

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI
GENOVA**
SCUOLA DI SCIENZE MEDICHE E FARMACEUTICHE



**CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN
MEDICINA E CHIRURGIA**

**EFFICACIA DI TRASTUZUMAB EMTANSINE
(T-DM1) NELLE PAZIENTI CON CARCINOMA
MAMMARIO METASTATICO HER-2 POSITIVO:
RISULTATI DELLO STUDIO
OSSERVAZIONALE MULTICENTRICO
BIOMETA**

Relatore:

Prof.ssa Del Mastro Lucia

Correlatore:

Prof. Lambertini Matteo

Candidato:

Bonomi Giorgio

Matricola n. 4134835

ANNO ACCADEMICO 2019-2020

INDICE

INTRODUZIONE	4
EPIDEMIOLOGIA	4
CLASSIFICAZIONE ISTOLOGICA	6
1. Carcinomi invasivi non di isotipo speciale	6
2. Carcinoma lobulare infiltrante	6
3. Altri isotipi speciali.....	6
CARATTERIZZAZIONE BIOLOGICA	8
ALTRI FATTORI PROGNOSTICI E PREDITTIVI	11
STADIAZIONE	14
TRATTAMENTO	18
CARCINOMA IN FASE INIZIALE E CARCINOMA LOCALMENTE AVANZANTO	18
CARCINOMA MAMMARIO METASTATICO	23
BIOLOGIA E TERAPIE TARGET DEL CARCINOMA MAMMARIO HER-2 POSITIVI	25
CARCINOMA MAMMARIO METASTATICO e CARCINOMA MAMMARIO METASTATICO HER-2 POSITIVO	28
TERAPIA del CARCINOMA MAMMARIO Her-2 POSITIVO	31
RAZIONALE DELLO STUDIO	38
OBIETTIVI DELLO STUDIO	39
METODI	40
Disegno dello studio GIM14/ BIOMETA	40
Criteri di eleggibilità dello studio GIM14/BIOMETA	41
Raccolta dei dati dello studio GIM14/BIOMETA	41
Popolazione di studio	42
Analisi statistica	42
RISULTATI	43
DISCUSSIONE	46
CONCLUSIONI	51
RINGRAZIAMENTI	52
BIBLIOGRAFIA	53

INTRODUZIONE

EPIDEMIOLOGIA

Il tumore alla mammella è la neoplasia più frequente nel sesso femminile, in Italia rappresenta il 30% delle neoplasie diagnostiche, seguito dai tumori del colon-retto (12%), del polmone (12%), della tiroide (5%) e del corpo dell'utero (5%). Considerando le frequenze nelle varie fasce di età, il tumore al seno è il più diagnosticato sia prima dei 49 anni (40%), sia tra i 50-69 (35%) e anche oltre i settanta anni (22%). La sopravvivenza a 5 anni è dell'87 % mentre quella a 10 anni è pari all'80%¹.

L'analisi del trend evidenzia un consistente aumento della sopravvivenza nel corso del tempo; nonostante ciò, questo tipo di tumore resta la prima causa di morte oncologica nelle donne rappresentando il 28% dei decessi prima dei 50 anni, il 21% tra i 50 e i 69 anni e il 14% tra le donne di età superiore ai 70 anni; la mortalità risulta comunque essere in calo soprattutto nelle donne con meno di 50 anni e questo potrebbe essere attribuibile ad un aumento dei programmi di diagnosi precoce e di conseguenza all'anticipazione diagnostica.¹

Sempre questa ragione, insieme all'estensione dei programmi di screening sino ai 74 aa, potrebbe essere alla base di un leggero aumento (+0.8%) dell'incidenza della malattia nel nostro Paese. Ad oggi in Italia complessivamente vivono 800.000 donne con una diagnosi di carcinoma al seno¹.

Il rischio di ammalarsi di carcinoma mammario aumenta con l'aumentare dell'età e questa malattia presenta due picchi di diagnosi: il primo intorno ai 50-55 e il secondo dopo i 60 anni¹.

Altri fattori di rischio sono:

- Fattori ormonali: aumentato rischio nelle donne che assumono contraccettivi orali e terapia sostitutiva durante la menopausa²;

- Fattori riproduttivi: un menarca precoce ed una menopausa tardiva determinano un'esposizione più lunga della ghiandola mammaria allo stimolo estrogenico aumentando così il rischio di insorgenza di carcinoma mammario. Altri fattori molto importanti sono rappresentati dalla nulliparità, una gravidanza a termine dopo i 30 anni e il mancato allattamento al seno²;
- Fattori dietetici e metabolici: un elevato consumo di alcol e di grassi animali a sfavore invece del consumo di fibre vegetali sembrerebbe portare ad un aumento del rischio di sviluppare il tumore alla mammella. Un ruolo chiave viene giocato anche dall'obesità postmenopausale in quanto il tessuto adiposo in questa fase della vita risulta essere la principale fonte di estrogeni. Diversi studi hanno anche dimostrato l'associazione tra sindrome metabolica e sviluppo del cancro mammario^{3,4};
- Pregressa radioterapia: in particolar modo a livello toracico e se effettuata prima dei 30 anni⁵;
- Precedenti neoplasie o displasie mammarie ⁵;
- Ereditarietà: il 5/7% dei tumori al seno risulta essere legato a fattori ereditari. I più importanti sono le mutazioni a carico dei geni BRCA1 e BRCA2; le donne portatrici di mutazioni del gene BRCA1 hanno un rischio cumulativo del 60% di ammalarsi di tumore al seno, mentre nelle donne con mutazioni del gene BRCA2 il rischio è del 40 %; oltre a ciò le mutazioni nei geni sopracitati aumentano anche il rischio di ammalarsi di tumore all'ovaio⁶.

CLASSIFICAZIONE ISTOLOGICA

Esistono principalmente due tipi istologici di carcinomi al seno: il gruppo dei carcinomi invasivi non di isotipo speciale (NST) e quello dei carcinomi ad isotipo speciale; il 75% delle diagnosi rientra nel primo gruppo, mentre il restante 25% nella categoria dei carcinomi ad isotipo speciale di cui il principale è il carcinoma lobulare⁵.

1. Carcinomi invasivi non di isotipo speciale

Rappresentano il 75% delle diagnosi di carcinoma al seno; vengono definiti in questo modo solo dal 2012, mentre prima di tale data erano definiti carcinomi duttali infiltranti⁵.

2. Carcinoma lobulare infiltrante

Il carcinoma lobulare (CLI) rappresenta la principale tipologia di tumore ad isotipo speciale essendo il responsabile del 5/10% di tutti i carcinomi mammari⁷. La quasi totalità dei CLI si presenta con una positività ai recettori ormonali e negatività di Her2, oltre ad essere frequentemente multicentrici, bilaterali e poco responsivi alla chemioterapia.

L'istologia lobulare è caratterizzata da un pattern di crescita diffuso dovuto alla perdita dell'E-caderina, una proteina responsabile dell'adesione cellulare⁷.

Oltre al CLI classico, esistono altre varianti di carcinoma lobulare; la più frequente è quella pleomorfa che mantiene sempre il pattern di crescita diffuso, ma è caratterizzato da un'atipia cellulare più marcata, pleomorfismo nucleare, aumentato indice mitotico e negatività ai recettori ormonali. Tutte queste caratteristiche gli conferiscono una prognosi peggiore⁷.

3. Altri isotipi speciali

- Carcinoma tubulare;
- Carcinoma mucinoso;
- Carcinoma micropapillare;
- Carcinoma a differenziazione apocrina;

- Carcinoma a differenziazione neuroendocrina;
- Carcinomi con caratteristiche midollari;
- Carcinoma adenoideo cistico;
- Carcinomi metaplastici;
- Carcinoma papillare invasivo;
- Carcinoma cribriforme ⁵.

CARATTERIZZAZIONE BIOLOGICA

I tumori al seno vengono classificati dal punto di vista biologico sulla base di tre parametri immunohistochimici:

- 1) assenza/presenza dei recettori ormonali: estrogeno (Er) e progesterone (PgR);
- 2) indice di proliferazione, valutato attraverso il livello di espressione della proteina Ki67;
- 3) assenza/presenza di sovraespressione della proteina HER2/neu.

1. I carcinomi mammari vengono definiti positivi per i recettori ormonali quando $\geq 1\%$ di nuclei tumorali sono positivi per l'espressione di ER e/o PgR⁸, e l'espressione di tali recettori è universalmente riconosciuta come un importante fattore prognostico e predittivo della risposta alla terapia ormonale⁹.

2. L'indice di proliferazione viene misurato mediante l'espressione della proteina Ki67, valutata attraverso l'utilizzo dell'anticorpo Mb-1. La KI-67 è una proteina che si trova all'interno del nucleo durante tutte le fasi di replicazione di una cellula ma non nella fase G0 e per questo motivo rappresenta un marker di crescita cellulare⁵.

Tumori con elevata positività per Ki67 hanno prognosi peggiore rispetto a quelli con una bassa positività, ma è anche vero che questo parametro viene utilizzato come indice predittivo della risposta alla chemioterapia. I carcinomi che rispondono meglio a questa terapia sono quelli con un indice di proliferazione elevato, mentre quelli che rispondono peggio sono quelli con l'indice più basso; è ancora incerto però quale sia il cut-off che permetta di distinguere i tumori a basso indice proliferativo da quelli ad alta proliferazione al fine di predire l'efficacia della chemioterapia e/o dell'ormonoterapia⁵.

Attualmente carcinomi con espressione del Ki67 $\geq 20\%$ sono considerati ad alto indice proliferativo¹⁰.

La determinazione dell'indice di proliferazione è di particolare rilevanza nel carcinoma mammario recettori ormonali positivo in quanto permette di distinguere i tumori LUMINALI A, con una bassa attività proliferativa, dai

LUMINALI B che presentano, al contrario, un alto indice di proliferazione e un elevato rischio di recidiva^{10,2}.

3. La proteina Her-2 fa parte della famiglia dei recettori EGFR (epidermal growth factor receptor) e viene codificata dal protooncogene c-erbB-2/neu posto sul braccio lungo del cromosoma 17; la sua overespressione è presente nel 15/20% dei carcinomi al seno¹¹

E' un recettore composto da una porzione extracellulare, un dominio transmembranario ricco di cisteine e uno tirosin-chinasico intracitoplasmatico¹²; non possedendo un ligando specifico (viene anche definito recettore orfano) ha la capacità di attivarsi dopo eterodimerizzazione (con altri recettori della famiglia EGFR come per esempio Her-3 o Her-4) od omodimerizzazione (evento che avviene più facilmente in caso di iperespressione)¹³.

L'omo ed eterodimerizzazione stimolano l'autofosforilazione dei domini tirosin chinasici intracellulari con conseguente attivazione della trasduzione del segnale che, mediante la via della MAPK e il pathway della PI3K, stimola la proliferazione e la sopravvivenza cellulare (Figura 1)^{14,13}.

I tumori al seno Her2 + hanno una prognosi peggiore rispetto ai tumori Her2 negativi: la sovraespressione di Her-2/neu è associata infatti ad un alto grado istologico, ad un alto indice mitotico e al coinvolgimento linfonodale all'esordio; inoltre, nei carcinomi mammari recettori ormonali positivi ed Her-2 positivi, l'overespressione di questa proteina rende i tumori resistenti alla terapia ormonale^{15,2}. Tuttavia, negli ultimi 15 anni lo sviluppo di terapie target dirette contro la proteina Her-2 ha cambiato la storia naturale del carcinoma mammario Her-2 positivo, portando ad un sostanziale aumento della sopravvivenza libera da malattia, della sopravvivenza libera da progressione e della sopravvivenza globale⁵. Il farmaco cardine, nonché il primo farmaco ad essere commercializzato, della terapia target anti-Her2 è il TRASTUZUMAB, un anticorpo monoclonale umanizzato diretto contro la proteina Her-2, che viene attualmente usato in associazione alla chemioterapia per il trattamento delle pazienti con carcinoma mammario Her-2 positivo. Pertanto,

l'overespressione di questa proteina, risulta essere non solo un fattore prognostico ma anche un importante fattore predittivo di risposta e sensibilità alle terapie target anti Her-2².

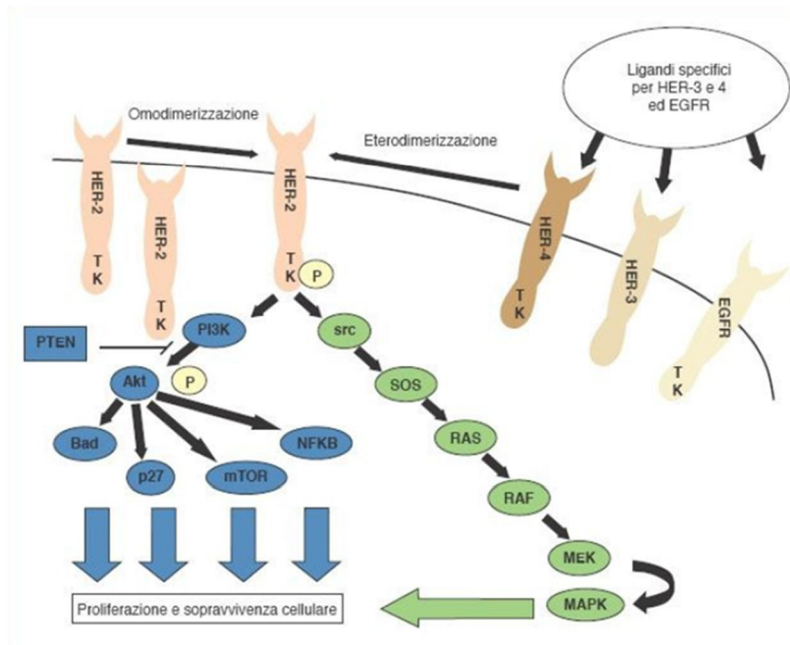


Figura 1. Rappresentazione delle vie di trasduzione attivate dal recettore Her-2. Fonte: Lабianca & Cascinu, 2013.

La valutazione dell'espressione della proteina Her-2/neu viene effettuata mediante due metodiche: l'immunoistochimica (IHC) e l'ibridazione in situ (ISH); la prima metodica studia l'espressione della proteina, mentre la seconda l'amplificazione genica. Tali metodiche sono da considerarsi complementari qualora l'esecuzione di uno solo dei due test non fosse in grado di fornire risultati dirimenti¹⁶.

In base alle linee guida dell'American Society of Clinical Oncology e il College of American Pathologist l'immunoistochimica viene definita positiva per la sovraespressione di Her-2 quando si ha una colorazione completa, intensa e circonferenziale di una popolazione contigua e omogenea di almeno il 10% delle cellule tumorali (score immunoistochimico 3+). Nel caso in cui la valutazione immunoistochimica evidenzi una colorazione completa di membrana debole o moderata in almeno il 10% delle cellule di (score immunoistochimico borderline: 2+), è necessario ricercare l'amplificazione del gene Her-2 attraverso la metodica di ISH.

Qualora l'ISH dimostri un'amplificazione genica, il carcinoma è da considerarsi Her-2 positivo; in caso contrario il carcinoma viene considerato Her-2 negativo. La negatività del tumore alla proteina può essere dimostrata attraverso l'immunoistochimica nel momento in cui metta in evidenza una colorazione incompleta, debole/impercettibile in più del 10 % delle cellule (score immunoistochimico 1+), oppure l'assenza di colorazione o colorazione incompleta, debole/impercettibile in meno del 10% delle cellule tumorali (score immunoistochimico 0)¹⁶

ALTRI FATTORI PROGNOSTICI E PREDITTIVI

Oltre all'espressione dei recettori ormonali, dell'Her-2 e del Ki67, esistono altri fattori prognostici e predittivi. Questi sono:

- 1) Età della donna: un'età < 35 anni rappresenta di per sé un fattore prognostico negativo⁵; inoltre nelle donne giovani sono più frequenti tumori con caratteristiche biologiche aggressive (negatività dei recettori ormonali)¹⁷.
- 2) Isotipo tumorale: i carcinomi tubulare, cribriforme, mucinoso, papillare, midollare, adenoideo cistico e apocrino sono solitamente associati all'espressione dei recettori ormonali e hanno una prognosi favorevole. In particolar modo l'isotipo tubulare presenta una prognosi favorevole anche in presenza di coinvolgimento dei linfonodi ascellari. Gli isotipi micropapillare e metaplastico invece presentano una prognosi sfavorevole¹⁸.
- 3) Dimensione del tumore: il parametro T ha sempre una valenza prognostica. Questa risulta essere più marcata nel caso di tumori inferiori ai 5 mm (T1a, prognosi favorevole) o maggiori di 5 cm (prognosi sfavorevole). Anche in questi casi però nella valutazione del rischio non può mancare la considerazione dei linfonodi ascellari, dei fattori biologici e dell'età della paziente⁵;

- 4) Stato linfonodale: è il fattore prognostico più importante tra quelli clinico-patologici, e influenza sia la sopravvivenza globale che la sopravvivenza libera da malattia; il rischio di recidiva aumenta all'aumentare del numero dei linfonodi positivi^{9, 5}, mentre la presenza di micrometastasi non ha alcuna rilevanza sulla prognosi²;
- 5) Grado istologico: il grado istologico definisce quanto una lesione sia ben o scarsamente differenziata. Definiamo il grado come una valutazione di tre caratteristiche istologiche alle quali viene dato un punteggio che può variare da 1 a 3. Queste tre caratteristiche sono:
- Percentuali di formazioni di strutture tubulari: quando il preparato istologico è formato da più del 75% di strutture tubulari il punteggio è 1, due punti quando i tubuli sono presenti nel 10/75% del preparato e tre punti quando si riscontrano in meno del 10%;
 - Pleomorfismo nucleare: al crescere della variabilità cellulare viene dato un punteggio che va da 1 a 3;
 - Numero di mitosi: vale lo stesso discorso dei due parametri precedenti. All'aumentare delle figure mitotiche il punteggio cresce da 1 a 3.

