za nuspojave, verzija 5.0.

2.2 Hipoteza

Primarna hipoteza je da je dvojna hormonska terapija AI i fulvestrantom učinkovita i dovodi do dubljeg, boljeg odgovora na ordiniranu neoadjuvantnu terapiju u odnosu na rezultate monoterapije s AI koji je današnji standard liječenja, uz dobru podnošljivost.

Sekundarna hipoteza je da bi dulja (9-12 mjeseci) ordinacija hormonske terapije od standardno primjenjivane (6-9 mjeseci) bila praćena boljim ishodima neoadjuvantnog liječenja.

3. ISPITANICE, USTROJ ISTRAŽIVANJA I POSTUPCI

Provedba ovog istraživanja odobrena je od strane Etičkog povjerenstva Kliničkog bolničkog centra Split, klasa 520-03/25-01/66, dana 20.02.2025.

3.1 Ispitanice

U ovo istraživanje bile su uključene bolesnice s dijagnozom lokalno uznapredovalog luminalnog raka dojke koje su primale NET koji se sastojao od fulvestranta i AI u razdoblju od svibnja 2019. do siječnja 2024. na Klinici za onkologiju i radioterapiju KBC-a Split.

3.1.1 Kriteriji uključanja

Kriteriji za uključanje bolesnica bila je dijagnoza lokalno ili lokoregionalno uznapredovalog ER pozitivnog, HER2-negativnog raka dojke, potvrđenog biopsijom širokom iglom. Važno je naglasiti da je kriterij uključanja bolesnica bio da iste nisu kandidati za neoadjuvantnu kemoterapiju zbog tumorskih značajki (luminalni A podtip tumora) ili značajki bolesnice (nemogućnost ordinacije kemoterapije zbog općeg stanja, dobi ili komorbiditeta).

Procjena lokalnog stupnja proširenosti bolesti prije liječenja uključivala je ultrazvuk dojke i mamografiju. Odgovor tumora procijenjen je klinički i radiološki tijekom cijelog razdoblja liječenja. Na kraju planiranog liječenja, bolesnice su imale operaciju ako su ispunjavale uvjete, a patološki rezultati uzoraka nakon liječenja su analizirani kako bi se definirao patološki odgovor. Nijedna bolesnica nije primila adjuvantnu kemoterapiju nakon operacije. Za one koje nisu bile kandidati za operaciju ili su odbile operaciju, klinički odgovor na terapiju procijenjen je na planiranom datumu zatvaranja podataka. Uzorak nije odabran, već je obuhvatio sve bolesnice koje su primile neoadjuvantnu terapiju fulvestrantom i AI tijekom razdoblja istraživanja. Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Kliničkog bolničkog centra Split.

3.2 Ustroj istraživanja

Istraživanje je prema specifičnom ustroju bila retrospektivna longitudinalna studija s jednom granom, provedeno na ukupnoj populaciji bolesnica s lokoregionalno uznapredovalim rakom dojke luminalnog tipa dijagnosticiranim tijekom 2019. – 2024. i liječenih NET-om u Kliničkom bolničkom centru Split.

3.3 Postupci

Sve bolesnice koje su uključene u studiju bile su prikazane na multidisciplinarnom timu za rak dojke KBC-a Split gdje je na temelju inicijalne dijagnoze te općeg stanja, dobi i komorbiditeta donesena odluka o neoadjuvantnom liječenju endokrinom terapijom AI i fulvestrantom. Bolesnicama je potom ordinirana neoadjuvantna hormonska terapija AI (letrozol u dnevnoj dozi od 2.5 mg ili anastrozol u dnevnoj dozi od 1 mg peroralno) uz fulvestrant 500 mg 1., 14., 28. dan ciklusa i nakon toga jednom mjesečno intramuskularno. Na početku liječenja sve su bolesnice imale biopsiju širokom iglom kojom je potvrđena patohistološka dijagnoza te urađenu inicijalnu radiološku dijagnostičku obradu, te su tijekom terapije praćene istovjetnim kliničkim i radiološkim pregledima. Prije operativnog zahvata imale su ponovljen klinički pregled i radiološku obradu zbog definicije konačnog stupnja odgovora tumora na liječenje. Trajanje liječenja je bilo definirano odlukom nadležnog onkologa, personalizirano, ovisno o trenutku postizanja najboljeg odgovora na primijenjenu terapiju. Nakon operativnog zahvata, po uvidu u patohistološku analizu uzorka sve su pacijentice ponovno prezentirane na multidisciplinarnom timu, te je nastavljeno je adjuvantno liječenje, uz redovito onkološko kliničko praćenje. Na početku, tijekom i na kraju planiranog liječenja odgovor na terapiju praćen je kliničkim pregledom bolesnice i UZV-om. Procjena odgovora određena je RCB rezultatom određenim na patohistološkom materijalu s operativnog zahvata. Mjerene su vrijednosti Ki-67, analiziran status hormonskih receptora te zahvaćenost limfnih čvorova. Na temelju navedenih rezultata, izračunali smo mPEPI rezultat.

4. STATISTIČKA ANALIZA

Provedena je retrospektivna opservacijska kohortna studija bez randomizacije ili unaprijed definirane kontrolne skupine. U analizi su definirana dva analitička skupa. Populacija prema namjeri liječenja (*engl. intention to treat (ITT)*) uključivala je sve bolesnice koje su započele NET, bez obzira na završetak liječenja i neovisno o tome jesu li podvrgnute operaciji. Populacija prema protokolu (*engl. per-protocol population (PPP)*) uključivala je bolesnice koje su završile planirano neoadjuvantno liječenje i potom bile operirane. Iako su termini ITT i PPP standardni u randomiziranim ispitivanjima, ali neuobičajeni u opservacijskim studijama, njihova upotreba ovdje ima za cilj jasno razlikovati ukupnu liječenu populaciju od one kod koje se može procijeniti patološki odgovor.

Primarna analiza provedena je u ITT populaciji koja je uključivala sve bolesnice uključene u studiju, neovisno o tome jesu li završile NET i bile operirane. Istodobno, primarni ishod za analizu učinkovitosti (patološki odgovor) mogao se procijeniti samo u bolesnica s postoperativnim patohistološkim uzorkom, pa je procjena tog ishoda ograničena na operirane bolesnice (PPP).

Vrijednosti Ki-67 nakon liječenja nedostajale su za deset bolesnica u ITT populaciji zbog nedostatka kirurških uzoraka. Nedostajuće postoperativne vrijednosti Ki-67 u ITT populaciji imputirane su početnim vrijednostima Ki-67 izmjerenima prije početka NET-a.

Ishodi vremena do događaja (npr. vrijeme do najboljeg radiološkog odgovora) sažeti su deskriptivno medijanom i interkvartilnim rasponom (*engl. interquartile range (IQR)*). Nije provedena formalna analiza preživljenja zbog ograničenog razdoblja praćenja i učestalosti događaja.

Za procjenu prediktora postoperativnog Ki-67, indeks proliferacije izražen je kao postotak. Budući da je riječ o kontinuiranom ishodu ograničenom na raspon 0–100 % i desno asimetrične raspodjele, primijenjena je beta regresija s komplementarnom log-log funkcijom povezivanja, uz isključenje graničnih vrijednosti. Ovaj je pristup prikladniji od linearne regresije, koja pretpostavlja neograničen raspon i približno normalno raspodijeljene rezidualne. Rezultati su prikazani kao prosječni granični učinci (*engl. average marginal effects, AME*), izraženi kao promjene u postotnim bodovima predviđene postoperativne vrijednosti Ki-67 za porast kontinuiranog prediktora za jednu jedinicu ili u odnosu na referentnu kategoriju za kategoričke prediktore.

Za valjano zaključivanje u uvjetima moguće heteroskedastičnosti i nesavršene specifikacije modela korištene su Huber–Whiteove robusne standardne pogreške. Multivarijabilni model uključivao je početni Ki-67, dob pri dijagnozi, histološki podtip, imunofenotip (luminalni A u odnosu na luminalni B), klinički T stadij, status limfnih čvorova, histološki stupanj, ekspresiju

estrogenskih (ER) i progesteronskih receptora (PR) kao kontinuirane varijable, vrijeme od dijagnoze do početka NET-a, vrstu aromataznog inhibitora (letrozol u odnosu na anastrozol) te podatak o tome je li provedena operacija (u ITT modelima). Kovarijati su odabrani *a priori* prema kliničkoj relevantnosti i objavljenim rezultatima ranijih istraživanja. Kontinuirani kovarijati nisu dihotomizirani radi očuvanja statističke snage i smanjenja rezidualnih zbunjujućih učinaka. Nisu primijenjene transformacije prediktora, interakcijski termini ni hijerarhijski modeli, s obzirom na ograničenu veličinu uzorka.

Za procjenu učinaka prediktora binarnih ishoda (npr. objektivni radiološki odgovor i klasa rezidualnog tumorskog opterećenja) korištena je multivarijabilna binarna logistička regresija uz prilagodbu za relevantne kovarijate. Zbog malog broja događaja očekivani su široki intervali pouzdanosti te rezultate tih analiza treba tumačiti oprezno. Rezultati logističkih regresija prikazani su kao omjere izgleda (engl. *odds ratios*, OR) s 95 %-tnim intervalima pouzdanosti.

Sve hipoteze testirane su dvostrano. Razina statističke značajnosti postavljena je na $p < 0,05$, a svi intervali pouzdanosti izračunani su na razini od 95 %. Kako bi se smanjila vjerojatnost lažno pozitivnih nalaza zbog višestrukog testiranja u multivarijabilnim modelima, primijenjena je Benjamini–Hochbergova korekcija uz stopu lažnih otkrića (engl. *false discovery rate*, FDR) postavljenu na 5 %. Sve statističke analize su provedene korištenjem Stata verzije 19.0 (revizija 21. svibnja 2025.; StataCorpLLC, CollegeStation, TX, SAD).

5. REZULTATI RADA

5.1 Obilježja bolesnica, tumora i liječenja

U razdoblju od svibnja 2019. do siječnja 2024. u analizu podataka uključeno je 44 bolesnice s HR pozitivnim, HER2-negativnim rakom dojke kliničkog stadija II-III, od kojih je 34 (77,3 %) operirano do datuma prekida prikupljanja podataka i ispunjavalo je uvjete za procjenu patološkog odgovora.

Srednja dob bila je 74 (IQR 64–79) godine, dok je 39 (88,6 %) bolesnica bilo postmenopauzalno. LHRH agonisti korišteni su kod svih pet žena u premenopauzi. Inicijalno pozitivne limfne čvorove imalo je 17 (38,6 %) bolesnica, dokazano klinički ili radiološki.

Od 44 bolesnice koje su započele NET (ITT populacija), 34 su završile i NET i operaciju (PPP). Među deset bolesnica koje nisu podvrgnute operaciji, četiri su doživjele progresiju bolesti ili su umrle tijekom NET-a, nijedan smrtni ishod nije bio povezan s rakom dojke. Jedna bolesnica je odbila operaciju, a pet ih je još uvijek bilo na liječenju u vrijeme prekida prikupljanja podataka. Nijedna bolesnica nije imala početni Ki-67 indeks ispod 2,7%. Nijedna bolesnica nije primila postoperativnu kemoterapiju.

Medijan vremena od dijagnoze do početka NET-a bio je 34 (IQR 22–50) dana, a medijan trajanja bio je 11 (IQR 9–16) mjeseci, tijekom medijana od 12 (IQR 12–17) ciklusa liječenja. U vrijeme analize, 6/44 (13,6 %) bolesnice još je uvijek bilo u aktivnom liječenju.

U Tablici 4 prikazana su obilježja bolesti i bolesnica prije početka neoadjuvantnog liječenja.

U Tablici 5 prikazana su obilježja provedenog neoadjuvantnog liječenja.

Tablica 4. Obilježja bolesti i bolesnica na početku, prije uvođenja neoadjuvantne dvojne hormonske terapije

	Populacija s namjerom liječenja (n = 44)	Populacija prema protokolu (n = 34)
Dob pri dijagnozi (godine), medijan (IQR)	74 (64–79)	74 (61–77)
Kategorizirana dob pri dijagnozi (godine)		
<65	14 (31,8)	13 (38,2)
65–74	16 (36,4)	11 (32,4)
≥75	14 (31,8)	10 (29,4)
Status menopauze		
Premenopauza	5 (11,4)	4 (11,8)
Postmenopauza	39 (88,6)	30 (88,2)
Histološki podtip		
Lobularni	15 (34,1)	13 (38,2)
Mucinozni	2 (4,6)	1 (2,9)
NOS	27 (61,4)	19 (55,9)
Imunofenotip		
Luminal A	27 (61,4)	22 (64,7)
Luminal B	17 (38,6)	12 (35,3)
Klinički T stadij		
T1	1 (2,3)	1 (2,9)
T2	20 (45,5)	19 (55,9)
T3	3 (6,8)	2 (5,9)
T4	20 (45,5)	12 (35,3)
Klinički N stadij		
N0	27 (61,4)	24 (70,6)
N1	16 (36,4)	9 (26,5)
N2	1 (2,3)	1 (2,9)
Pozitivni limfni čvorovi	17 (38,6)	10 (29,4)
Histološki stupanj		
G1	11 (25,0)	8 (23,5)
G2	30 (68,2)	24 (70,6)
G3	3 (6,8)	2 (5,9)
Estrogenski receptori (%), medijan (IQR)	100 (95–100)	100 (94–100)
Progesteronski receptori (%), medijan (IQR)	92 (40–99)	92 (40–99)
Ki-67 indeks, medijan (IQR)	13 (9–20)	14 (9–20)
Kategorizirani Ki-67 indeks		
≤10	16 (36,4)	13 (38,2)
11–20	18 (40,9)	13 (38,2)
21–30	7 (15,9)	6 (17,6)
>30	3 (6,8)	2 (5,9)

Podaci su prikazani kao brojevi (postoci) pacijenata, osim ako nije drugačije navedeno. Kratice: IQR, interkvartilni raspon; NOS, invazivni duktalni karcinom, nespecificiran drugačije

Tablica 5. Obilježja liječenja

	Populacija s namjerom liječenja (n = 44)	Populacija prema protokolu (n = 34)
Vrijeme od dijagnoze do početka liječenja (dani), medijan (IQR)	34 (22–50)	37 (24–50)
Trajanje NET-a (mjeseci), medijan (IQR)	11 (9–16)	10 (9–15)
Broj ciklusa liječenja, medijan (IQR)	12 (12–17)	12 (11–14)
Završeno neoadjuvantno liječenje	38 (86,4)	32 (100,0)
Vrsta aromataznog inhibitora		
Letrozol	32 (76,2)	26 (76,5)
Anastrozol	10 (23,8)	8 (23,5)
LHRH uz AI	5 (11,4)	4 (11,8)
Operativno liječenje	34 (77,3)	34 (100,0)
Vrijeme od dijagnoze do operacije (mjeseci), medijan (IQR)	12,8 (11,0–16,0)	12,8 (11,0–16,0)
Vrsta operacije *		
Poštedna operacija	nr.	4 (11,8)
Mastektomija	nr.	30 (88,2)
Adjuvantna terapija *		
Endokrina terapija	nr.	34 (100,0)
Radioterapija	nr.	28 (82,4)
Trajanje praćenja (mjeseci), medijan (IQR)	24 (16–35)	15–35)

Podaci su prikazani kao brojevi (postoci) bolesnica osim ako nije drugačije navedeno.

