



## IMUNOTERAPIJA U LIJEČENJU METASTATSKOG KARCINOMA BUBREGA: NOVI TERAPIJSKI PRISTUPI

GNJIDIĆ M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinički bolnički centar Zagreb  
• Klinika za onkologiju  
milengnjidic5@gmail.com

**Sažetak:** Karcinom bubrega (*renal cell carcinoma* – *RCC*) nastaje iz epitela proksimalnih tubula i na njega otpada >80% malignoma u bubregu. Najčešća varijanta je svijetlostanični karcinom bubrega (*clear cell RCC*) koji se javlja u 80% slučajeva, a zatim slijede manje česte varijante papilarni, kromofobni, medularni, karcinom sabirnih kanalića i ostali. Karcinom bubrega po učestalosti spada u 10 najčešćih malignoma u svijetu.

Zadnjih 20 godina dogodio se veliki napredak u liječenju metastatskog karcinoma bubrega (*mRCC*). Otkrićem dominantnog signalnog puta von Hippel Lindau (*VHL*) proteina i *hypoxia-induced factor* (*HIF*) koji je važan za angiogenezu i njegovih ciljnih molekula – (*vascular endothelial growth factor*, *VEGF*) receptori i (*mammalian target of rapamycin*, *mTOR*) počelo je doba ciljane terapije koje je donijelo produženje preživljenja na prosječno dvije godine.

Nakon toga dolazi novo doba u liječenju karcinoma bubrega otkrićem inhibitora kontrolnih točaka (*immune checkpoint inhibitors* – *ICIs*) koji blokiraju proteine na površini stanice (*programmed cell death*, *PD-1/PD-L1*) i (*cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4*, *CTLA-4*) i na taj način aktiviraju imuni sustav domaćina protiv tumora. Kombinacije imunoterapije i ciljanih lijekova produžile su preživljenje na oko 4 godine. Unatoč velikom napretku imunoterapije dugotrajni klinički odgovor se postiže u malom postotku bolesnika i postoji velika potreba za razvojem novih terapija. Nova znanja u imunobiologiji karcinoma bubrega pokrenula su istraživanja novih imunoterapija kao što su: novi *ICIs*, novi citokini, *CAR-T cell* terapije (*chimeric antigen receptor-T cell*) i *T-cell* terapije, cjepiva, razne modifikacije crijevnog flore – mikrobioma i razne njihove kombinacije.

S obzirom da je karcinom bubrega izrazito osjetljiv na djelovanje imunoterapije, s velikim optimizmom očekujemo rezultate istraživanja novih lijekova i kombinacija u imunoterapiji.

**Ključne riječi:** metastatski karcinom bubrega, imunoterapija, inhibitori kontrolnih točaka, interleukini, *CAR-T* stanična terapija, vakcine, crijevni mikrobiom

### Uvod

Karcinom bubrega (*renal cell carcinoma* – *RCC*) nastaje iz epitela proksimalnih tubula i na njega otpada >80% malignoma u bubregu. Najčešća varijanta je svijetlostanični karcinom bubrega (*clear cell RCC*) koji se javlja u 80% slučajeva, a zatim slijede manje česte varijante papilarni, kromofobni, medularni, karcinom sabirnih kanalića i ostali. Karcinom bubrega po učestalosti spada u 10 najčešćih malignoma u svijetu. Najveći broj bolesnika (~70%) s karcinomom bubrega ima lokalnu bolest koja se uspješno može riješiti kirurški nefrektomijom, iako ne mali broj bolesnika oko 30% doživi povrat bolesti. Oko 30% bolesnika javlja se s inicijalno metastatskom bolesti koja zahtjeva sistemsko liječenje i koja ima lošu prognozu s 5-godišnjim preživljenjem oko 14% ovisno o prisutnim faktorima rizika.<sup>1,2</sup>

Opisano je da metastatski karcinom bubrega (*mRCC*) u vrlo rijetkim slučajevima može nakon odstranjenja primarnog tumora ili spontano potpuno nestati što se tumačilo da je imunološki uvjetovano. Zato su prvi lijekovi za liječenje karcinoma bubrega bili upravo imunološki lijekovi – citokini. 1990-tih jedina sistemski terapija su bili interleukin 2 (*IL-2*) i interferon alfa. Nažalost, visoke doze *IL-2* postizale su slab odgovor (6–25%), kompletan duži odgovor kod 5–9% bolesnika i prosječno preživljenje oko godinu dana uz značajnu toksičnost zbog čega se *IL-2* morao davati u intenzivnim jedinicama.<sup>1,3,4</sup>

Zadnjih 20 godina dogodio se veliki napredak u razumijevanju molekularne biologije karcinoma bubrega što je omogućilo i razvoj novih strategija u liječenju. Kao prvo, otkriće dominantnog signalnog puta von Hippel Lindau (*VHL*) proteina i *hypoxia-induced factor* (*HIF*) u patogenezi karcinoma bubrega koji je važan za angiogenezu, te njegove najvažnije ciljne točke – (*vascular endothelial growth factor*, *VEGF*) receptori i (*mammalian target of rapamycin*, *mTOR*), koje su postale meta za razvoj novih lijekova. Najistaknutiji od njih je sunitinib koji

je pokazao produženje preživljenja u odnosu na interferon alfa i koji je od 2007. postao standard u liječenju metastatskog karcinoma bubrega, ali i komparator za buduća klinička istraživanja. Doba ciljane terapije donijelo je produženje preživljenja na prosječno dvije godine.<sup>5,2</sup>

Od 2015. započelo je novo doba u liječenju karcinoma bubrega otkrićem inhibitora kontrolnih točaka (*immune checkpoint inhibitors – ICIs*) koji blokiraju proteine na površini stanice (*programmed cell death, PD-1/PD-L1*) i (*cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4, CTLA-4*) i na taj način aktiviraju imuni sustav domaćina protiv tumora. Također se bolje upoznao utjecaj angiogeneze i mikrookoliša tumora (*tumor microenvironment, TME*) i počela su istraživanja raznih kombinacija imune i ciljane terapije. Nakon pozitivnih rezultata randomiziranih studija došlo je do odobrenja nekoliko kombinacija, a sve su pokazale bolje preživljenje u odnosu na dotadašnji standard sunitinib. Prema današnjim stručnim smjernicama kombinacije pembrolizumab+axitinib, nivolumab+cabozantinib, pembrolizumab+lenvatinib preporučuju se u svim prognostičkim grupama, a kombinacija dva ICIs nivolumab+ipilimumab preporučuje se u bolesnika srednje i loše prognoze. Kombinacije s imunoterapijom produžuju preživljenje na oko 4 godine. Bez obzira što sada postoji više terapijskih opcija, u praksi je teško odabrati pravu kombinaciju za određenog bolesnika jer nema studija koje direktno uspoređuju različite opcije, niti pouzdanih biomarkera koji bi pomogli odrediti koja kombinacija je najbolja za pojedinog bolesnika.<sup>5–11</sup> Unatoč velikom napretku imunoterapije dugotrajni klinički odgovor se postiže u malom postotku bolesnika i postoji velika potreba za razvojem novih terapija.

Najnovija istraživanja usmjerena su na bolje poznavanje bioloških karakteristika karcinoma bubrega, osobito na angiogenetske i imunološke mehanizme i na mikrookoliš tumora. Belzutifan je jedan takav novi lijek koji djeluje na VHL/HIF put vezajući se na HIF2a i tako sprečava rast tumorske stanice, a pokazao je dobar učinak kod karcinoma bubrega vezanog uz VHL bolest. Nekoliko studija je u tijeku koje istražuju HIF2a inhibitore u monoterapiji ili u kombinacijama s ICIs i/ili TKIs i pokazuju obećavajuće rezultate. Drugi novi lijekovi pogađaju druge puteve važne u patogenezi karcinoma bubrega kao što su AXL (batiraxcept), glutaminaza inhibitor (telaglenastat), adenzin receptor inhibitor, triptofan katabolizam (epacadostat) ili histon deacetilaza (abexinostat) put.<sup>12</sup>

S obzirom da se pokazalo da je karcinom bubrega vrlo osjetljiv na imunoterapiju, velike nade se polažu upravo na nove postupke i lijekove u imunoterapiji, što se želi naglasiti u ovom prikazu.

## Diskusija

Da bi razvoj novih lijekova u imunoterapiji karcinoma bubrega uspio potrebno je što bolje razumijevanje imunobiologije. Karcinom bubrega je jedan od onih solidnih tumora koji je osjetljiv na djelovanje imunoterapije, ali nema iste imunološke karakteristike kao npr. melanom ili karcinom pluća ne-malih stanica koji su osobito osjetljivi. Karcinom bubrega ima neke svoje posebnosti u tzv. tumor-imunološkom ciklusu. Kao prvo, RCC ima umjerenu opterećenost mutacijama (*tumor mutational burden, TMB*) što inače služi kao pokazatelj količine neoantigena i poznato je da dobro korelira s odgovorom na terapiju ICIs kod drugih solidnih tumora. Pokazalo se da TMB kod karcinoma bubrega nije povezan s odgovorom na terapiju ICIs. Suprotno tome, visoka ekspresija tumorskih antigena zvanih humani endogeni retrovirusi (*endogenous retroviruses, ERVs*) je povezana s boljim preživljenjem i odgovorom na ICIs. Drugo, razlikuje se uloga dendritičnih stanica (*dendritic cells, DCs*) i ostalih antigen-prezentirajućih stanica (*antigen-presenting cells, APCs*) u uspješnom udomljavanju T limfocita. Treće, ccRCC je visoko imunološki inflamiran za razliku od ne-svijetlostaničnog karcinoma (*non-clear cell, nccRCC*) i drugih solidnih tumora. Ali isto tako pokazuje puno angiogenetskih karakteristika kao što je prisutnost gubitka oba alela za VHL gen što dovodi do stanja pseudo-hipoksije s povećanom ekspresijom HIF i VEGF-A i smanjenja infiltracije imunološkim stanicama. Takva suprotnost se objašnjava postojanjem heterogenosti mikrookoliša što dovodi do pojave različitih podtipova karcinoma bubrega: jedan podtip karakterizira visoka razina infiltracije imunološkim stanicama uključujući i CD8+ T limfocite, mutacije BAP-1, povećana ekspresija gena koji kodiraju proteine zadužene za antigen-prezentirajući sustav (*antigen presentation machinery, APM*) i loša prognoza. Drugi podtip pokazuje povećanu ekspresiju VEGF-a, smanjenu infiltraciju imunološkim stanicama i dobru prognozu, dok treći podtip ima najmanju infiltraciju imunološkim stanicama, povećanu aktivnost mitohondrijalnih i metaboličkih putova, te povećanu aktivnost MYC i mTOR molekula.

Dalje, u imunopatogenezi karcinoma bubrega različiti drugi citokini i faktori rasta sudjeluju u oblikovanju mikrookoliša, kao što je IL-8 koji je povezan s lošim ishodom u bolesnika koji se liječe ICIs. Dio bolesnika sa sarkomatooidnim i rabdomiooidnim karakteristikama tumora ima dobar odgovor na terapiju ICIs, a pokazuju povećanu ekspresiju gena za APM. Pokazalo se također da je za razliku od drugih solidnih tumora, infiltracija karcinoma bubrega CD8+ T limfocitima povezana s lošom prognozom. Postoje mnoge hipoteze koje nastoje

objasniti taj paradoks od nezrelih DCs, heterogenosti ili poremećenog metabolizma CD8+ T stanica do genomskih promjena u samoj tumorskoj stanici.<sup>13</sup>

Sva ta saznanja u imunobiologiji RCC usmjerena su na istraživanja novih imunoterapija kao što su: novi ICI, novi citokini, CAR-T cell terapije i T-cell terapije, cjepiva, razne modifikacije crijevne flore – mikrobioma i razne njihove kombinacije.<sup>12,13</sup>

Nove kliničke studije istražuju nove inhibitorne ICIs kao što su protutijela protiv TIM-3, LAG-3 ili VISTA proteina na imunološkim stanicama koji se ispituju sami ili u kombinaciji s anti-PD1/PDL1. Također se ispituju i novi stimulirajući ICIs kao što su kostimulirajući checkpoint 4-1BB (CD137) i OX40.<sup>12,13</sup>

Postoji također obnovljen interes za terapiju citokinima. Novi IL-2 receptor agonist nemvaleukin ispituje se u kliničkim studijama kod refraktornih solidnih tumora kao monoterapija ili u kombinaciji s pembrolizumabom i pokazuje prihvatljivu toksičnost. Pegilirana forma IL-2 bempaldesleukin je novi oblik koji ima poboljšana farmakokinetička i farmakodinamička svojstva. Trenutno se ispituje u kombinaciji s nivolumabom u bolesnika srednje i loše prognoze nasuprot TKI po izboru ispitivača u fazi III studije PIVOT-09, ali nažalost prema rezultatima prikazanim na ovogodišnjem ESMO kongresu nije pokazala korist. Jedan drugi pro-inflamatorni citokin IL-12 ispituje se kod mRCC u kombinaciji s avelumabom.<sup>12,13</sup>

Istražuje se i nova vrsta adoptivne imunoterapije CAR-T stanična terapija (*chimeric antigen receptor-T cell, CAR-T cell*) kod koje se vlastite T stanice bolesnika promijene u laboratoriju tako da im se usadi gen za T-stanični receptor koji prepoznaje specifični antigen na tumorskoj stanici i tako uzrokuje smrt tumorskih stanica. Taj postupak nazvan „živi lijek“ se već pokazao veoma uspješnim kod hematoloških tumora, ali se još uvijek istražuje kod solidnih tumora kod kojih je do sada pokazao vrlo malo uspjeha. Da bi bila uspješna CAR-T cell terapija mora biti tako napravljena da pogodi jako istaknute specifične antigene na površini tumorske stanice, ali ne i antigene na ne-malignim stanicama, da omogući uspješno infiltriranje u sam tumor, kao i dugotrajan i efikasnu funkciju tih obrađenih T stanica u imunosupresivnom mikrookolišu. Prva generacija CAR bila je usmjerena na enzim karboksi-anhidrazu IX (*carboxy-anhydrase-IX, CAIX*) koji je jako izražen kod RCC, nije pokazala učinka, a studija je prekinuta rano zbog visokog porasta jetrenih enzima. Druga generacija CAR usmjerenih na isti protein CAIX ispituju se u kombinaciji sa sunitinibom i pokazuje sinergistički učinak. Trenutno je nekoliko studija u tijeku koje ispituju CAR-T cell terapiju kod mRCC usmjerenu na različite tumorske antigene kao što su CAIX, CD 70, AXL/ROR2. CAR-T cell terapija se nastavlja dalje istraživati i očekuju se bolji rezultati.<sup>12,13</sup>

U tijeku su i brojna istraživanja tumorskih vakcina koje su u stanju potaknuti dugotrajan imunološki odgovor stvarajući imunološku memoriju na tumorske antigene, a bez značajne imunološki posredovane toksičnosti. Prva takva vakcina IMA901 protiv HLA-A02 i HLA-DR tumorskih antigena u kombinaciji sa sunitinibom zajedno s GM-CSF-om i prethodnom primjenom ciklofosfamida nije pokazala korist (IMPRINT studija). Alternativni pristupi kao što je vakcina na sve tumorske antigene putem amplifikacije tumorske RNA u autolognim monocitima izvedenim DCs u kombinaciji sa sunitinib (ADAPT studija) također nije pokazala kliničke koristi. Mnoge druge vakcine se istražuju kao što DC vakcina u kombinaciji s nivolumabom i ipilimumabom ili druge vakcine koje su usmjerene na tumorske neoantigene u kombinaciji s drugim ICIs.<sup>12,13</sup>

Crijevna flora ili pod širim nazivom mikrobiom (*gut microbiome, GM*) prepoznata je kao središnja komponenta imunološkog nadzora tumora. Crijevne bakterije domaćina utječu na lokalni i sistemski imunološki odgovor putem brojnih složenih putova kao što je sinteza ili transformacija cirkulirajućih metabolita, aktivacija fagocitoze ili proizvodnja kratko-lančanih masnih kiselina koje utječu na proliferaciju i smrt stanice. Pretklinički modeli i studije rane faze pokazuju međusobnu povezanost između crijevnog mikrobioma i odgovora na imunoterapiju kod solidnih tumora uključujući i mRCC. Poznato je da postoje različite vrste bakterija kod onih koji su odgovorili na ICIs i kod onih koji nisu odgovorili na imunoterapiju. Također je poznato da primjena antibiotika neposredno uz primjenu ICIs smanjuje preživljenje.

Jedan od novijih pristupa kako možemo poboljšati učinak imunoterapije je upravo mijenjanje crijevnog mikrobioma. Postoje brojna istraživanja kako probiotici u kombinaciji s ICIs mogu poboljšati uspjeh liječenja. Studija koja je ispitala Clostridij butirikum (CBM-588) u kombinaciji s nivolumabom i ipilimumabom pokazala je bolji odgovor od kontrolne grupe koja nije dobila CBM-588. Isto tako je otkrivena povezanost crijevnog mikrobioma i razvoja toksičnosti na terapiju ICIs. Neke studije istražuju može li transplantacija fecesa (*fecal microbiota transplantation, FMT*) zdravih donora smanjiti učestalost nuspojava uzrokovanih imunoterapijom kod bolesnika s mRCC.

Moguće je da će karakteristike crijevnog mikrobioma postati budući biomarker, ne samo za učinkovitost, već i za toksičnost imunoterapije.

Ostali postupci mijenjanja crijevnog mikrobioma koji se istražuju u ranim fazama kliničkih studija obuhvaćaju umjetno stvoren crijevni mikrobiom, tumorske vakcine i bakteriofage, te npr. peroralnu primjenu kratkolančanih masnih kiselina valproične kiseline koja je metabolit bakterija.

Danas veliko područje interesa zauzima promjena crijevnog mikrobioma primjenom različitih dijeta. Nisko kalorična ketogena dijeta uz dodatak antagonista glutamina pokazala je učinak kod glioblastoma miša uz povlačenje simptoma bolesti i produženje preživljenja.

Međutim, pozitivni rezultati u pretkliničkim i studijama rane faze ne pretvaraju se uvijek u značajan protutumorski učinak pokazujući time složnost odnosa između crijevnog mikrobioma, tumora, tumorskog mikrokoliša i imunog sustava domaćina.<sup>12,13,14,15,16</sup>

## Zaključak

Zadnjih 20 godina doživjeli smo izvanredan napredak u liječenju bolesnika s metastatskim karcinomom bubrega, osobito jer su kombinacije s imunoterapijom donijele značajno produženje preživljenja.

Međutim, stečena rezistencija i prevalencija imunološki posredovanih nuspojava još uvijek su veliki motiv da se nastave istraživanja novih lijekova, tako da možda doživimo novo doba kada ćemo govoriti o „izlječenju“ bolesnika s metastatskim rakom bubrega.

## IMMUNOTHERAPY IN MRCC TREATMENT: NEW TREATMENT APPROACHES

GNJIDIĆ M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> University Hospital Centre Zagreb  
• Department of Oncology

**Summary:** Renal cell carcinoma (RCC) arises from the proximal renal tubular epithelium and account for >80% of all cancers in the kidney. The most common variant is clear cell RCC (ccRCC) which accounts for 80% of all cases. Less common subtypes include papillary, chromophobe, medullary, collecting duct and others. RCC is among top 10 most common cancers worldwide.

The past 20 years have seen significant progress in metastatic RCC (mRCC) treatment. First, the von Hippel Lindau (VHL) and hypoxia-induced factor (HIF) pathways have been identified as important drivers of pathogenesis in ccRCC. Vascular endothelial growth factor (VEGF) receptors and the mammalian target of rapamycin (mTOR) have been identified as actionable targets in the VHL/HIF axis and multiple drugs targeting these molecules have been developed. The era of targeted therapy extended survival on average 2 years.

More recently, the reemergence of immunotherapy in the form of immune checkpoint inhibitor (ICIs) targeting programmed cell death (PD-1)/ programmed cell death ligand (PD-L1) and cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4) receptors and understanding of the contribution of angiogenesis and the tumor microenvironment (TME) revolutionized the treatment of mRCC. Several combinations of ICIs or ICIs plus tyrosine kinase inhibitor (TKI) have been approved as first-line treatments, all based on comparison with accepted standard – sunitinib and all have improved survival to about 4 years. Besides that, the durable clinical response rate for these agents remains relatively low and the development of novel therapeutic strategies became unmet need. Recent drug development efforts have focused on targeting different biological pathways, including novel angiogenic and immunogenic mechanisms and the TME. With the progress in RCC immunobiology many trials are directed to research new immunotherapies from new ICIs, new cytokines, chimeric antigen receptor (CAR)-T cell and T-cell therapies, vaccines to modulation of gut microbiome or various combinations.

Given the established immune responsiveness of RCC, novel immunotherapies or combinations hold great promise in the treatment of this disease.

**Keywords:** metastatic renal cell carcinoma, immunotherapy, immune checkpoint inhibitors, interleukins, CAR-T cell therapy, vaccines, gut microbiome

## Introduction

Renal cell carcinoma (RCC) arises from the proximal renal tubular epithelium and account for >80% of all cancers in the kidney. The most common variant is clear cell RCC (ccRCC) which accounts for 80% of all cases. Less common subtypes include papillary, chromophobe, medullary, collecting duct and others. RCC is among

top 10 most common cancers worldwide. The most patients (~70%) presenting with RCC have localized tumors, which can often be successfully managed with surgery although not a few of them (~30%) develop disease recurrence. Approximately 30% of patients diagnosed with de novo metastatic disease, require systemic therapy and have poor prognosis with five-year survival about 14% depending on the risk group.<sup>1,2</sup>

Metastatic RCC, in very rare cases, reported to regress either spontaneously or after resection of the primary renal tumour, with the mechanisms of such regressions suggested to be immune-related. Historically, immunotherapy has long been utilized for the management of RCC. In the 1990s the cytokines interleukin 2 (IL-2) and interferon alpha were the only systemic treatment for mRCC. Unfortunately, with high-dose IL-2 the overall response rates were low (6–25%), durable complete responses (CR) were achieved in 5–9%, median overall survival was about one year and the treatments were associated with significant toxicity.<sup>1,3,4</sup>

The past 20 years have seen significant progress in our understanding of the molecular biology of RCC, which has given rise to new treatment strategies. First, the von Hippel Lindau (VHL) and hypoxia-induced factor (HIF) pathways have been identified as important drivers of pathogenesis in ccRCC. Vascular endothelial growth factor (VEGF) receptors and the mammalian target of rapamycin (mTOR) have been identified as actionable targets in the VHL/HIF axis and multiple drugs targeting these molecules have been developed. The most notable sunitinib demonstrated its superiority over interferon alpha and since 2007 it has become the standard of care for mRCC treatment and comparator for further clinical trials. The era of targeted therapy extended survival on average 2 years.<sup>5,2</sup>

More recently, from 2015, the reemergence of immunotherapy in the form of immune checkpoint inhibitor (ICIs) targeting programmed cell death (PD-1)/ programmed cell death ligand (PD-L1) and cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4) receptors and understanding of the contribution of angiogenesis and the tumor microenvironment (TME) revolutionized the treatment of mRCC. Several combinations of ICIs or ICIs plus tyrosine kinase inhibitor (TKI) have been approved as first-line treatments, all based on comparison with accepted standard – sunitinib and all have improved survival to about 4 years. According to the guidelines, pembrolizumab+axitinib, nivolumab+cabozantinib, pembrolizumab+lenvatinib are recommended in all risk group and nivolumab+ipilimumab is recommended only in intermediate and poor risk group.<sup>2</sup> Since no head-to-head comparison and predictive biomarkers have not been discovered yet, the clinicians face the challenging task of choosing the proper treatment for the right patient.<sup>5–11</sup> Besides that, the durable clinical response rate for these agents remains relatively low and the development of novel therapeutic strategies became unmet need.

Recent drug development efforts have focused on targeting different biological pathways, including novel angiogenic and immunogenic mechanisms and the TME. Belzutifan is the new agent that targets HIF2alpha in the VHL/HIF axis and showed positive results in patients with VHL disease-associated RCC. Several studies evaluating HIF2alpha inhibitors as single agent or in combination with ICIs and/or TKIs are ongoing and showed trends towards positive results. Other actionable targets are AXL (batiraxcept), glutaminase (telaglenastat) and adenosin receptor inhibition, tryptophan catabolism (epacadostat) and histone deacetylase (abexinostat) pathway.<sup>12</sup>

Given the established immune responsiveness of RCC, novel immunotherapies or combinations hold great promise in the treatment of this disease and that would be highlights of this review.

