

Ανοιχτό Πανεπιστήμιο Κύπρου
Σχολή Οικονομικών Επιστημών & Διοίκησης
Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών «Πολιτική Υγείας &
Σχεδιασμός Υπηρεσιών Υγείας»

Μεταπτυχιακή Διατριβή



Οικονομικές συνέπειες για τον ΕΟΠΥΥ της HER2 στοχεύουσας θεραπείας ασθενών μετά τη συμπληρωματική εκτίμηση του HER2/NEU γονιδίου με τη μέθοδο του Dual in situ υβριδισμού σε ανοσοϊστοχημικά HER2 θετικά πρώιμα καρκινώματα του μαστού

Φρειδερίκη Μπούκαλη

Επιβλέπων Καθηγητής

Dr Μιχαήλ Τάλιας

Ιούνιος, 2020

Ανοιχτό Πανεπιστήμιο Κύπρου

Σχολή Οικονομικών Επιστημών & Διοίκησης

Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών «Πολιτική Υγείας &

Σχεδιασμός Υπηρεσιών Υγείας»

Μεταπτυχιακή Διατριβή

**Οικονομικές συνέπειες για τον ΕΟΠΥΥ της HER2 στοχεύουσας θεραπείας ασθενών
μετά τη συμπληρωματική εκτίμηση του HER2/NEU γονιδίου με τη μέθοδο του Dual in
situ υβριδισμού σε ανοσοϊστοχημικά HER2 θετικά πρώιμα καρκινώματα του μαστού**

Φρειδερίκη Μπούκαλη

Επιβλέπων Καθηγητής

Dr Μιχαήλ Τάλιας

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή υποβλήθηκε προς μερική εκπλήρωση των απαιτήσεων για
απόκτηση μεταπτυχιακού τίτλου σπουδών
στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών «πολιτική υγείας & σχεδιασμός υπηρεσιών υγείας»
από τη Σχολή Οικονομικών Επιστημών & Διοίκησης
του Ανοικτού Πανεπιστημίου Κύπρου

Ιούνιος, 2020

Περίληψη

Εισαγωγή: Οι ασθενείς με καρκίνο του μαστού, των οποίων οι όγκοι είναι θετικοί στον υποδοχέα του ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα HER2 neu, αντιμετωπίζονται με στοχεύουσα θεραπεία (τραστοζουμάμπη ή και περτουζουμάμπη). Ωστόσο οι περιορισμοί των δοκιμασιών ανίχνευσης της έκφρασης του HER2 γονιδίου, μπορεί να οδηγήσουν σε ψευδώς θετικά (FP) ή ψευδώς αρνητικά (FN) αποτελέσματα.

Στόχος: Ο σκοπός της μελέτης αυτής είναι να διερευνηθούν οι οικονομικές συνέπειες για τον Εθνικό Οργανισμό Παροχής Υπηρεσιών Υγείας (ΕΟΠΥΥ) από την επίδραση της ανακρίβειας της τεχνικής ανίχνευσης (ανοσοϊστοχημική- Dual-in situ υβριδισμός) του προβλεπτικού HER2 παράγοντα, για την επιλογή ασθενών με πρώιμο καρκίνο του μαστού υποψηφίων για στοχεύουσα αντι-HER2 θεραπεία.

Υλικό-Μέθοδοι: Μελετήθηκαν 50 περιπτώσεις γυναικών διάμεσης ηλικίας 59 ετών με πρώιμο καρκίνωμα του μαστού θετικό HER2 3+ ανοσοϊστοχημικά κατά την αρχική δοκιμασία (ASCO/CAP,2013). Διενεργήθηκε συμπληρωματικά η μέθοδος Dual-In Situ Hybridization (D-ISH) για τον προσδιορισμό της ενίσχυσης του HER2 γονιδίου με τη χρήση δύο ιχνηθετών (HER2 και χρωμοσώματος 17/CEP17). Από την σύγκριση των αποτελεσμάτων των δύο μεθόδων θα διερευνηθεί η πιθανότητα HER2 ψευδώς θετικών περιπτώσεων.

Αποτελέσματα: Τέσσερα/πενήντα πρώιμα διηθητικά καρκινώματα του μαστού δεν παρουσίασαν ενίσχυση του γονιδίου HER2 (ομάδα 5 με τη μέθοδο DISH) και άλλα τέσσερα κατατάχθηκαν στις ομάδες 2-4. Πρακτικά οι τελευταίες εφόσον ήταν IHC 3+ είναι και θετικές για ενίσχυση. Τα ψευδώς θετικά (4/50) λοιπόν αποτελούν το 8% των περιπτώσεων και με αναγωγή στον ετήσιο αριθμό των πρώιμων καρκίνων του μαστού στην Ελλάδα το 2% αυτών (112-140 περιπτώσεις). Αυτές οι FP περιπτώσεις αυξάνουν τις δαπάνες του ΕΟΠΥΥ λόγω της περιττής στοχεύουσας θεραπείας και των παρενεργειών της κατά 4,727.268 έως 5,909.085 ευρώ. Επομένως η συμπληρωματική εφαρμογή της μεθόδου D-ISH (κόστους 210.000 έως 262.500 ευρώ) θα προσδώσει όφελος στον ΕΟΠΥΥ 4,517.268 έως 5,646.585 ευρώ. Η στρατηγική της διερεύνησης με διπλό τεστ (IHC, D-ISH) της κατάστασης του HER2 φαίνεται να είναι περισσότερο αποδοτική σε σχέση με τη συνήθη στρατηγική με αρχική επιλογή με IHC και επιβεβαίωση με in situ υβριδισμό των αμφιλεγόμενων μόνον περιπτώσεων.

Συμπεράσματα: Η σημαντική ετήσια οικονομική επιβάρυνση για τον ΕΟΠΥΥ, που σχετίζεται με τα αποτελέσματα των ψευδώς θετικών HER2 δοκιμών (σχεδόν 4, 73 έως 5,9 εκατομμύρια ευρώ), υποδηλώνει ότι πρέπει να ληφθούν υπόψη σημαντικές κοινωνικές επενδύσεις για τη βελτίωση της ακρίβειας τους. Οι επενδύσεις αυτές θα επιφέρουν σημαντική ετήσια οικονομική αξία τουλάχιστον 4.52 έως 5,65 εκατομμύρια ευρώ για τον υγειονομική περίθαλψη την Ελλάδα.

Λέξεις κλειδιά: Καρκίνος μαστού, HER2 τεστ, ανοσοϊστοχημεία, in situ υβριδισμός, τραστουζουμάμπη, Οικονομικό κόστος

Abstract

Background: HER2- targeted therapy (trastuzumab-pertuzumab) is administered to patients with early-stage human epidermal growth factor-2 (HER2/neu)-positive breast cancer (EBC) but limitations with HER2 testing may lead to false-positive (FP) or false-negative (FN) results.

Aim: This study aims at determining the rate of false-positive IHC results by retesting early invasive breast cancers scored as IHC HER2 3+ at initial testing, using D-ISH and at estimating the economic impact of FP cases on Greek National Organization of Health Services.

Methods: 50 cases of female patients (median age: 59 years) with IHC HER2-positive EBC from the archives of the pathology department of Cancer Hospital of Thessaloniki "Theagenio" were retested by automated dual-silver in situ hybridization (D-ISH).

Results: Forty two of fifty samples were tested as HER2- positive (D-ISH group 1) and four samples as D-ISH HER2 group 2-4 (IHC HER2 3+) in practice HER-positive (concordance rate 92%). A further four samples were tested as negative (D-ISH group 5), providing a false-positive rate of 8%. The estimated overall proportion of FP is 2% of all EBCs, resulting in about 112-140 patients per year in Greece. One FP patient would generate unneeded Trastuzumab and of related cardiotoxicity costs of about 42.200 euros. The aggregated total economic loss to society is nearly 4, 73 έως 5,90 million euros per year and the financial benefit for the National Organization of Health Services is estimated to vary between 4,52 and 5,65 million euros per year, since the cost for D-ISH varies between 210.000 and 262.500.

In conclusion, this study concludes that a dual testing strategy to determine HER2/neu status is found to be more cost-effective than a reflex testing strategy. The significant annual burden of HER2 misdiagnosis suggests that substantial societal investments to improve HER2 test accuracy should be considered.

Ευχαριστίες

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου, Dr Μιχαήλ Τάλια, Καθηγητή του Ανοικτού Πανεπιστημίου Κύπρου, Ακαδημαϊκού Υπευθύνου του Προγράμματος «Πολιτική Υγείας και Σχεδιασμός Υπηρεσιών Υγείας», για την πολύτιμη συνεργασία και την παρότρυνσή του να ολοκληρώσω την παρούσα μεταπτυχιακή εργασία.

Ιδιαίτερα ευχαριστώ την οικογένειά μου για την υπομονή και την απεριόριστη στήριξή της, καθ' όλη τη διάρκεια του μεταπτυχιακού προγράμματος, καθώς επίσης τους συναδέλφους και φίλους μου, που ήταν δίπλα μου.

Φ. Πατακιούτα-Μπούκαλη
Ιατρός-Παθολογολογνατόμος

Περιεχόμενα

Περίληψη.....	iV
Abstract.....	Vi
Ευχαριστίες.....	Vii
1. Εισαγωγή.....	2
2. HER2 και καρκίνος μαστού.....	4
2.1 Υποδοχείς HER-Δομή και λειτουργία.....	4
2.2 Το HER2 γονίδιο ως προγνωστικός παράγοντας στο καρκίνωμα του μαστού.....	5
2.3 Το HER2 γονίδιο ως προβλεπτικός παράγοντας στο καρκίνωμα του μαστού.....	6
2.4 Μεθοδολογία εκτίμησης της κατάστασης HER2 γονιδίου.....	7
2.4.1 Ιστολογικά Δείγματα.....	8
2.4.2 Μέθοδοι ανίχνευσης της έκφρασης του HER2 γονιδίου.....	9
3. Θεραπεία του Her2 θετικού καρκίνου του μαστού.....	25
3.1 Στοχεύουσα το HER2 θεραπεία του καρκίνου του μαστού.....	27
3.1.1 Θεραπευτικά σχήματα επικουρικής στοχεύουσας το HER2 θεραπείας του ΠΚΜ.....	35
3.1.2 Εισαγωγική (neoadjuvant) χημειοθεραπεία στο Ca του μαστού.....	37
3.1.3 Συστηματική θεραπεία του μεταστατικού HER2+ καρκίνου του μαστού.....	37
4. Δαπάνες για τη στοχεύουσα το Her2 θεραπεία του Ca του μαστού.....	41
4.1 Δαπάνες Υγείας.....	41
4.2 Προσδιορισμός κόστους.....	42
4.3 Προσδιορισμός της αποτελεσματικότητας.....	43
4.4 Δαπάνες στοχεύουσας αντι-HER2 θεραπείας του πρώιμου καρκίνου του μαστού.....	47
5. Ανίχνευση Her2 στο πρώιμο καρκίνο του μαστού με την μέθοδο D-ISH.....	52
5.1 Εισαγωγή.....	52
5.2 Υλικό-Μέθοδοι.....	53
5.2.1 Αναλυτική περιγραφή της τεχνικής Dual-SISH για την ενίσχυση του HER2.....	54
5.3 Αποτελέσματα.....	56
5.4 Συζήτηση.....	70
6. Συμπεράσματα-Επίλογος.....	76

Παραρτήματα

A.	Καταμέτρηση των σημάτων Her2 και CEP17.....	77
B.	Φαρμακευτικά σκευάσματα.....	78
B.1	Trastuzumab i.v.	78
B.2	Trastuzumab s.c.	79
B.3	Τοξικότητες από το trastuzumab	81

Βιβλιογραφία

Ξενόγλωσση.....	77
Ελληνική.....	78

Πίνακας περιεχομένων σχημάτων, εικόνων, γραφημάτων και πινάκων

Σχήμα 1:	Διεθνής Her2-Testing Αλγόριθμος για αντι-Her2 θεραπεία.....	10
Πίνακας 1:	Πίνακας 1: Διαβάθμιση υπερέκφρασης p185HER2 πρωτεΐνης.....	12
Εικόνα 1:	Ανοσοϊστοχημική έκφραση της πρωτεΐνης του Her2 γονιδίου.....	13
Πίνακας 2	Υψηλή συμφωνία μεταξύ FISH ΚΑΙ SISH-DISH.....	16
Πίνακας 3	HER2 δοκιμασία στο Ca του μαστού με ανοσοϊστοχημεία	18
Πίνακας 4:	HER2 δοκιμασία στο Ca του μαστού με ISH με μονό ιχνηθέτη.....	19
Πίνακας 4α:	Διαχείριση του αμφίσημου HER2 με ISH μονού ιχνηθέτη.....	19
Πίνακας 5:	HER2 δοκιμασία στο Ca του μαστού με ISH με διπλό ιχνηθέτη.....	20
Εικόνα 2:	Dual In Situ Hybridization για το HER2 γονίδιο στο Ca μαστού.....	21
Εικόνα 3:	Ανοσοϊστοχημική έκφραση της HER2 πρωτεΐνης στο Ca μαστού.....	23
Πίνακας 6:	Συστάσεις ASCO/CAP, 2007 vs 2013 για το HER2 στο Ca του μαστού.....	24
Πίνακας 7:	TNM σταδιοποίηση του καρκίνου μαστού.....	25
Πίνακας 8	Κλινικές μελέτες φάσης III επικουρικής θεραπείας με Τραστουζουμάμπη.....	28

Γράφημα1:	Γραφική απεικόνιση της κατηγοριοποίησης των μελετών οικονομικής αξιολόγησης με βάση τη μεθοδολογία προσδιορισμού του συνολικού κόστους των θεραπευτικών παρεμβάσεων	43
Γράφημα2:	Γραφική απεικόνιση της κατηγοριοποίησης των μελετών οικονομικής αξιολόγησης με βάση τη μεθοδολογία προσδιορισμού της αποτελεσματικότητας των νέων παρεμβάσεων	46
Πίνακας 9:	Τιμές Herceptin.....	49
Πίνακας10Α:	Κλινικοπαθολογικά γνωρίσματα περιπτώσεων ΠΚΜ.....	56
Πίνακας10Β:	Κλινικοπαθολογικά γνωρίσματα περιπτώσεων ΠΚΜ	57
Πίνακας 11:	Ασυμφωνία περιπτώσεων HER2 IHC και D-ISH.....	58
Πίνακας 12:	Αποτελέσματα Dual-ISH περιπτώσεων ΠΚΜ HER2 3+ IHC.....	59
Πίνακας 5α:	Αλγόριθμος για τη διαχείριση της ομάδας 2 του HER2/D-ISH.....	60
Πίνακας 5β:	Αλγόριθμος για τη διαχείριση της ομάδας 3 του HER2/D-ISH.....	61
Πίνακας 5γ:	Αλγόριθμος για τη διαχείριση της ομάδας 4 του HER2/D-ISH.....	62
Γράφημα 3:	Ενίσχυση του HER2 γονιδίου στον ΠΚΜ	63
Γράφημα 4:	Ενίσχυση του HER2 γονιδίου (D-ISH).....	64
Εικόνα 4:	DISH εξέταση για ανίχνευση των αντιγράφων του HER2 γονιδίου.....	64
Εικόνα 5:	Ιστολογική τομή καρκινώματος των πόρων του μαστού.....	65
Πίνακας 13:	Θεραπευτικό σχήμα/κόστος τραστουζουμάμπης	67
Πίνακας 14:	Συνολικό οικονομικό κόστος στοχεύουσας θεραπείας (4 περιπτώσεις).....	68
Πίνακας 15Α:	Στοχευτικά φαρμακευτικά σκευάσματα: HERCEPTIN.....	68
Πίνακας 15Β:	Στοχευτικά φαρμακευτικά σκευάσματα: PERJETA	69

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 1

Εισαγωγή

Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί τον πρώτο σε συχνότητα καρκίνο στις γυναίκες και τη δεύτερη αιτία θανάτου από καρκίνο, μετά από τον καρκίνο του πνεύμονα. Σύμφωνα με το Παθολογοανατομικό Αρχείο Νεοπλασιών (ΠΑΝ) 113/100.000 γυναίκες (σχεδόν 7.000) νοσούν ετησίως από καρκίνωμα το μαστού (Patsea, Kaklamanis et al, 2018). Ο καρκίνος του μαστού είναι μια ετερογενής νόσος, η οποία περιλαμβάνει πολλούς διαφορετικούς μοριακούς υπότυπους, οι οποίοι προσδιορίζονται κυρίως από την έκφραση στα καρκινικά κύτταρα των ορμονικών υποδοχέων (Hormone Receptors-HRs) και του υποδοχέα του ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα 2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 - HER2) (Perou, Sorlie et al, 2000).

Η υπερέκφραση της πρωτεΐνης HER2, η οποία οφείλεται κυρίως σε επαύξηση του γονιδίου HER2, συσχετίζεται με ενδιάμεσου ή υψηλού βαθμού κακοήθειας καρκινώματα μαστού και συνοδεύεται από δυσμενέστερη πρόγνωση. Αποτελεί δε ένα πρώιμο γεγονός στη διαδικασία της ογκογένεσης του καρκινώματος μαστού και ανευρίσκεται σε υψηλό ποσοστό (50%) στα *in situ* καρκινώματα, κυρίως στα υψηλού βαθμού πυρηνικής ατυπίας. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ποσοστά θετικότητας HER2 της τάξης του 20% (κατ' άλλους διαχρονικά έως 30%) των καρκινωμάτων του μαστού.

Τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες ανέδειξαν σημαντικό όφελος επιβίωσης σε ασθενείς με HER2(+) καρκίνο του μαστού, που αντιμετωπίστηκαν με αντι-HER2 στοχεύουσα θεραπεία (Wolff, Hammond et al, 2013). Είναι επομένως απαραίτητη η αξιόπιστη αξιολόγηση της κατάστασης του HER2 γονιδίου για την επιλογή ασθενών υποψήφιων για στοχεύουσα θεραπεία.

Ο σκοπός της μελέτης αυτής είναι να διερευνηθούν με τη βοήθεια του προβλεπτικού αυτού δείκτη στη διαστρωμάτωση των ασθενών (για εξατομικευμένη θεραπεία) οι οικονομικές συνέπειες για τον Εθνικό Οργανισμό Παροχής Υπηρεσιών Υγείας (ΕΟΠΥΥ) αφενός ίσως από τον περιορισμό των άσκοπων θεραπειών και αφετέρου από την αποφυγή των τοξικών επιδράσεων των θεραπευτικών στοχευτικών παραγόντων, με επακόλουθη τη μείωση της θνησιμότητας από τον καρκίνο του μαστού, όπως στην περίπτωση του trastuzumab και την καρδιοτοξικότητα. Τα ερευνητικά ερωτήματα, τα οποία τίθενται είναι: α) σε τι ποσοστό παρατηρείται ασυμφωνία των δύο μεθόδων ανίχνευσης υπερέκφρασης-επαύξησης του HER2 γονιδίου (ανοσοϊστοχημική-IHC και Dual In Situ Υβριδισμού-DISH); β) Η ακριβής εκτίμηση της υπερέκφρασης του HER2 και με τις δύο μεθόδους περιορίζει τις δαπάνες για τον ΕΟΠΥΥ από τη στοχεύουσα θεραπεία του καρκίνου του μαστού; ή γ) αυξάνει τις δαπάνες για τον ΕΟΠΥΥ; ή δ) δεν επηρεάζει τις δαπάνες για τον ΕΟΠΥΥ;

Αρχικά στο πρώτο κεφάλαιο θα περιγραφεί γενικά ο θεραπευτικός στόχος-το HER2 γονίδιο-κυρίως ως προβλεπτικός παράγοντας απάντησης στην αντι-HER2 στοχεύουσα θεραπεία και οι μέθοδοι ανίχνευσης της υπερέκφρασης της πρωτεΐνης ή της ενίσχυσής του στον καρκίνο του μαστού, ενώ στο δεύτερο κεφάλαιο θα περιγραφεί η θεραπευτική αντιμετώπιση των ασθενών με HER2 θετικό καρκίνο (στοχευτικοί παράγοντες με τα αντίστοιχα θεραπευτικά σχήματα - δοσολογίες-ανεπιθύμητες ενέργειες κλπ). Στο τρίτο κεφάλαιο θα υπολογιστούν οι δαπάνες που επιβαρύνουν τον Εθνικό Οργανισμό Παροχής Υπηρεσιών Υγείας (ΕΟΠΥΥ, ανάλογα με τη διάρκεια των θεραπειών με ιδιαίτερη επισήμανση στον πρώιμο καρκίνο του μαστού (κόστος φαρμάκου, κόστος χορήγησης, κόστος αντιμετώπισης των ανεπιθύμητων παρενεργειών κλπ).

Στη συνέχεια, στο ειδικό μέρος, θα γίνει η εκτίμηση 50 περιπτώσεων ασθενών με HER2 θετικό (ανοσοϊστοχημικά 3+) καρκίνωμα του μαστού με την τεχνική του Dual-ISH. Θα ακολουθήσει σύγκριση και συζήτηση των αποτελεσμάτων καθώς και η εξαγωγή των συμπερασμάτων της μελέτης.

Κεφάλαιο 2

Her2 και καρκίνος του μαστού

Υπερέκφραση του HER2 υποδοχέα ανιχνεύεται στο 18-30 % περίπου των καρκινωμάτων του μαστού, αλλά και σε άλλα κακοήγη νεοπλάσματα, όπως στον καρκίνο του πνεύμονα, προστάτη, ωοθήκης, στομάχου (Pegram & Slamon, 2000, Slamon, Leyland-Jones et al, 2001, Slamon, Clark et al, 1987). Στους ασθενείς με καρκίνο του μαστού, αυτή η υπερέκφραση οφείλεται συνήθως σε επαύξηση του γονιδίου. Ο Her-2 υποδοχέας είναι ένας από τους καλύτερα μελετημένους μοριακούς παράγοντες στον καρκίνο του μαστού. Τα τελευταία χρόνια, η αυξημένη γνώση της βιολογίας του καρκίνου αυτού οδήγησε στην εφαρμογή νέων θεραπευτικών στόχων (Pegram & Slamon, 2000, Slamon, Leyland-Jones et al, 2001), οι οποίοι αναλυτικότερα θα αναφερθούν και στη συνέχεια. Η σημασία της έκφρασης του Her-2 οδήγησε στην ενσωμάτωση του παράγοντα αυτού στο θεραπευτικό αλγόριθμο αρχικά στις ασθενείς με μεταστατική νόσο (Slamon, Leyland-Jones, et al, 2001) και στη συνέχεια και σε εκείνες με πρώιμο καρκίνο του μαστού (Cooke, Reeves et al, 2001, Garrison, Lalla et al, 2007).

2.1 Υποδοχείς HER-Δομή και λειτουργία

Το Her-2/neu (γνωστό και ως ErbB2/c-erbB2/HER-2) πρωτο-ογκογονίδιο εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 17q21 και κωδικοποιεί την έκφραση μιας 185 kDa διαμεμβρανικής γλυκοπρωτεΐνης με 1255 αμινοξέα, η οποία αποτελεί έναν υποδοχέα με δράση κινάσης της τυροσίνης. Η πρωτεΐνη αυτή, γνωστή και ως 185 Her/neu πρωτεΐνη αποτελεί έναν από τους τέσσερις μέχρι σήμερα ταυτοποιημένους ομόλογους υποδοχείς της οικογένειας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (Human Epidermal Growth Factor Receptors-HER1, HER2, HER3, HER4) (Akiyama, Sudo et al, 1986).

Οι erbB υποδοχείς είναι γλυκοπρωτεΐνες, ο καθένας από τους οποίους αποτελείται από μία αμινοτελική εξωκυττάρια περιοχή σύνδεσης, στην οποία συνδέεται ο συνδέτης, μία διαμεμβρανική περιοχή και μία καρβοξυτελική ενδοκυττάρια περιοχή με δραστηριότητα κινάσης της τυροσίνης.

Οι υποδοχείς αυτοί βρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη με τη μορφή ανενεργών μονομερών, αλλά μετά από τη σύνδεσή τους στην εξωκυττάρια περιοχή με τους αντίστοιχους συνδέτες, σχηματίζουν διμερή, ομοιοδιμερή ή ετεροδιμερή με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του υποδοχέα (Sliwkowski, Schaefer et al, 1994). Ακολουθεί ενεργοποίηση της κινάσης της τυροσίνης, διαφωσφορυλίωση και επαγωγή διαφόρων κυτταρικών δραστηριοτήτων, μέσω πολύπλοκων δικτύων μεταγωγής σήματος από τον εξωκυττάριο χώρο στο ενδοκυττάριο περιβάλλον με μεταγωγικά μονοπάτια (ras, MAPK, PLC- γ), τα οποία ενεργοποιούν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επιδρούν στον κυτταρικό θάνατο αναστέλλοντας την απόπτωση (Hynes & Stern, 1994).

Έτσι φαίνεται ότι οι υποδοχείς με δράση πρωτεϊνικής τυροσινικής κινάσης παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση των μηχανισμών του κυτταρικού κύκλου, της επιβίωσης και της διαφοροποίησης. Το πολύπλοκο μεταγωγικό αυτό σύστημα φαίνεται να απορρυθμίζεται στη νεοπλασματική εξαλλαγή-καρκινογένεση. Ο HER2 υποδοχέας δεν έχει κανένα γνωστό συνδέτη, ανήκει δηλ. στην ομάδα των "ορφανών υποδοχέων", με αποτέλεσμα να μη μπορεί, σε φυσιολογικές συνθήκες, να σχηματίσει ομοιοδιμερή HER2/HER2 και να αναγκάζεται να δημιουργεί ετεροδιμερή με τα άλλα μέλη της ομάδας (Sliwkowski, Schaefer et al, 1994). Τα φυσιολογικά κύτταρα έχουν δύο αντίγραφα του γονιδίου και χαμηλά (φυσιολογικά) επίπεδα έκφρασης του υποδοχέα στην κυτταρική επιφάνεια. Ωστόσο στο καρκινικό κύτταρο συχνά μπορεί να παρατηρηθεί HER2 υπερέκφραση, ως αποτέλεσμα γονιδιακής ενίσχυσης ή μεταλλάξεων που αυξάνουν τη μεταγραφή του υποδοχέα, τη μετάφραση ή τη σταθερότητα του μορίου και οδηγούν σε διαρκή, ανεξάρτητη από την παρουσία συνδέτη, διέγερση του υποδοχέα με επιπτώσεις χαρακτηριστικές κακοήθους φαινότυπου (μιτωτική δραστηριότητα, διαφοροποίηση, απόπτωση, αγγειογένεση, διηθητικότητα) (Papazisis & Miles, 2002).

2.2 Το HER2 γονίδιο ως προγνωστικός παράγοντας στο καρκίνωμα του μαστού

Η ενίσχυση του πρωτοογκογονιδίου HER2, που παρατηρείται στο 18-30% περίπου των καρκινωμάτων του μαστού και η επακόλουθη υπερέκφραση της πρωτεΐνης, θεωρείται σημαντικός προγνωστικός παράγοντας. Συνδυάζεται με πτωχή πρόγνωση, ελάττωση της συνολικής επιβίωσης, ελάττωση του χρόνου έως την υποτροπή, αλλά και με αρνητικούς ορμονικούς υποδοχείς, θετικούς μασχαλιαίους λεμφαδένες, υψηλό κλάσμα φάσης S του κυτταρικού κύκλου και υψηλό βαθμό πυρηνικής ατυπίας (Bianchis, Paglieruni et al, 1993, Massood & Bui, 2002, Press, Reeves et al, 1993). Οι Slamon et al (1987) πρώτοι συνέδεσαν το HER2 με πτωχή πρόγνωση στον καρκίνο του μαστού. Η αναδρομική ανάλυση δε από τους Ross και Fletcher (1998), 47 μελετών με 15.248 ασθενείς έδειξε ότι η ενίσχυση/υπερέκφραση του HER2 ήταν ένας ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας στο 60% των μελετών και στο 67% των ασθενών.

Συνδυασμός των κλασικών προγνωστικών ιστοπαθολογικών προγνωστικών παραγόντων με την κατάσταση του HER2 επιτρέπει τον καθορισμό ομάδων υψηλού κινδύνου. Πληθώρα κλινικών ερευνών έγιναν με διαφορετικές μεθόδους και τεχνικές μέτρησης (ποσοτικές και τυποποιημένες) για την πλήρη αποδοχή του ως ανεξάρτητου προγνωστικού παράγοντα (Cooke, Reeves et al, 2001, Massood & Bui, 2002, Van de Vijver, 2001).

2.3 Το HER2 γονίδιο ως προβλεπτικός παράγοντας στο καρκίνωμα του μαστού

Η κατάσταση του HER2 γονιδίου, εκτός από σημαντικός προγνωστικός είναι και προβλεπτικός παράγοντας απάντησης σε θεραπεία, διότι ασθενείς με HER2 θετικό καρκίνο του μαστού φαίνεται να εμφανίζουν αντίσταση σε ενδοκρινική θεραπεία (κυρίως με ταμοξιφένη) και σε ειδικού τύπου χημειοθεραπεία όπως με το σχήμα CMF (κυκλοφωσφαμίδη, μεθοτρεξάτη και 5-φλουοροουρακίλη) (Ross & Fletcher, 1998). Αντίθετα απαντούν καλύτερα σε χημειοθεραπευτικά σχήματα με ανθρακυκλίνες (λόγω συνυπερέκφρασης σε ποσοστό 44% της τοποϊσομεράσης -IIa) και ταξάνες.

Ως προβλεπτικός παράγοντας αποκτά τη μεγαλύτερή του αξία στην επιλογή ασθενών για στοχεύουσα θεραπεία με Trastuzumab, όπως αντίστοιχα η κατάσταση των ορμονικών υποδοχέων για ενδοκρινική θεραπεία (Piccart-Gebhart, Procter et al, 2005).

Το trastuzumab είναι ένα εξανθρωποποιημένο μονοκλωνικό IgG αντίσωμα έναντι του εξωκυττάριου τμήματος του υποδοχέα του HER2, το οποίο ενσωματώθηκε στη θεραπευτική φαρέτρα αρχικά του μεταστατικού καρκίνου του μαστού ως μονοθεραπεία (Herceptin) ή σε συνδυασμό με ταξάνες (paclitaxel ή docetaxel) με πολύ καλά αποτελέσματα όσον αφορά την ανταπόκριση και τη συνολική επιβίωση (Pegram and Slamon, 2000, Cooke, Reeves et al, 2001, Massood & Bui, 2002). Στη συνέχεια πήρε έγκριση και στον πρώιμο καρκίνο του μαστού (Piccart-Gebhart, Procter et al, 2005).

Αναλυτικότερα, η εξέλιξη των στοχευτικών παραγόντων και των θεραπευτικών σχημάτων θα περιγραφεί στο κεφάλαιο 2 της θεραπευτικής αντιμετώπισης.

Η εκτίμηση της έκφρασης του HER2 ως προβλεπτικού παράγοντα πληροί τα κριτήρια κλινικής αξιολόγησης καθότι δίνει πληροφορίες ανεξάρτητες των συνήθων ιστοπαθολογικών παραμέτρων, ικανών να αλλάζουν τη φαρμακευτική αντιμετώπιση της νόσου. Πληροί επιπλέον και τις τεχνικές παραμέτρους αξιολόγησης των εργαστηριακών δοκιμών γιατί οι χρησιμοποιούμενες μέθοδοι εμφανίζουν ευαισθησία, ειδικότητα, αναπαραγωγιμότητα και σταθερότητα.

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται είναι ανάλογες με το επίπεδο έκφρασης της αυξημένης παραγωγής που διερευνάται. Η αυξημένη παραγωγή HER2 εκφράζεται είτε ως αύξηση των αντιγράφων του γονιδίου (έως και δεκαπλάσια του φυσιολογικού) ή ως αύξηση της πρωτεΐνης του διαμεμβρανικού υποδοχέα ή ως αύξηση της απελευθέρωσης του εξωκυττάριου επιτόπου του υποδοχέα στην κυκλοφορία, αλλά και ως αύξηση του mRNA (Gancberg, Jarvinen et al, 2002, Kobayashi, Oi et al, 2002, Παπαδόπουλος, 2003).

Από τα ανωτέρω προκύπτει ότι υπάρχει επιτακτική ανάγκη εκτίμησης της κατάστασης του HER2 γονιδίου στους ασθενείς με καρκίνωμα του μαστού με τις πλέον αξιόπιστες μεθόδους ανίχνευσης (Ellis & Romond, 2016, Gancberg, Jarvinen et al, 2002, Jacobs, Gown et al, 1999, Jacobs, Gown et al, 2000, Kobayashi, Oi et al, 2002, Press, Slamon et al, 2002, Παπαδόπουλος, 2003, Wolff, Hammond et al, 2013).

2.4 Μεθοδολογία εκτίμησης της κατάστασης του Her2

Η ακριβής και αξιόπιστη εκτίμηση της κατάστασης HER2 επιτυγχάνεται με εφαρμογή των προαναλυτικών οδηγιών με σημαντικότερες τις συνθήκες μονιμοποίησης του δείγματος και της ενδεδειγμένης αναλυτικής μεθοδολογίας, σύμφωνα με τις διεθνείς οδηγίες (Ellis

&Romond, 2016. Wolff, Hammond et al, 2013), ενώ παράλληλα κρίνονται απαραίτητοι οι εσωτερικοί και εξωτερικοί έλεγχοι πιστοποίησης ποιότητας (quality assurance). Η Ευρωπαϊκή νομοθεσία, όπως παρόμοια και των ΗΠΑ και της Αυστραλίας, επιβάλλει πιστοποίηση ISO στα εργαστήρια που διενεργούν διαγνωστικές εξετάσεις(van Krieken, Normanno et al, 2013). Στην Ευρώπη είναι απαραίτητη η πιστοποίηση με ISO: 15189 συνολικά για την πρακτική που ακολουθεί το συγκεκριμένο Εργαστήριο και όχι αναγκαστικά για κάθε διαγνωστική διαδικασία ξεχωριστά, όπως στις πιστοποιήσεις CAP και CLIA. Στην Ελλάδα πρόσφατα, επίσης απαιτείται η παραπάνω πιστοποίηση των εργαστηρίων με παράλληλη συμμετοχή σε προγράμματα ποιοτικού ελέγχου (External Quality Assessments-EQAs) των διαγνωστικών εξετάσεων (βιοδεικτών κλπ), ανά τακτά χρονικά διαστήματα (συνήθως ανά 12μηνο). Τέτοιοι οργανισμοί είναι οι UK NEQAS (United Kingdom National External Quality Assessment Scheme),EMQN (European Molecular Quality Network) ESP(European Society of Pathology) και CAP (College of American Pathologist). Οι ανωτέρω πιστοποιημένες μόνο διαγνωστικές διαδικασίες καθώς και η θεραπεία με τους αντίστοιχους στοχευτικούς παράγοντες, καλύπτονται από τους ασφαλιστικούς φορείς (ΕΟΠΥΥ, 2014, Linardou, Briasoulis et al, 2011).

2.4.1 Ιστολογικά Δείγματα

Ο έλεγχος της κατάστασης του HER2 γονιδίου πρέπει να διενεργείται:

- σε όλα τα πρωτοπαθή διηθητικά καρκινώματα μαστού και στις μεταστατικές εστίες (τουλάχιστον σε μία), ιδιαίτερα εάν ο αρχικός όγκος ήταν HER2 αρνητικός (Bartlett, Starczynski et al, 2011).
- στις μεγαλύτερες σε μέγεθος από τις πολλαπλές διηθητικές εστίες και στις εστίες διαφορετικού ιστολογικού τύπου ή βαθμού κακοήθειας..
- σε υλικό βιοψίας με τέμνουσα βελόνη (core needle Biopsy) για επιλογή εισαγωγικής (neoadjuvant) χημειοθεραπείας (Ellis & Romond, 2016, Wolff, Hammond et al, 2013). Στην περίπτωση αυτή μελετώνται περισσότερο τους ενός κυλίνδρου βιοψίας μη νεκρωτικού-μη δεσμοπλαστικού ιστού, προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί η επίδραση της πιθανής ετερογένειας στην αξιολόγηση των αποτελεσμάτων (Hanna, Barnes et al, 2012).

- σε υλικό χειρουργικής εκτομής, όταν δεν υπάρχει προηγούμενη βιοψία, ή όταν η core needle biopsy ήταν Her2-2+(αμφίσημη), μη αντιπροσωπευτική ή και μη αξιόπιστη εξέταση Her2, λόγω τεχνικών σφαλμάτων επεξεργασίας.