Kratice: NET, neoadjuvantno endokrino liječenje; IQR, interkvartilni raspon; AI, aromatazni inhibitori; LHRH, agonisti hormona koji oslobađa luteinizirajući hormon; nr, nije relevantno i isto kao u populaciji prema protokolu.

* Bolesnice koje su završile NET i podvrgnute su operaciji (n = 34).

5.2 Rezultati ishoda učinkovitosti i sigurnosti

Najbolji radiološki odgovor postignut je nakon medijana od 4,7 (IQR 3,4–8,2) mjeseci od početka NET-a. Patološki ishodi (RCB, mPEPI, postoperativni Ki-67) prikazani su u populaciji prema protokolu / evaluabilnoj populaciji (n = 34). Jedna je bolesnica doživjela progresiju bolesti, a 30 (68,2 %) imalo je ORR u ITT populaciji. Četiri (9,1 %) bolesnice u ITT populaciji imale su potpuni radiološki odgovor. Samo četiri pacijentice imale su poštednu operaciju dojke, a 30/34 (88,2 %) su podvrgnute mastektomiji. Patološka procjena postoperativnih uzoraka provedena je za sve 34 bolesnice, a 29/34 (85,3 %) imalo je RCB I (minimalan) ili II (umjeren). Hematološka toksičnost nije uočena. Nehematološke nuspojave bile su stupnja 1-2 i uključivale su mišićno-koštanu bol (45,5 %), asteniju (34,1 %), valunge (29,5 %) i reakcije na mjestu injekcije (15,9 %). Nije bilo potrebno smanjenje doze ili prekid

liječenja. Tijekom razdoblja praćenja dogodila su se četiri smrtna slučaja; nijedan nije pripisan toksičnosti povezanoj s liječenjem.

Rezultati ishoda liječenja prikazani su u Tablici 6.

Tablica 6. Ishodi liječenja

	Populacija s namjerom liječenja (n = 44)	Populacija prema protokolu (n = 34)
Vrijeme od uvođenja NET-a do najboljeg kliničkog odgovora (mjeseci), medijan (IQR)	3,1 (2,3–8,9)	3,0 (2,3–6,7)
Najbolji klinički odgovor		
CR	0 (0,0)	0 (0,0)
PR	21 (47,7)	13 (38,2)
SD	23 (52,3)	21 (61,8)
PD	0 (0,0)	0 (0,0)
Najbolji klinički objektivni odgovor	21 (47,7)	13 (38,2)
Vrijeme od uvođenja NET-a do najboljeg radiološkog odgovora (mjeseci), medijan (IQR)	4,7 (3,4–8,2)	5,2 (3,5–8,5)
Najbolji radiološki odgovor		
CR	4 (9,1)	4 (11,8)
PR	26 (59,1)	22 (64,7)
SD	13 (29,6)	7 (20,6)
PD	1 (2,3)	1 (2,9)
Najbolji radiološki objektivni odgovor	30 (68,2)	26 (76,5)
Smrt	4 (9,1)	2 (5,9)
Indeks rezidualnog opterećenja rakom (RCB)	Nd	
RCB I (minimalno)		3 (8,8)
RCB II (umjereno)		26 (76,5)
RCB III (opsežno)		5 (14,7)
mPEPI rezultat		
0 (vrlo nizak rizik)	Nd	3 (8,8)
1–3 (srednji rizik)	Nd	15 (44,1)
≥4 (visoki rizik)	Nd	16 (47,1)
Promjene Ki-67 indeksa od početne vrijednosti, prije uvođenja NET-a, do vrijednosti nakon operacije	Nd	
Medijan (IQR) apsolutnih promjena		–5 (–9–0)
Medijan (IQR) relativnih promjena		–40% (–72–0%)
Bolesnice čiji je Ki-67 bio snižen s >10% na ≤10%	Nd	12/21, (57,1%)
Bolesnice čiji je Ki-67 smanjen s >10% na <2,7%	Nd	3/21 (14,3%)
Ki-67 indeks < 2,7%	Nd	7 (20,6%)

Podaci su prikazani kao brojevi (postoci) pacijenata osim ako nije drugačije navedeno.

Kratice: NET, neoadjuvantno endokrino liječenje; IQR, interkvartilni raspon; CR, potpuni odgovor; PR, djelomični odgovor; SD, stabilna bolest; PD, progresivna bolest; objektivna stopa odgovora, potpuni odgovor + djelomični odgovor; Nd, nije dostupno za pacijente koji nisu podvrgnuti operaciji. Relativna promjena Ki-67 indeksa za svakog pacijenta izračunata je kao

$[(\text{vrijednost Ki-67 nakon operacije} - \text{vrijednost Ki-67 na početku, prije NET-a}) / \text{vrijednost Ki-67 na početku, prije NET-a}] \times 100$.

Tablica 7. Ishodi toksičnosti

	Populacija s namjerom liječenja (n = 44)
Toksičnost – kronična	
Osteoporoza	6 (13,6)
Osteopenija	11 (25,0)
Hipertenzija	9 (20,5)
Hiperkolesterolemija	7 (15,9)
Toksičnost – akutna	
Bol u mišićno-koštanom sustavu	20 (45,5)
Astenija	15 (34,1)
Valunzi	13 (29,5)
Reakcija na mjestu injekcije	7 (15,9)

5.3 Prediktori ishoda liječenja

Osnovne, inicijalne razine Ki-67 značajno su predvidjele postoperativne vrijednosti Ki-67, s prosječnim graničnim učinkom (AME) od 0,55 (95 % CI: 0,27-0,84, $p < 0,001$, FDR < 5%) u potpuno prilagođenom multivarijabilnom modelu. Za svaki postotni bod povećanja početne vrijednosti Ki-67, postoperativne razine Ki-67 povećale su se za 0,55 postotnih bodova. Bolesnice s klinički ili radiološki dokazanim pozitivnim limfnim čvorovima imale su postoperativne vrijednosti Ki-67 koje su u prosjeku bile 4,87 postotnih bodova više (95% CI: 0,06-9,68, $p = 0,047$, FDR < 5%) u usporedbi s onima bez zahvaćenosti limfnih čvorova. Nadalje, svaki dodatni mjesec između dijagnoze i početka NET-a bio je povezan s porastom postoperativnih razina Ki-67 za 1,56 postotnih bodova (95% CI: 0,05-3,07, $p = 0,042$, FDR < 5%). Dob prilikom postavljanja dijagnoze, histološki podtip, imunofenotip (luminalni A/luminalni B), klinički T stadij, histološki gradus tumora te status hormonskih receptora (ER i PR) nisu neovisno predvidjeli postoperativne razine Ki-67. Ovi rezultati su uglavnom potvrđeni u populaciji prema protokolu. Utvrđeno je da je samo gradus tumora statistički značajno povezan s ORR-om, procijenjeno multivarijabilnom binarnom logističkom regresijom, ali nalazi su nepouzdana (OR 25,02; 95 % CI: 2,36-265,48; $p = 0,008$, FDR < 5%). Prediktori rezultata vrijednosti Ki-67 nakon operacije u populaciji s namjerom liječenja i u populaciji prema protokolu prikazani su u Tablici 8 i Tablici 9.

Tablica 8. Prediktori rezultata Ki67 nakon operacije prilagođeni početnoj vrijednosti Ki67, u populaciji s namjerom liječenja (n=44)

	Prilagođeno samo za početni Ki-67			Multivarijabilno, potpuno prilagođeno		
	AME	(95% CI)	AME	(95% CI)	AME	(95% CI)
Početni Ki-67 (%)	0,46	(0,19; 0,73)	0,001 *	0,55	(0,27; 0,84)	<0,001 *
Dob pri dijagnozi (godine)	0,11	(-0,04; 0,27)	0,159	0,10	(-0,13; 0,33)	0,410
Histološki podtip						
Ostalo ili NOS	Referent			Referent		
Lobularni	-0,38	(-4,22; 3,47)	0,848	0,35	(-3,96; 4,65)	0,875
Imunofenotip						
Luminal A	Referent			Referent		
Luminal B	1,34	(-3,37; 6,04)	0,578	-4,05	(-14,28; 6,19)	0,438
Klinički T stadij						
T1 ili T2	Referent			Referent		
T3 ili T4	-0,26	(-5,67; 5,16)	0,926	-5,05	(-11,50; 1,40)	0,125
Pozitivni limfni čvorovi	4,60	(-0,03; 9,22)	0,051	4,87	(0,06; 9,68)	0,047 *
Histološki stupanj						
G1	Referent			Referent		
G2 ili G3	-3,47	(-8,13; 1,19)	0,144	-0,10	(-6,90; 4,89)	0,739
Estrogenski receptori (%)	0,07	(-0,31; 0,44)	0,724	0,11	(-0,46; 0,68)	0,705
Progesteronski receptori (%)	-0,02	(-0,07; 0,03)	0,424	-0,04	(-0,14; 0,05)	0,387
Mjeseci od dijagnoze do uvođenja neoadjuvantne hormonske terapije	0,84	(-1,08; 2,75)	0,392	1,56	(0,05; 3,07)	0,042 *
Vrsta hormonske terapije						
Letrozol	Referent			Referent		
Anastrozol	2,40	(-1,83; 6,63)	0,266	-0,10	(-5,15; 4,95)	0,970
Kirurško liječenje	-6,84	(-10,47; -3,21)	<0,001 *	-5,96	(-10,91; -1,01)	0,018 *

Kratice: AME, prosječni granični učinak, koji označava promjenu očekivane vrijednosti Ki-67 nakon operacije za povećanje od jedne jedinice u svakom prediktoru; CI, interval pouzdanosti; p, statistička značajnost AME izračunata korištenjem beta regresije s komplementarnom log-log vezom i robusnim standardnim pogreškama procijenjenim korištenjem Huber-White sendvič estimatora; AI, inhibitori aromataze.

* Stopa lažnih otkrića < 5 %.

Tablica 9. Prediktori rezultata Ki67 nakon operacije prilagođeni početnoj vrijednosti Ki67, u populaciji prema protokolu (n=34)

	Prilagođeno samo za početni Ki-67			Multivarijabilno, potpuno prilagođeno		
	AME	(95% CI)	AME	(95% CI)	AME	(95% CI)
Početni Ki-67 (%)	0,32	(-0,12; 0,75)	0,151	0,52	(0,13; 0,92)	0,010 *
Dob pri dijagnozi (godine)	0,13	(-0,01; 0,28)	0,073	0,15	(-0,12; 0,43)	0,273
Histološki podtip						
Ostalo ili NOS	Referent			Referent		
Lobularni	0,65	(-3,27; 4,56)	0,747	0,92	(-3,35; 5,18)	0,674
Imunofenotip						
Luminal A	Referent			Referent		
Luminal B	1,31	(-2,98; 5,60)	0,548	-5,10	(-15,50; 5,31)	0,337
Klinički T stadij						
T1 ili T2	Referent			Referent		
T3 ili T4	-2,43	(-7,63; 2,78)	0,361	-4,47	(-10,12; 1,18)	0,121
Pozitivni limfni čvorovi	4,12	(-1,86; 10,09)	0,177	5,88	(1,41; 10,36)	0,010 *
Histološki stupanj						
G1	Referent			Referent		
G2 ili G3	-2,89	(-9,62; 3,85)	0,401	-2,61	(-10,16; 4,94)	0,498
Estrogenski receptori (%)	0,12	(-0,20; 0,43)	0,462	0,20	(-0,31; 0,72)	0,442
Progesteronski receptori (%)	-0,01	(-0,07; 0,05)	0,827	-0,04	(-0,13; 0,05)	0,373
Mjeseci od dijagnoze do uvođenja neoadjuvantne hormonske terapije	0,75	(-2,22; 3,71)	0,622	1,35	(-0,52; 3,22)	0,157
Vrsta hormonske terapije						
Letrozol	Referent			Referent		
Anastrozol	0,32	(-0,12; 0,75)	0,151	1,49	(-5,47; 8,44)	0,675

Kratice: AME, prosječni granični učinak, koji označava promjenu očekivane vrijednosti Ki-67 nakon operacije za povećanje od jedne jedinice u svakom prediktoru; CI, interval pouzdanosti; p, statistička značajnost AME izračunata korištenjem beta regresije s komplementarnom log-log vezom i robusnim standardnim pogreškama procijenjenim korištenjem Huber-White estimatora; AI, inhibitori aromataze.

* Stopa lažnih otkrića < 5%.

6. RASPRAVA

Primarni cilj neoadjuvantnog pristupa liječenju raka dojke u početku primjene bio je povećanje stope operabilnosti granično operabilnih tumora dojke te stope očuvanja dojke (engl. *breast conserving surgery*, BCS). Pacijentice koje su inicijalno kandidati za neoadjuvantni pristup, najčešće nisu pogodne za poštediti zahvat operacije dojke. Prema dostupnim kliničkim podacima, poštediti operacija nakon NAT-a je izvediva i sigurna opcija za pacijentice s početnim kliničkim stadijem T3-4 (179). Rezultati pokazuju da odabir poštediti operacije nakon NAT-a nije ugrozio dugoročne onkološke ishode u usporedbi s mastektomijom (180).