## Discussion

The successful development of novel immune-based treatments will require a deep understanding of RCC immunobiology. RCC is among the most immune-responsive solid tumor but, lacks many of the typical characteristics of other solid tumors that are particularly responsive to immunotherapy such as melanoma and non-small-cell lung cancer. The RCC has some specific differences in cancer-immunity cycle. First, RCC typically has only a moderate tumor mutational burden (TMB) which is often used as surrogate for neoantigen load and has been found to correlate with responsiveness to ICIs in other solid tumors. So, TMB does not predict clinical outcomes in mRCC patients receiving ICIs. On the other hand, high expression of human endogenous retroviruses (ERVs), a class of potential tumor-associated antigens, was associated with improved survival and response to ICIs. Second, the role of dendritic cells (DCs) and other antigen-presenting cells (APs) in effective T cell priming is also different. Third, ccRCC is typically highly immune-inflamed tumor compared with non-clear-cell tumors and with most other solid tumors. But also, ccRCC is usually highly angiogenic and is characterized by frequent biallelic losses of VHL, which induce a pseudo-hypoxic state marked by HIF and VEGF-A overexpression suggesting decreased immune infiltration. That might be explained by the heterogeneity of RCC immune microenvironment and many studies have found out distinct subtypes of the RCC: one subgroup with highest

level of immune cell infiltration including CD8+ T cell, BAP-1 mutations, increased expression of genes encoding proteins involved in the antigen presentation machinery (APM) and adverse prognosis. A second subgroup with increased levels of VEGF expression, decreased immune cell infiltration and a more favourable prognosis. And a third one with the lowest level of immune cell infiltration, increased mitochondrial and metabolic signaling, and increased MYC and mTOR activity. The other cytokines and growth factors have key roles in shaping the RCC microenvironment such as IL-8 which have been correlated with worse outcomes in patients receiving with ICIs. The subset of mRCC patients with sarcomatoid or rhabdoid features have exceptional responses to ICIs and also have increased expression of APM-associated genes. Also, in contrast to almost all other solid tumors increased infiltration of RCC with CD8+ T cells is associated with an inferior prognosis. Multiple hypotheses have been proposed to explain this paradox from immature DCs, heterogeneity or metabolic dysregulation of CD8+ T cells to genomic alterations in the tumor cell itself.<sup>13</sup>

With that progress in RCC immunobiology many trials are directed to research new immunotherapies from new ICIs, new cytokines, CAR-T cell and T-cell therapies, vaccines to modulation of gut microbiome or various combinations.<sup>12,13</sup>

New inhibitory ICIs such as TIM-3, LAG-3 and VISTA antibodies and stimulatory ICIs such as checkpoint 4-1BB (CD 137) and OX40 are evaluated in clinical trials. Inhibitory ICIs have been investigated in combination with anti PD1/PDL1 antibodies.<sup>12,13</sup>

There was also renewed interests about cytokine therapy. Nivolumab is novel IL-2 receptor agonist that is evaluated in clinical trials with refractory solid tumors as monotherapy and in combination with pembrolizumab and with acceptable toxicity. Bempegaldesleukin is pegylated form of IL-2 that has improved pharmacokinetic and pharmacodynamic properties. It is currently being evaluated in combination with nivolumab versus investigator's choice TKIs in a phase III trial (PIVOT-09) but did not improve outcomes as it showed on the ESMO congress this year. IL-12 is another pro-inflammatory cytokine that is also being investigated in mRCC in combination with avelumab.<sup>12,13</sup>

Chimeric antigen receptor (CAR) – T cell therapy is a type of adoptive immunotherapy in which patient's own T-cells changed in laboratory to insert gene for CAR to recognize specific tumor antigen and to kill cancer cells. This treatment called „a living drug“ is very successful in hematological malignancies but it is under active investigation and, thus far, been much less successful in solid tumors. In solid tumors CAR-T cell therapy must be designed to target suitable antigens that are highly expressed on tumor cells but not on non-malignant cells, to successfully home in and infiltrate the tumor and to be capable of persisting and carrying out effector functions in an immunosuppressive microenvironment. A first-generation CAR directed against carboxy-anhydrase-IX (CAIX), a highly expressed enzyme in RCC, was failed to show any benefit and trial had to be stopped early due to high grade liver enzyme abnormalities. A second-generation CAR targeting CAIX is under research in combination with sunitinib and showed synergistic effects. There are currently several ongoing studies of CAR-T cell therapy in mRCC against different targets such as CAIX, CD70, AXL/ROR2. CAR-T cell therapy is going forward and better results are expected.<sup>12,13</sup>

Therapeutic cancer vaccines have the potential to induce durable immune responses by establishing immunological memory against tumor antigens and with less immune-related toxicity. An initial vaccine (IMA901) against HLA-A02 and HLA-DR tumor antigens with GM-CSF support following cyclophosphamide in combination with sunitinib was failed to show benefit (IMPRINT trial). An alternative vaccine approach involves all potential tumor antigens such as amplified tumor RNA into autologous monocyte-derived DCs in combination with sunitinib (ADAPT trial) but, no clinical benefit was observed. Many other vaccines are under research such as DC vaccine with nivolumab and ipilimumab or vaccines targeting tumor neoantigens in combinations with other ICIs.<sup>12,13</sup>

The gut microbiome has been recognized as a central component of immune cancer surveillance. Commensal gut bacteria can influence local and systemic immune response through numerous complex pathways, including the synthesis or transformation of circulating metabolites, phagocyte activation and the production of short-chain fatty acids that impact proliferation and cell death. Preclinical models and early clinical data suggest an interplay between the gut microbiome and response to immunotherapy in solid tumors including mRCC. It's well known that there are a different type of bacteria in responders and non-responders to ICIs therapy. Also, many studies showed that antibiotics reduce survival in mRCC patients treated with ICIs.

The modulation of the gut microbiome to augment the efficacy of ICI-based therapy is an emerging therapeutic strategy. There are many trials with probiotics in combination with ICIs, such as trial with Clostridium

butyricum (CBM-588) with or without nivolumab plus ipilimumab which showed better response to ICIs among patients receiving CBM-588. The gut microbiome has also been associated with toxicity to ICI-based therapy and some trials are investigating whether fecal microbiota transplantation (FMT) from healthy donors can decrease the rate of immune-related adverse events (irAEs) in mRCC patients treated with immunotherapy. Microbiome signatures may become future biomarkers, not only for ICI efficacy, but also for safety.

Other interesting gut microbiome-modulation strategies that are being studied in early phase clinical trials include engineered microbial therapies, tumor-therapeutic vaccines and bacteriophages. The administration of the oral short-chain fatty acid valproic acid, which is a microbial metabolite, is also being investigated.

Another area of great interest is the modulation of the gut microbiome through dietary modification. A calorie-restricted ketogenic diet, in addition to a glutamine antagonist in mice with glioblastoma resulted in the killing of tumor cells, reversal of disease-related symptoms and improved survival.

However, positive results in preclinical and early clinical studies do not always translate to anti-tumor efficacy, highlighting the complexity of the interaction between the gut microbiome, tumor, TME and the host's immune system.<sup>12,13,14,15,16</sup>

## Conclusion

Remarkable progress has been made in the treatment of advanced RCC over the last 20 years, with ICI-based combination strategies in the upfront setting improving overall survival. Ongoing challenges, including acquired resistance and the prevalence of irAEs, continue to motivate efforts to discover new therapeutic targets and perhaps we may be entering a new era of „curing“ patients with mRCC.

## LITERATURA / LITERATURE:

1. Kathuria-Prakash N, Drolen C, Hannigan CA, Drakaki A. Immunotherapy and metastatic renal cell carcinoma: A review of new treatment approaches. *Life (Basel)* 2021;12(1):24.
2. Escudier B, et al. ESMO Clinical Guidelines. 2019. eUpdate 2021.
3. Abbas AK. The surprising story of IL-2: From experimental models to clinical application. *Am J Pathol* 2020;190(9):1776–1781.
4. Bonetti E, Jenzer M, Nientiedt C i sur. Interleukin-2 and interferon-alpha for advanced renal cell carcinoma: Patient outcomes, sexual dimorphism of responses, an multimodal treatment approaches over a 30-year period. *Urol Int* 2022;1–10.
5. Gulati S, Labaki C, Karachaliou GS, Choueiri TK. First-line treatment for metastatic clear cell renal cell carcinoma: An ever-enlarging landscape. *Oncologist* 2022;27(2):125–134.
6. Lombardi P, Filetti M, Falcone R i sur. New first-line immunotherapy-based combinations for metastatic renal cell carcinoma: A systematic review and network meta-analysis. *Cancer Treat Rev* 2022;106:102377.
7. Bosma NA, Warkentin MT, Gan CL i sur. Efficacy and safety of first-line systemic therapy for metastatic renal cell carcinoma: A systematic review and network meta-analysis. *Eur Urol Open Sci* 2022;37:14–26.
8. Motzer RJ, McDermott DF, Escudier B i sur. Conditional survival and long-term efficacy with nivolumab plus ipilimumab versus sunitinib in patients with advanced renal cell carcinoma. *Cancer* 2022 Apr 5.
9. Powles T, Plimack ER, Soulieres D i sur. Pembrolizumab plus axitinib versus sunitinib monotherapy as first-line treatment of advanced renal cell carcinoma (KEYNOTE-426): Extended follow-up from a randomized, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2020;21(129):1563–1573.
10. Motzer RJ, Powles T, Burotto M i sur. Nivolumab plus cabozantinib versus sunitinib in first-line treatment for advanced renal cell carcinoma (CheckMate 9ER): long-term follow-up results from an open-label, randomized, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2022; 23(7):888–898.
11. Motzer RJ, Porta C, Alekseev B i sur. Health-related quality-of-life outcomes in patients with advanced renal cell carcinoma treated with lenvatinib plus pembrolizumab or everolimus versus sunitinib (CLEAR): a randomized, phase 3 study. *Lancet Oncol* 2022;23(6):768–780.
12. Cardenas LM, Deluce JE, Khan S i sur. Next wave of targets in the treatment of advanced renal cell carcinoma. *Curr Oncol* 2022; 29(8):5426–5441.
13. Braun DA, Bakouny Z, Hirsch L i sur. Beyond conventional immune-checkpoint inhibition – novel immunotherapies for renal cell carcinoma. *Nat Rev Clin Oncol* 2021;18(4):199–214.
14. Derosa L, Routy B, Fidelle M i sur. Gut bacteria composition drives primary resistance to cancer immunotherapy in renal cell carcinoma patients. *Eur Urol* 2020;78(2):195–206.
15. Sears CL, Pardoll DM. The intestinal microbiome influences checkpoint blockade. *Nat Med* 2018 Mar 6;24(3):254–255.
16. Oh B, Boyle F, Pavlakis N i sur. The gut microbiome and cancer immunotherapy: can we use the gut microbiome as a predictive biomarker for clinical response in cancer immunotherapy? *Cancers (Basel)* 2021;13(19):4824.

## NUSPOJAVE IMUNOTERAPIJE – PODATCI IZ KLINIČKE PRAKSE DESET ONKOLOŠKIH CENTARA U HRVATSKOJ

LADENHAUSER T.<sup>1</sup>, Golčić M.<sup>2</sup>, Urch K.<sup>3</sup>, Budisavljević A.<sup>4</sup>, Simetić L.<sup>5</sup>, Kovač Peić A.<sup>6</sup>, Dilber I.<sup>7</sup>, Antunac Golubić Z.<sup>5</sup>, Blažičević K.<sup>5</sup>, Curić Z.<sup>8</sup>, Nalbani M.<sup>8</sup>, Belić D.<sup>1</sup>, Radmilović Varga LJ.<sup>9</sup>, Mirčevski K.<sup>10</sup>, Jović Zlatović J.<sup>11</sup>, Kocić L.<sup>4</sup>, Pleština S.<sup>5,12</sup>

<sup>1</sup> Klinički bolnički centar Osijek

• *Zavod za onkologiju*

<sup>2</sup> Klinički bolnički centar Rijeka

• *Klinika za radioterapiju i onkologiju*

<sup>3</sup> Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice

• *Klinika za onkologiju i nuklearnu medicinu*

<sup>4</sup> Opća bolnica Pula

• *Odjel za internističku onkologiju s hematologijom*

<sup>5</sup> Klinički bolnički centar Zagreb

• *Klinika za onkologiju*

<sup>6</sup> Opća bolnica „dr. Josip Benčević“ Slavonski Brod

• *Odjel za onkologiju i hematologiju*

<sup>7</sup> Opća bolnica Zadar

• *Odjel za onkologiju i nuklearnu medicinu*

<sup>8</sup> Opća bolnica Dubrovnik

• *Odjel za onkologiju*

<sup>9</sup> Opća bolnica Varaždin

• *Odjel za hematologiju, onkologiju i kliničku imunologiju*

<sup>10</sup> Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice

• *Klinika za tumore, Zavod za internističku onkologiju*

<sup>11</sup> Opća bolnica Šibenik

• *Odjel za onkologiju, hematologiju i kliničku onkologiju*

<sup>12</sup> Sveučilište u Zagrebu

• *Medicinski fakultet*

tladenhauser@gmail.com

**Sažetak:** *Ciljevi:* Terapija imunim *checkpoint* inhibitorima (ICI) odobrena je od strane Hrvatskog zavoda za zdravstveno osiguranje (HZZO) godine 2017. te se od tada oni koriste za sve više malignih sijela. Unatoč velikim stečenim iskustvima u primjeni, do sada još nismo pokušali objediniti podatke o nuspojavama (NP) u više indikacija, na više lijekova, u više onkoloških centara. Ciljevi su ovog istraživanja bili opisati karakteristike pacijenata s NP na ICI i utvrditi korelaciju između pojedinih karakteristika pacijenata s pojavnosću određenih nuspojava. *Metode:* Ispitivanje je provedeno u svibnju i lipnju 2022. pomoću *online* anonimnog upitnika *Google Forms*, poslanog članovima Hrvatskog društva za internističku onkologiju (HDIO). Unosili su se demografski i klinički podatci pacijenata, uz zaštitu njihovih identiteta. Prikupljeni su podatci o 158 pacijenata, a analizirani su tijekom kolovoza 2022. *Rezultati:* Ključne kriterije zadovoljilo je 137 pacijenata, 85 muškaraca, 52 žene, iz 10 onkoloških centara. Pacijenti s NSCLC bili su najčešća skupina (49.6%), a potom melanom (23.3%) i RCC (20.4%). Najčešće davani lijek bio je pembrolizumab (41.6%), a najrjeđe avelumab (0.7%). Pacijenti su imali medijan komorbiditeta 1.3. Najčešće zabilježene su endokrinološke nuspojave (ENP) – 35% pacijenata, gastroenterološke (GNP) (23.4%), dermatološke (DNP) (18.9%) i pulmološke (PNP) (13.9%), dok je 24.8% pacijenata imalo je više od jedne NP. Najviše gradusa 4 i 5 bilo je kod pneumonitisa. Dvostruko manje pacijenata ima DNP kod monoterapije, nego kod kombinacije s platinom ili s drugim ICI. Značajno je manji je broj DNP kod melanoma, a GNP kod RCC. Žene otprilike dvostruko rjeđe imaju GNP i PNP. *Zaključak:* U ovom su zajedničkom radu pokazane određene karakteristike pacijenata s nuspojavama imunoterapije, koje bi mogle koristiti u svakodnevnom kliničkom radu i služiti kao poticaj budućim većim kontroliranim istraživanjima.

### Uvod

Suvremenici smo i akteri u novoj eri liječenja raka. Sve više primjenjujemo monoklonska protutijela – imune *check-point* inhibitore (ICI), usmjerene na receptore i ligande imunoloških i tumorskih stanica, koje su u interakciji prilikom aktivacije i deaktivacije imunološkog sustava koji se bori protiv stanica raka. Usporedno s novim valom ovih lijekova i njihovih indikacija, zbrinjavamo i potpuno drugačiji spektar nuspojava. O tim se nuspojava



zna puno, ali se i dalje ne zna dovoljno – kod kojeg će pacijenta nastati, zašto, u kojem trenutku, ovisi li njihova pojava o nekom drugom čimbeniku i tako dalje. Ovim smo retrospektivnim neintervencijskim istraživanjem objedinili iskustva s NP ICI-ja iz više onkoloških centara u Hrvatskoj, iz razloga da se na što većem uzorku pacijenata pokuša doći do odgovora na neka od gornjih pitanja. Promatrali smo nuspojave u svim indikacijama u kojima su ICI-ji do travnja 2022. bili na Listi lijekova HZZO-a, u uznapredovalim/metastatskim: melanomu (M), raku pluća ne-malih stanica (NSCLC), raku bubrežnih stanica (RCC), raku urotela (UC) i Merkel cell karcinomu (MCC). Indikacija terapije održavanja nakon prethodne kemoiradijacije raka pluća bila je isključena. Svi se ovi lijekovi mogu davati u prvoj liniji liječenja više tumorskih sijela (pembrolizumab za NSCLC i M, atezolizumab za NSCLC i UC, nivolumab za M, avelumab za MCC, nivolumab+ipilimumab za RCC) i skoro svi u drugoj liniji (atezolizumab i nivolumab za NSCLC, nivolumab za RCC, pembrolizumab i nivolumab za M, atezolizumab za UC). Pojavnost NP je već opisana u njihovim registracijskim studijama, no i dalje se putem velikih baza prijava nuspojava bilježe one iz opsežne posljedične kliničke prakse (real world data, RWD)<sup>1</sup>. Te su baze izvor podataka za postregistracijske NP i osnova mnogih meta-analiza, zahvaljujući kojima imamo svaki dan sve veći uvid u opsežnost problematike.<sup>2</sup>

## Materijali i metode

### Ciljevi

Primarni ciljevi istraživanja su: 1. opis pacijenata s nuspojavama imunoterapije i 2. opis najčešćih nuspojava ICI. Sekundarni cilj je utvrditi ima li pojavnost određenih nuspojava korelaciju s nekim od obilježja pacijenata.

### Pacijenti

Uključni kriteriji bili su: odrasla dob, uznapredovala/metastatska onkološka bolest, indikacija ICI predviđena HZZO Listom, zabilježena nuspojava imunoterapije u razdoblju od 1.5.2022. do 30.4.2022. Zbog nezadovoljavanja ključnih kriterija, iz daljnje je analize isključen 21 pacijent, dok je 137 pacijenata obuhvaćeno analizom. 101 (73.7%) pacijent liječen je u kliničkim, a 36 (26.3%) u nekliničkim centrima.

### Metode

Istraživanje je bilo multicentrično, nerandomizirano, retrospektivno i neintervencijsko. Rezultati su izraženi deskriptivno. Ispitivanje je provedeno u svibnju i lipnju 2022., tako što je na adrese elektronske pošte članova HDIO poslan online anonimni upitnik Google Forms na hrvatskom jeziku. Kliničari, koji su se odlučili sudjelovati, unosili su pojedinačne demografske i kliničke podatke svojih pacijenata, bez mogućnosti otkrivanja njihovih identiteta. Podatci su se unosili od 9.5 do 9.7.2022. godine. Prikupljeno je 158 odgovora za 158 pacijenata, a ta je baza podataka analizirana tijekom kolovoza 2022. Upitnik se sastojao od općeg dijela, gdje su traženi odgovori o dobi, spolu, dijagnozi, komorbiditetima, lijeku, liniji liječenja, mono ili kombo protokolu. U sljedećih se 12 dijelova unosilo odgovore o organ-specifičnim nuspojavama i infuzijskim reakcijama (koja točno nuspojava, koji gradus, vrijeme nastanka, trajanje, liječenje kortikosteroidima i drugim imunosupresivima, pauza/nastavak ICI, trajni prekid, ukupno trajanje imunoterapije). Gradusi NP bilježeni su sukladno verziji 5.0 Common Terminology Criteria for Adverse Events (11/2017). Na koncu, uključeno je i pitanje o onkološkoj ustanovi gdje je pacijent liječen. U istraživanju smo kao izvor podataka koristili medicinsku dokumentaciju iz bolničkih informacijskih sustava. Koristili smo statističke metode deskriptivne statistike, Mann-Whitneyev test te analizu Spearmanove korelacije; kao mjera statističke značajnosti korišten je  $p < 0.05$ . Statistika je rađena u Microsoft Excelu (Microsoft, SAD), Statistica 12 (Statsoft, SAD) te Google Forms (Google, SAD).

### Rezultati

*Karakteristike pacijenata:* Analizirano je 137 pacijenata, 85 muškaraca (62.1%) i 52 (37.9%) žene. Njihova prosječna dob je 65.9 +/-8.9 godina (M 66, raspon 36–81). Od tumorskih sijela, najčešći je NSCLC (68, 49.6%), zatim melanom (32, 23.3%), RCC (28, 20.4%), UC (8, 5.8%) i MCC (1, 0.7%). Medijan broja njihovih komorbiditeta je 1 (prosjeak 1.39); najčešći su pacijenti s jednim komorbiditetom (48, 35.0%), zatim s 2 (37, 27.0%), pacijenti bez komorbiditeta (32, 23.3%), s 3 (12, 8.7%), s 4 (7, 5.1%), a s 5 komorbiditeta 1 pacijent (0.7%). *Karakteristike liječenja:* ICI se kod 85 (62.1%) pacijenata davao u prvoj, a kod 52 (37.9%) u drugoj liniji liječenja. Pembrolizumab se primijenio kod 57 (41.6%), nivolumab kod 32 (23.3%), atezolizumab kod 29 (21.2%), ipilimumab s nivolumabom kod 18 (13.1%) i avelumab kod 1 pacijenta (0.7%). Lijek se kao monoterapija primijenio kod

99 pacijenata (72.3%), kao kombinacija s drugim ICI kod 20 (14.6%), a u kombinaciji s kemoterapijom na bazi platine kod 18 (13.1%) pacijenata. *Opis nuspojava:* Zabilježeno je ukupno 175 nuspojava kod 137 pacijenata – 103 (75.2%) pacijenta imalo je jednu nuspojavu, 30 (21.9%) dvije, a 4 pacijenta (2.9%) tri nuspojave. Od svih nastalih NP, endokrinološke su najčešće – 48 (27.4%), slijede gastroenterološke 32 (18.3%), dermatološke 26 (14.9%), pulmološke 19 (10.9%), s po 5 slučajeva (2.9% svake) slijede reumatološke, nefrološke i kardiološke, sa 4 slučaja (2.3% svake) neurološke, hematološke i oftalmološke, a pojedinačno najrjeđe su ostale nuspojave, po 1 slučaj (0.7%): sijaloadenitis, orhitis/epididimitis, perimandibularni apsces, hipokalijemija, SIADH, tromboembolija, sarcoidosis-like limfadenopatija, flu-like sindrom i pojačani apetit. 8 pacijenata (5.8% populacije) imalo je nespecifičnu nuspojavu umor/slabost, a 6 (4.4%) pacijenata infuzijsku reakciju. Nuspojave gradusa G 4/5 zabilježene su u pneumonitisu (4), akutnoj bubrežnoj ozljedi/nefritisu (2), hipofizitisu (2), hipertireozu (1), hepatitisu (1) i srčanom zatajenju (1) – ukupno kod 11 pacijenata (8%). U daljnjoj smo se analizi ograničili na najčešće 4 skupine nuspojava: ENP kod 48 (35%) pacijenata, GNP kod 32 (23.4%), DNP kod 26 (18.9%) i PNP kod 19 (13.9%) pacijenata. Gradusi ENP bili su većinom G1-3 (45, 32.8%), u 31 od 32 slučaja GNP gradusi su G1-3, G1-3 kod DNP svih 26 pacijenata, a kod PNP kod 15 pacijenta, gdje je i već broj njih s ozbiljnijim NP G4/5. Najizraženiji je gradus bilo koje nuspojave bio G2 (37.2%), zatim G3 (31.4%), G1 (22.6%), a najrjeđi G4/5 – 7.3%. Neki su pacijenti imali više nuspojava, no u gotovo 60% slučajeva bile su G1 ili G2 kao najizraženija. Iz analize najčešćih NP kod kombinacije s ICI, vidi se da je DNP imalo 15.2% pacijenata na monoterapiji, a gotovo 30% njih u kombinaciji s kemo ili s drugim ICI. Kad promatramo NP u odnosu na najčešća primarna tumorska sjelja (NSCLC, M, RCC), primjećujemo manji postotak DNP kod melanoma (9.4% vs 28.6% kod RCC i 20.6% kod NSCLC) i manji postotak GNP kod RCC (17.9% vs 31.3% kod M i 22.1% kod NSCLC). U analizi po spolu, uočeno je da žene rjeđe imaju PNP (7.7 vs 17.6%) i GNP (15.4 vs 28.2%), a da je dob praktički nikakav čimbenik rizika osim za ENP, gdje je mlađa dob statistički značajna prema Mann-Whitneyevom testu ( $p=0.018$ ). Korelacija po Spearmanu ukazuje na to da ne postoji korelacija između komorbiditeta i nastanka NP.

## Rasprava

Postoji impresivan broj radova koji opisuju imunološke nuspojave IT. Ovaj se bavio opisom svih NP, na više lijekova, u više indikacija i u više onkoloških centara u RH. Postoje iskustva kolega iz Ljubljane iz 2020., u čijem je radu prikazan utjecaj pojave NP ICI-ja na preživljenje pacijenata s melanomom.<sup>3</sup> U japanskom single-institution radu iz 2021., tražen je rizični čimbenik za nastanak NP u više tumorskih sjelja te je pokazano da je veći rizik kod pacijenata s prethodnom anamnezom alergijskih stanja i razinom albumina  $\geq 3.6$  g/dL; ove varijable nisu bile promatrane u našoj studiji.<sup>4</sup> Meta-analiza iz 2019. u indikaciji NSCLC, navodi po učestalosti NP ICI-ija ovim redom: ENP, DNP, PNP, GNP; naši se rezultati razlikuju po tome što su GNP odmah iza ENP, a prije DNP i PNP, ali gledano u svim tumorskim sjelima. U istoj se studiji navodi kao najčešći razlog NP gradusa 5-pneumonitis, što se pokazalo i u našem radu.<sup>5</sup> U drugoj se meta-analizi pokazalo da su najčešće nuspojave ICI u svim sjelima primjene sljedeće, redom: kožne, endokrinološke, jetrene i plućne.<sup>6</sup> Iz naših podataka nije moguće zaključiti izaziva li neki lijek više NP od drugih jer nije bilo kontrolne skupine bez NP. Premda je najviše pacijenata s NP primalo pembrolizumab, razlog za to je najveći broj pacijenata s dijagnozom NSCLC i melanom, u kojima se taj lijek primijenjuje. Razlog za najviše pacijenata s NSCLC zacijelo leži i u dobroj „pokrivenosti“ ovog tumora imunoterapijom i u prvoj i u drugoj liniji, a još više što je to drugi najčešći malignom i kod muškaraca i kod žena u RH.<sup>7</sup> Zbog selekcijskog biasa, ne možemo tumačiti veći broj muškaraca u studiji, osim poznate činjenice da muškarci češće od žena obolijevaju od raka, u približnom omjeru 6:5.<sup>7</sup> Naši podatci govore da su žene manje sklone plućnim i gastroenterološkim nuspojavama. Ovaj podatak, pregledom literature, nije drugdje evidentiran, već je nađeno da je ženski spol povezan s manjom pojavnošću bubrežnih NP<sup>8,9</sup>, a u nekim je radovima čak povezan s brojnijim NP<sup>10</sup>. Činjenica je da je naš uzorak pacijenata premali za donošenje relevantnog zaključka. Unatoč brojnim komorbiditetima naših pacijenata (više od  $\frac{3}{4}$  ih ima barem 1), čini se da oni ne koreliraju s pojavnošću NP. U većim je studijama ipak utvrđeno da su rizik za pojavu imunoloških NP autoimuna bolest, alergije, intersticijska plućna bolest, KOPB, astma i prethodna iradijacija na području prsišta.<sup>11</sup>

Zanimljiv je i rezultat s dvostruko češćim DNP kod kombinacije ICI s nekim drugim lijekom nego kad se daje kao monoterapija, kao i onaj o manjoj učestalosti DNP kod melanoma i GNP kod RCC, što nas možda treba potaknuti na pažljivije bilježimo kožne i gastroenterološke nuspojave, a možda i na neki budući rad specifično s tom problematikom. U radu nije primjećeno odstupanje kombinacije 2 ICI-ja po učestalosti ili gradusu nuspojava, što nije u skladu s dosadašnjim saznanjima koja govore za češće i izraženije nuspojave ove kombinacije.<sup>1,12</sup> Post-marketinške studije s problematikom infuzijskih reakcija na ICI su rijetke i male, stoga je naš podatak o

4.4% njih teško usporediv.<sup>13</sup> Ostaje otvoreno pitanje kakva bi bila raspodjela NP po lijekovima da je u istraživanje bio uključen i mono-ipilimumab, s obzirom da se u literaturi spominje kao lijek s najvećim postotkom i težinom imunološki izazvanih nuspojava.<sup>14</sup> *Ograničenja istraživanja:* Studija je neintervencijska i retrospektivna, bez kontrolne skupine i nerandomizirana. Ograničavajući čimbenik je i mali broj pacijenata, s obzirom na očekivani veliki broj njih na imunoterapiji, a time i veći broj nuspojava. *Doprinos istraživanja:* Vrijedno je zajedničko iskustvo iz stvarne kliničke prakse 10 hrvatskih onkoloških centara, s više različitih lijekova i u više tumorskih sijela, koje može poslužiti u svakodnevnom kliničkom radu i promišljanju tijekom primjene imunoterapije.