- σε οστική μετάσταση, όπου προκρίνεται η τεχνική του In Situ υβριδισμού (ISH) σε σχέση με την ανοσοϊστοχημική τεχνική (IHC) (λόγω επίδρασης της αφαλάτωσης στη δεύτερη μέθοδο).

- δεν υπάρχει ομοφωνία για επανεξέταση τυχόν εναπομείναντος όγκου μετά από εισαγωγική (neoadjuvant) χημειοθεραπεία.

- το υλικό αναρρόφησης με λεπτή βελόνη (FNA) από αλλοίωση του μαστού δεν συνιστάται για έλεγχο του HER2, λόγω αδυναμίας διάκρισης του διηθητικού από το in situ στοιχείο του καρκινώματος, στο υλικό αυτό (Bartlet, Starczynski, et al, 2011).

2.4.2 Μέθοδοι ανίχνευσης της έκφρασης του Her2/neu γονιδίου στο καρκίνωμα του μαστού

Ένα ευρύ φάσμα μεθόδων έχει χρησιμοποιηθεί για την διερεύνηση της κατάστασης του HER2 γονιδίου, οι οποίες γενικά διακρίνονται ανάλογα με το μόριο-στόχο, που αποκαλύπτεται όπως πρωτεΐνη, DNA ή mRNA (Hilal& Romond, 2016, Van de Vijver, 2001). Οι περισσότερες μέθοδοι ανιχνεύουν πρωτεΐνη ή μετρούν DNA. Έτσι,

α) η ανοσοϊστοχημική (IHC) μέθοδος χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της πρωτεϊνικής υπερέκφρασης, ενώ

β) ο in situ υβριδισμός (ISH) για την αναγνώριση επαύξησης του γονιδίου, με μεγάλο ποσοστό συμφωνίας μεταξύ της IHC υπερέκφρασης της πρωτεΐνης και της γονιδιακής επαύξησης, ώστε οι δύο δοκιμασίες να θεωρούνται σχεδόν ισοδύναμες, παρόλες τις διαφορές στην πρακτική εφαρμογή τους.

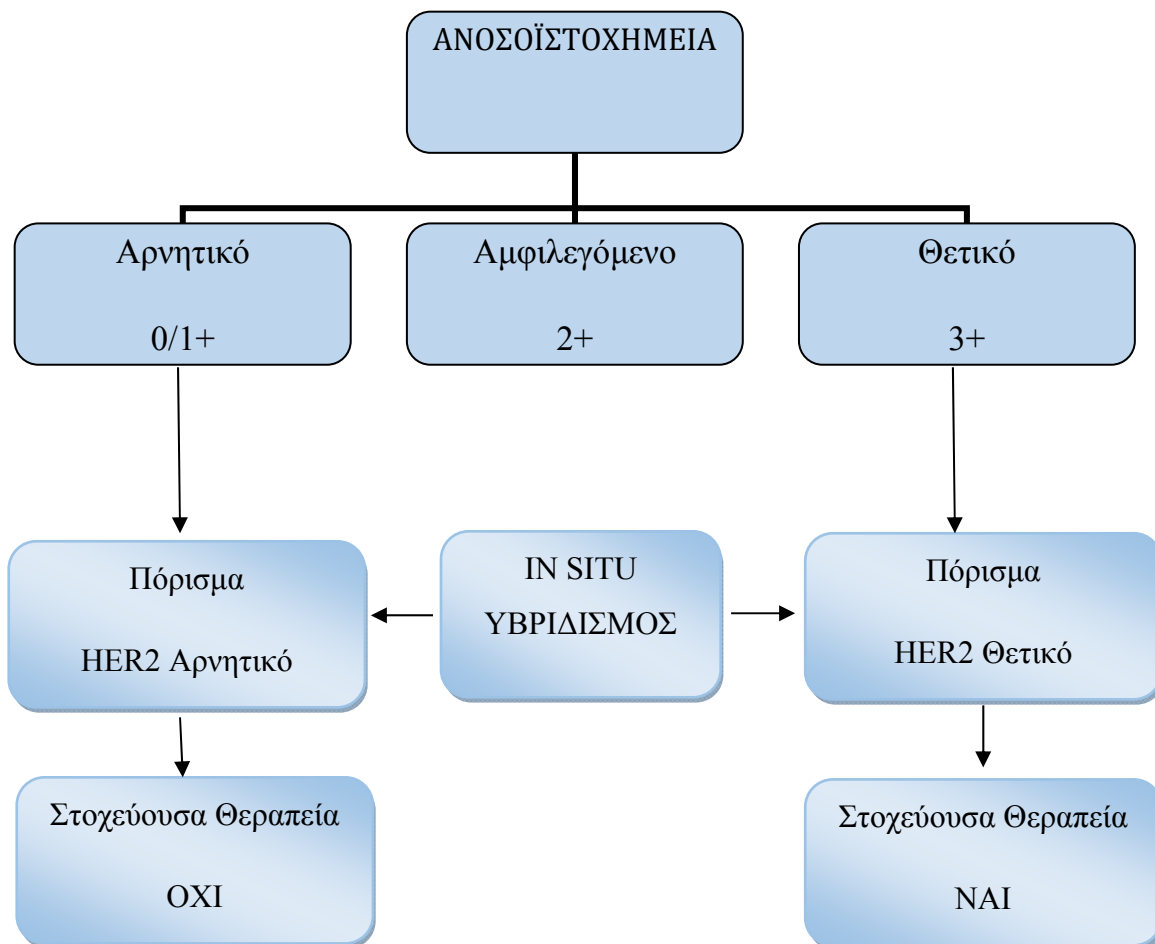
γ) Άλλες τεχνικές ελέγχου του HER2, όπως της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR), ELISA, Southern blotting, καθώς και μέθοδοι βασιζόμενες σε mRNA και μικροσυστοιχίες DNA, που χρησιμοποιούνται κυρίως για ερευνητικές μελέτες.

Η πρωτεΐνη μπορεί να μετρηθεί ως άθικτος HER2 υποδοχέας στην κυτταρική μεμβράνη ή ως εξωκυττάριο τμήμα, που ελευθερώνεται στην κυκλοφορία κυρίως με τις τεχνικές της

ανοσοϊστοχημείας, της Western Blot και της ELISA (οι δύο τελευταίες δεν χρησιμοποιούνται στην καθημερινή πρακτική) (Hays & Thor 2002, Leitzel, Teramoto et al, 1992, Van de Vijver, 2001).

Αντίστοιχα για την ανίχνευση των αντιγράφων του HER2 /neu γονιδίου χρησιμοποιούνται η μέθοδος του in situ υβριδισμού και γίνεται με: β1) φθορίζουσα τεχνική (fluorescence ISH - FISH) που χρησιμοποιεί φθοριόχρωμα,

ή β2) τεχνικές φωτεινού πεδίου (bright-field), οι οποίες περιλαμβάνουν το χρωμογόνο ISH (CISH) ή τον in situ υβριδισμό (ISH) με μεταλλογραφικό άργυρο (SISH)/DISH (Kobayashi, Oi, et al, 2002, Larsimont, di Leo et al, 2002, Mc Cormick, Lillemoe, et al, 2002, Press, Slamon et al, 2002, Yaziji & Gown, 2002).



Σχήμα 1: Διεθνής Her2-Testing Αλγόριθμος για αντι-Her2 θεραπεία στο καρκίνωμα του μαστού

2.4.2.1 Τεχνική της ανοσοϊστοχημείας για τον προσδιορισμό της p185Her2/neu ογκοπρωτεΐνης στο καρκίνωμα του μαστού

Η πλέον διαδεδομένη μέθοδος ανίχνευσης της έκφρασης του HER2 γονιδίου ήταν και είναι η ανοσοϊστοχημική τεχνική και ακολουθούσε ή σήμερα είναι σχεδόν ισοδύναμη αυτή του *in situ* υβριδισμού (Gancberg, Jarvinen et al, 2002, Hsu, Ho et al, 2002, Jacobs Gown et al 1999, Jacobs, Gown et al, 2000, Larsimont di Leo et al, 2002, Maia, 1999, Mc Cormick, Lillemoe et al, 2002, Press, hug et al, 1994, Thomson, Hayes et al, 2001, Tsuda, Sasano et al, 2002, Vang, Miles et al, 2000, Yaziji & Gown, 2002).

Στην πράξη ο ανοσοϊστοχημικός προσδιορισμός της έκφρασης της p185Her2/neu ογκοπρωτεΐνης είναι η πιο συχνή μέθοδος, γιατί η τεχνική της ανοσοϊστοχημείας είναι μία διαθέσιμη τυποποιημένη τεχνική σε όλα τα Παθολογοανατομικά εργαστήρια (αυτόματα συστήματα χρώσης κλπ). Ωστόσο τελευταία όλο και περισσότερα εργαστήρια αποκτούν τον ειδικό εξοπλισμό της μεθόδου του *in situ* φθορίζοντος υβριδισμού, την οποία και εφαρμόζουν.

Η ανοσοϊστοχημική εξέταση επιτρέπει την ανίχνευση της πρωτεΐνης ειδικά στα καρκινικά κύτταρα, χωρίς απώλεια της αρχιτεκτονικής δομής του ιστού. Παρόλα αυτά τα αποτελέσματα ποικίλουν ευρέως, γιατί επηρεάζονται από κάποιες μεταβλητές, οι οποίες σχετίζονται είτε με το στάδιο της προετοιμασίας του υλικού-τεχνικής ανίχνευσης της έκφρασης της πρωτεΐνης, είτε με τον τρόπο ερμηνείας της ανοσοϊστοχημικής χρώσης.

Τέτοιες μεταβλητές είναι το είδος αντισώματος που χρησιμοποιήθηκε, η τεχνική ανίχνευσης και το είδος των ιστολογικών τομών (κρουστάτου ή παραφίνης). Στην περίπτωση βιοπτικού υλικού εγκλεισμένου σε παραφίνη τα αποτελέσματα επηρεάζονται από το χρόνο μονιμοποίησης του υλικού, το είδος του μονιμοποιητικού διαλύματος και από την προετοιμασία ή όχι των ιστολογικών τομών πριν την ανοσοϊστοχημική χρώση (antigen retrieval).

Φαίνεται λοιπόν, ότι καλύτερα αποτελέσματα επιτυγχάνονται, όταν τηρούνται σωστά οι συνθήκες μονιμοποίησης δηλ. η μονιμοποίηση γίνεται αμέσως μετά την εκτομή του όγκου του μαστού με το κατάλληλο μονιμοποιητικό και διαρκεί από 6-8 ώρες για βιοψίες και 24 έως 72 ώρες για χειρουργικά παρασκευάσματα. Γενικά οι περισσότεροι ερευνητές συνιστούν μονιμοποίηση σε ουδέτερο ρυθμιστικό διάλυμα φορμαλίνης 10% (Ellis & Romond 2016,

Jacobs, Gown et al 1999, Jacobs, Gown et al, 2000, Vang, Miles et al, 2000, Wolff, Hammond et al, 2013, Wolff, Hammond et al, 2018,) και χρήση ιστολογικών τομών πάχους 4 μm (Bartlett, Starczynski et al, 2011). Επίσης οι οδηγίες του Κολλεγίου των Αμερικανών Παθολογοανατόμων/CAP συνιστούν την αποφυγή χρήσης ιστολογικών τομών που έχουν κοπεί πριν από 6 εβδομάδες.

Όσον αφορά τον τρόπο ερμηνείας των αποτελεσμάτων της ανοσοϊστοχημικής χρώσης, αυτός βασίζεται σε υποκειμενικά κριτήρια δεδομένου ότι η εκτίμηση είναι ποιοτική (ημιποσοτική) και όχι ποσοτική με ευρείες διακυμάνσεις, ανάλογα με την ευαισθησία και την ειδικότητα του αντισώματος που χρησιμοποιείται (Press, Hung et al. 1994, Thomson, Hayes et al, 2001).

Ένας ευρύς κατάλογος αντισωμάτων μονοκλωνικών (4B5, CB11, TAB250 κλπ) και πολυκλωνικών αντισωμάτων (R60, AO485, HercepTest κλπ) κυκλοφορεί στο εμπόριο.

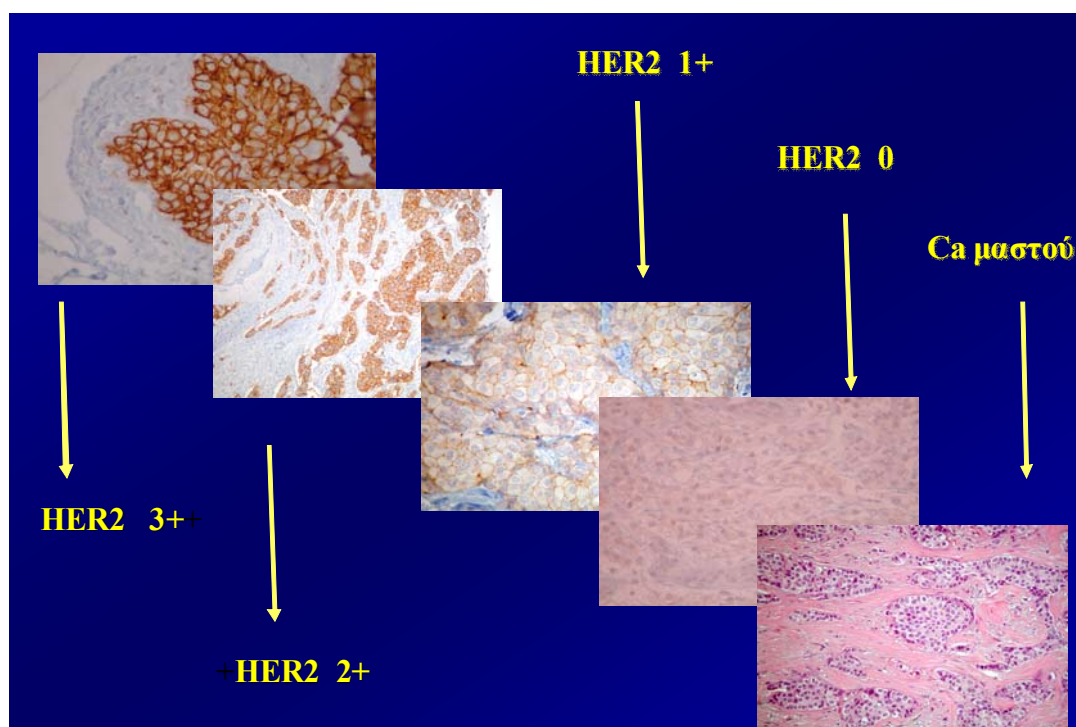
Χρησιμοποιούνται διάφορα συστήματα διαβάθμισης της έκφρασης της πρωτεΐνης, συχνότερα αυτά με τετραβάθμια κλίμακα/ σύστημα HercepTest, σύστημα Ventana/0, 1+=αρνητικό, 2+=ασθενώς θετικό, 3+= θετικό. Συνήθως η διαβάθμιση γίνεται με συνδυασμό της έντασης της μεμβρανικής χρώσης, της περιοχής εντόπισης της χρώσης στη κυτταρική μεμβράνη και του ποσοστού των θετικών καρκινικών κυττάρων.

Η διαβάθμιση της υπερέκφρασης της πρωτεΐνης αναλύεται στον Πίνακα 1 και Εικόνα 1.

Πίνακας 1: Διαβάθμιση υπερέκφρασης p185HER2 πρωτεΐνης

Score	Εκτίμηση HER2 υπερέκφραση	Πρότυπο ανάπτυξης της χρώσης
0	Αρνητικό	Αρνητική χρώση ή μεμβρανική χρώση σε <10% των νεοπλασματικών κυττάρων
1+	Αρνητικό	Αμυδρή, τμηματική μεμβρανική χρώση σε > 10% των νεοπλασματικών κυττάρων
2+	Ασθενώς θετικό	Ασθενής-μέτρια ολομεμβρανική χρώση σε >10% των νεοπλασματικών κυττάρων
3+	Εντόνως θετικό	Έντονη ολομεμβρανική χρώση σε >10% των νεοπλασματικών κυττάρων

Εικόνα 1: Ανοσοϊστοχημική έκφραση της p185HER2 πρωτεΐνης στο καρκίνωμα του μαστού



Η εκτίμηση γίνεται μόνο στο διηθητικό στοιχείο του νεοπλάσματος με εσωτερικό αρνητικό μάρτυρα στοιχεία του φυσιολογικού παρακείμενου μαζικού αδένα (τα οποία δεν πρέπει να εμφανίζουν ανοσοθετικότητα ή εάν εμφανίζουν να προσαρμόζεται αντίστοιχα η βαθμολόγηση των νεοπλασματικών κυττάρων) και εξωτερικό θετικό μάρτυρα ένα γνωστό HER2 θετικό καρκίνωμα μαστού.

Οι διαφορές στην εκτίμηση της χρώσης μεταξύ των παθολογοανατόμων-παρατηρητών, ανεξαρτήτως αντισώματος, οφείλονται σε διάφορους παράγοντες όπως σε ετερογένεια της χρώσης, ενισχυμένη χρώση σε περιφερική θέση μικρής κατακερματισμένης βιοψίας, σε συρρίκνωση και μη ειδική χρώση του υποστρώματος, ψευδομεμβρανώδη χρώση και τέλος σε λάθος των παρατηρητών (Καλαϊτζή και Πατακιούτα-Μπούκαλη, 2003). Στις περιπτώσεις αυτές η χρώση επαναλαμβάνεται με κατάλληλο βιοπτικό υλικό, μεγαλύτερη αραιώση του αντισώματος ή γίνεται η εξέταση με τη μέθοδο του φοριζοντος *in situ* υβριδισμού (FISH). Επίσης, οι Papadopoulos et al (2007) καθώς και άλλοι ερευνητές ανέδειξαν σημαντικές διαφορές στην εκτίμηση της ανοσοχρώσης μεταξύ τοπικών και κεντρικών εργαστηρίων αναφοράς με έως και 20% ψευδώς θετικές περιπτώσεις (Papadopoulos, Kouvatses et al, 2007, Perez, Suman et al 2006). Γενικά, ο βαθμός συμφωνίας μεταξύ των παρατηρητών στην

εκτίμηση της χρώσης είναι υψηλός (95%) στην διαβάθμιση έκφρασης της πρωτεΐνης 0 και 3+, ενώ είναι χαμηλός στην 1+ και 2+. Η θετική και αρνητική προβλεπτική αξία των αντισωμάτων που χρησιμοποιούνται ποικίλει ανάλογα, επίσης, με τη διαβάθμιση της χρώσης. Έτσι, στη διαβάθμιση 0 και 3+ η προβλεπτική αξία των περισσότερων αντισωμάτων για την κατάσταση του HER2 γονιδίου είναι υψηλή, σε αντίθεση με τη διαβάθμιση 1+ και 2+, όπου είναι ανεπαρκής (Gancberg, Jarvinen et al, 2002, Hsu, Ho et al, 2002, Jacobs, Gown et al, 2000, Tsuda, Sasano et al, 2002).

Από τις περισσότερες μελέτες, φαίνεται ότι η ανοσοϊστοχημική μέθοδος είναι οικονομική, μικρής χρονικής διάρκειας (3 ώρες), απλή και εύκολη στην εφαρμογή της, χωρίς ειδικό εξοπλισμό. Στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων της όμως είναι υποκειμενική, καθότι είναι ποιοτική-ημιποσοτική μέθοδος ανίχνευσης μιας ασταθούς πρωτεΐνης (αποκάλυψη του αντιγονικού της επιτόπου), όριο θετικού-αρνητικού υποκειμενικό, με επακόλουθο σχετικά αυξημένο ποσοστό ψευδώς θετικών και ίσως ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων.

Συγκριτικά η μέθοδος FISH χαρακτηρίζεται από μεγαλύτερη ακρίβεια, σχετική δυσκολία στην εφαρμογή της (απαραίτητος ο ειδικός εξοπλισμός και μεγαλύτερη χρονικά διάρκεια/2 ημέρες) και υψηλό κόστος. Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων όμως είναι αντικειμενική καθότι είναι ποσοτική μέθοδος (μετρά σταθερό μόριο DNA) με όριο θετικού-αρνητικού βιολογικά προσδιορισμένο. Ως εκ τούτου εμφανίζει υψηλότερη προβλεπτική αξία για απάντηση σε στοχεύουσα θεραπεία με Trastuzumab (Παπαδόπουλος, 2003).

Οι παραπάνω διαφορές στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων, στο όριο θετικού- αρνητικού και στον υπό εξέταση στόχο, καθορίζουν και τις διαφορές στην ευαισθησία και ειδικότητα των δύο μεθόδων (Pauletti, Dandekar et al. 2000, Ridolfi, Jamehdor et al, 2000). Έτσι, η συμφωνία μεταξύ ανοσοϊστοχημικής τεχνικής και τεχνικής FISH είναι γενικά καλή (85,9-95%), η δε ευαισθησία και ειδικότητα της πρώτης κυμαίνεται από 82-85% και 92-100% σε σύγκριση με 96,5% και 100% αντίστοιχα της δεύτερης μεθόδου. Τελευταία θεωρούνται, πλέον ισοδύναμες εξετάσεις (Wolff, Hammond et al, 2013, Wolff et al, Hammond et al, 2018).

Η τεχνική της ανοσοϊστοχημείας λοιπόν αποτελεί διαχρονικά έως και σήμερα τον ακρογωνιαίο λίθο της εκτίμησης της έκφρασης του HER2 υποδοχέα στον καρκίνο του μαστού, στα περισσότερα εργαστήρια (Πατακιούτα-Μπούκαλη, 2003. Papadopoulos, Arapantoni et al. 2014), απαραίτητως όμως με τυποποιημένες μεθόδους και κοινά κριτήρια

ερμηνείας των αποτελεσμάτων της χρώσης, για να υπάρχει η δυνατότητα άμεσης σύγκρισης των ευρημάτων μεταξύ των εργαστηρίων (Gancberg, Jarvinen et al, 2002, Jacobs, Gown et al, 2000. Papadopoulos, Kouvatsas et al, 2007, Tsuda, Sasano et al, 2002).

2.4.2.2 Ανίχνευση αντιγράφων του Her2/neu γονιδίου στο καρκίνωμα του μαστού με τη μέθοδο του in situ υβριδισμού (ISH)

Ο ISH χρησιμοποιεί είτε τεχνική με μονό ιχνηθέτη (single probe) για την καταμέτρηση των γονιδιακών αντιγράφων του HER2/πυρήνα κυττάρων διηθητικού καρκινώματος του μαστού, είτε τεχνική με δύο ιχνηθέτες (dual probes), ενός ιχνηθέτη έναντι του γονιδίου HER2 και ενός δεύτερου έναντι της κεντρομεριδιακής περιοχής του χρωμοσώματος 17 (CEP17), το οποίο φέρει το γονίδιο HER2. Η τεχνική αυτή επιτρέπει τον καθορισμό του λόγου HER2/CEP17 ενώ γίνεται και καταγραφή των γονιδιακών αντιγράφων του HER2 (Lim, Lim et al, +2016, Wolff, Hammond et al, 2013). Η μέθοδος αυτή γίνεται με:

- φθορίζουσα τεχνική (fluorescence ISH -FISH) ή
- τεχνικές φωτεινού πεδίου (bright-field BRISH), που περιλαμβάνουν το χρωμογόνο ISH (CISH) ή τον in situ υβριδισμό (ISH) με μεταλλογραφικό άργυρο (SISH/DISH), οι οποίες πρέπει να έχουν προηγουμένως επικυρωθεί, συγκρινόμενες με μία εγκεκριμένη άλλη τεχνική όπως τη FISH δηλ συμφωνία >95% της νέας τεχνικής σε σχέση με την μέθοδο αναφοράς. (Lee, Shaheen et al. 2012).

Σύγκριση του FISH και του SISH(BDISH)/DISH(DDISH) στην εκτίμηση της κατάστασης του HER2 γονιδίου σύμφωνα με τις οδηγίες ASCO/CAP, 2007

Οι τεχνικές BDISH (bright-field Dual In Situ hybridization με μονό ιχνηθέτη -DNP- διαδοχικός υβριδισμός του Her2 και του Chr17) και DDISH (Dual In Situ hybridization με διπλό ιχνηθέτη-DNP για HER2 και CHR17-παράλληλος υβριδισμός-κοκτέιλ δύο ιχνηθετών στον ίδιο "dispenser") αποτελούν εναλλακτικές τεχνικές in situ υβριδισμού πέραν του έως πρόσφατα "gold standard" του FISH (Πατακιούτα, Τσιάπλα και συν. 2018. Patakiouta, Theodorou et al, 2013, Patakiouta, Balis et al 2012).

Οι Dietel et al (2007), ανέδειξαν υψηλή συμφωνία μεταξύ FISH (Path Vysion, Abbot/Vysis) και της εναλλακτικής μεθόδου SISH (INFORM, Ventana) στο διηθητικό καρκίνωμα του μαστού σε ποσοστό 96%, ποσοστό το οποίο πληροί τις απαιτήσεις(>95%) της ASCO/CAP για την αξιόπιστη εκτίμηση του HER2 με την τεχνική αυτή. Η χαμηλή ασυμφωνία οφειλόταν

στην ετερογένεια του όγκου. Δεδομένου ότι η τεχνική SISH συνδυάζει μικροσκόπιο φωτεινού πεδίου με μοριακή ανάλυση και πλήρη αυτοματισμό, αποτελεί την πλέον κατάλληλη μέθοδο για εφαρμογή στην καθημερινή πράξη της Χειρουργικής Παθολογικής Ανατομικής. Στον πίνακα 2 φαίνονται οι διάφορες μελέτες με την αντίστοιχη υψηλή συμφωνία των δύο τεχνικών.

Πίνακας 2: Υψηλή συμφωνία μεταξύ FISH ΚΑΙ SISH-DISH

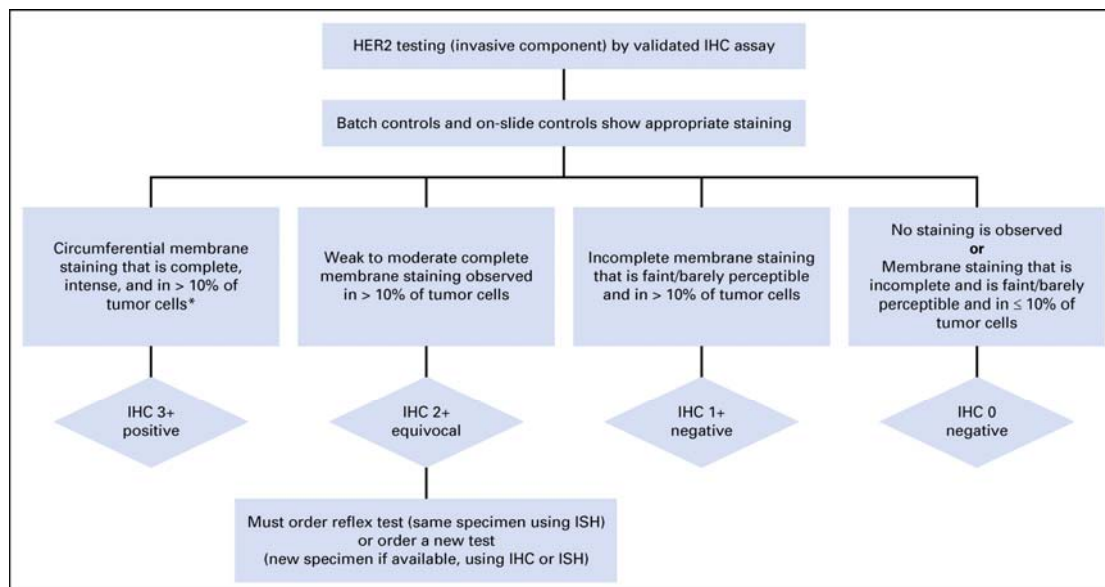
Μελέτες	Αρ.περιπτώσεων	Συμφωνία %
Shousha et al 2009	53	90
Carbone et al 2008	89	99
Dietel et al et al 2008	99	96
Tubbs et al 2007	292	94
Kahn et al 2008	101	100
Di Palma et al 2008	241	98
Tubbs et al 2008	304	97
Vladich et al 2007	100	98
Nitta et al 2008(dual SISH)	94	98

2.4.2.3 Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων και των δύο μεθόδων/IHC, ISH σύμφωνα με τις οδηγίες ASCO/CAP, 2018

Τα κριτήρια αξιολόγησης των δύο τεχνικών έχουν ορισθεί από τις σύγχρονες οδηγίες δημοσιευμένες από εθνικές επιτροπές των Η.Π.Α. το 2013 (Guidelines of ASCO/CAP for HER2 testing in breast carcinoma) και του Ηνωμένου Βασιλείου το 2015 (Ellis & Romond, 2016, Rakha, Starczynski et al 2014), μεταξύ των οποίων υπάρχουν σε ορισμένα σημεία με

αποκλίσεις. Οι αποκλίσεις αυτές συζητήθηκαν στη βιβλιογραφία μεταξύ των δυο ομάδων (Rakha, Pigera et al, 2015, Wolff, Hammond et al, 2015), συμφωνήθηκε η συμπίεση με τις οδηγίες της Εθνικής Συντονιστικής Επιτροπής για την Ιστοπαθολογία του Μαζικού Αδένα του Ηνωμένου Βασιλείου (Wolff, Hammond et al, 2015) και η τελική σύγκλιση αποτυπώνεται στην αναθεωρημένη έκδοση αξιολόγησης του HER2 από ASCO/CAP-Ιούνιος 2018 (Wolff, Hammond, et al, 2018). Τόσο με IHC όσο και με ISH το αποτέλεσμα της εξέτασης για HER2 μπορεί να αποβεί θετικό, αρνητικό, αμφίσημο(αμφιλεγόμενο/οριακό), ή απροσδιόριστο. Αν το αποτέλεσμα είναι αμφίσημο με IHC ή ISH ακολουθεί επανέλεγχος με την άλλη δοκιμασία (reflex test strategy). Το αποτέλεσμα χαρακτηρίζεται απροσδιόριστο όταν και με τις δυο τεχνικές δεν μπορεί να ταξινομηθεί σε μία από τις τρεις διαβαθμίσεις δηλ. ως θετικό, αρνητικό ή αμφίσημο. Αυτό συνήθως οφείλεται σε σφάλματα κατά την επεξεργασία του υλικού (προβλήματα τέχνης/arti-facts) και στις περιπτώσεις αυτές απαιτείται η επανεξέταση σε νέο ιστολογικό δείγμα. Ένα δείγμα θεωρείται θετικό για HER2 εάν είναι IHC 3+ ή ISH θετικό, ενώ αρνητικό εάν είναι IHC διαβάθμισης 0 ή 1+ ή ISH αρνητικό. Επιπλέον ένα δείγμα θεωρείται αμφίσημο για HER2 εάν είναι IHC διαβάθμισης 2+ ή ISH αμφίσημο (αμφιλεγόμενο). Σύμφωνα με την αναθεωρημένη έκδοση αξιολόγησης του HER2 από ASCO/CAP (Wolff, Hammond,et al, 2018) η ανοσοϊστοχημική εκτίμηση της πρωτεϊνικής υπερέκφρασης, υπολογίζεται, όπως και στις προηγούμενες διεθνείς οδηγίες (ASCO/CAP,2007, ASCO/CAP,2013), μόνο με τη μεμβρανική έκφραση στο διηθητικό στοιχείο, ενώ η κυτταροπλασματική χρώση και η χρώση του in situ στοιχείου δεν αξιολογούνται. Το φυσιολογικό μαζικό παρέγχυμα δεν πρέπει να έχει έντονη μεμβρανική χρώση. Η IHC HER2 διαβάθμιση είναι ημιποσοτικό σύστημα αξιολόγησης με συνδυασμό της έντασης της χρώσης και του ποσοστού των θετικών κυττάρων, από τον οποίο προκύπτει μια κλίμακα που κυμαίνεται από 0 έως 3+ (πίνακας 3).

Πίνακας 3: HER2 δοκιμασία στο καρκίνωμα του μαστού με ανοσοϊστοχημεία



Πηγή: ASCO/CAP guidelines for Her2 Testing. Wolff, Hammond et al, 2018

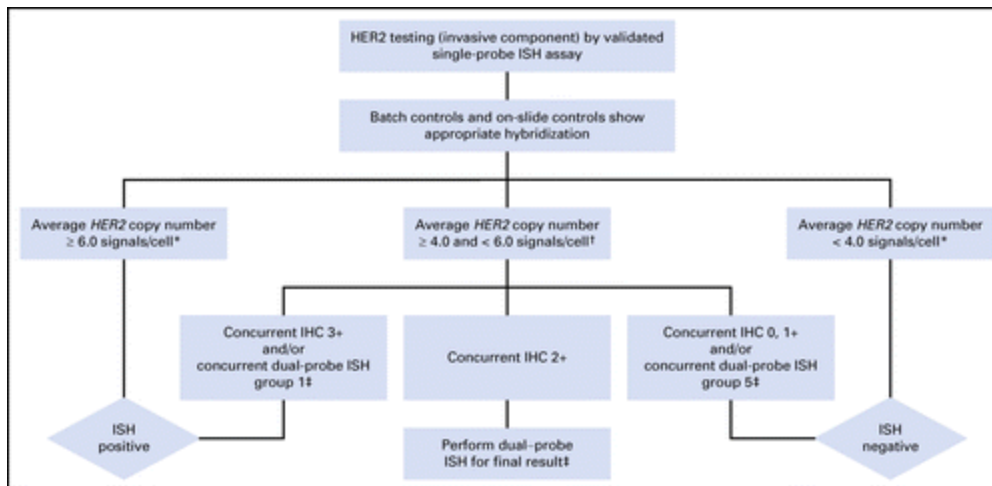
Η εκτίμηση της επαύξησης του HER2 γονιδίου (ISH) γίνεται, επίσης, στο διηθητικό στοιχείο σε σύγκριση με παρακείμενα φυσιολογικά κύτταρα και σε συνδυασμό με το πλακίδιο ανοσοϊστοχημικής χρώσης της ίδιας τομής. Ο μέσος λόγος HER2/CEP17 οφείλει να καθορίζεται με προσμέτρηση 20-60 κυττάρων και εάν είναι δυνατόν σε τρία διαφορετικά πεδία με επιλογή περιοχών με τα πιο πολλά σήματα (hot spots). Στις περισσότερες περιπτώσεις στις οποίες υπάρχει είτε καθαρή επαύξηση είτε λόγος <1.5, επαρκεί η μελέτη 20 πυρήνων. Εκτιμώνται μόνο πυρήνες με σαφή όρια και όχι πυρήνες αλληλοεπικαλυπτόμενοι με στοιχεία καταστροφής (παράρτημα σχήμα I) (Wolff, Hammond et al, 2018).

Στις περιπτώσεις που ο λόγος HER2/CEP17 είναι κοντά στο 2.0 ή παρατηρείται ετερογένεια του νεοπλάσματος, συνιστάται να αξιολογούνται 60 κύτταρα/τομή. Το test HER2 ISH χαρακτηρίζεται ως απροσδιόριστο, όταν οι μάρτυρες δεν είναι ικανοποιητικοί, η ανάλυση των πυρήνων είναι πλημμελής, υπάρχουν πολλά ασθενή σήματα και όταν ο παρατηρητής δε μπορεί να αξιολογήσει τουλάχιστον δύο περιοχές διηθητικού όγκου.

Εάν χρησιμοποιείται τεχνική μονού ιχνηθέτη η εκτίμηση γίνεται ως εξής: θετικοί όγκοι με ≥ 6 σήματα HER2/πυρήνα, κατά μέσο όρο, αρνητικοί οι όγκοι με <4 σήματα HER2/πυρήνα, κατά μέσο όρο, αμφίσημοι οι όγκοι με ≥ 4 και <6 σήματα HER2/πυρήνα, κατά μέσο όρο. Για την περαιτέρω εκτίμηση των αμφίσημων όγκων, σύμφωνα, με τις τελευταίες οδηγίες από το

"Expert Panel", προτείνεται η συνεκτίμηση του ανοσοϊστοχημικού HER2 αποτελέσματος ή/και χρησιμοποίηση της μεθόδου με διπλό ιχνηθέτη (Wolff, Hammond et al, 2018) (Πίνακας 4 και 4α).