Ipak, odluka o kirurškom pristupu ostaje multifaktorijalna, uključujući procjenu kirurga i osobne preferencije bolesnice. Udio bolesnica u našoj studiji koje su podvrgnute poštediti zahvatu bio je malen, uglavnom zbog osobnog izbora pacijentica da imaju mastektomiju. Razlog tome mogla je biti dob bolesnica (medijan životne dobi naših bolesnica je bio 74 godine) ili komorbiditeti, kao i mogućnost izbjegavanja primjene radioterapije u adjuvantnom liječenju. Danas je uloga neoadjuvantne terapije znatno veća i potencijalno značajnija. Primjenom NET-a omogućuje se procjena odgovora tumora na sistemska terapija *in vivo*, što može pružiti prognostičke informacije i voditi daljnje odluke o adjuvantnom liječenju; rezultira poboljšanjem dugoročnih ishoda, posebno kod agresivnih podtipova poput trostruko negativnog i HER2-pozitivnog raka dojke; pruža priliku za provedbu translacijskih istraživanja radi identifikacije biomarkera odgovora i otpornosti (181,182).

Zahvaljujući danas dostupnim jasnim kliničkim podacima za primjenu NAT u HER2+ ili TNBC-u, neoadjuvantna kemoimunoterapija smatra se standardom liječenja kod bolesnica s ovim podtipovima tumora, većim od 2 cm ili s pozitivnim aksilarnim limfnim čvorovima (183). Dok je danas neoadjuvantni pristup liječenju ovih bolesnica jasno definiran, odabir pacijentica s luminalnim tumorom za neoadjuvantno liječenje još je uvijek nedovoljno istražen, pogotovo kada se radi o pacijenticama s luminalnim A podtipom tumora. Iako su klinička ispitivanja pokazala učinkovitost neoadjuvantne endokrine terapije kod luminalnih podtipova tumora, zbog još uvijek nedovoljno definiranih prognostičkih i prediktivnih biomarkera odgovora, nejasnog optimalnog trajanja terapije i nejasne definicije populacije bolesnica koje su idealni kandidati za istu, primjena NET-a je često ograničena u stvarnoj kliničkoj praksi (150).

Čimbenici poput gradusa tumora, razine Ki-67 i statusa progesteronskih receptora mogu pomoći u odabiru pacijenata koji će vjerojatnije imati značajnije koristi od NACT-a u odnosu na NET (146). Prvi korak u pristupu NET-u je odabir odgovarajuće hormonske terapije. Učinkovitost NET-a je u početku dokazana s tamoksifenom, s objektivnom stopom kliničkog odgovora (potpuni ili djelomični odgovor prema RECIST kriterijima) od približno 40 % (184). Nakon toga, početkom 2000-ih, tri velika klinička ispitivanja pokazala su superiornost AI

(letrozol ili anastrozol) u odnosu na tamoksifen u smislu stope kliničkog odgovora i udjela očuvanja dojke pri operativnom zahvatu. Primarni cilj u ova tri ispitivanja bila je stopa kliničkog odgovora na temelju kliničkog pregleda ili radiološkog odgovora (procenjenog UZV-om). Studija P024 ispitivala je primjenu letrozola naspram tamoksifena u trajanju od 4 mjeseca prije operativnog zahvata. Klinički odgovor i stope BCS-a bile su značajno su bolje s letrozolom (148).

U IMPACT studiji uspoređivao se anastrozol, tamoksifen i njihova kombinacija. Nije uočena značajna razlika između ove tri skupine u smislu kliničkog odgovora ili stope BCS-a (147). Ispitivanje PROACT uspoređivalo je neoadjuvantnu primjenu anastrozola s tamoksifenom, u trajanju od 3 mjeseca. Stopa BCS-a bila je značajno poboljšana s anastrozolom, dok je stopa kliničkog odgovora bila bolja, ali se nije statistički značajno razlikovala (149). Na temelju ovih ispitivanja, AI postali su zlatni standard za NET kod žena u postmenopauzi. Nedavno je meta-analiza ispitivanja koja su uspoređivala neoadjuvantnu terapiju tamoksifenom s AI potvrdila superiornost AI (150). U većini spomenutih kliničkih ispitivanja kao što su P024, IMPACT i PROACT predloženo je trajanje NET-a od tri do četiri mjeseca (147,149,185). Neke od studija, kao što je studija STAGE, pokazale su da se duljim trajanjem terapije postiže dublji odgovor na istu. Usporedbom primjene terapije u trajanju od 16 ili 24 tjedna, pokazana je razlika u poboljšanju odgovora na terapiju od 13,3 % primjenom anastrozola, odnosno 9,1 % primjenom tamoksifena (153).

Uspoređujući sve tri vrste AI, studija ACOSOG Z1031, nije dokazala superiornost nijednog od njih (185). Na ispitivanje potencijalne uloge kombinacije fulvestranta i anastrozola u neoadjuvantnom liječenju potakli su nas rezultati kliničkih ispitivanja u liječenju metastatske bolesti koji su pokazali su da je dodavanje fulvestranta anastrozolu povezano s boljim dugoročnim preživljavanjem u usporedbi sa samim anastrozolom. Rezultati ove kombinirane terapije korištene u prvoj liniji liječenja metastatske bolesti u studiji SWOG S0226 smanjili su rizik od smrti za 18 % naspram onih liječenih samim anastrozolom. Medijan ukupnog preživljenja bio je 42,0 mjeseca u skupini bolesnica liječenih samo anastrozolom i 49,8 mjeseci kod onih koje su primale kombiniranu terapiju. Razlika u preživljenju između dvije skupine bila je statistički značajna ($HR = 0,82$; 95% CI, 0,69 do 0,98; $p = 0,03$) (160). Iako je dokazana učinkovitost ove kombinacije u liječenju metastatske bolesti, u neoadjuvantnom liječenju rezultati nisu značajni. Kombinacija fulvestranta i anastrozola ispitivana je i u neoadjuvantnom liječenju, u ispitivanjima CARMINA02 i HORGEN. Rezultati ovih studija pokazali su da nije bilo značajnih razlika u pogledu BCS-a, patološkog odgovora i stope preživljenja (186). Združena analiza rezultata ove dvije studije pokazala je da su preživljenje bez povrata bolesti i

ukupno preživljenje nakon 5 godina bili 83,7% (95 % CI: 77,9-88) odnosno 92,7 % (95% CI: 88,2-95,6), bez razlike između skupina (151).

Rezultati kliničkog ispitivanja ALTERNATE, nažalost, također nisu potvrdili superiornost kombinirane terapije fulvestrantom i AI (152). Iako rezultati kliničkih ispitivanja nisu potvrdili superiornost kombinirane terapije, cilj naše studije bio je istražiti potencijal ove dvojne terapije u stvarnom okruženju baš kao i istražiti utjecaj dužine terapije na ishode liječenja. Naš primarni cilj, razina patološkog odgovora, pokazao je da je 85,3 % pacijenata imalo RCB I (minimalan) ili II (umjeren). Naši rezultati su u skladu s rezultatima kliničkih ispitivanja (187). Za razliku od drugih podtipova raka dojke, korelacija između ishoda preživljavanja i pCR-a je slabija kod luminalnih tipova raka dojke (132).

Upravo je adekvatna procjena odgovora na NET jedan od problema s kojim se susrećemo. Dok je RCB definiran i klasificiran za procjenu odgovora na primjenu neoadjuvantne kemoterapije (ili kombinacije s antiHER2 terapijom ili imunoterapijom), nije dovoljno istražen u procjeni odgovora i njegov prediktivni utjecaj na dugoročne ishode liječenja nakon neoadjuvantne endokrine terapiju je ograničen (126). Postoji nezadovoljena potreba za razvojem novih biomarkera koji bi se mogli koristiti za određivanje ishoda NET-a, posebno u usporedbi s NACT-om. Danas su u primjeni preoperativni endokrini prognostički indeks (PEPI) i mjerenja vrijednosti Ki-67 prije ili nakon operacije (188). Tumori koji pokazuju značajan odgovor u pogledu veličine tumora nakon provedene NET-a i prezentiraju se s niskim razinama Ki-67 i niskim PEPI rezultatom imaju izvrsnu dugoročnu prognozu. PEPI indeks razvijen je kako bi se identificirali pacijenti s dobrim odgovorom na endokrinu terapiju tako da se na temelju rezultata može planirati adjuvantno liječenje, odnosno izbjeći kemoterapija u populaciji s niskim rizikom od recidiva nakon NET-a. Bolesnice s najnižim rizikom od povrata bolesti su one s PEPI = 0 (patološki uzorak nakon NET-a mora imati negativne limfne čvorove, patološki stadij 1 ili 2A (<5 cm) i Ki-67 vrijednost 2,7 % ili manje) (188).

Studija ASCOZOG Z1031 pokazala je da je kod bolesnica s PEPI 0, rizik od povrata bolesti tijekom 5 godina bio je samo 3,6 % bez primjene adjuvantne kemoterapije (189). Budući da je poznato da fulvestrant može smanjiti razine ER-a, u našoj analizi koristili smo mPEPI rezultat korišten u prethodno spomenutom ALTERNATE ispitivanju, koji isključuje ER komponentu (Allred rezultat). mPEPI rezultat ostaje prognostički unatoč isključenju ER-a, jer uključuje druge relevantne prognostičke čimbenike, poput veličine tumora, zahvaćenosti limfnih čvorova i vrijednosti Ki-67. mPEPI od pT1/2, pN0, Ki-67 ≤ 2,7% bio je klinički ekvivalentan PEPI rezultatu nula, a ti su tumori pokazali vrlo nisku vjerojatnost recidiva (152,190). Vrijednosti Ki-67 kao prognostičkog markera u NET-u dobro su istražene, i rezultati

meta analize pokazali su da su visoke vrijednosti Ki-67 nakon NET-a povezane s lošijim ishodima liječenja (191). Povezanost pada vrijednosti Ki-67 nakon provedene neoadjuvantne terapije jasnije je definirana kod primjene neoadjuvantne kemoterapije. Meta analiza 68 studija potvrdila je lošije rezultate vremena do progresije bolesti (HR = 1,93, 95 % CI: 1,74–2,14; P <0,001) i ukupnog preživljenja (HR = 1,95, 95 % CI: 1,70–2,24; P <0,001) kod bolesnica kod kojih nije došlo do pada vrijednosti Ki-67 nakon provedene neoadjuvantne terapije (58). Granična vrijednost Ki-67 kod koje bi trebalo razmišljati o primjeni kemoterapije još uvijek nije definirana. U studiji Z1031 B određivala se vrijednosti Ki-67 nakon 2-4 tjedna NET-a. Ako je Ki-67 bio >10 %, bolesnice su prebačene na neoadjuvantnu kemoterapiju na temelju pretpostavljenog nedostatka koristi od hormonske terapije, a ukoliko je Ki-67 ≤10 %, bolesnice su nastavile AI terapiju još 12-14 tjedana, i potom bile operirane (191,192).

Na temelju svega navedenog, Ki-67 može se koristiti kao prediktor za procjenu stope preživljavanja bez recidiva kod pacijenata ili se njegova promjena može koristiti kao preoperativni "prozor prilike" za promjenu ili nastavak terapije kod NET-a. Rezultati naše studije pokazali su da je kombinacija fulvestranta i AI inhibirala proliferaciju tumora, mjereno smanjenjem razine Ki-67. Kod 57,1 % bolesnica došlo je do pada vrijednosti Ki-67 koji je inicijalno bio > 10% na vrijednosti < 10 %, dok je kod 14,3 % bolesnica došlo do smanjenja vrijednosti na <2,7 %. Optimalno trajanje NET-a još uvijek nije definirano, što postavlja pitanje je li kratko trajanje NET-a možda razlog nižih stopa odgovora u usporedbi s onima kada se koristi kemoterapija (193). Klinička ispitivanja koja su procjenjivala učinkovitost NACT-a pokazala su stope pCR-a od 10 do 20%, uglavnom ovisno o podtipu tumora, a terapija se često daje ukupno 3 do 6 mjeseci, ovisno o korištenim lijekovima (194). U usporedbi s kemoterapijom, NET ima postupniji, sporiji učinak na tumor i obično je potrebno dulje razdoblje liječenja kako bi se postigao maksimalni klinički odgovor. Provedeno je nekoliko studija kako bi se definiralo odgovarajuće trajanje NET-a, koje općenito pokazuju bolje stope odgovora nakon duljih razdoblja liječenja, s ukupnim stopama odgovora (ORR) u rasponu od 20 % do 70 % s 3-4 mjeseca NET-a i do 88 % s trajanjem od 12 mjeseci (147,149,195). Jedan od glavnih problema kod produljenja trajanja NET-a do maksimalnog odgovora je rizik od progresije bolesti, stoga je pažljivo praćenje bolesti tijekom liječenja ključno.