## ADVERSE EFFECTS OF IMMUNOTHERAPY – TEN CROATIAN ONCOLOGY CENTRES REAL WORLD DATA

LADENHAUSERT.<sup>1</sup>, Golčić M.<sup>2</sup>, Urch K.<sup>3</sup>, Budisavljević A.<sup>4</sup>, Simetić L.<sup>5</sup>, Kovač Peić A.<sup>6</sup>, Dilber I.<sup>7</sup>, Antunac Golubić Z.<sup>5</sup>, Blažičević K.<sup>5</sup>, Čurić Z.<sup>8</sup>, Nalbani M.<sup>8</sup>, Belić D.<sup>1</sup>, Radmilović Varga LJ.<sup>9</sup>, Mirčevski K.<sup>10</sup>, Jović Zlatović J.<sup>11</sup>, Kocić L.<sup>4</sup>, Pleština S.<sup>5,12</sup>

<sup>1</sup> University Hospital Centre Osijek

• Department of Oncology

<sup>2</sup> University Hospital Centre Rijeka

• Department of Radiotherapy and Oncology

<sup>3</sup> University Hospital Centre Sestre milosrdnice

• Department of Oncology and Nuclear medicine

<sup>4</sup> General Hospital Pula

• Department of Medical Oncology and Hematology

<sup>5</sup> University Hospital Centre Zagreb

• Department of Oncology

<sup>6</sup> General Hospital „dr. Josip Benčević“ Slavonski Brod

• Department of Oncology and Hematology

<sup>7</sup> General Hospital Zadar

• Department of Oncology And Nuclear Medicine

<sup>8</sup> General Hospital Dubrovnik

• Department of Oncology

<sup>9</sup> General Hospital Varaždin

• Department of Medical Oncology and Hematology, Clinical Immunology and Allergology

<sup>10</sup> University Hospital Centre Sestre milosrdnice

• University Hospital for Tumors Zagreb, Department of Medical Oncology

<sup>11</sup> General Hospital Šibenik

• Department of Oncology, Hematology and Clinical Immunology

<sup>12</sup> University of Zagreb

• School of Medicine

**Summary:** Goals: Since immune check-point inhibitors (ICI) cancer therapy was approved by Croatian Health Insurance Institute (HZZO) in 2017, they are being used for (even) more cancer types. Despite the wide experience in practical use, we haven't, since now, tried to integrate data on adverse effects (AEs) in several indications, on several medications and in several oncology institutions. The aims of this study were to describe the patients' characteristics and correlations between their specific characteristics and certain AEs occurrence. Methods: The study was conducted in May and June 2022, using the Google Forms online questionnaire which was emailed to members of Croatian Medical Oncology Society (HDIO). Without identifying the patients, their demographic and clinical data were recorded. Collected data pool was 158 patients and they were analysed in August 2022. Results: 137 patients met the inclusion criteria, 85 men and 52 women, from 10 oncology medical centres. Most patients had non-small cell lung cancer (NSCLC) (49.6%), melanoma (M) 23.3% and renal cell cancer (RCC) (20.4%). Most frequently administered medication was pembrolizumab (41.6%), and only one was avelumab (0.7%). Median patients' comorbidities number was 1.3. Most frequently recorded AEs were endocrinological (EAEs) – 35% of patients, gastroenterological (GAEs) 23.4%, dermatological (DAEs) 18.9% and pulmonary (PAEs) 13.9%. 24.8% patients had more than one AEs. Grade 4 and 5 AEs were mostly recorded in pneumonitis. Twofold more patients had DAEs when ICI was combined with platinum-based chemotherapy or other ICI, than those with ICI in monotherapy. We recorded significantly less DAEs in melanoma patients and GAEs in RCC. Women had nearly twice as less GAEs and PAEs than men.

## Introduction

We are contemporaries and actors in the new era of cancer treatment. The use of immune check-point inhibitors (ICI) has escalated over the past decade. They target the receptors and ligands of immune ant tumour cells which are in interaction during activation and inactivation of immune system that fights cancer cells. At the same time, we are treating quite different spectrum of their adverse effects (AEs). A lot is already known about these, but still not enough. For example, in which patients shall they occur and why, when will they occur, will their occurrence depend on some other factor and so on. In this retrospective and non interventional study, we merged experiences on ICI-related AEs from several oncology centres in Croatia, in order to find the answers on some of the questions listed above, on as many as patients as we could. We recorded AEs in all indications that were approved by HZZO till the April of 2022.: metastatic/advanced melanoma (M), non-small cell lung cancer (NSCLC), renal cell cancer (RCC), urothelial cancer (UC) and Merkel cell cancer (MCC). ICI in indication of maintenance therapy after lung cancer chemoirradiation was excluded. All these medications may be administered in the setting of first-line therapy in more cancer types (pembrolizumab for NSCLC and M, atezolizumab for NSCLC and UC, nivolumab for M, avelumab for MCC, nivolumab+ipilimumab for RCC) and almost all in second line (atezolizumab and nivolumab for NSCLC, nivolumab for RCC, pembrolizumab and nivolumab for M, atezolizumab for UC). The occurrence of their AEs was already described in registration studies. Yet many of them, arising from extensive subsequent clinical praxis, are still being recorded in large databases of AEs.<sup>1</sup> These databases are sources of data on post registrational AEs and are basis for many meta-analyses. Thanks to that, every day we are gaining broader perspective in this matter's comprehensiveness.<sup>2</sup>

## Materials and methods

### Goals

Primary endpoints of the study were: 1. to describe the patients with immune-related adverse events and 2. to describe the most frequent AEs. Secondary endpoint was to determine the correlation between certain AEs and some of the patients' characteristics.

### Patients

The inclusion criteria were: adult age, advanced/metastatic malignant disease, indication for ICI according to HZZO approval, AE recorded during ICI treatment from 01/05/2020 to 30/04/2022. 21 patients were excluded, because they had not met the inclusion criteria, and 137 patients were enrolled in further analysis. 101 patients (73.7%) were treated in university centres and 36 (26.3%) in non-university ones.

### Methods

The study was multicentric, non-randomised, retrospective and non interventional. The results are presented in descriptive manner. It was conducted in May and June 2022. An anonymous online questionnaire Google Forms in Croatian language was sent to the HDIO members' e-mail addresses. The clinicians, who had decided to participate, recorded single patient's demographic and clinical data without possibility of revealing their identities. Data were entered from 09/05/2022 to 09/07/2022. A total amount of 150 patients' data were obtained. The questionnaire included a general section, where data on patient's age, sex, tumour site, comorbidities, medication, treatment line, mono or combo protocol, were requested. The remaining 12 sections comprised questions about organ-specific adverse events and infusional reactions (which adverse effect, time of occurrence, duration, corticosteroid and immunosuppressant use, pausing/continuing ICI treatment, permanent discontinuation of treatment, total duration of ICI treatment). Grading for AEs was recorded according to version 5.0 of Common terminology Criteria for Adverse Events (11/2017). Finally, a question on oncologic institution, where the patient was treated, was added. We used medical documentation from hospitals' information systems, statistical methods of descriptive statistics, Mann-Whitney's test and Spearman's correlation analysis. As a measure of statistical significance, we used  $p$ -value  $<0.05$ . Statistics were done in Microsoft Excel (Microsoft, USA), Statistica 12 (Statsoft, USA), and Google Forms (Google, USA).

## Results

*Patients' characteristics:* Data on 137 patients were analysed, 85 men (62.1%) and 52 women (37.9%). Their average age was 65.9  $\pm$  8.9 years, (M 66, range 36–81). The most frequent tumour type was NSCLC (68, 49.6%),

followed by melanoma (32, 23.3%), RCC (28, 20.4%), UC (8, 5.8%) and MCC (1, 0.7%). Median patients' comorbidities number was 1 (average 1.39); majority of patients had 1 comorbidity (48, 35.0%), 2 comorbidities had 37 patients (27.0%), those without any comorbidity 32 (23.3%), with 3 12 (8.7%), with 4 7 (5.1%) and with 5 comorbidities 1 patient (0.7%). *Treatment characteristics:* ICI was used in first-line setting in 85 (62.1%) and in second-line in 52 (37.9%) patients. Most commonly used medications were pembrolizumab in 57 patients (41.6%), nivolumab in 32 (23.3%), atezolizumab in 29 (21.2%), nivolumab+ipilimumab in 18 (13.1%) and avelumab in 1 (0.7%) patients. The medication was used as a monotherapy in 99 (72.3%) patients, as a combination with another ICI in 20 (14.6%) and with platinum-based chemotherapy in 18 (13.1%) patients. *Description of Adverse Effects:* A total of 175 AEs were recorded in 137 patients – 103 (75.2%) patients had one AE, 30 (21.9%) had two and 4 (2.9%) patients had three AEs. Most frequent of all AEs were endocrinological – 48 (27.4%), followed by gastroenterological 32 (18.3%), dermatological 26 (14.9%) and pulmonary 19 (10.9%) in numbers of AEs. After them, there were 5 cases (2.9% each) of rheumatological, nefrological and cardiac AEs, 4 cases (2.3% each) of neurological, hematological and ocular AEs. We recorded one case each (0.7%) of the following: sialoadenitis, epididymitis/orchitis, perimandibular abscess, hypokalemia, SIADH, thromboembolism, sarcoidosis-like lymphadenopathy, flu-like syndrome and increased appetite. 8 patients (5.8% of population) had nonspecific fatigue/weakness and 6 (4.4%) had an infusional reaction. Grade 4 and 5 AEs were recorded mostly in pneumonitis (4 patients), in acute renal injury/nephritis (2), in hypophysitis (2), in hyperthyreosis (1) and in cardiac failure (1). In further analysis, we focused on four most common groups of AEs: EAEs in 48 (35.0%) patients, GAEs in 32 (32.4%), DAEs in 26 (18.9%) and PAEs in 19 (13.9%) patients. The grades of AEs were mostly 1–3 (45, 32.8% pts), in 31 of 32 pts with GAEs, in all patients with DAEs, and in 15 pts with PAEs. In the last patient group, there was a larger proportion of G4 and G5 AEs (4). The most expressed grade of all AEs was grade 2 (37.2%), following by grade 3 (31.4%), grade 1 (22.6%) and least common grades 4/5 – 7.3%. Some patients had more than 1 AEs, but in almost 60% of cases, they were grades 1 and 2 as the most expressed ones. In most frequent AEs analysis, we found out that patients on ICI combination regimes had twice as much DAEs than those on ICI monotherapy (almost 30% vs 15.2%). When considering AEs in correlation with most frequent tumour sites (NSCLC, M, RCC), we observed smaller percentage of DAEs in melanoma treatment (9.4% vs 28.6% in RCC, 20.6% in NSCLC), and less GAEs in RCC (17.9% vs 31.3% in M, 22.1% in NSCLC). Regarding sex distribution of AEs, women had less PAEs (7.7 vs 17.6%) and GAEs (15.4 vs 28.2%) than men. Age is practically not a risk factor for AEs, except for EAEs, where it shows statistical significance according to Mann-Whitney's test ( $p$  value=0.018). Spearman's correlation analysis shows there is no correlation between comorbidities and ICI-AEs occurrence.

## Discussion

An impressive pool of studies, describing immuno-related AEs, are published. This study's concern was to describe all AEs on several ICI medications, in several indications and in several oncology centres in Croatia. Colleagues from Ljubljana published in 2020 their results on impact of ICI-AEs on survival of patients with melanoma.<sup>3</sup> In Japanese single-institution study from 2021, a risk factor for AEs occurrence was searched for in several tumour sites. It has been shown that the risk is greater in patients with history of allergic states and serum albumin levels  $\geq 3.6$ g/dL.<sup>4</sup> These variables were not analysed in our study. A meta-analysis from 2019 in NSCLC patient population, states the AEs by frequency in this order: EAEs, DAEs, PAEs, GAEs. Our results differ in order of GAEs, being after EAEs and before DAEs and PAEs, but we analysed several tumour sites. In the same meta-analysis, most frequent cause of grade 5 AEs was pneumonitis and that was shown in our study as well.<sup>5</sup> In another meta-analysis, most common adverse events in all tumour sites were DAEs, EAEs, hepatic and pulmonary, respectively.<sup>6</sup> In our study, it is impossible to conclude whether single medication causes more AEs than another due to lack of control group without AEs. Although majority of our patients was receiving pembrolizumab, the reason for this could lay in fact that majority of them had NSCLC, where this medication is widely used. The reason why NSCLC outnumbers other tumour sites in our study, is certainly a good „coverage“ with ICI treatment in both first and second lines. Furthermore, lung cancer is the second most common cancer in males and in females in Croatia.<sup>7</sup> We cannot interpret larger proportion of males in study, other than selection bias, and the well known fact that men, more often than women, are affected by cancer (approximate ratio of 6:5<sup>7</sup>). Our data suggest that women have less GAEs and PEAs. By examining the literature, this information could not be confirmed elsewhere. The exceptions are nefrological AEs.<sup>8,9</sup> Females are even more related to AEs in other studies.<sup>10</sup> Our patient number is far too small for definite conclusions of this type. Despite the large

number of comorbidities in our patients (more than  $\frac{3}{4}$  patients have at least one comorbidity), it appears that they do not correlate with AEs occurrence. Yet, in larger studies, an autoimmune disease, allergy, interstitial lung disease, COPD, asthma and previous thoracic irradiation, are risk factors for immune-related AEs occurrence.<sup>11</sup> Interestingly, DEAs are twice as common as with ICI in combination regimen than in monotherapy, as well as less DAEs in melanoma treatment and less GEAs in renal cancer treatment. Perhaps these data could encourage the physicians in more careful recording of GEAs and DEAs as well as in the future studies on this matter. We haven't noted the deviation of ICI combination AEs from monotherapy ones. This is a surprise, because existing studies suggest otherwise – more frequent and more severe AEs with ICI combinations.<sup>1,12</sup> Postmarket surveillance studies on infusional reactions on ICIs are rare and small; thus our data of 4.4% patients is hardly comparable.<sup>13</sup> An unanswered question remains, what would the AEs distribution look like if mono-ipilimumab was accessible in Croatia, since it is the medication with most frequent and most severe immune-related AEs recorded.<sup>14</sup> *Study's limitations:* it is noninterventional and retrospective, without control group and non randomised. Limiting factor is a small number of patients as well, since one could expect larger pool of patients receiving ICI and larger number of AEs hence, in two years of clinical practice. *Study's contributions:* The value lies in multicentricity and in real-world experience from 10 Croatian oncology institutions; in multiple medications studied and in multiple tumour sites. Our results could provide a few pathways in everyday clinical considerations and practice of ICI usage.

#### LITERATURA / LITERATURE:

1. Raschi E, Gatti M, Gelsomino F, Ardizzoni A, Poluzzi E, De Ponti F. Lessons to be Learnt from Real-World Studies on Immune-Related Adverse Events with Checkpoint Inhibitors: A Clinical Perspective from Pharmacovigilance. *Target Oncol.* 2020;15(4):449–466.
2. Raschi E, Moretti U, Salvo F, Pariente A, Antonazzo I C, De Ponti F i sur. Evolving Roles of Spontaneous Reporting Systems to Assess and Monitor Drug Safety. In: Kothari, C. S., Shah, M., Patel, R. M., editors. *Pharmacovigilance* [Internet]. London: IntechOpen; 2018. Dostupno na: <https://www.intechopen.com/chapters/63595>;doi: 10.5772/intechopen.79986
3. Mesti T, Ceplak Mencin V, Mileva Boshkoska B, Ocvirk J. Adverse events during immunotherapy in Slovenian patients with metastatic melanoma reveal a positive correlation with better treatment outcomes. *Radiol Oncol.* 2021 May 4;55(3):354–361. [pristupljeno 2022 Sep 20]. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8366732/>; doi: 10.2478/raon-2021-0019.
4. Shimozaki K, Sukawa Y, Sato Y, Horie S, Chida A, Tsugaru K i sur. Analysis of risk factors for immune-related adverse events in various solid tumors using real-world data. *Future Oncol.* 2021;17(20):2593–2603. [pristupljeno 2022 Sep 20]. Dostupno na <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33878916/>;doi: 10.2217/fon-2020-0861. Epub 2021 Apr 21.
5. Sun X, Roudi R, Dai T, Chen S, Fan B, Li H i sur. Immune-related adverse events associated with programmed cell death protein-1 and programmed cell death ligand 1 inhibitors for non-small cell lung cancer: a PRISMA systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer.* 2019;19(1):558. [pristupljeno 2022 Sep 20]. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31182061/>;doi: 10.1186/s12885-019-5701-6.
6. Xu C, Chen YP, Du XJ, Liu JQ, Huang CL, Chen L i sur. Comparative safety of immune checkpoint inhibitors in cancer: systematic review and network meta-analysis. *BMJ.* 2018;363:k4226. [pristupljeno 2022 Sep 20]. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30409774/>;doi: 10.1136/bmj.k4226.
7. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2019., Bilten 44, Zagreb, 2021.
8. Jing Y, Zhang Y, Wang J, Li K, Chen X, Heng J i sur. Association Between Sex and Immune-Related Adverse Events During Immune Checkpoint Inhibitor Therapy. *J Natl Cancer Inst.* 2021;113(10):1396–1404. [pristupljeno 2022 Sep 20]. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33705549/>;doi: 10.1093/jnci/djab035.
9. Chen C, Zhang C, Jin Z, Wu B, Xu T. Sex differences in immune-related adverse events with immune checkpoint inhibitors: data mining of the FDA adverse event reporting system. *Int J Clin Pharm.* 2022;44(3):689–697. [pristupljeno 2022 Sep 20]. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35449347/>;doi: 10.1007/s11096-022-01395-7. Epub 2022 Apr 21.
10. Miceli R et al. Gender difference in side effects of immunotherapy: a possible clue to optimize cancer treatment. *ESMO Congress 2021, Abstract 1795P*
11. Chennamadhavuni A, Abushahin L, Jin N, Presley CJ, Manne A. Risk Factors and Biomarkers for Immune-Related Adverse Events: A Practical Guide to Identifying High-Risk Patients and Rechallenging Immune Checkpoint Inhibitors. *Front Immunol.* 2022; 13:779691. [pristupljeno 2022 Sep 20]. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35558065/>;doi: 10.3389/fimmu.2022.779691.
12. Martins F, Sofiya L, Sykiotis G.P. i sur. Adverse effects of immune-checkpoint inhibitors: epidemiology, management and surveillance. *Nat Rev Clin Oncol* 16, 563–580 (2019). [pristupljeno 2022 Sep 20]. Dostupno na: <https://www.nature.com/articles/s41571-019-0218-0#citeas> doi.org/10.1038/s41571-019-0218-0.
13. Rombouts MD, Swart EL, VAN DEN Eertwegh AJM, Crul M. Systematic Review on Infusion Reactions to and Infusion Rate of Monoclonal Antibodies Used in Cancer Treatment. *Anticancer Res.* 2020;40(3):1201–1218. [pristupljeno 2022 Sep 20]. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32132017/>;doi: 10.21873/anticancer.14062.
14. Ruggiero R, Fraenza F, Scavone C, di Mauro G, Piscitelli R, Mascolo A i sur. Immune Checkpoint Inhibitors and Immune-Related Adverse Drug Reactions: Data From Italian Pharmacovigilance Database. *Front Pharmacol.* 2020;11:830. [pristupljeno 2022 Sep 20]. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32581796/>;doi: 10.3389/fphar.2020.00830.

## POTENCIJALNE I INTERAKCIJE LIJEKOVA U ONKOLOŠKIH BOLESNIKA SA SOLIDNIM TUMORIMA NA PARENTERALNOJ KEMOTERAPIJI I ULOGA KLINIČKOG FARMACEUTA U SVEOBUHVAATNOJ SKRBI ONKOLOŠKIH BOLESNIKA

GAJSKI L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinički bolnički centar Zagreb  
• Bolnička ljekarna  
lgajski@kbc-zagreb.hr

**Sažetak:** *Cilj:* Primarni cilj istraživanja bio je utvrditi udio potencijalnih DDI vezanih uz antineoplastične lijekove, stupanj njihove kliničke značajnosti prema Lexi-Interact™ bazi podataka provjere interakcija, mehanizam kojim interakcije nastaju, u koliko su bolesnika identificirane klinički značajne interakcije (stupnja značajnosti C, D i X) povezane s antineoplastičnim lijekovima te koji antineoplastični lijekovi u uzorku bolesnika imaju najveći udio potencijalnih DDI. Sekundarni cilj istraživanja bio je utvrditi udio potencijalnih DDI vezanih za konkomitantnu neantineoplastičnu terapiju koja uključuje lijekove za liječenje kroničnih bolesti, suportivnu, simptomatsku terapiju, terapiju zbrinjavanja akutnih stanja i komplikacija bolesti, odrediti stupanj njihove kliničke značajnosti prema Lexi-Interact™ bazi podataka provjere interakcija te u koliko su bolesnika identificirane klinički značajne interakcije (stupnja značajnosti D i X) i s kojim su lijekovima najčešće povezane.

*Ispitanici materijali i metode:* Provedena je retrospektivno opservacijsko istraživanje u tercijarnoj sveučilišnoj bolnici. Istraživanje je odobrilo etičko povjerenstvo ustanove. U istraživanje su bili uključeni bolesnici stariji od 45 godina sa solidnim tumorima koji su u siječnju 2015. bili na parenteralnoj kemoterapiji Klinike za onkologiju i Klinike za plućne bolesti, KBC-a Zagreb a koji su u terapiji za liječenje kroničnih bolesti imali najmanje 2 lijeka te da su na nekoj liniji kemoterapijskog liječenja solidnih tumora koja uključuje barem jedan parenteralni antineoplastični lijek. Iz pregleda medicinskih zapisa, anamneza i otpusnih pisama bolničkog informatičkog sustava (BIS) zabilježena je sva zapisana terapija (terapija za liječenje kroničnih bolesti, kemoterapija na početku praćenja, kemoterapija nakon reevaluacije bolesti, suportivna terapija, simptomatska terapija te terapija za zbrinjavanje akutnih i ostalih komplikacija maligne bolesti koju je bolesnik primao u razdoblju praćenja od 2–9 mjeseci. Potencijalne DDI provjeravane u Lexi-Interact™. U obzir uzete potencijalne DDI rizika C (praćenje bolesnikova stanja), D (modifikacija terapije) i X (izbjegavanje kombinacije odnosno kontraindicirana kombinacija lijekova). Kriterije uključenosti zadovoljavao je 191 bolesnik.

*Rezultati:* Ukupno je zabilježeno 992 DDI od čega 79% C stupnja kliničke značajnosti, 15% D i 6% X-kontraindicirane primjene lijekova. 155 (16%) zabilježenih interakcija povezano je s antineoplastičnim lijekovima. Antineoplastični lijekovi, uzorka bolesnika, kod kojih je zabilježen najveći broj interakcija su paklitaksel 23 (15%), 5-fluorouracil 22 (14%), etopozid 12 (8%), cisplatina 7 (5%), irinotekan 5 (3%), doksorubicin 5 (3%). Prema mehanizmu djelovanja najviše je zabilježeno farmakokinetičkih DDI 75%, farmakodinamičkih 20 % 5 % nepoznatog mehanizma djelovanja. Ostalih 837 zabilježenih DDI uključuje neantineoplastične lijekove. 73% je stupnja kliničke značajnosti C, 16% D, 11% X. U 26 % bolesnika zabilježena je kontraindicirana primjena lijeka. Lijekovi s kojima su najviše povezane interakcije stupnja kliničke značajnosti D i X uključuju metoklopramid, tietilperazin, tramadol, nesteroidne antireumatske lijekove, varfrain, acetilsalicilnu kiselinu, inhibitore ponovne pohrane serotonina, benzodiazepine, zolpidem, amiodaron, karbamazepin, opioide i antipsihotike. Dok je najčešća kontraindicirana primjena lijekova između metoklopramida i tietilperazina zabilježena u 38 (20% bolesnika).

*Zaključak:* DDI češće su povezane s neantineoplastičnom terapijom 155 vs 837. Visok je udio DDI kontraindicirane primjene lijekova (26% bolesnika od 191). U procjenu interakcija moraju se uključiti i biljni pripravci procjenu pri uzimanju medikacijske povijesti. Odabirom najprikladnijeg lijeka i praćenjem simptoma interakcija, prilagodbom doze mogu se smanjiti neželjeni učinci lijekova (ADE) koji su posljedica interakcije. Klinički farmaceuti mogu pridonijeti boljoj prevenciji i detekciji DDI provjerom interakcija i imati proaktivnu ulogu u nadzoru farmakoterapije te educirati bolesnike o mogućim posljedicama interakcija lijekova. Uloga kliničkog farmaceuta u optimizaciji terapije onkoloških bolesnika uključuje ne samo provjeru interakcija, već i druge intervencije vezane uz prilagodbu doze, neliječena stanja, put i vrijeme primjene lijeka, praćenje bolesnika, uočavanje svih problema vezanih uz primjenu lijekova.

**Ključne riječi:** Interakcije lijekova, politerapija, klinički farmaceut, prevencija problema vezanih uz primjenu lijekova

## Uvod

Onkološki bolesnici imaju veliki potencijal interakcija lijekova. Postupak liječenja malignih bolesti sastoji se od kombinacije, često više od jednog antineoplastičnog lijeka, premedikacije, postmedikacije. Mnogi bolesnici uzimaju suportivnu terapiju za zbrinjavanje akutnih nuspojava kemoterapije, mučnina, povraćanja, dijareja. Kod mnogih je potrebna primjena simptomatske terapije za ublažavanje boli, tretiranja depresivnog stanja, nesаницe, kaheksije. Infekcije, febrilne neutropenije, tromboembolijski događaji, metastaze na mozgu, kostima česte su komplikacije onkoloških bolesnika koje također zahtijevaju liječenje. Većina onkoloških bolesnika starije je životne dobi s nizom kroničnih bolesti za koje uzimaju terapiju. S porastom broja primijenjenih lijekova raste i potencijal interakcija.

Antineoplastični lijekovi imaju složen farmakokinetički profil, malu razliku između terapijske doze i toksičnosti. Mnoge razlike u farmakokinetici i farmakodinamici, međusobno te interindividualno između bolesnika su povezane su s neželjenim događajima povezanih s primjenom lijekova koje je teško izbjeći ali njihova primjena jest opravdana budući korist liječenja nadmašuje rizik neželjenih događaja. Liječenje onkoloških bolesnika mora uključiti razumijevanje ne samo farmakokinetičkih profila antineoplastičnih lijekova već i procjenu bubrežne i jetrene funkcije, farmakokinetiku i farmakodinamiku istovremeno primijenjenih lijekova što je ključno je u sigurnoj cjelokupnoj terapiji onkoloških bolesnika (1).