Πίνακας 4: HER2 δοκιμασία στο Ca του μαστού με ISH με μονό ιχνηθέτη



Πηγή: ASCO/CAP, guidelines for Her2 Testing. Wolff, Hammond et al, 2018

Πίνακας 4α. Διαχείριση του αμφίσημου HER2 αποτελέσματος με ISH μονού ιχνηθέτη

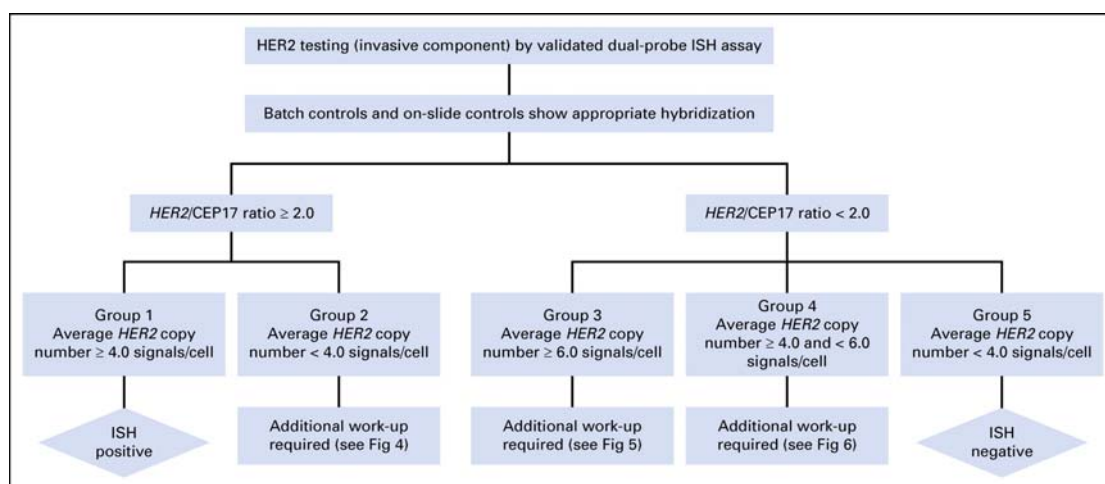
+	IHC 3+ ή /και ISH διπλού ιχνηθέτη Ομάδα 1 = θετικό
+	IHC 0 ή 1+ ή /και ISH διπλού ιχνηθέτη Ομάδα 5= αρνητικό
+	IHC αμφίσημο αποτέλεσμα (2+), η τεχνική ISH διπλού ιχνηθέτη θα δώσει το τελικό αποτέλεσμα

Πηγή: ASCO/CAP, guidelines for Her2 Testing. Wolff, Hammond et al, 2018

Εάν χρησιμοποιείται τεχνική διπλού ιχνηθέτη, η εκτίμηση περιλαμβάνει την καταγραφή του λόγου των σημάτων HER2/CEP17 και την καταγραφή των γονιδιακών αντιγράφων. Σύμφωνα με τις διεθνείς οδηγίες ASCO/CAP (Wolff et al, 2018) περιγράφονται 5 ομάδες, ως εξής: Ομάδα 1: θετικοί για επαύξηση του γονιδίου θεωρούνται οι όγκοι με λόγο HER2/CHR17 \geq 2 και \geq 4 HER2 σήματα/πυρήνα, κατά μέσο όρο, Ομάδα 2: οι όγκοι με λόγο

HER2/CHR17 \geq 2 και HER2<4 σήματα/πυρήνα, κατά μέσο όρο, Ομάδα 3: οι όγκοι με λόγο HER2/CHR17<2 και HER2 \geq 6 σήματα/πυρήνα, κατά μέσο όρο, Ομάδα 4: οι όγκοι με λόγο HER2/CHR17 <2 και HER2 \geq 4 και < 6 σήματα/πυρήνα, κατά μέσο όρο, Ομάδα 5: αρνητικοί αυτοί με λόγο HER2/CHR17<2 και HER2 <4 σήματα HER2/πυρήνα, κατά μέσο όρο. (Πίνακας 5).

Πίνακας 5: HER2 δοκιμασία στο Ca του μαστού με ISH με διπλό ιχνηθέτη



Πηγή: ASCO/CAP, guidelines for Her2 Testing. Wolff, Hammond et al,2018

Για τις Ομάδες 2, 3, 4, που αποτελούν το 5% των περιπτώσεων, απαιτείται περαιτέρω εργασία για την τελική εκτίμηση της HER2 κατάστασης. Αυτή περιλαμβάνει συνεκτίμηση του IHC HER2 αποτελέσματος στον ίδια κύβο παραφίνης. Στην περίπτωση που έχουμε IHC αμφίσημο (2+) αποτέλεσμα, απαιτείται εκτίμηση της ίδιας τομής του ISH από δεύτερο ανεξάρτητο παρατηρητή με καταμέτρηση τουλάχιστον 20 πυρήνων. Επί ασυμφωνίας του ISH αποτελέσματος μεταξύ των δύο παρατηρητών η τελική σύγκλιση είναι αποτέλεσμα εσωτερικής συμφωνίας.

Οι ομάδες 2-4 χαρακτηρίζονται ως εξής :

Ομάδα 2 και Ομάδα 4: Οι όγκοι είναι HER2 θετικοί, μόνο εφόσον και το IHC HER2 αποτέλεσμα είναι θετικό (3+). Σε όλους τους υπόλοιπους πιθανούς συνδυασμούς, το HER2 θεωρείται αρνητικό.

Ομάδα 3: Οι όγκοι είναι HER2 θετικοί, εφόσον IHC HER2 θετικό (3+) ή/και εάν και ο δεύτερος παρατηρητής έχει την ίδια εκτίμηση για ISH (δηλαδή: λόγος <2 και ≥ 6 σήματα/πυρήνα) (Πίνακες 5α, 5β, 5γ).

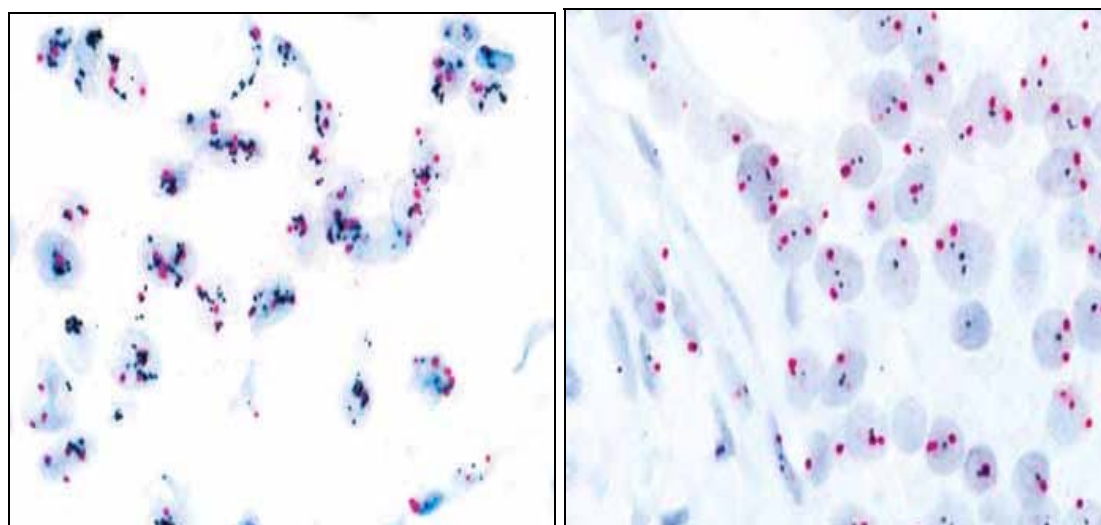
Επισημάνσεις:

Τα αποτελέσματα του HER2 πρέπει να συσχετίζονται με τις υπόλοιπες ιστοπαθολογικές παραμέτρους του νεοπλασματος. Επί ασυμφωνίας συνιστάται επανέλεγχος στον ίδιο ή σε άλλο κύβο παραφίνης ή σε άλλο δείγμα (Wolff, Hammond et al, 2013). Παραδείγματα: Επί HER2 θετικού διηθητικού καρκινώματος του μαστού:

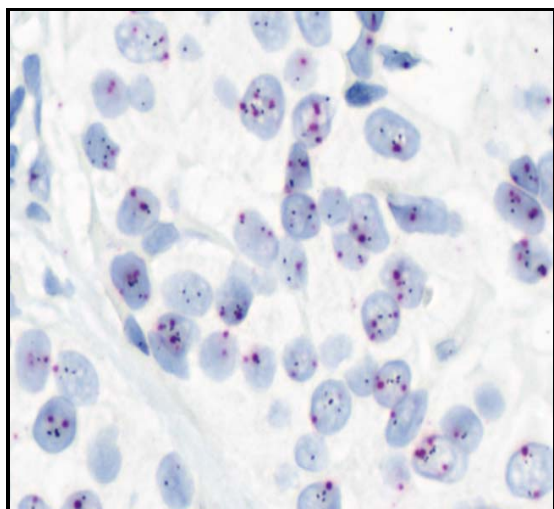
- ενός χαμηλού ιστολογικού βαθμού κακοήθειας (grade1) ή
- αμιγών ειδικών τύπων καλής πρόγνωσης (σωληνώδες, βλενώδες, ηθμοειδές ή αδενοειδές κυστικό). Αντίθετα όταν τα καρκινώματα αυτά είναι HER2 αρνητικά δεν απαιτείται επανάληψη της εξέτασης.

Επίσης επανεξέταση στο υλικό χειρουργικής εκτομής επιβάλλεται επί HER2 αρνητικού καρκινώματος του μαστού σε βιοψία με τέμνουσα βελόνη, όταν είναι υψηλού ιστολογικού βαθμού κακοήθειας (grade 3) ή τα διηθητικά στοιχεία είναι λίγα, ή όταν ο όγκος στην εκτομή είναι υψηλότερου ιστολογικού βαθμού κακοήθειας (grade) σε σχέση με χαμηλότερο grade στη βιοψία και τέλος πάντοτε επί αμφίσημου αποτελέσματος (Hanna, Rüschoff et al, 2014).

Εικόνα 2: Dual In Situ Hybridization για το HER2 γονίδιο στο καρκίνωμα του μαστού

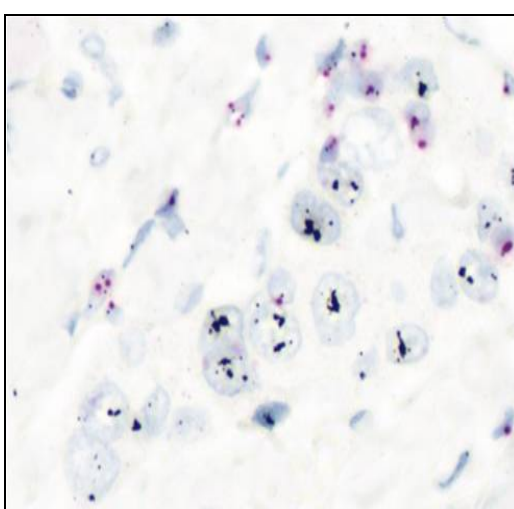


Ομάδα 1



Ομάδας 5 (αρχείο ΦΠ)

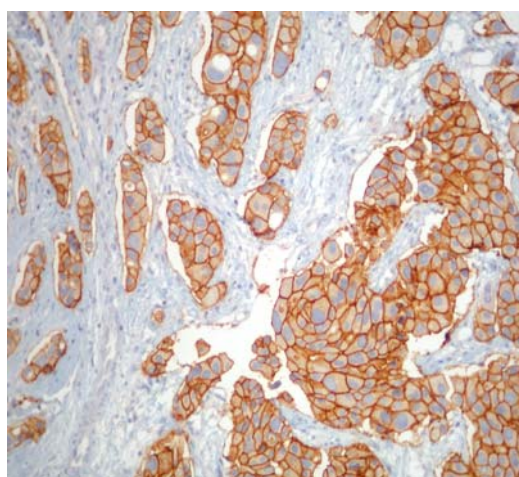
Ομάδα 5



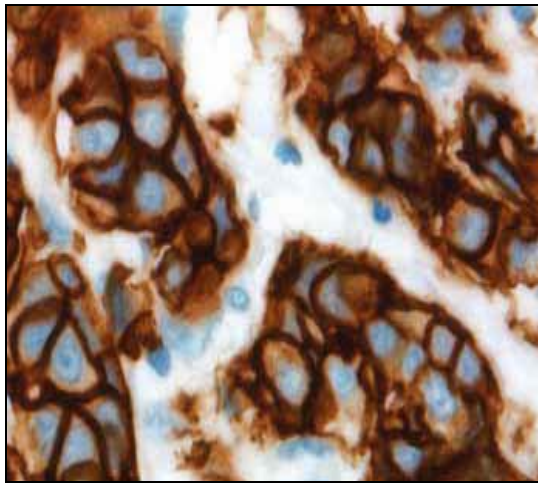
Ομάδα 2 (αρχείο ΦΠ)

Πηγή: ASCO/CAP, guidelines for Her2 Testing. Wolff, Hammond et al, 2018

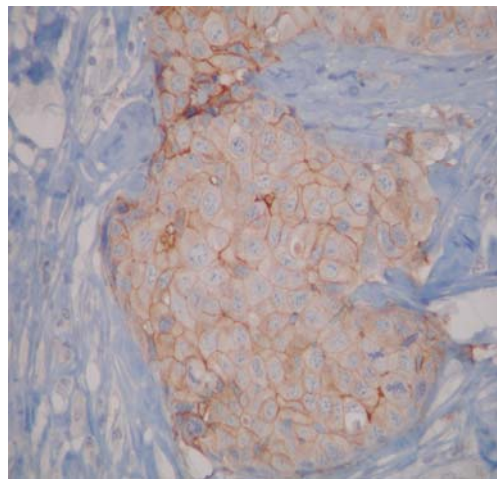
Εικόνα 3: Ανοσοϊστοχημική έκφραση της HER2 πρωτεΐνης στο καρκίνωμα του μαστού



IHC HER2 2+ X 100 και X400) καρκίνωμα των πόρων του μαστού



IHC HER2 3+ X600,



IHC HER2 1+ X600

Πηγή: Αρχείο Φ.Π.

Το μακρύ ιστορικό των δοκιμασιών HER2 στον καρκίνο του μαστού, αποτελεί ένδειξη της σημασίας των συνεχιζόμενων προσπαθειών για τη βελτίωση των διαγνωστικών προσδιορισμών HER2 και της ερμηνείας τους, ούτως ώστε να διασφαλιστεί ότι οι ασθενείς που μπορούν να ωφεληθούν θα λάβουν την κατάλληλη στοχεύουσα θεραπεία.

Διάφορες τροποποιήσεις Κατευθυντήριων Οδηγιών δημοσιεύτηκαν διαχρονικά, με σκοπό την ακριβή και αξιόπιστη εκτίμηση του HER2 γονιδίου στο καρκίνωμα του μαστού με ελαχιστοποίηση των ψευδώς θετικών και ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων της εξέτασης (ASCO/CAP 2003, ASCO/CAP 2007, ASCO/CAP 2013, ASCO/CAP, 2018).

Στον πίνακα 6 φαίνονται οι κύριες συστάσεις ASCO/CAQP, 2007 σε σχέση με εκείνες των ASCO/CAP, 2013.

Πίνακας 6: ΣΥΣΤΑΣΕΙΣ ASCO/CAP, 2007 vs 2013 ΓΙΑ ΤΟ HER2 ΣΤΟ CA ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ

ASCO/CAP, 2007	ASCO/CAP, 2013
<p>FISH με επαύξηση:</p> <p>HER2/CEP17 >2,2</p> <p>ή > 6 σήματα/πυρήνα</p>	<p>ISH Θετικό:</p> <p>μονός ιχνηθέτης: ≥ 6 σήματα HER2/κύτταρο</p> <p>διπλός ιχνηθέτης: HER2/Chr17≥ 2 με ≥ 4 σήματα HER2 λόγος ≥ 2 και <4 σήμ. HER2 λόγος <2 και ≥ 6 σήματα HER2</p>
<p>FISH</p> <p>με HER2/CEP17 1.8-2,2</p> <p>ή 4-6 σήματα/πυρήνα</p>	<p>ISH Αμφλεγόμενο:</p> <p>μονός ιχνηθέτης: ≥ 4 και <6 σήματα HER2</p> <p>διπλός ιχνηθέτης: HER2/Chr17<2 με ≥ 4 και <6 σήματα HER2</p>
<p>FISH με HER2/CEP17</p> <p><1.8 ή < 4 σήματα/πυρήνα</p>	<p>ISH Αρνητικό:</p> <p>μονός ιχνηθέτης: <4 σήματα HER2/κύτταρο</p> <p>διπλός ιχνηθέτης: HER2/Chr17 <2 με <4 σήματα HER2/κύτταρο</p>
<p>IHC3+ : έντονη</p> <p>ομοιογενής μεμβρανική χρώση >30%</p> <p>νεοπλασματικών κυττάρων</p>	<p>IHC Θετικό</p> <p>IHC 3+ : έντονη πλήρης περιγραπτη μεμβρανική χρώση σε >10% των νεοπλασματικών κυττάρων</p>
<p>Μονιμοποίηση 6 - 48</p>	<p>Μονιμοποίηση 6 - 72 ώρες</p>

Κεφάλαιο 3

Θεραπεία του Her2+ Ca του μαστού

Η σταδιοποίηση του καρκίνου του μαστού βασίζεται παραδοσιακά στο Σύστημα TNM (Tumor/Όγκος, Nodes/λεμφαδένες, Metastasis/Μετάσταση, Πίνακας 7).

Πίνακας 7: TNM σταδιοποίηση του καρκίνου του μαστού

ΣΤΑΔΙΟ	T	N	M	
Στάδιο 0	Tis		M0	TX: δεν μπορεί να εκτιμηθεί T0: χωρίς πρωτοπαθή T Tis: in situ-v.Paget
Στάδιο I	T1		M0	
Στάδιο IIA	T0	N1	M0	T1: όγκος έως 2 εκ., T1a: < 0,5 T1b: 0,5 < T < 1 εκ., T1c: 1 < T < 2
	T1	N1	M0	
Η ΤΟ δ	T2	N0	M0	T2: 2 < T < 5 εκ.
Στάδιο IIB	T2	N1	M0	T3: T > 5 εκ.
	T3	N0	M0	T4: οποιοδήποτε T με επέκταση στο ΘΤ ή το Δ
Στάδιο IIIA	T0	N2	M0	Nx: δεν μπορεί να εκτιμηθεί N0: χωρίς περιοχική λεμφαδενική μετάσταση N1: 1 ή > Λ κινητών σύστοιχης μασχάλης N2: 1 ή > συμφορομένων Λ-block σύστοιχης μασχάλης N3: μετάσταση στους σύστοιχους έσω μαστικούς Λ
	T1	N2	M0	
	T2	N2	M0	
	T3	N2	M0	
	T3	N1,N2	M0	
Στάδιο IIIB	T4	Οποιοδήποτε N	M0	
Στάδιο IIIC	Οποιοδήποτε	N3	M0	
Στάδιο IV	Οποιοδήποτε T	Οποιοδήποτε N	M1	M0: χωρίς, απομακρυσμένη μετάσταση MX: δεν μπορεί να εκτιμηθεί M1: απομακρυσμένη, υπερκ. Λ

Ωστόσο πολύ πρόσφατα έγινε αποδεκτό από την Αμερικανική Κοινή Επιτροπή Καρκίνου (American Joint Commission of Cancer, AJCC), ότι θα πρέπει να ενσωματώνονται στη σταδιοποίηση και συγκεκριμένοι βιολογικοί παράγοντες (βιοδείκτες), προκειμένου να προσδιορισθεί με μεγαλύτερη ακρίβεια η πρόγνωση της νόσου και επομένως να εφαρμοστεί η πλέον ορθολογική θεραπευτική επιλογή (Hortobagyi, Connolly, et al. 2017, NCCN,2017)

Η σπουδαιότητα και η αναγκαιότητα των βιοδεικτών αυτών επισημαίνεται από την τεράστια δαπάνη υγείας για τα αντικαρκινικά φάρμακα, και την εκτίμηση της οικονομίας από την επιλογή υποψηφίων για θεραπεία ασθενών και τη διαστρωμάτωση (Ellis & Romond, 2016). Αυτή η επιλογή βασίζεται στα αποτελέσματα των διαγνωστικών τεστ για τους προβλεπτικούς αυτούς βιοδείκτες με αποδεδειγμένη κλινική χρησιμότητα. Η αλλαγή στη διαχείριση των ασθενών, τονίζει τη σπουδαιότητα της evidence-based εργαστηριακής ιατρικής για τη θεραπεία του ασθενούς και τη στενή της σχέση με την ανάπτυξη των στοχευτικών φαρμάκων στην πρακτική ογκολογία. Η διαθεσιμότητα της ολοένα αυξανόμενης μοριακής πληροφορίας επισπεύδει αυτή την εξέλιξη.

Στη συγκεκριμένη περίπτωση του καρκίνου του μαστού, στους παράγοντες αυτούς, όπως αναφέρεται στην 8η έκδοση του Εγχειριδίου Σταδιοποίησης του Καρκίνου της AJCC, περιλαμβάνονται εκτός από τη διαφοροποίηση του όγκου/βαθμό κακοήθειας (grade), η έκφραση υποδοχέων οιστρογόνων (ER), υποδοχέων προγεστερόνης (PR) και του HER2 γονιδίου, καθώς και η διαβάθμιση των εμπορικά διαθέσιμων προγνωστικών γονιδιακών υπογραφών όπως, π.χ. Oncotype DX, MammaPrint ή EndoPredict (Hortobagyi, Connolly, et al. 2017).

Όσον αφορά τη συστηματική θεραπεία, ο κλινικά μη μεταστατικός καρκίνος του μαστού, μπορεί να διακριθεί σε χειρουργήσιμο (κλινικά στάδια I, II και μέρος των IIIA όγκων) και μη χειρουργήσιμο (κλινικά στάδια IIIB, IIIC και κάποιοι IIIA όγκοι). Ο καρκίνος του μαστού, εφόσον διαγνωσθεί σε πρώιμο στάδιο και αντιμετωπιστεί με την κατάλληλη τοπική (χειρουργική επέμβαση και ακτινοθεραπεία) και συστηματική θεραπεία (χημειοθεραπεία, ορμονοθεραπεία και στοχεύουσα θεραπεία), έχει εξαιρετικά θετική πρόγνωση για τις περισσότερες ασθενείς. Συνήθως η συστηματική θεραπεία ακολουθεί την χειρουργική επέμβαση. Σε αρκετές όμως περιπτώσεις ασθενών, η θεραπεία μπορεί να χορηγηθεί και πριν

από τη χειρουργική επέμβαση (προεγχειρητική ή νεοεπικουρική θεραπεία). Η στρατηγική αυτή, μπορεί να έχει πολλαπλά οφέλη για τους ασθενείς, τόσο όσον αφορά στο τελικό αισθητικό αποτέλεσμα και την ανάγκη για ριζικές χειρουργικές επεμβάσεις όσο και γιατί δίνει τη δυνατότητα για εξατομίκευση της θεραπείας μετά την χειρουργική επέμβαση και κατ' επέκταση καλύτερη έκβαση της πορείας της ασθενούς. Οι πλέον βασικές παράμετροι, που συνυπολογίζονται στον σχεδιασμό της συστηματικής θεραπείας, είναι το μέγεθος του όγκου (T), η κατάσταση των μασχαλιαίων λεμφαδένων(N), η έκφραση των ορμονικών υποδοχέων και του HER2 γονιδίου. Επιπρόσθετα λαμβάνεται υπόψη και ο δείκτης κυτταρικού πληθυσμού (Ki-67).

3.1 Στοχεύουσα το Her2 θεραπεία του καρκίνου του μαστού

Ο HER2 παράγοντας υπερεκφράζεται σε περίπου 20% (18-30%) των καρκινωμάτων του μαστού. Η υπερέκφραση αυτή οφείλεται κυρίως σε επαύξηση του HER2 γονιδίου με επακόλουθο οι ασθενείς με HER2-θετικό καρκίνο του μαστού, να έχουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης μεταστάσεων και μειωμένη συνολική επιβίωση.

Τις τελευταίες δύο δεκαετίες έχουν εισαχθεί στην κλινική πράξη διάφοροι βιολογικοί παράγοντες, οι οποίοι παρεμποδίζουν τη μεταγωγή σήματος από τους επιφανειακούς υποδοχείς στο εσωτερικό του καρκινικού κυττάρου. Σήμερα είναι εγκεκριμένοι τουλάχιστον τέσσερις αντι-HER2 παράγοντες: το trastuzumab (herceptin) σε πρώιμη και μεταστατική νόσο, το lapatinib (tyverb) σε μεταστατική νόσο, το pertuzumab (perjeta) σε πρώιμη (προεγχειρητική θεραπεία) και μεταστατική νόσο και το σύμπλεγμα μονοκλωνικού αντισώματος-χημειοθεραπευτικού T-DM1 (kadcyla) σε μεταστατική νόσο.

A. Το trastuzumab (herceptin) είναι το πρώτο εξανθρωποποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα, που εγκρίθηκε για τη θεραπεία ασθενών με HER2 θετικό καρκίνο μαστού.

Αρχικά, η έγκρισή του το 1998, αφορούσε στη μεταστατική νόσο και βασίστηκε στα αποτελέσματα μιας τυχαιοποιημένης, πολυκεντρικής μελέτης φάσης III, που δημοσιεύτηκε το 2001 από τον Slamon και τους συνεργάτες του. Στη μελέτη αυτή συγκρίθηκε ο συνδυασμός trastuzumab μαζί με χημειοθεραπεία σε σχέση με μόνο χημειοθεραπεία σε ασθενείς με μεταστατική νόσο (Hudis, 2007). Οι ασθενείς που έλαβαν trastuzumab και πακλιταξέλη είχαν σημαντικά μεγαλύτερη συνολική επιβίωση συγκριτικά με τους ασθενείς που έλαβαν μόνο πακλιταξέλη (Slamon, Leyland-Jones et al,

2001, Perez, Romond et al. 2014). Ακολούθησε το 2006 η έγκριση του trastuzumab στη συμπληρωματική (adjuvant) θεραπεία του πρώιμου HER2 θετικού καρκίνου του μαστού (Jones, Collea et al. 2013, Piccart-Gebhart, Procter et al, 2005, Slamon, Robert et al, 2015, McArthur, Mahoney et al, 2011). Έκτοτε πολλές μελέτες επιβεβαίωσαν το όφελος που προσφέρει το φάρμακο αυτό σε όλα τα στάδια της νόσου. Η ενσωμάτωση του trastuzumab στη θεραπευτική φαρέτρα των ογκολόγων προσέφερε σημαντικό κλινικό όφελος στις ασθενείς με HER2-θετικό πρώιμο και μεταστατικό καρκίνο μαστού και άλλαξε θεαματικά τη δυσμενή φυσική πορεία της νόσου σε χιλιάδες γυναίκες (Romond, Jeong et al. 2012).

Τέσσερις δοκιμές μεγάλης κλίμακας φάσης III αξιολόγησαν την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια της χρήσης του trastuzumab στην επικουρική θεραπεία. Πρόκειται για τη δοκιμή National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP) B-31 (US; N = 2043) (Paik Bryant et al, 2002), τη δοκιμή North 9831 Cancer Group Group (N CCTG) N9831 (US, N = 1633), τη δοκιμή Herceptin Adjuvant (HERA) (εκτός ΗΠΑ, N = 5102), και τη δοκιμή 006 της Διεθνούς Ομάδας Ερευνών του Καρκίνου του Μαστού (BCIRG) (παγκοσμίως, N = 3222) (Slamon, Eiermann et al, 2005)-Πίνακας 8

Πίνακας 8: Κλινικές μελέτες φάσης III επικουρικής θεραπείας με Τραστοζουμάμπη στον ΠΚΜ

NSABP B-31	AC-T, AC-TH	Herceptin: 52 W
		↓ 8,4 έτη follow-up
	75,2% 84%	↓ 37% σχετικού κινδύνου θανάτου
CCTG N9831	AC-T, AC-TH, AC-T-H	
	75,2% 84%	↓ 37% κινδύνου θανάτου
	AC-TH vs AC-T-H : βελτίωση της ελεύθερης νόσου επιβίωσης	
HERA	A/Θ+ X/Θ, H για 1ή 2 έτη vs X/Θ+A/Θ	
	↓ 8 έτη follow-up	
	24% βελτίωση της συνολικής επιβίωσης	

Σήμερα η αποδεκτή πρακτική στη συμπληρωματική θεραπεία του πρώιμου HER2 θετικού καρκίνου του μαστού είναι η χορήγηση χημειοθεραπείας με 3-4 κύκλους ανθρακυκλίνης και 3-4 κύκλους ταξάνης και trastuzumab. Στη συνέχεια χορηγείται το trastuzumab ενδοφλεβίως, μόνο του για 1 έτος, ανά 21 ημέρες, συνολικά 18 δόσεις (Cameron, Piccart-Gebhart et al, 2017, Fountzilas, Dafni et al, 2014, Perez, Romond et al, 2011).

Σε ασθενείς με μεταστατική νόσο το trastuzumab χορηγείται σε όλες τις γραμμές, συνήθως σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία ή ορμονοθεραπεία.

Σε πρόοδο νόσου η χορήγηση trastuzumab συνεχίζεται και αλλάζει μόνο η χημειοθεραπεία. Σε πολλές περιπτώσεις οι ασθενείς μπορεί να λαμβάνουν trastuzumab για πολλούς συνεχόμενους μήνες ή και για πολλά χρόνια οπότε το κόστος ανέρχεται έως κάποιες δεκάδες χιλιάδες ευρώ.

Εξέλιξη αυτής της καθιερωμένης ενδοφλέβιας αγωγής αποτελεί η υποδόρια μορφή του trastuzumab (2000), η οποία έχει τις ίδιες ακριβώς ενδείξεις με το ενδοφλέβιο σκεύασμα με συγκρίσιμη αποτελεσματικότητα και ασφάλεια. Η χορήγησή της απαιτεί σταθερή δόση, εξοικονομεί δε ταλαιπωρία και χρόνο σε ασθενείς και επαγγελματίες υγείας καθώς και πόρους στο σύστημα υγείας, σύμφωνα με αποτελέσματα διαφόρων μελετών. Επαρκούν 2-5 λεπτά για την υποδόρια έγχυση σε αντίθεση με την ενδοφλέβια χορήγηση για την οποία απαιτούνται 16,3 ώρες συνολικά (Gligorov, Ataseven et al, 2017, Ismael, Hegg et al, 2012)- Παράρτημα Β.1 και Β.2.

Καρδιακή δυσλειτουργία

Το Trastuzumab γενικά είναι καλά ανεκτό, με μόνη κύρια δυσμενή επίδραση την καρδιακή δυσλειτουργία, η οποία αυξάνεται σημαντικά όταν συνδυάζεται με ανθρακυκλίνες. Στη μελέτη NSABP B-31 ένα καρδιακό σύμβαμα ορίζεται ως ένας καθορισμένος ή πιθανός καρδιακός θάνατος ή ως συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια κατηγορίας III-IV κατά την Καρδιολογική εταιρεία ης Νέας Υόρκης (New York Heart Association-NYEA). 4% από τις ασθενείς που έλαβαν σε σχέση με 1,3% σε εκείνες που δεν έλαβαν trastuzumab, εμφάνισαν ένα καρδιακό σύμβαμα. Η Τραστουζουμάμπη διακόπηκε σε ποσοστό 15,5% των ασθενών για ασυμπτωματικές ή συμπτωματικές καρδιολογικές αιτίες. Η ηλικία και το επίπεδο του κλάσματος εξώθησης της αριστεράς κοιλίας (LVEF) σχετίζεται με κίνδυνο για ένα καρδιακό

σύμβαμα. Η καρδιακή δυσλειτουργία της πλειοψηφίας των ασθενών ανακάμφθηκε μετά τη διακοπή του αντισώματος και παρατηρήθηκε ένας θάνατος σε κάθε σκέλος. Σημειώνεται ότι στη μελέτη BCIRG 006 το ποσοστό της καρδιακής δυσλειτουργίας ήταν πολύ χαμηλότερο στο σκέλος χωρίς ανθρακυκλίνη (κατηγορίας III/IV συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια ήταν 2%, 0.4% και 0.7% στα ACT-TH, TCH and AC-T σκέλη αντίστοιχα) (Slamon, Eiermann et al, 2011). Το 18.6% των ασθενών του σκέλους AC-TH είχαν μια ελάττωση LVEF > 10% συγκρινόμενο με 9.4% των ασθενών στο σκέλος TCH (χωρίς ανθρακυκλίνη).

Πρωτόκολλο καρδιακής παρακολούθησης

Στις μελέτες που περιλαμβάνουν ανθρακυκλίνη, η επίμονη καρδιακή δυσλειτουργία θα πρέπει να προληφθεί και να θεραπευτεί με αποτελεσματική παρακολούθηση. Στις ασυμπτωματικές ασθενείς η καρδιακή λειτουργία εκτιμήθηκε με MUGA scan ή υπερηχοκαρδιογράφημα πριν την έναρξη της θεραπείας με Trastuzumab και ανά τρίμηνο για ένα έτος. Η εκτίμηση της καρδιακής λειτουργίας πρέπει να επαναλαμβάνεται και μετά τη διακοπή της θεραπείας μέχρι 24 μήνες από την τελευταία χορήγηση του Trastuzumab. Εάν το LVEF ελαττωθεί >15% από την έναρξη ή >10% από το κατώτερο φυσιολογικό επίπεδο (<50%), η θεραπεία πρέπει να διακόπτεται για 4 εβδομάδες. Η επαναχορήγηση του Trastuzumab θα γίνει εφόσον το LVEF αποκατασταθεί στα αποδεκτά όρια (Azambuja, Procter et al 2014, Romond, Perez 2005, Slamon, Eiermann et al, 2011), άλλως θα πρέπει να εξετάζεται η διακοπή του. Εάν εμφανισθεί συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια κατά τη διάρκεια της θεραπείας θα πρέπει να αντιμετωπίζεται (αρκετές μελέτες) με τη συνήθη θεραπεία, η οποία περιλαμβάνει καρδιοπροστατευτικά φάρμακα όπως βήτα-αναστολείς, στατίνες, αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης (ACE) και αναστολείς των υποδοχέων της αλδοστερόνης (ARB)(Boekhout, Gietema et al, 2016, Gulati, Heck et al, 2016, Pituskin, Mackey et al, 2015).

Άλλες σοβαρές τοξικότητες περιλαμβάνουν τις :

- Αντιδράσεις υπερευαισθησίας

Έχουν αναφερθεί σοβαρές αντιδράσεις κατά την έγχυση Trastuzumab, στις οποίες συμπεριλαμβάνονται δύσπνοια, υπόταση, συριγμός, υπέρταση, βρογχόσπασμος, υπερκοιλιακή ταχυαρρυθμία, μειωμένος κορεσμός οξυγόνου, αναφυλαξία, αναπνευστική δυσχέρεια, κνίδωση και αγγειοοίδημα. Φάρμακα πριν την έγχυση (pre-medication) μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μείωση του κινδύνου εμφάνισης αυτών των συμβαμάτων. Η πλειονότητα αυτών των αντιδράσεων συμβαίνει κατά τη διάρκεια της έγχυσης ή εντός 2,5

ωρών από την έναρξη της έγχυσης. Σε περίπτωση που συμβεί μια αντίδραση κατά την έγχυση, αυτή θα πρέπει να διακοπεί ή ο ρυθμός της έγχυσης θα πρέπει να μειωθεί και ο ασθενής να παρακολουθείται μέχρι την λύση όλων των συμπτωμάτων. Τα συμπτώματα μπορούν να αντιμετωπιστούν με αναλγητικά/αντιπυρετικά, ή με ένα αντισταμινικό. Η πλειοψηφία των ασθενών εμφανίζουν ύφεση των συμπτωμάτων και στη συνέχεια μπορούν να λάβουν το Trastuzumab. Οι σοβαρές αντιδράσεις κατά την έγχυση έχουν αντιμετωπιστεί επιτυχώς με υποστηρικτική θεραπεία, όπως οξυγόνο, βήτα-ανταγωνιστές και κορτικοστεροειδή. Σε σπάνιες περιπτώσεις, οι αντιδράσεις αυτές εμφανίζουν βαριά κλινική πορεία με μοιραία κατάληξη.