Parliamo di tumore di grado 1 (G1) quando il punteggio complessivo non supera i 5 punti e può essere definito carcinoma ben differenziato, quando il punteggio sale fino ai 7 punti allora diventa un carcinoma moderatamente differenziato (G2) e con un punteggio superiore agli 8 punti questo diventa scarsamente differenziato o tumore di grado 3 (G3). I tumori ben differenziati hanno generalmente un indice di proliferazione più basso e sono più frequentemente ER/PgR+; il grading incide in maniera significativa sull'overall survival (OS) che risulta essere peggiore nelle pazienti con carcinomi scarsamente differenziati rispetto alle donne con tumori G1¹⁵;

- 6) Multifocalità: un tumore viene definito *unifocale* quando è visibile un solo focus di carcinoma che può contenere o meno una componente in situ; una

lesione *multifocale* invece è presente qualora ci siano foci di carcinoma invasivo ben demarcati e separati da tessuto sano, da lesioni benigne o da zone di carcinoma in situ. Si parla di carcinoma *diffuso o multicentrico* quando la lesione è diffusa in uno o più quadranti. Le pazienti con un carcinoma multifocale hanno un rischio 4.05 maggiore di morte per malattia rispetto a donne con tumore unifocale, indipendentemente dall'immunofenotipo ¹⁹.

Per quanto riguarda i tumori tripli negativi ed Her-2 positivi possiamo riscontrare un ulteriore fattore predittivo:

- 7) Infiltrato linfocitario (TILs): si associa ad una prognosi migliore e ad una maggior efficacia della terapia adiuvante, in particolar modo sembra che una quota elevata di linfociti possa determinare una maggior efficacia del trastuzumab adiuvante. La presenza di un'alta percentuale di TILs si associa anche ad un'aumentata possibilità di risposta patologica completa (pCR) alla terapia neoadiuvante ²⁰.

Una meta-analisi in letteratura conferma l'associazione tra alti livelli di TILs (alla biopsia pre-trattamento) e un aumento della pCR dopo l'utilizzo di chemioterapici o farmaci anti-Her2 come terapia neoadiuvante, indipendentemente dal farmaco scelto²¹.

STADIAZIONE

Una volta che abbiamo definito dal punto di vista anatomopatologico e immunofenotipico il carcinoma dobbiamo eseguire una stadiazione del tumore che ci permetterà di proporre alla paziente la linea di trattamento più adatta; questa stadiazione dovrà seguire il sistema TNM che prevede uno studio dell'estensione del tumore primitivo (T), dell'assenza o presenza di metastasi linfonodali (N) e di metastasi a distanza (M). Normalmente viene eseguita una stadiazione clinica (cTNM) che integra le informazioni provenienti dall'esame obiettivo, dagli esami radiologici e dall'agobiopsia/biopsia e una stadiazione patologica (pTNM) che invece si effettua dopo asportazione chirurgica e studio istologico del tumore primitivo e di eventuali linfonodi. Parlando di linfonodi si possono riscontrare i suffissi sn e f che identificano metastasi rispettivamente nel linfonodo sentinella e nell'analisi effettuata con biopsia. La stadiazione di T e di N che viene eseguita dopo una terapia neoadiuvante segue le stesse regole ma viene preceduta dal prefisso y, per esempio ypT0² (Figura 2-6).

TX	Assenza dei requisiti minimi per definire le dimensioni del tumore primitivo
T0	Nessuna evidenza di tumore primitivo
Tis (DCIS)	Carcinoma duttale <i>in situ</i>
Tis (Paget)	Malattia di Paget del capezzolo senza componente infiltrante
T1	Dimensioni massime del tumore (Ø) ≤2 cm
T1mi	Ø ≤0,1 cm
T1a	0,1 cm <Ø ≤0,5 cm (arrotondare misurazioni comprese tra 1,0-1,9 mm a 2 mm)
T1b	0,5 cm <Ø ≤1 cm
T1c	1 cm <Ø ≤2 cm
T2	2 cm <Ø ≤5 cm
T3	Ø >5 cm
T4	Tumore di qualsiasi dimensione con estensione diretta alla parete toracica o alla cute (ulcerazione o noduli macroscopici)
T4a	Estensione alla parete toracica
T4b	Edema (inclusa buccia d'arancia) o ulcerazione della cute sovrastante la mammella
T4c	Presenza contemporanea di T4a e T4b
T4d	Carcinoma infiammatorio

Figura 2. Classificazione clinica e patologica di T. Fonte: Il carcinoma della mammella, 2018

NX	Indefinito (per precedente rimozione o per mancata asportazione)/assenza dei requisiti minimi per definire lo stato dei linfonodi regionali
N0	Assenza di metastasi ai linfonodi regionali
N1	Metastasi in uno o più linfonodi ascellari omolaterali mobili
N1mi	Micrometastasi di dimensioni superiori a 0,02 cm e/o più di 200 cellule, ma non più grandi di 0,2 cm
N2	Metastasi in uno o più linfonodi ascellari omolaterali fissi tra loro (a pacchetto) o ad altre strutture <i>oppure</i> in uno o più linfonodi mammari interni omolaterali clinicamente apparenti (livello III) in assenza di metastasi clinicamente evidenti nei linfonodi ascellari (livello I e II)
N2a	Metastasi in uno o più linfonodi ascellari omolaterali fissi tra loro o ad altre strutture
N2b	Metastasi solo in linfonodi mammari interni omolaterali clinicamente apparenti e in assenza di metastasi clinicamente evidenti nei linfonodi ascellari
N3	Metastasi in uno o più linfonodi infra-clavicolari omolaterali in presenza o meno d'interessamento dei linfonodi ascellari omolaterali <i>oppure</i> metastasi clinicamente apparenti in uno o più linfonodi mammari interni omolaterali e metastasi clinicamente evidenti in uno o più linfonodi ascellari omolaterali <i>oppure</i> metastasi in uno o più linfonodi sopra-clavicolari omolaterali con o senza interessamento dei linfonodi ascellari o mammari interni omolaterali
N3a	Metastasi in uno o più linfonodi infra-clavicolari omolaterali
N3b	Metastasi in uno o più linfonodi mammari interni omolaterali e metastasi in uno o più linfonodi ascellari omolaterali
N3c	Metastasi in uno o più linfonodi sopra-clavicolari omolaterali

Figura 3. Classificazione clinica di N. Fonte: Il carcinoma della mammella, 2018

pNX	Indefinitibile (per precedente rimozione o per mancata asportazione)/assenza dei requisiti minimi per definire lo stato dei linfonodi regionali
pN0	Non metastasi nei linfonodi regionali identificate istologicamente o presenza di sole cellule tumorali isolate (ITC)
pN0 (i-)	Non metastasi nei linfonodi regionali all'istologia (con colorazione standard ematossilina eosina), negativo il metodo immunohistochimico
pN0(i+)	Presenza di cellule maligne (ITC) nei linfonodi regionali non superiori a 0,2 mm (evidenziate con ematossilina-eosina o con l'immunohistochimica)
pN0(mol+)	Non metastasi nei linfonodi regionali istologicamente accertate, RT- PCR (real time-polymerase chain reaction) negativa
pN1	Metastasi (di dimensioni superiori a 2 mm) in 1-3 linfonodi ascellari omolaterali e/o metastasi in linfonodi mammari interni omolaterali identificate attraverso la biopsia istologicamente positiva del linfonodo sentinella ma non clinicamente apparenti
pN1mi	Micro-metastasi (aggregato di cellule tumorali contigue di dimensioni superiori a 0,2 mm e/o più di 200 cellule, ma non più grandi di 2 mm)
pN1a	Metastasi in 1-3 linfonodi ascellari, includendo almeno una metastasi delle dimensioni massime superiori a 2 mm
pN1b	Metastasi in linfonodi mammari interni omolaterali, ITC escluse
pN1c	pN1a + pN1b
pN2	Metastasi in 4-9 linfonodi ascellari omolaterali oppure metastasi in linfonodi mammari interni omolaterali clinicamente apparenti in assenza di metastasi ai linfonodi ascellari
pN2a	Metastasi in 4-9 linfonodi ascellari omolaterali, includendo almeno una localizzazione tumorale delle dimensioni massime superiori a 2 mm
pN2b	Metastasi in linfonodi mammari interni omolaterali clinicamente apparenti, in assenza di metastasi ai linfonodi ascellari
pN3	Metastasi in 10 o più linfonodi ascellari omolaterali o in linfonodi infra-claveari omolaterali oppure metastasi in linfonodi mammari interni omolaterali clinicamente apparenti in presenza di uno o più linfonodi ascellari omolaterali positivi o metastasi in linfonodi mammari interni omolaterali identificate attraverso la biopsia istologicamente positiva del linfonodo sentinella ma non clinicamente apparenti e più di tre linfonodi ascellari omolaterali positivi oppure metastasi in linfonodi sovra-claveari omolaterali
pN3a	Metastasi in 10 o più linfonodi ascellari omolaterali o in linfonodi infra-claveari omolaterali
pN3b	Metastasi in linfonodi mammari interni omolaterali clinicamente apparenti in presenza di uno o più linfonodi ascellari omolaterali positivi o metastasi in linfonodi mammari interni omolaterali
pN3c	Metastasi in linfonodi sovra-claveari omolaterali

Figura 4. Classificazione patologica di N. Fonte: Il carcinoma della mammella, 2018

MX	Indefinitibile/assenza dei requisiti minimi per definire la presenza di metastasi a distanza
cM0	Non evidenza clinica e radiologica di metastasi a distanza
cM0(i+)	Non evidenza clinica o radiologica di metastasi a distanza, ma depositi di cellule tumorali evidenziati mediante biologia molecolare o microscopicamente nel sangue, midollo osseo o in altri tessuti diversi dai linfonodi regionali, di dimensioni non superiori a 0,2 mm in una paziente senza segni o sintomi di metastasi
cM1	Evidenza clinica e radiologica di metastasi a distanza
pM1	Presenza di metastasi di dimensioni superiori a 0,02 cm evidenziate istologicamente

Figura 5. Classificazione clinica e patologica di M. Fonte: Il carcinoma della mammella, 2018

Questi tre parametri sono poi integrati tra di loro per definire lo stadio del tumore:

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

Figura 6. Stadiazione del carcinoma al seno Fonte: Il carcinoma della mammella,2018

Questi stadi possono essere suddivisi a fini prognostici e terapeutici in tre gruppi:

- Tumori in fase iniziale e operabili upfront (**early breast cancer**): stadi IA, IB, IIA;
- Tumori in fase iniziale **localmente avanzati**: stadi IIB, IIIA, IIIB, IIIC;
- Tumori **metastatici**: stadio IV²

Ogni gruppo avrà un trattamento specifico e improntato su obiettivi diversi: per i tumori in fase iniziale l'obiettivo è la guarigione e questa può essere ottenuta, oltre che con la chirurgia, anche con trattamenti medici svolti prima (setting neoadiuvante) o dopo (setting adiuvante) l'operazione. Per i tumori localmente avanzati e quindi definiti in prima istanza come non operabili è di fondamentale importanza la terapia neoadiuvante, definita anche terapia primaria².

TRATTAMENTO

CARCINOMA IN FASE INIZIALE E CARCINOMA LOCALMENTE AVANZANTO

Il trattamento standard del tumore mammario in stadio iniziale o localmente avanzato, comprende sia la terapia chirurgica, associata ad un'eventuale radioterapia, sia la terapia oncologica sistemica. Poiché l'effettuazione di tali terapie implica l'intervento e la collaborazione di vari specialisti (chirurghi senologi, radioterapisti e oncologi medici) è importante che l'iter terapeutico delle pazienti con carcinoma mammario venga definito collegialmente dai vari specialisti che compongono la Breast Unit.

TRATTAMENTO CHIRURGICO

La terapia chirurgica del carcinoma mammario nel corso degli anni si è sempre più evoluta verso una chirurgia conservativa a discapito di quella demolitiva (mastectomia)²².

Al giorno d'oggi le uniche indicazioni a sottoporre la paziente ad una chirurgia non conservativa sono:

- Controindicazioni alla radioterapia;
- Presenza di neoplasie multiple;
- Dimensione ridotta della mammella: la chirurgia conservativa risulta essere più complicata da effettuare in quelle pazienti con una lesione > 2 cm e con un piccolo volume mammario²²;
- Carcinoma infiammatorio;
- Pregressa radioterapia a "mantellina";
- Scelta della paziente ².

TERAPIA MEDICA

La terapia medica comprende la poli-chemioterapia, i farmaci a bersaglio molecolare, e l'ormonoterapia; la scelta del tipo di terapia medica da effettuare viene presa sulla base dei fattori prognostici e predittivi della malattia, dalle caratteristiche e preferenza delle pazienti.

Sicuramente uno dei fattori fondamentali di cui tenere conto per la decisione è l'immunoistochimica del tumore:

- Nei carcinomi con espressione elevata dei recettori ormonali, Her2 negativi e con basso indice di proliferazione (definiti luminali A) è generalmente indicata un'ormonoterapia adiuvante di 5 anni. Questi tipi di carcinomi sono generalmente di basso grado, con buona prognosi ed altamente responsivi all'endocrinoterapia ².
- Nei carcinomi con recettori ormonali positivi, Her2 negativi ma con un altro indice di proliferazione (definiti come tumori luminali B/ Her2 negativi) è generalmente indicato un regime sequenziale con polichemioterapia adiuvante seguita da ormonoterapia adiuvante per 5 anni. Nonostante presentino positività ai recettori ormonali, questi carcinomi sono caratterizzati da un comportamento biologico più aggressivo, un maggior rischio di recidiva e quindi da una prognosi peggiore rispetto ai Luminali A²;
- Nei tumori che sovraesprimono la proteina Her2 (definiti Her2 positivi) è indicata l'associazione di chemioterapia e trastuzumab, eventualmente uniti ad altri farmaci anti-Her2. Nei carcinomi che presentano oltre alla positività di Her2, anche quella ai recettori ormonali (chiamati: tripli positivi o luminali B / Her2 +) è consigliata anche la terapia ormonale adiuvante ^{2,5}.
- Per i carcinomi definiti tripli negativi (negatività ai recettori ormonali e Her2 negativi) l'unica terapia possibile è la poliCht ².

La terapia medica può essere effettuata sia dopo la chirurgia (terapia adiuvante), sia prima della chirurgia (terapia neoadiuvante o primaria). Nei tumori localmente avanzati non operabili upfront la chemioterapia neoadiuvante ha lo scopo di ridurre la massa tumorale e renderla asportabile radicalmente. Nei tumori in stadio precoce, in cui la chirurgia upfront sarebbe effettuabile, la chemioterapia neoadiuvante viene oggi sempre più utilizzata per permettere l'esecuzione di interventi conservativi. Inoltre, nei tumori biologicamente aggressivi (tumori Her2-positivi e triplo negativi) la chemioterapia neoadiuvante permette la valutazione *in vivo* della risposta del tumore alla chemioterapia².

Chemioterapia

Gli schemi chemioterapici considerati standard, sono quelli contenenti antracicline e taxani somministrati in sequenza ed in particolar modo possono essere somministrati i seguenti²:

- 1) Epirubicina + ciclofosfamide X 4 ogni 21 giorni, seguito poi da paclitaxel (taxano) settimanale per 12 settimane;
- 2) Adriamicina + ciclofosfamide X 4 ogni 21 giorni, seguito da paclitaxel settimanale per 12 settimane;
- 3) Fluorouracile + epirubicina + ciclofosfamide X 4 ogni 21 giorni, seguito da paclitaxel settimanale per 8 settimane;
- 4) Adriamicina + ciclofosfamide X 4 ogni 21 giorni, seguito da docetaxel (taxano) trisettimanale per un totale di 4 somministrazioni;
- 5) Fluorouracile + epirubicina + ciclofosfamide X 4 ogni 21 giorni, seguito da docetaxel trisettimanale per un totale di 4 somministrazioni;
- 6) docetaxel + adriamicina + ciclofosfamide X 6 ogni 21 giorni⁵.

Uno studio italiano randomizzato ha dimostrato la superiorità in termini di sopravvivenza libera da malattia e sopravvivenza globale dello schema dose-dense (terapia somministrata ogni due settimane) rispetto allo standard (terapia somministrata ogni 21 giorni) in pazienti con tumori in fase iniziale ad alto rischio di

recidiva (linfonodi positivi). I dati hanno dimostrato una sopravvivenza globale a 5 anni del 81% nel gruppo dose-dense e del 76% nel gruppo trattato con la schedula standard (HR 0.77, 95% CI 0.65–0.92; p=0.004); analogamente la sopravvivenza globale a 5 anni è del 94% nel primo gruppo e dell'89% nel secondo gruppo (HR 0.65, 0.51–0.84; p=0.001). Il beneficio della chemioterapia dose-dense è risultato indipendente dallo stato recettoriale del tumore.