Mnogi se antineoplastični lijekovi metaboliziraju putem jetrenih CYP P450 enzima, što može rezultirati stvaranjem toksičnih metabolita. Interakcije lijek – lijek (engl. Drug – Drug Interactions – DDI) se mogu dogoditi na više farmakokinetičkih razina i neprepoznavanje interakcija može dovesti do povećane toksičnosti ili izostanka učinka antineoplastika. (2).

Objavljeno je da je 20–30% nuspojava (engl. Adverse Drug Reactions – ADR) uzrokovano interakcijom lijekova te incidencija raste u starijih bolesnika i onih koji uzimaju 2 ili više lijekova i do 80% (3).

Prema rezultatima jedne studije koja je uključila 550 onkoloških bolesnika zaprimljenih u bolnicu 298 prijema je bilo neplanirano. 39 % prijema u bolnicu povezano je s neželjenim događajima vezanim uz primjenu lijekova (engl. Adverse Drug Events – ADE), a 33 % s nuspojavama liječenja (engl. Averse Drug Reactions – ADR), 2% kao posljedica interakcija lijekova (engl Drug-Drug Interactions – DDI)(4).

Rezultatima velike norveške, dvogodišnje retrospektivne studije objavljeno je da je 18 % od 732 smrti povezano s ADE uključujući i interakcije te da je 4 % smrti zbog maligne bolesti moguće povezano s problemima primjene lijekova (engl. Drug Related Problems – DRP) (5).

Uočavanje interakcija između lijekova konkomitantne terapije za liječenje kroničnih bolesti, antineoplastičnih lijekova, suportivne i simptomatske terapije te terapije akutnih stanja i komplikacija maligne bolesti utječe na učinak i toksičnost kemoterapije ali i na liječenje ostalih prisutnih patoloških stanja (6).

## Cilj istraživanja

Primarni cilj istraživanja bio je utvrditi udio potencijalnih DDI (engl. *Drug –Drug Interactions – DDI*) vezanih uz antineoplastične lijekove, stupanj njihove kliničke značajnosti prema Lexi-Interact™ bazi podataka provjere interakcija, mehanizam kojim interakcije nastaju, u koliko su bolesnika identificirane klinički značajne interakcije (stupnja značajnosti D i X) povezane s antineoplastičnim lijekovima te koji antineoplastični lijekovi u uzorku bolesnika imaju najveći udio potencijalnih DDI.

Sekundarni cilj istraživanja bio je utvrditi udio potencijalnih DDI vezanih za konkomitantnu neantineoplastičnu terapiju koja uključuje lijekove za liječenje kroničnih bolesti, suportivnu, simptomatsku terapiju, terapiju zbrinjavanja akutnih stanja i komplikacija bolesti, odrediti stupanj njihove kliničke značajnosti prema Lexi-Interact™ bazi podataka provjere interakcija te u koliko su bolesnika identificirane klinički značajne interakcije (stupnja značajnosti D i X) i s kojim su lijekovima najčešće povezane.

## Ispitanici materijali i metode

Provedena je retrospektivno opservacijsko istraživanje u tercijarnoj sveučilišnoj bolnici.

Istraživanje je odobrilo etičko povjerenstvo ustanove.

U istraživanje su bili uključeni bolesnici stariji od 45 godina sa solidnim tumorima koji su u siječnju 2015. bili na parenteralnoj kemoterapiji Klinike za onkologiju i Klinike za plućne bolesti, KBC-a Zagreb a koji su u terapiji za liječenje kroničnih bolesti imali najmanje 2 lijeka te da su na nekoj liniji kemoterapijskog liječenja solidnih tumora koja uključuje barem jedan parenteralni antineoplastični lijek.



Iz pregleda medicinskih zapisa, anamneza i otpusnih pisama bolničkog informatičkog sustava (BIS) zabilježena je sva zapisana terapija (terapija za liječenje kroničnih bolesti, kemoterapija na početku praćenja, kemoterapija nakon reevaluacije bolesti, suportivna terapija, simptomatska terapija te terapija za zbrinjavanje akutnih i ostalih komplikacija maligne bolesti koju je bolesnik primao u razdoblju praćenja od 2–9 mjeseci.

Potencijalne DDI provjeravane u Lexi-Interact™. U obzir uzete potencijalne DDI rizika C (praćenje bolesnika stanja), D (modifikacija terapije) i X (– izbjegavanje kombinacije odnosno kontraindicirana kombinacija lijekova).

## Rezultati

Kriterije uključenosti zadovoljava 191 bolesnik.

Ukupno je zabilježeno 922 interakcije stupnja kliničke značajnosti C, D, X, prema Lexi –Interact™ bazi podataka. Od ukupnog broja zabilježenih interakcija interakcija 79%, je stupnja kliničke značajnosti C, 15 % interakcija stupnja kliničke značajnosti D i 6% interakcija stupnja kliničke značajnosti X.

Rezultati pokazuju da su interakcije stupnja kliničke značajnosti C, D, X češće povezane s neantineoplastičnim lijekovima (84%) i to najviše interakcije kronične terapije sa suportivnom simptomatskom te terapijom akutnih stanja i komplikacija bolesti (48%). Udio međusobnih interakcija suportivne, simptomatske i terapije akutnih stanja i komplikacija bolesti iznosi 28%, dok je udio interakcija suportivne simptomatske i terapija akutnih stanja i komplikacija bolesti 20%.

36 % zabilježenih interakcija povezano je s inicijalnom terapijom kroničnih bolesti a 16 % zabilježenih interakcija uključuje antineoplastični lijek.

Antineoplastični lijekovi, uzorka bolesnika, kod kojih je zabilježen najveći broj interakcija su paklitaksel 23 (15%), 5-fluorouracil 22 (14%), etopozid 12 (8%), cisplatina 7 (5%), irinotekan 5 (3%), doksorubicin 5 (3%).

Od ukupnog broja interakcija 21 % je stupnja kliničke značajnosti D i X od čega 146 (15%) D i X 56 (6%).

U 42 % bolesnika zabilježena je barem jedna D ili X interakcija kliničkog stupnja značajnosti od čega u 19 % bolesnika interakcije navedenog stupnja kliničke značajnosti uključuju antineoplastik.

U 50 (26%) bolesnika identificirana je barem jedna kontraindicirana primjena lijekova.

Lijekovi s kojima su najviše povezane interakcije stupnja kliničke značajnosti D i X uključuju metoklopramid, tetilperazin, tramadol, nesteroidne antireumatske lijekove, varfrain, acetilsalicilnu kiselinu, inhibitore ponovne pohrane serotonina, benzodiazepine, zolpidem, amiodaron, karbamazepin, opioide i antipsihotike. Dok je najčešća kontraindicirana primjena lijekova između metoklopramida i tetilperazina zabilježena u 38 (20% bolesnika).

## Zaključak

Uočavanje potencijalnih interakcija ima važne implikacije za uspjeh liječenja i poboljšanje kvalitete života onkoloških bolesnika.

O ulozi kliničkog farmaceuta u sigurnoj primjeni lijekova u onkoloških bolesnika nema puno objavljenih radova stoga su Delpuech et al., proveli istraživanje o ulozi kliničkog farmaceuta u optimizaciji terapije onkoloških bolesnika. Pregledom 4393 terapijskih lista u razdoblju od godine dana u 489 bolesnika, klinički farmaceut je identificirao 552 problema vezanih za primjenu lijekova (DRP). 12,6 % preskripcija. Najviše DRP bilo je vezano uz antimikrobnu terapiju (59%). Neprikladna primjena lijekova identificirana je u 20,6 % preskripcija, neliječeno stanje u 14,8 %, neprikladna primjena u 14,1 %, poddoziranje u 11,7 %, DDI u 14,3 %, izostanak praćenja u 9,6 %, predoziranje u 3,5 %, nuspojave u 2,5 % preskripcija. Intervencije kliničkog farmaceuta koje su dovele do isključenja lijeka iz terapije zabilježene su u 26,2 %, prilagodba doze u 21,5 %, dodatak terapije 16,9 %, promjena puta primjene lijeka 11,7 %, zamjena lijeka drugim lijekom 10,7 %, terapijsko praćenje (10,3%). 96 % intervencija je bilo prihvaćeno (7).

Prema rezultatima druge velike trogodišnje retrospektivne EPICC studije koja je obuhvatila 77 004 preskripcija lijekova i imala cilj prikupljanja i analizu podataka vezanih uz DRP a na koje bi klinički farmaceut mogao intervenirati. Rezultati pokazuje da je 54,1 % DRP vezano uz pre ili poddoziranje od u 50,2 % slučajeva doza je pogrešno izračunata, u 20 % slučajeva doza nije prilagođena, u 12 % slučajeva radilo se o loše odabranom onkološkom liječenju, 13,8 % DRP vezano je uz neželjene događaje, 3,9% uz interakcije lijekova.

Farmaceutskom intervencijom moglo se izbjeći 22 % ADE zamjenom lijeka iste terapijske skupine, a 72 % DDI je moglo dovesti do povećane toksičnosti onkoloških lijekova (8).

Zbog specifičnosti maligne bolesti, njezinog liječenja, ublažavanja simptoma sve, kliničke značajne interakcije ne mogu se izbjeći. Odabirom najprikladnijeg lijeka i praćenja simptoma interakcija, prilagodbom doze mogu se smanjiti neželjeni učinci lijekova (ADE) koji su posljedica interakcije.

U procjenu interakcija moraju se uključiti i biljni pripravci procjenu pri uzimanju medikacijske/farmakoterapijske povijesti što je osobito važno jer mnogi pacijenti ne smatraju potrebnim nužno obavijestiti liječnika o upotrebi biljnih i OTC preparata.

Bolesnici na kemoterapiji dobivaju kombinaciju različitih antineoplastičnih lijekova, simptomatsku i suportivnu terapiju, lijekove za liječenje komorbiditeta (kardiovaskularne bolesti, gastrointestinalni poremećaji, dijabetes, respiratorne bolesti) i uloga kliničkog farmaceuta u uzimanju najbolje moguće medikacijske povijesti, između ostalog, i za provjeru interakcija od iznimnog je značaja.

Iako je ovo istraživanje rađeno retrospektivno i da su rezultati iz 2015, pokazatelj je da mnogi onkološki bolesnici nemaju nikakvu farmakoterapijsku anamnezu, pokazatelj visokog udjela kontraindicirane primjene lijekova u 26% bolesnika koje se provjerom interakcija farmakoterapije mogu izbjeći.

Uključivanjem kliničkog farmaceuta u raspravu propisane terapije praćenjem posljedica interakcija može se povećati spoznaja o potencijalnim DDI i intervenirati na prevenciju ADE kao posljedicu interakcije.

Klinički farmaceuti mogu pridonijeti boljoj prevenciji i detekciji DDI provjerom interakcija i imati proaktivnu ulogu u nadzoru farmakoterapije i educirati bolesnike o mogućim posljedicama interakcija lijekova.

Uloga kliničkog farmaceuta u optimizaciji terapije onkoloških bolesnika uključuje ne samo provjeru interakcija, već i druge intervencije vezane uz prilagodbu doze, neliječena stanja, put i vrijeme primjene praćenje bolesnika, uočavanje svih problema vezanih uz primjenu lijekova.

## POTENTIAL DRUG INTERACTIONS IN ONCOLOGY PATIENTS WITH SOLID TUMORS ON PARENTERAL CHEMOTHERAPY AND THE ROLE OF CLINICAL PHARMACISTS IN COMPREHENSIVE CARE OF ONCOLOGY PATIENTS

GAJSKI L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> University Hospital Centre Zagreb  
• Pharmacy

**Summary:** *Aim:* The primary goal of the study was to determine the proportion of potential DDIs related to antineoplastic drugs, the degree of their clinical significance according to the Lexi-Interact™ interaction verification database, the mechanism by which interactions occur, how many patients were identified as clinically significant interactions (degree of significance C, D and X) associated with antineoplastic drugs, and which antineoplastic drugs in the patient sample had the highest proportion of potential DDIs. The secondary objective of the study was to determine the proportion of potential DDI related to concomitant non-antineoplastic therapy involving drugs for the treatment of chronic diseases, supportive, symptomatic therapy, therapy for the management of acute conditions and complications of the disease, to determine the degree of their clinical significance according to the Lexi-Interact™ interaction verification database and how many patients were identified clinically significant interactions (grades of significance D and X) and with which drugs most often related.

*Subject materials and methods:* A retrospective observational study was conducted at the tertiary university hospital. The research was approved by the institution's ethics committee. The study included patients over the age of 45 with solid tumors who were on parenteral chemotherapy in January 2015 of the Oncology Clinic and the Clinic for Pulmonary Diseases, University Hospital Center Zagreb, who had at least 2 drugs in therapy for the treatment of chronic diseases and that they were on some line of chemotherapy treatment of solid tumors involving at least one parenteral antineoplastic drug. From the review of medical records, history and discharge letters of the hospital IT system (BIS), all written therapy (therapy for the treatment of chronic diseases, chemotherapy at the beginning of follow-up, chemotherapy after reevaluation of the disease, supportive therapy, symptomatic therapy and therapy for the management of acute and other complications of malignant disease received by the patient during the follow-up period of 2–9 months was recorded. Potential DDI checked in Lexi-Interact™. Potential DDI risk C (monitoring of the patient's condition), D (modification of therapy) and X (avoidance of the combination or contraindicated combination of drugs) taken into account. The criteria of inclusion met 191 patients.

**Results:** A total of 992 DDIs were recorded, of which 79% were clinically industrious, 15% D and 6% X-contraindicated drug use. 155 (16%) of recorded interactions are associated with anti-neoplastic drugs. Antineoplastic drugs, a sample of patients, in which the greatest number of interactions were recorded are paclitaxel 23 (15%), 5-fluorouracil 22 (14%), etoposide 12 (8%), cisplatin 7 (5%), irinotecan 5 (3%), doxorubicin 5 (3%). According to the mechanism of action, the most recorded pharmacokinetic DDI was 75%, the pharmacodynamic 20 % 5 % of the unknown mechanism of action. The other 837 recorded DDIs include nonantineoplastic drugs. 73% is of clinical significance C, 16% D, 11% X. In 26% of patients, contraindicated use of medicines was recorded. The drugs most associated with grade of clinical significance D and X include methoclo-pramide, thiethylperazine, tramadol, nonsteroidal antireumatic lyacs, warfrain, acetylsalicylic acid, serotonin reuptake inhibitors, benzodiazepines, zolpidem, amiodarone, carbamazepine, opioids and antipsychotics. While the most common contraindicated use of drugs between methoclopramide and thiethylperazine was observed in 38 (20% of patients).

**Conclusion:** DDIs are more commonly associated with nonantineoplastic therapy 155 vs. 837. There is a high proportion of DDI contraindicated use of medicines (26% of patients out of 191). Herbal preparations for evaluation when taking medication history must also be included in the assessment of interactions. By choosing the most suitable drug and monitoring the symptoms of interactions, adjusting the dosage can reduce the undesirable effects of drugs (ADE) resulting from the interaction. Clinical pharmacists can contribute to better prevention and detection of DDI by checking interactions and play a proactive role in monitoring pharmacotherapy and educate patients about the possible consequences of drug interactions. The role of the clinical pharmacist in optimizing the therapy of oncology patients includes not only the verification of interactions, but also other interventions related to dose adjustment, untreated conditions, pathway and time of administration of the drug, monitoring of patients, observation of all problems related to the use of drugs.

**Keywords:** Drug interactions, polytherapy, clinical pharmacist, prevention of drug-related problems

## Introduction

Oncology patients have a great potential for drug interactions. The treatment of malignant diseases consists of a combination, often more than one antineoplastic drug, premedication, postmedication. Many patients take supportive therapy to take care of the acute side effects of chemotherapy, nausea, vomiting, diarrhea. Many require the use of symptomatic therapy to relieve pain, treat a depressive state, insomnia, cachexia. Infections, febrile neutropenias, thromboembolic events, brain and bone metastases are common complications of oncology patients that also require treatment. Most oncology patients are elderly with a number of chronic diseases for which they take therapy. With the increase in the number of drugs used, so does the potential of interactions.

Antineoplastic drugs have a complex pharmacokinetic profile, a small difference between therapeutic dose and toxicity. Many differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics, together or interindividually between patients are associated with adverse events related to the use of drugs that are difficult to avoid but their application is justified because the future benefit of treatment outweighs the risk of adverse events. The treatment of oncological patients must include an understanding not only of the pharmacokinetic profiles of antineoplastic drugs, but also of the assessment of renal and hepatic functions, pharmacokinetics and pharmacodynamics of the drugs administered at the same time, which is crucial in the safe overall therapy of oncological patients (1).

Many antineoplastic drugs are metabolized through hepatic CYP P450 enzymes, which can result in the creation of toxic metabolites. Drug-drug interactions (DDI) can occur at multiple pharmacokinetic levels and failure to recognize interactions can lead to increased toxicity and or lack of effect therapy. (2).

It has been reported that 20–30% of side effects Adverse Drug Reactions – ADR) caused by drug interaction and incidences rising in elderly patients and those taking 2 or more medications up to 80% (3).

According to the results of one study involving 550 oncology patients admitted to the hospital, 298 admissions were unplanned. 39% of hospital admissions are linked to adverse events related to application of medicines. Adverse Drug Events – ADE), and 33 % with side effects of treatment Adverse Drug Reactions – ADR), 2% as a result of drug interactions (Drug-Drug Interactions – DDI) (4).

The results of a major Norwegian, two-year retrospective study revealed that 18 % of the 732 deaths were related to ADE including interactions, and that 4 % of deaths to bog malignant disease were possibly associated with drug problems. Drug Related Problems – DRP) (5).

The observation of interactions between concomitant therapy drugs for the treatment of chronic diseases, antineoplastic drugs, supportive and symptomatic therapy, and the therapy of acute conditions and complica-

tions of malignant disease affects the effect and toxicity of chemotherapy, but also on the treatment of other pathological conditions present (6).

### The aim of the research

The primary objective of the study was to determine the proportion of potential DDIs (*Drug-Drug Interactions – DDI*) related to antineoplastic drugs, the degree of their clinical significance according to the Lexi-Interact™ interaction verification database, the mechanism by which interactions occur, how many patients clinically significant interactions (grades of significance D and X) were identified. Antineoplastic drugs and which antineoplastic drugs in the patient sample have the highest proportion of potential DDIs.

The secondary objective of the study was to determine the proportion of potential DDI related to concomitant non-antineoplastic therapy involving drugs for the treatment of chronic diseases, supportive, symptomatic therapy, therapy for the management of acute conditions and complications of the disease, determine the degree of their clinical significance according to the Lexi-Interact™ database of interaction verification and how many patients have been identified clinically significant interactions (grades of significance D and X) and which drugs are they most commonly associated with.

### Subject materials and methods

A retrospective observational study was carried out at the tertiary university hospital.

The research was approved by the institution's ethics committee.

The study included patients over the age of 45 with solid tumors who, in January 2015, were on parenteral chemotherapy at the Oncologist's Clinic and the Clinic for Pulmonary Diseases, University Hospital Center Zagreb, who had at least 2 drugs in the therapy for the treatment of chronic diseases and that on some line of chemotherapy treatment of solid tumors involving at least one parenteral antineoplastic drug.

From the review of medical records, anamnesis and discharge letters from the hospital informatic system (BIS), all the written therapy was noted (therapy for the treatment of chronic diseases, chemotherapy at the beginning of tracking, chemotherapy after the reevaluation of the disease, supportive therapy, symptomatic therapy and therapy for the management of acute and other complications of malignant pains, received by the patient for a follow-up period of 2–9 months.

Potential DDI checked in Lexi-Interact™. Potential DDI risk **C** (monitoring the patient's condition), **D** (modification of therapy) and **X** (- avoiding the combination or contraindicated combination of drugs) taken into account.

### Results

The criteria of inclusion were met by 191 patients.

In total, there were 922 interactions of clinical significance level C, D, X, according to the Lexi –Interact™ database. Of the total number of recorded interactions of interactions of 79%, is the degree of clinical significance C, 15 % of degree clinical significance D interactions and 6% of clinical significance X degree interactions.

The results show that the interactions of the degree of clinical significance C, D, X are more common with non-antineoplastic drugs (84%) and the highest interactions of chronic therapy with supportive symptomatic therapy and therapy of acute conditions and complications of the disease (48%). The proportion of interactions between supportive, symptomatic and therapy of acute conditions and complications of the disease is 28%, while the share of interactions of supportive symptomatic and therapy of acute conditions and complications of the disease is 20%.

36% of recorded interactions are related to initial chronic pain therapy, and 16% of the recorded interactions include an antineoplastic medicine.

Antineoplastic drugs, a sample of patients, which recorded the highest number of interactions are paclitaxel 23 (15%), 5-fluorouracil 22 (14%), etoposide 12 (8%), cisplatin 7 (5%), irinotecan 5 (3%), doxorubicin 5 (3%).

Out of the total number of interactions, 21 % is at the degree of clinical significance D and X, of which 146 (15%) D and X 56 (6%).

In 42 % of patients, at least one D or X interaction of the clinical degree of significance was observed, of which in 19 % of patient interactions of the specified degree of clinical significance include antineoplastic.

In 50 (26%) patients, at least one contraindicated use of drugs was identified.

The drugs most associated with grade of clinical significance D and X include methoclo-pramide, thiethylperazine, tramadol, nonsteroidal antireumatic liaiacs, varfrain, acetylsalicylic acid, serotonin reuptake inhibitors,

benzodiazepines, zolpidem, amiodarone, carbamazepine, opioids and antipsychotics. While the most common contraindicated use of drugs between methoclopramide and thiethylperazine was observed in 38 (20% of patients).

## Conclusion

Spotting potential interactions has important implications for the success of treatment and improving the quality of life of oncology patients.

On the role of clinical pharmacists in the safe use of drugs in oncology patients, there are not many published papers, therefore Delpuech et al., conducted a study on the role of clinical pharmacists in the optimization of oncological therapy of oncological patients. By reviewing 4,393 therapeutic lists over a period of one year in 489 patients, the clinical pharmacist identified 552 drug-related (DRP)-related problems. 12.6% of prescriptions. The most DRP was related to antimicrobial therapy (59%). Inappropriate drug use was identified in 20.6% of prescriptions, untreated condition in 14.8%, inappropriate use in 14.1%, underdosing in 11.7%, DDI in 14.3%, lack of follow-up in 9.6%, overdose in 3.5%, side effects in 2.5% of prescriptions. The interventions of the clinical pharmacist that led to the exclusion of the drug from therapy were observed in 26.2 %, dose adjustment in 21.5 %, the therapy supplement 16.9 %, the change in the path of administration of the drug 11.7 %, the replacement of the drug with another drug 10.7 %, therapy follow-up (10.3%). 96 % intervention was accepted (7).

According to the results of the second large three-year retrospective EPICC study, which included 77,004 drug prescriptions and aimed to collect and analyze DRP-related data that a clinical pharmacist could intervene with. The results show that 54.1% of DRPs are pre- or underdosed from 50.2% of cases the dose was miscalculated, in 20% of cases the dose was not adjusted, in 12% of cases it was poorly selected oncology treatment, 13.8% DRP was related to unwanted occurrences, 3.9% with drug interactions.

Pharmaceutical intervention could have avoided 22 % of ADE by replacing a drug of the same therapeutic group, and 72 % of DDI could have led to an increased toxicity of oncology medicinal products (8).

Due to the specifics of the malignant disease, its treatment, alleviation of all symptoms, clinically significant interactions can not be avoided. By choosing the most appropriate drug and monitoring the symptoms of interactions, adjusting the dosage can reduce the undesirable effects of drugs (ADE) resulting from the interaction.

In the assessment of interactions, herbal preparations must also be included assessment when taking medication/pharmacotherapy history, which is especially important because many patients do not consider it necessary to necessarily inform the doctor about the use of herbal and OTC preparations.

Patients on chemotherapy receive a combination of various antineoplastic drugs, symptomatic and supportive therapy, drugs for the treatment of comorbidities (cardiovascular diseases, gastrointestinal disorders, diabetes, respiratory diseases) and the role of the clinical pharmacist in taking the best possible medication history, among other things, and for checking interactions is of paramount importance.

Although this study was done retrospectively and that the results are from 2015, it is an indication that many oncology patients do not have any pharmacotherapy history, an indicator of a high proportion of contraindicated drug use in 26% of patients who can be avoided by checking pharmacotherapy interactions.

By including a clinical pharmacist in the discussion of prescribed therapy by monitoring the consequences of interactions, knowledge about potential DDI can be increased and intervention on the prevention of ADE as a result of interaction can be increased.

Clinical pharmacists can contribute to better prevention and detection of DDI by checking interactions and play a proactive role in monitoring pharmacotherapy and educate patients about the possible consequences of drug interactions.

The role of the clinical pharmacist in optimizing the therapy of oncology patients involves not only checking interactions, but also other interventions related to dose adjustment, untreated conditions, pathway and time of administration monitoring patients, spotting all problems related to the use of drugs.

## LITETATURA / LITERATURE:

1. *Ishiguro H, Koshiji M, Morizane T, Taniai H, Enatsu S, Fujimoto T i sur.* Drug interactions in medical oncology]. *Gan To Kagaku Ryoho.* 2009;36(5):879–85. Članak na japanskom. Dostupno na <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19461200>. Datum zadnjeg pristupa 23.12.2015.
2. *Beijnen JH, Schellens JH.* Drug interactions in oncology. *Lancet Oncol.* 2004;5:489–96.

3. Köhler GI, Bode-Böger SM. Busse R i sur. Drug – drug interactions in medical patients: effect on in-hospital treatment and relation to multiple drug use. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2000;38:504–13.
4. Miranda V, Fede A, Nobuo M, Ayres V, Giglio A, Miranda M i sur. Adverse drug reactions and drug interactions as causes of hospital admission in oncology. *J Pain Symptom Manage.* 2011;42:342–53.
5. Buajordet I, Ebbesen J, Erikssen J i sur. Fatal adverse drug events: the paradox of drug treatment. *J Intern Med* 2001;250:327–41.
6. Sokol KC, Knudsen JF, Li MM. Polypharmacy in older oncology Patients and need for an interdisciplinary approach to side effect management. *J Clin Pharm Ther.* 2007;32:196–75.
7. Delpuech A, Leveque D, Gourieux B, Herbrecht R. Impact of clinical pharmacy services in a hematology/oncology inpatient setting. *Anticancer Res.* 2015;35:457–60.
8. Vantard N, Ranchon F, Schwiertz V, Gourc C, Gauthier N, Guedat MG i sur. EPICC study: evaluation of pharmaceutical intervention in cancer care. *J Clin Pharm Ther.* 2015;40:196–203.