U našoj studiji trajanje terapije nije bilo unaprijed određeno, već je prepušteno na diskreciju liječnika, a rezultati pokazuju da je dulje trajanje terapije rezultiralo boljim kliničkim ishodima, pri čemu je 56,8 % pacijentica imalo poboljšani radiološki odgovor. Iako naši podaci sugeriraju povezanost između duljeg trajanja NET-a i poboljšanih odgovora, uzročnost se ne može utvrditi zbog nerandomiziranog, opservacijskog dizajna. Sve bolesnice uključene u našu

studiju imale su radiološku procjenu prije, tijekom i nakon planiranog liječenja. U ALTERNATE studiji snimanje prije i nakon liječenja završeno kod manje od 60 % bolesnica, stoga stope radiološkog odgovora nisu analizirane. Naša analiza sekundarnih ciljeva radiološkog ili kliničkog odgovora pokazala je visoke stope radiološkog odgovora (stopa potpunog odgovora od 9,1 %). Rezultati P024 ispitivanja pokazali su ORR od 52 % s monoterapijom letrozolom (196). Studija IMPACT, u kojoj se uspoređivao anastrozol, tamoksifen i njihova kombinacija, imala je stopu kliničkog odgovora od oko 35 % i stopu radiološkog odgovora od oko 25 % (147). Naša analiza pokazala je da je dodatak fulvestranta AI rezultirao ORR-om od 68,2 % u populaciji s namjerom liječenja. Kombinacija fulvestranta i AI rezultira pojačanom supresijom estrogena i stoga preklapajućim toksičnostima. Ukupni profil toksičnosti je općenito podnošljiv, ali kumulativan. Klinički najznačajnija dugoročna toksičnost je gubitak koštane mase, prvenstveno uzrokovana djelovanjem AI, što dovodi do smanjene gustoće kostiju i povećanog rizika od prijeloma uz produljeno trajanje terapije (197). Mišićno-koštana toksičnost je česta, uključujući artralgiiju, mialgiiju i ukočenost, što može značajno utjecati na kvalitetu života. Česta su nuspojava menopauzalni simptomi poput valova vrućine, suhoće vagine i umora. Primjena AI može dovesti do umjerenog povećanja kolesterola te povišenjem kardiovaskularnog rizika za bolesnice. Praćenjem toksičnosti kod naših bolesnica, pokazali smo da je sigurnosni profil primijenjene neoadjuvantne kombinacijske terapije fulvestrantom i AI bio zadovoljavajući. Liječenje je bilo dobro podnošljivo bez prekida ili smanjenja doze, a zabilježeni su samo blagi do umjereni štetni događaji, što je u skladu s podacima o sigurnosti iz prethodnih ispitivanja (198). Zabilježene nehematološke nuspojave bile su stupnja 1-2 i uključivale su mišićno-koštanu bol, asteniju, valunge i reakcije na mjestu injekcije. Hematoloških nuspojava nije bilo. Dugotrajna primjena AI i fulvestranta može biti povezana s pojavom osteoporoze i povećanim rizikom od fraktura, zbog smanjenja koštane gustoće, te s kardiovaskularnim događajima (hipertenzija, ishemijska bolest srca). Kod svih naših bolesnica u adjuvantnom liječenju primijenjeni su bifosfonati, te dugoročno praćenje toksičnosti ove terapije nije pokazalo povećanu učestalost koštanih nuspojava, kao ni kardiovaskularnih neželjenih posljedica. U eri novih lijekova, poput inhibitora CDK4/6, s dokazanom učinkovitošću u liječenju rane ili metastatske bolesti u kombinaciji s fulvestrantom ili AI, njihova uloga u neoadjuvantnom pristupu je dobro istražena, a rani klinički podaci o neoadjuvantnom liječenju raka dojke pozitivnog na hormonske receptore/HER2 negativnog su obećavajući (199). Kada se uzmu u obzir visoki troškovi ovih lijekova rizik od razvoja nuspojava, postavlja se pitanje isplativosti njihove upotrebe u neoadjuvantnom liječenju, posebno u zemljama s niskim prihodima.

7. ZAKLJUČCI

U svakodnevnoj kliničkoj praksi, dvojna hormonska terapija fulvestrantom i AI je učinkovita kombinacija u neoadjuvantnom liječenju luminalnog raka dojke. Naši rezultati, dobiveni iz neselekcionirane populacije pacijenata, pokazuju obećavajuću kliničku učinkovitost i dobru podnošljivost ovog neoadjuvantnog terapijskog protokola kod pacijenata s lokalno ili lokoregionalno uznapređovalim luminalnim rakom dojke. Iako se dokazi kliničkih ispitivanja prvenstveno temelje na podacima pacijentica u postmenopauzi, naši rezultati sugeriraju da bi ovo manje agresivno liječenje moglo biti opcija i za mlađe pacijentice u premenopauzi. U eri skupih novih lijekova koji se istražuju u neoadjuvantnom pristupu liječenja luminalnih tumora, fulvestrant je isplativa opcija koja pruža visoke stope kliničkog odgovora kada se doda standardnoj terapiji AI, što ga čini vrijednom opcijom liječenja, posebno u zdravstvenim sustavima s ograničenim resursima. Opća nedostupnost multigenskih prognostičkih testova za rak dojke u mnogim zdravstvenim sustavima dodatni je ograničavajući faktor u odabiru pacijenata koji možda neće imati koristi od neoadjuvantne kemoterapije. Posljedično, svi pacijenti koji nisu prikladni za NACT zbog svojih tumora ili karakteristika pacijenta trebali bi se odlučiti za NET kao jednako učinkovitu i manje toksičnu neoadjuvantnu opciju liječenja za pacijente kojima je potrebna s obzirom na stadij bolesti. Odgovarajući pristup neoadjuvantnom hormonskom liječenju treba individualizirati svakoj pojedinoj bolesnici i karakteristikama tumora; duljina NET-a, kao i protokol terapije, trebaju se definirati kako bi najbolje odgovarali potrebama bolesnice. Kombinacija AI i fulvestranta valjana je opcija NET-a s dobrim omjerom učinkovitosti i podnošljivosti. Definiranje preciznih postupaka praćenja tijekom liječenja i provedba mjerenja vrijednosti Ki-67 nakon razdoblja uvodnog odabira od 1-2 mjeseca NAT-a vjerojatno bi rezultiralo boljim odabirom pacijenata i time boljim ishodima liječenja. Potrebne su veće studije i dulja praćenja kako bi se izvijestili o pouzdanim kliničkim ishodima te potvrdili rezultati ove analize.

8. SAŽETAK

Uvod: Neoadjuvantna endokrina terapija (NET) predstavlja važnu, još uvijek nedovoljno primjenjenu terapijsku opciju u liječenju bolesnica s lokalno ili lokoregionalno uznapredovalim luminalnim rakom dojke koje nisu kandidati za neoadjuvantnu kemoterapiju.

Cilj istraživanja: Cilj našeg istraživanja bio je procijeniti učinkovitost i sigurnost dvojne hormonske terapije fulvestrantom i aromataznim inhibitorima (AI) u neoadjuvantnom liječenju, pri čemu je primarni ishod bio patološki odgovor, dok su sekundarni ishodi uključivali promjene proliferacijskog indeksa Ki-67, klinički i radiološki odgovor te utjecaj trajanja terapije na ishod liječenja.

Materijali i metode: Provedena je retrospektivna longitudinalna studija na Klinici za onkologiju i radioterapiju Kliničkog bolničkog centra Split, koja je obuhvatila 44 bolesnice s ER-pozitivnim, HER2-negativnim rakom dojke stadija II–III liječene NET-om u vremenu od 2019. do 2024. godine. Ukupno je 34 bolesnice završilo planirano neoadjuvantno liječenje i podvrgnuto je operativnom zahvatu, te su uključene u procjenu patološkog odgovora.

Rezultati: Patološka analiza pokazala je da je 85,3 % bolesnica imalo minimalni ili umjereni odgovor na terapiju (RCB I–II). Primjena neoadjuvantne dvojne endokrine terapije rezultirala je medijanom relativnog smanjenja Ki-67 vrijednosti od 40 %, pri čemu je kod 57,1 % bolesnica Ki-67 snižen s >10 % na ≤ 10 %. Postoperativne vrijednosti Ki-67 pokazale su značajnu povezanost s početnim vrijednostima Ki-67, pozitivnošću limfnih čvorova i vremenom od dijagnoze do početka NET-a. Objektivna stopa radiološkog odgovora bila je visoka i iznosila je 68,2 %. Terapija je bila dobro podnošljiva, bez hematološke toksičnosti ili potrebe za smanjenjem doze ili prekidom liječenja. Duljim praćenjem pokazali smo da je terapija dobro podnošljiva i da nije povezana s dugoročnim štetnim posljedicama na koštani ili kardiovaskularni sustav.

Zaključci: Rezultati ove analize pokazali su da je neoadjuvantna kombinacija fulvestranta i AI učinkovita i sigurna terapijska opcija u stvarnoj kliničkoj praksi, osobito kod starijih bolesnica i onih s komorbiditetima. Dulja primjena NET-a bila je povezana s boljim kliničkim i radiološkim odgovorima. Potrebno je provođenje prospektivnih istraživanja kojima bi se potvrdili ovi nalazi i definirali optimalni kriteriji odabira bolesnica.

9. LAIČKI SAŽETAK

Rak dojke ovisan o hormonima (naziva se i luminalni rak dojke) najčešće se liječi hormonskom terapijom. Kod bolesnica koje imaju uznapredovali rak dojke, onkološka terapija se nekada primjenjuje prije kirurškog liječenja. Kod nekih bolesnica, osobito starijih ili onih s postojećim drugim bolestima, primjena kemoterapije prije operacije nije prikladna. U tim slučajevima može se primijeniti neoadjuvantna endokrina terapija, odnosno hormonsko liječenje koje se daje prije operacije kako bi se smanjio tumor.

U ovom istraživanju analizirali smo učinkovitost i sigurnost kombinacije dvaju hormonskih lijekova – fulvestranta i aromataznih inhibitora – kod 44 bolesnice s hormonski ovisnim, HER2-negativnim rakom dojke u stadiju II i III, liječenih u Kliničkom bolničkom centru Split između 2019. i 2024. godine.

Terapija je bila učinkovita kod većine bolesnica. Nakon završenog liječenja i operacije, više od 85 % bolesnica imalo je povoljan patološki odgovor, što znači da se na primijenjenu terapiju tumor značajn smanjio. Također, kod velikog broja bolesnica došlo je do smanjenja pokazatelja rasta tumora (indeksa Ki-67), a kod više od dvije trećine bolesnica radiološke pretrage pokazale su smanjenje veličine tumora.

Terapija se pokazala sigurnom i dobro podnošljivom. Nije zabilježena ozbiljna toksičnost, niti potreba za prekidom ili smanjenjem doze lijekova. Dugoročno praćenje nije pokazalo štetne učinke na kosti ili srce.

Zaključno, rezultati upućuju na to da je kombinirana hormonska terapija fulvestrantom i aromataznim inhibitorima učinkovita i sigurna opcija liječenja prije operacije kod bolesnica s hormonski ovisnim rakom dojke, osobito kod starijih bolesnica i onih s dodatnim zdravstvenim problemima. Dulje trajanje terapije povezano je s boljim rezultatima liječenja. Potrebno je provesti dodatna istraživanja zbog dodatne potvrde ovih rezultata i kako bi se što bolje odredilo koje bolesnice imaju najveću korist od ovakvog pristupa.

10. SUMMARY

Efficacy of dual hormonal therapy with fulvestrant and aromatase inhibitors as neoadjuvant endocrine therapy for locally advanced breast cancer

Introduction: Neoadjuvant endocrine therapy (NET) represents an important, still underused therapeutic option in the treatment of patients with locally or locoregionally advanced luminal breast cancer who are not ideal candidates for neoadjuvant chemotherapy.

Study objective: The aim of our study was to evaluate the efficacy and safety of dual hormonal therapy with fulvestrant and aromatase inhibitors (AI) in neoadjuvant treatment, with the primary outcome being pathological response, while secondary outcomes included changes in the Ki-67 proliferation index, clinical and radiological response, and the impact of therapy duration on treatment outcome.

Materials and methods: A retrospective longitudinal study was conducted at the Clinical Hospital Center Split, Department of Oncology and Radiotherapy, which included 44 patients with ER-positive, HER2-negative stage II–III breast cancer treated with NET in the period from 2019 to 2024. A total of 34 patients completed planned neoadjuvant treatment and underwent surgery, and were included in the pathological response assessment.

Results: Pathological analysis showed that 85.3 % of patients had a minimal or moderate response to therapy (RCB I–II). The use of neoadjuvant dual endocrine therapy resulted in a median relative reduction of Ki-67 values of 40 %, with 57.1 % of patients having Ki-67 reduced from >10 % to ≤10 %. Postoperative Ki-67 values were significantly associated with baseline Ki-67 values, lymph node positivity, and time from diagnosis to onset of NET. The objective radiological response rate was high, at 68.2 %. The therapy was well tolerated, with no hematological toxicity or need for dose reduction or treatment interruption. Longer follow-up showed that the therapy was well tolerated and the results didn't show association with possible long-term adverse effects on the skeletal or cardiovascular systems.

Conclusions: The results of this analysis demonstrated that the neoadjuvant combination of fulvestrant and AI is an effective and safe treatment option in real-world clinical practice, especially in older patients and those with comorbidities. Longer use of NET was associated with better clinical and radiological responses. Further prospective studies are needed to confirm these findings and define optimal patient selection criteria.

11. LAY SUMMARY

Hormone-dependent breast cancer (luminal breast cancer) is often treated with endocrine therapy. For some patients, especially older women or those with additional medical comorbidities, chemotherapy before surgery is not suitable. In such cases, neoadjuvant endocrine therapy, hormonal treatment given before surgery can be an alternative aimed at reducing tumor size.

In this study, we analyzed the effectiveness and safety of a combination of two hormonal drugs, fulvestrant and aromatase inhibitors, in 44 patients with hormone receptor–positive, HER2-negative breast cancer stage II–III treated at the University Hospital Centre Split between 2019 and 2024.

Most patients responded well to the treatment. After completion of therapy and surgery, more than 85% of patients achieved a favorable pathological response, meaning that the tumor was significantly reduced or showed low biological activity. In addition, a large proportion of patients experienced a reduction in the tumor proliferation marker Ki-67, and imaging studies showed tumor shrinkage in more than two thirds of patients.

The treatment proved to be safe and well tolerated. No serious toxicity was observed, and there was no need for dose reduction or treatment discontinuation. Long-term follow-up showed no harmful effects on bone or cardiovascular health.

In conclusion, the results suggest that neoadjuvant combined endocrine therapy with fulvestrant and aromatase inhibitors is an effective and safe preoperative treatment option for patients with hormone-dependent breast cancer, particularly for older patients and those with comorbidities. Longer duration of therapy was associated with better treatment outcomes. Further prospective studies are needed to confirm these findings and to better define which patients benefit most from this approach.