Questo stesso studio ha cercato anche di stabilire il ruolo dell'aggiunta del fluorouracile all'interno del regime terapeutico EPIRUBICINA+ CICLOFOSFAMIDE + Paclitaxel: i risultati ottenuti dimostrano che l'aggiunta di tale farmaco non si associa ad un miglior outcome delle pazienti ²³.

Le antracicline sono dei farmaci che possono causare problemi di cardiotossicità, quindi nelle pazienti che già presentano comorbidità di tale tipo non potrà essere somministrato nessuno dei regimi sopracitati; in questo caso si preferisce infatti proporre un piano chemioterapico composto da ciclofosfamide e taxano ⁵.

Ormonoterapia

La scelta dell'ormonoterapia ottimale si basa sul rischio di recidiva e sullo stato menopausale della paziente. Lo stato di post menopausa viene definito dalla presenza di almeno uno dei seguenti criteri:

- a) età >60 anni;
- b) età <60 anni e amenorrea da almeno 12 mesi in assenza di chemioterapia, terapia con tamoxifene, e valori di FSH ed estradiolo nei range di menopausa;
- c) annessiectomia bilaterale;
- d) in caso di assunzione di tamoxifene ed età <60 anni, amenorrea da almeno 12 mesi, e valori di FSH ed estradiolo nei range di menopausa².

Paziente in stato premenopausale

Lo standard di cura è rappresentato dall'associazione di un inibitore dell'aromatasi (exemestane) in associazione alla soppressione ovarica per 5 anni. È stata infatti

eseguita un'analisi combinata degli studi SOFT-TEXT ad un follow-up mediano di nove anni che ha evidenziato un vantaggio statisticamente significativo nella sopravvivenza libera da malattia per le pazienti trattate con exemestane + soppressione ovarica, rispetto a quelle trattate con tamoxifene e soppressione ovarica (86,8 vs 82,8%, rispettivamente; HR= 0,77; 95% CI=0,67-0,90; p <0,001)²⁴.

In alternativa, nelle pazienti giovani ad alto rischio di recidiva è indicato l'utilizzo del tamoxifene associato alla soppressione ovarica per 5 anni, dimostratosi superiore in termini di sopravvivenza libera da malattia rispetto al solo tamoxifene ²⁵. Nelle pazienti con un rischio di recidiva inferiore è invece indicata la monoterapia con tamoxifene ²⁶. Questo farmaco riduce la mortalità e le recidive sia che la donna abbia effettuato chemioterapia, sia che non l'abbia effettuata oltre a ridurre anche il rischio di carcinoma controlaterale. I due principali effetti collaterali del tamoxifene sono: un aumento del rischio di tromboembolismo e di incidenza del tumore all'utero ²⁷. Il tamoxifene può essere assunto anche in postmenopausa in alternativa agli inibitori di aromatasi qualora la paziente rifiuti l'assunzione di quest'ultimi o nel caso sviluppi una forte tossicità. Tale farmaco può essere prescritto per 10 anni (terapia extended) valutando però attentamente i benefici e i rischi; se durante i 5 anni di tamoxifene la paziente è entrata in uno stato postmenopausale, nei successivi 5 anni si può prescrivere il letrozolo ².

Paziente in post menopausa

Nelle pazienti in postmenopausa è indicato l'uso di inibitori dell'aromatasi (AI) per una durata di 5 anni. I farmaci antiaromatasi sono 3: letrozolo, exemestane e anastrozolo. Questi farmaci in realtà possono essere proposti con vari schemi (Figura 7):

- Strategia upfront: 5 anni di terapia adiuvante
- Strategia switch: vengono somministrati per 2/3 anni dopo 3/2 anni di tamoxifene ².
- Strategia extended: dopo 5 anni di terapia con tamoxifene e dopo attenta valutazione dei rischi e dei benefici si può proporre alla paziente una terapia di 5 anni con AI ².

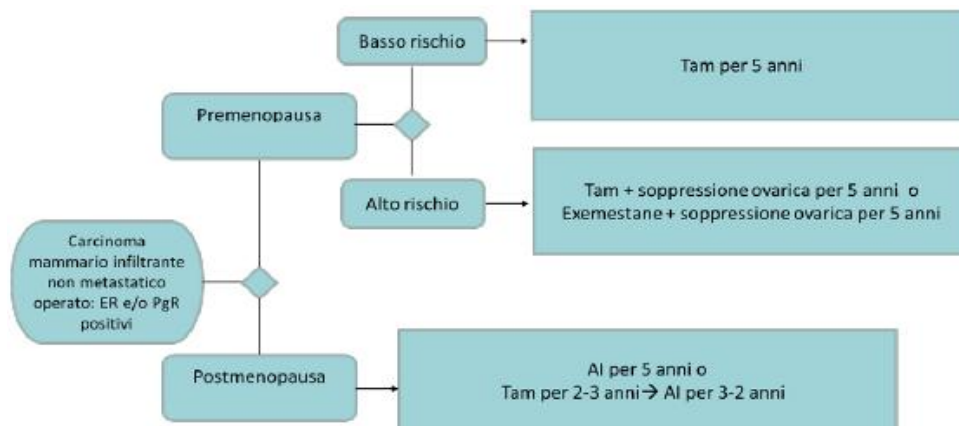


Figura 7. Diagramma delle scelte terapeutiche dell'ormonoterapia in un setting adiuvante Fonte: Linee Guida, 2019

CARCINOMA MAMMARIO METASTATICO

Il trattamento del tumore metastatico si prefigge i seguenti obiettivi: prolungare la sopravvivenza, ridurre o ritardare la comparsa di sintomi e migliorare la qualità di vita delle pazienti. Ad oggi, il carcinoma mammario metastatico rimane una malattia incurabile².

La diagnosi di un secondarismo può essere complicata dal fatto che la paziente sia asintomatica o presenti sintomi aspecifici, mentre in altri casi possono esserci sintomi legati al sito di metastasi. Un interessamento epatico può essere paucisintomatico oppure manifestarsi con nausea, calo ponderale e segni e/o sintomi di insufficienza epatica. Una metastasi ossea invece, si presenta il più delle volte con dolore sordo o acuto, persistente o presente solo in particolari momenti (di notte solitamente). Nei casi più gravi poi queste metastasi possono essere osservate solo in seguito ad una frattura patologica del segmento scheletrico, dove con frattura patologica si intende una soluzione di continuo dell'osso che avviene in assenza di traumi o per sollecitazioni lievi. Questo trauma può avvenire in quanto i secondarismi ossei da carcinoma alla mammella sono il più delle volte di tipo osteolitico⁵.

E' ormai opinione comune che in una delle condizioni sopracitate è d'obbligo iniziare un percorso diagnostico integrando anamnesi, esame obiettivo, test ematici ed esami di laboratorio (comprendenti i due markers tumorali: CEA e CA15.3); è possibile poi prescrivere una scintigrafia total body per studiare la struttura ossea e una TC total body con mezzo di contrasto (MdC). Non è consigliata però la prescrizione di esami di imaging dell'encefalo in pazienti che non presentano sintomi d'interessamento d'organo anche se Her-2 positivi o con carcinomi metastatici tripli negativi.

Non si dovrebbe iniziare questo processo di ristadiatione della malattia partendo solamente dall'innalzamento dei valori dei markers qualora non sia associato ad evidenza clinica; questa raccomandazione è fondata anche su studi che dimostrano come il monitoraggio di queste pazienti utilizzando i markers (soprattutto il CEA) non sia utile dal momento che solo il 40/70% di tali pazienti presenta un aumento del CEA e del CA15.3 ^{28,29}.

Prima di impostare una terapia medica è raccomandato effettuare una biopsia della metastasi in modo da confermare la diagnosi e rianalizzare i markers biologici, questo perché la scelta della terapia da proporre alla paziente dipende da vari fattori tra cui troviamo:

- Markers biologici
- Terapie precedentemente effettuate nel setting adiuvante e/o neoadiuvante;
- Numero e sito delle metastasi;
- Comorbidità;
- Stato menopausale;
- Fattori socioeconomici e psicologici ²⁸.

Nel carcinoma mammario Er-positivo/ Her-2 negativo, l'ormonoterapia associata o meno a terapie target (inibitori CDK 4/6) rappresenta lo standard of care sia in I linea che nelle linee successive, mentre il ricorso alla chemioterapia dovrebbe esser fatto solo una volta esaurite tutte le linee di ormonoterapia disponibili. L'unico caso in cui l'utilizzo della chemioterapia in I linea è indicato in questo tipo di pazienti è la presenza di crisi viscerali (quadro clinico che configura il caso di metastasi viscerali massive e sintomatiche) in quanto richiede un controllo rapido di malattia ^{2,28}.

Per quanto riguarda il carcinoma mammario metastatico è consigliato ricorrere alla monochemioterapia rispetto alla polichemioterapia in quanto non ci sono evidenze che dimostrino un vantaggio della seconda sulla prima. Un' eccezione è rappresentata dalle pazienti che presentano una rapida progressione clinica di malattia o nel caso in cui ci sia bisogno di un controllo rapido della sintomatologia^{2,28}.

Nei carcinomi Her-2 positivi, lo standard di cura è rappresentato dall'associazione di una monochemioterapia con il doppio blocco anti-Her2 (due farmaci target contro la proteina Her-2) in combinazione^{2,28, 65}.

Nei tumori triplo negativi lo standard è costituito dalla monochemioterapia, generalmente a base di taxano^{2,28}.

BIOLOGIA E TERAPIE TARGET DEL CARCINOMA MAMMARIO HER-2 POSITIVI

Il 15/20%¹¹ dei carcinomi al seno presenta un'overespressione della proteina Her-2 che promuove la proliferazione cellulare tramite il pathway della RAS-MAP chinasi, e la sopravvivenza attraverso quello della PI3K. Da questa scoperta si è quindi cercato di trovare molecole in grado di bloccare i segnali della proteina recettoriale Her-2 e all'inizio degli anni '90 furono creati, a tale scopo, degli anticorpi monoclonali di cui il primo risulta essere il TRASTUZUMAB³⁰. Questo farmaco (e quelli creati successivamente) conferiscono alla proteina un ruolo come fattore predittivo di risposta alla terapia anti-Her2, migliorando così la prognosi di questo tipo di carcinoma.

L'introduzione del trastuzumab (anticorpo monoclonale IgG1 umanizzato) all'inizio degli anni 2000 ha aumentato la sopravvivenza di quelle pazienti con malattia metastatica Her-2 positiva e un ulteriore aumento è stato portato dal cosiddetto doppio blocco che prevede l'utilizzo di trastuzumab e pertuzumab. Il trastuzumab è un anticorpo composto da due siti antigeni specifici (di origine murina) che legano la porzione juxtamembranosa della proteina Her-2, mentre la restante parte è costituita

da una IgG con la sua porzione Fc ³⁰; questo anticorpo monoclonale si lega al sottodominio IV del dominio extracellulare ³¹.

Uno dei primi studi sul trastuzumab effettuato su cellule in vitro ha dimostrato i seguenti effetti:

- Legame con la porzione extracitoplasmatica del recettore;
- Inibizione della crescita cellulare (effetto dose-dipendente);
- Effetto citostatico e non citotossico;
- Aumento della citotossicità TNF-alpha mediata ³² (Figura 8).

Gli studi in vivo hanno invece dimostrato non solo un'azione citostatica ma anche citotossica, che potrebbe essere dovuta all'attivazione della citotossicità cellulare mediata da anticorpi (ADCC): questa promuove l'attività delle cellule NK che, legando il dominio Fc dell'anticorpo, promuovono la lisi delle cellule tumorali. Un ulteriore effetto del trastuzumab potrebbe essere quello della down regolazione dell'Her-2, anche se tale azione non è pienamente accettata ³³.

Si pensa che questo farmaco riesca anche a disattivare la via della PI3K che risulta essere fondamentale per la sopravvivenza della cellula tumorale; ulteriori studi in vitro e in vivo hanno anche dimostrato che tale farmaco inibisce l'angiogenesi tumorale ³³.

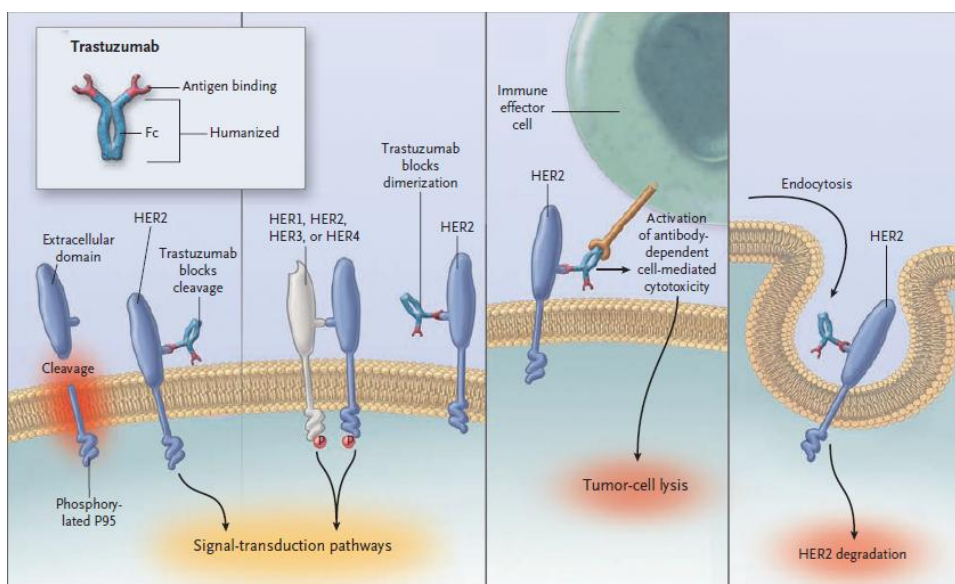


Figura 8. Alcuni meccanismi d'azione del trastuzumab. Fonte: Hudis, 2007

Il primo studio a dimostrare l'efficacia clinica di trastuzumab è stato condotto in pazienti con malattia metastatica. In questo studio di fase III le pazienti furono randomizzate a ricevere chemioterapia (doxorubicina/paclitaxel + ciclofosfamide) oppure chemioterapia associata a trastuzumab. Lo studio ha dimostrato un aumento del tempo mediano alla progressione (7.4 mesi rispetto ai 4.6 della sola CT $p < 0.001$ 95 CI 0.41-0.63), e una riduzione della mortalità ad 1 anno (22% vs 33% $p < 0.001$)³⁴.

Dopo questo studio, due trials randomizzati di fase III hanno dimostrato l'efficacia del trastuzumab anche in setting adiuvante: l'analisi dei dati delle pazienti arruolate ha dimostrato come l'aggiunta di questo farmaco abbia aumentato il tasso di sopravvivenza assoluta a tre e a quattro anni³⁵.

L'introduzione di Trastuzumab nel trattamento del carcinoma mammario Her-2 positivo ha radicalmente cambiato la storia naturale di questa malattia, sia nel setting (neo)adiuvante che nello stadio avanzato. Inoltre, i dati di efficacia derivanti dal blocco di Her-2 hanno aperto la strada allo sviluppo di nuovi anticorpi monoclonali e di altre tipologie di farmaci anti-Her2, molti dei quali (pertuzumab, trastuzumab emtansine, lapatinib e neratinib) già in utilizzo nella pratica clinica.

Uno dei principali effetti collaterali del trastuzumab è la cardiotossicità, che può manifestarsi attraverso una disfunzione cardiaca asintomatica o come uno scompenso cardiaco. Per questo motivo prima dell'inizio del trattamento la paziente andrebbe sottoposta ad una valutazione della performance cardiaca e della frazione di eiezione del ventricolo sinistro per mezzo di un ecocardiogramma (da ripetere con cadenza trimestrale anche durante il trattamento)².

Successivamente al trastuzumab è stato creato un altro anticorpo monoclonale: il pertuzumab. Tale farmaco è un anticorpo monoclonale umanizzato che lega il sottodominio II del dominio extracellulare della proteina Her-2. Questo farmaco ha un meccanismo di azione analogo al trastuzumab ma riesce anche a bloccare l'eterodimerizzazione della proteina con gli altri recettori della classe EGFR, in particolar modo con Her-3³⁶.

CARCINOMA MAMMARIO METASTATICO e CARCINOMA MAMMARIO METASTATICO HER-2 POSITIVO

Con **carcinoma al seno metastatico** s'intende un tumore allo stadio IV e si stima che rappresenti il 20/30% di tutti i tumori al seno diagnosticati ogni anno ma che solo il 5% di loro si presenti in questo stadio già alla diagnosi². Nonostante i recenti miglioramenti della terapia endocrina e chemioterapica abbiano portato un sostanziale aumento della sopravvivenza delle pazienti, il carcinoma mammario metastatico rimane ad oggi una malattia incurabile.

I principali siti di metastasi del carcinoma mammario sono: polmone e pleura, fegato, osso, sistema nervoso centrale (SNC) e linfonodi; non tutti i sottotipi tumorali però metastatizzano con la stessa tempistica e negli stessi organi ².

Il fenotipo immunoistochimico, infatti è responsabile dei siti di metastasi, del timing con cui queste compaiono rispetto alla diagnosi del carcinoma primitivo e della sopravvivenza successiva alla diagnosi di ricaduta. I tumori Her-2 positivi e tripli negativi hanno un alto rischio di metastatizzazione a livello cerebrale (più alto per i primi rispetto ai secondi), mentre i carcinomi luminali hanno un rischio inferiore di metastasi in tale sito ma più alto per il distretto osseo ³⁷. Per quanto riguarda il timing di insorgenza di metastasi, i tumori ER- disseminano più frequentemente entro i due anni dalla diagnosi del tumore primitivo, mentre quelli ER+ mantengono un rischio elevato anche dopo i primi 5 anni di follow-up ³⁷.