## PREGLED NOVOSTI U LIJEČENJU RAKA DOJKE – SABCS, ASCO, ESMO

NALBANI M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Opća bolnica Dubrovnik  
• Odjel za onkologiju  
marion@bolnica-du.hr

**Sažetak:** *Uvod:* Karcinom dojke je najčešći tumor te drugi uzrok smrtnosti od tumora u žena. Veliki je javnozdravstveni problem, stoga ne čudi veliki trud medicinske zajednice u prevenciji, ranom otkrivanju i liječenju karcinoma dojke. Liječenje karcinoma dojke rapidno evoluiralo. Stalna dostupnost rezultata iz novih studija ope-  
tovano rezultira ažuriranim preporukama i smjernicama. Prikazat ćemo standarde u liječenju karcinoma dojke te kako se novosti uklapaju u algoritme liječenja.

*Materijali i metode:* Učinjen je sveobuhvatni pregled literature na engleskom jeziku uključujući i ASCO, ESMO i NCCN smjernice o liječenju karcinoma dojke. Uključena su mišljenja eksperata kao i potencijalne nove strategije liječenja prezentirane unatrag dvije godine na međunarodnim kongresima: ESMO, ASCO, San Antonio breast cancer, ESMO breast.

*Rezultati:* Liječenje ranog hormon receptor pozitivnog (HR+) karcinoma dojke obilježila je eskalacija terapije sa abemaciclibom (MonarchE) u bolesnica s visokim rizikom od povrata bolesti kao i olaparibom (Olympia) u gBRCA pozitivnih bolesnica. Uspješno je smanjena potreba za kemoterapijom u postmenopausalnih bolesnica s jednim do tri pozitivna limfna čvora (Rxponder). U liječenju metastatskog HR+ karcinoma stvorila se diskrepanca između različitih o ciklinima ovisnih kinaza 4/6. Pozitivne studije za ukupno preživljenje (OS) sa ribociklibom (Monaleesa 2,3,7) te abemaciclibom (Monarch 2,3) naspram negativnih studije s palbociklibom (Paloma 2,3) promijenile su ravnotežu među CDK 4/6 inhibitorima. U post CDK 4/6 eri težimo boljim endokrinim terapijama. Izuzev alpelisiba u bolesnica s PI3K mutacijom za sada su ostale endokrine terapije dale skromne rezultate. Najdalje su napredovali oralni degradatori estrogenog receptora, s djelovanjem ponajprije u bolesnica sa ESR1 mutacijom. Inovativni pristup PADA studije pokazao je da ako dokažemo mehanizam rezistencije u cirkulirajućoj DNA (ESR1 mutacija) i prije kliničke progresije, te promijenimo inhibitore aromataze u fulvestrant, možemo značajno produljiti vrijeme do progresije bolesti. Karboplatina (BRIGHTNESS) se pozicionirala u neoadjuvantnom liječenju ranog trostruko negativnog karcinoma dojke (TNBC). Ipak najveća revolucija u liječenju ranog TNBC-a je neoadjuvantna primjena imunoterapije (Keynote522) koja je značajno produljila vrijeme do povrata bolesti. Olaparib (Olympia) je pokazao svoje djelovanje ne samo kod HR+ već i kod TNBC, (g) BRCA pozitivnih bolesnica. U metastatskom TNBC-u određene nedoumice o ulozi imunoterapije u bolesnica sa pozitivnom ekspresijom liganda programirane stanične smrti 1 (PDL-1), proizašle su iz oprečnih rezultata dviju studija sa atezolizumabom (IMpassion130, IMpassion131) razriješila je Keynote 355 studija sa pembrolizumabom koja je značajno produljila preživljenje u PDL-1 pozitivnih bolesnica. Pri odabiru imunoterapije bitno je paziti na metodologiju testiranja na PLD-1 pozitivitet. U receptor za humani epidermalni čimbenik rasta (HER 2) pozitivnim karcinomu dojke trastuzumab deruxtecan je snažno „porazio“ trastuzumab emntasin u drugoj liniji metastatskog HER 2+ karcinoma dojke (DESTINY-Breast04) i time promijenio slijed sekvencioniranja terapija. Ipak najveća promjena u liječenju karcinoma dojke koja je transformirala paradigmu liječenja su konjugati protutijela i lijeka (ADC). Nova generacija ADC-a se odlikuje „bystander effectom“ odnosno mogućnošću djelovanja i na okolne tumorske stanice koje možda i nemaju ekspresiju antigena za koje se veže protutijelo te time nadilaze tradicionalnu podjelu karcinoma dojke. Trastuzumab deruxtecan je pokazao djelovanje i u HER 2

„low“ bolesnica (DESTINY-Breast04) te je proširio svoje indikacije i u pretretiranih formalno HR+ i TNBC bolesnica koje ipak imaju određenu ekspresiju HER 2. Sacituzimab govitecan dokazao je svoje djelovanje u TNBC-u kao i u HR+ karcinomu (TROPiCS-02) dojke. Mnogobrojni novi ADC-ovi su u različitim fazama istraživanja.

**Zaključak:** Liječenje karcinoma dojke je rapidno evoluiralo. Intenzivno se istražuju mehanizmi rezistencije u želji za razvojem novih terapija. Mnogobrojne terapije, dokazane u bolesnica s proširenom bolesti, pokazale su svoje djelovanje i u lokalnim stadijima. Konjugati protutijela i lijeka sa svojim „pan“ djelovanjem, neovisnom o podtipu karcinoma dojke, promijenili su paradigmu liječenja karcinoma dojke te su trenutno predmet najvećeg broja istraživanja.

**Summary: Introduction:** Breast cancer is the most common cancer and the second cause of death from cancer in women. It is a major public health problem, so it is not surprising that the medical community is making great efforts in the prevention, early detection and treatment of breast cancer. Breast cancer treatment is rapidly evolving. The constant availability of results from new studies repeatedly results in updated recommendations and guidelines. We will show the standards in the treatment of breast cancer and how the novelties fit into the treatment algorithms.

**Materials and methods:** A comprehensive review of the literature was performed, including ASCO, ESMO and NCCN guidelines on breast cancer treatment. We included the opinions of experts, as well as potential new treatment strategies presented in the last two years at international congresses: ESMO, ASCO, San Antonio breast cancer, ESMO breast.

**Results:** The treatment of early hormone receptor positive (HR+) breast cancer was marked by the escalation of therapy with abemaciclib (MonarchE) in patients with a high risk of disease recurrence as well as olaparib (Olympia) in gBRCA positive patients. The need for chemotherapy was successfully reduced in postmenopausal patients with one to three positive lymph nodes (Rxspander). A discrepancy between different cyclin-dependent kinases 4/6 has arisen in the treatment of metastatic HR+ cancer. Positive overall survival (OS) studies with ribociclib (Monaleesa 2,3,7) and abemaciclib (Monarch 2,3) versus negative studies with palbociclib (Paloma 2,3) shifted the balance among CDK 4/6 inhibitors. In the post CDK 4/6 era, we strive for better endocrine therapies. With the exception of alpelisib in patients with a PI3K mutation, other endocrine therapies have so far produced modest results. Oral estrogen receptor degraders have progressed the farthest, with action primarily in patients with ESR1 mutation. The innovative approach of the PADA TRIAL showed that if we prove the mechanism of resistance in circulating DNA (ESR1 mutation) even before clinical progression, and change aromatase inhibitors to fulvestrant, we can significantly extend the time to disease progression. Carboplatin (BRIGHTNESS) has positioned itself in the neoadjuvant treatment of early triple-negative breast cancer (TNBC). However, the biggest revolution in the treatment of early TNBC is the neoadjuvant application of immunotherapy (Keynote522), which has significantly extended disease-free survival. Olaparib (Olympia) showed its effect not only in HR+, but also in TNBC, (g)BRCA positive patients. In metastatic TNBC, certain doubts about the role of immunotherapy in patients with positive expression of programmed cell death ligand 1 (PDL-1), arising from conflicting results of two trials with atezolizumab (IMpassion130, IMpassion131), were resolved by the Keynote 355 study trial with pembrolizumab, which significantly prolonged survival in PDL-1 positive patients. When choosing immunotherapy, it is important to pay attention to the methodology of testing for PDL-1 positivity. In human epidermal growth factor receptor (HER 2) positive breast cancer, trastuzumab deruxtecan strongly “defeated” trastuzumab emtansin in second line of metastatic HER 2+ breast cancer (DESTINY-Breast04) and thus changed the sequencing of therapies. However, the biggest change in the treatment of breast cancer that has transformed the treatment paradigm are antibody-drug conjugates (ADC). The new generation of ADCs is characterized by the “bystander effect”, i.e. the ability to act on surrounding tumor cells that may not have the expression of the antigen to which the antibody binds, thus surpassing the traditional subtypes division of breast cancer. Among ADC trastuzumab deruxtecan also showed activity in HER 2 “low” patients (DESTINY-Breast04) and expanded its indications in pretreated, formally HR+ and TNBC patients who still have some HER 2 expression. Sacituzimab govitecan proved its activity in TNBC as well as in HR+ breast cancer (TROPiCS-02). Numerous new ADCs are in various stages of research.

**Conclusion:** Breast cancer treatment has evolved rapidly. Mechanisms of resistance are intensively researched in the desire to develop new therapies. Numerous therapies, proven in patients with advanced disease, have shown their effectiveness in local stages as well. Conjugates of antibodies and drugs with their “pan” action, independent of the subtype of breast cancer, have changed the paradigm of breast cancer treatment and are currently the subject of the largest number of studies.

## Uvod

Karcinom dojke je najčešći tumor te drugi uzrok smrtnosti od tumora u žena. Veliki je javnozdravstveni problem, stoga ne čudi veliki trud medicinske zajednice u prevenciji, ranom otkrivanju i liječenju karcinoma dojke. Liječenje karcinoma dojke rapidno evoluiralo. Stalna dostupnost rezultata iz novih studija opetovano rezultira ažuriranim preporukama i smjernicama. Prikazat ćemo standarde u liječenju karcinoma dojke te kako se novosti uklapaju u algoritme liječenja.

## Materijali i metode

Učinjen je sveobuhvatni pregled literature na engleskom jeziku uključujući i ASCO, ESMO i NCCN smjernice o liječenju karcinoma dojke. Uključena su mišljenja eksperata kao i potencijalne nove strategije liječenja prezentirane unatrag dvije godine na međunarodnim kongresima: ESMO, ASCO, San Antonio breast cancer, ESMO breast.

## Rezultati

Početak 2020. temelj adjuvantnog liječenja hormon receptor pozitivnog (HR+), receptor za humani epidermalni čimbenik rasta HER2 negativnog (HER2-) karcinoma dojke je endokrina terapija (ET). U postmenopauzalnih bolesnica primjenjujemo inhibitore aromataze (IA) u razdoblju između 5 i 10 godina ovisno o individualnoj procjeni rizika relapsa. U premenopauzalnih bolesnica imamo veću mogućnost individualiziranog pristupa od tamoksifena u bolesnica najnižeg rizika do kombinacije agonista hormona koji stimulira luteinizirajući hormon (LHRH) s tamoksifenom u bolesnica srednjeg ili s IA u bolesnica najvišeg rizika. Adjuvantni bisfosfonati, ponajprije zolendronatna kiselina, poboljšavaju koštano zdravlje i smanjuju rizik diseminacije u kosti te se preporučuju svim bolesnicama u menopauzi, posebno onima s osteoporozom ili visokim rizikom povrata bolesti. Procjena potrebe adjuvantne kemoterapije i dalje je najveća dilema u kliničkoj praksi te nam u bolesnica s negativnim limfnim čvorovima pomažu različiti multigenetski testovi s najvišom razinom dokaza za oncotype. (1)

Unatrag dvije godine tri velika noviteta su ušli u međunarodne smjernice. Inhibitori o ciklinu D ovisnih kinaza 4/6 (CDK 4/6) koji su se etablirali kao standard liječenja u metastatskoj bolesti pokazali su rezultate i u adjuvantnom liječenju. MonarchE je studija faze III koje je gledala učinak dodatka abemacicliba kroz dvije godine na standardnu adjuvantnu terapiju. Bolesnice su bile višeg rizika diseminacije (bolesnice s 4 pozitivna čvora ili bolesnice s 1–3 pozitivna limfna čvora ali uz jedan dodatni faktor rizika: gradus 3, Ki 67 > 20% ili tumor veći od 5 cm). Studija je nakon vremena praćenja od 27 mjeseci pokazala smanjenu stopu povrata bolesti (88.8% vs 83.4%, HR 0.69). Rezultati ukupnog preživljenja (OS) se iščekuju. (2) Drugi CDK 4/6 inhibitor palbociklib je polučio dvije negativne studije (PALLAS, PENELOPE) dok se rezultati studije NATALEE sa ribociklibom iščekuju. Olympia je studija faze III koja je u bolesnica s HR+, HER2- ili trostruko negativnim karcinomom dojke (TNBC) sa germline(g)BRCA mutacijom te visokim rizikom povrata bolesti primijenila olaparib kroz godinu. HR+ bolesnice su bile manjina (18%) studijske populacije, uz glavni ključni kriterij 4 pozitivna limfna čvora. Olaparib je nakon medijana praćenja od 4 godine poboljšao OS u ukupnoj populaciji ali i subgroupu HR+ tumora (4y OS 89.8% vs 86.4%, ITT HR 0.68, HR+ HR 0.89). (3) Postavlja se pitanje kome dati prednost u gBRCA+ bolesnica, abemaciclibu ili olaparibu? Zbog preklapajuće mijelotoksičnosti lijekovi se ne mogu kombinirati, te je trenutno ekspertno mišljenje, u nedostatku podataka, da se prednost da olaparib-u zbog dokazanog poboljšanja u ukupnom preživljenju. Ostavlja se mogućnost sekvencijske primjene sa abemaciclibom. RxSponder studija je testirala nužnost kemoterapije u bolesnica s jednim do tri pozitivna limfna čvora te recurrence zbrojem (RS) do 25 na oncotype testu. U postmenopauzalnih bolesnica pokazalo se da dodatak kemoterapije endokrinom terapiji ne poboljšava ishode, dok se u premenopauzalnih bolesnica nije uspjela pronaći subpopulacija bolesnica kod kojih se može izbjeći kemoterapija. (4) Prikazano je i više negativnih studija. Adjuvantni everolimus kao i adjuvantni metformin nisu se pokazali uspješnim pristupom kao i primjena oralnog bisfosfonata ibadronata koja za sada ne može zamijeniti parenteralnu primjenu sa zolendronatnom kiselinom. Zaključno unatrag dvije godine eskalirali smo terapiju sa abemaciclibom u bolesnica s visokim rizikom od povrata bolesti kao i olaparibom u gBRCA pozitivnih bolesnica. Uspješno je smanjena potreba za kemoterapijom u postmenopauzalnih bolesnica s jednim do tri pozitivna limfna čvora.

U metastatskoj HR+, HER2- bolesti CDK 4/6 inhibitori u kombinaciji s IA ili fulvestrantom su standard liječenja u endokrino senzitivnoj i endokrino rezistentnoj bolesti na temelju višekратно dokazanog primarnog cilja studija produljenja medijana do progresije bolesti (mPFS). Velika je sličnost u rezultatima mPFS-a između tri CDK 4/6 inhibitora. Nakon progresije na CDK 4/6 inhibitore u slučaju prisutnosti PI3K mutacije savjetuje se



kombinacija fulvestranta sa apelisibom, a alternativa je monoterapija sa fulvestrantom ili tamoksifenom, kombinacija everolimusa s različitim endokrinim partnerima, PARP inhibitori u gBRCA+ bolesnica te kemoterapija.

Unatrag dvije godine većina studija s CDK 4/6 inhibitorima objavila je i rezultate u sekundarnom cilju OS-u. Ribociklib je u više MONALEESA studija koje su uključivale pre i postmenopuzalne bolesnice, endokrino senzitivne ili rezistente, produljio preživljenje za 30 – 35%, te je u prosjeku produljio preživljenje između 10 i 12 mjeseci. Abemaciclib je u sklopu MONARCH studija produljio preživljenje u endokrino rezistentnoj bolesti, uz pozitivan signal u endokrino senzitivnoj bolesti dok je situacija s palbociklibom u sklopu PALOMA studija drugačija uz negativne rezultate u produljenju preživljena posebno u PALOMA 2 studiji s dominantno endokrino senzitivnom bolesti. Uzevši u obzir i negativne rezultate palbocikliba u adjuvatnim studijama u budućnosti će se vjerovatno manji broj bolesnica liječiti palbociklibom koji i dalje ima svoje mjesto u praksi ponajviše s obzirom na najpovoljniji profil nuspojava. Izuzev Bylieve studije koja je pokazala djelovanje apelisiba i u post CDK4/6 eri s mPFS od 7 mjeseci, većina drugolinijskih terapija je istražena prije vremena CDK 4/6 inhibitora. Real world podaci (RWD) kao i kontrolne skupine novih istraživanja pokazuju skromne rezultate ET u post CDK4/6 eri s prosječnim mPFS-a 2–4 mjeseca. Jedan od glavnih mehanizama rezistencije, posebno na IA, je ESR1 mutacija u receptoru za estrogen, koja konstitutivno aktivira estrogeni put unatoč nedostatku liganda. Isto sugerira da je tumor i dalje ovisan o estrogenom putu te se velikom brzinom razvijaju se nove endokrine terapije koje bi mogle odgoditi pojavu ili premostiti ESR1 mutaciju. Oralni selektivni estrogen receptor degradatori (SERD) su najdalje napredovali u kliničkim istraživanjima s miješanim rezultatima. Prednost im je spram fulvestranta (intramuskularni SERD), oralna primjena, bolja bioraspoloživost te bolje djelovanje na ESR1 mutaciju. EMERALD je studija faze III koja je proučavala oralni SERD elacestrant naspram monoendokrine terapije, najčešće fulvestranta, u bolesnica koje su progredirale na CDK 4/6 inhibitore. Elacestrant je statistički značajno, ali klinički upitno, za 2 mjeseca produljio mPFS-a u ukupnoj populaciji. Bolesnice sa ESR1 mutacijom su imale veći benefit. (ITT HR 0.69, ESR1+ HR 0.54). (5) Druga dva oralna SERD-a amnecestrant i giradestrant prijavili su negativne studijske rezultate, međutim i u tim studijama primijećen je veći benefit u bolesnica sa ESR1 mutacijom. Oralni SERD-ovi imaju više gastrointestinalnih nuspojava a pitanje je i financijske toksičnosti lijekova te nije jasno gdje će se, i hoće li se, pozicionirati u kliničkoj praksi. PADA-1 je studija faze III s inovativnim dizajnom. Bolesnice koje su liječene sa CDK4/6 inhibitorima uz IA, serijski su testirane na pojavu ESR1 mutacije u cirkulirajućoj DNA (ctDNA). Bolesnice s dokazanom ESR1 mutacijom u ctDNA-a, međutim bez kliničke progresije, su promijenile endokrinog partnera CDK4/6 s IA na fulvestrant. Ova preemptivna promjena terapije je značajno produljila vrijeme do progresije bolesti. (6) Moguće je da će se upravo u ovakvom kliničkom scenariju pozicionirati oralni SERD-ova što će testirati studija SERENA 6 sa camizestrantom. Ipak najveći napredak u liječenju karcinoma dojke općenito uključujući i HR+/HER2- karcinoma dojke su nova generacija konjugata protutijela i lijeka (ADC) koji sa svojim ciljanim vezanjem na tumorske stanice mogu isporučiti veću dozu kemoterapeutika uz manje sistemne nuspojave. Novu generaciju odlikuje i „bystander effect“ odnosno mogućnost djelovanja lijeka i na okolne tumorske stanice koje i nemaju ekspresiju antigena za koju se veže protutijelo. Trastuzumab deruxtecan (Tdx) je konjugat trastuzumaba i inhibitora topoizomeraze 1. Destiny breast 04 je studija faze III koja je proučavala djelovanje Tdx-a u formalno HR+/HER2- bolesnica koje su ipak imale nisku ekspresiju HER2 (1+, ili 2+ ali in situ hibridizacija – (ISH)). Kontrolna skupina je primala kemoterapiju po izboru istraživača. 70% bolesnica je ranije primilo CDK 4/6 inhibitore a svi su ranije primili i jednu liniju kemoterapije u metastatskom setingu. Studija je polučila izvrsne rezultate uz produljenje mPFS-a (10.1 mj vs 5.4 mj, HR 0.51), ali i mOS-a (23.9 mj vs 17.5 mj, HR 0.64), prilikom čega nije narušila kvalitetu života bolesnica te je novi standard liječenja u kasnijim linijama liječenja. (7) Sacituzimab Govitecan (SG) je drugi ADC koji prepoznaje glikoprotein Trop-2 izražen na većini tumora dojke te u stanicu isporučuje citostatik inhibitor topoizomeraze 1, SN-38. Tropics 2 je studija faze III koja je u HR+, HER2- vrlo pretretiranih bolesnica koje su sve primile CDK 4/6 inhibitore te prosječno 3 linije kemoterapije, komparirala SG s mono kemoterapijom po izboru ispitivača. Sacituzimab je poboljšao mPFS-a (5.5 vs 4.0 mj, HR 0.66), te mOS-a (14.4 vs 11.2 mj, HR 0.79) ali i kvalitetu života. (8) Kako pozicionirati ADC-ove i kome dati prednost? Tdx ima veću apsolutnu dobit te je ispitan u ranijoj fazi metastatske bolesti te je terapija izbora nakon progresije na CDK4/6 inhibitore i jednu liniju kemoterapije u HER2 „low“ bolesnica koje čine 2/3 HR+ bolesnica. Da li je sekvencija ovih lijekova opravdana, posebno s obzirom na sličan citotoksični lijek, je za sada nepoznato. Mnogo će ovisiti o mehanizmima rezistencije koji su još uvijek nedovoljno poznati.

Liječenje TNBC-a također je doživjelo promjene, ponajviše u ranom stadiju bolesti. Početkom 2020. liječenje se provodilo najčešće neoadjuvantnom kemoterapijom, posebno u tumora većih od 2 cm i/ili pozitivnim limfnim čvorovima, baziranoj na antraciklinima i taksanima s nejasnom ulogom karboplatine te PARP inhibitora i nadolazećom imunoterapijom s pozitivnim rezultatima u metastatskoj bolesti. Kod rezidualne bolesti standard je bio kapecitabin.

Dodatak karboplatine u neoadjuvantnom liječenju povećava stopu potpunog patohistološkog odgovora (pCR). Ipak dugotrajni ishodi liječenja pokazivali su oprečne rezultate. U protekle dvije godine rezultati BRIGHTNESS studije kao i meta analiza pokazali su pozitivan efekt karboplatine i na dugotrajne ishode te se karboplatina postavlja kao standard u liječenju. Karboplatina nije uspjela nadmašiti kapecitabin u rezidualnoj bolesti koji je pokazao slične rezultate uz manju toksičnost (EA1131). Objavljene su i mnogobrojne studije s neoadjuvantnom imunoterapijom (KEYNOTE 522, IMpassion 031, NeoTRIPaPDL1, Geparnuevo). Studije su imale različite studijske populacije, različite kemoterapijske partnere, neke su koristile imunoterapiju samo neoadjuvantno dok su u drugima bolesnice primale imunoterapiju i postoperativno do ukupno godinu dana. Najrobusnije podatke pokazale je KEYNOTE 522 studija koja gledala dodanu vrijednost pembrolizumaba kroz godinu dana na maksimalnu kemoterapiju koja je uključivala karboplatinu i paklitaksel uz nastavku trodnevne antracikline. Pseudoadjuvantni kapecitabin nije bio dio studijskog protokola. Nakon medijana praćenja od 39 mjeseci studija je pokazala poboljšanje u oba primarna cilja, stopu pCR-a, ali i DFS-u (84% vs 76.8% HR 0.63) i to neovisno o ekspresiji liganda programirane stanične smrti 1 (PDL-1). Kvaliteta života je očuvana, dok se rezultati preživljenja iščekuju. (9) Svakako potrebni su prediktivni biomarkeri kako bi bolje odabrali bolesnice koje moraju primiti 4 kemoterapeutika uz imunoterapiju kroz godinu dana. Već spomenuta studija faze III OLYMPIA je proučavala adjuvantni olaparib kroz godinu dana u (g)BRCA+ bolesnica. Bolesnice sa TNBC (82% studijske populacije) su imale ili rezidualnu bolest nakon neoadjuvantne terapije ili tumore veće od 2 cm i/ili pozitivne limfne čvorove nakon primarne kirurgije. Kontrolna skupina nije primala Kapecitabin. Olaparib je nakon 4 godine poboljšao ukupno preživljenje (89.8% vs 86.4%, HR 0.68) te je sada preporučen u svim smjernicama. Pitanje rezidualne bolesti je postalo zanimljivo s obzirom na mogućnost korištenja kapecitabina, olapariba i/ili pembrolizumaba. U nedostatku podataka kombinacija olapariba i kapecitabina se ne preporučuje zbog preklopajuće toksičnosti, dok postoje podatci o podnošljivosti pembrolizumaba s kapecitabinom ili olaparibom. U slučaju prisutne gBRCA mutacije te nakon primjene neoadjuvantne imunoterapije većina eksperata bi u pseudoadjuvantnom setingu prednost dala olaparibu ili kombinaciji PARP inhibitora s imunoterapijom.

U metastatskom TNBC-u atezolizumab je u kombinaciji s nab-paklitakselom produljio mPFS u PDL-1 pozitivnih bolesnica. PDL-1 pozitivitet je definiran kao pozitivno bojanje, imunohistokemijskim testom (IHC) SP142 Ventana platforma, na tumor infiltrirajućim imunostimuliranim stanicama (IC) >1%, kriterij koji je zadovoljilo 40% studijske populacije. Kombinacija atezolizumaba s drugim kemoterapijskim partnerom paklitakselom je pak poručila negativne rezultate te je ostala nejasna uloga imunoterapije u PDL-1+ bolesnica. U slučaju (g)BRCA+ mutacije možemo primijeniti PARP inhibitore olaparib i talazoparib. Kemoterapija je izbor u PDL-1 negativnih, (g)BRCA negativnih bolesnica. Sacituzimab govitecan se ranije definirao kao standard u drugoj ili višoj liniji liječenja TNBC-a.

Keynote 355 je studija faze III koja je proučavala kombinaciju pembrolizumaba s više kemoterapijskih partnera (karboplatina + gemcitabin, paklitaksel, nabpaklitaksel) u prvoj liniji TNBC-a. Bolesnice su imale „de novo“ metastatsku bolest ili recidiv bolesti 6 mjeseci od kraja adjuvantne terapije.