- *Συμβάματα από τους πνεύμονες*

Έχουν αναφερθεί σοβαρά πνευμονικά συμβάματα με τη χρήση του Trastuzumab. Αυτά έχουν κατά καιρούς θανατηφόρα έκβαση. Επιπλέον, έχουν αναφερθεί περιπτώσεις διάμεσης πνευμονοπάθειας συμπεριλαμβανομένων πνευμονικών διηθήσεων, συνδρόμου οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας, πνευμονίας, πνευμονίτιδας, υπεζωκοτικής συλλογής, αναπνευστικής δυσχέρειας, οξέος πνευμονικού οιδήματος και αναπνευστικής ανεπάρκειας.

Οι παράγοντες κινδύνου που συνδέονται με διάμεση πνευμονοπάθεια περιλαμβάνουν προηγούμενη ή ταυτόχρονη θεραπεία με άλλες αντινεοπλασματικές θεραπείες που είναι γνωστό ότι σχετίζονται με αυτή, όπως οι ταξάνες, Gemcitabine, Vinorelbine και ακτινοθεραπεία. Τα συμβάματα μπορεί να είναι μέρος μίας αντίδρασης σχετιζόμενης με την έγχυση ή να έχουν καθυστερημένη έναρξη. Οι ασθενείς που παρουσιάζουν δύσπνοια κατά την ηρεμία, που οφείλεται σε επιπλοκές της προχωρημένης κακοήθειας και συνοσηρότητες, μπορεί να διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο πνευμονικών συμβαμάτων. Ως εκ τούτου, αυτοί οι ασθενείς δεν θα πρέπει να αντιμετωπίζονται με Trastuzumab. Πρέπει να δίνεται προσοχή στην πνευμονίτιδα, ιδιαίτερα σε ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπεία ταυτόχρονα με ταξάνες.

Οι υπόλοιπες τοξικότητες καταγράφονται αναλυτικά στο παράρτημα Β.3 (Ανδρεάδης, 2017).

Διάρκεια χορήγησης Trastuzumab

Θεραπεία για ένα έτος στις μελέτες BCIRG-006 και NSABP B-31/NCCTG N9831 επιλέχτηκε αυθαίρετα. Άλλες μελέτες εξέτασαν το ερώτημα της χρονικής διάρκειας της χορήγησης trastuzumab. Η χορήγηση για 2 έτη σε σχέση με 1 έτος στη μελέτη HERA δεν

έδειξε βελτίωση στην αποτελεσματικότητα, αλλά παρατηρήθηκαν περισσότερες περιπτώσεις με καρδιακή δυσλειτουργία, αν και η δυσμενής αυτή επίδραση παραμένει σε χαμηλά επίπεδα. Στη μελέτη PHARE οι ασθενείς έλαβαν trastuzumab (N=3384) για 6 ή 12 μήνες (Pivot, Romieu et al, 2013). Μετά από μια μέση παρακολούθηση 3,5 ετών η διετής ελεύθερης νόσου επιβίωση ήταν σε ποσοστό 93.8% και 91.1% στα σκέλη 12 και 6 μηνών χορήγησης. Δεν αποδείχτηκε κατώτερη η 6μηνη χορήγηση, ενώ παρατηρήθηκε σημαντικά μεγαλύτερη εμφάνιση καρδιακών συμβαμάτων στην ομάδα της 12μηνιαίας χορήγησης (5,7% έναντι 1,9%). Αν και φαίνεται ως βέλτιστη η ετήσια διάρκεια χορήγησης, ωστόσο πολλές μελέτες ακολουθούν και παραμένει να διερευνηθεί εάν κάποιες υποομάδες ασθενών (βασιζόμενες στο μέγεθος του όγκου, την απουσία λεμφαδενικής διήθησης και την κατάσταση των ορμονικών υποδοχέων) θα μπορούσαν να έχουν συγκρίσιμη αποτελεσματικότητα με μικρότερης διάρκειας θεραπεία με trastuzumab.

B. Το lapatinib (tyverb) εγκρίθηκε το 2007 και ανήκει σε μια ομάδα φαρμάκων που ονομάζονται αναστολείς πρωτεϊνικής κινάσης. Οι ενώσεις αυτές δρουν αναστέλλοντας ένζυμα, που είναι γνωστά ως πρωτεϊνικές κινάσες, τα οποία εντοπίζονται σε ορισμένους υποδοχείς που υπάρχουν στην επιφάνεια των νεοπλασματικών κυττάρων, συμπεριλαμβανομένου και του HER2 (Goss, Smith et al, 2013, Scaltriti, Verma et al, 2009). Οι ενδείξεις χορήγησής του είναι οι εξής : α. σε συνδυασμό με capecitabine σε ασθενείς με προχωρημένο ή μεταστατικό καρκίνο, οι οποίοι παρουσίασαν επιδείνωση της νόσου μετά από προηγούμενη θεραπεία που περιλάμβανε ανθρακυκλίνες, ταξάνες και trastuzumab (Cameron, Casey, et al, 2008, Geyer, Forster et al, 2006) β. σε συνδυασμό με trastuzumab για προχωρημένο ή μεταστατικό καρκίνο, που δεν είναι ορμονοευαίσθητος (ER- PR-) και επιδεινώθηκε κατόπιν της θεραπείας με συνδυασμό trastuzumab και χημειοθεραπείας (Blackwell, Burstein et al, 2010, Blackwell, Burstein, et al 2012, Piccart-Gebhart, Holmes et al. 2015) γ. σε συνδυασμό με αναστολείς αρωματάσης σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (Kaufman, Mackey et al, 2009, Robidoux, Tang, et al, 2013).

Γ. Το pertuzumab (perjeta) είναι ένα εξανθρωποποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα, το οποίο στοχεύει αποκλειστικά τον υποδοχέα HER2, εμποδίζοντας τον εξαρτώμενο από συνδέτη ετεροδιμερισμό του HER2 με άλλους υποδοχείς της οικογένειας και κυρίως με τον HER3. Λειτουργεί με τρόπο συμπληρωματικό προς το trastuzumab, καθώς τα δύο φάρμακα στοχεύουν διαφορετικές περιοχές του υποδοχέα HER2. Με άλλα λόγια ο

συνδυασμός των δύο αντισωμάτων οδηγεί σε πληρέστερο και αποτελεσματικότερο αποκλεισμό των σηματοδοτικών μονοπατιών των εξαρτώμενων από τον HER2. Στην τυχαίοποιημένη φάσης III μελέτη CLEOPATRA συγκρίθηκε ο συνδυασμός trastuzumab-pertuzumab-docetaxel με το ως τότε standard of care, τον συνδυασμό trastuzumab-docetaxel, στην πρώτη γραμμή της μεταστατικής νόσου (Swain, Baselga et al, 2015). Ο συνδυασμός των δύο αντισωμάτων μαζί με τη χημειοθεραπεία βελτίωσε σημαντικά όχι μόνο την επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου (PFS), που έφτασε συνολικά τους 18,7 μήνες, αλλά και τη συνολική επιβίωση (OS), που έφτασε τους 56.5 μήνες. Το όφελος παρατηρήθηκε τόσο σε προθεραπευμένες όσο και σε μη προθεραπευμένες με trastuzumab ασθενείς, γεγονός που υποδεικνύει ότι οι ανθεκτικοί στο trastuzumab HER2-θετικοί καρκίνοι μαστού μπορεί να εξακολουθούν να εξαρτώνται από τη HER2 σηματοδότηση (Perez, López-Vega et al. 2016, Swain, Baselga et al, 2015). Εξίσου σημαντικό είναι το γεγονός ότι στο σκέλος του συνδυασμού των δύο αντισωμάτων δεν παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη αύξηση της τοξικότητας, ειδικότερα σε ότι αφορούσε την καρδιοτοξικότητα (Swain, Baselga et al, 2015).

Βάσει αυτών των αποτελεσμάτων οι τρέχουσες διεθνείς κατευθυντήριες οδηγίες άλλαξαν και συνιστούν πλέον τη διπλή στόχευση του HER2 υποδοχέα με trastuzumab-pertuzumab σε συνδυασμό με ταξάνη για τη θεραπεία των ασθενών με HER2 θετικό καρκίνο του μαστού, μεταστατικό ή τοπικά υποτροπιάζοντα, που λαμβάνουν πρώτη φορά χημειοθεραπεία για τη μεταστατική τους νόσο ασθενείς συνεχίζουν να το λαμβάνουν και μετά την ολοκλήρωση της χημειοθεραπείας και μέχρι την υποτροπή, συχνά δηλαδή για αρκετούς μήνες (Bachelot, Puglisi et al, 2017, Baselga, Cortés et al, 2012, Smyth, Iyengar et al, 2016).

Το 2013 και το 2015 το pertuzumab πήρε έγκριση, από τον FDA στην Αμερική και τον EMA στην Ευρώπη, για τη χορήγησή του σε συνδυασμό με trastuzumab και χημειοθεραπεία, και στην *προεγχειρητική (neo-adjuvant) θεραπεία του πρώιμου καρκίνου του μαστού* (Schneeweiss, Chia et al, 2013, von Minckwitz, Procter et al, 2017). Οι ασθενείς λαμβάνουν συνήθως 4 κύκλους ανθρακυκλίνη και στη συνέχεια 4 κύκλους ταξάνη μαζί με trastuzumab – pertuzumab, πριν οδηγηθούν στο χειρουργείο. Ο συνδυασμός φάνηκε σε μελέτες (NEOSHERE trial) να αυξάνει σημαντικά τα ποσοστά πλήρους παθολογοανατομικής ύφεσης, γεγονός που πιθανόν συνδέεται με βελτίωση και στην επιβίωση των ασθενών.

Δ. Το trastuzumab emtasine ή T-DM1 (kadcyla) είναι μια νέα μορφή φαρμάκου, που προκύπτει από τη σύζευξη του αντισώματος trastuzumab με τον χημειοθεραπευτικό παράγοντα DM1, μέσω ενός ισχυρού θειοαιθερικού δεσμού. Το φάρμακο συνδέεται στη θέση ακριβώς που συνδέεται και το trastuzumab στο εξωκυττάριο τμήμα του HER2, το σύμπλεγμα εισέρχεται στο κύτταρο, το αντίσωμα αποδομείται, ο χημειοθεραπευτικός παράγοντας απελευθερώνεται μέσα στο κύτταρο και εκδηλώνει τη δράση του εκλεκτικά στα καρκινικά κύτταρα, με ελάχιστη τοξικότητα στους φυσιολογικούς ιστούς (Lo Russo, Weiss et al, 2013).

Στη μελέτη EMILIA το trastuzumab-emtasine (T-DM1) συγκρίθηκε με το συνδυασμό lapatinib - capecitabine σε ασθενείς με μεταστατικό Her2 θετικό καρκίνο μαστού, που είχαν ήδη λάβει θεραπεία για τη μεταστατική τους νόσο ή είχαν γρήγορη υποτροπή μετά τη επικουρική θεραπεία της πρώιμης νόσου. Υπήρξαν στατιστικώς σημαντικά αποτελέσματα και κλινικώς σημαντικές βελτιώσεις με το trastuzumab-emtasine (T-DM1) έναντι του συνδυασμού, τόσο της επιβίωσης χωρίς εξέλιξη της νόσου, όσο και της συνολικής επιβίωσης, καθώς και ευνοϊκότερο προφίλ ασφάλειας με λιγότερες ανεπιθύμητες ενέργειες (Hurvitz, Martin et al, 2016). Το όφελος αυτό επιβεβαιώνεται και από τη μελέτη THERESA, στην οποία συμμετείχαν ασθενείς βαριά προθεραπευμένες, που είχαν δηλαδή λάβει δύο ή περισσότερες γραμμές αντι-HER2 θεραπείας για μεταστατική νόσο (Burriss, Rugo, et al, 2011). Έτσι λοιπόν για τις ασθενείς, των οποίων ο HER2-θετικός καρκίνος του μαστού έχει εξελιχθεί πέρα από την πρώτη γραμμή θεραπείας, οι διεθνείς κατευθυντήριες οδηγίες συνιστούν πλέον τη μονοθεραπεία με T-DM1, που συνεχίζεται έως την επιδείνωση της νόσου (Verma, Miles et al, 2012).

Σε ότι αφορά στο θεραπευτικό αλγόριθμο στο μεταστατικό HER2 θετικό καρκίνο μαστού μετά τη δεύτερη γραμμή, οι διεθνείς κατευθυντήριες οδηγίες συνιστούν τη θεραπεία των ασθενών με trastuzumab emtasine (T-DM1), εάν η ασθενής δεν την είχε λάβει προηγουμένως, ενώ άλλα προτεινόμενα σχήματα περιλαμβάνουν το συνδυασμό lapatinib/capecitabine, trastuzumab/ χημειοθεραπεία, συνδυασμό trastuzumab/lapatinib, αντι-HER2 παράγοντα/ ορμονοθεραπεία και τέλος το συνδυασμό trastuzumab-pertuzumab-ταξάνη σε ασθενείς, που δεν είχαν λάβει τη θεραπεία αυτή νωρίτερα, χωρίς όμως να υπάρχουν ισχυρά δεδομένα για την υπεροχή κάποιας θεραπείας έναντι της άλλης.

Είναι εμφανές λοιπόν ότι, η πρόοδος που έχει γίνει τα τελευταία χρόνια στη θεραπεία της επιθετικής αυτής νόσου είναι θαυμαστική με αποφυγή του θανάτου χιλιάδων γυναικών. Η καλύτερη κατανόηση της βιολογίας της νόσου και των μοριακών μηχανισμών που είναι υπεύθυνοι για την αντίσταση στη στόχευση του HER2, καθώς και η υιοθέτηση νέων θεραπευτικών στρατηγικών, αποτελούν το κλειδί για την αποτελεσματική εξατομικευμένη θεραπεία του HER2 θετικού καρκίνου του μαστού.

3.1.1 Θεραπευτικά σχήματα επικουρικής στοχεύουσας το Her2 θεραπείας του Πρώιμου καρκίνου του μαστού

Εισαγωγικά πολύ συνοπτικά:

ER + ή /και PR+ HER2+ Καρκίνωμα μαστού

N0 ή N1mi

- $T \leq 0,5$ εκ. : Ενδοκρινική θεραπεία μόνο ή Ενδοκρινική θεραπεία + X/Θ + trastuzumab σε Ca χαμηλής διαφοροποίησης και N1mi.
- $T > 0,5$ εκ. : X/Θ+ trastuzumab+ ενδοκρινική θεραπεία
- Θετική μασχαλιαία λεμφαδενική νόσος: X/Θ+trastuzumab+pertuzumab +ενδοκρινική θεραπεία

ER - PR- HER2+ νόσος 2-6, 12-18

-N0 ή N1mi

- $T \leq 1$ εκ. : Συνιστάται επικουρική X/Θ + trastuzumab + pertuzumab.
- $T > 1$ εκ. : Επικουρική X/Θ + trastuzumab + pertuzumab.
- Θετική μασχαλιαία λεμφαδενική νόσος: Επικουρική X/Θ + trastuzumab +pertuzumab.

Αναλυτικότερα:

Το trastuzumab δίνεται σε όλες τις ασθενείς με νεοπλάσματα >1 cm (Piccart-Gebhart, Procter, Leyland-Jones et al, 2005, Jones, Savin, Holmes et al, 2006). Συνιστάται ο

συνδυασμός του με χημειοθεραπεία (X/Θ) βασισμένη σε ανθρακυκλίνη ακολουθούμενη από ταξάνη, με την πρώτη δόση του μονοκλωνικού αντισώματος συγχորηγούμενου με την πρώτη δόση της ταξάνης (Denduluri, Somerfield, Eisen et al, 2016, Slamon, Eiermann, Robert, 2005).

Ασθενείς χαμηλού κινδύνου (όγκοι <1 cm) μπορούν να λάβουν εβδομαδιαία πακλιταξέλη (80 mg/m²) και trastuzumab. Κατά τη συγχορήγησή του με ταξάνη, αναλόγως του χημειοθεραπευτικού σχήματος, το trastuzumab μπορεί να δοθεί σε εβδομαδιαία ή τρισεβδομαδιαία βάση. Στην πρώτη περίπτωση δίνονται ενδοφλέβια (IV) ως δόση φόρτισης 4 mg/kg και κατόπιν εβδομαδιαία 2 mg/kg. Στη δεύτερη περίπτωση δίνονται ενδοφλέβια ως δόση φόρτισης 8 mg/kg και κατόπιν ανά τρεις εβδομάδες (21 ημέρες) 6 mg/kg. Μετά την ολοκλήρωση της χημειοθεραπείας συνεχίζεται η χορήγηση του αντισώματος, ανά τρεις εβδομάδες (Perez, Suman, et al.2011).

Εναλλακτικά, αντί του ενδοφλεβίου σκευάσματος, μπορεί να δοθεί το υποδόριο trastuzumab σε σταθερή δόση 600 mg ανά 3 εβδομάδες.

Σε περίπτωση υψηλού κινδύνου HER2 θετικής νόσου (θετικοί μασχαλιαίοι λεμφαδένες, αρνητικοί ορμονικοί υποδοχείς) προστίθεται στην αγωγή και το pertuzumab (διπλός αποκλεισμός του HER2 υποδοχέα) σε δόση φόρτισης 840 mg και ακολούθως 420 mg ενδοφλέβια, ανά τρεις εβδομάδες.

Εκτός των ήδη προαναφερθέντων σχημάτων μπορεί να δοθεί σε ασθενείς με υπερέκφραση του HER2 η ακόλουθη αγωγή:

TCH :Δοσεταξέλη 75 mg/m², IV , Καρβοπλατίνη AUCX6, IV, Trastuzumab 6 mg/kg, IV (μετά από τη δόση φόρτισης 8 mg/kg) ± pertuzumab 420 mg IV (μετά από δόση φόρτισης 840 mg). Όλα την ημέρα 1, κάθε 21 ημέρες για 6 κύκλους και κατόπιν συνέχιση του HER2 αποκλεισμού μόνο μέχρι συμπλήρωσης θεραπείας ενός έτους (Slamon, Eiermann et al, 2011, von Minckwitz, Procter et al, 2017).

Από όλα τα παραπάνω φαίνεται ότι η επικουρική αντι-HER2 θεραπεία στον πρώιμο καρκίνο του μαστού, προτείνεται να διαρκεί ένα έτος, δεδομένου ότι διάφορες μελέτες με εναλλακτική χρονική διάρκεια (3 ή 6 μήνες, 2 έτη) δεν έδειξαν υπεροχή έναντι του ετήσιου σχήματος ούτε στην επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου (PFS) και τη συνολική επιβίωση, αλλά ούτε σημαντική μείωση των παρενεργειών, ιδιαίτερα των καρδιακών συμβαμάτων

(Cameron, Piccart-Gebhart et al, 2017, Goldhirsch, Gelber et al, 2013, Pivot, Romieu et al, 2013).

3.1.2 Εισαγωγική (neoadjuvant) χημειοθεραπεία στο Ca του μαστού

- Αφορά σε ασθενείς με χειρουργήσιμο καρκίνο μαστού (στάδια ΙΑ, ΙΒ και σε ορισμένες περιπτώσεις ΙΙΑ [T3N1M0], αλλά και Ι κατά την κρίση του θεράποντα) και μη χειρουργήσιμο/τοπικά προχωρημένο καρκίνο (στάδια ΙΙΒ, ΙΙC και σε ορισμένες περιπτώσεις ΙΙΑ). Το μεγαλύτερο όφελος, ως προς τις παθολογοανατομικές ανταποκρίσεις, παρατηρείται στις ασθενείς με HER2+ και σετριπλά αρνητικούς καρκίνους (Gianni, Eiermann et al, 2014).
- Προεγχειρητικά συνιστάται βιοψία της αλλοίωσης με τέμνουσα βελόνη (core biopsy) καθώς και βιοψία ύποπτων μασχαλιαίων λεμφαδένων.
- Τα χημειοθεραπευτικά σχήματα είναι εκείνα της επικουρικής χημειοθεραπείας (Untch, Fasching et al, 2011). Προκρίνονται τα σχήματα βασισμένα σε ανθρακυκλίνη και ακολουθούμενα από ταξάνη.

Σε περίπτωση HER2 θετικής νόσου προστίθεται στην προεγχειρητική χημειοθεραπεία το trastuzumab και το pertuzumab κατά τη διάρκεια της χορήγησης της ταξάνης (Gianni, Pienkowski et al, 2012, Ismael, Hegg et al, 2012) Μετεγχειρητικά οι ασθενείς λαμβάνουν τον διπλό αποκλεισμό για ένα έτος (ανεξαρτήτως χρόνου διενέργειας της χειρουργικής επέμβασης). Όλοι οι κύκλοι δίνονται προεγχειρητικά και εάν για οποιοδήποτε λόγο δεν είχαν δοθεί οι προβλεπόμενοι κύκλοι χημειοθεραπείας, τότε-σε περίπτωση ανταπόκρισης- ολοκληρώνονται μετεγχειρητικά (Gianni, Pienkowski et al, 2016, Gianni, Eiermann et al, 2010).

- Η προσθήκη καρβοπλατίνης στα σχήματα εισαγωγικής χημειοθεραπείας αυξάνει τις πλήρεις παθολογοανατομικές ανταποκρίσεις στις ασθενείς με τριπλά αρνητικούς καρκίνους.

3.1.3 Συστηματική θεραπεία του μεταστατικού HER2 θετικού καρκίνου του μαστού

- Θεραπεία πρώτης γραμμής (μονός αποκλεισμός του HER2)

Με βάση τα ευρήματα της μελέτης CLEOPATRA (Swain, Baselga et al, 2015) ο συνιστώμενος συνδυασμός πρώτης γραμμής είναι εκείνος της *δοσεταξέλης μαζί με διπλό αποκλεισμό του HER2*, όπως περιγράφεται πιο κάτω.

Ωστόσο, όταν κατά την κρίση του θεράποντα αποφασισθεί μονός αποκλεισμός του HER2, τότε συνιστάται η συγχορήγηση του trastuzumab είτε με βινορελμπίνη είτε με ταξάνη στα δοσολογικά σχήματα, τα οποία έχουν ήδη περιγραφεί.

Εναλλακτικά μπορεί να δοθούν σε ασθενείς με ER+ νόσο οι εξής συνδυασμοί:

- Trastuzumab και αναστολέας αρωματάσης (Kaufman, Mackey , Clemens, 2009)

Trastuzumab 4 mg/kg δόση φόρτισης και ακολούθως 2 mg/kg, IV εβδομαδιαία

Αναστολέας αρωματάσης στην εγκεκριμένη δοσολογία, από του στόματος (PO),

συνεχώς

- Lapatinib και αναστολέας αρωματάσης (Johnston, Pippen Jr et al, 2009)

Lapatinib 1500 mg, από του στόματος, ημερησίως εφ' άπαξ, συνεχώς

Αναστολέας αρωματάσης στην εγκεκριμένη δοσολογία, από του στόματος, συνεχώς (Rugo, Rumble et al , 2016).

- Θεραπεία πρώτης γραμμής (διπλός αποκλεισμός του HER2)

- Δοσεταξέλη + trastuzumab + pertuzumab

Δοσεταξέλη 75-100 mg/m², IV

Trastuzumab 8 mg/kg δόση φόρτισης και ακολούθως 6 mg/kg, IV

Pertuzumab 840 mg/kg δόση φόρτισης και ακολούθως 420 mg/kg, IV

Όλα την ημέρα 1 σε κύκλους των 21 ημερών.

Δεδομένα μελετών υποδεικνύουν επίσης τη δραστικότητα του διπλού αποκλεισμού του HER2, όταν συνδυάζεται και με άλλους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες, όπως η πακλιταξέλη, η βινορελμπίνη και η καπεσιταμπίνη, αλλά τα σχήματα αυτά δεν είναι εγκεκριμένα.

- Θεραπεία δεύτερης γραμμής

T-DM1

Trastuzumab-emtansine 3,6 mg/kg, IV Κάθε 21 ημέρες

Ο παράγοντας ενδείκνυται επίσης σε πρόοδο νόσου κατά τη διάρκεια της επικουρικής θεραπείας ή σε διάστημα <6 μηνών από την ολοκλήρωσή της (Verma, Miles et al, 2012).

- Θεραπεία τρίτης και πλέον γραμμής

- Trastuzumab σε συνδυασμό με διάφορους X/Θ παράγοντες, όπως οι ταξάνες (εάν δεν είχαν δοθεί στην πρώτη γραμμή), η βινορελμπίνη (εάν δεν είχε δοθεί στην πρώτη γραμμή), η καπεσιταμπίνη, η γεμισιταμπίνη, η εριμπουλίνη, η λιποσωμική δοξορουμπικίνη, τα πλατινούχα ανάλογα κ.ά.

- Lapatinib και trastuzumab (Blackwell, Burstein et al, 2012)

Lapatinib 1000 mg, από του στόματος, ημερησίως εφ' άπαξ

Trastuzumab 4 mg/kg δόση φόρτισης και ακολούθως 2 mg/kg εβδομαδιαία, IV

- Lapatinib και καπεσιταμπίνη (Cameron, Casey et al, 2008)

Lapatinib 1250 mg, PO, ημερησίως εφ' άπαξ, συνεχώς

Καπεσιταμπίνη 2000 mg/m², PO, ημερησίως σε δύο διαιρεμένες δόσεις, τις ημέρες 1-14 Σε κύκλους των 21 ημερών (Cardoso, Costa et al, 2017, Rugo, Rumble et al. 2016).

Εκ των ανωτέρω είναι εμφανής η επιτακτική ανάγκη για τον προσδιορισμό της κατάστασης του Her-2 γονιδίου με τις πλέον ακριβείς και αξιόπιστες μεθόδους, τηρώντας αυστηρά τους κανόνες σε όλες τις φάσεις της διαδικασίας από τη μονιμοποίηση του βιοπτικού υλικού έως και τη μικροσκοπική εξέταση (Επιστημονική ομάδα εργασίας νεοπλασιών μαστού, Γενική Γραμματεία Υπουργείου Υγείας, 2019).

Κεφάλαιο 4

Δαπάνες αντι-Her2 θεραπείας

4.1 Δαπάνες Υγείας

Η οικονομική της υγείας αποτελεί σχετικά νέο επιστημονικό κλάδο, ο οποίος εστιάζει στον τρόπο κατανομής των υγειονομικών πόρων στις διάφορες παροχές αλλά και στον τρόπο παραγωγής τους. Τα προβλήματα (η χρηματοδότηση, η παροχή και η απόδοση των υπηρεσιών υγείας) που προέκυψαν τα τελευταία τριάντα χρόνια σε όλες τις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης και του Οργανισμού Οικονομικής Συνεργασίας και Ανάπτυξης (ΟΟΣΑ) οφείλονται κυρίως στις αλλαγές του ευρύτερου πολιτικοοικονομικού περιβάλλοντος. Επιπλέον και πολλοί άλλοι παράγοντες επηρεάζουν την αύξηση της ζήτησης των υπηρεσιών υγείας με επακόλουθη και την αύξηση των δαπανών, όπως το επιδημιολογικό προφίλ (αύξηση των χρόνιων νοσημάτων, γήρανση του πληθυσμού), οι σύγχρονες θεραπευτικές τεχνολογίες, οι αυξανόμενες προσδοκίες των ανθρώπων για ποιοτικές υπηρεσίες, η παγκοσμιοποίηση καθώς και οι πολιτικές και ιδεολογικές μετατοπίσεις. Έχουν τεθεί θέματα ίσης πρόσβασης στις υγειονομικές υπηρεσίες, τρόπου χρηματοδότησης, αποτελεσματικότητας και οικονομικής αποδοτικότητας των συστημάτων υγείας (Κυριόπουλος, Οικονόμου et al, 1999).

Η μελέτη της οικονομικής αποδοτικότητας των υγειονομικών συστημάτων κρίνεται απαραίτητη για τη χάραξη πολιτικών υγείας που θα έχουν ως στόχο τη το μέγιστο υγειονομικό όφελος του πληθυσμού με το μικρότερο δυνατό κίνδυνο και το χαμηλότερο δυνατό κόστος, δεδομένων των μειωμένων πόρων.

Οι δαπάνες υγείας περιλαμβάνουν κάθε τύπο δαπάνης, η οποία αποσκοπεί στη βελτίωση ή στη σταθεροποίηση της κατάστασης της υγείας ενός ατόμου και διακρίνονται σε τρεις ομάδες:

- Ιατρικές δαπάνες: μισθοί των γιατρών, κόστος μεταφοράς ασθενών, τις δαπάνες θεραπευτικών σχημάτων π.χ. φυσιοθεραπείες.
- Νοσοκομειακές δαπάνες: έξοδα νοσηλείας, αναλώσιμων, δαπάνες φαρμάκων, ιατρικών εξετάσεων κ.λ.π.
- Φαρμακευτικές δαπάνες: δαπάνες για φάρμακα, ορθοπεδικά και για οπτικά.

4.2 Προσδιορισμός του κόστους

Βασική αρχή της οικονομικής αξιολόγησης για τον προσδιορισμό του κόστους μιας θεραπευτικής παρέμβασης είναι ότι η έννοια του κόστους δεν αποτελεί απλά τη χρηματική αξία των πόρων που δαπανήθηκαν για την παραγωγή της, αλλά και αυτών που χάθηκαν και θα μπορούσαν να είχαν αξιοποιηθεί σε μια εναλλακτική επιλογή (κόστος ευκαιρίας) (Αθανασάκης, 2012, Riewpraiboon, 2014). Για τον υπολογισμό του κόστους λαμβάνονται υπόψη πολλοί παράγοντες όπως το κόστος για την παραγωγή της θεραπευτικής παρέμβασης αλλά και το συνολικό κόστος που σχετίζεται με την παροχή ιατρικών υπηρεσιών και προγραμμάτων υγειονομικής περίθαλψης (π.χ. ιατροφαρμακευτική περίθαλψη, οι διαγνωστικές εξετάσεις, η πρόληψη ασθενειών και τα μέτρα ελέγχου τους). Επιπλέον, στον υπολογισμό του κόστους συμπεριλαμβάνονται έξοδα σχετικά με τους κινδύνους για την υγεία που μπορεί να προκληθούν (Riewpraiboon, 2014).

Το κόστος υπολογίζεται πάντα σε χρηματικές μονάδες και διακρίνεται σε άμεσο (ιατρικό και μη ιατρικό), έμμεσο ή «αόρατο».

α) Άμεσο ιατρικό κόστος : Το άμεσο ιατρικό κόστος περιλαμβάνει όλα τα κόστη της ιατροφαρμακευτικής περίθαλψης για την αντιμετώπιση της ασθένειας καθώς και των λειτουργικών εξόδων, που συνδέονται με τις υπηρεσίες υγείας [Αθανασάκης, 2012, Κυριόπουλος και Γείτονας, 2007)

β) Άμεσο μη ιατρικό κόστος: Στο άμεσο μη ιατρικό κόστος περιλαμβάνονται δαπάνες του ασθενή και του οικογενειακού του περιβάλλοντος (έξοδα μεταφοράς του ασθενούς, έξοδα της κατ' οίκον φροντίδας). Αν και το άμεσο μη ιατρικό κόστος δεν είναι αμελητέο, η πλειοψηφία των μελετών οικονομικής αξιολόγησης λαμβάνει υπόψη μόνο το άμεσο ιατρικό κόστος (Riewpraiboon, 2014, Κυριόπουλος και Γείτονας, 2007).

γ) Έμμεσο κόστος :

Πρόκειται για έσοδα που χάθηκαν λόγω απώλειας παραγωγικότητας (productivity loss) του ασθενή κατά τη διάρκεια της ασθένειάς του.

δ)«Αόρατο» κόστος : Αναφέρεται και ως «κρυμμένο» κόστος, σπάνια υπολογίζεται κατά την οικονομική αξιολόγηση μιας θεραπευτικής παρέμβασης και σχετίζεται με την υποβάθμιση της ποιότητας ζωής του ασθενούς, η οποία δεν είναι εύκολο να εκτιμηθεί αντικειμενικά, ώστε να τους αποδοθεί κάποια συγκεκριμένη αξία (Κυριόπουλος και Γείτονας, 2007). Το άθροισμα του άμεσου κόστους (ιατρικού και μη ιατρικού), του έμμεσου κόστους και του «αόρατου» κόστους ισούται με το *συνολικό κοινωνικό κόστος* που προκαλεί η νόσηση από μια ασθένεια ή η εφαρμογή μιας συγκεκριμένης θεραπευτικής παρέμβασης (Κυριόπουλος και Γείτονας, 2007).

Το γράφημα 1 αναπαριστά την κατηγοριοποίηση των μελετών οικονομικής αξιολόγησης μετά από ανασκόπηση της βιβλιογραφίας από τον Συμεωνίδη το 2018 με βάση τη μεθοδολογία προσδιορισμού του συνολικού κόστους των θεραπευτικών παρεμβάσεων.



Γράφημα 1: Γραφική απεικόνιση της κατηγοριοποίησης των μελετών οικονομικής αξιολόγησης με βάση τη μεθοδολογία προσδιορισμού του συνολικού κόστους των θεραπευτικών παρεμβάσεων.

4.3 Προσδιορισμός της αποτελεσματικότητας

Σε αντίθεση με τη μεθοδολογία προσδιορισμού του κόστους, που στις περισσότερες περιπτώσεις είναι η ίδια, η εκτίμηση της αποτελεσματικότητας των θεραπευτικών

παρεμβάσεων μπορεί να γίνει με τέσσερις διαφορετικούς μεθόδους αξιολόγησης: α) οι μελέτες ελαχιστοποίησης κόστους (cost-minimization analysis), β) οι μελέτες κόστους-αποτελεσματικότητας (cost-effectiveness analysis), γ) οι μελέτες κόστους-χρησιμότητας (cost-utility analysis) και δ) οι μελέτες κόστους-οφέλους (cost-benefit analysis) (McFarland,2014). Στις μελέτες ελαχιστοποίησης κόστους το αποτέλεσμα των θεραπευτικών παρεμβάσεων εκτιμάται σε χρηματικές μονάδες.

Αντίθετα, στις μελέτες κόστους αποτελεσματικότητα και κόστους-χρησιμότητας το αποτέλεσμα των θεραπευτικών παρεμβάσεων μετράται σε «φυσικές» μονάδες και σε ποιοτικές σταθμισμένες μονάδες, αντίστοιχα (δείκτης οριακού κόστους-αποτελεσματικότητας/Incremental cost-effectiveness ratio, ICER και δείκτης οριακού κόστους-χρησιμότητας/Incremental cost- utility ratio, ICUR) (Αθανασάκης, 2012, McFarland, 2014).

α) Μελέτη ελαχιστοποίησης κόστους (cost-minimization analysis)

Η μελέτη ελαχιστοποίησης κόστους αποτελεί την πιο απλή μέθοδο οικονομικής αξιολόγησης, αλλά ταυτόχρονα και τη λιγότερο χρησιμοποιούμενη. Βασική προϋπόθεση για την εφαρμογή της, είναι οι συγκρινόμενες θεραπευτικές παρεμβάσεις να έχουν το ίδιο υγειονομικό αποτέλεσμα, έτσι ώστε η σύγκριση να περιοριστεί μόνο στο κόστος. Πρακτικά αυτό δεν είναι εύκολο, καθότι στη θεραπευτική δεν συναντάται συχνά ίδιο θεραπευτικό αποτέλεσμα. Τέλος, μια απλή σύγκριση κόστους μεταξύ δύο εναλλακτικών δεν είναι πάντα χρήσιμη, καθώς χρειάζεται να μελετηθεί και η αποτελεσματικότητα προκειμένου να υιοθετηθεί από το εθνικό σύστημα υγείας. (Αθανασάκης, 2012, McFarland, 2014)

β) Μελέτη κόστους-αποτελεσματικότητας (cost-effectiveness analysis)

Οι μελέτες κόστους-αποτελεσματικότητας είναι ιδιαίτερα χρήσιμες, καθώς συγκρίνουν διαφορετικές θεραπευτικές παρεμβάσεις που στοχεύουν σε ίδια ή παρόμοια κλινικά αποτελέσματα. Συνήθως, προτιμώνται «φυσικές μονάδες», όπως τα κερδισμένα έτη ζωής (Life Years gained/GLYs), τα ποσοστά θνητότητας, οι μέρες ελεύθερες συμπτωμάτων κ.α., ενώ το συνολικό κόστος εκφράζεται σε χρηματικές μονάδες. (Αθανασάκης, 2012, McFarland, 2014 ,)

Η τελική μέτρηση γίνεται μέσω του δείκτη οριακού κόστους-αποτελεσματικότητας (Incremental cost-effectiveness ratio, ICER). Ουσιαστικά, Η επιλογή μιας νέας θεραπευτικής παρέμβασης καθορίζεται τόσο από το χαμηλότερο οικονομικό κόστος, όσο και από τη βέλτιστη αποτελεσματικότητα.