12. ŽIVOTOPIS

Osobni podatci:

Ime i prezime: Ana Majić, doktor medicine, specijalist onkologije i radioterapije

E-mail: majicana88@gmail.com

Datum i mjesto rođenja: 26. svibnja 1988. godine, Split, Republika Hrvatska

Radna adresa: Klinički bolnički centar Split, Klinika za onkologiju i radioterapiju

Spinčićeva ulica 1, 21000 Split, Republika Hrvatska

Obrazovanje, akademski stupnjevi i radno iskustvo:

- 2021. – danas, Klinika za onkologiju i radioterapiju, KBC Split, specijalist radioterapije i onkologije
 - 2021. – danas, Medicinski fakultet, Sveučilište u Splitu, Katedra za kliničku onkologiju, asistent
 - 2016. – danas, Medicinski fakultet, Sveučilište u Splitu, Doktorski studij „Biologija novotvorina“
 - 2014. – 2021. KBC Split, Klinika za onkologiju i radioterapiju, specijalizantica radioterapije i onkologije
 - 2012. – 2013. KBC Split, pripravnički staž
 - 2006. – 2012. Medicinski fakultet, Sveučilište u Splitu, doktor medicine
- Područja užeg interesa: tumori dojke, tumori urogenitalnog sustava, sarkomi

Članstva i funkcije u znanstvenim i strukovnim organizacijama:

- Hrvatsko onkološko društvo, član
- Hrvatska liječnička komora, član
- Europsko društvo za medicinsku onkologiju, član

Radovi citirani u indeksnim publikacijama :

1. Majić A, Petrić Miše B, Matković V, Belac Lovasić I, Katić K, Canjko I, Frobe A, Bajić Ž, Vrdoljak E. Olaparib outcomes in patients with BRCA 1-2 mutated, platinum-sensitive, recurrent ovarian cancer in Croatia: a retrospective noninterventional study. *Journal of Oncology*. 2020;2020:6423936. doi:10.1155/2020/6423936.
2. Ban M, Petrić Miše B, Majić A, Dražić I, Vrdoljak E. Efficacy and safety of palbociclib in heavily pretreated patients with HR+/HER2- metastatic breast cancer. *Future Oncol*. 2018;14(6):537–44. doi:10.2217/fon-2017-0491.
3. Majić A, Bajić Ž, Ban M, Tica-Sedlar I, Čerina Pavlinović D, Petrić Miše B, et al. Efficacy of dual hormonal therapy with fulvestrant and aromatase inhibitors as neoadjuvant endocrine treatment for locally advanced breast cancer. *Cancers (Basel)*. 2025;17(13):2083. doi:10.3390/cancers17132083.

13. REFERENCE

1. Cancer (IARC) TIA for R on. Global Cancer Observatory [Internet]. [cited 2025 Dec 11]. Available from: <https://gco.iarc.fr/>
2. Statista [Internet]. [cited 2025 Dec 11]. EU: breast cancer incidence in women 2022. Available from: https://www.statista.com/statistics/456804/breast-cancer-incidence-in-women-in-europe/?srsltid=AfmBOoo4SYtu6eo9uUkErLAt0NXmr0_r08Sxlyfnl1weChmBxQTMVRkc
3. <https://www.hzjz.hr/periodicne-publikacije/incidencija-raka-u-hrvatskoj-u-2022-godini/>.
4. Allemani C, Matsuda T, Di Carlo V, Harewood R, Matz M, Nikšić M, et al. Global surveillance of trends in cancer survival 2000–14 (CONCORD-3): analysis of individual records for 37 513 025 patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries. *The Lancet*. 2018 Mar;391(10125):1023–75.
5. jrc_Breast_cancer_2022_Oct_2023.pdf [Internet]. [cited 2025 Dec 11]. Available from: https://ecis.jrc.ec.europa.eu/sites/default/files/2024-01/jrc_Breast_cancer_2022_Oct_2023.pdf
6. Rano otkrivanje raka dojke [Internet]. [cited 2025 Dec 11]. Available from: <https://www.hzjz.hr/nacionalni-programi/rano-otkrivanje-raka-dojke/>
7. Cancer statistics - specific cancers [Internet]. [cited 2026 Jan 6]. Available from: https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Cancer_statistics_-_specific_cancers
8. McPherson K. ABC of breast diseases: Breast cancer---epidemiology, risk factors, and genetics. *BMJ*. 2000 Sep 9;321(7261):624–8.
9. MacMahon B. Epidemiology and the causes of breast cancer. *Int J Cancer*. 2006 May 15;118(10):2373–8.
10. Liu K, Zhang W, Dai Z, Wang M, Tian T, Liu X, et al. Association between body mass index and breast cancer risk: evidence based on a dose–response meta-analysis. *Cancer Manag Res*. 2018 Jan;Volume 10:143–51.
11. Sohi I, Rehm J, Saab M, Virmani L, Franklin A, Sánchez G, et al. Alcoholic beverage consumption and female breast cancer risk: A systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *Alcohol Clin Exp Res*. 2024 Dec;48(12):2222–41.
12. Burke A, O’Driscoll J, Abubakar M, Bennett KE, Carmody E, Flanagan F, et al. A systematic review of determinants of breast cancer risk among women with benign breast disease. *Npj Breast Cancer*. 2025 Feb 15;11(1):16.
13. Dyrstad SW, Yan Y, Fowler AM, Colditz GA. Breast cancer risk associated with benign breast disease: systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat*. 2015 Feb;149(3):569–75.
14. Baker J, Noguchi N, Marinovich ML, Sprague BL, Salisbury E, Houssami N. Atypical ductal or lobular hyperplasia, lobular carcinoma in-situ, flat epithelial atypia, and future

- risk of developing breast cancer: Systematic review and meta-analysis. *The Breast*. 2024 Dec;78:103807.
15. Francken AB, Schouten PC, Bleiker EMA, Linn SC, Rutgers EJTh. Breast cancer in women at high risk: The role of rapid genetic testing for BRCA1 and -2 mutations and the consequences for treatment strategies. *The Breast*. 2013 Oct;22(5):561–8.
 16. Oosterwijk JC, De Vries J, Mourits MJ, De Bock GH. Genetic testing and familial implications in breast-ovarian cancer families. *Maturitas*. 2014 Aug;78(4):252–7.
 17. Young S, Pilarski RT, Donenberg T, Shapiro C, Hammond LS, Miller J, et al. The prevalence of BRCA1 mutations among young women with triple-negative breast cancer. *BMC Cancer*. 2009 Dec;9(1):86.
 18. Liu L, Hao X, Song Z, Zhi X, Zhang S, Zhang J. Correlation between family history and characteristics of breast cancer. *Sci Rep*. 2021 Mar 18;11(1):6360.
 19. Tyrer J, Duffy SW, Cuzick J. A breast cancer prediction model incorporating familial and personal risk factors. *Stat Med*. 2004 Apr 15;23(7):1111–30.
 20. Gail MH, Brinton LA, Byar DP, Corle DK, Green SB, Schairer C, et al. Projecting Individualized Probabilities of Developing Breast Cancer for White Females Who Are Being Examined Annually. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 1989 Dec 20;81(24):1879–86.
 21. Alom MdR, Farid FA, Rahaman MA, Rahman A, Debnath T, Miah ASM, et al. An explainable AI-driven deep neural network for accurate breast cancer detection from histopathological and ultrasound images. *Sci Rep*. 2025 May 20;15(1):17531.
 22. University of Connecticut School of Medicine, Farmington, Connecticut, USA, Sauter ER. Breast Cancer Prevention: Current Approaches and Future Directions. *Eur J Breast Health* [Internet]. 2018 May 16 [cited 2025 Dec 25]; Available from: <https://eurjbreasthealth.com/articles/doi/ejbh.2018.3978>
 23. Fisher B, Costantino JP, Wickerham DL, Redmond CK, Kavanah M, Cronin WM, et al. Tamoxifen for Prevention of Breast Cancer: Report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 Study. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 1998 Sep 16;90(18):1371–88.
 24. Vogel VG. Effects of Tamoxifen vs Raloxifene on the Risk of Developing Invasive Breast Cancer and Other Disease OutcomesThe NSABP Study of Tamoxifen and Raloxifene (STAR) P-2 Trial. *JAMA*. 2006 Jun 21;295(23):2727.
 25. The ATAC (Arimidex, Tamoxifen Alone or in Combination) Trialists' Group. Anastrozole alone or in combination with tamoxifen versus tamoxifen alone for adjuvant treatment of postmenopausal women with early-stage breast cancer: Results of the ATAC (Arimidex, Tamoxifen Alone or in Combination) trial efficacy and safety update analyses. *Cancer*. 2003 Nov;98(9):1802–10.
 26. Manahan ER, Kuerer HM, Sebastian M, Hughes KS, Boughey JC, Euhus DM, et al. Consensus Guidelines on Genetic Testing for Hereditary Breast Cancer from the American Society of Breast Surgeons. *Ann Surg Oncol*. 2019 Oct;26(10):3025–31.

27. Metcalfe KA. Oophorectomy for Breast Cancer Prevention in Women with *Brcal* Or *Brcal2* Mutations. *Womens Health*. 2009 Jan;5(1):63–8.
28. Guillem JG, Wood WC, Moley JF, Berchuck A, Karlan BY, Mutch DG, et al. ASCO/SSO Review of Current Role of Risk-Reducing Surgery in Common Hereditary Cancer Syndromes. *J Clin Oncol*. 2006 Oct 1;24(28):4642–60.
29. Xiong X, Zheng LW, Ding Y, Chen YF, Cai YW, Wang LP, et al. Breast cancer: pathogenesis and treatments. *Signal Transduct Target Ther*. 2025 Feb 19;10(1):49.
30. Perhavec A, Žgajnar J. Clinical Presentation, Diagnosis and Staging of Breast Cancer. In: Markopoulos C, Karakatsanis A, editors. *Breast Cancer Management for Surgeons* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2023 [cited 2025 Dec 25]. p. 113–27. Available from: https://link.springer.com/10.1007/978-3-031-37752-5_6
31. Cardoso F, Paluch-Shimon S, Schumacher-Wulf E, Matos L, Gelmon K, Aapro MS, et al. 6th and 7th International consensus guidelines for the management of advanced breast cancer (ABC guidelines 6 and 7). *The Breast*. 2024 Aug;76:103756.
32. Zhang M, Mesurolle B, Theriault M, Meterissian S, Morris EA. Imaging of breast cancer—beyond the basics. *Curr Probl Cancer*. 2023 Apr;47(2):100967.
33. Clinical guidelines for diagnosis, treatment and monitoring of patients with invasive breast cancer – Croatian Oncology Society (BC-3 COS). *Liječnički Vjesn* [Internet]. 2022 Oct 13 [cited 2025 Dec 25];144(9–10). Available from: https://lijecnicki-vjesnik.hlz.hr/pdf/9-10-2022/02_belac%20lovasic.pdf
34. Gradishar WJ, Moran MS, Abraham J, Abramson V, Aft R, Agnese D, et al. NCCN Guidelines® Insights: Breast Cancer, Version 5.2025: Featured Updates to the NCCN Guidelines. *J Natl Compr Canc Netw*. 2025 Nov;23(11):426–36.
35. Hadebe B, Harry L, Ebrahim T, Pillay V, Vorster M. The Role of PET/CT in Breast Cancer. *Diagnostics*. 2023 Feb 6;13(4):597.
36. Rakha EA, Tse GM, Quinn CM. An update on the pathological classification of breast cancer. *Histopathology*. 2023 Jan;82(1):5–16.
37. Elston C. Pathological prognostic factors in breast cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 1999 Aug;31(3):209–23.
38. Makki J. Diversity of Breast Carcinoma: Histological Subtypes and Clinical Relevance. *Clin Med Insights Pathol*. 2015 Jan;8:CPath.S31563.
39. Christgen M, Cserni G, Floris G, Marchio C, Djerroudi L, Kreipe H, et al. Lobular Breast Cancer: Histomorphology and Different Concepts of a Special Spectrum of Tumors. *Cancers*. 2021 Jul 22;13(15):3695.
40. Elston CW, Ellis IO. pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 1991 Nov;19(5):403–10.

41. Carvalho E, Canberk S, Schmitt F, Vale N, Carvalho E, Canberk S, et al. Molecular Subtypes and Mechanisms of Breast Cancer: Precision Medicine Approaches for Targeted Therapies. *Cancers* [Internet]. 2025 Mar 25 [cited 2025 Dec 28];17(7). Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6694/17/7/1102>
42. Nascimento RGD, Otoni KM. Histological and molecular classification of breast cancer: what do we know? *Mastology*. 2020;30:e20200024.
43. Clusan L, Ferrière F, Flouriot G, Pakdel F. A Basic Review on Estrogen Receptor Signaling Pathways in Breast Cancer. *Int J Mol Sci*. 2023 Apr 6;24(7):6834.
44. Nascimento RG do, Otoni KM. Histological and molecular classification of breast cancer: what do we know? *Mastology*. 2020 Apr 12;30:1–8.
45. Tarantino P, Hamilton E, Tolaney SM, Cortes J, Morganti S, Ferraro E, et al. HER2-Low Breast Cancer: Pathological and Clinical Landscape. *J Clin Oncol*. 2020 Jun 10;38(17):1951–62.
46. Yin L, Duan JJ, Bian XW, Yu S. Triple-negative breast cancer molecular subtyping and treatment progress. *Breast Cancer Res*. 2020 Dec;22(1):61.
47. Caan BJ, Sweeney C, Habel LA, Kwan ML, Kroenke CH, Weltzien EK, et al. Intrinsic Subtypes from the PAM50 Gene Expression Assay in a Population-Based Breast Cancer Survivor Cohort: Prognostication of Short- and Long-term Outcomes. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2014 May 1;23(5):725–34.
48. Prat A, Parker JS, Fan C, Perou CM. PAM50 assay and the three-gene model for identifying the major and clinically relevant molecular subtypes of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2012 Aug;135(1):301–6.
49. Ohnstad HO, Borgen E, Falk RS, Lien TG, Aaserud M, Sveli MAT, et al. Prognostic value of PAM50 and risk of recurrence score in patients with early-stage breast cancer with long-term follow-up. *Breast Cancer Res*. 2017 Dec;19(1):120.
50. Smith JA, Gamez-Araujo JJ, Gallager HS, White EC, McBride CM. Carcinoma of the breast. Analysis of total lymph node involvement versus level of metastasis. *Cancer*. 1977 Feb;39(2):527–32.
51. Liu Y, He M, Zuo WJ, Hao S, Wang ZH, Shao ZM. Tumor Size Still Impacts Prognosis in Breast Cancer With Extensive Nodal Involvement. *Front Oncol*. 2021 Apr 9;11:585613.
52. Danko ME, Bennett KM, Zhai J, Marks JR, Olson JA. Improved Staging in Node-Positive Breast Cancer Patients Using Lymph Node Ratio: Results in 1,788 Patients with Long-term Follow-Up. *J Am Coll Surg*. 2010 May;210(5):797-805e1.
53. Elston CW, Ellis IO. pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 1991 Nov;19(5):403–10.
54. Schwartz AM, Henson DE, Chen D, Rajamarthandan S. Histologic Grade Remains a Prognostic Factor for Breast Cancer Regardless of the Number of Positive Lymph Nodes