Un gruppo di medici svedesi ha analizzato l'andamento della sopravvivenza mediana a partire dagli anni '90 e come il fenotipo immunoistochimico possa influire su questo parametro. Quello che hanno notato è che la sopravvivenza mediana è passata dai 13 mesi del 1985 ai 33 del 2014 ($p = 0.009$) e di come questa sia associata al grado istologico, alla presenza/assenza dei recettori ormonali e dell'iperespressione di Her-2 ³⁸. La sopravvivenza mediana è pari a 43-50 mesi nelle forme Her-2+ e a 30-45 mesi nelle forme con recettori positivi ed Her-2- ¹. L'aumento di sopravvivenza mediana più marcato è quello relativo ai tumori Her-2+ grazie all'introduzione nel 2000 del trastuzumab all'interno degli schemi terapeutici, infatti in questo tipo di carcinomi la sopravvivenza mediana a 5 anni è aumentata dal 2% al 31% (Figura 9) ³⁸.

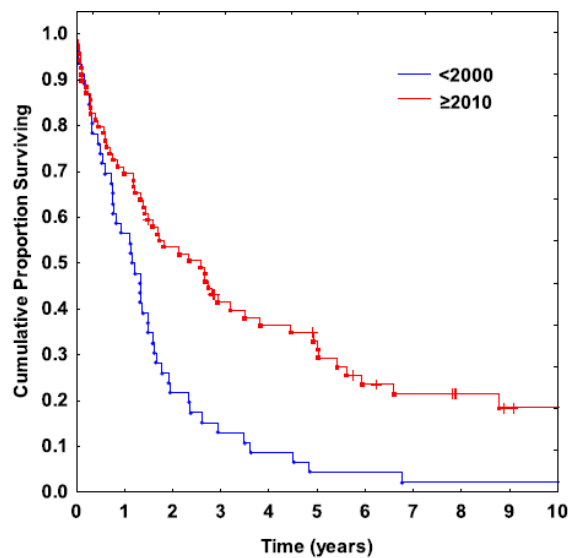


Figura 9. Sopravvivenza cumulativa nelle pazienti con MBC Her-2 +. Fonte: Sundquist et al., 2017.

*Nelle pazienti con carcinoma mammario metastatico, l'amplificazione del gene Her-2 si riscontra nel 25% dei casi*³⁹. In questo tipo di carcinoma è stata evidenziata, da alcuni studi, una differenza nella prognosi tra le pazienti che presentano metastasi alla diagnosi del carcinoma (de novo o ab initio) e pazienti a cui vengono diagnosticate durante il follow-up della malattia localizzata.

Uno di questi è il registro osservazionale SystHERs, in cui sono state arruolate pazienti con malattia Her-2+ metastatica. Le pazienti con diagnosi di malattia metastatica de novo erano più giovani, con un BMI maggiore, presentavano meno frequentemente positività ai recettori ormonali e avevano una maggiore incidenza di secondarismi ossei/epatici rispetto alle pazienti con malattia metastatica recidivata, che invece ricadono più frequentemente a livello cerebrale. Lo studio ha anche osservato una prognosi migliore nelle pazienti con malattia metastatica ab initio rispetto alle pazienti che presentano una ricaduta [Progression free survival o PFS di 17.7 mesi (95% CI, 16.0–19.7) vs 11.9 mesi (95% CI, 11.0–13.2) HR 0.69; 95% CI, 0.59–0.80; $p < 0.0001$]⁴⁰.

Uno dei problemi principali della malattia metastatica Her-2 positiva riguarda la presenza di metastasi a livello cerebrale ed i fattori di rischio attualmente noti per

l'insorgenza di tali secondarismi sono: giovane età della donna, alto grading, breve intervallo di tempo tra la diagnosi tumorale e quella della prima metastasi, elevato numero di metastasi extracraniche e negatività dei recettori ormonali ⁴¹.

Uno studio condotto su 9524 pazienti con un follow-up di 13 anni, ha evidenziato come il rischio cumulativo generale di incorrere in una metastasi cerebrale a 10 anni dalla diagnosi sia dell'1% e come questo rischio aumenti in relazione ad alcuni fattori come per esempio: la negatività ad Er , che aumenta l'incidenza cumulativa a 10 anni fino al 2.3%, rispetto ad un aumento di 0.9% ($p < 0.01$) nelle pazienti Er +. Le pazienti Her-2+ mostrano invece un'incidenza cumulativa (sempre a 10 anni) del 2.7 % ($p < 0.01$). Questi numeri sono relativi all'incidenza di metastasi cerebrali come primo sito di secondarismo dalla diagnosi, ma la differenza tra pazienti Her-2+ e negative è presente anche sull'incidenza cumulativa del riscontro di metastasi come evento successivo al primo (6.8% vs 3.5% $p < 0.01$). Questo stesso studio ha evidenziato anche altri fattori che aumentano il rischio di secondarismi a livello del sistema nervoso centrale come per esempio: numero di linfonodi interessati da malattia al momento della diagnosi o la presenza di metastasi polmonari ⁴².

Le terapie anti-Her2 controllano molto bene la malattia sistemica e viscerale ma questi farmaci non riescono a oltrepassare la barriera ematoencefalica; un esempio è il trastuzumab che, a causa del suo alto peso molecolare, non raggiunge il sistema nervoso centrale. Evidenze preliminari suggeriscono che, sia l'uso del trastuzumab che del trastuzumab emtansine (T-DM1) nel setting adiuvante, diminuiscano la recidiva a distanza extracranica, ma non l'incidenza di ricadute cerebrali. Questo significa che le pazienti sottoposte a terapia con l'anticorpo monoclonale o con il coniugato farmaco-anticorpo, ricadranno meno frequentemente a livello viscerale, e la prevalenza di metastasi cerebrali risulterà quindi maggiore nella popolazione di pazienti trattate con farmaci anti Her-2 rispetto alla popolazione di pazienti non trattate.

Un gruppo di medici polacchi ha studiato 142 pazienti con tumori Her-2+ trattate con almeno una dose di trastuzumab evidenziando come in questo sottogruppo le recidive a livello cerebrale siano correlate all'alto livello di espressione di Her-2 nel tumore primitivo. Questa conclusione concorda anche con modelli animali in cui si è visto che l'overespressione di tale proteina aumenta la crescita delle cellule tumorali a livello cerebrale. Lo studio dimostra come la valutazione della proteina nelle pazienti Her-2

positive possa aiutare a trovare un gruppo di donne che presenta un rischio maggiore di metastatizzazione in questo distretto potendo mettere così in atto strategie di prevenzione⁴³.

Nonostante l'elevata incidenza di metastasi cerebrali nelle pazienti Her-2 positive le attuali raccomandazioni europee suggeriscono di non effettuare una RMN encefalica senza che ci sia sintomatologia nella paziente²⁸.

TERAPIA del CARCINOMA MAMMARIO Her-2 POSITIVO

Attualmente, le linee guida europee e italiane raccomandano come prima linea per il carcinoma mammario Her-2 positivo metastatico il doppio blocco anti-Her2 (trastuzumab+ pertuzumab) in aggiunta alla monochemioterapia con docetaxel (taxano) e una successiva terapia di mantenimento con pertuzumab + trastuzumab (da associare all'ormonoterapia in caso di carcinoma mammario recettori ormonali positivo). Questa raccomandazione è stata inserita nelle linee guida dopo i risultati dello studio CLEOPATRA^{28, 2, 31, 65}.

Lo studio CLEOPATRA ha randomizzato 808 pazienti a ricevere trastuzumab + docetaxel + placebo oppure trastuzumab + docetaxel + pertuzumab e aveva come end point primario la PFS, definita come: il tempo intercorso dalla randomizzazione alla prima evidenza radiologicamente documentata di ripresa di malattia. Dopo 30 mesi di follow-up, lo studio ha mostrato una PFS mediana (PFSm) nel gruppo placebo di 12.4 mesi (95% CI 10.4-13.5) e di 18.7 mesi (95% CI 16.6–21.6) nel gruppo pertuzumab (Figura 10)⁴⁴.

Da questo studio si evince anche un miglioramento nel tasso di risposta oggettivo alla terapia: 69.3% nel gruppo placebo rispetto a 80.2% nel gruppo pertuzumab con una differenza di 10.8 punti percentili³¹.

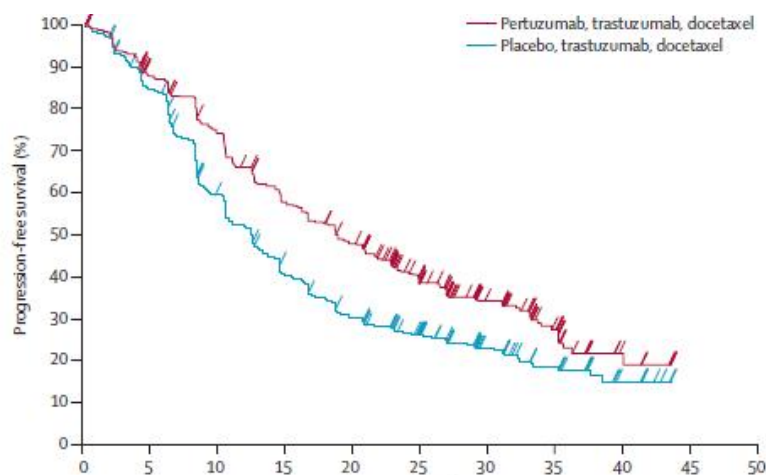


Figura 10. Curve di Kaplan-Meier relative alla progression free survival. Fonte: Swain et al., 2013.

Nel gruppo pertuzumab è anche stato notato un aumento del 5% di eventi avversi quali: diarrea, rash, infiammazione mucosale, prurito e neutropenia febbrile⁴⁴; le disfunzioni del ventricolo sinistro sono state riscontrate maggiormente nelle pazienti che ricevevano placebo rispetto al gruppo pertuzumab (8.3% vs 4.4%)³¹.

Una delle maggiori critiche che è stata avanzata a questo studio è quella di aver incluso una percentuale bassa (10%) di pazienti che erano già state trattate con il trastuzumab nel setting (neo)adiuvante con una conseguente possibile sovrastima del vantaggio della combinazione trastuzumab + pertuzumab. Per questo motivo, dopo la pubblicazione dei primi dati dello studio CLEOPATRA, furono avviati una serie di studi osservazionali atti ad analizzare l'efficacia del doppio blocco Her-2 in una popolazione che potesse essere il più simile possibile a quella reale. Uno studio retrospettivo in cui un numero maggiore di pazienti (61.5%) erano state precedentemente trattate con trastuzumab dimostrò un valore di PFS molto simile a quello dello studio CLEOPATRA⁴⁵.

Secondo le linee guida europee, nelle pazienti Er positivo /Her2 positivo è anche possibile effettuare una terapia di prima linea con ormonoterapia e doppio blocco Her-2 (trastuzumab + pertuzumab o trastuzumab + lapatinib) nei casi in cui non sia possibile effettuare CT, nelle pazienti che preferiscono non essere sottoposte a tale regime o in quelle che presentano un minimo coinvolgimento viscerale e un lungo intervallo libero da malattia^{28, 2}.

La terapia di II linea consigliata dalle linee guida italiane ed internazionali è rappresentata dal T-DM1^{2, 28, 65}.

Tale farmaco appartiene alla famiglia degli antigen-drug conjugates (ADC): molecole composte da un farmaco citotossico unito, attraverso legami chimici, ad un anticorpo monoclonale antigene specifico. L'uso di questi composti minimizza gli effetti sistemici del farmaco citotossico aumentandone però la specificità per mezzo di un meccanismo di targetting ⁴⁶.

I componenti principali di un farmaco ADC sono:

- 1) Anticorpo monoclonale umano o umanizzato: nel caso del T-DM1 questa parte è svolta dal trastuzumab;
- 2) Un agente citotossico: in questo caso il DM1;
- 3) Un linker che legghi la prima componente alla seconda: in questo caso il linker è un legame tioetere ⁴⁷ (Figura 11).

Il legame tra il trastuzumab e il DM1 è stabile sia nel torrente ematico che nel microambiente tumorale e si degrada solo con l'attività enzimatica dei lisosomi; per questo motivo il farmaco viene internalizzato in toto all'interno della cellula dopo il legame con Her-2 e portato all'interno dei lisosomi. Qui può avvenire il distacco dell'agente citotossico che sarà quindi in grado di bloccare la formazione dei microtubuli. Il T-DM1 presenta gli effetti del trastuzumab uniti agli effetti del DM1 ed in particolar modo questi ultimi sono: arresto del ciclo cellulare in fase G2-M, apoptosi cellulare, catastrofe mitotica e interruzione del traffico intracellulare mediato dai microtubuli (Figura 12)⁴⁷.

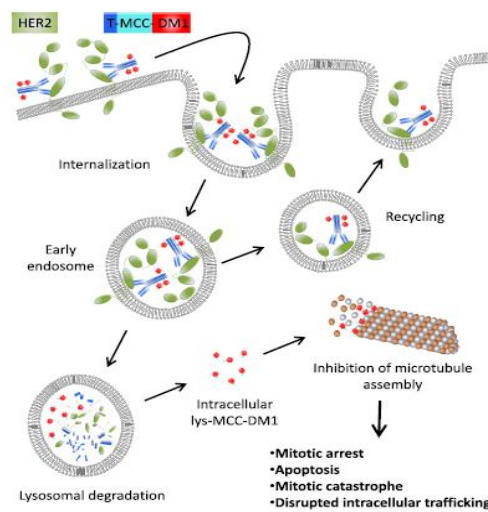
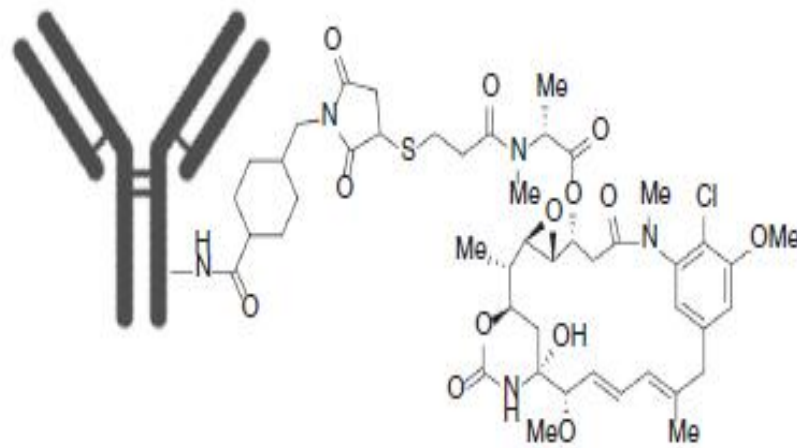


Figure 11/12.T-DM1. Attivazione del T-DM1 all'interno della cellula. Fonte: Hunter et al., 2019/ Barok et al., 2014

Così come per il trastuzumab, anche per questo farmaco sono stati studiati alcuni meccanismi di resistenza acquisita.

I principali sono:

- Bassa espressione di Her-2 da parte delle cellule tumorali: studiando i livelli di mRNA della proteina Her-2 si è visto che le pazienti con una alta concentrazione di mRNA rispondono meglio rispetto a quelle che possiedono una bassa concentrazione;
- Non ottimale internalizzazione del complesso Her-2/T-DM1;
- Problemi sia degli endosomi che dei lisosomi cellulari che sono fondamentali per il rilascio di DM1;

- La cellula tumorale in alcuni casi è anche in grado di “nascondere” l’epitopo di Her-2 al quale il T-DM1 si lega;
- È stato anche dimostrato che le linee cellulari di carcinoma al seno resistenti al farmaco esprimono una quantità più elevata di pompe di efflusso come la proteina MDR1⁴⁷.

Sulla base dei risultati degli studi EMILIA e TH3RESA, il T-DM1 è attualmente considerato la terapia standard di seconda linea dopo progressione dalla prima linea^{2, 28, 65} (Figura 13).

Altre terapie proponibili in seconda linea sono: lapatinib + capecitabina e trastuzumab + monochemioterapia (vinorelbina, taxani, eribulina e gemcitabina)^{2, 28, 65}.