γ) Μελέτη κόστους-χρησιμότητας (cost-utility analysis)

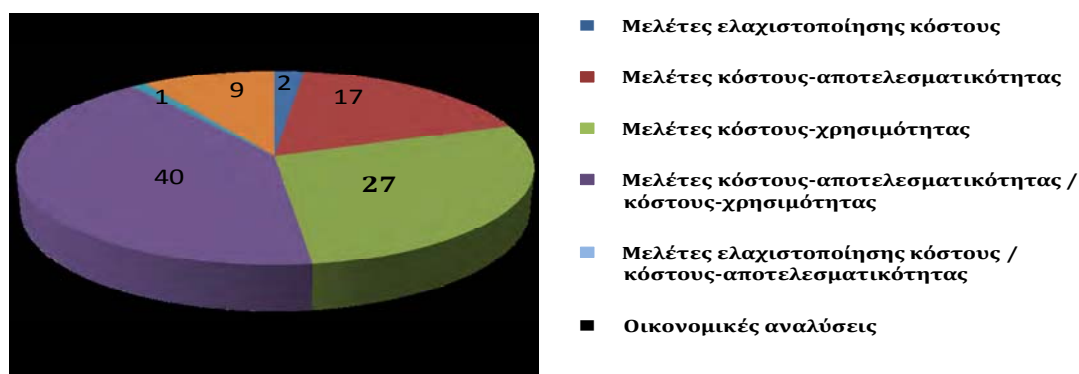
Θεωρείται ως η καταλληλότερη μέθοδος οικονομικής αξιολόγησης και ως υποκατηγορία της μελέτης κόστους-αποτελεσματικότητας, από την οποία ωστόσο διαφοροποιείται καθώς δεν στηρίζεται στην απλή καταγραφή της επιμήκυνσης, αλλά και στην εκτίμηση της ποιότητας της ζωής. (Αθανασάκης, 2012, McFarland, 2014). Τα κόστη μετρώνται σε χρηματικές μονάδες, ενώ το υγειονομικό αποτέλεσμα σε ποιοτικώς σταθμισμένες μονάδες αποτελεσματικότητας, συνήθως ποιοτικώς σταθμισμένα έτη ζωής (quality-adjusted life years, QALYs). Η τελική μέτρηση γίνεται μέσω του δείκτη οριακού κόστους-χρησιμότητας (Incremental cost-Utility ratio, ICUR). Το ανώτατο όριο χρηματικού ποσού που διατίθεται η κοινωνία να δαπανήσει για κάθε ποιοτικώς σταθμισμένο έτος ζωής (ποσό/QALY) αποτελεί θέμα συζήτησης μεταξύ των οικονομικών επιστημόνων (Αθανασάκης, 2012, McFarland, 2014, Palmer, Byford et al, 1999).

δ) Μελέτη κόστους-οφέλους (cost-benefit analysis)

Οι μελέτες κόστους-οφέλους στηρίζονται στη σύγκριση του ποσού των χρημάτων που δαπανώνται για την εφαρμογή μιας θεραπευτικής παρέμβασης με το σύνολο του ποσού των χρημάτων που κερδίζονται από την εφαρμογή της. Τα αποτελέσματα, όσο και τα κόστη εφαρμογής της θεραπευτικής παρέμβασης εκφράζονται σε χρηματικές μονάδες, γεγονός που αποτελεί για κάποιους βασικό μειονέκτημα (μέτρηση κοινωνικού οφέλους με οικονομικές μονάδες), ενώ για άλλους πλεονέκτημα λόγω της ευκολίας κατανόησης των αποτελεσμάτων, όταν αυτά εκφράζονται σε χρηματικές μονάδες (Αθανασάκης, 2012).

Ο Συμεωνίδης (2018) μετά από ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας (γράφημα 2) αναφέρει ότι μέρος των δημοσιεύσεων αποτελούν οι απλές οικονομικές αναλύσεις, στις οποίες αξιολογούνται οι θεραπευτικές παρεμβάσεις λαμβάνοντας υπόψη μόνον το συνολικό οικονομικό κόστος κάθε παρέμβασης.

ΕΙΔΟΣ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗΣ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ



Γράφημα 2: Γραφική απεικόνιση της κατηγοριοποίησης των μελετών οικονομικής αξιολόγησης με βάση τη μεθοδολογία προσδιορισμού της αποτελεσματικότητας των νέων παρεμβάσεων

Από τη συστηματική ανασκόπηση της ίδιας μελέτης προέκυψε ένα ακόμα σημαντικό εύρημα όσον αφορά τις ασθένειες και τη χρήση των γενετικών τεστ. Πιο συγκεκριμένα, η ένταξη γενετικών ή γονιδιωματικών τεστ στη θεραπευτική μπορεί να στοχεύει είτε στο σχεδιασμό μιας περισσότερο αποτελεσματικής ή/και ασφαλούς θεραπευτικής παρέμβασης, είτε στην εκτίμηση της πρόγνωσης μιας ασθένειας ή/και της πιθανότητας εκδήλωσής της. Στην πρώτη περίπτωση παρέχεται η δυνατότητα στους κλινικούς ιατρούς να σχεδιάσουν εξατομικευμένη θεραπεία για τον ασθενή, με βάση το γενετικό του προφίλ, για την επίτευξη της βέλτιστης δυνατής αποτελεσματικότητας. Παράλληλα αξιοποιούνται γενετικές πληροφορίες, βάσει των οποίων μπορεί να προβλεφθεί, και συνεπώς να αποτραπεί, η εκδήλωση ανεπιθύμητων ενεργειών από τη χορήγηση κλασικής φαρμακευτικής αγωγής.

Δεδομένου ότι τα επίπεδα χρηματοδότησης για τον τομέα της δημόσιας υγείας συνεχώς μειώνονται, σε αντίθεση με τις κοινωνικές ανάγκες που συνεχώς αυξάνονται, οι νέες εξατομικευμένες παρεμβάσεις βασιζόμενες σε γενετικά τεστ πρέπει να αξιολογηθούν τόσο ως προς την αποτελεσματικότητά τους όσο και ως προς το συνολικό τους κόστος. Η οικονομική αξιολόγηση, πριν τη λήψη απόφασης σχετικά με την υιοθέτηση και αποζημίωση των

νέων παρεμβάσεων, εξασφαλίζει την ορθή κατανομή των πόρων με στόχο το βέλτιστο όφελος για τους ασθενείς και τη διατήρηση της βιωσιμότητας των εθνικών συστημάτων υγείας.

4.4 Δαπάνες στοχεύουσας αντι-HER2 θεραπείας του πρώιμου καρκίνου του μαστού

Στην περίπτωση του καρκίνου του μαστού η στοχεύουσα θεραπεία και ιδιαίτερα με τραστουζουμάμπη, η οποία αποτελεί εκλεκτικό για τον HER-2 υποδοχέα μονοκλωνικό αντίσωμα, σύμφωνα με τις οδηγίες του Οργανισμού ελέγχου τροφίμων και φαρμάκων (FDA) της Αμερικής, πριν από τη χορήγηση του φαρμάκου, η/ο ασθενής πρέπει να υποβληθεί σε γενετικό τεστ για την εξακρίβωση της υπερέκφρασης του συγκεκριμένου υποδοχέα. Τέτοια τεστ έχουν αναπτυχθεί από πολλές εταιρείες και αποζημιώνονται από μια πληθώρα φορέων ασφάλισης, όπως το πρόγραμμα Medicare, το Medicaid, το Blue Cross. Επιπλέον, αποζημιώνονται από το πρόγραμμα NICE του Ηνωμένου Βασιλείου (Meckley & Neumann, 2010). Στην Ελλάδα σχετικά πρόσφατα αποζημιώνεται πλέον από τον ΕΟΠΥΥ (2014).

Οι συνολικές δαπάνες για τη στοχεύουσα το HER2 θεραπεία του καρκίνου του μαστού αφορούν σε δαπάνες για την νεοεπικουρική (πριν από το χειρουργείο) και κυρίως την επικουρική/συμπληρωματική (Adjuvant)) θεραπεία του πρώιμου καρκίνου και σε δαπάνες για τον μεταστατικό καρκίνο του μαστού, στον οποίο άλλωστε εφαρμόστηκε το 1998, για πρώτη φορά η στοχεύουσα θεραπεία με το μονόκλωνο αντίσωμα- Trastuzumab (Slamon, Leyland-Jone et al, 2001).

Από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας φαίνεται να έχουν γίνει αρκετές οικονομικές μελέτες αξιολόγησης της αποτελεσματικότητας της στοχεύουσας θεραπείας στον πρώιμο καρκίνο του μαστού, κυρίως με τραστουζουμάμπη, αλλά και με άλλους στοχευτικούς παράγοντες που ήδη περιγράφηκαν. Η πλειονότητα τους είναι μελέτες κόστους-χρησιμότητας (κόστη σε χρηματικές μονάδες και κλινικό αποτέλεσμα σε ποιοτικώς σταθμισμένες μονάδες αποτελεσματικότητας, συνήθως ποιοτικώς σταθμισμένα έτη ζωής-quality-adjusted life years, QALYs) με σκοπό την υιοθέτηση ή όχι της συγκεκριμένης στοχεύουσας θεραπείας από τα Εθνικά Συστήματα Υγείας των διαφόρων χωρών. Η εκτίμηση της θεραπείας αυτής ως οικονομικά αποδοτικής ή μη, εξαρτάται κυρίως από τα μεγέθη των εθνικών οικονομιών και από τα οφέλη και τις επιβαρύνσεις που αναμένεται να προκύψουν. Έτσι από δημοσιευμένες αναλύσεις κόστους-αποτελεσματικότητας της θεραπευτικής παρέμβασης με Trastuzumab για

ένα έτος στον HER2 θετικό πρώιμο καρκίνο του μαστού σε κάποιες χώρες φαίνεται η στρατηγική αυτή να είναι αποδοτική, όπως στην Αυστραλία, στον Καναδά, στο Ηνωμένο Βασίλειο και στις ΗΠΑ, (Garrison, Lubeck et al, 2007, Diaby, Adunlin, et al. 2016, Hall, Hulme et al, 2011, Macedo, Monteiro et al, 2010, Millar & Millward, 2007) καθώς επίσης στην Κύπρο και στις Κάτω χώρες, με πραγματική ανάλυση (Ioannou, Marcou et al, 2020, Seferina, Ramaeker et al, 2017). Αντίθετα, σε χώρες με χαμηλό Ακαθάριστο Εθνικό Προϊόν (ΑΕΠ) φαίνεται να μην είναι αποδοτική όπως στην Ινδία, Φιλιππίνες και στις χώρες της Υποσαχάριας περιοχής (Genuino, Chaikledkaew et al, 2019, Gupta, Verna et al, 2020, Hisham, Shafie et al, 2020).

Στη συγκεκριμένη μελέτη θα διερευνηθεί εάν η ακριβής και αξιόπιστη εκτίμηση του παράγοντα HER2 (με δύο δοκιμασίες-ανοσοστοχημική και συμπληρωματικά με dual in situ υβριδισμό) έχει οικονομικές συνέπειες στον ΕΟΠΥΥ, χωρίς να επεκτείνεται στο κλινικό όφελος των ασθενών. Για τον σκοπό αυτό θα γίνει απλή οικονομική ανάλυση της αντι-HER2 θεραπείας των πιθανών ψευδώς HER2 θετικών περιπτώσεων του πρώιμου καρκίνου του μαστού, χωρίς αξιολόγηση της κλινικής αποτελεσματικότητας.

Στην εκτίμηση του κόστους θα ληφθούν υπόψη μόνο τα άμεσα κόστη, αυτά δηλαδή που επιβαρύνουν το Εθνικό Σύστημα Υγείας (ΕΣΥ) για τις παροχές υγείας. Επομένως, η μελέτη θα διεξαχθεί από την σκοπιά του αγοραστή υπηρεσιών υγείας. Με γνώμονα τις δημόσιες δομές και τις κρατικές τιμές αποζημίωσης, δεν θα συμπεριληφθούν δαπάνες για ιατρικές πράξεις σε ιδιωτικές δομές και παροχές (π.χ η οξυγονοθεραπεία επί δύσπνοιας), οι οποίες αποζημιώνονται από τον Εθνικό Οργανισμό Παροχής Υπηρεσιών Υγείας (ΕΟΠΥΥ). Αυτό δεν σημαίνει βέβαια πως τα κόστη που επιβαρύνουν τους ασθενείς ή τις οικογένειές τους είναι αμελητέα.

Με τον όρο άμεσο κόστος, όπως περιγράφηκε παραπάνω, εννοούμε το κόστος των πόρων που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία όπως τα μηχανήματα, οι διαγνωστικές εξετάσεις, τα αναλυσίμα φάρμακα, η μισθοδοσία του προσωπικού. Το άμεσο κόστος χωρίζεται σε δυο υποκατηγορίες στο σταθερό και το μεταβλητό κόστος. Το σταθερό κόστος θεωρείται το κόστος που δεν αλλάζει ανάλογα με τον αριθμό των κύκλων παρακολούθησης, ενώ το μεταβλητό κόστος εξαρτάται από τον αριθμό των πραγματοποιημένων επισκέψεων.

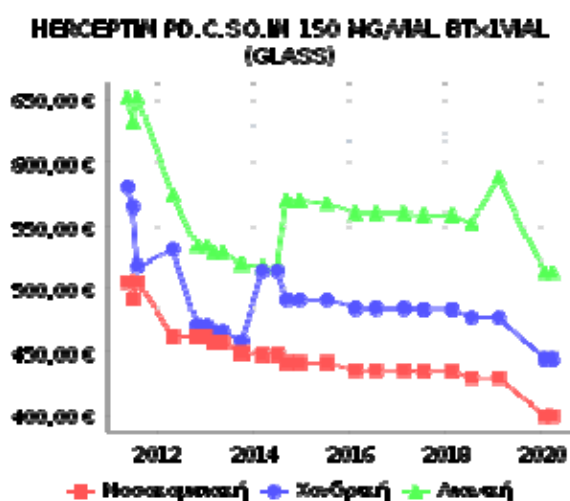
Ταυτόχρονα ζητήθηκε και η γνώμη ειδικού ογκολόγου ιατρού για το θεραπευτικό σχήμα για τις συγκεκριμένες ψευδώς HER2 θετικές περιπτώσεις. Βασική μελέτη ενδιαφέροντος

αποτελέσει η οικονομική μελέτη των Garrison jr και συν. (2015), όσον αφορά το κόστος των ψευδώς θετικών και αρνητικών περιπτώσεων πρώιμου καρκίνου του μαστού. Η μελέτη αυτή χρησιμοποίησε ένα Μαρκοβιανό μοντέλο (HPIA) για εκτίμηση της επίδρασης της εσφαλμένης ταξινόμησης των όγκων του μαστού στο κόστος της υγειονομικής περίθαλψης και στα ποιοτικά σταθμισμένα χρόνια ζωής του ασθενούς (QALYs) ήτοι στο ατομικό και συνολικό κλινικό και οικονομικό κόστος της ανακρίβειας του HER2 τεστ, κατά τη διάρκεια ζωής της κοόρτης ασθενών του έτους 2012, στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής (ΗΠΑ) με πρώιμο καρκίνωμα του μαστού.

Στο κόστος θεραπείας περιλαμβάνεται το κόστος απόκτησης των φαρμάκων με μέγεθος συσκευασίας/φιαλιδίου ανά δόση, σύμφωνα με όσα περιγράφονται στο κεφάλαιο της θεραπείας. Το μοναδιαίο κόστος όλων των φαρμάκων σύγκρισης προέρχεται από το site 'Γαληνός Οδηγός Φαρμάκων' με βάση το δελτίο τιμών φαρμάκων ανθρώπινης χρήσης του Υπουργείου Υγείας & Κοινωνικής Αλληλεγγύης μετά τις τελευταίες διορθώσεις στις 22.11.2018.

Σημειώνεται ότι τα μοναδιαία κόστη των φαρμάκων και των εξετάσεων στην παρούσα μελέτη αναφέρονται σε νοσοκομειακές τιμές, οι οποίες είναι αρκετά χαμηλότερες από τις αντίστοιχες λιανικές τους τιμές (πίνακας 9).

Πίνακας 9



Πηγή: www.galinos.gr

Οι θεραπείες χορηγούνται ενδοφλέβια, υποδόρια ή από το στόματος και σύμφωνα με το SPC των φαρμάκων.

Η δοσολογία του ενδοφλέβιου σκευάσματος Trastuzumab και των περισσοτέρων φαρμάκων που χορηγήθηκαν στην μελέτη αυτή υπολογίστηκαν με βάση την επιφάνεια σώματος (BSA). Δεδομένου ότι δεν υπάρχουν στοιχεία σχετικά με την τυπική κατανομή του βάρους και του ύψους των γυναικών με καρκίνο του μαστού άμεσα διαθέσιμα για την Ελλάδα, για τον υπολογισμό της δόσης όλων των φαρμάκων της μελέτης, χρησιμοποιήθηκε ο μέσος όρος επιφάνειας σώματος (BSA) 1,74m² από τη μελέτη EMBRACE (Αναγνωστοπούλου, 2018). Επιπλέον κατά τη διάρκεια της

Αναλυτικά τα κόστη της στοχεύουσας αντι-HER2 θεραπείας (κόστος ανοσοενισχυτικής θεραπείας, κόστος θεραπείας ανεπιθύμητων ενεργειών, κόστος ιατρικών εξετάσεων και ιατρικών επισκέψεων) για τις πιθανές FP περιπτώσεις θα περιγραφούν στο ειδικό μέρος

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 5

Ανίχνευση Her2 με τη μέθοδο D-ISH

5.1 Εισαγωγή

Ο HER2 παράγοντας υπερεκφράζεται σε περίπου 18-30% των καρκινωμάτων του μαστού. Η υπερέκφραση αυτή οφείλεται κυρίως σε επαύξηση του HER2 γονιδίου με επακόλουθο οι ασθενείς με HER2-θετικό καρκίνο του μαστού, να έχουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης συχνών υποτροπών, μεταστάσεων και μειωμένη συνολική επιβίωση.

Είναι εμφανές ότι, η πρόοδος που έχει γίνει τα τελευταία χρόνια στη θεραπεία του καρκίνου του μαστού (μονοκλωνικά αντισώματα που στοχεύουν τον HER2 παράγοντα), της επιθετικής αυτής νόσου είναι θεαματική. Παρόλα αυτά η νόσος συνεχίζει να είναι η δεύτερη αιτία θανάτου από καρκίνο στις γυναίκες και παράλληλα παραμένει πρώτος σε συχνότητα καρκίνος στις γυναίκες, παγκοσμίως 1.7 εκατομμύρια ετησίως νέες περιπτώσεις, περίπου 7.000 στην Ελλάδα με 113 περιπτώσεις /100 χιλιάδες γυναίκες (Patsea, Kaklamanis et al, 2018).

Επίσης, από πολλές μελέτες προκύπτει ότι, για τη βέλτιστη αντιμετώπιση του καρκίνου του μαστού, υπάρχει επιτακτική ανάγκη εκτίμησης της κατάστασης του HER2 γονιδίου στους ασθενείς με καρκίνωμα του μαστού με τις πλέον αξιόπιστες μεθόδους ανίχνευσης (Garrison, Lubeck et al, 2007, Lee, Shaheen et al, 2012, Ellis & Romond 2016, Wolff, Hammond et al, 2018).

Οι περισσότερες μέθοδοι ανιχνεύουν πρωτεΐνη ή μετρούν DNA όπως η ανοσοϊστοχημική (IHC) εκτίμηση και τεχνικές του ISH (*FISH, BRISH/SISH-DISH*) για την αναγνώριση επαύξησης του γονιδίου .

Οι περιορισμοί της εξέτασης HER2 μπορούν να οδηγήσουν σε ψευδώς θετικά (False positive/FP) και ψευδώς αρνητικά (False negative/FN) αποτελέσματα.

Σκοπός της συγκεκριμένης ερευνητικής μελέτης είναι να διερευνηθούν οι οικονομικές συνέπειες για τον ΕΟΠΥΥ από τον περιορισμό των άσκοπων θεραπειών και την αποφυγή των τοξικών ανεπιθύμητων παρενεργειών, της στοχεύουσας αντι-HER2 θεραπείας αυτών των ψευδώς θετικών περιπτώσεων πρώιμου καρκίνου του μαστού με επακόλουθη τη μείωση της θνησιμότητας, όπως στην περίπτωση του trastuzumab και την προκαλούμενη από αυτό καρδιοτοξικότητα.

Η συνιστώμενη προκαθορισμένη χρονική διάρκεια της θεραπείας για τον πρώιμο καρκίνο του μαστού-το standart of care - είναι το ένα έτος (Cameron, Piccart-Gebhart et al, 2017)(Herceptin; Roche, Basel, Switzerland), όπως ήδη προαναφέρθηκε.

Στη μελέτη θα χρησιμοποιηθούν περιπτώσεις καρκινώματος του μαστού HER2 θετικού (HER2 3+) ανοσοϊστοχημικά, στις οποίες θα διενεργηθεί επιπρόσθετα η μέθοδος του Dual - in situ hybridization (D-ISH) για την ανίχνευση των αντιγράφων του HER2 γονιδίου, με τη χρήση δύο ιχνηθετών (dual probes): ενός ιχνηθέτη έναντι του γονιδίου HER2 και ενός δεύτερου έναντι της κεντρομεριδιακής περιοχής του χρωμοσώματος 17 (CEP17), το οποίο φέρει το γονίδιο HER2. Η τεχνική αυτή επιτρέπει τον καθορισμό του λόγου HER2/CEP17 ενώ γίνεται και καταγραφή των γονιδιακών αντιγράφων του HER2 (Lim, Lim et al, 2016, Wolff, Hammond et al, 2013). Από την σύγκριση των αποτελεσμάτων των δύο μεθόδων θα διερευνηθεί η πιθανότητα HER2 ψευδώς θετικών περιπτώσεων με αποτέλεσμα την πιθανή επίδραση στις οικονομικές δαπάνες του ΕΟΠΥΥ.

5.2 Υλικό-Μέθοδοι

Μελετήθηκαν 50 περιπτώσεις πρώιμου καρκινώματος του μαστού με τη μέθοδο Dual-In Situ Hybridization-DISH) για τον προσδιορισμό της κατάστασης της ενίσχυσης του HER2 γονιδίου, οι οποίες ήταν ανοσοϊστοχημικά θετικές (3+) για την έκφραση της πρωτεΐνης του HER2 γονιδίου, σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες των ASCO/CAP, 2013, στις οποίες το όριο του ποσοστού των θετικών καρκινικών κυττάρων επανήλθε στο 10% σε σχέση με το αντίστοιχο ποσοστό >30% στις οδηγίες των ASCO/CAP, 2007.

Οι περιπτώσεις αυτές αφορούσαν σε 50 γυναίκες (διάμεσης ηλικίας 59 ετών) από το Αρχείο του Παθολογοανατομικού τμήματος του Α.Ν.Θ. «Θεαγένειο», 42 με διηθητικά καρκινώματα των πόρων του μαστού NST, 2 βλενωδία, 4 λοβιακά καρκινώματα καθώς και 1

μεταπλαστικό και 1 θηλώδες καρκίνωμα, τα οποία διαγνώστηκαν σε χειρουργικό παρασκεύασμα τμηματεκτομής του μαστού.

Η μέθοδος DISH, όπως και παραπάνω αναφέρθηκε, αποτελεί τεχνική του in situ υβριδισμού εξέλιξη του in situ υβριδισμού με μεταλλογραφικό άργυρο (Silver-enhanced in situ hybridization-SISH), που περιλαμβάνεται στις τεχνικές φωτεινού πεδίου (bright-field BRISH), για την ανίχνευση αντιγράφων του HER2/neu γονιδίου στο καρκίνωμα του μαστού.

Η μέθοδος διενεργείται σε ιστολογικές τομές από υλικό μονιμοποιημένο σε φορμόλη 10% για 48-72 ώρες και εγκλεισμένο σε παραφίνη, από τον ίδιο κύβο παραφίνης, στον οποίο είχε προηγηθεί η ανοσοϊστοχημική τεχνική για την εκτίμηση της πρωτεϊνικής υπερέκφρασης και αξιολογήθηκαν ως θετικά (3+) (χρησιμοποιηθέν αντίσωμα CB11, Ventana). Χρησιμοποιείται το αυτόματο μηχάνημα Ventana BenchMark ULTRA (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland).

Όλα τα στάδια διενεργούνται αυτόματα στο μηχάνημα αυτό από την αρχή έως το τέλος της διαδικασίας. Η αξιολόγηση της εξέτασης έγινε σύμφωνα με την αναθεωρημένη έκδοση αξιολόγησης του HER2 στο καρκίνωμα του μαστού από ASCO/CAP τον Ιούνιο 2018 (Wolff, Hammond et al, 2018), ήτοι κατάταξη σε 5 ομάδες (ομάδα 1: Θετικό για επαύξηση του HER2 έως ομάδα 5: Αρνητικό για επαύξηση του HER2. Οι ομάδες 2,3,4 θα αναλυθούν στα αποτελέσματα, δεδομένου ότι απαιτούν πρόσθετη εργασία για την τελική τους κατάταξη ως θετικές ή αρνητικές για επαύξηση των αντιγράφων του HER2 γονιδίου (πίνακες 5α, 5β, 5γ).

5.2.1 Αναλυτική περιγραφή της τεχνικής Dual-SISH για την ενίσχυση του HER2 γονιδίου στον καρκίνο του μαστού

Είναι μία πλήρως αυτοματοποιημένη μέθοδος ISH φωτεινού πεδίου για την σύγχρονη αποκάλυψη των HER2 και CEP17 σημάτων στην ίδια ιστολογική τομή (σε ένα πλακίδιο) από κύβο παραφίνης καρκινώματος του μαστού. Η τεχνική αυτή συνδυάζει την αποκάλυψη των αντιγράφων του HER2 γονιδίου μέσω εναπόθεσης μεταλλογραφικού αργύρου στην αντίδραση, όπως στο μονοχρωματικό SISH, με οπτικοποίηση των αντιγράφων του CEP17 με κόκκινο αντιδραστήριο, όπως στην CISH δοκιμασία. Όλη η διαδικασία διενεργείται με έγκριση του Αμερικάνικου Οργανισμού τροφίμων και φαρμάκων-FDA (INFORM HER2 Dual ISH DNA probe cocktail assay, Ventana Medical Systems) χρησιμοποιώντας το αυτόματο μηχάνημα χρώσης της εταιρείας Ventana.

Μετά την προετοιμασία του αντιγόνου, DNP σημασμένος HER2 ιχνηθέτης εφαρμόζεται στο πλακίδιο. Ο HER2 ιχνηθέτης γίνεται ορατός με ένα αντι-DNP αντίσωμα κουνελιού, ακολουθούμενο από ένα HRP σημασμένο γονίδιο έναντι του αντισώματος κουνελιού. Το ERP ένζυμο ενισχύεται με άργυρο. Τα HER2 σήματα αναγνωρίζονται ως διακριτά μαύρα σήματα στον πυρήνα. Ακολούθως DNA σημασμένος CEP17 ιχνηθέτης εφαρμόζεται στο πλακίδιο. Ο CEP17 ιχνηθέτης γίνεται ορατός με επώαση με ένα αντι-DNP αντίσωμα κουνελιού, ακολουθούμενο από ένα AP-σημασμένο γονίδιο έναντι του αντισώματος κουνελιού. Το AP ένζυμο τελικά αναδεικνύεται με ένα γρήγορο κόκκινο αντιδραστήριο. Τα CEP17 σήματα γίνονται ορατά ως κόκκινες κουκίδες μέσα στον πυρήνα. Είναι ελαφρώς μεγαλύτερα σε σχέση με τα HER2 μαύρα σήματα. Στη συνέχεια γίνεται αντίχρωση των τομών με αιματοξυλίνη. Όπως στο FISH και SISH η κατάσταση της ενίσχυσης του HER2 γονιδίου στο B-DISH προσδιορίζεται ως ο λόγος HER2/CEP17, καθώς και από το μέσο όρο των Her2 σημάτων/ανά πυρήνα του καρκινικού κυττάρου, όπως συστήνεται από τις οδηγίες ASCO/CAP, 2018. (Grogan, Mc Elhinny et al, 2010 - Παράρτημα σχήμα I).

Πλεονεκτήματα της B-DISH τεχνικής:

- επιτρέπει τη σύγχρονη ανίχνευση και των δύο στόχων HER2 και CEP17 στο ίδιο πλακίδιο. Αυτό είναι πολύ σχετικό, ειδικά για τις περιπτώσεις που παρουσιάζουν μονοσωμία του CEP 17 ή ενδοογκική ετερογένεια.
- Η διαδικασία της δοκιμής είναι πλήρως αυτοματοποιημένη και ως εκ τούτου εμφανίζει αυξημένη αναπαραγωγικότητα, καθώς ο κίνδυνος των ανθρωπίνων λαθών μειώνεται.
- Σε αναλογία με τη SISH τεχνική, τα HER2 σήματα είναι ορατά ως διακριτές μαύρες κουκίδες, οι οποίες είναι ιδιαίτερα εύκολο να μετρηθούν. Καθώς τα σήματα HER2 και CEP17 διαφέρουν στο χρώμα και στο μέγεθος, μπορούν να διακριθούν μεταξύ τους, ακόμη και όταν αθροίζονται στον πυρήνα του κυττάρου.
- καθώς η τεχνική είναι πλήρως αυτοματοποιημένη, τα αποτελέσματα είναι διαθέσιμα μέσα σε 6 ώρες.
- Ομοίως, όπως και με τις άλλες τεχνικές ISH φωτεινού πεδίου, η ανίχνευση της ενίσχυσης του HER2 εξετάζεται με κοινό μικροσκόπιο σε επίπεδο της μορφολογίας.
- Επίσης τα πλακίδια μπορούν να διατηρηθούν μόνιμα στο αρχείο, καθώς τα σήματα δεν εξασθενούν με την πάροδο του χρόν

5.3 Αποτελέσματα

Τα αποτελέσματα καταγράφονται συνοπτικά στους πίνακες 10Α και 10Β.

Πίνακας 10 Α: Κλινικοπαθολογικά γνωρίσματα περιπτώσεων πρόιμου καρκινώματος μαστού

Α/α	ΗΛ	T	N	GR	ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ CA	ER	PR	Ki67 %	Her2- DISH	HER2: CEP17	HER2 M.O
1	73	2,8	1/8	3	NST πόρων	65	0	70	1	8	16
2	81	0,9	5/5	3	Θηλώδες Ca	380	390	18	1	4,2	8,4
3	73	1,6	¼	3	NST πόρων	320	40	50	1	3,4	6,8
4	58	4,8	7/13	3	NST πόρων	0	0	30	1	3	6
5	47	1,5	3/9	2	NST πόρων	0	0	55	1	2,8	5,6
6	83	2,2	0/9	3	NST πόρων	265	0	70	1	6	12
7	62	1,8	3/12	3	NST πόρων	280	160	30	5	1,5	3
8	68	2	2/8	3	NST πόρων	0	0	60	1	2,5	5
9	56	1,5	3/5	3	NST πόρων	95	0	35	1	4,8	9,6
10	49	4	2/4	2	NST πόρων	245	0	8	1	2,2	4,4
11	64	1,7	0/7	2	NST πόρων	0	0	40	1	2,6	5,2
12	63	2,3	0 (Φ)	3	NST πόρων	0	0	60	1	7,2	14,4
13	77	1,5	1/6	2	Βλενώδες Ca	380	300	8	1	3,2	6,8
14	58	2,5	4/13	3	NST πόρων	390	0	70	1	5,6	11,2
15	49	2,2	1/9	3	NST πόρων	355	365	40	4	1,8	4
16	41	1,1	0/5	3	NST πόρων	300	130	65	1	7	14
17	83	3,8	0(Φ)	3	Μεταπλαστικό	0	0	90	1	8,2	16,4
18	78	4,6	0/9	3	NST πόρων	140	0	60	1	6,5	13
19	53	1,6	0/7	3	NST πόρων	0	0	70	1	9,8	19,6
20	56	1,4	0/4	2	NST πόρων	290	0	18	5	1,6	3,2
21	54	0,6	0/16	2	NST πόρων	380	0	22	1	4,6	9,2
22	56	2,5	0/14	3	NST πόρων	0	0	80	1	10	20
23	64	2	0(Φ)	3	NST πόρων	120	0	60	1	7,7	14,4
24	66	1,5	0(Φ)	3	NST πόρων	300	18	65	1	9,9	19,8
25	87	1,8	0/5	2	Λοβιακό Ca	360	90	15	1	6,8	13,6

Πίνακας 10 Β: Κλινικοπαθολογικά γνωρίσματα περιπτώσεων πρώιμου καρκινώματος μαστού

Α/α	ΗΛ	T	N	GR	ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ	ER	PR	Ki67	HER2- DISH	HER2: CEP17	HER2/ M.O
26	61	2,5	0	3	NST πόρων	0	0	55	1	5	10
27	55	0,8	0	2	NST πόρων	0	0	20	1	2	4
28	50	3	1/9	3	NST πόρων-	280	35	25	1	4,2	8,4
29	66	1	0/3	2	NST πόρων	340	100	20	1	2,1	4,2
30	48	1,3	0	2	NST πόρων	280	140	15	5	1,4	2,8
31	73	3	13/14	3	Βλεννώδες	0	0	55	1	2,9	5,8
32	65	1,3	0/4	2	NST πόρων	260	120	25	1	2,3	4,6
33	55	1.8	0/3	3	Λοβιακό Ca	20	0	30	2	2	3,8
34	62	2	0/5	3	NST πόρων	140	0	50	1	6	12
35	52	2,2	0/6	2	NST πόρων	130	110	30	3	1,8	6
36	44	1,8	1/6	3	NST πόρων	0	0	70	1	7,7	14,4
37	50	2,2	0/3	2	NST πόρων	260	0	25	1	3,8	7,4
39	42	2.8	1/7	3	NST πόρων	0	0	75	1	8,1	16,2
40	53	1.7	0/3	2	NST πόρων	240	160	22	1	4,2	8,4
41	58	2.1	0/2	2	Λοβιακό Ca	180	120	25	1	3,2	6,4
42	60	2	¼	3	NST πόρων	360	0	30	1	10,2	20,4
43	66	2,4	4/13	3	NST πόρων	360	0	35	5	1,8	3,6
44	48	1,7	0/5	2	NST πόρων	240	120	18	2	2,1	3,8
45	54	2,2	2/8	3	NST πόρων	0	0	70	1	4	8
46	64	2,3	1/8	2	NST πόρων	240	110	25	1	4,5	9
47	71	1,9	0/6	2	NST πόρων	320	180	30	1	3,8	7,6
48	49	1,8	0/5	2	Λοβιακό Ca	340	0	22	1	2,5	5
49	67	2,4	1/9	3	NST πόρων	0	0	65	1	8,8	17,6
50	61	2,3	1/6	3	NST πόρων	0	0	55	1	10	20

T: Tumor, N:Node, GR: Grade, ER, PR: Οιστρογονικοί, Προγεστερονικοί υποδοχείς

Πίνακας 11: Ασυμφωνία περιπτώσεων HER2 IHC και D-ISH

A/a	μέγεθος	grade	LN	Ιστολογικός τύπος	ER score	PR	HER2 DISH	Ki- 67
1.	1,8	3	-	Λοβιακό Ca	+	-	2	30
2.	1.8	3	3+/12	NST πόρων	+	+	5	30
3.	1,7	2	-	NST πόρων	+	+	2	18
4.	1.4	2	-	NST πόρων	+	-	5	18
5.	2,2	2	-	NST πόρων	+	+	3	30
6.	1.3	2	-	NST πόρων	+	+	5	15
7.	2,4	3	4+/13	NST πόρων	+	-	5	35
8.	2,2	3	1+/9	NST πόρων	+	+	4	40

Πίνακας 12: Αποτελέσματα Dual-ISH περιπτώσεων ΠΚ Μαστού HER2 +3 - IHC

Dual-ISH	Ομάδα 1	Ομάδα 2	Ομάδα 3	Ομάδα 4	Ομάδα 5
HER2: CEP17	≥2	≥2	<2	<2	<2
HER2 σήματα	≥4	<4	≥ 6	≥ 4 και 6	<4
IHC 3+	42 θετικά	2	1	1	4 αρνητικά
IHC 3+	42 θετικά	2 Θετικά	1 θετικό	1 θετικό	
Σύνολο	46 θετικά				4 αρνητικά

Από τους πίνακες 10.A και 10.B φαίνεται ότι στην πλειονότητά τους (42 περιπτώσεις) αφορούσαν σε ασθενείς με διηθητικά καρκίνωμα των πόρων του μαστού, μη ειδικού τύπου (no special type-NST), ενώ οι υπόλοιπες οκτώ (8) περιπτώσεις αφορούσαν ασθενείς με λοβιακό καρκίνωμα (4 περιπτώσεις), βλεννώδες καρκίνωμα (2 περιπτώσεις), μεταπλαστικό και θηλώδες καρκίνωμα από μία περίπτωση. Τα 29 καρκινώματα ήταν ιστολογικού βαθμού κακοήθειας κατηγορίας 3 και τα υπόλοιπα 21 κατηγορίας 2 με ή χωρίς λεμφαδενικές μεταστάσεις σε 22 και 28 περιπτώσεις αντίστοιχα. Επίσης όσον αφορά στην κατάσταση των ορμονικών υποδοχέων 18 περιπτώσεις είχαν θετικούς οιστρογονικούς και προγεστερονικούς υποδοχείς, 15 είχαν μόνον θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς, ενώ οι υπόλοιπες 17 περιπτώσεις ήταν καρκινώματα αρνητικά και στα δύο είδη των υποδοχέων.