- and Tumor Size: A Study of 161 708 Cases of Breast Cancer From the SEER Program. *Arch Pathol Lab Med*. 2014 Aug 1;138(8):1048–52.
55. Mirza AN, Mirza NQ, Vlastos G, Singletary SE. Prognostic Factors in Node-Negative Breast Cancer: A Review of Studies With Sample Size More Than 200 and Follow-Up More Than 5 Years. *Ann Surg*. 2002 Jan;235(1):10–26.
 56. Ménard S, Fortis S, Castiglioni F, Agresti R, Balsari A. HER2 as a Prognostic Factor in Breast Cancer. *Oncology*. 2001;61(Suppl. 2):67–72.
 57. Song YJ, Shin SH, Cho JS, Park MH, Yoon JH, Jegal YJ. The Role of Lymphovascular Invasion as a Prognostic Factor in Patients with Lymph Node-Positive Operable Invasive Breast Cancer. *J Breast Cancer*. 2011;14(3):198.
 58. De Azambuja E, Cardoso F, De Castro G, Colozza M, Mano MS, Durbecq V, et al. Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12 155 patients. *Br J Cancer*. 2007 May;96(10):1504–13.
 59. Davey MG, Hynes SO, Kerin MJ, Miller N, Lowery AJ. Ki-67 as a Prognostic Biomarker in Invasive Breast Cancer. *Cancers*. 2021 Sep 3;13(17):4455.
 60. Nishimura R, Osako T, Okumura Y, Hayashi M, Arima N. Clinical significance of Ki-67 in neoadjuvant chemotherapy for primary breast cancer as a predictor for chemosensitivity and for prognosis. *Breast Cancer*. 2010 Oct;17(4):269–75.
 61. Kerr AJ, Dodwell D, McGale P, Holt F, Duane F, Mannu G, et al. Adjuvant and neoadjuvant breast cancer treatments: A systematic review of their effects on mortality. *Cancer Treat Rev*. 2022 Apr;105:102375.
 62. Brogna MR, Ferrara G, Varone V, Montone A, Schiano M, DelSesto M, et al. Evaluation and Comparison of Prognostic Multigene Tests in Early-Stage Breast Cancer: Which Is the Most Effective? A Literature Review Exploring Clinical Utility to Enhance Therapeutic Management in Luminal Patients. *Mol Carcinog*. 2025 May;64(5):789–800.
 63. Györfy B, Hatzis C, Sanft T, Hofstatter E, Aktas B, Pusztai L. Multigene prognostic tests in breast cancer: past, present, future. *Breast Cancer Res*. 2015 Jan 27;17(1):11.
 64. Paik S, Shak S, Tang G, Kim C, Baker J, Cronin M, et al. A Multigene Assay to Predict Recurrence of Tamoxifen-Treated, Node-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2004 Dec 30;351(27):2817–26.
 65. Sparano JA, Gray RJ, Makower DF, Pritchard KI, Albain KS, Hayes DF, et al. Adjuvant Chemotherapy Guided by a 21-Gene Expression Assay in Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2018 Jul 12;379(2):111–21.
 66. Buyse M, Loi S, Van'T Veer L, Viale G, Delorenzi M, Glas AM, et al. Validation and Clinical Utility of a 70-Gene Prognostic Signature for Women With Node-Negative Breast Cancer. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 2006 Sep 6;98(17):1183–92.
 67. Piccart M, Van 'T Veer LJ, Poncet C, Lopes Cardozo JMN, Delaloge S, Pierga JY, et al. 70-gene signature as an aid for treatment decisions in early breast cancer: updated results

- of the phase 3 randomised MINDACT trial with an exploratory analysis by age. *Lancet Oncol.* 2021 Apr;22(4):476–88.
68. Effect of radiotherapy after breast-conserving surgery on 10-year recurrence and 15-year breast cancer death: meta-analysis of individual patient data for 10 801 women in 17 randomised trials. *The Lancet.* 2011 Nov;378(9804):1707–16.
 69. Veronesi U, Cascinelli N, Mariani L, Greco M, Saccozzi R, Luini A, et al. Twenty-Year Follow-up of a Randomized Study Comparing Breast-Conserving Surgery with Radical Mastectomy for Early Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2002 Oct 17;347(16):1227–32.
 70. Kroman N, Holtveg H, Wohlfahrt J, Jensen M, Mouridsen HT, Blichert-Toft M, et al. Effect of breast-conserving therapy versus radical mastectomy on prognosis for young women with breast carcinoma. *Cancer.* 2004 Feb 15;100(4):688–93.
 71. Fayanju OM, Stoll CRT, Fowler S, Colditz GA, Margenthaler JA. Contralateral Prophylactic Mastectomy After Unilateral Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *Ann Surg.* 2014 Dec;260(6):1000–10.
 72. Kiricuta CI, Tausch J. A mathematical model of axillary lymph node involvement based on 1446 complete axillary dissections in patients with breast carcinoma. *Cancer.* 1992 May 15;69(10):2496–501.
 73. Veronesi U, Paganelli G, Viale G, Luini A, Zurrida S, Galimberti V, et al. Sentinel-lymph-node biopsy as a staging procedure in breast cancer: update of a randomised controlled study. *Lancet Oncol.* 2006 Dec;7(12):983–90.
 74. Krag DN, Julian TB, Harlow SP, Weaver DL, Ashikaga T, Bryant J, et al. NSABP-32: Phase III, randomized trial comparing axillary resection with sentinel lymph node dissection: A description of the trial. *Ann Surg Oncol.* 2004 Mar;11(S3):208S-210S.
 75. Mansel RE, Fallowfield L, Kissin M, Goyal A, Newcombe RG, Dixon JM, et al. Randomized Multicenter Trial of Sentinel Node Biopsy Versus Standard Axillary Treatment in Operable Breast Cancer: The ALMANAC Trial. *JNCI J Natl Cancer Inst.* 2006 May 3;98(9):599–609.
 76. Giuliano AE, Ballman KV, McCall L, Beitsch PD, Brennan MB, Kelemen PR, et al. Effect of Axillary Dissection vs No Axillary Dissection on 10-Year Overall Survival Among Women With Invasive Breast Cancer and Sentinel Node Metastasis: The ACOSOG Z0011 (Alliance) Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2017 Sep 12;318(10):918.
 77. Donker M, Van Tienhoven G, Straver ME, Meijnen P, Van De Velde CJH, Mansel RE, et al. Radiotherapy or surgery of the axilla after a positive sentinel node in breast cancer (EORTC 10981-22023 AMAROS): a randomised, multicentre, open-label, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet Oncol.* 2014 Nov;15(12):1303–10.
 78. Kuehn T, Bauerfeind I, Fehm T, Fleige B, Hausschild M, Helms G, et al. Sentinel-lymph-node biopsy in patients with breast cancer before and after neoadjuvant chemotherapy (SENTINA): a prospective, multicentre cohort study. *Lancet Oncol.* 2013 Jun;14(7):609–18.

79. Gentilini OD, Botteri E, Sangalli C, Galimberti V, Porpiglia M, Agresti R, et al. Sentinel Lymph Node Biopsy vs No Axillary Surgery in Patients With Small Breast Cancer and Negative Results on Ultrasonography of Axillary Lymph Nodes: The SOUND Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol.* 2023 Nov 1;9(11):1557.
80. Effects of radiotherapy and of differences in the extent of surgery for early breast cancer on local recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *The Lancet.* 2005 Dec;366(9503):2087–106.
81. Vrieling C, Van Werkhoven E, Maingon P, Poortmans P, Weltens C, Fourquet A, et al. Prognostic Factors for Local Control in Breast Cancer After Long-term Follow-up in the EORTC Boost vs No Boost Trial: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol.* 2017 Jan 1;3(1):42.
82. Hughes KS, Schnaper LA, Bellon JR, Cirrincione CT, Berry DA, McCormick B, et al. Lumpectomy Plus Tamoxifen With or Without Irradiation in Women Age 70 Years or Older With Early Breast Cancer: Long-Term Follow-Up of CALGB 9343. *J Clin Oncol.* 2013 Jul 1;31(19):2382–7.
83. Poortmans PM, Weltens C, Fortpied C, Kirkove C, Peignaux-Casasnovas K, Budach V, et al. Internal mammary and medial supraclavicular lymph node chain irradiation in stage I–III breast cancer (EORTC 22922/10925): 15-year results of a randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2020 Dec;21(12):1602–10.
84. Whelan TJ, Olivotto IA, Parulekar WR, Ackerman I, Chua BH, Nabid A, et al. Regional Nodal Irradiation in Early-Stage Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2015 Jul 23;373(4):307–16.
85. Ebtctg (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group). Effect of radiotherapy after mastectomy and axillary surgery on 10-year recurrence and 20-year breast cancer mortality: meta-analysis of individual patient data for 8135 women in 22 randomised trials. *The Lancet.* 2014 Jun;383(9935):2127–35.
86. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *The Lancet.* 2005 May;365(9472):1687–717.
87. Geyer CE, Bandos H, Rastogi P, Jacobs SA, Robidoux A, Fehrenbacher L, et al. Definitive results of a phase III adjuvant trial comparing six cycles of FEC-100 to four cycles of AC in women with operable node-negative breast cancer: the NSABP B-36 trial (NRG Oncology). *Breast Cancer Res Treat.* 2022 Jun;193(3):555–64.
88. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (Ebtctg). Comparisons between different polychemotherapy regimens for early breast cancer: meta-analyses of long-term outcome among 100 000 women in 123 randomised trials. *The Lancet.* 2012 Feb;379(9814):432–44.
89. Gray R, Bradley R, Braybrooke J, Liu Z, Peto R, Davies L, et al. Increasing the dose intensity of chemotherapy by more frequent administration or sequential scheduling: a patient-level meta-analysis of 37 298 women with early breast cancer in 26 randomised trials. *The Lancet.* 2019 Apr;393(10179):1440–52.

90. Citron ML, Berry DA, Cirrincione C, Hudis C, Winer EP, Gradishar WJ, et al. Randomized Trial of Dose-Dense Versus Conventionally Scheduled and Sequential Versus Concurrent Combination Chemotherapy as Postoperative Adjuvant Treatment of Node-Positive Primary Breast Cancer: First Report of Intergroup Trial C9741/Cancer and Leukemia Group B Trial 9741. *J Clin Oncol*. 2003 Apr 15;21(8):1431–9.
91. Jones SE, Savin MA, Holmes FA, O'Shaughnessy JA, Blum JL, Vukelja S, et al. Phase III Trial Comparing Doxorubicin Plus Cyclophosphamide With Docetaxel Plus Cyclophosphamide As Adjuvant Therapy for Operable Breast Cancer. *J Clin Oncol*. 2006 Dec 1;24(34):5381–7.
92. Braybrooke J, Bradley R, Gray R, Hills RK, Pan H, Peto R, et al. Anthracycline-containing and taxane-containing chemotherapy for early-stage operable breast cancer: a patient-level meta-analysis of 100 000 women from 86 randomised trials. *The Lancet*. 2023 Apr;401(10384):1277–92.
93. Gray RG, Rea D, Handley K, Bowden SJ, Perry P, Earl HM, et al. aTTom: Long-term effects of continuing adjuvant tamoxifen to 10 years versus stopping at 5 years in 6,953 women with early breast cancer. *J Clin Oncol*. 2013 Jun 20;31(18_suppl):5–5.
94. Davies C, Pan H, Godwin J, Gray R, Arriagada R, Raina V, et al. Long-term effects of continuing adjuvant tamoxifen to 10 years versus stopping at 5 years after diagnosis of oestrogen receptor-positive breast cancer: ATLAS, a randomised trial. *The Lancet*. 2013 Mar;381(9869):805–16.
95. Francis PA, Pagani O, Fleming GF, Walley BA, Colleoni M, Láng I, et al. Tailoring Adjuvant Endocrine Therapy for Premenopausal Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2018 Jul 12;379(2):122–37.
96. Pagani O, Walley BA, Fleming GF, Colleoni M, Láng I, Gomez HL, et al. Adjuvant Exemestane With Ovarian Suppression in Premenopausal Breast Cancer: Long-Term Follow-Up of the Combined TEXT and SOFT Trials. *J Clin Oncol*. 2023 Mar 1;41(7):1376–82.
97. Ruhstaller T, Giobbie-Hurder A, Colleoni M, Jensen MB, Ejlertsen B, De Azambuja E, et al. Adjuvant Letrozole and Tamoxifen Alone or Sequentially for Postmenopausal Women With Hormone Receptor–Positive Breast Cancer: Long-Term Follow-Up of the BIG 1-98 Trial. *J Clin Oncol*. 2019 Jan 10;37(2):105–14.
98. Kaufmann M, Jonat W, Hilfrich J, Eidtmann H, Gademann G, Zuna I, et al. Improved Overall Survival in Postmenopausal Women With Early Breast Cancer After Anastrozole Initiated After Treatment With Tamoxifen Compared With Continued Tamoxifen: The ARNO 95 Study. *J Clin Oncol*. 2007 Jul 1;25(19):2664–70.
99. Coombes R, Kilburn L, Snowdon C, Paridaens R, Coleman R, Jones S, et al. Survival and safety of exemestane versus tamoxifen after 2–3 years' tamoxifen treatment (Intergroup Exemestane Study): a randomised controlled trial. *The Lancet*. 2007 Feb;369(9561):559–70.
100. Jonat W, Gnant M, Boccardo F, Kaufmann M, Rubagotti A, Zuna I, et al. Effectiveness of switching from adjuvant tamoxifen to anastrozole in postmenopausal women with