Pembrolizumab je u PDL-1 pozitivnih bolesnica (definirano kao combined positive score CSP>10, IHC testom 22C3, DAKO platforma) značajno produljio mPFS-a (9.7 mj vs 5.6 mj, HR 0.66), ali za razliku od atezolizumaba i mOS (23 mj vs 16 mj, HR 0.73) te je potvrdio imunoterapiju u prvoj liniji PDL-1 + bolesnica s većom razinom dokaza od atezolizumaba.(10) Testiranje na PDL-1 pozitivitet je postalo sve kompleksnije jer se pokazalo da različiti IHC testovi nisu međusobno zamjenjivi te je potrebno u odabiru imunoterapije koristiti studijski test što komplicira svakodnevnu praksu.

Već spomenuta destiny breast 04 studija, koja je testirala Tdx u HER-2 low bolesnica, imala je i kohortu bolesnica formalno TNBC (12% studijske populacije). Trećina TNBC-a ma nisku ekspresiju HER2. Rezultati liječenja su sukladni cjelokupnoj studijskoj populaciji te je Tdx terapijska opcija u kasnijim linijama liječenja. (7) Zbog značajno robusnijih podataka veću razinu dokaza i prednost ima sacituzimab govitecan, a ostaje nam i dalje pitanje mogućnosti sekvencioniranja ADC-ova.

Her 2+ karcinom dojke također je doživio svoju transformaciju. U ranom Her 2+ karcinomu dojke u slučaju tumora većih od 2 cm ili pozitivnih limfnih čvorova preferira se neoadjuvantni pristup s dvostrukom anti HER blokadom trastuzumabom i pertuzumabom uz kemoterapiju koja može ili ne mora sadržavati antracikline. U slučaju rezidualne bolesti primjenjujemo ADC trastuzumab emntasine (TDM-1), dok kod pCR-a primjenjujemo monoterapiju trastuzumabom ili u slučaju inicijalno pozitivnih limfnih čvorova dvostruku anti her blokadu kroz godinu dana. Ostaje nam mogućnost i produljene terapije neratinibom. Kirurgija je osnovni pristup u tumora do 2 cm, uz potom adjuvantni paklitaksel i trastuzumab do godinu dana sukladno rezultatima APT studije.

Nije bilo velikih promjena u liječenju ranog HER2 karcinoma dojke. Update Aphinity studije potvrdio je mjesto pertuzumaba u adjuvantnom/pseudoadjuvantnom setingu kod bolesnica s pozitivnim limfnim čvorovima. Za razliku od TBNC-a neoadjuvantna imunoterapija doživjela je neuspjeh u HER2 karcinomu dojke (IMpassion050). Neriješeno pitanje je stopa relapsa bolesti u centralni živčani sustav (CNS) koja nije smanjena unatoč novim lijekovima, te se iščekuju rezultati istraživanja s malim molekulama (tucatinib) ili potentnijim ADC-ovima poput Tdx-a.

U metastatskom setingu već gotovo desetljeće prva linija liječenja je kombinacija taksana sa pertuzumabom i trastuzumabom, dok je TDM-1 odabir liječenja u drugoj liniji. U treće linijskom liječenju postoji pletora terapijskih izbora gdje prema smjernicama prednjače tucatinib u kombinaciji sa trastuzumabom i kapecitabinom sa vrlo dobrom intrakranijalnom aktivnosti te Tdx.

Destiny breast 03 je studija faze III koja je komparirala TDM-1 sa Tdx u drugo linijskom liječenju. Tdx je impresivno poboljšao mPFS-a (25 mj vs 7mj, HR 0.26) kao i stopu odgovora na terapiju (ORR) 79% vs 34%, te je sada terapija odabira u drugoj liniji HER2+ karcinoma dojke. (11) Ipak Tdx se pokazao kao toksičniji lijek od ranijih ADC-ova s profilom nuspojava koji težemo uz kemoterapije poput neutropenije, mučnine i umora. Nuspojava od posebnog interesa se pokazao pneumonitis koji se javlja u oko 10% bolesnica, a u par slučajeva rezultirao je i smrtnim ishodom. Potrebno je aktivno pratiti pacijentice te u slučaju respiratornih nuspojava provjeriti radi li se o pneumonitisu, isključiti terapiju te uvesti terapiju kortikosteroidima. Klinička je dilema koju terapiju odabrati u slučaju intrakranijalne progresije, tucatinib ili Tdx? Mišljenja stručnjaka su podijeljena te ovisno o odnosu volumena bolesti, prednost bi se dala tucatinibu (intrakranijalna bolest dominira) ili Tdx-u (ekstrakranijalna bolest dominira). Kako će drugi lijekovi djelovati nakon Tdx je još uvijek nepoznanica i RWD će imati ključnu ulogu u daljnjem sekvencioniraju terapija.

## Zaključak

Liječenje karcinoma dojke je rapidno evoluiralo. Intenzivno se istražuju mehanizmi rezistencije u želji za razvojem novih terapija. Mnogobrojne terapije, dokazane u bolesnica s proširenom bolesti, pokazale su svoje djelovanje i u lokalnim stadijima. Konjugati protutijela i lijeka sa svojim “pan” djelovanjem, neovisnom o podtipu karcinoma dojke, promijenili su paradigmu liječenja karcinoma dojke te su trenutno predmet najvećeg broja istraživanja.

## LITERATURA / LITERATURE:

- Cardoso F, Kyriakides S, Ohno S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Rubio IT, Zackrisson S, Senkus E; ESMO Guidelines Committee. Electronic address: clinicalguidelines@esmo.org. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. *Ann Oncol.* 2019 Aug 1;30(8):1194–1220.
- Johnston SRD, Harbeck N, Hegg R, Toi M, Martin M, Shao ZM, *i sur.* Abemaciclib Combined With Endocrine Therapy for the Adjuvant Treatment of HR+, HER2-, Node-Positive, High-Risk, Early Breast Cancer (monarchE). *J Clin Oncol.* 2020;38(34):3987–98.
- Tutt ANJ, Garber JE, Kaufman B, Viale G, Fumagalli D, Rastogi P *i sur.* Adjuvant Olaparib for Patients with BRCA1- or BRCA2-Mutated Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2021;384(25):2394–2405.
- Kalinsky K, Barlow WE, Gralow JR, Meric-Bernstam F, Albain KS, Hayes DF *i sur.* GN. 21-Gene Assay to Inform Chemotherapy Benefit in Node-Positive Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2021;385(25):2336–2347.
- Bardia A, Aftimos P, Bihani T, Anderson-Villaluz AT, Jung J, Conlan MG *i sur.* EMERALD: Phase III trial of elacestrant (RAD1901) vs endocrine therapy for previously treated ER+ advanced breast cancer. *Future Oncol.* 2019;15(28):3209–3218. doi: 10.2217/fon-2019-0370.
- Berger F, Marce M, Delalogue S, Hardy-Bessard AC, Bachelot T, Bièche I *i sur.* Randomised, open-label, multicentric phase III trial to evaluate the safety and efficacy of palbociclib in combination with endocrine therapy, guided by ESR1 mutation monitoring in oestrogen receptor-positive, HER2-negative metastatic breast cancer patients: study design of PADA-1. *BMJ Open.* 2022;12(3):e055821.
- Modi S, Jacot W, Yamashita T, Sohn J, Vidal M, Tokunaga E, Tsurutani J *i sur.* DESTINY-Breast04 Trial Investigators. Trastuzumab Deruxtecan in Previously Treated HER2-Low Advanced Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2022;387(1):9–20.
- Rugo HS, Bardia A, Tolanev SM, Arteaga C, Cortes J, Sohn J, *i sur.* TROPiCS-02: A Phase III study investigating sacituzumab govitecan in the treatment of HR+/HER2- metastatic breast cancer. *Future Oncol.* 2020;16(12):705–715.
- Schmid P, Cortes J, Pusztai L, McArthur H, Kümmel S, Bergh J, *i sur.* KEYNOTE-522 Investigators. Pembrolizumab for Early Triple-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2020;382(9):810–821.
- Cortes J, Cescon DW, Rugo HS, Nowecki Z, Im SA, Yusuf MM, *i sur.* Pembrolizumab plus chemotherapy versus placebo plus chemotherapy for previously untreated locally recurrent inoperable or metastatic triple-negative breast cancer (KEYNOTE-355): a randomised, placebo-controlled, double-blind, phase 3 clinical trial. *Lancet.* 2020;396(10265):1817–1828.
- Cortés J, Kim SB, Chung WP, Im SA, Park YH, Hegg R, *i sur.* Trastuzumab Deruxtecan versus Trastuzumab Emtansine for Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2022;386(12):1143–1154.

## RANI RAK DOJKE – KEMOTERAPIJA DA ILI NE?

MLADINOVIĆ M.<sup>1</sup>, Silovski T.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Opća bolnica „dr. Josip Benčević“ Slavonski Brod

• Odjel za onkologiju i hematologiju

<sup>2</sup> Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinika za onkologiju

martina.mladinovic@hotmail.com

**Sažetak:** Prema svjetskim podacima rak dojke najčešća je maligna bolest u žena u svijetu. Nacionalni institut u Poljskoj objavio je podatke koji govore da je u populaciji mladih žena u dobi od 20 do 44 godine rak dojke najčešća vrsta raka, čini 27% slučajeva i rezultira najvećim brojem smrti od onkoloških uzroka.

Standardni i prediktivni čimbenici ključni su za donošenje odluke o liječenju raka dojke. Rak dojke može se podijeliti u pet podtipova: luminalni tip A, luminalni tip B HER2 negativni, luminalni tip B HER2 pozitivan, HER2 pozitivan i trostruko negativan. Ovisno o riziku bolesti, liječenje može zahtijevati primjenu endokrine terapije, kemoterapije ili primjenu biološke antiHER2 blokade.

U najvećem postotku, do 80% slučajeva, radi se o raku dojke s pozitivnim hormonskim receptorima (HR+) i negativnom ekspresijom humanog epidermalnog faktora rasta 2 (HER 2 -) koji je dobre prognoze i većinom zahtijeva primjenu samo adjuvantne endokrine terapije. U pojedinim slučajevima dodatak adjuvantne kemoterapije uz adjuvantnu endokrinu terapiju može smanjiti pojavu recidiva bolesti i povećati preživljenje. Budući se radi o predmenopauzalnim bolesnicama koje se najčešće prezentiraju kompleksnijom bolesti, zahtijevaju ulaganje većih napora u liječenju. Svaka od terapija ima svoje nuspojave te je potrebno donijeti dobru odluku o terapiji. Za mlade bolesnice najveći naglasak je na očuvanju fertiliteta.

Revolucija multigenih testova doprinijela je uspješnijem liječenju ranog raka dojke. Testovi predstavljaju značajan prediktivni i prognostički alat u donošenju odluke o primjeni kemoterapije. Dostupna su četiri multigena testa: Oncotype DX®, EndoPredict®, MammaPrint® i Prosigna®. Primarno se koriste za bolesnice s HR+/HER2 – rakom dojke s 0–3 pozitivna limfna čvora, u bolesnica s HER2 + i trostruko negativnim rakom.

Slijedom kliničkih studija, bolesnice s HR+/HER2 rakom dojke i negativnim limfnim čvorovima aksile trebale bi biti podvrgnute multigenom testiranju Oncotype DX testu. U podanalizi TAILORx studije koja se odnosila na bolesnice mlađe od 50 godina s RS-om 16–25, a u kojih je dodana adjuvantna kemoterapija endokrinom terapiji, zabilježena je značajno niža stopa udaljenog povrata bolesti. Sve bolesnice s pozitivnom aksilom prema RxPONDER studiji su kandidatkinje za adjuvantnu kemoterapiju uz adjuvantnu endokrinu terapiju. Dodatak adjuvantne kemoterapije rezultirao je značajno nižom stopom udaljenog povrata bolesti.

Prije početka primjene sustavne kemoterapije, očuvanje fertiliteta jedna je od bitnih značajki bolesnica.

### Pregledni rad

Rak dojke je najčešće dijagnosticiran rak u žena i peti uzrok smrti od raka u svijetu, s procijenjenih 2,3 milijuna slučajeva i 685 000 smrtnih slučajeva u 2020. [1], a očekuje se da će broj slučajeva dosegnuti 4,4 milijuna u 2070.g. [2]. Među ženama, rak dojke činio je približno 24,5% svih slučajeva raka i 15,5% smrti od raka, zauzimajući prvo mjesto po učestalosti i smrtnosti u većini zemalja svijeta u 2020.g. [1]. Prema Poljskom nacionalnom registru za rak, u populaciji mladih žena u dobi od 20 do 44 godine, rak dojke je najčešća vrsta raka, čini 27% slučajeva i rezultira najvećim brojem smrti od onkoloških uzroka [3]. Prema posljednjim studijama povećana je incidencija u predmenopauzalnih žena [4]. Programi probira ranog raka dojke i primarne prevencije imaju za cilj smanjiti smrtnost od raka dojke otkrivanjem raka u ranom stadiju kada su mogućnosti liječenja uspješnije.

Liječenje raka dojke ovisi o standardnim i prediktivnim čimbenicima. U njih ubrajamo: životnu dob, veličinu tumora, histološki tip, stupanj diferenciranosti tumora i jezgre, peritumorsku limfovaskularnu invaziju, status hormonskih receptora i humanog epidermalnog čimbenika rasta –2 (HER2), proliferacijski indeks te status limfnih čvorova pazuha. Slijedom navedenog rak dojke možemo podijeliti u pet podtipova: luminalni tip A, luminalni tip B HER2 negativni, luminalni tip B HER2 pozitivan, HER2 pozitivan i trostruko negativan. Bolesnice s hormonski receptor (HR+) pozitivnim ranim rakom dojke kandidatkinje su za adjuvantnu endokrinu terapiju u trajanju od 5 do 10 godina. Liječenje analogima hormona koji oslobađaju luteinizirajući hormon (LHRH) uz aromatazni inhibitor (AI) rezultiralo je značajno višim stopama 8-godišnjeg preživljenja bez povrata bolesti te ukupnog preživljenja. Ove značajne rezultate objavila je SOFT&TEXT studija [5]. Ovisno o riziku

povrata bolesti, pojedine bolesnice su kandidatkinje za adjuvantnu kemoterapiju uz endokrinu terapiju. Bolesnice s HER2 pozitivnim tumorima kandidatkinje su za biološku antiHER2 blokadu trastuzumabom +/- pertuzumabom uz kemoterapiju. Bolesnice s trostruko negativnim tumorima zahtijevaju liječenje kemoterapijom u neoadjuvantnom i/ili adjuvantnom liječenju.

Današnje izazove u liječenju predstavljaju predmenopauzalne bolesnice s ranim rakom dojke. Često se prezentiraju kompleksnijom bolesti, imaju lošije ishode preživljenja bez povrata bolesti i sveukupnog preživljenja. Često se radi o mladim bolesnicama koje nisu rađale ili žele još imati djece, a većinom imaju biološki agresivnije tumore te zahtijevaju multimodalne pristupe liječenju koji mogu biti povezani s prolaznim ili trajnim oštećenjima funkcije gonada i trajne neplodnosti [6]. Stoga je multidisciplinarni pristup ključan kako bi odabir terapije bio pomno individualno odabran.

Ovisno o podtipu rada dojke, hormonalnom statusu bolesnice te obiteljskoj anamnezi, a prije definitivne odluke o sustavnoj terapiji, može se razmotriti provođenje multigenских testova. Multigenски testovi danas su napravili značajan iskorak u donošenju konačne odluke o liječenju te preciznijem otkrivanju prave naravi pojedinog tumora. Također se koriste u svrhu procjene rizika udaljenog i lokalnog povrata bolesti te preživljenja. Predstavljaju novi prognostički, a ujedno i prediktivni alat pri donošenju odluke o primjeni kemoterapije u ranoj fazi raka dojke. U kliničkoj praksi dostupna su četiri multigenска testa za rani rak dojke: Oncotype DX®, EndoPredict®, MammaPrint® i Prosigna®. Multigenски testovi primarno se koriste u bolesnica s HR+/HER2 – rakom dojke s 0–3 pozitivna limfna čvora. U bolesnica s HER2 + i trostruko negativnim rakom dojke ne preporuča se korištenje ovih testova.

Oncotype DX® test je zasnovan na lančanoj reakciji polimeraze reverzne transkriptaze koji mjeri ekspresiju panela od 21 gena (16 povezanih s rakom, pet referentnih) i generira rezultat rizika recidiva to jest rizika povrata bolesti (RS – recurrence score) čija je vrijednost od 0 do 100 [7]. Ovaj rezultat otkriva temeljnu biologiju tumora i također predstavlja individualiziranu procjenu rizika od povrata bolesti i prognoze.

Ovaj test korišten je u studiji TAILORx s HR+/HER2- rakom dojke i negativnim limfnim čvorovima [8]. Bolesnice su bile podijeljene u tri skupine. Prva s niskim RS (0–10) bila je liječena samo adjuvantnom endokrinom terapijom. Druga s visokim RS, većim od 25, bila je liječena adjuvantnom kemoterapijom uz adjuvantnu endokrinu terapiju. Dok je treća s intermedijarnim RS (11–25) randomizirana je na način da je jedna grupa bolesnica primala samo endokrinu terapiju, a druga kemoterapiju te potom endokrinu terapiju. Rezultati su pokazali slično preživljenje bez povrata bolesti (DFS) nakon 9 godina u bolesnica koje su primale samo adjuvantnu kemoterapiju uz endokrinu terapiju u usporedbi s bolesnicama koje su liječene samo endokrinom terapijom. Dodatnom podanalizom koja se odnosila na bolesnice mlađe od 50 godina s RS-om 16–25, a u kojih je dodana adjuvantna kemoterapija endokrinom terapiji, zabilježena je značajno niža stopa udaljenog povrata bolesti [9,10].

U RxPONDER istraživanju, uključene su bolesnice s 1–3 pozitivna limfna čvora i RS 0–25. Među ženama u postmenopauzi, DFS nakon 5 godina bilo je 91,9% u samo endokrinom skupini i 91,3% u kemoendokrinom skupini. Što je dovelo do zaključka da nije bilo koristi od dodatka kemoterapije u ovoj podskupini bolesnica. Uspoređujući predmenopauzalne bolesnice, 5-godišnji DFS, u skupini liječenoj samo endokrinom terapijom iznosio je 89% dok je u skupini liječenoj kemoterapijom i endokrinom terapijom iznosio 93,9% sa sličnim poboljšanjem preživljenja bez udaljenog povrata bolesti. U predmenopauzalnih bolesnica zabilježena je 45% redukcija relativnog rizika povrata invazivne bolesti u skupini koja je primala adjuvantnu kemoterapiju i endokrinu terapiju. Zaključno, relativni benefit od primjene kemoterapije nije se povećao ovisno o povećanju RS. No, u predmenopauzalnih žena korist od kemoterapije uočena je u svim podskupinama uz veću apsolutnu korist od primjene kemoterapije u bolesnica s višim RS-om u rasponu 0–25 [11].

Test prve generacije MammaPrint® analizira 70 kritičnih gena za detektiranje bolesnica s ranim rakom visokog rizika za razvoj udaljenih metastaza. Test ne predviđa potencijalnu korist od dodatka kemoterapije endokrinom terapiji. Studija u kojoj je Mamma Print pokazao svoju korist je MINDACT studija. Uključivala je bolesnice s 0–3 pozitivna limfna čvora. Nakon praćenja od 8,7 godina rezultati podanalize MINDACT studije pokazali su u predmenopauzalnih bolesnica s visokim kliničkim i niskim genetskim rizikom benefit od dodatka kemoterapije za 5% u preživljenju bez udaljenog povrata bolesti nakon 8 godina (93,6% vrs 88,6%). Također, zabilježen je i apsolutni benefit poboljšanje sveukupnog preživljenja nakon 10 godina od 7,7% [12].

EndoPredict® i Prosigna su testovi druge generacije za procjenu rizika povrata raka dojke. EndoPredict kombinira prognostičku vrijednost 12-genskog molekularnog broja s veličinom tumora i statusom limfnih čvorova. Prosigna mjeri razine tumorske ekspresije 50 gena koji se koriste u algoritmu klasifikacije PAM50, ponderiranih zajedno s kliničkim varijablama. Oba testa su uglavnom dizajnirana za postmenopauzalne bolesnice.

Dodatni alati kojima se možemo služiti su: Composite scores, Online calculators, Breast Cancer Indec (BCI), Risk od Recurrence i Extended Endocrine Benefit Test. U pet studija BCI predviđa korist od primjene produljene adjuvantne endokrine terapije [13].

Primjena adjuvantne kemoterapije rezultira povoljnim terapijskim učinkom i znatnom smanjenju smrtnosti, no u 40 do 68% slučajeva pojavljuju se toksična oštećenja tkiva jajnika, ovisno o starosti bolesnice, trajanju, vrsti i dozi primijenjenih lijekova, koji dugoročno pridonose smanjenoj ovarijskoj rezervi i plodnosti zbog prijevremene menopauze [14].

U vrijeme postavljanja dijagnoze raka dojke, oko 50% bolesnica zabrinuto je zbog mogućeg rizika od prijevremenog zatajenja jajnika i neplodnosti kao posljedice liječenja te su zainteresirane za očuvanje plodnosti i buduće reproduktivne sposobnosti [15].

Savjetuje se, pri odluci o liječenju, s bolesnicama razgovarati o mogućem riziku razvoja nuspojava kako bi ih se na vrijeme uputilo na savjetovanje o onkofertiliteu. Danas dostupne opcije za očuvanje plodnosti u bolesnica s rakom dojke su: krioprezervacija embrija/oocita, krioprezervacija tkiva jajnika i upotreba privremene supresije jajnika s analogima hormona koji oslobađaju luteinizirajući hormon (LHRH) tijekom kemoterapije.

Zaključno, liječenje raka dojke provodi se sukladno klasičnim i genetskim prediktivnim čimbenicima. Izazov predstavlja liječenje predmenopausalnih bolesnica s HR+, HER2 – rakom dojke te ono treba biti multidisciplinarno i individualizirano. Dodatak adjuvantne kemoterapije endokrinom terapiji utječe na psihofizičko i reproduktivno zdravlje bolesnica. Danas dostupnim multigenetskim testovima i dodatnim alatima preciznije možemo pristupiti liječenju. Konsolidacija standardnih prediktivnih čimbenika i RS-a, prognostička je za razvoj udaljenih metastaza, a kao takva mogla bi predvidjeti najveću korist od dodatka kemoterapije endokrinom terapiji određenih premenopausalnih bolesnica. Slijedom kliničkih studija, posebno RxPONDER studije, premenopausalne bolesnice s negativnim limfnim čvorovima potrebno je uputiti na multigenetsko testiranje. One koje imaju 1–3 pozitivna limfna čvora imaju indikaciju za primarno adjuvantno kemoterapijsko liječenje. Upravo te bolesnice imaju benefit od adjuvantne kemoterapije, neovisno o rezultatima multigenetskih testova. Važno je, poštujući želje bolesnica, provesti postupke očuvanja fertiliteta tijekom sustavnog liječenja ranog raka dojke.

**Ključne riječi:** rak dojke, predmenopausalne žene, hormonski receptori, multigenetski testovi, onkofertilitet

## EARLY BREAST CANCER – CHEMOTHERAPY YES OR NO?

MLADINOVIĆ M.<sup>1</sup>, Silovski T.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> General Hospital „dr. Josip Benčević“ Slavonski Brod

• Department of Oncology and Hematology

<sup>2</sup> University Hospital Centre Zagreb

• Department of Oncology

**Summary:** According to global data, breast cancer is the most common malignant disease in women around the world. The National Institute in Poland published data showing that in the population of young women aged 20 to 44, breast cancer is the most common type of cancer, accounting for 27% of cases and resulting in the highest number of deaths from oncological causes.

Standard and predictive factors are key to making a decision about breast cancer treatment. Breast cancer can be divided into five subtypes: luminal type A, luminal type B HER2 negative, luminal type B HER2 positive, HER2 positive and triple negative. Depending on the risk of the disease, treatment may require the use of endocrine therapy, chemotherapy or the use of biological antiHER2 blockade.

The largest percentage, up to 80% of cases, is breast cancer with positive hormone receptors (HR+) and negative expression of human epidermal growth factor 2 (HER 2 –) which has a good prognosis and mostly requires the use of only adjuvant endocrine therapy. In some cases, the addition of adjuvant chemotherapy to adjuvant endocrine therapy can reduce the occurrence of disease recurrence and increase survival. Since these are premenopausal patients who most often present with a more complex disease, they require greater efforts in treatment. Each of the therapies has its own side effects, and it is necessary to make a good decision about the choice of therapy. For young patients, the greatest emphasis is on preserving fertility.

The revolution of multigene tests has contributed to more successful treatment of early breast cancer. The tests represent an important predictive and prognostic tool in making a decision on the application of chemotherapy. Four multigene tests are available: Oncotype DX®, EndoPredict®, MammaPrint® and Prosigna®. They are

primarily used for patients with HR+/HER2 – breast cancer with 0–3 positive lymph nodes, in patients with HER2 + and triple negative cancer.

Following clinical studies, patients with HR+/HER2 breast cancer and negative axillary lymph nodes should undergo multigene testing with the Oncotype DX test. A subanalysis of the TAILORx study, which referred to patients under 50 years of age with RS 16–25, and in whom adjuvant chemotherapy was added to endocrine therapy, a significantly lower rate of distant recurrence of the disease was recorded. Patients with a positive axilla according to the RExPONDER study are all candidates for adjuvant chemotherapy with adjuvant endocrine therapy. The addition of adjuvant chemotherapy resulted in a significantly lower rate of distant disease recurrence.

Before the start of systemic chemotherapy, preserving fertility is one of the essential characteristics of patients.