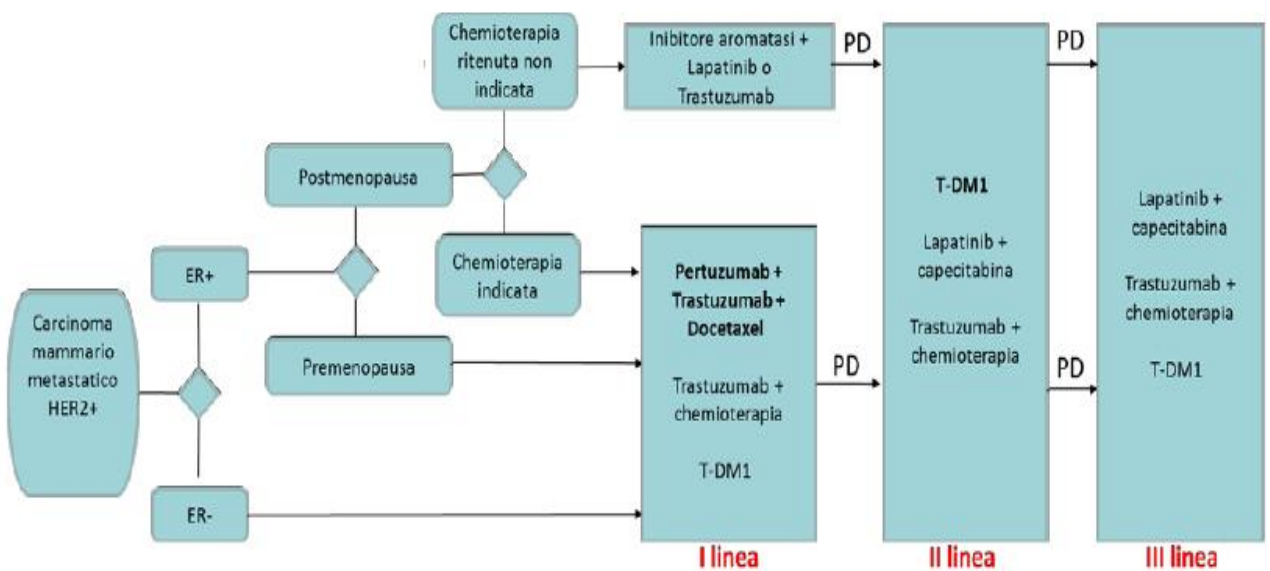


Figura 13. Schemi terapeutici carcinomi metastatici Her-2 +. Fonte: Linee Guida, 2019

Dallo studio EMILIA si evince come l’utilizzo di T-DM1 -nelle pazienti che hanno avuto una progressione di malattia dopo trastuzumab e taxani- aumenti in maniera statisticamente significativa la PFS e l’OS rispetto al gruppo di controllo trattato con lapatinib + capecitabina. Lo studio ha infatti dimostrato un aumento di OS mediana da 25.9 a 29.9 mesi (HR 0.75 [95% CI 0.64–0.88])⁴⁸.

Questo trial ha anche dimostrato un profilo di sicurezza migliore per il T-DM1 rispetto all’associazione lapatinib + capecitabina: il 60 % del gruppo controllo ha sviluppato

un evento avverso di grado 3 o maggiore, rispetto al solo 48% del gruppo T-DM1. In particolare, nel gruppo sottoposto a lapatinib + capecitabina sono stati osservati vomito, diarrea ed eritrodissiestesia palmoplantare, mentre tra le pazienti che hanno ricevuto T-DM1 il problema maggiormente riscontrato è stato quello della trombocitopenia, seguito dall'aumento dei valori di AST e ALT, anemia ed emorragia⁴⁸.

Lo studio TH3RESA (randomizzato di III fase) ha confrontato T-DM1 con un trattamento a scelta del medico oncologo in pazienti con carcinoma metastatico Her-2 positivo che erano state precedentemente trattate con due o più regimi terapeutici anti-Her2 incluso trastuzumab e lapatinib e un taxano (in qualsiasi setting)⁴⁹.

Ad un'analisi effettuata dopo un follow-up di 7.2 mesi per il gruppo T-DM1 e 6.5 mesi per le pazienti trattate con farmaci scelti dallo sperimentatore, T-DM1 si è visto essere associato ad un significativo aumento della PFSm: 6.2 mesi per il primo gruppo contro i 3.3 mesi del secondo (HR 0.528 [0.422-0.661]; $p < 0.0001$). Questa differenza in termini di PFSm rimaneva tale anche quando la terapia scelta dal medico conteneva trastuzumab (6.2 mesi vs 3.2 mesi [HR 0.558 95% CI 0.473-0.711; $p < 0.0001$]). Il 31 % delle pazienti trattate con T-DM1 hanno avuto una risposta oggettiva alla terapia rispetto al 9 % di pazienti non trattate con questo farmaco ([95% CI 16.2–29.2]; $p < 0.0001$)⁴⁹.

Dopo un follow-up di 30.5 mesi, è stato possibile analizzare anche l'OS mediana e si è visto che, nonostante il cross-over di alcune pazienti, questa era significativamente maggiore nelle pazienti trattate con T-DM1 (22.7 mesi vs 15.8; HR 0.68 [95% CI 0.54–0.85], $p = 0.0007$)⁵⁰.

Lo studio ha anche evidenziato come gli effetti avversi, ed in particolar modo quelli più gravi (grado 3 e 4), siano meno frequenti (40%) nel gruppo T-DM1 rispetto al gruppo di controllo (47%); tra questi, quelli che più si sono riscontrati con l'utilizzo di T-DM1 sono stati: dispnea, anemia, neutropenia, trombocitopenia e aumento di AST e ALT (in linea quindi con quello dimostrato nello studio EMILIA)⁵⁰.

Un ulteriore studio randomizzato di fase III (studio MARIANNE) ha valutato l'efficacia dell'associazione di T-DM1 + pertuzumab, trastuzumab + taxano, e di T-DM1 in monoterapia in pazienti non precedentemente trattate. Le pazienti sono state randomizzate in tre gruppi: il primo, quello di controllo, trattato con trastuzumab +

taxano, il secondo con solo T.DM1 e il terzo con T-DM1 + pertuzumab. L'analisi statistica non è riuscita a dimostrare una superiorità in termini di PFS del trattamento con T-DM1 + pertuzumab rispetto a T-DM1 e trastuzumab + taxano (PFS rispettivamente di: 15.2 mesi, 14.1 mesi e di 13.7 mesi [HR per T-DM1 vs trastuzumab + taxano, 0.91; 97.5% CI, 0.73 - 1.13; P = 0.31; HR per T-DM1 + pertuzumab vs trastuzumab + taxano, 0.87; 97.5% CI, 0.69 - 1.08; P = 0.14; HR per T-DM1 + pertuzumab vs T-DM1, 0.91; 97.5% CI, 0.73 - 1.13]). Quello che invece varia è la tollerabilità dei tre trattamenti in quanto quello con T-DM1 sembra essere più tollerato rispetto agli altri, soprattutto nei confronti del trastuzumab + taxano ⁵¹.

I risultati negativi dello studio MARIANNE, unitamente ai risultati positivi degli studi EMILIA e TH3RESA, indicano che il T-DM1 debba essere utilizzato nelle pazienti Her-2 positive progredite dopo almeno una linea di terapia contenente trastuzumab ²,₂₈.

Analogamente a quanto osservato nel setting metastatico, nel setting adiuvante T-DM1 ha dimostrato di essere efficace nelle pazienti che non abbiano raggiunto la risposta patologica completa (pCR) dopo trattamento neoadiuvante con taxani (con o senza antracicline) e trastuzumab. La registrazione del farmaco per queste pazienti è avvenuta dopo le analisi dello studio KATHERINE dove pazienti con carcinoma mammario Her-2 positivo, che non avevano raggiunto la pCR dopo chemioterapia neoadiuvante associata a trastuzumab, sono state randomizzate a ricevere trastuzumab oppure T-DM1 per 14 cicli. Lo studio ha dimostrato che il rischio di recidiva di malattia invasiva è diminuito del 50 % nelle pazienti in cui è stato somministrato T-DM1 rispetto al gruppo trattato con trastuzumab ⁵².

In conclusione, secondo le linee guida italiane ed internazionali, la miglior sequenza terapeutica per tumori metastatici Her-2 positivi consiste nell'utilizzo del doppio blocco anti-Her2 (pertuzumab + trastuzumab) associato ad un taxano in I linea, e la monoterapia con T-DM1 in II linea ^{2,28,65}.

Sorge però un problema relativo a queste indicazioni, ovvero: né nello studio EMILIA né tantomeno nel TH3RESA sono state inserite pazienti pretrattate con doppio blocco, e ad oggi pochi studi hanno riportato l'efficacia di T-DM1 dopo trastuzumab e pertuzumab con risultati peraltro contrastanti.

RAZIONALE DELLO STUDIO

Le linee guida italiane e le principali linee guida internazionali sul trattamento del tumore al seno Her-2 positivo metastatico si basano sui risultati di tre studi clinici randomizzati pubblicati tra il 2012 e il 2014: gli studi EMILIA, CLEOPATRA e TH3RESA. Secondo tali linee guida, la sequenza terapeutica migliore per questa patologia prevede:

- I LINEA → doppio blocco anti-her2 (pertuzumab + trastuzumab) associato ad un taxano. Questa raccomandazione è supportata dai dati dello studio CLEOPATRA, che hanno dimostrato un significativo aumento in PFS e sopravvivenza globale nelle pazienti trattate in I linea con il doppio blocco anti-Her2 + docetaxel rispetto a quelle trattate con il solo trastuzumab + docetaxel³¹.
- II LINEA → in caso di progressione di malattia da pertuzumab + trastuzumab + taxano, è raccomandata una terapia di II linea con T-DM1. Questa raccomandazione si basa sui risultati degli studi EMILIA e TH3RESA, che hanno dimostrato la superiorità di T-DM1 rispetto a capecitabina + lapatinib (studio EMILIA) e rispetto a una monochemioterapia associata o meno a trastuzumab (studio TH3RESA) nelle pazienti progredite a una precedente linea con taxano e trastuzumab^{53, 49}.

Sebbene T-DM1 sia oggi considerato dalle linee guida italiane e internazionali il gold standard nel trattamento di II linea dopo progressione da pertuzumab + trastuzumab, nessuna delle pazienti arruolate negli studi EMILIA e TH3RESA aveva ricevuto in I linea il doppio blocco anti her-2 + taxano. Pertanto, le attuali raccomandazioni all'utilizzo del T-DM1 in questo setting si basano su dati di efficacia del T-DM1 valutati su una popolazione di pazienti resistenti al trastuzumab e al taxano, e non su pazienti con malattia che ha sviluppato resistenza al doppio blocco anti-Her2

Non ci sono attualmente studi randomizzati che mirino a valutare l'efficacia del T-DM1 dopo progressione della malattia da TP + taxano, quindi per questo motivo i dati ricavati dagli studi osservazionali sono necessari per migliorare il livello di

evidenza (Level of Evidence, LoE) per l'utilizzo di tale farmaco in II linea in questa popolazione di pazienti^{54, 28}.

Nel 2014, le linee guida europee sul trattamento del carcinoma mammario metastatico hanno incoraggiato la comunità scientifica nella produzione di dati di *real life* sull'efficacia delle sequenze terapeutiche dopo la I linea di trattamento attraverso studi clinici osservazionali, al fine di garantire alle pazienti con carcinoma metastatico una sequenza terapeutica che sia il più possibile evidence-based^{54, 28}.

OBIETTIVI DELLO STUDIO

L'obiettivo principale dello studio è quello di valutare l'efficacia del T-DM1 nelle pazienti che sono progredite dopo la prima linea di terapia effettuata con trastuzumab + pertuzumab + taxano.

Gli endpoint primari sono:

- PFS : definita come il tempo dall'entrata nello studio alla progressione della malattia o al decesso per qualsiasi causa;
- Time to treatment failure (TTF): definito come il tempo dalla prima somministrazione di T-DM1 alla data in cui la pz ha cambiato terapia o ha interrotto il farmaco⁵⁵;
- PFS globale della I linea (Trastuzumab + Pertuzumab + taxano) + II linea (T-DM1).

Come endpoint secondari invece sono stati analizzati:

- Prolonged duration of therapy (PDT): definita come la percentuale di pazienti che hanno ricevuto il T-DM1 per un periodo ≥ 6 mesi⁵⁵;
- Overall response rate (ORR);
- Overall survival (OS) ad 1 anno.

Negli obiettivi secondari è stata valutata la PFS per determinati sottogruppi di pazienti:

- Er+ vs Er -;
- Pazienti con TTF ≥ 1 anno alla terapia di prima linea vs pazienti con TTF < 1 anno alla stessa terapia.

METODI

Disegno dello studio GIM14/ BIOMETA

Il lavoro presentato di seguito è stato effettuato grazie a dati raccolti nella piattaforma elettronica del GIM14-BIOMETA. Da questo studio osservazionale ho raccolto i dati riguardanti le pazienti con diagnosi di carcinoma metastatico Her-2 positivo che avessero ricevuto come trattamento di prima linea il doppio blocco anti- Her2 associato ad un taxano (docetaxel) e come seconda linea il T-DM1.

Lo studio Gim14- BIOMETA è uno studio multicentrico, nazionale, osservazionale, sul trattamento del carcinoma mammario metastatico. Attualmente lo studio include 24 centri oncologici partecipanti afferenti al gruppo GIM (Gruppo Italiano mammella). Lo studio è composto da due coorti, una retrospettiva (include tutte le pazienti consecutive con diagnosi di carcinoma mammario metastatico da Febbraio 2014 sino al 2000) e una prospettiva (include tutte le pazienti consecutive che hanno ricevuto diagnosi di carcinoma mammario metastatico dopo Marzo 2014)

Gli obiettivi principali dello studio sono: la valutazione della durata e del numero dei trattamenti (chemioterapia, terapia ormonale e terapia biologica) della malattia metastatica in accordo con il sottotipo biologico tumorale (luminale A, luminale B, Her2 positivo, tripli negativi).

Gli obiettivi secondari sono: la valutazione della sopravvivenza globale in accordo con la durata e con il numero delle linee di terapia del carcinoma mammario metastatico; l'identificazione di fattori predittivi del numero di linee di trattamento come: età, risposta al trattamento, sottotipo biologico, siti di metastasi. Ulteriore obiettivo secondario è quello di riuscire ad identificare possibili elementi di gestione dei diversi trattamenti nei centri partecipanti allo studio.

Criteri di eleggibilità dello studio GIM14/BIOMETA

Criteri di inclusione:

- Coorte retrospettiva: include consecutivamente tutte le pazienti con carcinoma mammario metastatico trattate nei centri partecipanti con una I linea di terapia da Febbraio 2014 sino a Gennaio 2000
- Coorte prospettica: include consecutivamente tutte le pazienti con carcinoma mammario metastatico trattate nei centri partecipanti con una I linea di terapia da Marzo 2014 sino a Dicembre 2016

Criteri di esclusione: sono escluse le pazienti non consecutive con diagnosi di carcinoma mammario metastatico raggruppate per un particolare sottotipo biologico.

Raccolta dei dati dello studio GIM14/BIOMETA

Ogni ricercatore si dovrà assicurare di ottenere il consenso informato da parte di tutte le pazienti arruolate nel registro o per ogni altro studio osservazionale.

I dati sono raccolti da ogni centro partecipante su una piattaforma elettronica appositamente creata su un website dedicato in modo da garantire i requisiti di sicurezza. Oncotech è responsabile della gestione dei dati “mancanti” o “in attesa”, controllando la qualità dei dati in ingresso e della gestione delle “queries” della piattaforma elettronica.

Di seguito sono riportati in dettaglio le informazioni contenute nel database:

- Dati personali: data di nascita (gg/mm/anno) ed età delle pazienti
- Dati riguardanti il tumore primitivo: data della diagnosi, stato menopausale alla diagnosi, tipo di intervento chirurgico, istologia del tumore, dati biologici (grading, Er, PgR, Ki67 o MIB-1, Her-2). Data di inizio e tipo di terapia (neo)adiuvante (ormonoterapia, chemioterapia, terapia biologica, radioterapia).
- Dati su un eventuale secondo, terzo etc tumore: data della diagnosi, sito (mammella ipsilaterale o controlaterale od in altri organi), tipo di chirurgia, istologia e terapie adiuvanti.

- Dati sulla diagnosi della malattia metastatica: data, tipo di diagnosi (segni e/o sintomi, aumento dei markers, ristadiatione, metastasi ab initio), sito o siti delle metastasi, numero dei siti metastatici, dati raccolti da una eventuale biopsia del secondarismo (istologia e caratterizzazione biologica).
- Linee di terapia ormonale effettuate per la malattia metastatica e per ogni linea: tipologia, data d'inizio, data di fine e miglior risposta.
- Linee di chemioterapia effettuate per la malattia metastatica e per ogni linea: tipologia, data d'inizio, data di fine e miglior risposta al trattamento.
- Linee di terapia biologica effettuate per la malattia metastatica e per ogni linea: tipologia, data d'inizio, data di fine e miglior risposta.
- Informazioni su un'eventuale radioterapia effettuata sui siti di metastasi (escludendo quella a fine palliativa a livello osseo): sito, data d'inizio, data di fine e risposta.
- Progressione della malattia e per ogni progressione: data, sito/siti.
- Data dell'ultimo contatto con la paziente.
- Data del decesso della paziente.

Popolazione di studio

Per lo scopo della seguente analisi sono stati recuperati i dati delle due coorti delle pazienti trattate con T-DM1 dopo progressione da trastuzumab + pertuzumab+ taxano dal 15 Novembre 2013 (data di approvazione del T-DM1 in Italia) al 31 Marzo 2018. Le pazienti hanno ricevuto i trattamenti e sono state clinicamente seguite nei rispettivi centri.

Analisi statistica

L'analisi statistica è stata effettuata usando IBM SPSS versione 21 e le probabilità di sopravvivenza sono state stimate tramite le analisi Kaplan-Meier. Tutti i test sono bilaterali con intervallo di confidenza 95% (CI) e $p < 0.5$ considerata significativa.

RISULTATI

Delle 2034 pazienti presenti nel GIM14/BIOMETA, 445 (21.8%) presentano una diagnosi di carcinoma al seno Her-2 positivo in stadio IV e di queste, 82 hanno ricevuto il farmaco T-DM1 in II linea dopo progressione da trastuzumab + pertuzumab + taxano. Cinque di queste sono state escluse dallo studio per mancanza di dati sulla progressione del T-DM1, di conseguenza le pazienti eleggibili sono 77 (con età mediana di 50 anni) (Figura 14).