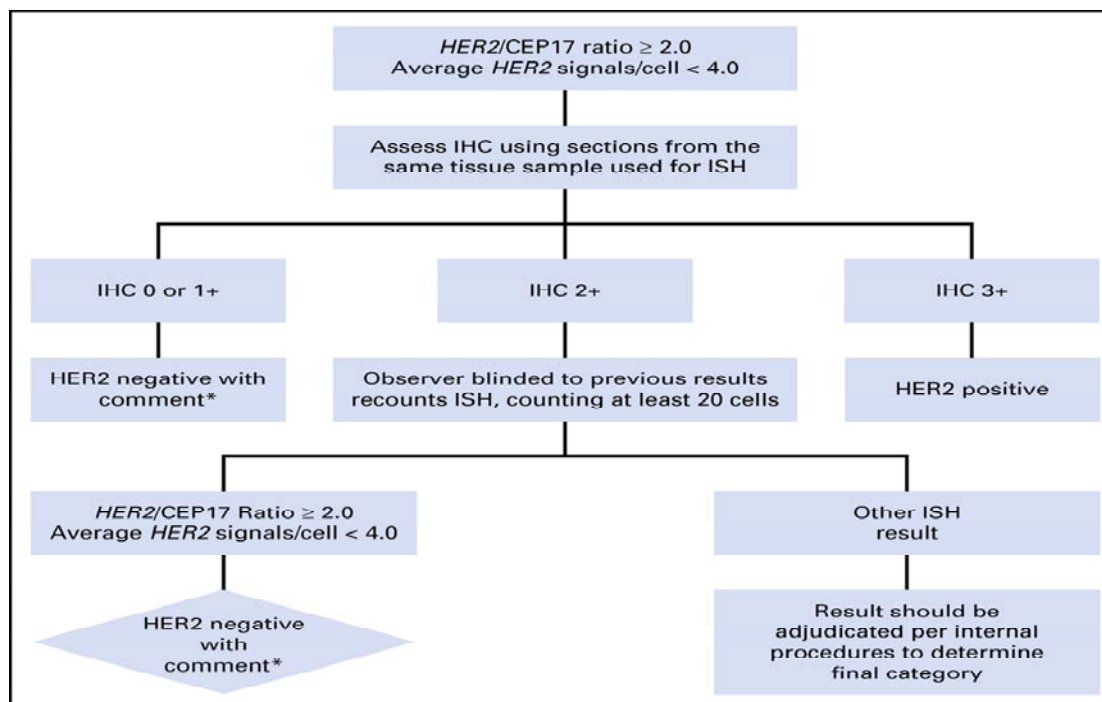
Τέσσερα από τα 50 διηθητικά καρκινώματα του μαστού ταξινομήθηκαν στην ομάδα 5 της εξέτασης HER2 με τη μέθοδο DISH δηλ. είναι αρνητικά για ενίσχυση του γονιδίου ήτοι σε ποσοστό 8% των περιπτώσεων παρατηρήθηκε ασυμφωνία των δύο μεθόδων δηλ. της ανοσοϊστοχημικής μεθόδου και της τεχνικής του Dual- in situ υβριδισμού (DISH). Ιστολογικά και τα 4 ήταν διηθητικά καρκινώματα του μαστού, μη ειδικού τύπου, θετικά στους οιστρογονικούς υποδοχείς, 2 από αυτά αρνητικά στους προγεστερονικούς υποδοχείς με δείκτη κυτταρικού πληθυσμού από 15%-35%. Επίσης 2/4 είχαν λεμφαδενικές μεταστάσεις.

Σημειώνεται ότι η αρχική IHC δοκιμασία σε 2/4 είχε γίνει σε τοπικό εργαστήριο, ενώ οι υπόλοιπες δύο στο Παθολογοανατομικό τμήμα του Α.Ν.Θ. «ΘΕΑΓΕΝΕΙΟ», κεντρικό

εργαστήριο, όπου διενεργείται πολύ μεγάλος αριθμός HER2 εξετάσεων με τακτικό εξωτερικό ποιοτικό έλεγχο από τον UK NEQUAS.

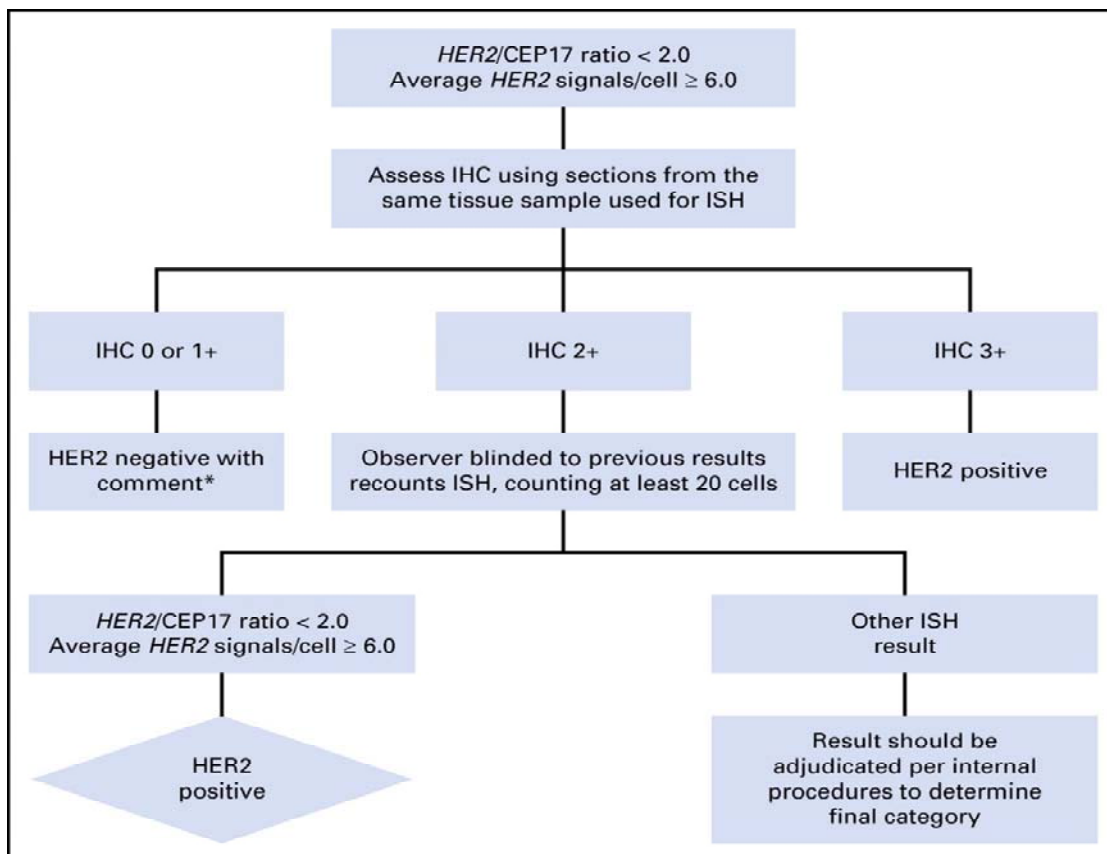
Επιπρόσθετα άλλες 4/50 περιπτώσεις καρκινώματος ταξινομήθηκαν ως εξής: Δύο περιπτώσεις στην ομάδα 2, μία περίπτωση στην ομάδα 3 και η τέταρτη στην ομάδα 4, σύμφωνα με τις διεθνείς οδηγίες των ASCO/CAP, 2018 (γράφημα 3). Τα αποτελέσματα αυτά συνδυαζόμενα με εκείνα της ανοσοϊστοχημείας, δεδομένου ότι όλες οι περιπτώσεις ήταν HER2 +3 αξιολογήθηκαν ως θετικά δηλ. στην ομάδα 1, σύμφωνα με τις παρακάτω οδηγίες. (Πίνακες 5α. 5β. 5γ, γράφημα 4).

Πίνακας 5α: Αλγόριθμος για τη διαχείριση της ομάδας 2 του HER2/D-ISH



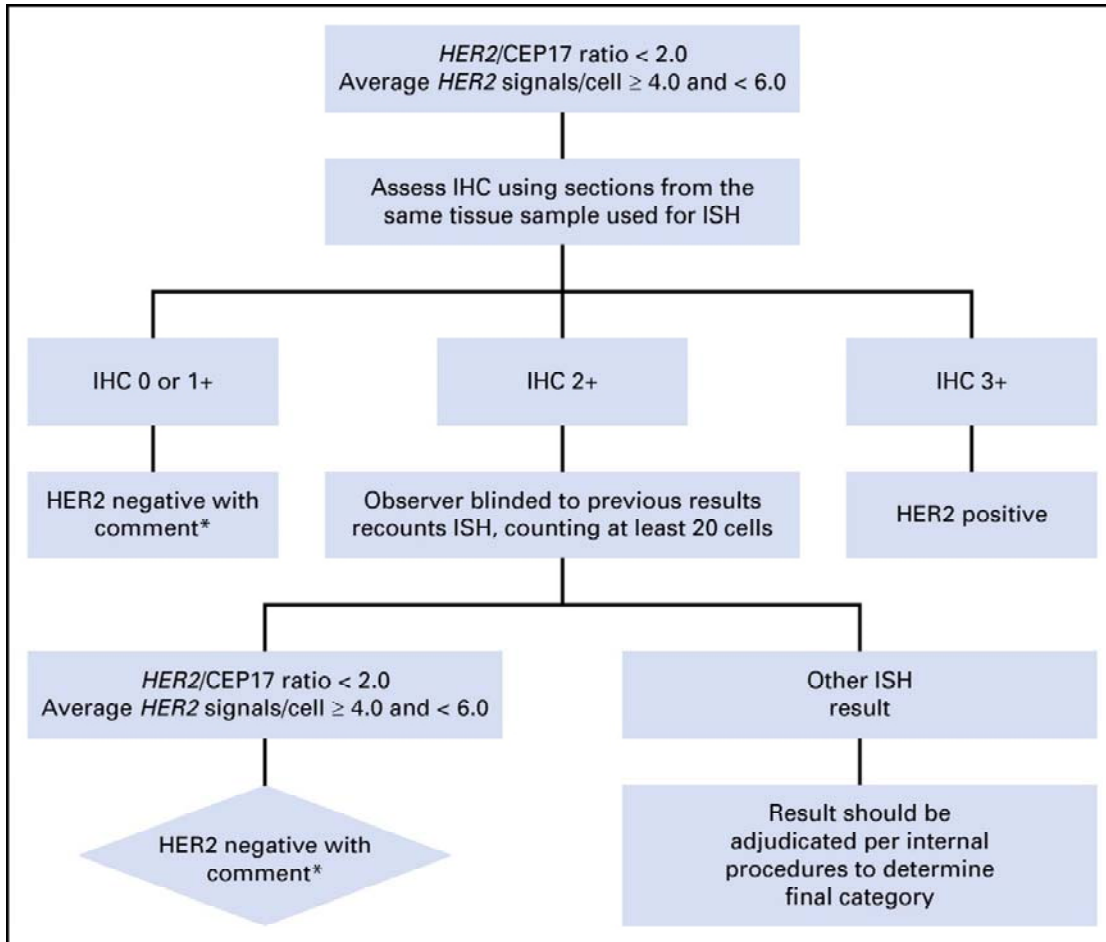
Πηγή: ASCO/CAP, guidelines for Her2 Testing. Wolff, Hammond et al, 2018

Πίνακας 5β: Αλγόριθμος για τη διαχείριση της ομάδας 3 του HER2/D-ISH



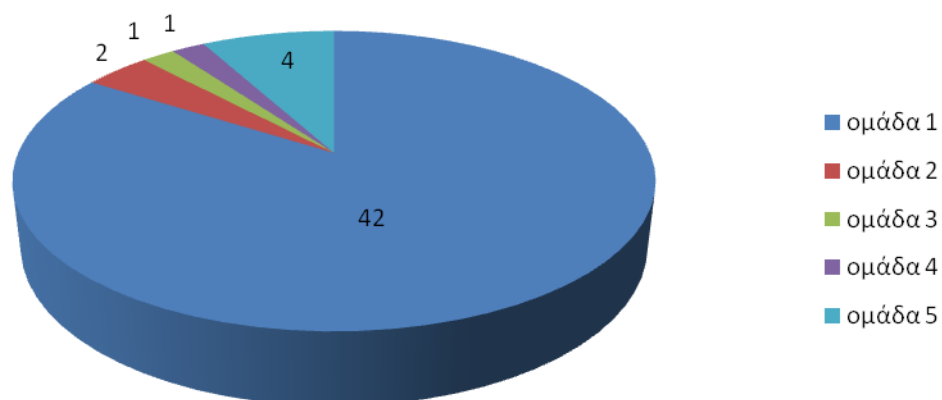
Πηγή: ASCO/CAP, guidelines for Her2 Testing. Wolff, Hammond et al, 2018

Πίνακας 5γ: Αλγόριθμος για τη διαχείριση της ομάδας 4 του HER2/D-ISH



Πηγή: ASCO/CAP, guidelines for Her2 Testing. Wolff, Hammond et al, 2018

Ενίσχυση του HER2 γονιδίου στον πρώιμο καρκίνο του μαστού



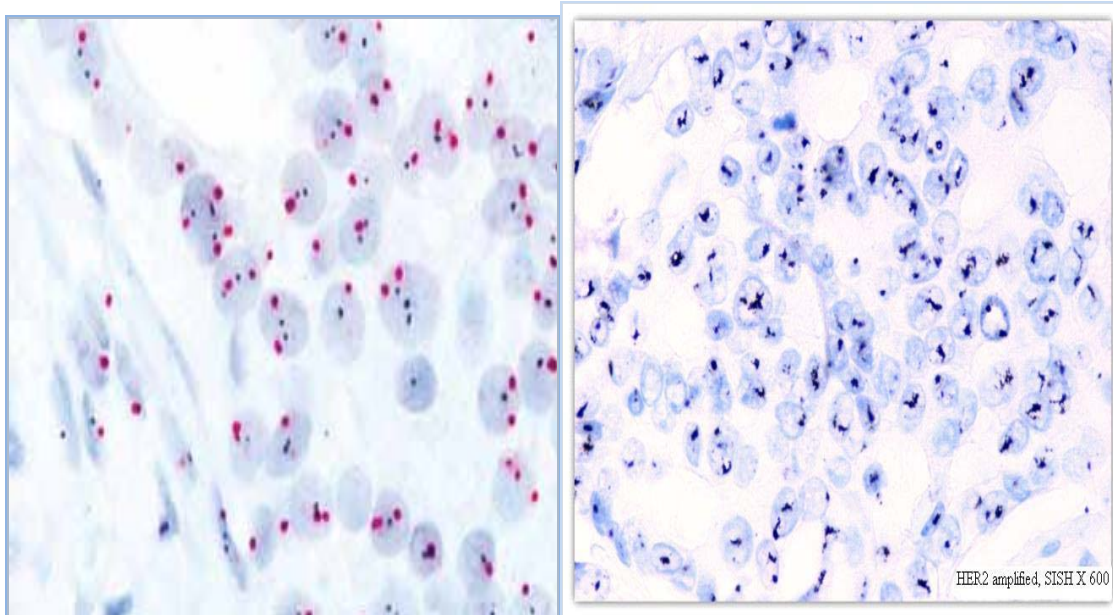
Γράφημα 3: Κατάταξη των αποτελεσμάτων της εξέτασης DISH για την ενίσχυση του γονιδίου HER2 στον ΠΚΜ του μαστού, σύμφωνα με τις οδηγίες των ASCO/CAP, 2018

Τα υπόλοιπα 42/50 καρκινώματα διαγνώστηκαν ως ομάδα 1 ήτοι θετικά για ενίσχυση του γονιδίου HER2 με τη μέθοδο DISH. Σε αυτές τις περιπτώσεις υπήρξε συμφωνία των αποτελεσμάτων των δύο μεθόδων (IHC και DISH) σε ποσοστό 84%. Ωστόσο αν προστεθούν και οι τέσσερις περιπτώσεις των ομάδων 2, 3, 4 σύμφωνα με την αξιολόγηση του DISH, τα οποία συνδυαζόμενα με IHC (3+), παραμένουν θετικές, προκύπτει συμφωνία των δύο μεθόδων σε 46/50 περιπτώσεις ήτοι σε ποσοστό 92% των περιπτώσεων πρώιμου καρκινώματος του μαστού. Το υπόλοιπο 8% αποτελεί το ποσοστό των ανοσοϊστοχημικά ψευδώς θετικών περιπτώσεων καρκινώματος του μαστού δηλαδή αυτών που δεν εμφανίζουν ενίσχυση του γονιδίου HER2 (Γράφημα 4 - εικόνα 4, εικόνα 5).

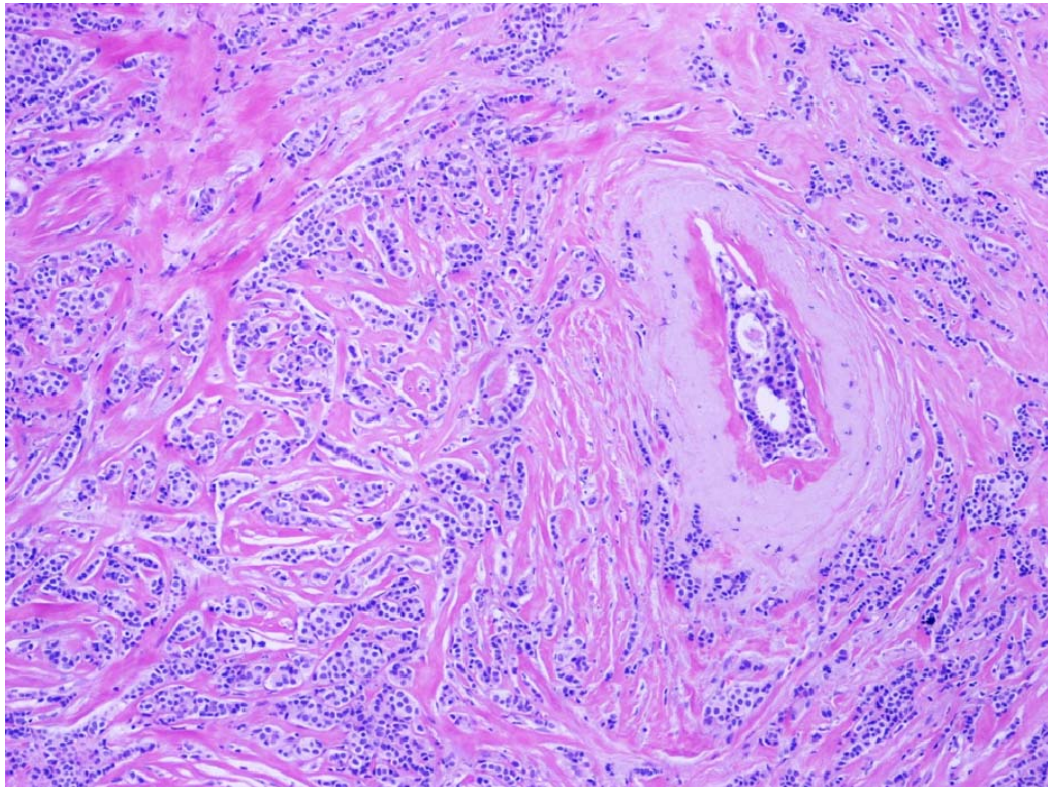
Ενίσχυση Her2 γονιδίου-DISH



Γράφημα 4: Κατάταξη των αποτελεσμάτων της εξέτασης D-ISH για την ενίσχυση του γονιδίου HER2 στον ΠΚΜ (θετικά και αρνητικά για ενίσχυση)-Σύμφωνα με οδηγίες ASCO/CAP, 2018



Εικόνα 4: D-ISH εξέταση για ανίχνευση των αντιγράφων του HER2 γονιδίου



Διηθητικό καρκίνωμα των πόρων του μαστού (χρώση AEX100)

Εικόνα 5: Ιστολογική τομή καρκινώματος των πόρων του μαστού

Σύμφωνα με την μελέτη των Garrison et al (2015) τα αποτελέσματα των ψευδώς θετικών (FP) για το HER2 γονίδιο περιπτώσεων διηθητικού καρκινώματος του μαστού οδηγούν σε στοχεύουσα HER2 θεραπεία με μικρή πιθανότητα οφέλους, με αποτέλεσμα αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ανεπιθύμητων ενεργειών που προκύπτουν από τη θεραπεία και πρόσθετο κόστος θεραπείας για τον ασθενή, τον πάροχο,

ή / και την κοινωνία. Επίσης τα αποτελέσματα των ψευδώς αρνητικών (FN) περιπτώσεων υποτίθεται ότι θα εξοικονομούσαν χρήματα από το μονοκλωνικό αντίσωμα trastuzumab ή άλλο, αλλά η απώλεια των ποιοτικά σταθμισμένων χρόνων ζωής-QALYs και ο μεγαλύτερος κίνδυνος επανεμφάνισης της νόσου (υποτροπή- μετάσταση) αυξάνει το σχετικό κόστος της υγειονομικής περίθαλψης.

Το κόστος των FP και FN περιπτώσεων στην ίδια μελέτη περιέλαβε το κόστος:

- των δοκιμασιών της ανοσοϊστοχημείας και του IHC Dual-ISH,

- της χημειοθεραπείας

- του trastuzumab

- θεραπείας καρδιοτοξικότητας που σχετίζεται με το trastuzumab και

-το επιπρόσθετο κόστος υποτροπής της νόσου για ασθενείς με όγκους εσφαλμένα ταξινομημένους ως αρνητικούς.

Το μέσο πρόσθετο κόστος των FP περιπτώσεων υπολογίστηκε ως το άθροισμα - του κόστους του Trastuzumab (τρέχον κόστος φαρμάκου, κόστος χορήγησης, το κόστος εκτίμησης του κλάσματος εξώθησης της αριστερής κοιλίας και το κόστος της ιατρικής παρακολούθησης)

- του κόστους ελέγχου και

- του κόστους πρόσθετης θεραπείας της καρδιοτοξικότητας, που σχετίζεται με το trastuzumab.

Από τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής προέκυψε ότι οι ψευδώς θετικές και οι ψευδώς αρνητικές περιπτώσεις πρώιμου διηθητικού καρκινώματος του μαστού για ενίσχυση του HER2 γονιδίου ήταν σε ποσοστό 3,12% και 2,18%, αντίστοιχα, ετησίως (έτος αναφοράς το 2012/ΗΠΑ). Η εσφαλμένη ταξινόμηση και η μη βέλτιστη θεραπεία σε 12.025 περίπου ασθενείς με πρώιμο καρκίνωμα του μαστού ετησίως στις ΗΠΑ συνετέλεσαν σε συνολική οικονομική απώλεια περίπου 1 δισεκατομμυρίου δολαρίων. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι απαιτούνται ακόμη περισσότερες βελτιώσεις στην ακρίβεια των δοκιμών HER2 και περαιτέρω κλινικές και οικονομικές μελέτες.

Έχοντας υπόψη την ανωτέρω μελέτη των Garrison et al, όπως ήδη περιγράφηκε, θα επακολουθήσει απλή οικονομική ανάλυση της πιθανής θεραπευτικής αντιμετώπισης αρχικά των τεσσάρων ψευδώς θετικών περιπτώσεων της μελέτης μας και στη συνέχεια θα γίνει αναγωγή σε ετήσια βάση όλων των εσφαλμένα ταξινομημένων ως θετικών (FP) περιπτώσεων στην Ελλάδα με βάση το Παθολογοανατομικό Αρχείο Νεοπλασιών της ελληνικής Παθολογοανατομικής Εταιρείας. Στον πίνακα 13 περιλαμβάνεται το θεραπευτικό σχήμα καθώς και το κόστος των συνολικών δόσεων της τραστουζουμάμπης-περτουζουμάμπης, δεδομένης της χρονικής διάρκειας του ενός έτους θεραπείας, που αποτελεί βιβλιογραφικά το "standart of care" για τον πρώιμο καρκίνο του μαστού.

Επισημαίνεται ότι η θεραπευτική αντιμετώπιση στη συγκεκριμένη μελέτη αποτελεί ένα θεωρητικό σενάριο, εφόσον αυτή θα στηριχτεί μόνο στα αποτελέσματα της ανοσοϊστοχημείας. Στην κλινική πρακτική η θεραπεία καθορίζεται βάσει νόμου από τα Ογκολογικά Συμβούλια των Νοσοκομείων (ΦΕΚ 41/Α/1-3-12), και ως εκ τούτου παρότι η ανοσοϊστοχημική μέθοδος αποτελεί αρχικά την κύρια μέθοδο εκτίμησης της υπερέκφρασης της πρωτεΐνης του HER2 γονιδίου για την επιλογή ασθενών για στοχεύουσα θεραπεία επί ύπαρξης ασυμφωνίας με τους άλλους ιστοπαθολογικούς παράγοντες συνιστάται και εκτίμηση της ενίσχυσής του με εναλλακτική μέθοδο όπως του in situ υβριδισμού (FISH/D-SISH). Το τελευταίο τονίζεται ιδιαίτερα και από την αναθεωρημένη έκδοση των κατευθυντήριων οδηγιών των ASCO/CAP (2018), οι τροποποιήσεις των οποίων αναδεικνύουν την αναγκαιότητα της ελαχιστοποίησης έως του μηδενισμού της ανακρίβειας της διαγνωστικής εξέτασης.

Πίνακας 13: Θεραπευτικό σχήμα-κόστος στοχεύουσας θεραπείας

1.	4 EC 4 HERCEPTIN (υποδορίως)/PERJETA (ενδοφλεβίως) +TAXOTERE LETROZOLE χ 7 έτη - Herceptin/Perjeta χ 14 κύκλοι (συν.18 δόσεις)	60.143 ευρώ
2.	4 HERCEPTIN + TAXOL w χ 12 → LETROZOLE χ 5 έτη - Herceptin χ 14 κύκλοι (συν18 δόσεις)	21.605 ευρώ
3.	HERCEPTIN (υποδορίως)+TAXOL χ 4 HERCEPTIN χ 14 → TAMOXIFEN - Herceptin χ 14 κύκλοι (συν. 18 δόσεις)	21.060 ευρώ
4.	4 EC 4. HERCEPTIN (υποδορίως)/PERJETA (ενδοφλεβίως) +TAXOTERE LETROZOLE χ 7 έτη - Herceptin/Perjeta χ 14 κύκλοι (συν. 18 δόσεις)	60.143 ευρώ

Επισημαίνεται ότι οι 2 περιπτώσεις είναι ιστολογικού βαθμού κακοήθειας κατηγορίας 2, χωρίς λεμφαδενικές μεταστάσεις, ενώ οι υπόλοιπες δύο ιστολογικού βαθμού κακοήθειας κατηγορίας 3 με λεμφαδενικές μεταστάσεις. Στη δεύτερη ομάδα συνιστάται διπλός αποκλεισμός του HER2 παράγοντα με Trastuzumab και Pertuzumab με επακόλουθη την αύξηση του οικονομικού κόστους (πίνακας13).

Το συνολικό οικονομικό κόστος της στοχεύουσας θεραπείας καταγράφεται στον πίνακα 14

Πίνακας 14: Συνολικό οικονομικό κόστος στοχεύουσας θεραπείας (4 περιπτώσεις)

Anti-HER2 θεραπεία	162.951*
Κόστος εκτίμησης LEVF	2.520
Θεραπεία καρδιοτοξικότητας	1.200
Κόστος χορήγησης - Ημερήσιο νοσήλειο	-
Κόστος παρακολούθησης του ιατρού	2.160
Συνολικό κόστος	168.831 ευρώ
Κόστος επανεξέτασης με Dual-ISH	7.500 ευρώ
7.500 ευρώ (50 περιπτώσεις)	

*Ο υπολογισμός βασίστηκε στην νοσοκομειακή τιμή των στοχευτικών φαρμάκων, όπως φαίνεται στον πίνακα 15.A και 15.B.

Πίνακας 15.A: Στοχευτικά Φαρμακευτικά Σκευάσματα: HERCEPTIN

Ενέσιμο διάλυμα				
Δραστική ουσία	Όνομα	NT*	XT	ΛΤ
TRASTUZUMAB	HERCEPTIN INJ.SOL 600MG/5M L	1.170,70 E	1.302,06 E	1.438,84 E
BTx1 VIALx5ML				
Κόνις για πυκνό διάλυμα για παρασκευή διαλύματος προς έγχυση				
TRASTUZUMAB	HERCEPTIN PD.C.SO.IN 150 MG/VIAL	400,09 E	444,99 E	514,14 E
BTx1 VIAL(GLASS)				
*Νοσοκομειακή τιμή				
Πηγή: www.galinos.gr		Υπεύθυνος κυκλοφορίας Roche Registration GmbH		

Πίνακας 15.Β: Στοιχεινικά Φαρμακευτικά Σκευάσματα: PERJETA				
Πυκνό διάλυμα για παρασκευή διαλύματος προς έγχυση				
Δραστική ουσία	Όνομα	NT	XT **	ΛΤ***
PERTRASTUZUMAB	PERJETA C/S.SOL.IN 420MG/VIAL	2.141,92 E	2.382,26 E	2.594,64 E
(30MG/ML) BTx1 VIAL x 14ML				
Χονδρική τιμή *Λιανική τιμή				
Πηγή: www.galinos.gr		Υπεύθυνος κυκλοφορίας Roche Registration_GmbH		

Περισσότερες πληροφορίες για τα χαρακτηριστικά των φαρμάκων περιγράφονται στο παράρτημα Β.1 και Β.2.

Το κόστος του κλάσματος εξώθησης της αριστεράς κοιλίας (LEVF) υπολογίζεται με βάση το πρωτόκολλο παρακολούθησης της καρδιακής λειτουργίας, που περιγράφηκε παραπάνω. Επομένως υπολογίζεται το κόστος του ελάχιστου απαραίτητου αριθμού υπερηχοκαρδιογραφημάτων (ένα πριν την έναρξη της θεραπείας, στη συνέχεια ανά τρίμηνο για ένα έτος, και ανά εξάμηνο μετά τη διακοπή της θεραπείας μέχρι 24 μήνες από την τελευταία χορήγηση του Trastuzumab) ήτοι συνολικά εννέα. Η τιμή μονάδας είναι 70 ευρώ και επομένως συνολικά 630 ευρώ ανά ασθενή το ελάχιστο, δεδομένου ότι εάν έχει χορηγηθεί και ανθρακυκλίνη συνιστάται έλεγχος έως και τα 5 έτη, οπότε αυξάνεται αντίστοιχα και το κόστος παρακολούθησης.

Το κόστος της θεραπείας της καρδιοτοξικότητας αφορά κυρίως την κλασική φαρμακευτική αγωγή.

Επιπρόσθετα το κόστος ιατρικής παρακολούθησης υπολογίζεται μέσα στα πλαίσια της ολόημερης λειτουργίας του νοσοκομείου, δηλ. 9 ιατρικές επισκέψεις με τιμή μονάδας 60 ήτοι 540 ευρώ ανά ασθενή (ΦΕΚ 62 Α', 1991. ΦΕΚ 3458 Α', 2016).

Το κόστος επανεξέτασης για το HER2 γονίδιο 50 περιπτώσεων και με την τεχνική του Dual-ISH ανέρχεται σε 7.500 ευρώ (τιμή μονάδας 150 ευρώ, σύμφωνα με απόφαση του ΕΟΠΥΥ, 2014).

Σύμφωνα με το Παθολογοανατομικό αρχείο νεοπλασιών μιας πενταετίας (2009-2013) της Ελληνικής Παθολογοανατομικής Εταιρείας, όπου καταγράφηκαν 32.959 ήτοι 6.600 νέες περιπτώσεις ετησίως (7000 τουλάχιστον σήμερα) θα γίνει αναγωγή στις ετήσιες θετικές (ανοσοϊστοχημικά) συνολικές περιπτώσεις και στη συνέχεια θα υπολογιστούν οι ψευδώς θετικές περιπτώσεις με το αντίστοιχο οικονομικό κόστος της ενδεχόμενης θεραπείας.

Αν υποθέσουμε λοιπόν ότι 20-25% περίπου των καρκινωμάτων του μαστού είναι ανοσοϊστοχημικά HER2 θετικά (3+), προκύπτουν 1400 -1.750 θετικά καρκινώματα ετησίως στην Ελλάδα.

Από την παρούσα μελέτη το 8% των ανοσοϊστοχημικά HER2 3+ καρκινωμάτων του μαστού, ήτοι τα 112-140 περιπτώσεις δεν εμφάνισαν ενίσχυση του γονιδίου με τη μέθοδο Dual-ISH ήτοι ήταν κατηγορίας 5 δηλ αρνητικά.

Το κόστος της στοχεύουσας θεραπείας των ανωτέρω περιπτώσεων και επομένως η οικονομική επιβάρυνση για τον ΕΟΠΥΥ ανέρχεται σε (112-140x168.831/4) 4. 727.268 έως 5.909.085 ευρώ

Το κόστος της εξέτασης D-ISH υπολογίζεται σε (1400-1750 X150) 210.000 έως 262.500 ευρώ.

Επομένως το τελικό οικονομικό όφελος για τον ΕΟΠΥΥ είναι, το κόστος της στοχεύουσας θεραπείας μείον το κόστος της επανάληψης HER2 εξέτασης με Dual-ISH, ήτοι 4,727.268 έως 5,909.085 μείον 210.000 έως 262.500, δηλ 4,517.268/5,646.585 Ευρώ.

5.4 Συζήτηση

Από τη μελέτη αυτή προέκυψαν, μετά από τη συμπληρωματική δοκιμασία της ενίσχυσης του γονιδίου HER2 με την τεχνική του Dual-in situ υβριδισμού (D-ISH) των ανοσοϊστοχημικά HER2 3+ διηθητικών πρώιμων καρκινωμάτων του μαστού. ψευδώς θετικά αποτελέσματα σε ποσοστό 2% των περιπτώσεων του πρώιμου καρκίνου του μαστού (το 8% των ανοσοϊστοχημικά θετικών καρκινωμάτων δεν είχαν ενίσχυση του γονιδίου). Αντίστοιχα οι Garrison και συν. (2015) εκτίμησαν το ποσοστό αυτό στο 3,12 % ετησίως σε κοόρτη 226.870

ασθενών με πρώιμο καρκίνο του μαστού, στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, με έτος αναφοράς το 2012.