## Review article

Breast cancer as the most commonly diagnosed cancer in women and the fifth cause of cancer deaths in the world, with an estimated 2.3 million cases and 685,000 deaths in 2020 [1], and the cases are expected to reach 4.4 million in 2070 [2]. Among women, breast cancer accounted for approximately 24.5% of all cancer cases and 15.5% of cancer deaths, ranking first for incidence and mortality in the majority of the world countries in 2020 [1]. According to the Polish National Cancer Registry, in the population of young women aged 20–44, breast cancer is the most common type of cancer, accounting for 27% of cases, and results in the highest number of deaths from oncological causes [3]. According to the latest studies, the incidence is increased in premenopausal women [4]. Early breast cancer screening and primary prevention programs aim to reduce breast cancer mortality by detecting cancer at an early stage when treatment options are more successful. Breast cancer treatment depends on standard and predictive factors. These include: age, tumor size, histological type, tumor grade and nuclear grade, peritumoral lymphovascular invasion, hormone receptor (HR) and human epidermal growth factor-2 (HER2) status, proliferation index, and axillary lymph node status. Accordingly, breast cancer can be divided into five subtypes: luminal type A, luminal type B HER2 negative, luminal type B HER2 positive, Her2 positive and triple negative. Patients with HR+ early breast cancer (eBC) are candidates for adjuvant endocrine therapy during 5 to 10 years. Treatment with luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) analogs in combination with an aromatase inhibitor (AI) resulted in significantly higher rates of 8-year disease-free survival and overall survival. These significant results were obtained and published by the SOFT&TEXT study [5]. Depending on the risk of disease recurrence, some patients are candidates for adjuvant chemotherapy together with endocrine therapy. Patients with HER2 positive tumors are candidates for the biological antiHER2 blockade trastuzumab+/- pertuzumab in combination with chemotherapy. Patients with triple-negative tumors require chemotherapy in neoadjuvant and/or adjuvant treatment. Today's challenge is treatment of premenopausal patients with eBC who often present with a more complex disease, have worse survival outcomes like disease free (DFS) and overall survival (OS). They are mostly young patients who have not given birth or want to have more children. and mostly have more biologically aggressive tumors and require multimodal treatments that may be associated with temporary or permanent damage of gonadal function and permanent infertility [6]. Therefore, a multidisciplinary approach is crucial, so the choice of therapy could be carefully individualized. According to breast cancer subtype, patient's hormonal status, family history, and before a definitive decision on systemic therapy, utilization of multigenetic tests can be considered. Multigenetic tests have taken a significant step in making the final decision on treatment and more precisely revealing the true nature of an individual tumor. They are also used to assess distant and local disease recurrence as well as survival. They represent a new prognostic and at the same time predictive tool for decisions making about the chemotherapy use in the early stage breast cancer. In clinical practice, there are four multigenetic tests for early breast cancer available: Oncotype DX®, EndoPredict®, MammaPrint® and Prosigna®. Multigenetic tests are primarily used in patients with HR+/HER2 – eBC with 0–3 positive lymph nodes. Those tests are not used for patients with HER2 + and triple negative eBC. The Oncotype DX test is a reverse transcriptase polymerase chain reaction based assay which measures the expression of 21 genes panel (16 canceru2010related and five reference genes) and generates a recurrence score (RS) – a value from 0 to 100 [7]. This score reveals underlying tumor biology and also represents an individualised estimation of the risk of disease recurrence and prognosis. This test was used in TAILORx study with HR+/HER2– breast cancer and negative lymph nodes [8]. The patients were divided into three groups. The first with low RS (0–10) treated only with adjuvant endocrine therapy. Another with high RS, greater than 25, treated with adjuvant chemotherapy and adjuvant endocrine therapy. The third with intermediate RS (11–25) was randomized in such way that one group of patients received only endocrine therapy and the other chemotherapy followed by endocrine therapy. Results showed similar disease-free survival (DFS) at 9 years in patients who

received only adjuvant chemotherapy with endocrine therapy compared to patients treated with endocrine therapy alone. An additional subanalysis that referred to patients younger than 50 years with RS 16–25, in whom adjuvant chemotherapy was added to endocrine therapy, resulted in a significantly lower rate of distant recurrence of the disease [9,10]. In the RxPONDER study, patients with 1–3 positive lymph nodes and RS 0–25 were included. Among postmenopausal women, DFS at 5 years was 91.9% in the endocrine-only group and 91.3% in the chemoendocrine group. In summary, there was absolutely no benefit from the use of chemotherapy. Comparing premenopausal patients, the 5-year DFS in the group treated with endocrine therapy alone was 89%, while in the group treated with chemotherapy and endocrine therapy it was 93.9% with a similar improvement in survival without distant disease recurrence. Premenopausal patients had a 45% reduction in the relative risk of invasive disease recurrence in the group that received adjuvant chemotherapy and endocrine therapy. In conclusion, the relative benefit from the use of chemotherapy did not increase depending on the increase in RS. However, in premenopausal women, the benefit of chemotherapy was observed in all subgroups, and a greater absolute benefit of chemotherapy was observed with higher RS in women RS range 0–25 [11]. The first generation MammaPrint® test analyzes 70 critical genes for detecting patients with early cancer at high risk for the development of distant metastases. The test does not predict the potential benefit of adding chemotherapy to endocrine therapy. MINDACT study revealed benefit from using Mamma Print in predicting prognosis of eBC. It included patients with 0–3 positive lymph nodes. After a multi-year follow-up of 8.7 years, the results of the subanalysis of the MINDACT study in premenopausal patients with high clinical, low genetic risk showed a benefit from the addition of chemotherapy of 5% in survival without distant recurrence of the disease after 8 years (93.6% vs. 88.6%). Furthermore, an absolute benefit in overall survival improvement after 10 years of 7.7% was recorded [12]. EndoPredict® and Prosigna are 2nd generation tests for assessing the risk of breast cancer recurrence. EndoPredict combines the prognostic value of the 12-gene molecular score with tumor size and axillary lymph node status. Prosigna measures the tumor expression levels of 50 genes used in the PAM50 classification algorithm, weighted together with clinical variables. Both tests are mainly designed for postmenopausal patients. Additional tools we can use are: Composite scores, Online calculators, Breast Cancer Index (BCI), Risk of Recurrence and Extended Endocrine Benefit Test. Five studies confirmed benefit of BCI in predicting role of prolonged adjuvant endocrine therapy [13]. The use of adjuvant chemotherapy results in a favorable therapeutic effect and a significant reduction in mortality, but in 40 to 68% of cases, toxic damage to the ovarian tissue occurs, depending on the age of the patient, duration, type and dose of the drugs administered, which in long term contribute to reduced ovarian reserve and fertility due to premature menopause [14]. At the time of breast cancer diagnosis, about 50% of patients are concerned about the possible risk of premature ovarian failure and infertility associated with treatment and are interested in maintaining fertility and future reproductive capacity [15]. When deciding on treatment, it is recommended to discuss the possible risk of developing side effects in order to refer patients to oncofertility counseling. Options available today to preserve fertility in breast cancer patients are: embryo/oocyte cryopreservation, ovarian tissue cryopreservation, and the use of temporary ovarian suppression with luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) analogs during chemotherapy.

In conclusion, breast cancer treatment is carried out according to standard and predictive genetic factors. The challenge is the treatment of premenopausal patients with HR+, Her2 – breast cancer, which should be multidisciplinary based and individualized. Addition of adjuvant chemotherapy to endocrine therapy affects psychophysical and reproductive health. With the multigenetic tests and additional tools available today, treatment approach can be more precise. Consolidation of standard predictive factors and RS is prognostic for the development of distant metastases, and could predict the greatest benefit of chemotherapy and endocrine therapy in certain premenopausal patients. Following clinical studies, especially the RxPONDER study, premenopausal patients with negative lymph nodes should be referred for multigenetic testing. Those who have 1–3 positive lymph nodes have an indication for primary chemotherapy treatment. It is precisely these patients who benefit from adjuvant chemotherapy, regardless of the results of multigenetic tests. It is also important to preserve fertility according to the wishes of the patient.

**Key words:** breast cancer, premenopausal woman, hormone receptors, multigenetic testing, oncofertility

#### LITERATURA / LITERATURE:

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2021.
2. Soerjomataram I, Bray F. Planning for tomorrow: global cancer incidence and the role of prevention 2020. *Nat Rev Clin Oncol.* 2021.



3. *Didkowska J, Wojciechowska U, Czaderny K, Olasek P, Ciuba A.* Cancer in Poland in 2017. [(accessed on 8 June 2020)]; Available online: [http://onkologia.org.pl/wp-content/uploads/Nowotwory\\_2017.pdf](http://onkologia.org.pl/wp-content/uploads/Nowotwory_2017.pdf).
4. *Leclere B, Molinie F, Tretarre B, et al.* Trends in incidence of breast cancer among women under 40 in seven European countries: a GRELL cooperative study. *Cancer Epidemiol.* 2013;37:544–549.
5. *Francis PA, Pagani O, Fleming GF, et al; SOFT and TEXT Investigators and the International Breast Cancer Study Group.* Tailoring adjuvant endocrine therapy for premenopausal breast cancer. *N Engl J Med.* 2018;379:122–137.
6. *Poggio F, Levaggi A, Lambertini M.* Chemotherapy-induced premature ovarian failure and its prevention in premenopausal breast cancer patients. *Expert Rev Qual Life Cancer Care.* 2016;1:5–7. doi: 10.1080/23809000.2016.1139458.
7. *Paik S, Shak S, Tang G, et al.* A multigene assay to predict recurrence of tamoxifenu2010treated, nodeu2010negative breast cancer. *N Engl J Med.* 2004;351(27):2817u20102826.
8. *Sparano J.A.* TAILORx: Trial Assigning Individualized Options for Treatment (Rx) *Clin Breast Cancer.* 2006;7(4):347–350.
9. *Sparano JA, Gray RJ, Makower DF, et al.* Adjuvant chemotherapy guided by a 21-gene expression assay in breast cancer. *N Engl J Med.* 2018 doi: 10.1056/NEJMoa1804710.
10. *Sparano JA, Gray RJ, Makower DF, et al.* Prospective validation of a 21-gene expression assay in breast cancer. *N Engl J Med.* 2015;373:2005–2014. doi: 10.1056/NEJMoa1510764.
11. *Kalinsky K, Barlow WE, Meric-Bernstam F, et al.* First results from a phase III randomized clinical trial of standard adjuvant endocrine therapy (ET) +/- chemotherapy (CT) in patients (pts) with 1–3 positive nodes, hormone receptor-positive (HR+) and HER2-negative (HER2-) breast cancer (BC) with recurrence score (RS) < 25: SWOG S1007 (RxPonder). *Cancer Res.* 2021;81 (suppl; abstr GS3-00).
12. *Piccart M, van 't Veer LJ, Poncet C, 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;22:476–488.
13. *Noordhoek I, Treuner K, Putter H, et al.* Breast cancer index predicts extended endocrine benefit to individualize selection of patients with HR+ early-stage breast cancer for 10 years of endocrine therapy. *Clin Cancer Res.* 2021;27:311–319.
14. *Kasum M.* Breast cancer treatment and later fertility. *Gynaecol Perinatol* 2005; 14:161–5.
15. *Ruddy KJ, Gelber SI, Tamimi RM, Ginsburg ES, Schapira L, Come SE, et al.* Prospective study of fertility concerns and preservation strategies in young women with breast cancer. *J Clin Oncol.* 2014;32:1151–1156. doi: 10.1200/JCO.2013.52.8877.

## UKLUČIVANJE SEKVENCIJANJE NOVE GENERACIJE (NGS) U RUTINSKU KLINIČKU PRAKSU – TRENUTNI IZAZOVI I POGLED U BUDUĆNOST

KELEMENIĆ-DRAŽIN R.<sup>1</sup>, Budisavljević A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Opća bolnica Varaždin

• Odjel za hematologiju, onkologiju i kliničku imunologiju i alergologiju

<sup>2</sup> Opća bolnica Pula

• Odjel za internističku onkologiju s hematologijom

renata.kelemenicdrazin@optinet.hr

**Sažetak:** Unatoč ograničenjima koja postoje u korištenju molekularnih biomarkera u kliničkoj praksi naša onkološka zajednica živi u eri precizne medicine u kojoj raste broj pacijenata koji se podvrgavaju tumorskom genomskom profiliranju, kao i broj novih odobrenih lijekova za rak usmjerenih na specifične genetske promjene. Sekvenciranje sljedeće generacije (Next generation sequencing-NGS) omogućuje brze, pristupačne i djelotvorne informacije o molekularnom profilu tumora pri čemu se NGS može provesti korištenjem ciljanih genskih panela, sekvenciranjem cijelog egzoma ili sekvenciranjem cijelog genoma. Rezultati NGS-a mogu utjecati na kliničke odluke tj. otvaraju opcije molekularno vođenog liječenja (molecularly guided treatment options-MGTOs) za svakog pacijenta ponaosob rezultat čega je visoko personalizirano liječenje. Prve preporuke znanstvenog društva o korištenju NGS-a izdalo je ESMO u kolovozu 2020. godine s namjerom da se objedini donošenje odluka o tome kako bi se NGS trebao koristiti u osam sijela raka odgovornih za najveći broj smrtnih slučajeva u svijetu (rak dojke, pluća, kolorektalni rak, rak gušterače, prostate, želuca, jetre i kolangiokarcinom). Pri tome je korištena ESMO ljestvica kliničke djelotvornosti molekularnih ciljeva (ESCAT – rangira podudaranje između lijeka i genomskih promjena prema djelotvornosti) kao i prevalencija genomskih promjena te je temeljem toga donijeta preporuka koji bi pacijenti trebali biti testirani NGS-om. Tako bi, iz perspektive javnog zdravlja, prema ESMO-u, NGS rutinski trebalo koristiti kod bolesnika s metastatskim adenokarcinomom pluća, metastatskim rakom prostate, jajnika te kod metastatskog kolangiokarcinoma. Unatoč rastućoj podršci genomskom testiranju kroz smjernice, implementacija NGS-a, a time i pristup pacijentima, razlikuje se diljem Europe i svijeta što posljedno negativno utječe na standard onkološke skrbi i unapređenje personalizirane medicine. No usprkos trenutnim poteškoćama u provođenju NGS-a u kliničkoj praksi smatra se kako će uskoro tumor specifičnu terapiju zamijeniti tumor agnostička terapija gdje bolesnike nećemo liječiti prema sijelu bolesti već prema onkogenim driverima odgovornim za rast i širenje tumora.

**Summary:** Despite the limitations in the use of molecular biomarkers in clinical practice, our oncology community lives in an era of precision medicine in which the number of patients undergoing tumor genomic profiling is increasing, as well as the number of newly approved cancer drugs targeting specific genetic changes. Next-generation sequencing (NGS) provides fast, affordable, and practical information on the molecular profile of tumors, whereby NGS can be performed using targeted gene panels, whole exome sequencing, or whole genome sequencing. The results of NGS can influence clinical decisions, i.e. they open molecularly guided treatment options (MGTOs) for each patient, resulting in highly personalized treatment. ESMO issued the first scientific society recommendations on the use of NGS in August 2020 to unify decision-making on how NGS should be used in the eight cancers responsible for the highest number of deaths worldwide (breast, lung, colorectal cancer, pancreatic, prostate, stomach, liver, and cholangiocarcinoma). In doing so, the ESMO scale of the clinical effectiveness of molecular targets (ESCAT – ranks the match between the drug and genomic changes according to point), as well as the prevalence of genomic changes, was used and based on this, a recommendation was made which patients should be tested with NGS. Thus, from a public health perspective, according to ESMO, NGS should be routinely used in patients with metastatic lung adenocarcinoma, metastatic prostate cancer, ovarian cancer, and metastatic cholangiocarcinoma. Despite growing support for genomic testing through guidelines, the implementation of NGS, and thus access to patients, vary across Europe and the world, which consequently negatively affects the standard of oncology care and the advancement of personalized medicine. However, despite the current difficulties in implementing NGS in clinical practice, it is believed that tumor-specific therapy will soon be replaced by tumor-agnostic treatment, where patients will not be treated according to the tumor sites, but according to the oncogenic drivers responsible for tumor growth and spread.

## Uvod

Unatoč ograničenjima koja postoje u korištenju molekularnih biomarkera u kliničkoj praksi naša onkološka zajednica živi u eri precizne medicine u kojoj raste broj pacijenata koji se podvrgavaju tumorskom genomskom profiliranju, kao i broj novih odobrenih lijekova za rak usmjerenih na specifične genetske promjene.<sup>1</sup>

Sekvenciranje sljedeće generacije (*next generation sequencing* – NGS) omogućuje brze, pristupačne i djelotvorne informacije o molekularnom profilu tumora pri čemu se NGS može provesti korištenjem ciljanih genskih panela, sekvenciranjem cijelog egzoma ili sekvenciranjem cijelog genoma. Rezultati NGS-a utječu pak na kliničke odluke tj. otvaraju opcije molekularno vođenog liječenja (molecularly guided treatment options-MGTOs) za svakog pacijenta ponaosob rezultat čega je visoko personalizirano liječenje.<sup>2</sup>

Prve preporuke znanstvenog društva o korištenju NGS-a u kliničkoj praksi izdalo je Europsko društvo za medicinsku onkologiju (European Society for Medical Oncology – ESMO) u kolovozu 2020. godine s namjerom da se objedini donošenje odluka o tome kako bi se NGS trebao koristiti u osam sijela raka odgovornih za najveći broj smrtnih slučajeva u svijetu (rak dojke, pluća, kolorektalni rak, rak gušterače, prostate, želuca, jetre i kolangiokarcinom). Navedene smjernice su izvrsna destilacija trenutnih podataka i daju jasne preporuke za tipove tumora za koje postoji najbolji dokaz da bi NGS mogao biti od koristi. Pri tome je korištena ESMO ljestvica kliničke djelotvornosti molekularnih ciljeva (ESCAT – rangira podudaranje između lijeka i genomskih promjena prema djelotvornosti). Tako ESCAT razina I znači kako je podudaranje genomskih promjena i lijeka potvrđeno u kliničkim ispitivanjima te stoga lijek možemo rutinski koristiti u svakodnevnom radu dok primjerice ESCAT razina III znači kako su promjene potvrđene kod drugog raka, ali ne i kod bolesti koju treba liječiti. Time je prepoznata hipotetska terapijska meta koja zahtjeva dodatna klinička istraživanja. ESCAT rezultat je određen za svaku promjenu (genomsku alteraciju) u navedenih osam vrsta raka, potom je utvrđena prevalencija promjena te su naposljetku izdane preporuke koji bi pacijenti trebali biti testirani NGS-om.<sup>3</sup>

Tako bi, iz perspektive javnog zdravlja, prema ESMO-u, NGS rutinski trebalo koristiti kod bolesnika s metastatskim adenokarcinomom pluća, metastatskim rakom prostate, jajnika te kod metastatskog kolangiokarcinoma dok iz perspektive kliničkih istraživanja ESMO snažno preporučuje da klinički istraživački centri provode multigensko sekvenciranje kao dio svojih misija ubrzanja istraživanje raka i razvoja lijekova putem kliničkih ispitivanja što pacijentu omogućava pristup inovacijama, a kliničarima prikupljanje relevantnih podataka. Pacijenti s drugim vrstama raka također mogu sa svojim liječnicima odlučiti učiniti NGS testiranje na velikom panelu gena pod uvjetom da nema neprihvatljivih dodatnih troškova za javni zdravstveni sustav i da je pacijent informiran o relativnoj vjerojatnosti koristi.<sup>3</sup>

Unatoč rastućoj podršci genomskom testiranju kroz smjernice, implementacija NGS-a, a time i pristup pacijentima, razlikuje se diljem Europe i svijeta što posljedično negativno utječe na standard onkološke skrbi i unapređenje personalizirane medicine.<sup>2</sup>

## Materijali i metode

Proveli smo nesustavnu pretragu baza podataka (Pub Med, MEDLINE i Google Scholar) metodom desk istraživanja koristeći ključne riječi: sekvenciranje sljedeće generacije (Next generation sequencing-NGS), onkologija, personalizirana medicina, smjernice za korištenje NGS-a. Iz velikog broja nama dostupnih članaka izdvojili smo pregledne članke i rezultate kliničkih ispitivanja po jasnoći i inovativnosti u korištenju sekvenciranja sljedeće generacije u onkologiji. Od posebne su nam važnosti bile preporuke koji bi pacijenti trebali biti testirani NGS-om u onkološkoj praksi, koji su izazovi implementacije NGS-a u svakodnevnom onkološkom radu te što nam nosi budućnost.

## Rezultati

### *Trenutni izazovi pri implementaciji NGS-a u kliničku praksu*

Implementacija NGS-a, a time i pristup pacijentima, razlikuje se diljem Europe i svijeta. Te razlike negativno utječu na definiranje najbolje prakse, prekogranično razumijevanje i dijeljenje informacija, na standard onkološke skrbi kao i na unapređenje personalizirane medicine. S ciljem poboljšanja i prevladavanja razlika koje postoje tijekom prve polovice 2021. uspostavljeni su stručni paneli pod vodstvom Europske alijanse za personaliziranu medicinu (EAPM) u koje su uključeni ključni dionici iz 10 europskih zemalja (Belgija, Francuska, Njemačka, Izrael, Italija, Portugal, Republika Irska, Slovenija, Švicarska, UK) koji pokrivaju medicinsku, ekonomsku, pacijentove, industrijsku i vladinu ekspertizu.

Pri tome su detektirani najveći izazovi vezano uz ponudu i potražnju NGS testiranja.

Najveći izazovi potražnje su: upravljanje tj. kreiranje politike testiranja, dizajn inovativnih kliničkih istraživanja i njihova standardizacija radi lakše usporedbe rezultata kao i podizanje svijesti o važnosti NGS-a u kliničkoj praksi.

Što se pak tiče izazova vezano uz ponudu testova izdvaja se osiguranje pravedne naknade za testove kao i osiguravanje infrastrukture za provođenje i validaciju testova te edukacija i pristup testiranju kako bi se potaknulo stvaranje dokaza.<sup>2,4</sup>

Važnost molekularne dijagnostike u putevima liječenja raka prepoznao je i Europski plan za borbu protiv raka, predstavljen u veljači 2021. godine. Jedna od vodećih inicijativa navedenog plana je Dijagnostiranje i liječenje raka za sve čiji je poseban cilj poboljšati pristup inovativnim dijagnostičkim tehnikama i tretmanima raka, uključujući korištenje NGS tehnologije.<sup>5</sup>

Rezultati istraživanja pokazali su da u kliničkoj praksi postoji problem s odabirom NGS testa (hoćemo li odabrati test koji cilja određeni gen ili određeni skup gena ili ćemo odabrati test širokog molekularnog profiliranja). Upravo je odabir najbolje veličine panela izazvao intenzivnu raspravu među istraživačima i kliničarima. Pri tome na odluku najviše utječu: dostupnost uzorka, vrijeme obrade i isplativost. Također su istraživanja pokazala kako postoje problemi s interpretacijom nalaza NGS-a. Tako je istraživanje 19 europskih zemalja pokazalo kako 39% kliničara koji se bavi NSCLC rakom pluća ima poteškoće s razumijevanjem rezultata NGS-a dok je istraživanje američkih autora pokazalo kako su stope molekularnog testiranja manje od 50% u Kaliforniji te nešto više od 1/3 kliničara nije bilo zadovoljno uvjetima molekularnog testiranja u svojoj zemlji, navodeći zabrinutost zbog vremena potrebnog za dobivanje rezultata i poteškoće u razumijevanju nalaza.<sup>6</sup>

Pri interpretaciji rezultata NGS-a važnu ulogu ima molecular tumor board (MTB). Primjer potpuno virtualnog i nacionalnog molecular tumor boarda je talijanski MTB usmjeren na ginekološke karcinome koji je aktivan od sredine 2021. godine. Projekt je usklađen s Registrom genetičkog profila ginekoloških karcinoma (GYNGER). Članovi MTB-a su internistički onkolozi, ginekolozi, patolozi, molekularni biolozi, genetičari kao i koordinatori kliničkih studija. Sastaju se virtualno jednom u 14 dana, a nakon što kliničar 48 sati prije sastanka u platformu unese kliničke podatke o pacijentu kao i nalaz NGS-a. Temeljem svih relevantnih informacija pacijentu se preporučuje liječenje prema ESCAT ljestvici ili se usmjerava u klinička ispitivanja s ciljem unaprjeđenja onkološkog liječenja.<sup>1</sup>

### *NGS – pogled u budućnost*

Zbog sve većeg broja informacija kojima su onkolozi svakodnevno izloženi u budućnosti će nam od velike pomoći biti virtualna platforma za molekularne tumor boardove tj. virtualni molecular tumor board (VMTB) temeljen na oblaku. Radi se o kliničkom alatu koji sustavno kombinira molekularne podatke pacijenata, dokaze iz stvarnog svijeta iz elektroničkih zdravstvenih zapisa i stručno kreirane baze znanja o biomarkerima s računalnim alatima za rangiranje najboljih tretmana.<sup>7</sup>

Također možemo očekivati kako će se u budućnosti mnogo više pacijenata liječiti temeljem detektirane genomske promjene koja pokreće rast tumora, a ne temeljem lokacije tumora zbog čega će pristup sveobuhvatnim, visokokvalitetnim testovima biti sve važniji. To će doprinijeti transformaciji onkološkog liječenja tako da ćemo tumor specifičnu terapiju zamijeniti tumor agnostičkom terapijom tj. liječenje nećemo bazirati na primarnom sijelu bolesti već na onkogenom driveru.<sup>11</sup>

## Zaključak

Povećana priuštivost, pristupačnost i pouzdanost platformi za sekvenciranje visoke propusnosti DNA i RNA i bioinformatičkih sposobnosti omogućuju onkolozima pružanje personaliziranije skrbi, koja se često naziva precizna onkologija.<sup>4</sup>

Međutim, ubrzani razvoj i difuzija novih komercijalnih i nekomercijalnih panela za sekvenciranje gena otežali su učinkovito implementiranje NGS-a u rutinsku onkološku praksu, osobito zbog nedostatnih podataka o njihovoj kliničkoj korisnosti i ograničenoj dostupnosti kliničkih smjernica utemeljenih na dokazima. Također onkolozi se sve više suočavaju s odlukama o tome hoće li naručiti nekoliko ciljanih testova ili multigene panele.<sup>8–10</sup>

Velik problem kliničarima predstavlja i interpretacija rezultata multigenskih testiranja. Tako je prema američkim autorima, temeljem rezultata nacionalno reprezentativnog istraživanja onkologa u Sjedinjenim Državama, više od 50% onkologa izjavilo da često ili ponekad imaju poteškoća s tumačenjem rezultata NGS-a.<sup>11</sup>

No, usprkos trenutnim poteškoćama u provođenju NGS-a u kliničkoj praksi u budućnosti će se mnogo više vrsta raka liječiti na temelju genomske promjene koja pokreće rast tumora, a ne na temelju lokacije tumora te će stoga pristup sveobuhvatnim, visokokvalitetnim testovima biti sve važniji.<sup>12</sup> To u praksi znači kako ćemo tumor specifičnu terapiju zamijeniti tumor agnostičkom terapijom gdje bolesnike nećemo liječiti prema sijelu bolesti već prema detektiranim onkogenim driverima odgovornim za rast i širenje tumora.<sup>13</sup>

## LITERARURA / LITERATURE:

1. Bartoletti M, Bergamini A, Giannone G, Nero C, Musacchio L, Farolfi A et al. A fully virtual and nationwide molecular tumor board for gynecologic cancer patients: the virtual experience of the MITO cooperative group. *International Journal Of Gynecologic Cancer*, 2022, ijgc-2022-003425. <https://doi.org/10.1136/ijgc-2022-003425>
2. Horgan D, Curigliano G, Rieß O, Hofman P, Büttner R, Conte P et al. Identifying the Steps Required to Effectively Implement Next-Generation Sequencing in Oncology at a National Level in Europe. *Journal Of Personalized Medicine*, 2022, 12(1), 72. <https://doi.org/10.3390/jpm12010072>
3. Mosele F, Remon J, Mateo J, Westphalen C, Barlesi F, Lolkema M et al. Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Annals Of Oncology*, 2020, 31(11), 1491–1505. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.07.014>
4. Collins FS, Varmus H: *A new initiative on precision medicine*. *N Engl J Med* 2015, 372:793–795.
5. *Europska zdravstvena unija*. Europska komisija – European Commission. Retrieved 23 August 2022, from [https://ec.europa.eu/info/strategy/priorities-2019-2024/promoting-our-european-way-life/european-health-union\\_hr](https://ec.europa.eu/info/strategy/priorities-2019-2024/promoting-our-european-way-life/european-health-union_hr).
6. Gregg JP, Li T, Yoneda KY. Molecular testing strategies in non-small cell lung cancer: optimizing the diagnostic journey. *Transl Lung Cancer Res*. 2019 Jun;8(3):286–301. [cited 2020 Jun 8] Available from: <http://tldr.amegroups.com/article/view/29030>.
7. Pishvaian MJ et al. “A virtual molecular tumor board to improve efficiency and scalability of delivering precision oncology to physicians and their patients.” *JAMIA Open* 2, 2019: 505 – 515.
8. Wideroff L, Freedman AN, Olson L, et al. Physician use of genetic testing for cancer susceptibility: Results of a national survey. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003, 12:295–303,
9. Miller FA, Krueger P, Christensen RJ, et al. Postal survey of physicians and laboratories: Practices and perceptions of molecular oncology testing. *BMC Health Serv Res* 2009, 9:131.
10. Ettinger DS, Wood DE, Akerley W et al. NCCN guidelines insights: Non-small cell lung cancer, version 6.2015. *J Natl Compr Cancer Netw*, 2015, 13:515–524
11. Freedman A, Klabunde C, Wiant K, Enewold L, Gray S, Filipowski K et al. Use of next-generation sequencing tests to guide cancer treatment: Results from a survey of U.S. oncologists. *Journal Of Clinical Oncology*, 2018, 36(15\_suppl), 6529–6529. [https://doi.org/10.1200/jco.2018.36.15\\_suppl.6529](https://doi.org/10.1200/jco.2018.36.15_suppl.6529)
12. Garber K. In a major shift, cancer drugs go ‘tissue-agnostic’. *Science* 2017, 356:1111–1112.
13. Doebele R. (2019). PL01.01 Tumor-Agnostic Biologically Driven Treatments: An Endless Dream?. *Journal Of Thoracic Oncology*, 14(10), S2. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2019.08.051>

## USPOREDBA ANTRACIKLINSKIH I NEANTRACIKLINSKIH PROTOKOLA U NEOADJUVANTNOM LIJEČENJU HER2 POZITIVNOG RAKA DOJKE U KBC ZAGREB

GUDELJ D.<sup>1</sup>, Čular K.<sup>1</sup>, Toula L.<sup>1</sup>, Vičić I.<sup>1</sup>, Dedić Plavetić N.<sup>1,2</sup>, Popović M.<sup>1</sup>, Križić M.<sup>1</sup>, Pleština S.<sup>1</sup>, Silovski T.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinički bolnički centar Zagreb

• Klinika za onkologiju

<sup>2</sup>Sveučilište u Zagrebu

• Medicinski fakultet

dora.gudelj1@gmail.com

**Sažetak:** *Cilj:* Standard u liječenju HER2 pozitivnog raka dojke većeg od 2 cm i/ili s pozitivnim limfnim čvorovima pazuha je neoadjuvantna primjena kombinacije kemoterapije (antraciklinski ili neantraciklinski protokoli) i dualne antiHER2 terapije (trastuzumab + pertuzumab). Cilj ovog istraživanja bio je usporediti ishod – stopu kompletnog patološkog odgovora na neoadjuvantnu primjenu antraciklinskih i neantraciklinskih protokola u liječenju ranog HER2 pozitivnog raka dojke.