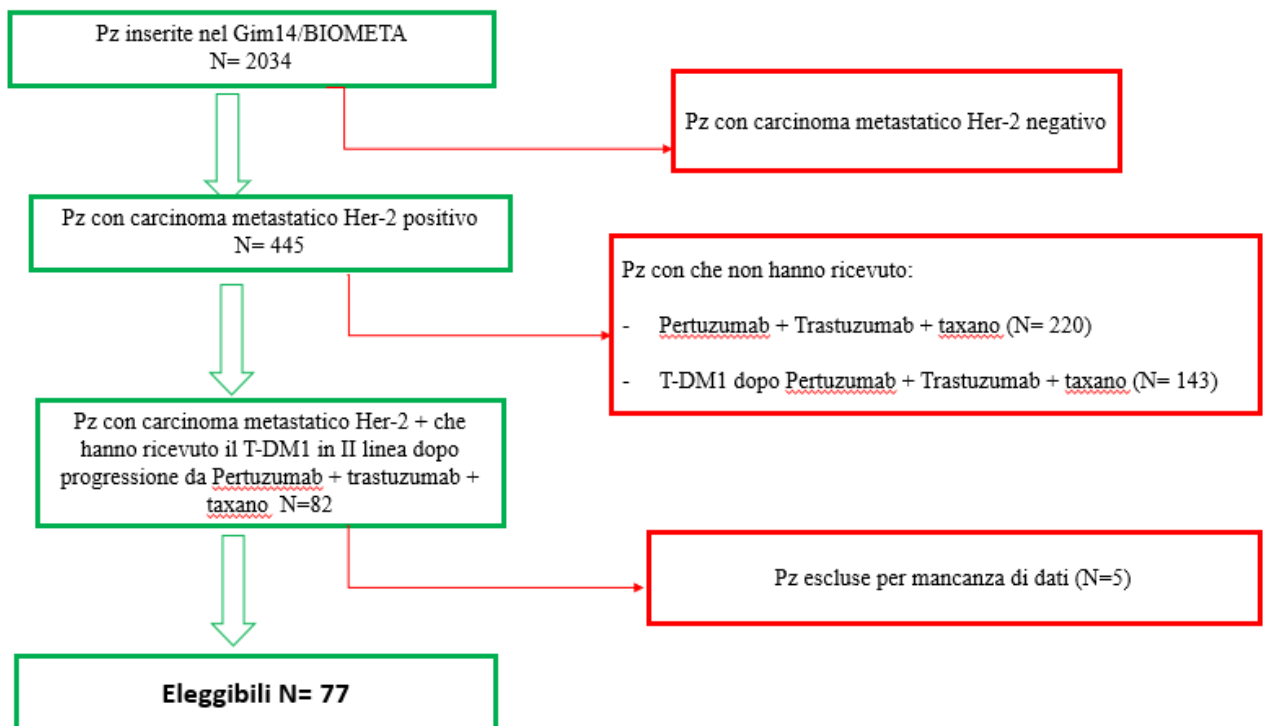


Figura 14: Pazienti eleggibili per lo studio

Le pazienti sono così suddivise (Figura 15):

- 48 (62.3%) presentano recettori ormonali positivi;
- 35 (45.4%) presentano un carcinoma metastatico ab inizio;
- 42 (54.5%) presentano una patologia ricorrente e di queste, 33 (78.5%) hanno ricevuto una terapia (neo) adiuvante.

CARATTERISTICHE DELLE PAZIENTI (Pz = 77)	N (%)
Età mediana, anni (range)	50 (33-78)
Stato recettoriale (HR) <ul style="list-style-type: none"> ▪ HR - ▪ HR + 	29 (37.6%) 48 (62.3%)
Trastuzumab (neo)adiuvante <ul style="list-style-type: none"> ▪ Si ▪ No ▪ Dato mancante 	33 (42.7%) 37 (48%) 7 (9%)
Intervallo libero da malattia dopo Trastuzumab <ul style="list-style-type: none"> ▪ De novo ▪ >= 1 anno ▪ < 1 anno ▪ Non hanno ricevuto Trastuzumab ▪ Dato mancante 	35 (45,4%) 24 (31,1%) 9 (11,6%) 2 (2,5%) 7 (9%)
Durata della terapia di I linea <ul style="list-style-type: none"> ▪ >= 1 anno ▪ <1 anno 	33 (42.8%) 44 (57.1%)
Sito di metastasi all'inizio di T-DM1 <ul style="list-style-type: none"> ▪ SNC ▪ Osso ▪ Fegato ▪ Polmone ▪ Altro 	22 (28,5%) 14 (18.1%) 25 (32.4%) 22 (28,5%) 23 (29.8%)
Terapia effettuata dopo T-DM1 <ul style="list-style-type: none"> ▪ Lapatinib + capecitabina ▪ Trastuzumab + vinorelbina ▪ Eribulina ▪ Antraciclina ▪ Terapia ormonale ▪ Ancora in terapia con T-DM1 	33 (42.8%) 10 (12.9%) 5 (6.4%) 3 (3.8%) 8 (10,3%) 24 (31,1%)

Figura 15: Caratteristiche delle pazienti

Ad un follow- up mediano di 7 mesi, 52 pazienti (67.5%) hanno interrotto la terapia con T-DM1 per via di un evento PFS, 1 a causa di una trombocitopenia di grado IV

mentre 24 pazienti (31.1%) sono ancora in terapia. La **PFSm risulta essere di 6.3 mesi** (95% CI, 4.4-7.7 mesi) e la **TTF mediana di 6.2 mesi** (95% CI, 4-8.6 mesi) (Figura 16 A). Ventinove pazienti (37.6%) hanno ricevuto il farmaco per un tempo ≥ 6 mesi (PDT) ed il 16.8% (13) per più di 1 anno.

Considerando sia la terapia di prima linea che quella di seconda la PFSm risulta essere di 24.5 mesi (95% CI, 19.4-29.3) (Figura 16 B).

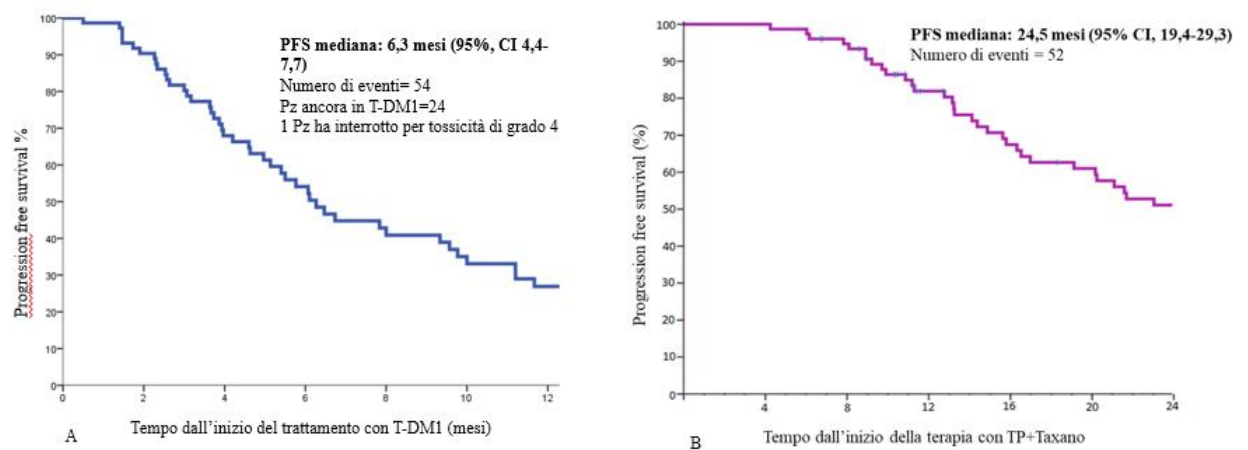


Fig16. A: PFSm 6.3 mesi. B: PFSm della sequenza trastuzumab + pertuzumab + Taxano e T-DM1= 24.5 mesi.

Quando si analizzano i siti di progressione di malattia dopo il trattamento con T-DM1, si vede come il fegato, i polmoni e il sistema nervoso centrale siano i protagonisti principali. Il sistema nervoso centrale è il sito di progressione nel 23.3% (18) delle pazienti e di queste, 13 avevano già una diagnosi di metastasi cerebrale mentre, 5 hanno sviluppato un secondarismo durante la terapia con T-DM1.

Per 59 pazienti sono stati analizzati i dati sulla risposta al trattamento e l'ORR è del 27.1%, con 2 pazienti (3.3%) che hanno ottenuto una risposta completa e 14 una risposta parziale (23.7%); si è riscontrata stabilità di malattia in 22 pazienti (37%) mentre 21 donne (35.5%) hanno avuto una progressione.

Al momento dell'analisi dei dati 14 donne (18%) erano decedute, mentre la sopravvivenza globale ad 1 anno è dell'82%.

Analizzando la PFSm in relazione allo stato recettoriale, si è notato come le pazienti con malattia Er- presentino una PFSm di 9.3 mesi (95% CI, 2.5-16.2 mesi), mentre le donne con carcinoma Er+ una PFSm di 5.8 mesi (95% CI, 4.3-7.7 mesi); questa

differenza però non risulta statisticamente significativa ($\chi^2 = 0.34$ P= 0.55) (Figura 17B).

Nelle pazienti con una risposta duratura alla terapia di I linea (TTF \geq 1 anno) la PFSm è di 8 mesi (95% CI, 2.8-13.2 mesi) mentre in quelle con TTF <1 anno a pertuzumab+ trastuzumab +taxano risulta essere di 6 mesi (95% CI, 4.4-7.6 mesi $\chi^2 = 2.2$ P= 0.13) (Figura 17A).

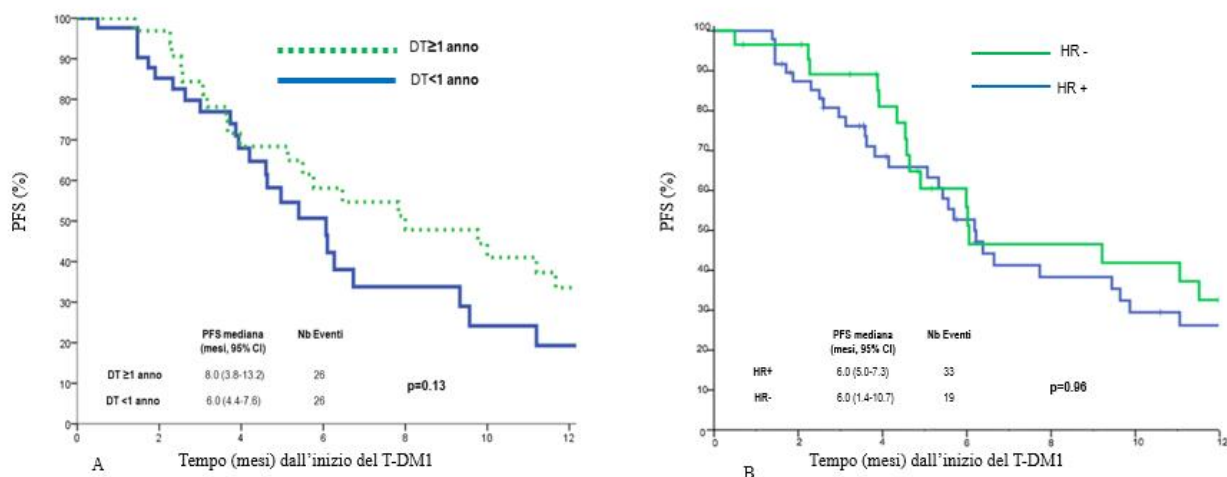


Fig.17.A: PFSm in accordo con la durata della terapia di I linea. B: PFSm in relazione alla positività/negatività dei recettori ormonali

DISCUSSIONE

Lo studio dimostra una **PFSm di 6.3 mesi e un ORR del 27.1%** con il T-DM1 nelle pazienti che hanno avuto una progressione di malattia dal doppio blocco anti-Her2 + taxano. Nello studio EMILIA la PFS e la ORR erano rispettivamente 9.6 mesi e 43.6% dopo però un trattamento di I linea con solo trastuzumab e taxano. I nostri risultati sono quindi meno favorevoli, ma sovrapponibili a quelli del trial TH3RESA dove l'analisi statistica ha dimostrato una PFSm di 6.5 mesi e un ORR del 31%. Inoltre, i risultati del nostro studio sono sovrapponibili a quelli riportati in un'analisi esploratoria dello studio CLEOPATRA che dimostra una durata alla terapia mediana

con T-DM1 di 7.1 mesi nelle pazienti che hanno ricevuto T-DM1 dopo l'interruzione del pertuzumab (in qualsiasi linea di terapia) ⁵⁶.

Ad oggi pochi studi osservazionali hanno riportato l'efficacia di T-DM1 dopo trastuzumab + pertuzumab + taxano, con risultati contrastanti. Tutti questi studi presentano un campione ristretto e includono anche pazienti che hanno ricevuto il T-DM1 in linee di terapia successive alla seconda.

Uno dei primi studi effettuati in merito ha analizzato la PDT, il TR (tumor response: basata su dati clinici e radiologici) e durata media della terapia in 78 pazienti che avevano ricevuto come prima linea il doppio blocco anti-Her2. La PDT era del 30.8 % (95% CI, 20.6% - 41.1%), il TR di 17.9% (95% CI, 9.4% - 26.4%) e la durata media di 4.0 mesi (95% CI, 2.7 - 5.1 con un range tra 0 e 22.5 mesi); tali dati comunque sono abbastanza distanti da quelli ben più incoraggianti degli studi randomizzati EMILIA e TH3RESA. Tuttavia, il 68% dei pazienti aveva ricevuto il T-DM1 come III linea terapeutica. La cosa importante è notare come quasi il 31% delle pazienti siano comunque state trattate per più di 6 mesi con il farmaco, ad indicare la presenza di un beneficio clinico del T-DM1 in questo setting ⁵⁵.

Fabi et al. hanno invece studiato due gruppi di donne: il primo, che aveva ricevuto T-DM1 dopo una I linea di trastuzumab + taxano e il secondo, dopo un trattamento con trastuzumab + pertuzumab + taxano. La conclusione di questo studio vede le pazienti trattate con doppio blocco anti-Her2 in I linea avere un outcome clinico peggiore con T-DM1 rispetto alle pazienti trattate con trastuzumab e taxano; queste considerazioni sono confermate dall'analisi statistica delle PFSm (5 mesi vs 11 mesi HR: 2.02; 95% CI: 1.14–3.58; p = 0.01) e di ORR (33% vs 57.1%). Quello che lo studio ha dimostrato è che la PFSm relativa al trattamento in I linea, la presenza di metastasi cerebrali, e un precedente trattamento con pertuzumab sono tutti parametri predittivi di una peggiore PFSm relativa al T-DM1 in II linea ⁵⁷.

Un ulteriore studio italiano ha identificato 250 pazienti trattate con T-DM1 da Febbraio 2013 a Luglio 2016 e di queste, 47 erano state precedentemente trattate con uno schema terapeutico comprendente il pertuzumab, mentre le restanti 203 solo con

trastuzumab; il 5.2% delle pazienti ha ricevuto T-DM1 in I linea, il 40% in II linea e il restante 54.8% nelle linee successive⁵⁸.

I dati di questo studio non sembrano supportare l'ipotesi di una maggiore efficacia del T-DM1 nelle pazienti trattate precedentemente con il pertuzumab, anche se generalmente le pazienti che presentano un migliore outcome a tale farmaco, presentano un maggior beneficio clinico con T-DM1⁵⁸.

Secondo questo studio retrospettivo l'efficacia del T-DM1 sembra essere indipendente rispetto alla linea di trattamento nel quale viene usato nelle pazienti che non sono mai state sottoposte a pertuzumab (la linea di trattamento e la PFSm sono inversamente proporzionali con $R=-0.23$ e $p=0.005$), mentre nelle pazienti che hanno ricevuto pertuzumab in I linea, T-DM1 si dimostra più efficace quando non somministrato immediatamente dopo l'anticorpo monoclonale (esiste una correlazione diretta tra linea di trattamento e PFSm con $R=0.50$ e $p=0.003$). Questi risultati possono essere spiegati pensando che in tali pazienti si sia instaurata una resistenza alla terapia target anti-Her2 rendendo meno accessibile il sito di legame della proteina al T-DM1. Come già riportato dagli autori stessi però, tali considerazioni devono essere interpretate con estrema cautela alla luce dell'esiguo numero di pazienti (47) che sono state studiate⁵⁸. Globalmente, questi studi hanno analizzato l'efficacia del T-DM1 in campioni ristretti che includevano pazienti trattate con T-DM1 dopo varie linee di trattamento; pertanto non è possibile trarre delle conclusioni solide sull'efficacia del T-DM1 in seconda linea dopo una prima linea a base di pertuzumab e trastuzumab.

Differentemente dagli studi sopracitati, questo ha incluso solo pazienti trattate con T-DM1 in II linea ed è quindi più adatto a descrivere la reale efficacia del T-DM1.

Nel nostro studio si nota che le pazienti Er- presentano una PFSm più lunga rispetto alle pazienti che esprimono i recettori ormonali, ma tale differenza non è statisticamente significativa. Analogamente nel trial EMILIA non si è dimostrata una differenza statisticamente significativa nel beneficio di T-DM1 tra pazienti Er- ed Er+, ma è stato osservato un trend di maggiore riduzione del rischio di eventi PFS per il sottogruppo di pazienti con carcinoma recettori ormonali negativo⁵³.