Όπως αναλύεται και από άλλους ερευνητές η εσφαλμένη ταξινόμηση των όγκων του μαστού επηρεάζεται από τον επιπολασμό της υπερέκφρασης-ενίσχυσης του HER2 γονιδίου στον πληθυσμό, από την ακρίβεια της μεθόδου της δοκιμασίας του HER2 και από τον αντίκτυπο των εναλλακτικών δοκιμασιών των HER2 2+ (αμφιλεγόμενων) περιπτώσεων καρκινώματος του μαστού. ήτοι από την επανεξέταση των όγκων με αμφιλεγόμενο αποτέλεσμα (HER2 2+ ανοσοϊστοχημικά) με μεθόδους in situ υβριδισμού όπως FISH, SISH, D-ISH κλπ. (Garrison, Lubeck et al, 2007, Garrison, Babigumira et al, 2015). Το ποσοστό των πραγματικά θετικών όγκων στο HER2 γονίδιο στο γενικό πληθυσμό είναι άγνωστο, ενώ είναι γνωστό ότι οι όγκοι αυτοί είναι λιγότεροι από τους πραγματικά αρνητικούς όγκους, γεγονός που δημιουργεί μεγαλύτερη πιθανότητα ένας όγκος να ταξινομηθεί εσφαλμένα ως θετικός, παρά ως αρνητικός στον HER2 παράγοντα.

Στη μελέτη αυτή υπολογίστηκαν τα HER2 3+ καρκινώματα του μαστού, σε ποσοστό 20-25%, ποσοστό που διαχρονικά παρατηρήθηκε στο Παθολογοανατομικό Τμήμα του Α.Ν.Θ. «Θεαγένειο», μετά τη βελτίωση της ακρίβειας των μεθόδων ανίχνευσης του HER2 παράγοντα (Lee, Shaheen, Walke et al, 2012). Η ανοσοϊστοχημική εκτίμηση του HER2 είχε γίνει σύμφωνα με τις οδηγίες ASCO/CAP, 2013, ενώ και η εκτίμηση της ενίσχυσής του με την μέθοδο του Dual-in situ υβριδισμού σύμφωνα με τις συστάσεις ASCO/CAP, 2018.

Στις συστάσεις των ASCO / CAP, 2007 για το HER2 τεστ στον καρκίνο του μαστού αναφέρθηκαν ποσοστά ψευδώς θετικών περιπτώσεων έως και 20% , ποσοστό όμως το οποίο ελαττώθηκε στο 8,6% έως 5,6%, μετά την εφαρμογή ενός προγράμματος διασφάλισης ποιότητας (Perez, Romond et al, 2011). Οι συστάσεις δοκιμών ASCO / CAP HER2 2018 αναμένεται να μειώσουν ακόμη περισσότερο την εσφαλμένη ταξινόμηση των όγκων του μαστού, δεδομένου ότι δίνει έμφαση στην ακριβέστερη διερεύνηση των ομάδων HER2 2, HER2 3, HER2 4, οι οποίες αποτελούν το 5% αυτών.

Και οι δύο τεχνικές, ανοσοϊστοχημείας και in situ υβριδισμού (FISH/SISH/D-ISH), που εφαρμόζονται σε διαπιστευμένα εργαστήρια, θεωρούνται αποδεκτές.

Είναι σημαντικό όλα τα εργαστήρια Παθολογικής Ανατομικής να καθιερώσουν υψηλό βαθμό διασφάλισης ποιότητας, διατηρώντας υψηλά ποσοστά αντιστοιχίας ($\geq 95\%$) μεταξύ 2 μεθοδολογιών ανάλυσης και να προσφέρουν μόνο πλήρως επικυρωμένες δοκιμές IHC και FISH/D-ISH για λήψη κλινικών αποφάσεων (Lee, Shaheen et al, 2012).

Στην συγκεκριμένη μελέτη διερευνήθηκε η επίπτωση στις οικονομικές δαπάνες του ΕΟΠΠΥ της νεοεπικουρικής και κυρίως της επικουρικής στοχεύουσας το HER2 θεραπείας των ψευδώς HER2 θετικών(FP)περιπτώσεων διηθητικού πρώιμου καρκίνου του μαστού (IHC 3+), ενώ δεν συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη οι HER2 2+(αμφιλεγόμενοι) όγκοι με εφαρμογή εναλλακτικής τεχνικής (D-ISH).

Στις 2/4 FP περιπτώσεις της μελέτης η αρχική ανοσοϊστοχημική εκτίμηση είχε γίνει σε τοπικό εργαστήριο. Είναι γνωστή η διακύμανση των αποτελεσμάτων και η ασυμφωνία μεταξύ τοπικών και κεντρικών Παθολογοανατομικών εργαστηρίων –εργαστηρίων αναφοράς, η οποία εξαρτάται από το μεγάλο αριθμό των εξετάσεων και τη συχνή διενέργεια ποιοτικού ελέγχου των εργαστηρίων αναφοράς.

Μία μελέτη των Papadopoulos et al (2014) που είχε στόχο τον προσδιορισμό του ποσοστού ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων IHC για HER2 σε τρία εργαστήρια Παθολογικής Ανατομικής (ένα κεντρικό, δύο τοπικά) στην Ελλάδα με κεντρική επανεξέταση με D-ISH 240 πρώιμων καρκίνων του μαστού, IHC 0/1 + κατά την αρχική δοκιμασία, ανέδειξε ένα ψευδώς αρνητικό ποσοστό 3,4%. Ο ερευνητής, λόγω του χαμηλού αυτού ποσοστού, υποστηρίζει τη χρήση της ανοσοϊστοχημείας στην αρχική εκτίμηση της κατάστασης του HER2 παράγοντα στα τοπικά και στα κεντρικά ελληνικά εργαστήρια Παθολογικής Ανατομικής. Ωστόσο, όπως παρακάτω θα αναλυθεί, τα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα επιφέρουν μεγαλύτερες επιπτώσεις από ότι τα FP, τόσο στα κλινικά αποτελέσματα όσο και στο κόστος ευκαιρίας σε ατομικό και σε κοινωνικό επίπεδο.

Επίσης από παρόμοια μελέτη του Garrison et al, (2013), φαίνεται ότι η επανεξέταση των IHC HER2 0/+1 (αρνητικών) περιπτώσεων πρώιμου καρκίνου του μαστού είναι αποδοτική ως προς το κόστος-αποτελεσματικότητα.

Η εσφαλμένη ταξινόμηση των όγκων του μαστού, όπως φαίνεται από αρκετές μελέτες, επιδρά στο κόστος της υγειονομικής περίθαλψης και στα ποιοτικά χρόνια ζωής του ασθενούς (QALYs), ήτοι συμπεριλαμβάνει το ατομικό και συνολικό κλινικό και οικονομικό κόστος από την ανακρίβεια του HER2 τεστ στον πρώιμο καρκίνο του μαστού.

Τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα, όπως και στη μελέτη μας, οδηγούν σε περιττή στοχεύουσα το HER2 θεραπεία με μικρή πιθανότητα οφέλους και αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ανεπιθύμητων ενεργειών των στοχευτικών φαρμάκων με επακόλουθο πρόσθετο κόστος θεραπείας για τον ασθενή, τον πάροχο ,ή / και την κοινωνία (44,228 ευρώ στη μελέτη μας/58.900 \$ ανά ασθενή, στη μελέτη των Garrison, et al, 2015).

Τα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα υποτίθεται ότι θα εξοικονομούσαν χρήματα από το φαρμακευτικό κόστος του trastuzumab, ωστόσο παράλληλα η απώλεια ποιοτικά σταθμισμένων χρόνων ζωής (QALYs) και ο μεγαλύτερος κίνδυνος επανεμφάνισης της νόσου (υποτροπή ή και μετάσταση) επιπροσθέτουν το αντίστοιχο κόστος (116.000 \$ ανά ασθενή, στη μελέτη των Garrison, et al, 2015). Φαίνεται λοιπόν από διάφορες μελέτες ότι, τα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα έχουν μεγαλύτερες επιπτώσεις τόσο στα κλινικά αποτελέσματα όσο και στο κόστος ευκαιρίας σε ατομικό και σε κοινωνικό επίπεδο, από ό, τι τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα. Η απώλεια των QALYs λόγω της ανακρίβειας των δοκιμών HER2 και επομένως της μη χορήγησης θεραπείας με trastuzumab, υπολογίζεται από τους Garrison et al, (2013) στα 1,7 έτη, ενώ σε άλλες μελέτες το μέγεθος αυτό είναι χαμηλότερο (Hedden. O'Reilly et al., 2012, Liberato. Marchetti et al, 2007).

Μια κοινή ανάλυση των δοκιμών σε ασθενείς με θετική HER2 νόσο (ΠΚΜ) έδειξε ότι το 73,7% των ασθενών που δεν έλαβαν στοχεύουσα το HER2 θεραπεία ήταν ελεύθεροι της νόσου κατά την παρακολούθηση 4 ετών, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό αυξήθηκε στο 85,7%, σε ασθενείς που έλαβαν trastuzumab που αντιπροσωπεύει μείωση κινδύνου περίπου 46% (Perez, Romond et al, 2011).

Νεότεροι παράγοντες όπως το pertuzumab έχουν δείξει κλινικό όφελος σε ασθενείς με θετικό HER2 μεταστατικό καρκίνο του μαστού, αλλά και προεγχειρητικά στο αρχικό στάδιο της νόσου (Baselga, Cortés et al, 2016, Swain, Baselga et al, 2015).

Στη δική μας απλή οικονομική μελέτη, η αύξηση των δαπανών του ΕΟΠΥΥ για την περιττή στοχεύουσα θεραπεία που έλαβαν και την αντιμετώπιση των παρενεργειών της, των ψευδώς θετικών περιπτώσεων καρκίνου 112 έως 140 περίπου ασθενών ετησίως, λόγω εσφαλμένης ταξινόμησης, (ποσοστό 2% των ΠΚΜ) κυμαίνεται από 4, 727.268 έως 5,909.085 ευρώ. Αντίστοιχα το κόστος επανάληψης της HER2 εξέτασης με την τεχνική Dual-ISH όλων των IHC 3+ καρκινωμάτων του μαστού κυμαίνεται από 210.000 έως 262.500 (ΕΟΠΥΥ,2014).

Επομένως μετά τη συμπληρωματική τεχνική της μεθόδου DISH το όφελος για τον ΕΟΠΥΥ θα ήταν 4,517.268 έως 5,646.585 ευρώ.

Η στρατηγική του διπλού τεστ διερεύνησης (IHC, D-ISH) της κατάστασης του HER2 φαίνεται να είναι περισσότερο αποδοτική σε σχέση με τη συνήθη τακτική της αρχικής επιλογής (screening) με IHC και επιβεβαίωση με in situ υβριδισμό μόνον των αμφιλεγόμενων περιπτώσεων (reflex testing strategy), που χρησιμοποιούν τα περισσότερα νοσοκομεία. Ανάλογη αποδοτικότητα του διπλού τεστ ανέδειξαν και οι Hariri et al (2020), ενώ οι Lee et al

(2012) συνιστούν επιβεβαίωση με FISH τόσο των IHC HER2 2+ όσο και των HER2 3+ περιπτώσεων για να μεγιστοποιήσουν την διαγνωστική ακρίβεια της κατάστασης του HER2 γονιδίου. Η τελευταία σύσταση ενισχύεται και από τα ευρήματα της παρούσας μελέτης.

Η σημαντική αυτή ετήσια επιβάρυνση για τον ΕΟΠΥΥ, που σχετίζεται με τα αποτελέσματα των ψευδώς θετικών δοκιμών, υποδηλώνει ότι πρέπει να ληφθούν υπόψη σημαντικές κοινωνικές επενδύσεις για τη βελτίωση της ακρίβειας των τεχνικών εκτίμησης του HER2 παράγοντα στον πρώιμο καρκίνο του μαστού. Οι επενδύσεις αυτές θα επιφέρουν σημαντική οικονομική αξία τουλάχιστον 4.517 έως 5,646 εκατομμύρια ευρώ ετησίως για τον ΕΟΠΥΥ.

Περιορισμοί της μελέτης

Οι περιορισμοί της μελέτης αφορούν αρχικά στον επιπολασμό της υπερέκφρασης του HER2 στον πληθυσμό καθότι το ποσοστό των πραγματικά θετικών HER2 καρκινωμάτων του μαστού παραμένει άγνωστο.

Αυτό που είναι γνωστό, είναι ότι υπάρχουν λιγότεροι ασθενείς με όγκους πραγματικά θετικούς σε σχέση με πραγματικά αρνητικούς. Βιβλιογραφικά περιγράφεται μία ευρεία διακύμανση του ποσοστού των HER2 θετικών καρκίνων του μαστού (18-30%), ποσοστό το οποίο βαθμιαία ελαττώνεται και αγγίζει το 20% με τη βελτίωση των δοκιμασιών ανίχνευσης του HER2 γονιδίου.

Στη δικής μας μελέτη το υπολογίσαμε στο 20-25% περίπου γενικώς των καρκινωμάτων του μαστού στην Ελλάδα (αφορά το Παθολογοανατομικό εργαστήριο του Α.Ν. Θ. "Θεαγένειο") και μάλιστα έγινε αναγωγή σύμφωνα με το Αρχείο Νεοπλασιών της Ελληνικής Εταιρείας Παθολογικής Ανατομικής καθόσον δεν υφίσταται Εθνικό Αρχείο Νεοπλασιών (EAN) στην Ελλάδα.. Το αρχείο αυτό αφορά σε μία πενταετία και αντιπροσωπεύει το 90% και 100% των Παθολογοανατομικών Εργαστηρίων των δημοσίων και ιδιωτικών ελληνικών Νοσοκομείων αντίστοιχα και μόνο το 80% των ιδιωτικών εργαστηρίων.

Επίσης, στη μελέτη μας δεν υπολογίστηκαν οι θετικές περιπτώσεις που προκύπτουν από την επανεξέταση με εναλλακτικές μεθόδους των HER2 2+(αμφιλεγόμενων περιπτώσεων).

Ένας άλλος περιορισμός αυτής της ανάλυσης είναι ότι αποτελεί μία απλή οικονομική μελέτη με ποσοτική εκτίμηση του κόστους ευκαιρίας της εσφαλμένης ταξινόμησης των όγκων του μαστού, χωρίς να διερευνά τα κλινικά αποτελέσματα όπως με την έννοια των ποιοτικά σταθμισμένων ετών ζωής.

Η Δοσολογία των φαρμακευτικών σκευασμάτων υπολογίστηκε με βάση το μέσο όρο επιφάνειας σώματος (BSA) 1,74 m² από άλλη μελέτη (EMBRACE) δεδομένου ότι δεν υπήρχαν στοιχεία σχετικά με την τυπική κατανομή του βάρους και του ύψους των γυναικών με καρκίνο του μαστού, άμεσα διαθέσιμα για την Ελλάδα (Αναγνωστοπούλου, 2019).

Κεφάλαιο 6

Συμπεράσματα-Επίλογος

Η εσφαλμένη ταξινόμηση ως ψευδώς θετικών και η μη βέλτιστη θεραπεία σε ποσοστό 2% των περιπτώσεων πρώιμου καρκίνου του μαστού (112 έως 140 περίπου ασθενείς ετησίως):

- ✓ Αυξάνει τις δαπάνες του ΕΟΠΥΥ κατά 4,73-5,91 εκατομμύρια ευρώ ετησίως, για την περιττή χορήγηση στοχεύουσας το HER2 γονίδιο και την αντιμετώπιση των ανεπιθύμητων παρενεργειών της.
- ✓ Το Κόστος της επανεξέτασης του HER2 με τη δοκιμασία D-ISH όλων των IHC HER2 3+ καρκινωμάτων του μαστού είναι 210.000 έως 262.500 ευρώ.
- ✓ Επομένως μετά την συμπληρωματική εφαρμογή της μεθόδου Dual-ISH στις ανοσοϊστοχημικά HER2 θετικές περιπτώσεις πρώιμου καρκινώματος του μαστού, το όφελος για τον Εθνικό Οργανισμό Παροχών Υπηρεσιών Υγείας (ΕΟΠΥΥ) θα είναι 4,52-5,65 εκατομμύρια ευρώ ετησίως .








Από τα ανωτέρω ευρήματα προκύπτει ότι απαιτούνται:

- ✓ ακόμη περισσότερες βελτιώσεις στην ακρίβεια των τεχνικών ανίχνευσης ((FISH/SISH/DISH) της έκφρασης –ενίσχυσης του HER2 γονιδίου στα καρκινώματα του μαστού, με ελαχιστοποίηση έως, εάν είναι δυνατόν, το μηδενισμό, των ψευδώς θετικών περιπτώσεων, με σκοπό την επιλογή ασθενών για στοχεύουσα αντι-Her2 θεραπεία
- ✓ και περαιτέρω κλινικές και οικονομικές μελέτες, οι οποίες θα πρέπει να ενταχθούν στις αποφάσεις των συστημάτων υγείας καθόσον οι πόροι δεν είναι απεριόριστοι και πρέπει να χρησιμοποιούνται με ευελιξία. Έτσι οι κατευθυντήριες γραμμές των οικονομικών επιστημόνων πρέπει να προσβλέπουν στο επιθυμητό κλινικό αποτέλεσμα με το μικρότερο δυνατό κόστος.-

Παραρτήματα

Α.Καταμέτρηση HER2-CEP17

Table 1. Signal Visualization

	Δεν γίνεται καταμέτρηση σε αλληλοεπικαλυπτόμενους πυρήνες
	Δεν γίνεται καταμέτρηση όταν δεν υπάρχει καθόλου σήμα
	Δεν γίνεται καταμέτρηση όταν υπάρχει ένα οποιοδήποτε μονό σήμα
	Δεν γίνεται καταμέτρηση όταν τα σήματα εντοπίζονται εκτός του πυρήνα
	Γίνεται καταμέτρηση ως 1 μαύρο (HER2) και 1 κόκκινο (Chr17) σήμα
	Γίνεται καταμέτρηση ως 2 μαύρα (HER2) και 2 κόκκινα (Chr17) σήματα
	Γίνεται καταμέτρηση ως 1 (διπλό)μαύρο (HER2) και 2 κόκκινα (Chr17) σήματα. Δύο γειτονικά ίδιου χρώματος υπολογίζονται ως δύο όταν η απόσταση μεταξύ τους είναι \geq διάμετρο ενός σήματος.



Γίνεται καταμέτρηση ως 2 μαύρα +μία μικρή άθροιση(6 σήματα)=8 μαύρα (HER2) και 2 κόκκινα (Chr17) σήματα. Η άθροιση υπολογίζεται σε σχέση με το μέγεθος ενός σήματος. Αναφέρεται στο ιστολογική έκθεση η παρουσία μικρής άθροισης.



Γίνεται καταμέτρηση ως 4 μαύρα +μία μεγάλη άθροιση(12 σήματα)=16μαύρα (HER2) και 2 κόκκινα (Chr17) σήματα. Αναφέρεται στην ιστολογική έκθεση η παρουσία μεγάλης άθροισης.



Γίνεται καταμέτρηση ως 4 μαύρα (HER2) και 2 κόκκινα (Chr17) σήματα. Υπολογίζονται το κόκκινο και μαύρο σήμα που εφάπτονται, αλλά εάν αυτά αλληλοεπικαλύπτονται, τότε αυτός ο πυρήνας δεν προσμετράται.

Πηγή: Interpretation Guide Ventana INFORM HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail Assay. Ventana

Β.Φαρμακευτικά σκευάσματα

Β.1 Trastuzumab i.v.

Trastuzumab i.v.

ΕΜΠΟΡΙΚΗ ΟΝΟΜΑΣΙΑ
Herceptin©

ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ

Roche
<p>ΜΟΡΦΗ ΕΝΔΟΦΛΕΒΙΟΥ TRASTUZUMAB</p> <p>Σκόνη για πυκνό διάλυμα και για έγχυση 150 mg.</p> <p>ΔΟΣΟΛΟΓΙΑ</p> <p>Αρχική δόση 8 mg/KBΣ και ακολούθως 6 mg/KBΣ σε κύκλους 21 ημερών. Αρχική δόση 4 mg/KBΣ και ακολούθως 2 mg/KBΣ σε κύκλους 7 ημερών.</p> <p>ΤΡΟΠΟΣ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ</p> <p>Η αρχική δόση των 8 mg/KBΣ εγχύεται σε 90 min iv. Η ακόλουθη δόση των 4 mg εγχύεται σε 30 min iv.</p> <p>-Η δόση εφόδου του Trastuzumab θα πρέπει να χορηγείται ως ενδοφλέβια έγχυση διάρκειας 90 λεπτών.</p> <p>-Να μη χορηγείται ως ταχεία ενδοφλέβια έγχυση ή bolus.</p> <p>-Η ενδοφλέβια έγχυση του Trastuzumab θα πρέπει να χορηγείται από φορείς παροχής υγειονομικής περίθαλψης προετοιμασμένους να αντιμετωπίσουν την αναφυλαξία. Ένα κουτί πρώτων βοηθειών θα πρέπει να είναι διαθέσιμο.</p> <p>-Οι ασθενείς θα πρέπει να παρακολουθούνται για τουλάχιστον έξι ώρες μετά την έναρξη της πρώτης έγχυσης και για δύο ώρες μετά την έναρξη των επακόλουθων εγχύσεων για συμπτώματα όπως πυρετό και ρίγος ή άλλα συμπτώματα σχετιζόμενα με την έγχυση. Διακοπή ή επιβράδυνση του ρυθμού της έγχυσης μπορεί να βοηθήσει στον έλεγχο αυτών των συμπτωμάτων. Η έγχυση μπορεί να επαναληφθεί όταν τα συμπτώματα υποχωρήσουν.</p> <p>-Εάν η αρχική δόση εφόδου ήταν καλά ανεκτή, οι επακόλουθες δόσεις μπορούν να χορηγηθούν ως έγχυση διάρκειας 30 λεπτών.</p> <p>-Όταν χορηγείται κυτταροτοξικό φάρμακο (Docetaxel ή Paclitaxel), αυτό δίνεται μετά το τέλος της έγχυσης του Trastuzumab.</p>

B.2 Trastuzumab s.c.

<p>Trastuzumab s.c.</p> <p>ΕΜΠΟΡΙΚΗ ΟΝΟΜΑΣΙΑ Herceptin© SC</p> <p>ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ</p>

Roche

ΜΟΡΦΗ

Trastuzumab 600 mg ενέσιμο διάλυμα σε φιαλίδιο.

ΔΟΣΟΛΟΓΙΑ

-Η συνιστώμενη δόση του υποδορίου Trastuzumab είναι 600 mg ανεξάρτητα από το σωματικό βάρος της ασθενούς.

-Δεν απαιτείται δόση εφόδου.

ΤΡΟΠΟΣ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ

-Χορηγείται υποδορίως επί 2-5 λεπτά κάθε τρεις εβδομάδες.

Το σημείο της ένεσης θα πρέπει να εναλλάσσεται μεταξύ του αριστερού και του δεξιού μηρού. Νέα ένεση θα πρέπει να γίνει σε απόσταση τουλάχιστον 2,5 cm από τη παλαιότερη θέση ένεσης και ποτέ σε περιοχές όπου το δέρμα είναι κόκκινο, μελανιασμένο, ευαίσθητο ή σκληρό.

-Κατά τη διάρκεια της θεραπείας με υποδόριο σκεύασμα Trastuzumab άλλες υποδόριες ενέσεις άλλων φαρμακευτικών προϊόντων πρέπει κατά προτίμηση να γίνονται σε διαφορετικές θέσεις.

-Οι ασθενείς θα πρέπει να παρακολουθούνται για έξι ώρες μετά την πρώτη ένεση και για δύο ώρες μετά τις επόμενες ενέσεις για σημεία ή συμπτώματα αντιδράσεων που σχετίζονται με τη χορήγηση.

-Το σκεύασμα υποδόριας χορήγησης Trastuzumab δεν προορίζεται για ενδοφλέβια χορήγηση και θα πρέπει να δίνεται μόνο σαν υποδόρια ένεση.

-Εναλλαγή από ενδοφλέβια χορήγηση σε υποδόρια χορήγηση Trastuzumab και αντίστροφα, ανά τρεις εβδομάδες είναι ασφαλής, δεδομένου ότι διερευνήθηκε στη μελέτη MO22982.

-Ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο μαστού πρέπει να αντιμετωπίζονται με Trastuzumab μέχρι την εξέλιξη της νόσου.

-Οι ασθενείς με πρώιμο καρκίνο μαστού θα πρέπει να αντιμετωπίζονται με Trastuzumab για 1 χρόνο ή έως την υποτροπή της νόσου, αν συμβεί νωρίτερα.

Επέκταση της θεραπείας πέραν του ενός έτους σε ασθενείς με πρώιμο καρκίνο μαστού δεν συνιστάται.

-Εάν μία ασθενής παραλείψει μία δόση σκεύασματος υποδόριας χορήγησης Trastuzumab, συνιστάται να χορηγηθεί η επόμενη δόση 600 mg το συντομότερο δυνατό. Το διάστημα μεταξύ δύο θεραπειών με υποδόριο Trastuzumab δεν πρέπει να είναι λιγότερο από τρεις εβδομάδες.

B.3 Τοξικότητες από το Trastuzumab

<i>Οργανικό Σύστημα</i>	<i>Πολύ συχνές</i>	<i>Συχνές</i>	<i>Ασυνήθεις, σπάνιες ή πολύ σπάνιες</i>
Λοιμώξεις	Λοιμώξεις ρινοφαρυγγίτιδα	Ουδετεροπενική σήψη Κυστίτιδα Έρπης ζωστήρ Γρίπη (Inflouentza) Παραρρινοκολπίτιδα Δερματικές μολύνσεις Λοιμώξεις ανωτέρου αναπνευστικού Λοιμώξεις ουροποιητικού Ερυσίπελας Κυτταρίτιδα φαρυγγίτιδα	Σήψη
Διαταραχές αίματος	Εμπύρετη ουδετεροπενία Ουδετεροπενία Λευκοπενία Αναμία Θρομβοπενία		Υποπροθρομβιναιμία
Διαταραχές Ανοσοποιητικού		Αντιδράσεις υπερευαισθησίας/ αναφυλαξίας	Αναφυλακτικό shock
Διαταραχές μεταβολισμού	Απώλεια βάρους Ανορεξία		Υπερκαλιαιμία
Ψυχιατρικές διαταραχές	Αϋπνία	Άγχος Κατάθλιψη Διαταραχές σ	

Διαταραχές νευρικού συστήματος	Τρόμος Ζάλη (Dizziness) Κεφαλαλγία Παραισθησία Δυσγευσία	Περιφερική νευρίτιδα Υπέρταση Υπνηλία Αταξία	Πάρεση Εγκεφαλικό οίδημα
Ακουστικές και λαβυρινθικές διαταραχές			Κώφωση
Διαταραχές οφθαλμών		Ξηροφθαλμία	Οίδημα θηλής Αιμορραγία αμφιδύς
Καρδιακές διαταραχές	Επιεφουκίτιδα Αυξημένη δακρύρροια	Δυσλειτουργία αριστερής κοιλίας Συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια Υπερκοιλιακή ταχυκαρδία Μυοκαρδιοπάθεια	Υγρή περικαρδίτιδα Βραδυκαρδία Καλπαστικός ρυθμός
Αγγειακές διαταραχές	Αύξηση ή πτώση αρτηριακής πίεσης Αρρυθμία Αίσθημα παλμών	Υπόταση Αγγειοδιαστολή	
Διαταραχές πνευμόνων, θώρακος, μεσοθωρακίου	Έξαψη	Πνευμονία Άσθμα Πλευριτική συλλογή	Πνευμονική ίνωση Πνευμονίτιδα Αναπνευστική δυσχέρεια Σύνδρομο οξείας αναπν. δυσχέρειας Δηθήματα πνεύμονος Οξύ πνευμονικό οίδημα Βρογχόσπασμος Υποξία Λαρυγγικό οίδημα Ορθόπνοια Διάμεση πνευμονική Νόσος

Διαταραχές γαστρεντερικού	Συριγμός (Wheezing) Δύσπνοια Βήχας Επίσταξη Ρινόρροια	Παγκρεατίτιδα Αιμορροϊδοπάθεια Ξηροστομία	
	Διάρροιες Έμετοι Ναυτία Οίδημα χειλιών Κοιλιακό άλγος Στοματίτιδα Δυσκοιλιότητα Δυσπεψία		

Διαταραχές ήπατος- χοληφόρων		Ηπατοκυτταρική βλάβη Ηπατίτιδα	Ίκτερος Ηπατική ανεπάρκεια
Διαταραχές δέρματος και υποδορίου ιστού	Ερύθημα Εξάνθημα Οίδημα προσώπου Αλωπεκία Ονυχολυσία Ερυθρο-δυσαισθησία παλαμών-πελμάτων	Ακμή Ξηροδερμία Εκχύμωση Υπεριδρωσία Κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα Κνησμός Δερματίτιδα	Κνίδωση Αγγειο-οίδημα
Διαταραχές μυοσκελετικού συστήματος και συνδετικού ιστού	Αρθραλγία Μυϊκό σφίξιμο (muscle tightness) Μυαλγία	Αρθρίτιδα Οστικό άλγος Άλγος ράχης Μυϊκός σπασμός Άλγος στα άκρα	
Διαταραχές ουροποιητικού		Νεφρικές βλάβες	Μεμβρανώδης σπειραματονεφρίτιδα Σπειραματο-

			νεφροπάθεια Νεφρική ανεπάρκεια
Διαταραχές κατά την εγκυμοσύνη, λοχεία, περιγεννητική περίοδο			Ολιγουδράμνιο Νεφρική υποπλασία Πνευμονική Υποπλασία
Διαταραχές κατά την έγχυση και άλλες διάφορες	Εξασθένηση (Asthenia) Θωρακικό άλγος Ρίγος Κόπωση Γριπώδης συνδρομή (influenza-like symptoms) Πόνος Πυρετός Βλεννογονίτιδα	Αδιαθεσία Οίδημα	

Ανδρεάδης, 2017

Βιβλιογραφία

Ξενόγλωσση

Akiyama, T., Sudo, C., Ogawara, H., Toyoshima, K. et al (1986), The product of the human erbB2 gene: a 185-Kilodalton glycoprotein with tyrosin kinase activity. *Science* 232 (4758):1644-1646.

Azambuja, E., Procter, M.J., van Veldhuisen. D.J., Agbor-Tarh, D. et al (2014), Trastuzumab-associated cardiac events at 8 years of median follow-up in the Herceptin Adjuvant Trial (BIG 1-01). *Journal of Clinical Oncology* (32) 20:2159-65.

Bachelot, T., Puglisi, F., Ciruelos, E., Peretz-Yablonski, T. et al (2017), Preliminary safety and efficacy of first-line pertuzumab combined with trastuzumab and taxane therapy for HER2-positive locally recurrent/metastatic breast cancer (PERUSE) [abstract]. In: *Proceedings of the 2016 San Antonio Breast Cancer Symposium*. San Antonio, TX. Philadelphia (PA), Dec 6-10, 2016. AACR; *Cancer Res*, 77(4 Suppl): Abstract nr P4-21-04.

Bartlett, JM., Starczynski, J., Atkey, N., Kay, E. et al (2011), HER2 testing in the UK: recommendations for breast and gastric in situ hybridization method. *Journal of clinical pathology* 64 (8): 649-653.

Baselga, J., Cortés, J., Kim, S-B., Im, S-A. et al (2012a), Pertuzumab plus trastuzumab plus docetaxel for metastatic breast cancer. *New England Journal of Medicine* 366 (2):109-19.

Baselga, J., Bradbury, I., Eidtmann H., Di Cosimo, S. et al (2012b), Lapatinib with trastuzumab for HER2-positive early breast cancer (NeoALTTO): a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial. *The Lancet* 379 (9816): 633-40.

Bianchis, S., Paglieruni, M., Zampi, G., Cardona, G. et al (1993), Prognostic significance of c-erbB2 expression in node negative breast cancer. *British journal of cancer* 67 (3): 625-629.

Blackwell, KL., Burstein, HJ., Storniolo, AM., Rugo, H. et al (2010), Randomized study of Lapatinib alone or in combination with trastuzumab in women with ErbB2-positive, trastuzumab-refractory metastatic breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 28 (7): 1124-30.

Blackwell, K.L., Burstein, H.J., Storniolo, A.M., Rugo, H.S. et al (2012), Overall survival benefit with lapatinib in combination with trastuzumab for patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer: final results from the EGF104900 Study. *Journal of Clinical Oncology* 30(21): 2585-2592.

Boekhout, A.H., Gietema, J.A., Kerklaan, B.M., van Werkhoven, E.D. et al (2016), Angiotensin II-Receptor inhibition with candesartan to prevent trastuzumab-related cardiotoxic effects in patients with early breast cancer. *JAMA Oncology* 2(8): 1030-7.

Burris, H.A. III, Rugo, H.S., Vukelja, S.J., Vogel, C.L. et al (2011), Phase II study of the antibody drug conjugate trastuzumab-DM1 for the treatment of human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-positive breast cancer after prior HER2- directed therapy. *Journal of Clinical Oncology*, 29(4): 398-405.

Burstein, H.J., Sun, Y., Dirix, L.Y., Jiang, Z. et al (2010), Neratinib, an irreversible ErbB receptor tyrosine kinase inhibitor, in patients with advanced ErbB2-positive breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 28 (8): 1301-7.

Burstein, H.J. (2011), 'Novel agents and future directions for refractory breast cancer', in WB Saunders, *Seminars in oncology*, 38: S17-S24.

Cameron, D., Casey, M., Press, M., Lindquist, D. et al (2008), A phase III randomized comparison of lapatinib plus capecitabine versus capecitabine alone in women with advanced breast cancer that has progressed on trastuzumab: updated efficacy and biomarker analyses. *Breast cancer research and treatment* 112 (3): 533-543.

Cameron, D., Piccart-Gebhart, M.J., Gelber, R.D., Procter, M. et al (2017), for the Herceptin Adjuvant (HERA) Trial Study Team. 11 years' follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive early breast cancer: final analysis of the HERceptin Adjuvant (HERA) trial. *The Lancet* 389 (10075): 1195-1205.

Cardoso, F., Costa, A., Senkus, E., Aapro, M. et al (2017), ESO-ESMO 3rd international consensus guidelines for advanced breast cancer (ABC3). *Annals of Oncology* 25 (10):16-33.

Chan, A., Delaloge, S., Holmes, F.A., Moy, B. et al (2016), Neratinib after trastuzumab-based adjuvant therapy in patients with HER2-positive breast cancer (ExteNET): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *The Lancet Oncology* 17 (3): 367-377.

Cooke, T., Reeves, J., Lannigan, A., & Stanton, P. (2001), The value of the human epidermal growth factor receptor-2 (HER2). *European Journal of Cancer* 37: 3-10.

Cortazar, P., Zhang, L., Untch, M., Mehta, K. et al (2014), Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. *The Lancet* 384 (9938): 164-72.

De Azambuja, E., Holmes, AP., Piccart-Gebhart. M., Holmes, E. et al (2014), Lapatinib with trastuzumab for HER2-positive early breast cancer (NeoALTTO): survival outcomes of a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial and their association with pathological complete response. *The Lancet Oncology* 15 (10): 1137-46.

Denduluri, N., Somerfield, M.R., Eisen, A., Holloway, J.N. et al (2016), Selection of optimal adjuvant chemotherapy regimens for human epidermal growth factor receptor (Her2)-negative and adjuvant targeted therapy for Her2-positive breast cancers: an American Society of Clinical Oncology Guideline adaptation of the Cancer Care Ontario Clinical Practice Guideline. *Journal of Clinical Oncology* 34 (20): 2416-2427.

Diaby, V., Adunlin, G., Ali, A.A., Zeichner, S.B. et al (2016), Cost-effectiveness analysis of 1st through 3rd line sequential targeted therapy in HER2-positive metastatic breast cancer in the United States. *Breast Cancer Research and Treatment* 160 (1): 187-196.

Dietel, M., Ellis, I.O., Hofler, H., Kreipe, H. et al (2007), Comparison of automated silver enhanced in situ hybridization (SISH) and fluorescence ISH (FISH) for the validation of HER2 gene status in breast carcinoma according to the guidelines of the American Society of Clinical Oncology and the College of American Pathologists. *Virchows Archiv*, 451 (1): 19-25.

Ellis, M.A & Romond, E.H. (2016), Systemic therapy for patients with advanced human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer: *Current Problems in Cancer*, ανακτήθηκε από <http://dx.doi.org/10.1016/j.currproblcancer.2016.09.002>

Fehrenbacher, L., Capra, A.M., Quesenberry, C.P., Fulton, R. et al (2014), Distant invasive breast cancer recurrence risk in human epidermal growth factor receptor 2-positive T1a and T1b node-negative localized breast cancer diagnosed from 2000 to 2006: A cohort from an integrated health care delivery system. *Journal of Clinical Oncology* 32 (20): 2151-2158.