- hormone-sensitive early-stage breast cancer: a meta-analysis. *Lancet Oncol.* 2006 Dec;7(12):991–6.
101. Goss PE, Ingle JN, Pritchard KI, Robert NJ, Muss H, Gralow J, et al. Extending Aromatase-Inhibitor Adjuvant Therapy to 10 Years. *N Engl J Med.* 2016 Jul 21;375(3):209–19.
 102. Geyer C, Bardia A, Harbeck N, Rimawi MF, Hurvitz SA, Martin M, et al. lidERA Breast Cancer (BC): Phase III adjuvant study of giredestrant vs. physician’s choice of endocrine therapy (PCET) in patients (pts) with estrogen receptor-positive, HER2-negative early BC (ER+, HER2– eBC). *J Clin Oncol.* 2023 Jun 1;41(16_suppl):TPS616–TPS616.
 103. Asif HM, Sultana S, Ahmed S, Akhtar N, Tariq M. HER-2 Positive Breast Cancer - a Mini-Review. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2016 Jun 1;17(4):1609–15.
 104. Perez EA, Romond EH, Suman VJ, Jeong JH, Sledge G, Geyer CE, et al. Trastuzumab Plus Adjuvant Chemotherapy for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2–Positive Breast Cancer: Planned Joint Analysis of Overall Survival From NSABP B-31 and NCCTG N9831. *J Clin Oncol.* 2014 Nov 20;32(33):3744–52.
 105. Cameron D, Piccart-Gebhart MJ, Gelber RD, Procter M, Goldhirsch A, De Azambuja E, et al. 11 years’ follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive early breast cancer: final analysis of the HERceptin Adjuvant (HERA) trial. *The Lancet.* 2017 Mar;389(10075):1195–205.
 106. Bradley R, Braybrooke J, Gray R, Hills R, Liu Z, Peto R, et al. Trastuzumab for early-stage, HER2-positive breast cancer: a meta-analysis of 13 864 women in seven randomised trials. *Lancet Oncol.* 2021 Aug;22(8):1139–50.
 107. Tolaney SM, Barry WT, Dang CT, Yardley DA, Moy B, Marcom PK, et al. Adjuvant Paclitaxel and Trastuzumab for Node-Negative, HER2-Positive Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2015 Jan 8;372(2):134–41.
 108. Tolaney SM, Tarantino P, Graham N, Tayob N, Parè L, Villacampa G, et al. Adjuvant paclitaxel and trastuzumab for node-negative, HER2-positive breast cancer: final 10-year analysis of the open-label, single-arm, phase 2 APT trial. *Lancet Oncol.* 2023 Mar;24(3):273–85.
 109. Loibl S, Jassem J, Sonnenblick A, Parlier D, Winer E, Bergh J, et al. Adjuvant Pertuzumab and Trastuzumab in Early Human Epidermal Growth Factor Receptor 2–Positive Breast Cancer in the APHINITY Trial: Third Interim Overall Survival Analysis With Efficacy Update. *J Clin Oncol.* 2024 Nov;42(31):3643–51.
 110. Von Minckwitz G, Huang CS, Mano MS, Loibl S, Mamounas EP, Untch M, et al. Trastuzumab Emtansine for Residual Invasive HER2-Positive Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2019 Feb 14;380(7):617–28.
 111. Loibl S, Park YH, Shao Z, Huang CS, Barrios C, Abraham J, et al. Trastuzumab Deruxtecan in Residual HER2-Positive Early Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2025 Dec 10;NEJMoa2514661.

112. Johnston SRD, Toi M, O'Shaughnessy J, Rastogi P, Campone M, Neven P, et al. Abemaciclib plus endocrine therapy for hormone receptor-positive, HER2-negative, node-positive, high-risk early breast cancer (monarchE): results from a preplanned interim analysis of a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2023 Jan;24(1):77–90.
113. Johnston S, Martin M, O'Shaughnessy J, Hegg R, Tolane SM, Guarneri V, et al. Overall survival with abemaciclib in early breast cancer. *Ann Oncol.* 2025 Oct;S0923753425049488.
114. Slamon D, Lipatov O, Nowecki Z, McAndrew N, Kukiela-Budny B, Stroyakovskiy D, et al. Ribociclib plus Endocrine Therapy in Early Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2024 Mar 21;390(12):1080–91.
115. Hortobagyi GN, Lacko A, Sohn J, Cruz F, Ruiz Borrego M, Manikhas A, et al. A phase III trial of adjuvant ribociclib plus endocrine therapy versus endocrine therapy alone in patients with HR-positive/HER2-negative early breast cancer: final invasive disease-free survival results from the NATALEE trial. *Ann Oncol.* 2025 Feb;36(2):149–57.
116. Tutt ANJ, Garber JE, Kaufman B, Viale G, Fumagalli D, Rastogi P, et al. Adjuvant Olaparib for Patients with *BRCA1* - or *BRCA2* -Mutated Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2021 Jun 24;384(25):2394–405.
117. Coleman R, Cameron D, Dodwell D, Bell R, Wilson C, Rathbone E, et al. Adjuvant zoledronic acid in patients with early breast cancer: final efficacy analysis of the AZURE (BIG 01/04) randomised open-label phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2014 Aug;15(9):997–1006.
118. Valachis A, Polyzos NP, Coleman RE, Gnant M, Eidtmann H, Brufsky AM, et al. Adjuvant Therapy With Zoledronic Acid in Patients With Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *The Oncologist.* 2013 Apr 1;18(4):353–61.
119. Adjuvant bisphosphonate treatment in early breast cancer: meta-analyses of individual patient data from randomised trials. *The Lancet.* 2015 Oct;386(10001):1353–61.
120. Ortmann O, Blohmer JU, Sibert NT, Brucker S, Janni W, Wöckel A, et al. Current clinical practice and outcome of neoadjuvant chemotherapy for early breast cancer: analysis of individual data from 94,638 patients treated in 55 breast cancer centers. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2023 Mar;149(3):1195–209.
121. Thompson AM, Moulder-Thompson SL. Neoadjuvant treatment of breast cancer. *Ann Oncol.* 2012 Sep;23:x231–6.
122. Mukhtar RA, Chau H, Woriach H, Piltin M, Ahrendt G, Tchou J, et al. Breast Conservation Surgery and Mastectomy Have Similar Locoregional Recurrence After Neoadjuvant Chemotherapy: Results From 1462 Patients on the Prospective, Randomized I-SPY2 Trial. *Ann Surg.* 2023 Sep;278(3):320–7.
123. Dabakuyo TS, Fraisse J, Causeret S, Gouy S, Padeano MM, Loustalot C, et al. A multicenter cohort study to compare quality of life in breast cancer patients according to sentinel lymph node biopsy or axillary lymph node dissection. *Ann Oncol.* 2009 Aug;20(8):1352–61.

124. Korde LA, Somerfield MR, Carey LA, Crews JR, Denduluri N, Hwang ES, et al. Neoadjuvant Chemotherapy, Endocrine Therapy, and Targeted Therapy for Breast Cancer: ASCO Guideline. *J Clin Oncol*. 2021 May 1;39(13):1485–505.
125. Asselain B, Barlow W, Bartlett J, Bergh J, Bergsten-Nordström E, Bliss J, et al. Long-term outcomes for neoadjuvant versus adjuvant chemotherapy in early breast cancer: meta-analysis of individual patient data from ten randomised trials. *Lancet Oncol*. 2018 Jan;19(1):27–39.
126. Yau C, Osdoit M, Van Der Noordaa M, Shad S, Wei J, De Croze D, et al. Residual cancer burden after neoadjuvant chemotherapy and long-term survival outcomes in breast cancer: a multicentre pooled analysis of 5161 patients. *Lancet Oncol*. 2022 Jan;23(1):149–60.
127. Cortazar P, Geyer CE. Pathological Complete Response in Neoadjuvant Treatment of Breast Cancer. *Ann Surg Oncol*. 2015 May;22(5):1441–6.
128. Rastogi P, Anderson SJ, Bear HD, Geyer CE, Kahlenberg MS, Robidoux A, et al. Preoperative Chemotherapy: Updates of National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocols B-18 and B-27. *J Clin Oncol*. 2008 Feb 10;26(5):778–85.
129. Corso G, Shen S, Criscitiello C, Mukhtar R, Gamble L, Rocco EG, et al. Invasive lobular carcinoma: Strategies and perspectives from the lobular breast cancer research group. *Cancer Treat Rev*. 2025 Nov;140:103001.
130. Qian XL, Xia XQ, Li YQ, Jia YM, Sun YY, Song YM, et al. Effects of tumor-infiltrating lymphocytes on nonresponse rate of neoadjuvant chemotherapy in patients with invasive breast cancer. *Sci Rep*. 2023 Jun 7;13(1):9256.
131. Tao M, Chen S, Zhang X, Zhou Q. Ki-67 labeling index is a predictive marker for a pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2017 Dec;96(51):e9384.
132. Cortazar P, Zhang L, Untch M, Mehta K, Costantino JP, Wolmark N, et al. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. *The Lancet*. 2014 Jul;384(9938):164–72.
133. Haque W, Verma V, Hatch S, Suzanne Klimberg V, Brian Butler E, Teh BS. Response rates and pathologic complete response by breast cancer molecular subtype following neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat*. 2018 Aug;170(3):559–67.
134. Gianni L, Pienkowski T, Im YH, Roman L, Tseng LM, Liu MC, et al. Efficacy and safety of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in women with locally advanced, inflammatory, or early HER2-positive breast cancer (NeoSphere): a randomised multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2012 Jan;13(1):25–32.
135. Schneeweiss A, Chia S, Hickish T, Harvey V, Eniu A, Hegg R, et al. Pertuzumab plus trastuzumab in combination with standard neoadjuvant anthracycline-containing and anthracycline-free chemotherapy regimens in patients with HER2-positive early breast cancer: a randomized phase II cardiac safety study (TRYPHAENA). *Ann Oncol*. 2013 Sep;24(9):2278–84.

136. Gianni L, Pienkowski T, Im YH, Tseng LM, Liu MC, Lluch A, et al. 5-year analysis of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in patients with locally advanced, inflammatory, or early-stage HER2-positive breast cancer (NeoSphere): a multicentre, open-label, phase 2 randomised trial. *Lancet Oncol*. 2016 Jun;17(6):791–800.
137. Harbeck N, Modi S, Pusztai L, Ohno S, Wu J, Kim SB, et al. Neoadjuvant trastuzumab deruxtecan alone or followed by paclitaxel, trastuzumab, and pertuzumab for high-risk HER2-positive early breast cancer (DESTINY-Breast11): a randomised, open-label, multicentre, phase III trial. *Ann Oncol*. 2025 Oct;S0923753425049683.
138. Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci*. 2001 Sep 11;98(19):10869–74.
139. Huang M, Qi CZ, Ramsey S, Briggs A, Zhao J, Haiderali A, et al. Evaluation of pathological complete response as a trial-level surrogate for long-term survival outcomes among triple-negative breast cancer patients receiving neoadjuvant therapy. *Ann Oncol*. 2019 May;30:iii34–5.
140. Spring L, Fell G, Arfe A, Trippa L, Greenup R, Reynolds K, et al. Abstract GS2-03: Pathological complete response after neoadjuvant chemotherapy and impact on breast cancer recurrence and mortality, stratified by breast cancer subtypes and adjuvant chemotherapy usage: Individual patient-level meta-analyses of over 27,000 patients. *Cancer Res*. 2019 Feb 15;79(4_Supplement):GS2-03-GS2-03.
141. Liedtke C, Mazouni C, Hess KR, André F, Tordai A, Mejia JA, et al. Response to Neoadjuvant Therapy and Long-Term Survival in Patients With Triple-Negative Breast Cancer. *J Clin Oncol*. 2008 Mar 10;26(8):1275–81.
142. Poggio F, Bruzzone M, Ceppi M, Pondé NF, La Valle G, Del Mastro L, et al. Platinum-based neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Ann Oncol*. 2018 Jul;29(7):1497–508.
143. Cortes J, Rugo HS, Cescon DW, Im SA, Yusof MM, Gallardo C, et al. Pembrolizumab plus Chemotherapy in Advanced Triple-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2022 Jul 20;387(3):217–26.
144. Schmid P, Cortes J, Pusztai L, McArthur H, Kümmel S, Bergh J, et al. Pembrolizumab for Early Triple-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2020 Feb 27;382(9):810–21.
145. Schmid P, Cortes J, Pusztai L, McArthur H, Kümmel S, Bergh J, et al. Pembrolizumab for Early Triple-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2020 Feb 27;382(9):810–21.
146. Sirico M, Virga A, Conte B, Urbini M, Ulivi P, Gianni C, et al. Neoadjuvant endocrine therapy for luminal breast tumors: State of the art, challenges and future perspectives. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2023 Jan;181:103900.
147. Smith IE, Dowsett M, Ebbs SR, Dixon JM, Skene A, Blohmer JU, et al. Neoadjuvant Treatment of Postmenopausal Breast Cancer With Anastrozole, Tamoxifen, or Both in Combination: The Immediate Preoperative Anastrozole, Tamoxifen, or Combined With Tamoxifen (IMPACT) Multicenter Double-Blind Randomized Trial. *J Clin Oncol*. 2005 Aug 1;23(22):5108–16.