Sebbene tali differenze osservate nel nostro studio e nel trial EMILIA non siano significative, questi risultati sono meritevoli di discussione poiché mostrano un outcome di sopravvivenza migliore nelle pazienti Er- quando invece è noto che, a prescindere dal tipo di trattamento anti-Her2, le pazienti Er+ abbiano una prognosi migliore. Al contrario, i risultati del nostro studio potrebbero suggerire una minor efficacia di T-DM1 nelle pazienti Er+ che potrebbe essere attribuita al crosstalk tra il recettore degli estrogeni e la proteina Her-2. L'inibizione di Her-2 porta ad un aumento della trasduzione del segnale regolata dal recettore estrogenico aumentando così la trascrizione del gene del TGF- α ; e 'stato dimostrato come questa citochina aumenti la resistenza delle cellule tumorali al trastuzumab ^{59,60}.

Analizzando la PFSm in relazione alla risposta al pertuzumab si è notato che le pazienti con una risposta duratura a questo farmaco presentano una PFSm di 8 mesi mentre, in quelle che hanno risposto per meno tempo al pertuzumab risulta essere di 6 mesi ($\chi^2 = 2.2$). Tali risultati indicano che il T-DM1 rimane una preziosa opzione per le pazienti resistenti al doppio blocco anti Her-2. Questa considerazione sembra essere confermata dai risultati dello studio KATHERINE. In tale studio 1486 pazienti Her-2 positive che non avevano raggiunto la pCR dopo chemioterapia neoadiuvante a base di taxani + trastuzumab sono state randomizzate a ricevere T-DM1 adiuvante o a proseguire il trastuzumab. Dopo un follow-up di circa 40 mesi l'analisi statistica ha dimostrato che la percentuale stimata di pazienti libere da malattia invasiva a 3 anni è dell'88.3% nel gruppo T-DM1 e del 77% in quello trattato con trastuzumab (H.R. 0.50; 95% CI, 0.39 - 0.64; P<0.001). Questa differenza statisticamente significativa rimane tale anche nel sottogruppo di pazienti che aveva ricevuto il pertuzumab (circa il 20%) all'interno del trattamento neoadiuvante confermando così l'efficacia del T-DM1 nella malattia pertuzumab-resistente ⁵².

Una delle maggiori differenze emerse tra le pazienti arruolate nel nostro studio e nello studio EMILIA è la percentuale di donne che presentano metastasi cerebrali come primo sito di metastasi: 28.5% vs 9% nel trial EMILIA.

Altro dato discordante riguarda la progressione della malattia proprio a livello cerebrale: nello studio randomizzato solo il 4 % delle donne hanno interrotto il T-DM1

a causa della progressione cerebrale, a differenza del 23.3% delle pazienti del nostro studio.

A tal proposito un'analisi retrospettiva del trial EMILIA ha dimostrato una PFSm e una percentuale di progressione cerebrale nelle pazienti con metastasi cerebrali all'inizio del T-DM1 sostanzialmente sovrapponibili con quelle osservate nel nostro studio (rispettivamente 5.9 mesi di PFSm e 22% di progressione cerebrali)⁶¹.

La più alta incidenza di metastasi cerebrali potrebbe essere uno dei motivi principali per cui gli outcome degli studi osservazionali con T-DM1 siano peggiori rispetto a quelli riportati dagli studi randomizzati registrativi in cui le pazienti con malattia cerebrale risultano essere sottorappresentate rispetto alla *real life*.

I secondarismi cerebrali causano sintomi neurologici debilitanti, sono associati ad una prognosi peggiore, e sono ancora ad oggi una sfida nel trattamento della malattia metastatica Her-2 positiva; nell'analisi esplorativa del trial EMILIA gli autori concludono che il T-DM1 possa essere un'arma efficace nelle pazienti con metastasi cerebrali precedentemente trattate con trastuzumab e taxano⁶¹. Tuttavia, altri studi suggeriscono come l'utilizzo di terapie target anti Her-2 a più basso peso molecolare - e quindi in grado di penetrare con più efficacia la BEE - possa essere più efficace nel controllo delle metastasi cerebrali^{62, 63,64}.

Un ulteriore dato che risalta in questo studio, è quello relativo al numero di pazienti con diagnosi di carcinoma al seno metastatico *de novo*: il 45%. Questa percentuale rispecchia lo scenario clinico reale riportato anche da un altro studio osservazionale: il trial SystHERs. In questo trial sono state arruolate 997 pazienti con malattia metastatica Her-2+ e quello che gli Autori hanno osservato, è che circa la metà di queste (49.8%) presentano metastasi già alla diagnosi⁴⁰. Tale osservazione epidemiologica è molto importante in quanto, sulla base dei risultati del trial KATHERINE, il T-DM1 verrà sempre più utilizzato in un setting precoce. Tuttavia, con il 50% di pazienti che presentano una malattia metastatica *de novo*, il T-DM1 rimane un'importante opzione terapeutica della malattia avanzata, rendendo il nostro studio rilevante per quanto riguarda l'attuale pratica clinica.

Questo studio presenta chiari limiti metodologici in quanto, essendo uno studio osservazionale, l'eterogeneità delle pazienti e le differenze nei tempi e nei metodi di

rivalutazione della malattia potrebbero avere inficiato i nostri risultati. Non è stato possibile determinare alcuni endpoints in tutta la popolazione presa in considerazione: la miglior risposta alla terapia è stata analizzata solo in 59 pazienti. Infine, il follow up mediano è relativamente breve, e di alcune pazienti non è stato possibile recuperare i dati dopo la progressione dal T-DM1.

Nonostante tali limiti, lo studio presenta la più grande coorte attualmente pubblicata di pazienti con carcinoma metastatico Her-2 positivo trattate in II linea con T-DM1 dopo progressione da trastuzumab + pertuzumab + taxano. Inoltre, i risultati qui descritti sono coerenti con quelli provenienti dall'analisi esploratoria dello studio CLEOPATRA e ciò prova l'affidabilità di tali dati ⁵⁶.

CONCLUSIONI

Nel nostro studio la PFSm risulta essere più breve rispetto al risultato dello studio EMILIA; tuttavia il 27.1% delle pazienti ha raggiunto una risposta oggettiva e il 37.6% ha ottenuto un controllo duraturo della malattia. Questi numeri evidenziano una significativa attività clinica del T-DM1 in questo setting. I risultati indicano quindi che il T-DM1 dovrebbe essere considerato una valida opzione terapeutica nel trattamento di II linea nelle pazienti con carcinoma Her-2 positivo metastatico resistenti al pertuzumab.

RINGRAZIAMENTI

Ringrazio prima di tutto la Professoressa Del Mastro Lucia e il Professor Lambertini Matteo , non solo per avermi supportato e guidato nella stesura di questo elaborato, ma anche per avermi accolto all'interno della Breast Unit dell'Ospedale policlinico San Martino. Qui ho avuto l'opportunità di incontrare specializzandi e specialisti che con grande passione e immensa disponibilità mi hanno insegnato nozioni tecniche, ma soprattutto il valore della collaborazione e il significato della vera assistenza al prossimo che esula dalla sola condizione clinica. Un grazie va anche alla Dott.ssa Conte Benedetta che nonostante gli svariati impegni che il lavoro da medico specializzando comporta, ha sempre trovato il tempo e la pazienza per rispondere ad ogni mia domanda. Sicuro di aver arricchito il mio bagaglio con un'esperienza formativa e personale straordinaria, auguro a tutto il personale della Breast Unit di poter realizzare i loro sogni professionali e non.

Infine, ringrazio l'Università di Genova e l'ospedale San Martino per il percorso formativo e le opportunità create.

BIBLIOGRAFIA

- ¹ Gori, S., (2019). *I numeri del cancro 2019*. Brescia: Intermedia Editore.
- ² Gori, S., (2019). *Linee guida: neoplasia della mammella*
- ³ Baglietto, L., English, D. R., Hopper, J. L., Morris, H. A., Tilley, W. D., & Giles, G. G. (2007). Circulating Insulin-Like Growth Factor-I and Binding Protein-3 and the Risk of Breast Cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 16(4), 763–768. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-06-0960>
- ⁴ Agnoli, C., Berrino, F., Abagnato, C. A., Muti, P., Panico, S., Crosignani, P., & Krogh, V. (2010). Metabolic syndrome and postmenopausal breast cancer in the ORDET cohort: A nested case–control study. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 20(1), 41–48. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2009.02.006>
- ⁵ Gori, S., (2018). *Il carcinoma della mammella 2018*. Roma: Il pensiero scientifico Editore
- ⁶ Chen, S., & Parmigiani, G. (2007). Meta-Analysis of *BRCA1* and *BRCA2* Penetrance. *Journal of Clinical Oncology*, 25(11), 1329–1333. <https://doi.org/10.1200/JCO.2006.09.1066>
- ⁷ Thomas, M., Kelly, E. D., Abraham, J., & Kruse, M. (2019). Invasive lobular breast cancer: A review of pathogenesis, diagnosis, management, and future directions of early stage disease. *Seminars in Oncology*, 46(2), 121–132. <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2019.03.002>
- ⁸ Allison, K. H., Hammond, M. E. H., Dowsett, M., McKernin, S. E., Carey, L. A., Fitzgibbons, P. L., Hayes, D. F., Lakhani, S. R., Chavez-MacGregor, M., Perlmutter, J., Perou, C. M., Regan, M. M., Rimm, D. L., Symmans, W. F., Torlakovic, E. E., Varella, L., Viale, G., Weisberg, T. F., McShane, L. M., & Wolff, A. C. (2020). Estrogen and Progesterone Receptor Testing in Breast Cancer: ASCO/CAP Guideline Update. *Journal of Clinical Oncology*, 38(12), 1346–1366. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.02309>

⁹ Fitzgibbons, P. L., Page, D. L., Weaver, D., Thor, A. D., Allred, D. C., Clark, G. M., Ruby, S. G., O'Malley, F., Simpson, J. F., Connolly, J. L., Hayes, D. F., Edge, S. B., Lichter, A., & Schnitt, S. J. (2000). Prognostic Factors in Breast Cancer. *Arch Pathol Lab Med*, *124*, 13.

¹⁰ Goldhirsch, A., Winer, E. P., Coates, A. S., Gelber, R. D., Piccart-Gebhart, M., Thürlimann, B., Senn, H.-J., Albain, K. S., André, F., Bergh, J., Bonnefoi, H., Bretel-Morales, D., Burstein, H., Cardoso, F., Castiglione-Gertsch, M., Coates, A. S., Colleoni, M., Costa, A., Curigliano, G., ... Wood, W. C. (2013). Personalizing the treatment of women with early breast cancer: Highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Annals of Oncology*, *24*(9), 2206–2223. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdt303>

¹¹ Wolff, A. C., Hammond, M. E. H., Hicks, D. G., Dowsett, M., McShane, L. M., Allison, K. H., Allred, D. C., Bartlett, J. M. S., Bilous, M., Fitzgibbons, P., Hanna, W., Jenkins, R. B., Mangu, P. B., Paik, S., Perez, E. A., Press, M. F., Spears, P. A., Vance, G. H., Viale, G., & Hayes, D. F. (2013). Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Update. *Journal of Clinical Oncology*, *31*(31), 3997–4013. <https://doi.org/10.1200/JCO.2013.50.9984>

¹² Slamon, D. J., Clark, G. M., & Wong, S. G. (n.d.). *Human Breast Cancer: Correlation of Relapse and Survival with Amplification*. 235, 7.

¹³ Harari, D., & Yarden, Y. (2000). Molecular mechanisms underlying ErbB2/HER2 action in breast cancer. *Oncogene*, *19*(53), 6102–6114. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1203973>

¹⁴ Labianca, R., & Cascinu, S. (2013). *La medicina oncologica: Diagnosi terapia e gestione clinica*. Milano: Edra.

¹⁵ Elston, C. W., & Ellis, I. O. (1991). pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: Experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*, *19*(5), 403–410. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.1991.tb00229.x>

¹⁶ Wolff, A. C., Hammond, M. E. H., Allison, K. H., Harvey, B. E., Mangu, P. B., Bartlett, J. M. S., Bilous, M., Ellis, I. O., Fitzgibbons, P., Hanna, W., Jenkins, R. B., Press, M. F., Spears, P. A., Vance,

G. H., Viale, G., McShane, L. M., & Dowsett, M. (2018). Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Focused Update. *Journal of Clinical Oncology*, *36*(20), 2105–2122. <https://doi.org/10.1200/JCO.2018.77.8738>

¹⁷ Rody, A., Holtrich, U., Pusztai, L., Liedtke, C., Gaetje, R., Ruckhaeberle, E., Solbach, C., Hanker, L., Ahr, A., Metzler, D., Engels, K., Karn, T., & Kaufmann, M. (2009). T-cell metagene predicts a favorable prognosis in estrogen receptor-negative and HER2-positive breast cancers. *Breast Cancer Research*, *11*(2), R15. <https://doi.org/10.1186/bcr2234>

¹⁸ Yerushalmi, R., Hayes, M. M., & Gelmon, K. A. (2009). Breast carcinoma—rare types: Review of the literature. *Annals of Oncology*, *20*(11), 1763–1770. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdp245>

¹⁹ Pekar, G., Hofmeyer, S., Tabár, L., Tarján, M., Chen, T. H.-H., Yen, A. M.-F., Chiu, S. Y.-H., Hellberg, D., Gere, M., & Tot, T. (2013). Multifocal breast cancer documented in large-format histology sections: Long-term follow-up results by molecular phenotypes. *Cancer*, *119*(6), 1132–1139. <https://doi.org/10.1002/cncr.27877>

²⁰ Salgado, R., Denkert, C., Demaria, S., Sirtaine, N., Klauschen, F., Pruneri, G., Wienert, S., Van den Eynden, G., Baehner, F. L., Penault-Llorca, F., Perez, E. A., Thompson, E. A., Symmans, W. F., Richardson, A. L., Brock, J., Criscitiello, C., Bailey, H., Ignatiadis, M., Floris, G., ... Loi, S. (2015). The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: Recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Annals of Oncology*, *26*(2), 259–271. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdu450>

²¹ Solinas, C., Ceppi, M., Lambertini, M., Scartozzi, M., Buisseret, L., Garaud, S., Fumagalli, D., de Azambuja, E., Salgado, R., Sotiriou, C., Willard-Gallo, K., & Ignatiadis, M. (2017). Tumor-infiltrating lymphocytes in patients with HER2-positive breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy plus trastuzumab, lapatinib or their combination: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Cancer Treatment Reviews*, *57*, 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2017.04.005>

²² Veronesi, U., Cascinelli, N., Mariani, L., Greco, M., Saccozzi, R., Luini, A., Aguilar, M., & Marubini, E. (2002). Twenty-Year Follow-up of a Randomized Study Comparing Breast-Conserving

Surgery with Radical Mastectomy for Early Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*, 347(16), 1227–1232. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa020989>

²³ Del Mastro, L., De Placido, S., Bruzzi, P., De Laurentiis, M., Boni, C., Cavazzini, G., Durando, A., Turetti, A., Nisticò, C., Valle, E., Garrone, O., Puglisi, F., Montemurro, F., Barni, S., Ardizzoni, A., Gamucci, T., Colantuoni, G., Giuliano, M., Gravina, A., ... Cognetti, F. (2015). Fluorouracil and dose-dense chemotherapy in adjuvant treatment of patients with early-stage breast cancer: An open-label, 2 × 2 factorial, randomised phase 3 trial. *The Lancet*, 385(9980), 1863–1872. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)62048-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)62048-1)

²⁴ Francis, P. A., Pagani, O., Fleming, G. F., Walley, B. A., Colleoni, M., Láng, I., Gómez, H. L., Tondini, C., Ciruelos, E., Burstein, H. J., Bonnefoi, H. R., Bellet, M., Martino, S., Geyer, C. E., Goetz, M. P., Stearns, V., Pinotti, G., Puglisi, F., Spazzapan, S., ... Regan, M. M. (2018). Tailoring Adjuvant Endocrine Therapy for Premenopausal Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*, 379(2), 122–137. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1803164>

²⁵ Francis, P. A., Regan, M. M., Fleming, G. F., Láng, I., Ciruelos, E., Bellet, M., Bonnefoi, H. R., Climent, M. A., Da Prada, G. A., Burstein, H. J., Martino, S., Davidson, N. E., Geyer, C. E., Walley, B. A., Coleman, R., Kerbrat, P., Buchholz, S., Ingle, J. N., Winer, E. P., ... Gelber, R. D. (2015). Adjuvant Ovarian Suppression in Premenopausal Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*, 372(5), 436–446. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1412379>

²⁶ Cardoso, F., Kyriakides, S., Ohno, S., Penault-Llorca, F., Poortmans, P., Rubio, I. T., Zackrisson, S., & Senkus, E. (2019). Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*, 30(8), 1194–1220. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz173>

²⁷ Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). (2011). Relevance of breast cancer hormone receptors and other factors to the efficacy of adjuvant tamoxifen: Patient-level meta-analysis of randomised trials. *The Lancet*, 378(9793), 771–784. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60993-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60993-8)

²⁸ Cardoso, F., Senkus, E., Costa, A., Papadopoulos, E., Aapro, M., André, F., Harbeck, N., Aguilar Lopez, B., Barrios, C. H., Bergh, J., Biganzoli, L., Boers-Doets, C. B., Cardoso, M. J., Carey, L. A.,

Cortés, J., Curigliano, G., Diéras, V., El Saghir, N. S., Eniu, A., ... Winer, E. P. (2018). 4th ESO–ESMO International Consensus Guidelines for Advanced Breast Cancer (ABC 4). *Annals of Oncology*, 29(8), 1634–1657. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy192>

²⁹ Tondini, C., Hayes, D. F., Gelman, R., Henderson, I. C., & Kufe, D. W. (n.d.). *Comparison of CA15-3 and Carcinoembryonic Antigen in Monitoring the Clinical Course of Patients with Metastatic Breast Cancer*. 7.