Fountzilias, G., Dafni, U., Papadimitriou, C., Timotheadou, E. et al (2014), Dose-dense sequential adjuvant chemotherapy followed, as indicated, by trastuzumab for one year in

patients with early breast cancer: first report at 5-year median follow-up of a Hellenic Cooperative Oncology Group randomized phase III trial. *BMC Cancer* 14 (1): 515.

Gancberg, D., Jarvinen, T., Di Leo, A., Rouas, G. et al (2002), Evaluation of HER-2/NEU protein expression in breast cancer by immunohistochemistry: an interlaboratory study assessing the reproducibility of HER-2/NEU testing. *Breast cancer research and treatment* 74 (2): 113-120.

Gao., FF., Dabbs, DJ., Kristine. L., Cooper, K.L. et al (2014), Bright-Field *HER2* Dual In Situ Hybridization (DISH) Assay vs Fluorescence In Situ Hybridization (FISH): Focused Study of Immunohistochemical 2+ Cases. *Am Journal of Clinical Pathology* 141 (1): 102–110.

Garrison., LP., Lubeck, D., Lalla, D., Pacon, V. et al (2007), Cost effectiveness analysis of Trastuzumab in the adjuvant setting for treatment off HER2- positive breast Cancer. *Cancer*, 110:489-498

Garrison., L.P., Lalla, D., Brammer, M., Babigumira, J.B. et al (2013), Assessing the potential cost-effectiveness of retesting IHC0, IHC1+, or FISH-negative early stage breast cancer patients for HER2 status. *Cancer* 119 (17): 3113-3122.

Garrison, L.P., jn, Babigumira, J.B., Masaquel, A., Wang, BCM. et al (2015), The Lifetime Economic Burden of Inaccurate HER2 Testing: Estimating the Costs of False-Positive and False-Negative Test Results in US Patients with Early-Stage Breast Cancer. *Value in health*, 18 (4): 541-546.

Genuino, A.J., Chaikledkaew, U., Guerrero, A.M., Reungwetwattana, T. et al (2019), Cost-utility analysis of adjuvant trastuzumab therapy for HER2-positive early-stage breast cancer in the Philippines. *BMC Health Services Research* 19 (1): 874.

Geyer, CE., Forster, J., Lindquist, D., Chan, S. et al (2006), Lapatinib plus capecitabine for HER2-positive advanced breast cancer. *New England Journal of Medicine* 355 (26): 2733-43.

Gianni, L., Eiermann, W., Semiglazov, V., Manikhas, A. et al (2010), Neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab followed by adjuvant trastuzumab versus neoadjuvant chemotherapy alone, in patients with HER2-positive locally advanced breast cancer (the NOAH trial): a randomised controlled superiority trial with a parallel HER2-negative cohort. *The Lancet* 375 (9712): 377-84.

Gianni, L., Pienkowski, T., Im, Y-H., Roman, L. et al (2012), Efficacy and safety of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in women with locally advanced, inflammatory, or early HER2-positive breast cancer (NeoSphere): a randomised multicentre, open-label, phase 2 trial. *The Lancet Oncology* 13 (1): 25-32.

Gianni, L., Eiermann, W., Semiglazov, V., Lluch, A. et al (2014), Neoadjuvant and adjuvant trastuzumab in patients with HER2-positive locally advanced breast cancer (NOAH): follow-up of a randomized controlled superiority trial with a parallel HER2-negative cohort. *The Lancet Oncology* 15 (6): 640-7.

Gianni, L., Pienkowski, T., Im, Y-H., Tseng, L-M. et al (2016), 5-year analysis of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in patients with locally advanced, inflammatory, or early-stage HER2-positive breast cancer (NeoSphere): a multicentre, open-label, phase 2 randomised trial. *The Lancet Oncology* 17 (6): 791-800.

Gligorov, J., Ataseven, B., Verrill, M., De Laurentiis, M. et al (2017), Safe Her Study Group. Safety and tolerability of subcutaneous trastuzumab for the adjuvant treatment of human epidermal growth factor receptor 2-positive early breast cancer: Safe Her phase III study's primary analysis of 2573 patients. *European Journal of Cancer* 82: 237-246.

Goldhirsch, A., Gelber, R.D., Piccart-Gebhart, M.J., de Azambuja, E. et al (2013), 2 years versus 1 year of adjuvant trastuzumab for HER2-positive breast cancer (HERA): an open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 382(9897): 1021- 1028.

Goss, P.E., Smith, I.E., O'Shaughnessy, J., Ejlertsen, B. et al (2013), Adjuvant lapatinib for women with early-stage HER2-positive breast cancer: a randomised, controlled, phase 3 trial. *The Lancet Oncology* 14 (1): 88-96.

Grogan, T.M., McElhinny, A.S., Loftin, I.R., Warren S.L. et al (2010). Interpretation Guide Ventana INFORM HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail Assay. Ventana, Roch.

Gulati, G., Heck, S.L., Ree, A.H., Hoffmann, P. et al (2016), Prevention of cardiac dysfunction during adjuvant breast cancer therapy (PRADA): a-2 x 2 factorial, randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial of candesartan and metoprolol. *European Heart Journal* 37 (21): 1671-80.

Gupta, N., Verna, R.K., Gupta, S., & Prinia, S. (2020), Cost effectiveness of Trastuzumab for managment of Breast Cancer in India. *JCO Global Oncology*, 6, 205-216.

Hall, P.S., Hulme, C., Mc Cobe, C., Oluboyebe, Y. et al (2011), Updated cost-effectiveness analysis of trastuzumab for early breast Cancer: a UK perspective considerin duration of benefit long term toxicity and pattern of recurrence. *Pharmacoeconomics* 29(5): 415-32.

Hanna, W., Barnes, P., Berendt, R., Chang, M. et al (2012), Testing for HER2 in breast cancer: current pathology challenges faced in Canada. *Current Oncology* 19 (6): 315-323.

Hariri, N., Zare, S., Murphy, J., & Fadare, O. (2020), Cost-effectiveness of a Dual (Immunohistochemistry and Fluorescence In Situ Hybridization) HER2/neu Testing Strategy on Invasive Breast Cancers. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology: AIMM*

Hanna, W.M., Rüschoff, J., Bilous, M., Coudry, R.A. et al (2014), HER2 in situ hybridization in breast cancer: clinical implications of polysomy 17 and genetic heterogeneity. *Modern Pathology* 27 (1): 4-18.

Hays, D.F., & Thor, A.D. (2002), 'C-erbB-2 in breast cancer: development of a clinically useful marker', in WB Saunders, *Seminars in oncology* 29 (3): 231-245.

Hedden, L., O'Reilly, S., Lohrisch, C., Chia, S. et al (2012), Assessing the real-world cost-effectiveness of adjuvant trastuzumab in HER-2/neu positive breast cancer. *Oncologist* 17 (2): 164-171.

Hicks, D. G., & Kulkarni, S. (2008), Trastuzumab as Adjuvant Therapy for Early Breast Cancer: The Importance of Accurate Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing. *Archives of pathology & laboratory medicine* 132 (6): 1008-1015.

Hilal, T., & Romond, E.H. (2016), ERBB2 (HER2) Testing in Breast Cancer. *Jama* 315 (12): 1280-1281.

Hisham, N.Al Z., Shafie, A.A., Izham M., & Ibrahim, M. (2020), Cost-effectiveness analyses of breast cancer medications use in developing countries: a systematic review, *Expert Review of Pharmacoeconomics & Outcomes Research* 1-11.

Hortobagyi, G.N., Connolly, G.L., D' Orsi, C.J., Edge, S.E. et al. (2017), Breast. In: *AJCC Cancer Staging Manual*, Eighth Edition, Springer 2017: 1-97.

Hsu, C.Y., Ho, D.M., Yang, C.F, Lai, C.R. et al (2002), Interobserver Reproducibility of Her-2/neu Protein Overexpression in invasive Breast Carcinoma Using the Dako Herceptest. *American journal of clinical pathology* 118 (5): 693-698.

Hudis, C.A. (2007), Trastuzumab—mechanism of action and use in clinical practice. *New England Journal of Medicine* 357 (1): 39-51.

Hurvitz, S., Martin, M., Symmans, W.F., Jung, K.H. et al (2016), Pathologic complete response (pCR) rates after neoadjuvant trastuzumab emtansine (T-DM1) pertuzumab (P) vs docetaxel + carboplatin + trastuzumab + P (TCHP) treatment in patients with HER2-positive (HER2+) early breast cancer (EBC) (KRISTINE). *American Society of Clinical Oncology Annual Meeting*.

Hynes, N.E., & Stern, D.F. (1994), The biology of erbB2/neu/HER-2 and its role in cancer. *Biochim Biophys Acta* 1198 (2-3), 165-184.

Ioannou, S.S., Marcou, Y., Kakouri, E., & Talias, M.A. (2020), Real-World Setting Cost-Effectiveness Analysis Comparing Three Therapeutic Schemes of One-Year Adjuvant Trastuzumab in HER2-Positive Early Breast Cancer from the Cyprus NHS Payer Perspective. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17 (12): 4339.

Ismael, G., Hegg, R., Muehlbauer, S., Heinzmann, D. et al (2012), Subcutaneous versus intravenous administration of (neo) adjuvant trastuzumab in patients with HER2-positive, clinical stage I–III breast cancer (Hanna H study): a phase 3, open-label, multicentre, randomised trial. *The lancet oncology* 13 (9):869-78.

Jacobs, T.W., Gown, A.M., Yaziji, H., Barnes, M.J. et al. (1999), Specificity of HercepTest in determining HER-2/neu of breast cancer using the US FDA approved scoring system. *Journal of Clinical Oncology* 17 (7): 1983-1987.

Jacobs, T.W., Gown, A.M., Yaziji, H., Barnes, M.J. et al (2000), HER-2/NEU protein expression in breast cancer evaluated by immunohistochemistry. A study of interlaboratory agreement. *American journal of clinical pathology* 113 (2): 251-258.

Joensuu, H., Kellokumpu-Lehtinen, P.L., Bono, P., Alanko, T. et al (2006), Adjuvant docetaxel or vinorelbine with or without trastuzumab for breast cancer. *New England Journal of Medicine* 354 (8): 809-820.

Johnston, S., Pippen, Jr. J., Pivot, X., Lichinitser, M. et al (2009), Letrozole versus letrozole and placebo as first-line therapy for postmenopausal hormonereceptor-positive metastatic breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 27 (33): 5538-46.

Jones, S.E., Savin, M.A., Holmes, F.A., O'Shaughnessy, J.A. et al (2006), Phase III trial comparing doxorubicin plus cyclophosphamide with docetaxel plus cyclophosphamide as adjuvant therapy for operable breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 24 (34): 5381-87.

Jones, S.E., Collea, R., Paul D., Sedlacek, S. et al (2013), Adjuvant docetaxel and cyclophosphamide plus trastuzumab in patients with HER2-amplified early stage breast cancer: a single-group, open-label, phase 2 study. *The Lancet Oncology* 14 (11): 1121-8.

Kaufman, B., Mackey, J.R., Clemens, MR., Bapsy, P.P. et al (2009), Trastuzumab plus anastrozole versus anastrozole alone for the treatment of postmenopausal women with human epidermal growth factor receptor 2-positive, hormone receptor-positive metastatic breast cancer: results from the randomized phase III TAnDEM Study. *Journal of Clinical Oncology* 27 (33): 5529-5537

Kobayashi, M., Ooi, A., Oda, V., & Nakanishi, I. (2002), Protein Overexpression and Gene Amplification of c-erbB-2 in Breast Carcinomas: A comparative Study of Immunohistochemistry and Fluorescence In Situ Hybridization of Formalin-fixed Paraffin Embedded Tissues. *Human Pathology* 33 (1): 21-27.

Larsimont, D., di Leo, A., Rouas, G., Paesmans, M. et al. (2002), HER-2/neu Evaluation by Immunohistochemistry and Fluorescence In Situ Hybridization in Breast Cancer: Implications for Daily Laboratory Practice. *Anticancer Research* 22 (4): 2485-2490.

Lee, J.A., Shaheen, M. Walke T., Daly, M. et al (2012), Clinical and health economic outcomes of alternative HER2 test strategies for guiding adjuvant trastuzumab therapy. *Expert Review of Pharmacoeconomics & Outcomes Research* 11 (3): 325-341.

Leitzel, K., Teramoto, Y., Sampson, E., Mauceri, J. et al (1992), Elevated soluble c-erbB-2 antigen levels in the serum and effusion of a proportion of breast cancer patients. *Journal of clinical oncology* 10 (9): 1436-1443.

Liberato, N.L., Marchetti, M., & Barosi, G. (2007), Cost effectiveness of adjuvant trastuzumab in human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer. *Journal of clinical oncology* 25 (6): 625-633.

Lim, T.H., Lim, A.S.T., Thike, A., et al. (2015), FRCPath Implications of the updated 2013 ASCO/CAP Guideline Recommendations on HER2 gene testing using Immunohistochemistry and FISH for Breast Cancer. *Arch Pathol Lab Med* 140: 140-147.

Linardou, H., Briasoulis, E., Dahabreh, I.J., Mountzios, G. et al (2011), All about KRAS for clinical oncology practice: gene profile, clinical implications and laboratory recommendations for somatic mutational testing in colorectal cancer. *Cancer treatment reviews* 37 (3): 211-233.

Lo Russo, PM., Weiss, D., Guardino, E., Girish, S. et al (2011), Trastuzumab emtansine: a unique antibody-drug conjugate in development for human epidermal growth factor receptor 2–positive cancer. *Clinical Cancer Research* 17 (20): 6437-47.

Macedo, A., Monteiro, I., Andrade, S., Cirrincione, A. et al (2010). Cost-effectiveness of trastuzumab in the treatment of early breast Cancer patient, in Portugal. *Acta Medica Portuguesa* 23 (3): 475-82.

Maia, DM. (1999), Immunohistochemical assays for HER2 overexpression. *Journal of clinical oncology* 17 (5): 1650.

Massood, S., & Bui, MM. (2002), Prognostic and predictive value of HER2/neu oncogene in breast cancer. *Microscopy research and technique* 59(2): 102-108.

McArthur, HL., Mahoney, KM., Morris, PG., Patil, S. et al (2011), Adjuvant trastuzumab with chemotherapy is effective in women with small, node–negative, HER2–positive breast cancer. *Cancer* 117 (24): 5461-8.

Mc Cormick, SR., Lillemoe, TJ., Beneke, J., Schrauth, J. et al (2002), Her2 assessment by immunohistochemical analysis and fluorescence in situ hybridization: comparison of Hercep Test and PathVysion Commercial assays. *American journal of clinical pathology* 117 (6): 935-943

McFarland, A., S. F. (2014), Prepare for revalidation: read this CPD article and write a reflective account *Nursing Standard*, 29(14): 53–59.

Meckley, L.M., & Neumann, P.J. (2010), Personalized medicine: Factors influencing reimbursement. *Health Policy* 94 (2): 91–100.

Millar, J.A., & Millward, M. (2007), Cost effectiveness of Trastuzumab in the early breast Cancer: a lifetime model. *Pharmacoeconomics* 25 (5): 429-442.

National Comprehensive Cancer Network, (2017), ‘NCCN clinical practice guidelines’ in *Oncology, Breast cancer*. Version 3.2017.

Nitta, H., Hauss-Wegrzyniak, B., & Lehrkamp, M. (2008), *Diagnostic Pathology*. 3 (1): 1-12.

- Paik, S., Bryant, J., Tan-Chiu, E., Romond, E. et al (2002), Real-world performance of HER2 testing—National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Experience. *Journal of the National Cancer Institute* 94 (11): 852-4.
- Paik, S., Tang, G., Shak, S., Kim, C. et al (2006), Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *Journal of clinical oncology* 24 (23): 3726-3734.
- Palmer, S., Byford, S., & Raftery, J. (1999), Types of economic evaluation. *British Medical Journal* 318 (7194): 1349.
- Papadopoulos, S., Kouvatseas, G., Skarlos, D., Malamos, N. et al (2007), Comparison of HER2 Detection Methods Between Central and Regional Laboratories in Greece. *Clinical Breast Cancer* 7 (10): 784-790.
- Papadopoulos, S., Arapantoni, P., Sfikas K., Stylianidou, A. et al (2014), Central retesting of breast cancer with HER2 immunohistochemistry score of 0 or 1+ using silver-enhanced in situ hybridization: a multicentre, prospective study in Greece. *Forum of Clinical Oncology* 5 (1): 20-28.
- Papazisis, K.T., & Miles, D.W. (2002), Ο ρόλος της οικογένειας των υποδοχέων του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (HER) στον καρκίνο του μαστού. Από τη μοριακή ογκολογία στην κλινική πράξη. *Βήμα Κλινικής Ογκολογίας* 1 (2): 115-120.
- Patakiouta, F., Balis, G.C., Theodorou, V., Triantafyllidou, E. et al (2012), Silver-enhance in situ hybridization (SISH) detection assay for HER2 gene status determination in breast carcinoma. A four year experience in our laboratory. In: *Virchows Archiv* 461: S252-S252. 233 SPRING ST, NEW YORK, NY 10013 USA: SPRINGER.
- Patakiouta. F., Theodorou. V., Koumpanaki. M., Minotakis. D. et al (2013), Silver-enhanced in situ hybridization (SISH) detection assay and Inform HER2 Dual ISH DNA Probe cocktail assay (DISH) for HER2 gene status determination in breast carcinoma: A new experience. In: *Virchows Archiv* 463 (2): 266-266. 233 SPRING ST, NEW YORK, NY 10013 USA: SPRINGER.
- Patsea, E., Kaklamanis, L., & Batistatou A. (2018), The first report of a 5-year period cancer registry in Greece (2009–2013): a pathology-based cancer registry. *Virchows Archiv* 472 (4): 677-682.

Pauletti, G., Dandekar, S., Rong, H.M., Ramos, L. (2000), Assessment of Methods for Tissue-Based Detection of the HER-2/neu Alteration in Human Breast Cancer: A Direct Comparison of Fluorescence In Situ Hybridization and Immunohistochemistry. *Journal of clinical oncology* 18 (21): 3651-3664.

Pegram, M., & Slamon, D. (2000), Biological rationale for HER2/neu (c-erbB2) as a target for monoclonal antibody therapy. *Seminars in oncology* 27 (5) suppl. 9: 13.

Perez, E.A., Suman, V.J., Davidson, N.E., Martino, S. et al (2006), HER2+testing by local, central, and reference laboratories in specimens from the North Central Cancer Treatment Group N9831 intergroup adjuvant trial. *Journal of Clinical Oncology* 24 (19): 3032-8.

Perez, E.A., Romond, E.H., Suman, V.J., Jeong, J. H. et al (2011), Four-year follow-up of trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer: joint analysis of data from NCCTG N9831 and NSABP B-31. *Journal of clinical oncology* 29 (25): 3366-3373.

Perez, E.A., Suman, V.J., Davidson N.E., Gralow J.R. et al (2011), Sequential versus concurrent trastuzumab in adjuvant chemotherapy for breast cancer. *Journal of clinical oncology* 29 (34): 4491.

Perez, E.A., Romond, E.H., Suman, V.J., Jeong, J-H. et al (2014), Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer: planned joint analysis of overall survival from NSABP B-31 and NCCTG N9831. *Journal of Clinical Oncology* 32 (33): 3744-52.

Perez, E.A., López-Vega, J.M., Petit, T., Zamagni, C. et al (2016), Safety and efficacy of vinorelbine in combination with pertuzumab and trastuzumab for first-line treatment of patients with HER2-positive locally advanced or metastatic breast cancer: VELVET Cohort 1 final results. *Breast Cancer Research* 18 (1): 126.

Perou, C.M., Sorlie, T., Eisen, M.B., Van De Rijn, M. et al. (2000) Molecular portraits of human breast tumors. *Nature* 406 (6797): 746-748.

Piccart-Gebhart, M.J., Procter, M., Leyland-Jones, B., Goldhirsch, A. et al (2005), Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *New England Journal of Medicine* 353 (16): 1659-1672.

Piccart-Gebhart, M., Holmes, E., Baselga, J., de Azambuja, E. et al (2015), Adjuvant lapatinib and trastuzumab for early human epidermal growth factor receptor 2-positive breast

cancer: results from the randomized phase III adjuvant lapatinib and/or trastuzumab treatment optimization trial. *Journal of Clinical Oncology* 34 (10): 1034.

Pituskin, E., Mackey, JR. R., Koshman, S., Jassal, D. et al (2015), Prophylactic beta blockade preserves left ventricular ejection fraction in HER2-overexpressing breast cancer patients receiving trastuzumab: primary results of the MANTICORE randomized clinical trial. In: *Proceedings of the 36th Annual CTRC-AACR San Antonio Breast Cancer Symposium*. 2015 (Abstract S1-05).

Pivot, X., Romieu, G., Debled, M., Pierga, JY. et al (2013), PHARE trial investigators. 6 months versus 12 months of adjuvant trastuzumab for patients with HER2-positive early breast cancer (PHARE): a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 14 (8): 741-748.

Press, M.F., Pike, M.C., Chasin, V.R., Hung, G. et al (1993), Her-2/neu expression in node-negative breast cancer: direct tissue quantification by computerized analysis and association of over expression with increased risk of recurrent disease. *Cancer Research* 53 (20): 4960-4970.

Press, M.F., Hung, G., Godolphin, W., & Slamon, D. J. (1994), Sensitivity of HER-2/neu antibodies in archival tissue sample: potential source of error in immunohistochemical studies of oncogene expression. *Cancer Research* 54 (10): 2771-2777.

Press, M.F., Slamon, D.J., Flom, K.J., Park, J. et al (2002), Evaluation of HER-2/neu gene amplification and overexpression: comparison of frequently used assay methods in a molecularly characterized cohort of breast cancer specimens. *Journal of Clinical Oncology* 20 (14): 3095-3105.

Rakha, E.A., Starczynski J., Lee, A.H.S., & Ellis, J.O. et al (2014), The updated ASCO/CAP guidelines recommendations for HER2 testing in the management of invasive breast cancer: a critical review of their implications for routine practice. *Histopathology* 64 (5): 609-615.

Rakha, E.A., Pigera, M., Shaaban, A. et al (2015), National Guidelines and level of evidence: Comments on some of the new recommendations in the American Society of Clinical Oncology and the College of American Pathologists Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 guidelines for breast cancer. *Journal Clinical Oncology* 33:1301-1302.

Ridolfi, R.L., Jamehdor, M.R., & Arber, J.M. (2000), Her-2/neu Testing in breast carcinoma: A Combined Immunohistochemical and Fluorescence In Situ Hybridization Approach. *Modern Pathology* 13 (8): 866-873.

- Riewpaiboon, A. (2014). Measurement of costs for health economic evaluation. *Journal of the Medical Association of Thailand* 97 (5): 17–26.
- Robidoux, A., Tang, G., Rastogi, P., Geyer, C.E. et al (2013), Lapatinib as a component of neoadjuvant therapy for HER2-positive operable breast cancer (NSABP protocol B-41): an open-label, randomised phase 3 trial. *The lancet oncology* 14 (12): 1183-92.
- Romond, E.H., Perez, E.A., Bryant, J., Suman, V.J. et al (2005), Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *New England Journal of Medicine* 353 (16): 1673-1684.
- Romond, E.H., Jeong, J-H., Rastogi, P., Swain, S.M. et al (2012), Seven-year follow-up assessment of cardiac function in NSABP B-31, a randomized trial comparing doxorubicin and cyclophosphamide followed by paclitaxel (ACP) with ACP plus trastuzumab as adjuvant therapy for patients with node-positive, human epidermal growth factor receptor 2–positive breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 30 (31): 3792-9.
- Ross, J.S., & Fletcher, J.A. (1998), The HER-2/neu oncogene in breast cancer: prognostic factor, predictive factor and target for therapy. *Stem cells* 16 (6): 413-428.
- Rugo, H.S., Rumble, B.R., Macrae, E., Barton, D.L. et al (2016), Endocrine therapy for hormone receptor-positive metastatic breast cancer: American Society of Clinical Oncology guideline. *Journal of Clinical Oncology* 34 (25): 3069-3103.
- Safonov, A., Wang, S., Gross, C.P., Agarwal, D. et al (2016), Assessing cost-utility of predictive biomarkers in Oncology: a streamlined approach. *Breast cancer research and treatment* 155(2): 223-234.
- Scaltriti, M., Verma, C., Guzman, M., Jimenez, J. et al (2009), Lapatinib, a HER2 tyrosine kinase inhibitor, induces stabilization and accumulation of HER2 and potentiates trastuzumab-dependent cell cytotoxicity. *Oncogene* 28 (6): 803-14.
- Seferina, S.C., Ramaeker, B.LT., de Boer, M., Derskgen, M.W. et al (2017), Cost and Cost-effectiveness of adjuvant trastuzumab in the real world setting. A study of the Southeast Netherlands breast Cancer Consortium. *Oncotarget* 8 (45): 79223-233.
- Shousha, S., Peston, D., Amo-Takyi, B., Morgan, M. et al (2009), Evaluation of automated SISH for detection of HER2 gene amplification in breast carcinoma excision and core biopsy specimens. *Histopathology* 54 (2): 248-53.

Schneeweiss, A., Chia, S., Hickish, T., Harvey, V. et al (2013), Pertuzumab plus trastuzumab in combination with standard neoadjuvant anthracycline-containing and anthracycline-free chemotherapy regimens in patients with HER2-positive early breast cancer: a randomized phase II cardiac safety study (TRYPHAENA). *Annals of oncology* 24 (9): 2278-84.

Slamon, D.J., Clark, G.M., Wong, S.G., Levin, W.J. et al (1987), Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 235 (4785): 177-82.

Slamon, D.J., Leyland-Jones, B., Shak, S., Fuchs, H. et al (2001), Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *New England Journal of Medicine* 344 (11): 783-92.

Slamon, D., Eiermann, W., Robert, N., Pienkowski, T. et al (2005), Phase III randomized trial comparing doxorubicin and cyclophosphamide followed by docetaxel (AC-T) with doxorubicin and cyclophosphamide followed by docetaxel and trastuzumab (AC-TH) with docetaxel, carboplatin and trastuzumab (TCH) in HER2 positive early breast cancer patients: BCIRG 006 study. *Breast cancer research and treatment* 94: S5.

Slamon, D., Eiermann, W., Robert, N., Pienkowski, T. et al (2011), Adjuvant trastuzumab in HER2-positive breast cancer. *New England Journal of Medicine* 365 (14): 1273-1283.

Slamon, D., Eiermann, W., Robert, N. J., Giermek, J. et al (2015), Ten-year follow-up of BCIRG-006 comparing doxorubicin plus cyclophosphamide followed by docetaxel with doxorubicin plus cyclophosphamide followed by docetaxel and trastuzumab with docetaxel, carboplatin and trastuzumab in HER2-positive early breast cancer patients. In: *2015 San Antonio Breast Cancer Symposium*. Abstract S5-04.

Sliwkowski, M.X., Schaefer, G., Akita, P.W., Lofgren, J. A. et al (1994), Coexpression of erbB2 and erbB3 proteins reconstitutes high affinity receptor for heregulin *Journal of Biological Chemistry* 269 (20): 14661-14665.

Smyth, L.M., Iyengar, N.M., Chen, M.F., Popper, S.M. et al (2016), Weekly paclitaxel with trastuzumab and pertuzumab in patients with HER2-overexpressing metastatic breast cancer: overall survival and updated progression-free survival results from a phase II study. *Breast cancer research and treatment* 158 (1): 91-97.

Swain, S.M., Tang, G., Geyer, C.E. Jr., Rastogi, P. et al (2013), Definitive results of a phase III adjuvant trial comparing three chemotherapy regimens in women with operable, node-

positive breast cancer: the NSABP B-38 trial. *Journal of Clinical Oncology* 31 (26): 3197-3204.

Swain, S.M., Baselga, J., Kim, S-B., Jungsil, R.J. et al (2015), Pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel in HER2-positive metastatic breast cancer. *New England Journal of Medicine* 372 (8): 724-734.

Thomson, T.A., Hayes, M.M., Spinelli, J.J., Hilland, E. et al. (2001), HER-2/neu in Breast Cancer: Interobserver variability and Performance of Immunohistochemistry with 4 Antibodies Compared with Fluorescent In Situ Hybridization. *Modern Pathology* 14 (11): 1079-1086.

Tolaney, S.M., Barry, W.T., Dang, C.T., Yardley, D.A. et al (2015), Adjuvant paclitaxel and trastuzumab for node-negative, HER2-positive breast cancer. *New England Journal of Medicine* 372 (2): 134-141.

Tsuda, H., Sasano, H., Akiyama, F., Kurosumi, M. et al (2002), Evaluation of interobserver agreement in scoring immunohistochemical results of HER-2/neu (c-erbB-2) expression detected by HercepTest, Nichirei polyclonal antibody, CB11 and TAB 250 in breast carcinoma. *Pathology International* 52 (2): 126-134.

Untch, M., Fasching, P.A., Konecny, G.E., Hasmüller, S. et al (2011), Pathologic complete response after neoadjuvant chemotherapy plus trastuzumab predicts favorable survival in human epidermal growth factor receptor 2- overexpressing breast cancer: results from the TECHNO trial of the AGO and GBG study groups. *Journal of Clinical Oncology* 29 (25): 3351-3357.

Van de Vijver, M.J. (2001), Assessment of the need and appropriate method for testing for the human epidermal growth factor receptor-2 (HER2). *European Journal of cancer* 37: 11-17.

Vang, R., Cooley, L.D., Harrison, W.P., Reese, T. et al (2000), Immunohistochemical determination of HER-2/neu expression in invasive breast carcinoma. *American journal of clinical pathology* 113 (5): 669-674.

van Krieken, I.H., Normanno, N., Blackhall, F., Boone, E. et al (2013), Guideline on the requirements of external quality assessment programmes in molecular pathology. *Virchows Archiv: an international journal of pathology* 462: 27-37.

Verma, S., Miles, D., Gianni, L., Krop, I.E. et al (2012), Trastuzumab emtansine for HER2-positive advanced breast cancer. *New England Journal of Medicine* 367 (19): 1783-1791.

von Minckwitz, G., Procter, M., de Azambuja, E., Zardavas, D. et al (2017), Adjuvant pertuzumab and trastuzumab in early HER2-positive breast cancer. *New England Journal of Medicine* 377 (2): 122-131.

Wolff, A.C., Hammond, M.E., Schwartz, J.N., Hagerty, K. L. et al (2007), American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer. *Archives of pathology & laboratory medicine* 131 (1): 18-43.

Wolff, A.C., Hammond, M.E.H., Hicks, D.G., Dowsett, M. et al (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. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* 138 (2): 241-56.

Wolff, A.C., Hammond, M.E.H., Hicks, D.G., et al. (2015) Reply to Rakha et al. *J Clin Oncol* 33:1302-1303.

Wolff, A.C., Hammond, M.E.H., Allison, K.H., Harvey, B.E. et al (2018), HER2 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.

Yaziji, H., & Gown, A.M. (2002), Testing for Her-2/neu in Breast Cancer Is Fluorescence In Situ Hybridization Superior in Predicting Outcome? *Advances in Anatomic Pathology* 9 (6): 338-344.

<https://www.galinos.gr>

Ελληνική

Αθανασάκης, Κ. Π. (2012), Μελέτη κόστους - χρησιμότητας της θεραπευτικής αντιμετώπισης των ασθενών με υπέρταση στην Ελλάδα, Διδακτορική διατριβή, Εθνικό Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (ΕΚΠΑ).

Αναγνωστοπούλου, Α. (2019), Ανάλυση κόστους-αποτελεσματικότητας του Eribulin για την θεραπεία τοπικά προχωρημένου ή μεταστατικού καρκίνου του μαστού μετά από δύο ή περισσότερα προηγούμενα σχήματα χημειοθεραπείας, Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης στα Οικονομικά και Διοίκηση της Υγείας, Τμήμα Οικονομικής Επιστήμης Πανεπιστήμιο Πειραιώς.

Ανδρεάδης, Χ. (2017), Σύντομος Πρακτικός Οδηγός για τις στοχεύουσες θεραπείες σε συμπαγή νεοπλάσματα (σελ. 322-324). Εκδόσεις Μαυρογένης, Καλοχώρι, Θεσσαλονίκη.

Επιτροπή για την παρακολούθηση της φαρμακευτικής δαπάνης, την ολοκλήρωση των διαγνωστικών/θεραπευτικών πρωτοκόλλων και τη δημιουργία μητρώων ασθενών, (2019), Επιστημονική ομάδα εργασίας νεοπλασιών καρκίνου μαστού. Γενική Γραμματεία Υπουργείου Υγείας: 1-46.

ΕΟΠΥΥ, (2014), Συνταγογράφηση και αποζημίωση ογκολογικών φαρμάκων. Σε: *Υπουργική Απόφαση υπ' αριθμ. 49516 (ΦΕΚ 1511/Β/06.06.2014)*, Έγγραφο με αρ. πρωτ. 23797/26-6---2014.

Καλαϊτζή, Μ., & Πατακιούτα-Μπούκαλη, Φ. (2006), Ανοσοϊστοχημική ανίχνευση της p185 her-2/neu ογκοπρωτεΐνης στο καρκίνωμα του μαστού - τεχνικά προβλήματα. Αναρτημένη ανακοίνωση σε *Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής*, Ιωάννινα.

Κυριόπουλος, Γ., & Νιάκας Δ. (1994), Θέματα Οικονομικών και Πολιτικής Υγείας, Κέντρο Κοινωνικών Επιστημών και Υγείας, Αθήνα.

Κυριόπουλος, Γ., Οικονόμου, Χ., Γεωργούση, Ε., Γείτονα, Μ., 1999, Τα Οικονομικά της Υγείας Κυριόπουλος Από Το Α ως το Ω, Εξαντας/Πολιτικές Υγείας, Αθήνα

Κυριόπουλος, Γ., & Γείτονα, Μ. (2007), Τα Οικονομικά της Υγείας, Μέθοδοι και εφαρμογές της οικονομικής αξιολόγησης, Εκδόσεις Παπαζήσης, Αθήνα.

Παπαδόπουλος, Σ. (2003), Ανίχνευση αντιγράφων γονιδίου HER2/NEU στο καρκίνωμα του μαστού με τη μέθοδο in situ του φθορίζοντος in situ υβριδισμού (FISH). Αρχεία Παθολογικής Ανατομικής 17 (1): 36-39 .

Πατακιούτα-Μπούκαλη, Φ. (2003),Ανοσοϊστοχημικός προσδιορισμός της p185 Her-2/neu ογκοπρωτεΐνης στο καρκίνωμα του μαστού. Αρχεία Παθολογικής Ανατομικής 17(1):σελ.28-35.

Πατακιούτα, Φ., Τσιάπλα, Θ., Τριανταφυλλίδου, Ε., Γαλλίδης, Ε. et al (2018), Η μέθοδος Silver-enhanced In Situ Hybridization (SISH) στην εκτίμηση της κατάστασης του Her-2 γονιδίου στον καρκίνο του μαστού. Η εμπειρία μιας δεκαετίας στο Παθολογοανατομικό τμήμα του Α.Ν.Θ."Θεαγένειο". Αναρτημένη ανακοίνωση σε: *Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής*, Θεσσαλονίκη.

Συμεωνίδης, Σ. (2018), Τεχνικές προσδιορισμού κόστους-χρησιμότητας και αποζημίωσης παρεμβάσεων εξατομικευμένης θεραπείας. Μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία, Σχολή Υγείας, Τμήμα Φαρμακευτικής του Πανεπιστημίου Πατρών, Πάτρα.

ΦΕΚ 62 Α΄, 1991. ΠΔ 157. Αύξηση αμοιβών ιατρικών επισκέψεων και ιατρικών και οδοντιατρικών πράξεων. Σ.1.: Εθνικό Τυπογραφείο.

ΦΕΚ 41/Α/1-3-12. Νόμος 4052/2012 άρθρο 135: Συγκρότηση Ογκολογικών Συμβουλίων.

ΦΕΚ 3458 Α΄, 2016. ΥΑ Α3(γ)/οικ.76492. Κοστολόγηση και ανακοστολόγηση ιατρικών πράξεων., Σ.1.: Εθνικό Τυπογραφείο.-