148. Eiermann W, Paepke S, Appfelstaedt J, Llombart-Cussac A, Eremin J, Vinholes J, et al. Preoperative treatment of postmenopausal breast cancer patients with letrozole: A randomized double-blind multicenter study. *Ann Oncol*. 2001 Nov;12(11):1527–32.
149. Cataliotti L, Buzdar AU, Noguchi S, Bines J, Takatsuka Y, Petrakova K, et al. Comparison of anastrozole versus tamoxifen as preoperative therapy in postmenopausal women with hormone receptor-positive breast cancer: The pre-operative “Arimidex” compared to Tamoxifen (PROACT) trial. *Cancer*. 2006 May 15;106(10):2095–103.
150. Spring LM, Gupta A, Reynolds KL, Gadd MA, Ellisen LW, Isakoff SJ, et al. Neoadjuvant Endocrine Therapy for Estrogen Receptor–Positive Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Oncol*. 2016 Nov 1;2(11):1477.
151. Lerebours F, Pulido M, Fourme E, Debled M, Becette V, Bonnefoi H, et al. Predictive factors of 5-year relapse-free survival in HR+/HER2- breast cancer patients treated with neoadjuvant endocrine therapy: pooled analysis of two phase 2 trials. *Br J Cancer*. 2020 Mar 17;122(6):759–65.
152. Ma CX, Suman VJ, Sanati S, Vij K, Anurag M, Leitch AM, et al. Endocrine-Sensitive Disease Rate in Postmenopausal Patients With Estrogen Receptor–Rich/ERBB2-Negative Breast Cancer Receiving Neoadjuvant Anastrozole, Fulvestrant, or Their Combination: A Phase 3 Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol*. 2024 Mar 1;10(3):362.
153. Masuda N, Sagara Y, Kinoshita T, Iwata H, Nakamura S, Yanagita Y, et al. Neoadjuvant anastrozole versus tamoxifen in patients receiving goserelin for premenopausal breast cancer (STAGE): a double-blind, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2012 Apr;13(4):345–52.
154. Allevi G, Strina C, Andreis D, Zanoni V, Bazzola L, Bonardi S, et al. Increased pathological complete response rate after a long-term neoadjuvant letrozole treatment in postmenopausal oestrogen and/or progesterone receptor-positive breast cancer. *Br J Cancer*. 2013 Apr;108(8):1587–92.
155. Gennari A, André F, Barrios CH, Cortés J, De Azambuja E, DeMichele A, et al. ESMO Clinical Practice Guideline for the diagnosis, staging and treatment of patients with metastatic breast cancer. *Ann Oncol*. 2021 Dec;32(12):1475–95.
156. Bonnetterre J, Thürlimann B, Robertson JFR, Krzakowski M, Mauriac L, Koralewski P, et al. Anastrozole Versus Tamoxifen as First-Line Therapy for Advanced Breast Cancer in 668 Postmenopausal Women: Results of the Tamoxifen or Arimidex Randomized Group Efficacy and Tolerability Study. *J Clin Oncol*. 2000 Nov 15;18(22):3748–57.
157. Paridaens RJ, Dirix LY, Beex LV, Nooij M, Cameron DA, Cufer T, et al. Phase III Study Comparing Exemestane With Tamoxifen As First-Line Hormonal Treatment of Metastatic Breast Cancer in Postmenopausal Women: The European Organisation for Research and Treatment of Cancer Breast Cancer Cooperative Group. *J Clin Oncol*. 2008 Oct 20;26(30):4883–90.
158. Mauri D, Pavlidis N, Polyzos NP, Ioannidis JPA. Survival With Aromatase Inhibitors and Inactivators Versus Standard Hormonal Therapy in Advanced Breast Cancer: Meta-analysis. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 2006 Sep 20;98(18):1285–91.

159. Robertson JFR, Llombart-Cussac A, Rolski J, Feltl D, Dewar J, Macpherson E, et al. Activity of Fulvestrant 500 mg Versus Anastrozole 1 mg As First-Line Treatment for Advanced Breast Cancer: Results From the FIRST Study. *J Clin Oncol*. 2009 Sep 20;27(27):4530–5.
160. Mehta RS, Barlow WE, Albain KS, Vandenberg TA, Dakhil SR, Tirumali NR, et al. Overall Survival with Fulvestrant plus Anastrozole in Metastatic Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2019 Mar 28;380(13):1226–34.
161. Goetz MP, Toi M, Campone M, Sohn J, Paluch-Shimon S, Huober J, et al. MONARCH 3: Abemaciclib As Initial Therapy for Advanced Breast Cancer. *J Clin Oncol*. 2017 Nov 10;35(32):3638–46.
162. Sledge GW, Toi M, Neven P, Sohn J, Inoue K, Pivot X, et al. MONARCH 2: Abemaciclib in Combination With Fulvestrant in Women With HR+/HER2– Advanced Breast Cancer Who Had Progressed While Receiving Endocrine Therapy. *J Clin Oncol*. 2017 Sep 1;35(25):2875–84.
163. Hortobagyi GN, Stemmer SM, Burris HA, Yap YS, Sonke GS, Paluch-Shimon S, et al. Updated results from MONALEESA-2, a phase III trial of first-line ribociclib plus letrozole versus placebo plus letrozole in hormone receptor-positive, HER2-negative advanced breast cancer. *Ann Oncol*. 2018 Jul;29(7):1541–7.
164. Slamon DJ, Neven P, Chia S, Fasching PA, De Laurentiis M, Im SA, et al. Overall Survival with Ribociclib plus Fulvestrant in Advanced Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2020 Feb 6;382(6):514–24.
165. Finn RS, Martin M, Rugo HS, Jones S, Im SA, Gelmon K, et al. Palbociclib and Letrozole in Advanced Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2016 Nov 17;375(20):1925–36.
166. Turner NC, Slamon DJ, Ro J, Bondarenko I, Im SA, Masuda N, et al. Overall Survival with Palbociclib and Fulvestrant in Advanced Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2018 Nov 15;379(20):1926–36.
167. Piezzo M, Chiodini P, Riemma M, Cocco S, Caputo R, Cianniello D, et al. Progression-Free Survival and Overall Survival of CDK 4/6 Inhibitors Plus Endocrine Therapy in Metastatic Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Mol Sci*. 2020 Sep 3;21(17):6400.
168. Baselga J, Campone M, Piccart M, Burris HA, Rugo HS, Sahmoud T, et al. Everolimus in Postmenopausal Hormone-Receptor–Positive Advanced Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2012 Feb 9;366(6):520–9.
169. Bidard FC, Kaklamani VG, Neven P, Streich G, Montero AJ, Forget F, et al. Elacestrant (oral selective estrogen receptor degrader) Versus Standard Endocrine Therapy for Estrogen Receptor–Positive, Human Epidermal Growth Factor Receptor 2–Negative Advanced Breast Cancer: Results From the Randomized Phase III EMERALD Trial. *J Clin Oncol*. 2022 Oct 1;40(28):3246–56.
170. André F, Ciruelos E, Rubovszky G, Campone M, Loibl S, Rugo HS, et al. Alpelisib for *PIK3CA* -Mutated, Hormone Receptor–Positive Advanced Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2019 May 16;380(20):1929–40.

171. Swain SM, Baselga J, Kim SB, Ro J, Semiglazov V, Campone M, et al. Pertuzumab, Trastuzumab, and Docetaxel in HER2-Positive Metastatic Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2015 Feb 19;372(8):724–34.
172. Tolaney SM, Jiang Z, Zhang Q, Barroso-Sousa R, Park YH, Rimawi MF, et al. Trastuzumab Deruxtecan plus Pertuzumab for HER2-Positive Metastatic Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2025 Oct 29;NEJMoa2508668.
173. Verma S, Miles D, Gianni L, Krop IE, Welslau M, Baselga J, et al. Trastuzumab Emtansine for HER2-Positive Advanced Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2012 Nov 8;367(19):1783–91.
174. Cortés J, Kim SB, Chung WP, Im SA, Park YH, Hegg R, et al. Trastuzumab Deruxtecan versus Trastuzumab Emtansine for Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2022 Mar 24;386(12):1143–54.
175. Geyer CE, Forster J, Lindquist D, Chan S, Romieu CG, Pienkowski T, et al. Lapatinib plus Capecitabine for HER2-Positive Advanced Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2006 Dec 28;355(26):2733–43.
176. Modi S, Jacot W, Yamashita T, Sohn J, Vidal M, Tokunaga E, et al. Trastuzumab Deruxtecan in Previously Treated HER2-Low Advanced Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2022 Jul 7;387(1):9–20.
177. Robson M, Im SA, Senkus E, Xu B, Domchek SM, Masuda N, et al. Olaparib for Metastatic Breast Cancer in Patients with a Germline *BRCA* Mutation. *N Engl J Med*. 2017 Aug 10;377(6):523–33.
178. Litton JK, Rugo HS, Ettl J, Hurvitz SA, Gonçalves A, Lee KH, et al. Talazoparib in Patients with Advanced Breast Cancer and a Germline *BRCA* Mutation. *N Engl J Med*. 2018 Aug 23;379(8):753–63.
179. Tinterri C, Barbieri E, Sagona A, Bottini A, Canavese G, Gentile D. De-Escalation Surgery in cT3-4 Breast Cancer Patients after Neoadjuvant Therapy: Predictors of Breast Conservation and Comparison of Long-Term Oncological Outcomes with Mastectomy. *Cancers*. 2024 Mar 16;16(6):1169.
180. Song YC, Huang Z, Fang H, Tang Y, Jing H, Song YW, et al. Breast-conserving surgery versus mastectomy for treatment of breast cancer after neoadjuvant chemotherapy. *Front Oncol*. 2023 Jul 11;13:1178230.
181. Ortmann O, Blohmer JU, Sibert NT, Brucker S, Janni W, Wöckel A, et al. Current clinical practice and outcome of neoadjuvant chemotherapy for early breast cancer: analysis of individual data from 94,638 patients treated in 55 breast cancer centers. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2023 Mar 1;149(3):1195–209.
182. Thompson AM, Moulder-Thompson SL. Neoadjuvant treatment of breast cancer. *Ann Oncol*. 2012 Sep;23:x231–6.
183. Loibl S, André F, Bachelot T, Barrios CH, Bergh J, Burstein HJ, et al. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2024 Feb;35(2):159–82.

184. Charehbili A, Fontein DBY, Kroep JR, Liefers GJ, Mieog JSD, Nortier JWR, et al. Neoadjuvant hormonal therapy for endocrine sensitive breast cancer: A systematic review. *Cancer Treat Rev.* 2014 Feb;40(1):86–92.
185. Ellis MJ, Suman VJ, Hoog J, Lin L, Snider J, Prat A, et al. Randomized Phase II Neoadjuvant Comparison Between Letrozole, Anastrozole, and Exemestane for Postmenopausal Women With Estrogen Receptor–Rich Stage 2 to 3 Breast Cancer: Clinical and Biomarker Outcomes and Predictive Value of the Baseline PAM50-Based Intrinsic Subtype—ACOSOG Z1031. *J Clin Oncol.* 2011 Jun 10;29(17):2342–9.
186. Lerebours F, Rivera S, Mouret-Reynier M, Alran S, Venat-Bouvet L, Kerbrat P, et al. Randomized phase 2 neoadjuvant trial evaluating anastrozole and fulvestrant efficacy for postmenopausal, estrogen receptor–positive, human epidermal growth factor receptor 2–negative breast cancer patients: Results of the UNICANCER CARMINA 02 French trial (UCBG 0609). *Cancer.* 2016 Oct;122(19):3032–40.
187. Van Olmen JP, Jacobs CF, Bartels SAL, Loo CE, Sanders J, Vrancken Peeters MJTFD, et al. Radiological, pathological and surgical outcomes after neoadjuvant endocrine treatment in patients with ER-positive/HER2-negative breast cancer with a clinical high risk and a low-risk 70-gene signature. *The Breast.* 2024 Jun;75:103726.
188. Ellis MJ, Tao Y, Luo J, A'Hern R, Evans DB, Bhatnagar AS, et al. Outcome Prediction for Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer Based on Postneoadjuvant Endocrine Therapy Tumor Characteristics. *JNCI J Natl Cancer Inst.* 2008 Oct 1;100(19):1380–8.
189. Ellis MJ, Suman VJ, Hoog J, Goncalves R, Sanati S, Creighton CJ, et al. Ki67 Proliferation Index as a Tool for Chemotherapy Decisions During and After Neoadjuvant Aromatase Inhibitor Treatment of Breast Cancer: Results From the American College of Surgeons Oncology Group Z1031 Trial (Alliance). *J Clin Oncol.* 2017 Apr 1;35(10):1061–9.
190. López-Velazco JI, Manzano S, Otaño M, Elorriaga K, Bultó N, Herrero J, et al. A prospective study on tumour response assessment methods after neoadjuvant endocrine therapy in early oestrogen receptor-positive breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2024 Jan 3;26(1):3.
191. Martins-Branco D, Nader-Marta G, Molinelli C, Ameye L, Paesmans M, Ignatiadis M, et al. Ki-67 index after neoadjuvant endocrine therapy as a prognostic biomarker in patients with ER-positive/HER2-negative early breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer.* 2023 Nov;194:113358.
192. Ellis MJ. Lessons in precision oncology from neoadjuvant endocrine therapy trials in ER+ breast cancer. *The Breast.* 2017 Aug;34:S104–7.
193. Madigan LI, Dinh P, Graham JD. Neoadjuvant endocrine therapy in locally advanced estrogen or progesterone receptor-positive breast cancer: determining the optimal endocrine agent and treatment duration in postmenopausal women—a literature review and proposed guidelines. *Breast Cancer Res.* 2020 Dec;22(1):77.
194. Torrisi R, Marrazzo E, Agostinetto E, De Sanctis R, Losurdo A, Masci G, et al. Neoadjuvant chemotherapy in hormone receptor-positive/HER2-negative early breast cancer: When, why and what? *Crit Rev Oncol Hematol.* 2021 Apr;160:103280.

195. Masuda N, Sagara Y, Kinoshita T, Iwata H, Nakamura S, Yanagita Y, et al. Neoadjuvant anastrozole versus tamoxifen in patients receiving goserelin for premenopausal breast cancer (STAGE): a double-blind, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2012 Apr;13(4):345–52.
196. Ellis MJ, Ma C. Letrozole in the neoadjuvant setting: the P024 trial. *Breast Cancer Res Treat.* 2007 Oct;105(S1):33–43.
197. Lester J, Coleman R. Bone loss and the aromatase inhibitors. *Br J Cancer.* 2005 Aug;93(S1):S16–22.
198. Wang J, Xu B, Wang W, Zhai X, Chen X. Efficacy and safety of fulvestrant in postmenopausal patients with hormone receptor-positive advanced breast cancer: a systematic literature review and meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat.* 2018 Oct;171(3):535–44.
199. Ploumaki I, Triantafyllou E, Koumprentziotis IA, Karampinos K, Drougkas K, Karavolias I, et al. Cyclin-Dependent Kinase 4/6 Inhibitors as Neoadjuvant Therapy of Hormone Receptor-Positive/HER2-Negative Early Breast Cancer: What do we Know so Far? *Clin Breast Cancer.* 2024 Apr;24(3):e177–85.