³⁰ Hudis, C. A. (2007). Trastuzumab—Mechanism of Action and Use in Clinical Practice. *New England Journal of Medicine*, 357(1), 39–51. <https://doi.org/10.1056/NEJMra043186>

³¹ Baselga, J., Cortés, J., Kim, S.-B., Im, S.-A., Hegg, R., Im, Y.-H., Roman, L., Pedrini, J. L., Pienkowski, T., Knott, A., Clark, E., Benyunes, M. C., Ross, G., & Swain, S. M. (2012). Pertuzumab plus Trastuzumab plus Docetaxel for Metastatic Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*, 366(2), 109–119. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1113216>

³² Hudziak, R. M., Lewis, G. D., Winget, M., Fendly, B. M., & Shepard, H. M. (1989). P185HER2 Monoclonal Antibody Has An (iproliferative Effects In Vitro and Sensitizes Human Breast Tumor Cells to Tumor Necrosis Factor. *MOL. CELL. BIOL.*, 9, 8.

³³ Valabrega, G., Montemurro, F., & Aglietta, M. (2007). Trastuzumab: Mechanism of action, resistance and future perspectives in HER2-overexpressing breast cancer. *Annals of Oncology*, 18(6), 977–984. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdl475>

³⁴ Slamon, D. J., Leyland-Jones, B., Shak, S., Fuchs, H., Paton, V., Bajamonde, A., Fleming, T., Eiermann, W., Wolter, J., Pegram, M., Baselga, J., & Norton, L. (2001). Use of Chemotherapy plus a Monoclonal Antibody against HER2 for Metastatic Breast Cancer That Overexpresses HER2. *New England Journal of Medicine*, 344(11), 783–792. <https://doi.org/10.1056/NEJM200103153441101>

³⁵ Romond, E. H., Suman, V. J., Tan-Chiu, E., Kaufman, P. A., Fehrenbacher, L., Vogel, V. G., Jenkins, R. B., Mamounas, E. P., & Klein, P. M. (2005). Trastuzumab plus Adjuvant Chemotherapy for Operable HER2-Positive Breast Cancer. *The New England Journal of Medicine*, 12.

³⁶ Franklin, M. C., Carey, K. D., Vajdos, F. F., Leahy, D. J., de Vos, A. M., & Sliwkowski, M. X. (2004). Insights into ErbB signaling from the structure of the ErbB2-pertuzumab complex. *CANCER CELL*, 12.

³⁷ Kennecke, H., Yerushalmi, R., Woods, R., Cheang, M. C. U., Voduc, D., Speers, C. H., Nielsen, T. O., & Gelmon, K. (2010). Metastatic Behavior of Breast Cancer Subtypes. *Journal of Clinical Oncology*, 28(20), 3271–3277. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.25.9820>

³⁸ Sundquist, M., Brudin, L., & Tejler, G. (2017). Improved survival in metastatic breast cancer 1985–2016. *The Breast*, 31, 46–50. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2016.10.005>

³⁹ Bonotto, M., Gerratana, L., Poletto, E., Driol, P., Giangreco, M., Russo, S., Minisini, A. M., Andretta, C., Mansutti, M., Pisa, F. E., Fasola, G., & Puglisi, F. (2014). Measures of Outcome in Metastatic Breast Cancer: Insights From a Real-World Scenario. *The Oncologist*, 19(6), 608–615. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2014-0002>

⁴⁰ Tripathy, D., Brufsky, A., Cobleigh, M., Jahanzeb, M., Kaufman, P. A., Mason, G., O’Shaughnessy, J., Rugo, H. S., Swain, S. M., Yardley, D. A., Chu, L., Li, H., Antao, V., & Hurvitz, S. A. (2020). De Novo Versus Recurrent HER2-Positive Metastatic Breast Cancer: Patient Characteristics, Treatment, and Survival from the SystHERs Registry. *The Oncologist*, 25(2). <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2019-0446>

⁴¹ Graesslin, O., Abdulkarim, B. S., Coutant, C., Huguet, F., Gabos, Z., Hsu, L., Marpeau, O., Uzan, S., Puztai, L., Strom, E. A., Hortobagyi, G. N., Rouzier, R., & Ibrahim, N. K. (2010). Nomogram to Predict Subsequent Brain Metastasis in Patients With Metastatic Breast Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 28(12), 2032–2037. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.24.6314>

⁴² Pestalozzi, B. C., Zahrieh, D., Price, K. N., Holmberg, S. B., Lindtner, J., Collins, J., Crivellari, D., Fey, M. F., Murray, E., Pagani, O., Simoncini, E., Castiglione-Gertsch, M., Gelber, R. D., Coates, A. S., & Goldhirsch, A. (2006). Identifying breast cancer patients at risk for Central Nervous System (CNS) metastases in trials of the International Breast Cancer Study Group (IBCSG). *Annals of Oncology*, 17(6), 935–944. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdl064>

⁴³ Duchnowska, R., Biernat, W., Szostakiewicz, B., Sperinde, J., Piette, F., Haddad, M., Paquet, A., Lie, Y., Czartoryska-Arlukowicz, B., Wysocki, P., Jankowski, T., Radecka, B., Foszczyńska-Kłoda, M., Litwiniuk, M., Dębska, S., Weidler, J., Huang, W., Buyse, M., Bates, M., & Jassem, J. (2012). Correlation Between Quantitative HER-2 Protein Expression and Risk for Brain Metastases in HER-2⁺ Advanced Breast Cancer Patients Receiving Trastuzumab-Containing Therapy. *The Oncologist*, *17*(1), 26–35. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2011-0212>

⁴⁴ Swain, S. M., Kim, S.-B., Cortés, J., Ro, J., Semiglazov, V., Campone, M., Ciruelos, E., Ferrero, J.-M., Schneeweiss, A., Knott, A., Clark, E., Ross, G., Benyunes, M. C., & Baselga, J. (2013). Pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel for HER2-positive metastatic breast cancer (CLEOPATRA study): Overall survival results from a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 study. *The Lancet Oncology*, *14*(6), 461–471. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(13\)70130-X](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(13)70130-X)

⁴⁵ Robert, N. J., Goertz, H.-P., Chopra, P., Jiao, X., Yoo, B., Patt, D., & Antao, V. (2017). HER2-Positive Metastatic Breast Cancer Patients Receiving Pertuzumab in a Community Oncology Practice Setting: Treatment Patterns and Outcomes. *Drugs - Real World Outcomes*, *4*(1), 1–7. <https://doi.org/10.1007/s40801-016-0102-5>

⁴⁶ Boyraz, B., Sendur, M. A. N., Aksoy, S., Babacan, T., Roach, E. C., Kizilarlanoglu, M. C., Petekkaya, I., & Altundag, K. (2013). Trastuzumab emtansine (T-DM1) for HER2-positive breast cancer. *Current Medical Research and Opinion*, *29*(4), 405–414. <https://doi.org/10.1185/03007995.2013.775113>

⁴⁷ Barok, M., Joensuu, H., & Isola, J. (2014). Trastuzumab emtansine: Mechanisms of action and drug resistance. *Breast Cancer Research*, *16*(2), 3378. <https://doi.org/10.1186/bcr3621>

Bartsch, R., Rottenfusser, A., Wenzel, C., Dieckmann, K., Pluschnig, U., Altorjai, G., Rudas, M., Mader, R. M., Poetter, R., Zielinski, C. C., & Steger, G. G. (2007). Trastuzumab prolongs overall survival in patients with brain metastases from Her2 positive breast cancer. *Journal of Neuro-Oncology*, *85*(3), 311–317. <https://doi.org/10.1007/s11060-007-9420-5>

⁴⁸ Diéras, V., Miles, D., Verma, S., Pegram, M., Welslau, M., Baselga, J., Krop, I. E., Blackwell, K., Hoersch, S., Xu, J., Green, M., & Gianni, L. (2017). Trastuzumab emtansine versus capecitabine plus lapatinib in patients with previously treated HER2-positive advanced breast cancer (EMILIA): A

descriptive analysis of final overall survival results from a randomised, open-label, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*, 18(6), 732–742. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30312-1](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30312-1)

⁴⁹ Krop, I. E., Kim, S.-B., González-Martín, A., LoRusso, P. M., Ferrero, J.-M., Smitt, M., Yu, R., Leung, A. C. F., & Wildiers, H. (2014). Trastuzumab emtansine versus treatment of physician's choice for pretreated HER2-positive advanced breast cancer (TH3RESA): A randomised, open-label, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*, 15(7), 689–699. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)70178-0](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)70178-0)

⁵⁰ Krop, I. E., Kim, S.-B., Martin, A. G., LoRusso, P. M., Ferrero, J.-M., Badovinac-Crnjevic, T., Hoersch, S., Smitt, M., & Wildiers, H. (2017). Trastuzumab emtansine versus treatment of physician's choice in patients with previously treated HER2-positive metastatic breast cancer (TH3RESA): Final overall survival results from a randomised open-label phase 3 trial. *The Lancet Oncology*, 18(6), 743–754. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30313-3](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30313-3)

⁵¹ Perez, E. A., Barrios, C., Eiermann, W., Toi, M., Im, Y.-H., Conte, P., Martin, M., Pienkowski, T., Pivot, X., Burris, H. A., Petersen, J. A., Stanzel, S., Strasak, A., Patre, M., & Ellis, P. (2017). Trastuzumab Emtansine With or Without Pertuzumab Versus Trastuzumab Plus Taxane for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Positive, Advanced Breast Cancer: Primary Results From the Phase III MARIANNE Study. *Journal of Clinical Oncology*, 35(2), 141–148. <https://doi.org/10.1200/JCO.2016.67.4887>

⁵² von Minckwitz, G., Huang, C.-S., Mano, M. S., Loibl, S., Mamounas, E. P., Untch, M., Wolmark, N., Rastogi, P., Schneeweiss, A., Redondo, A., Fischer, H. H., Jacot, W., Conlin, A. K., Arce-Salinas, C., Wapnir, I. L., Jackisch, C., DiGiovanna, M. P., Fasching, P. A., Crown, J. P., ... Geyer, C. E. (2019). Trastuzumab Emtansine for Residual Invasive HER2-Positive Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*, 380(7), 617–628. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1814017>

⁵³ Verma, S., Miles, D., Gianni, L., Krop, I. E., Welslau, M., Baselga, J., Pegram, M., Oh, D.-Y., Diéras, V., Guardino, E., Fang, L., Lu, M. W., Olsen, S., & Blackwell, K. (2012). Trastuzumab Emtansine for HER2-Positive Advanced Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*, 367(19), 1783–1791. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1209124>

-
- ⁵⁴ Cardoso, F., Costa, A., Norton, L., Senkus, E., Aapro, M., André, F., Barrios, C. H., Bergh, J., Biganzoli, L., Blackwell, K. L., Cardoso, M. J., Cufer, T., El Saghir, N., Fallowfield, L., Fenech, D., Francis, P., Gelmon, K., Giordano, S. H., Gligorov, J., ... Winer, E. (2014). ESO-ESMO 2nd international consensus guidelines for advanced breast cancer (ABC2). *The Breast*, *23*(5), 489–502. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2014.08.009>
- ⁵⁵ Dzimitrowicz, H., Berger, M., Vargo, C., Hood, A., Abdelghany, O., Raghavendra, A. S., Tripathy, D., Valero, V., Hatzis, C., Pusztai, L., & Murthy, R. (2016). T-DM1 Activity in Metastatic Human Epidermal Growth Factor Receptor 2–Positive Breast Cancers That Received Prior Therapy With Trastuzumab and Pertuzumab. *Journal of Clinical Oncology*, *34*(29), 3511–3517. <https://doi.org/10.1200/JCO.2016.67.3624>
- ⁵⁶ Urruticoechea, A., Im, S.-A., Munoz, M., Baselga, J., Yardley, D. A., Heeson, S., Jones, S., Knott, A., Douthwaite, H., Badovinac Crnjevic, T., & Swain, S. M. (2017). Efficacy of trastuzumab emtansine (T-DM1) in patients (pts) with HER2+ metastatic breast cancer (MBC) previously treated with pertuzumab (P). *Journal of Clinical Oncology*, *35*(15_suppl), 1023–1023. https://doi.org/10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.1023
- ⁵⁷ Fabi, A., Giannarelli, D., Moscetti, L., Santini, D., Zambelli, A., Laurentiis, M. D., Caruso, M., Generali, D., Valle, E., Leonardi, V., Cannita, K., Arpino, G., Filippelli, G., Ferretti, G., Giampaglia, M., Montemurro, F., Nisticò, C., Gasparro, S., & Cognetti, F. (2017). Ado-trastuzumab emtansine (T-DM1) in HER2+ advanced breast cancer patients: Does pretreatment with pertuzumab matter? *Future Oncology*, *13*(30), 2791–2797. <https://doi.org/10.2217/fo-2017-0336>
- ⁵⁸ Vici, P., Pizzuti, L., Michelotti, A., Sperduti, I., Natoli, C., Mentuccia, L., Di Lauro, L., Sergi, D., Marchetti, P., Santini, D., Magnolfi, E., Iezzi, L., Moscetti, L., Fabbri, A., Cassano, A., Grassadonia, A., Omarini, C., Piacentini, F., Botticelli, A., ... Gamucci, T. (2017). A retrospective multicentric observational study of trastuzumab emtansine in HER2 positive metastatic breast cancer: A real-world experience. *Oncotarget*, *8*(34). <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18176>
- ⁵⁹ Nahta, R., & O'Regan, R. M. (2012). Therapeutic implications of estrogen receptor signaling in HER2-positive breast cancers. *Breast Cancer Research and Treatment*, *135*(1), 39–48. <https://doi.org/10.1007/s10549-012-2067-8>

⁶⁰ Valabrega, G., Montemurro, F., Sarotto, I., Petrelli, A., Rubini, P., Tacchetti, C., Aglietta, M., Comoglio, P. M., & Giordano, S. (2005). TGF α expression impairs Trastuzumab-induced HER2 downregulation. *Oncogene*, *24*(18), 3002–3010. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208478>

⁶¹ Krop, I. E., Lin, N. U., Blackwell, K., Guardino, E., Huober, J., Lu, M., Miles, D., Samant, M., Welslau, M., & Diéras, V. (2015). Trastuzumab emtansine (T-DM1) versus lapatinib plus capecitabine in patients with HER2-positive metastatic breast cancer and central nervous system metastases: A retrospective, exploratory analysis in EMILIA. *Annals of Oncology*, *26*(1), 113–119. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdu486>

⁶² Bachelot, T., Romieu, G., Campone, M., Diéras, V., Cropet, C., Dalenc, F., Jimenez, M., Le Rhun, E., Pierga, J.-Y., Gonçalves, A., Leheurteur, M., Domont, J., Gutierrez, M., Curé, H., Ferrero, J.-M., & Labbe-Devilliers, C. (2013). Lapatinib plus capecitabine in patients with previously untreated brain metastases from HER2-positive metastatic breast cancer (LANDSCAPE): A single-group phase 2 study. *The Lancet Oncology*, *14*(1), 64–71. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(12\)70432-1](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70432-1)

⁶³ Murthy, R. K., Loi, S., Okines, A., Paplomata, E., Hamilton, E., Hurvitz, S. A., Lin, N. U., Borges, V., Abramson, V., Anders, C., Bedard, P. L., Oliveira, M., Jakobsen, E., Bachelot, T., Shachar, S. S., Müller, V., Braga, S., Duhoux, F. P., Greil, R., ... Winer, E. P. (2020). Tucatinib, Trastuzumab, and Capecitabine for HER2-Positive Metastatic Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*, *382*(7), 597–609. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1914609>

⁶⁴ Saura, C., Oliveira, M., Feng, Y.-H., Dai, M.-S., Hurvitz, S. A., Kim, S.-B., Moy, B., Delaloge, S., Gradishar, W. J., Masuda, N., Palacova, M., Trudeau, M. E., Mattson, J., Yap, Y. S., Bryce, R., Yao, B., Bebbchuk, J. D., Keyvanjah, K., & Brufsky, A. (2019). Neratinib + capecitabine versus lapatinib + capecitabine in patients with HER2+ metastatic breast cancer previously treated with ≥ 2 HER2-directed regimens: Findings from the multinational, randomized, phase III NALA trial. *Journal of Clinical Oncology*, *37*(15_suppl), 1002–1002. https://doi.org/10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.1002

⁶⁵ Giordano, S. H., Temin, S., Chandarlapaty, S., Crews, J. R., Esteva, F. J., Kirshner, J. J., Krop, I. E., Levinson, J., Lin, N. U., Modi, S., Patt, D. A., Perlmutter, J., Ramakrishna, N., Winer, E. P., & Davidson, N. E. (2018). Systemic Therapy for Patients With Advanced Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Positive Breast Cancer: ASCO Clinical Practice Guideline Update. *Journal of Clinical Oncology*, *36*(26), 2736–2740. <https://doi.org/10.1200/JCO.2018.79.2697>