**Metode:** Provedeno je retrospektivno istraživanje koje je uključilo ukupno 83 bolesnika s HER2 pozitivnim rakom dojke koji su od 1.1.2020. do 31.12.2021. bili liječeni neoadjuvantnom terapijom u KBC Zagreb.

Bolesnici su bili podijeljeni u dvije skupine ovisno o apliciranom protokolu:

- 1) antraciklinska skupina: 4 ciklusa AC – doksorubicin + ciklofosamid (svaka 3 ili 2 tjedna), potom 12 ciklusa tjednog paklitaksela uz trastuzumab i pertuzumab svaka 3 tjedna
- 2) ne-antraciklinska skupina: TCPH (6 ciklusa docetaksel, karboplatin, pertuzumab, trastuzumab, svaka 3 tjedna) ili protokol po TRAIN2 studiji (9 ciklusa paklitaksel 1. i 8. dan, karboplatin, pertuzumab, trastuzumab 1. dan, svaka 3 tjedna)

**Rezultati:** Od ukupno 83 bolesnika, njih 87% (72/83) je bilo liječeno antraciklinskim, a 13% (11/83) neantraciklinskim protokolom. Ukupno 95% (79/83) bolesnika je završilo neoadjuvantno liječenje: 96% (69/72) u antraciklinskoj i 91% (10/11) u neantraciklinskoj skupini. U dvije bolesnice u antraciklinskoj skupini je zabilježena progresija bolesti tijekom neoadjuvantnog liječenja, a jedna bolesnica u neantraciklinskoj skupini nije završila liječenje uslijed nepodnošenja kemoterapije (polineuropatija). Kompletni patološki odgovor (pCR) je postignut u ukupno 61% bolesnika: 58% (40/69) u antraciklinskoj i 80% (8/10) u neantraciklinskoj skupini.

**Zaključak:** Iako je ovo istraživanje provedeno na relativno malom broju bolesnika, stopa kompletnog patološkog odgovora postignuta primjenom neantraciklinskih protokola usporediva je stopi postignutoj primjenom antraciklinskih protokola. Potrebno je daljnje praćenje kako bi se procijenila učinkovitost i utjecaj primijenjenih protokola na odgođenu kardijalnu i drugu toksičnost.

### Uvod

Rak dojke najčešći je zloćudni tumor u žena te drugi najčešći uzrok smrti od raka. (1) Prema proširenosti bolesti dijeli se na rani, lokalno uznapredovali te metastatski rak, a prema biologiji odnosno na temelju imunohistokemijskih biljega razlikujemo četiri surogatna podtipa: luminalni A i B (hormonski ovisni, HER2 negativni), HER2 pozitivni i trostruko negativni. Terapijske opcije ovise o stadiju i intrinzičnom podtipu.

Neoadjuvantna kemoterapija se primarno koristila u svrhu redukcije veličine tumora kod inicijalno inoperabilnih tumora. U novije vrijeme neoadjuvantna kemoterapija je standard liječenja i operabilnih tumora, osobito agresivnijih podtipova – HER2 pozitivnih i trostruko negativnih, kod kojih je vjerojatnost postizanja kompletnog patološkog odgovora velika. Patološki kompletni odgovor (pCR) je glavni parametar ishoda neoadjuvantnog liječenja koji ima prognostičku i prediktivnu vrijednost, a u nekoliko studija je dokazana i njegova povezanost s preživljenjem bez povrata bolesti (DFS) i ukupnim preživljenjem (OS). Lokalni odgovor na primjenu neoadjuvantne kemoterapije pruža vrijedne informacije o učinku primijenjene terapije in vivo te može usmjeriti odabir odgovarajućih lijekova u adjuvantnom liječenju u slučaju nepotpunog patološkog odgovora.

Rak dojke s prekomjernom ekspresijom HER2 proteina čini 15–20% svih slučajeva raka dojke i u svezi je s lošijim ishodom. Neoadjuvantna kemoterapija indicirana je kod HER2 pozitivnih tumora većih od 2 cm i/ili s pozitivnim limfnim čvorovima pazuha. (2,3)

Standardno neoadjuvantno liječenje ranog HER2 pozitivnog raka danas uključuje i ciljano antiHER2 liječenje – dualnu antiHER2 blokadu, koja podrazumijeva kombinaciju trastuzumaba i pertuzumaba. Nekoliko studija koje su ispitivale učinkovitost neoadjuvantne terapije kod HER2 pozitivnog raka je potvrdilo korist dodatka

inicijalno trastuzumaba (NOAH, TECHNO), a kasnije trastuzumaba i pertuzumaba kemoterapiji (NEOSPHERE, TRYPHENA, TRAIN2) u vidu povećanja stope kompletnog patološkog odgovora i poboljšanja dugoročnih ishoda u usporedbi s primjenom same kemoterapije. (4–8)

Kemoterapijski protokoli koji se primjenjuju u neoadjuvatnom liječenju HER2 pozitivnog raka dojke mogu se podijeliti u dvije skupine:

- antraciklinski protokoli – sekvencijska primjena kemoterapije temeljene na antraciklinima te kombinacije taksana i ciljane antiHER2 terapije
- neantraciklinski protokoli – primjena kombinacije kemoterapije temeljene na taksanima i ciljane antiHER2 terapije uz izostavljanje sekvencijske primjene antraciklina

Uzimajući u obzir kardiotsičnost antiHER2 lijekova te kumulativnu kardiotsičnost antraciklina, u nekoliko studija su uspoređivani ishodi liječenja različitim protokolima. TRAIN 2 studija je pokazala da neantraciklinski protokoli nisu inferiorniji u postizanju pCR u odnosu na antraciklinske, a uz smanjenu kardiotsičnost. (7) U TRYPHAENA studiji nije bila zabilježena veća kardiotsičnost antraciklinskih protokola u usporedbi s neantraciklinskim, u kombinaciji s dualnom antiHER2 blokadom. (8)

Cilj ovog istraživanja bio je usporediti ishode antraciklinskih i neantraciklinskih protokola u neoadjuvatnom liječenju bolesnika s HER2 pozitivnim rakom dojke u Klinici za onkologiju KBC Zagreb.

## Materijali i metode

Provedeno je retrospektivno istraživanje koristeći se podacima iz bolničkog informacijskog sustava (BIS) i CATO integriranog programa podrške u isporučivanju kemoterapije, a uz prethodno odobrenje Etičkog povjerenstva KBC-a Zagreb. Iz CATO programa su ekstrahirani podaci za razdoblje od 1.1.2020. do 31.12.2021. o svim bolesnicima koji su u navedenom razdoblju bili liječeni neoadjuvantnom terapijom. Za svakog od bolesnika su, pretraživanjem BIS-a, analizirani demografski podaci, radiološke i patohistološke karakteristike tumora u trenutku dijagnoze te po provedenom neoadjuvantnom liječenju, a u ovisnosti o primijenjenom protokolu kemobioterapije.

Od kemoterapijskih protokola korišteni su:

antraciklinski:

- a) AC – TPH: 4 ciklusa doksorubicin + ciklofosamid u razmacima od 3 tjedna ili od 2 tjedna (dose dense), potom 12 ciklusa tjednog paklitaksela uz konkomitantnu dualnu antiHER2 blokadu pertuzumab i trastuzumab, svaka 3 tjedna.

neantraciklinski:

- a) TCPH protokol : 6 ciklusa docetaxel i karboplatin uz pertuzumab i trastuzumab, svaka 3 tjedna.
- b) protokol prema TRAIN2 studiji: karboplatin 1. dan, paklitaxel 1. i 8. dan, pertuzumab i trastuzumab 1. dan; svaka 3 tjedna.

Kao primarni ishod je uzeta stopa pCR-a između skupina koje su primale antraciklinske i neantraciklinske kemoterapijske protokole.

## Rezultati

U razdoblju od 1.1.2020. do 31.12.2021. se neoadjuvantno, neovisno o fazi, liječilo 143 bolesnika. Nakon utvrđivanja HER2 statusa na inicijalnoj biopsiji, izdvojeno je 83 bolesnika s HER2 pozitivnim rakom dojke, koji su bili podijeljeni u 2 skupine: 1) liječeni antraciklinskim protokolom i 2) liječeni neantraciklinskim protokolom. Od ukupno 83 bolesnika, njih 87% (72/83) je bilo liječeno antraciklinskim, a 13% (11/83) neantraciklinskim protokolom. Svi bolesnici su bili ženskog spola. Prosječna dob svih bolesnika u trenutku postavljanja dijagnoze je bila 55 godine (min 29, max 83). Zabilježen je i status hormonskih receptora ER i PR, pa je tako od 83 bolesnice, njih 51 (61%) imalo pozitivne hormonske receptore: 45 (62,5%) u antraciklinskoj skupini, a 6 (54,5%) u neantraciklinskoj skupini. Prosječna veličina primarnog tumora prije početka neoadjuvantnog liječenja je bila 37,4 mm: u antraciklinskoj skupini 37,4 mm, a u neantraciklinskoj skupini 37,5 mm. Ukupno 52% (43/83) bolesnica je imalo pozitivne limfne čvorove pazuha: 50% (36/72) u antraciklinskoj i 64% (7/11) u neantraciklinskoj skupini.

Ukupno 95% bolesnica je završilo neoadjuvantno liječenje, 96% (69/72) u antraciklinskoj i 91% (10/11) u neantraciklinskoj skupini. Od četiri bolesnice koje nisu završile liječenje, kod dvije iz antraciklinske skupine je zabilježena progresija bolesti u vidu novonastalih moždanih metastaza, kod jedne bolesnice iz antraciklinske skupine podaci o razlogu prekida nisu bili dostupni, a kod jedne bolesnice iz neantraciklinske skupine liječenje

je prekinuto zbog polineuropatije visokog stupnja. Na snimkama MR-a dojke, nakon završetka neoadjuvantne kemoterapije, a prije operativnog zahvata, u ukupno 33 bolesnika (39,7%) je zabilježen kompletan radiološki odgovor dok je u 39 bolesnika (47%) zabilježen parcijalni odgovor. Stabilna bolest je zabilježena u 2 bolesnika (2,4%), a u jednog bolesnika (1,2%) je zabilježena radiološka progresija bolesti. U 8 bolesnika (9,6%) nalaz preoperativnog MR-a nije bio dostupan.

Kompletni patološki odgovor (pCR) je postignut u ukupno 61% (48/79) bolesnika: 58% u antraciklinskoj i 80% (8/10) u neantraciklinskoj skupini. U bolesnika u kojih nije postignut kompletan patološki odgovor ostatna bolest je u 6,4% slučajeva karakterizirana kao RCB III, u 51,6% slučajeva kao RCB II, a u 42% slučajeva kao RCB I. Postotak pozitivnih limfnih čvorova u aksili u trenutku operativnog zahvata bio je 17,9%: 20,5% u antraciklinskoj i 0% u neantraciklinskoj skupini.

Stope pCR dobivene ovim istraživanjem u potpunosti su usporedive s podacima iz kliničkih studija koje su uspoređivale antraciklinske s neantraciklinskim protokolima poput TRYPHAENA-e i TRAIN2 studije.

## Zaključak

Zaključno, iako se radi o početnom iskustvu uvođenja neantraciklinskih protokola u svakodnevnu kliničku praksu te malom broju bolesnika, postignuta stopa potpunog patološkog odgovora usporediva je stopi postignutoj primjenom antraciklinskih protokola uz dobru podnošljivost. Daljnje praćenje je potrebno da bi se mogla usporediti kardijalna toksičnost različitih protokola kao i pojavnost drugih kasnih toksičnosti.

## COMPARISON OF ANTHRACYCLINE AND NON-ANTHRACYCLINE REGIMENS IN THE NEOADJUVANT TREATMENT OF HER2-POSITIVE BREAST CANCER AT UNIVERSITY HOSPITAL CENTRE ZAGREB

GUDELJ D.<sup>1</sup>, Čular K.<sup>1</sup>, Toula L.<sup>1</sup>, Vičić I.<sup>1</sup>, Dedić Plavetić N.<sup>1,2</sup>, Popović M.<sup>1</sup>, Križić M.<sup>1</sup>, Pleština S.<sup>1</sup>, Silovski T.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University Hospital Centre Zagreb  
• Department of Oncology

<sup>2</sup>University of Zagreb  
• School of Medicine

**Summary:** *Background:* Neoadjuvant chemotherapy (anthracycline or non-anthracycline based protocols) in combination with dual antiHER2 therapy (trastuzumab + pertuzumab) has become the standard of care for HER2-positive breast cancer larger than 2 cm and/or with positive axillary lymph nodes. This study aimed to compare outcome – complete pathologic response (pCR) rate, of anthracycline-based regimens to the non-anthracycline ones in neoadjuvant treatment of HER2-positive early breast cancer (eBC).

**Methods:** This retrospective study included 83 patients with HER2-positive eBC who received neoadjuvant chemiotherapy (NACT) between January 2020 and December 2021 at the University Hospital Centre Zagreb. Patients were divided into two groups based on the received regimen:

- 1) anthracycline group: 4 cycles of AC – doxorubicin + cyclophosphamide (every 2 or 3 weeks) followed by 12 weekly cycles of paclitaxel combined with trastuzumab and pertuzumab every three weeks.
- 2) non-anthracycline group: TCPH (6 cycles of docetaxel, carboplatin, pertuzumab, trastuzumab, every 3 weeks), or TRAIN2 study-based regimen (9 cycles of paclitaxel – day 1 and 8, carboplatin, pertuzumab, trastuzumab – day 1, every 3 weeks)

**Results:** Of all patients, 87% (72/83) were treated with an anthracycline-based regimen and 13% (11/83) with a non-anthracycline one. Altogether 95% (79/83) patients completed NACT, 96% (69/72) in the anthracycline group and 91% (10/11) in the non-anthracycline group. Disease progression was recorded in 2 patients during NACT in the anthracycline group, and in the non-anthracycline group one patient did not complete the treatment due to polyneuropathy.

A pathological complete response (pCR) was achieved in 61% of cases: in 58% (40/69) of patients in the anthracycline and in 80% (8/10) of patients in the non-anthracycline group.

**Conclusion:** Although this study included only modest number of patients, the rate of pCR achieved with the use of non-anthracycline-based protocols is comparable to the one achieved using anthracycline-based ones.

Further follow-up is necessary to compare efficacy as well as cardiac toxicity and other adverse events between investigated treatment regimens.

## Introduction

Breast cancer is the most common malignant tumor in women and the second leading cause of death by cancer. (1) It can be categorized by the extent of the disease into early, locally advanced and metastatic breast cancer and, based on biology, into four surrogate subtypes: luminal A-like or B-like, HER2 overexpressing, and triple-negative breast cancer. The treatment depends on the stage of the disease as well as its intrinsic subtype. Neoadjuvant chemotherapy (NACT) was primarily used to treat inoperable tumors to reduce tumor size and enable surgery. Nowadays, it is the standard of care for operable tumors as well, especially for aggressive subtypes such as HER2-positive or triple-negative breast cancers, which have a great probability of achieving a pathological complete response. Pathological complete response (pCR) is the primary outcome of NACT, it has prognostic and predictive value, and its rate has been associated with longer disease-free survival (DFS) and overall survival (OS) in several studies. Local response to NACT offers valuable information on in vivo efficacy of treatment and it can direct the use of other suitable drugs in adjuvant treatment in case of an incomplete pCR. HER2 overexpressing type makes up 15–20% of all breast cancer types and is associated with poorer outcomes. Neoadjuvant chemotherapy is indicated in all HER2-positive tumors larger than 2 cm in size with or without positive axillary lymph nodes. (2,3) Neoadjuvant treatment of HER2 positive early breast cancer nowadays includes targeted anti-HER2 therapy – dual antiHER2 blockage which involves the combination of trastuzumab and pertuzumab. The benefit of adding first trastuzumab alone (NOAH, TECHNO) and later trastuzumab in combination with pertuzumab to chemotherapy (NEOSphere, Tryphena, TRAIN2) in neoadjuvant treatment of HER2 positive breast cancer has been confirmed in several studies and is associated with a higher rate of pCR as well as improved long-term outcomes in comparison with the use of chemotherapy alone. (4–8) Chemotherapy regimens used in neoadjuvant treatment of HER2 positive breast cancer can be classified into two groups: 1. anthracycline-based regimens: sequential use of anthracycline-based chemotherapy followed by concomitant use of taxane and anti-HER2 drugs. 2. non-anthracycline-based regimens: the combination of taxane-based chemotherapy with targeted antiHER2 therapy. Considering cardiotoxicity of antiHER2 drugs and the cumulative cardiotoxicity of anthracyclines, several studies have compared the outcomes of different protocols. TRAIN 2 study has shown that non-anthracycline-based regimens are not inferior in achieving pCR compared to those anthracycline-based, and with a smaller number of cardiac adverse events. (7) TRYPHAENA study did not show greater cardiotoxicity with the use of anthracycline-based regimens and dual antiHER2 blockage. (8) This research aimed to compare outcomes of anthracycline-based regimens to the non-anthracycline-based ones in neoadjuvant treatment of patients with HER2-positive breast cancer at the University Hospital Centre Zagreb.

## Materials and methods

A retrospective study was conducted using data from the hospital information system (BIS) and the CATO – integrated program of support in the delivery of chemotherapy, with the prior approval of the Ethics Committee of University Hospital Centre Zagreb. Data was extracted from CATO for all patients who received neoadjuvant treatment between January 1st, 2020, and December 31st, 2021. Furthermore, for each patient we have analyzed demographic data, radiological and pathohistological characteristics of the tumor at the time of diagnosis and after the neoadjuvant treatment and chemotherapeutic protocol which was applied.

The following chemotherapy protocols were used:

1. anthracycline-based:

a. AC – TPH: 4 cycles of doxorubicin + cyclophosphamide at three or two (dose-dense) week intervals (dose-dense), followed by 12 cycles of weekly paclitaxel with concomitant dual antiHER2 blockade pertuzumab and trastuzumab every 3 weeks.

2. non-anthracycline-based:

a. TCPH protocol: 6 cycles of docetaxel + carboplatin with pertuzumab and trastuzumab, every 3 weeks.

b. protocol according to the TRAIN2 study: carboplatin on day 1, paclitaxel on days 1 and 8, pertuzumab and trastuzumab on day 1; every 3 weeks, for 9 cycles.

The primary outcome was the pCR rate between the groups receiving anthracycline and non-anthracycline chemotherapy protocols.



## Results

In the period between January 1st, 2020, and December 31st, 2021, 143 patients have received neoadjuvant treatment. After determining the HER2 status on the initial biopsy, 83 patients with HER2-positive breast cancer were selected and divided into two groups: 1) treated with anthracycline protocol and 2) treated with a non-anthracycline protocol. Out of a total of 83 patients, 87% (72/83) of them were treated with an anthracycline, and 13% (11/83) were treated with a non-anthracycline-based protocol. All patients were female. The average age of all patients at the time of diagnosis was 55 years (min 29, max 83). The status of the hormone receptors ER and PR was also recorded, and 51 out of 83 patients (61.3%) had positive hormone receptors: 45 in the anthracycline group, and 6 in the non-anthracycline group. The average size of the primary tumor before initiating neoadjuvant treatment was 37.4 mm; in the anthracycline group 37.4 mm, and in the non-anthracycline group 37.5 mm. A total of 52% (43/83) of patients had positive axillary lymph nodes: 50% (36/72) in the anthracycline and 64% (7/11) in the non-anthracycline group. A total of 95% of patients completed neoadjuvant treatment: 96% in anthracycline (69/72) and 91% (10/11) in the non-anthracycline group. Four patients did not complete the treatment: two from the anthracycline group had disease progression – brain metastases, for one patient from the anthracycline group data was not available, and in one patient from the non-anthracycline group the treatment was discontinued due to high grade polyneuropathy. On pre-surgery breast MR images, after the completion of neoadjuvant chemotherapy, in 33 patients (39.7%) a complete radiological response was recorded, while a partial response was recorded in 39 (47%) patients. Stable disease was recorded in 2 patients (2.4%), and radiological progression of the disease was recorded in 1 patient (1.2%). In 8 (9.6%) patients, the findings of the preoperative MRI were not available. A complete pathological response (pCR) was achieved in a total of 61% of patients (48/79): 58% (40/69) in the anthracycline and 80% (8/10) in the non-anthracycline group. In patients in whom a complete pathological response was not achieved, the remaining disease was characterized as RCBIII in 6.4% of cases, in 51.6% of cases as RCBII, and 42% of cases as RCB I. Percentage of positive lymph nodes in axilla was 17.9%: 20.5% in the anthracycline group and 0% in the non-anthracycline group. The pCR rates obtained in this study are completely comparable with the data from the clinical studies comparing anthracycline-based and non-anthracycline-based protocols like TRYPHAENA and TRAIN.

## Conclusion

In conclusion, although this is the initial experience of introducing non-anthracycline protocols into our clinical practice which includes only a small number of patients, the achieved rate of complete pathological response is comparable to the rate achieved using anthracycline protocols with good tolerability. Further follow-up is needed to compare the cardiac toxicity and other toxicities between different protocols.

## LITERATURA / LITERATURE:

1. Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2019., Bilten 44, Zagreb, 2021.
2. Vasconcelos I, Hussainzada A, Berger S, Fieze E, Linke J, Sledentopf F et al.: The St. Gallen surrogate classification for breast cancer subtypes successfully predicts tumor presenting features, nodal involvement, recurrence patterns and disease free survival. *The Breast* [Internet], 2016;29:181–5.
3. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®) Breast Cancer Version 4.2022 — June 21, 2022. NCCN.org
4. Gianni L, Eiermann W, Semiglazov V, Manikhas A, Lluch A, Tjulandin S, et al. Neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab followed by adjuvant trastuzumab versus neoadjuvant chemotherapy alone, in patients with HER2-positive locally advanced breast cancer (the NOAH trial): a randomised controlled superiority trial with a parallel HER2-negative cohort. *Lancet* [Internet]. 2010;375(9712):377–84.
5. Untch M, Fasching PA, Konecny GE, Hasmüller S, Lebeau A, Kreinberg R, et al. Pathologic Complete Response After Neoadjuvant Chemotherapy Plus Trastuzumab Predicts Favorable Survival in Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Overexpressing Breast Cancer: Results From the TECHNO Trial of the AGO and GBG Study Groups. *Journal of Clinical Oncology*. 2011;29:3351–7.
6. Gianni L, Pienkowski T, Im Y-H, Roman L, Tseng L-M, Liu M-C, 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* [Internet]. 2012;13(1):25–32.
7. van der Voort A, van Ramshorst MS, van Werkhoven ED, Mandjes IA, Kemper I, Vulink AJ, et al. Three-year follow-up of neoadjuvant chemotherapy with or without anthracyclines in the presence of dual ERBB2 blockade in patients with ERBB2-positive breast cancer: A secondary analysis of the TRAIN-2 randomized, phase 3 trial. *JAMA Oncol* [Internet]. 2021;7(7):978.
8. Schneeweiss A, Chia S, Hickish T, Harvey V, Eniu A, Waldron-Lynch M, et al. Long-term efficacy analysis of the randomised, phase II TRYPHAENA cardiac safety study: Evaluating pertuzumab and trastuzumab plus standard neoadjuvant anthracycline-containing and anthracycline-free chemotherapy regimens in patients with HER2-positive early breast cancer. *Eur J Cancer* [Internet]. 2018;89:27–35.