



Kandidaatintutkielma  
Rintasyövän täsmälääkehoidot  
Aino-Maija Kiiski

Oulun yliopisto  
Biokemian ja molekyyli lääketieteen tiedekunta  
2024

# Sisällysluettelo

Käytetyt lyhenteet

## KIRJALLISUUSTUTKIELMA

<b>1. Rintasyövän tilastoja</b> .....	6
<b>2. Erilaisten rintasyöpätyyppien jaottelu solun reseptorien mukaan</b> .....	7
<b>2.1. Luminal A -alaluokka</b> .....	8
<b>2.2. Luminal B -alaluokka</b> .....	8
<b>2.3. HER2-positiivinen alaluokka</b> .....	9
<b>2.4. Kolmoisnegatiivinen alaluokka</b> .....	9
<b>3. Jaottelu paikallisuuden mukaan</b> .....	10
<b>4. Syövälle altistavat geenit BRCA 1 ja BRCA 2 sekä p53</b> .....	10
<b>5. Täsmälääkehoidot</b> .....	12
<b>5.1. Vasta-aineisiin konjugoidut lääkehoidot</b> .....	12
<b>5.1.1. Rakenne</b> .....	13
<b>5.1.2. Antigeeni</b> .....	13
<b>5.1.2.1. HER2-tyrosiinikinaasi</b> .....	13
<b>5.1.3. Monoklonaalinen vasta-aine</b> .....	16
<b>5.1.3.1 IgG1, Trastuzumab (Herceptin)</b> .....	17
<b>5.1.4. Kiinnike</b> .....	19
<b>5.1.5. Solusalpaaja</b> .....	20
<b>5.1.5.1. Trastuzumab emtansine, T-DM1 (Kadcyla)</b> .....	20
<b>5.1.5.2. Kliiniset tulokset</b> .....	21
<b>5.2. Tyrosiinikinaasi-inhibiittorit</b> .....	23
<b>5.2.1. Lapatinib (Tykerb)</b> .....	23
<b>5.3. CDK4/6-estäjät</b> .....	24
<b>5.3.1. Palbociclib (Ibrance)</b> .....	26
<b>5.3.2. Ribociclib (Kisqali)</b> .....	28
<b>5.3.3. Abemaciclib (Verzenio)</b> .....	28
<b>5.4. PARP-estäjät</b> .....	29
<b>5.4.1. Olaparib (Lynparza)</b> .....	31
<b>5.4.2. Talazoparib (Talzenna)</b> .....	32
<b>5.4.3. Olaparib vs. Talazoparib</b> .....	33
<b>5.5. NTRK-estäjät</b> .....	33
<b>5.5.1. Larotrectinib (Vitrakvi, LOXO-101)</b> .....	35
<b>5.6. Verisuonten kasvun esto</b> .....	36

<b>5.6.1. Everolimus (Afinitor)</b> .....	37
<b>5.6.2. mTOR, PI3K, AKT inhibitio</b> .....	38
<b>6. Seulonnat ja syöpäkuolemien ehkäiseminen</b> .....	40
<b>7. Kirjallisuusviitteet</b> .....	42

## Käytetyt lyhenteet

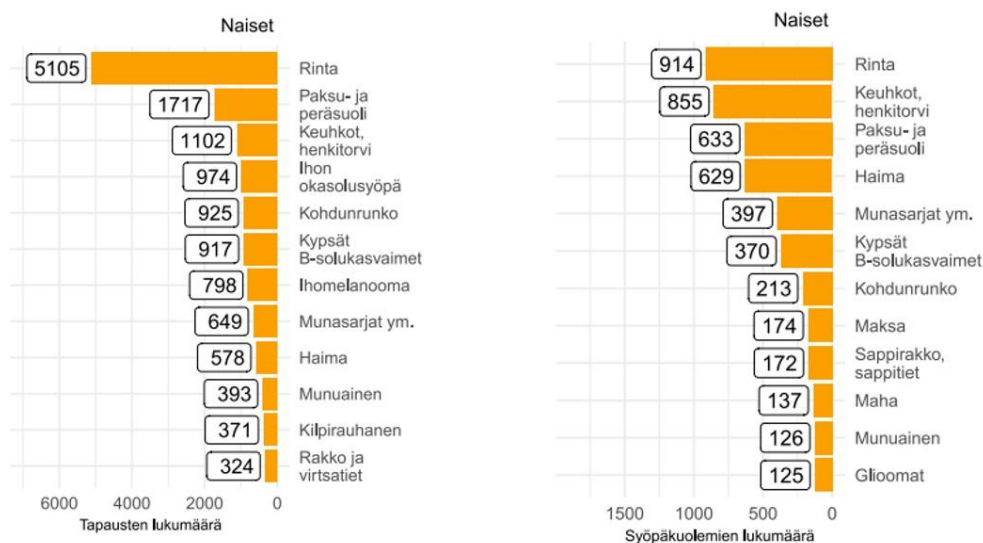
ADC	Antibody-Drug Conjugate
BRCA	Breast Cancer Susceptibility Gene
CDK	Cyclin-Dependent Kinases, Sykliineistä riippuvaiset kinaasit
DDR	DNA-Damage Repair
EMA	European Medicines Agency
ER	Estrogeenireseptori
ER+	Estrogeenireseptoriposiitivinen
ESMO	European Society of Medical Oncology
Fab	The Fragment Antigen-Binding Region
Fc	The Fragment Crystallizable Region
FDA	U.S. Food And Drug Administration
FGF	Fibroblast Growth Factor, Fibroblasti-kasvutekijä
HER2 reseptori 2	Human Epidermal Growth Factor Receptor 2, Epidermaalisen kasvutekijän reseptori 2
HER2+	Epidermaalinen kasvuhormonireseptoriposiitivinen
HIF	Hypoxia-Inducible Factor, Hypoksia välitteinen tekijä
HRR	Homologous Recombination Repair
IDC	Invasive Ductal Carcinoma
IDFS	Invasive Disease Free Survival
IgG	Immunoglobuliini-G
ILC	Invasive Lobular Carcinoma
mTOR	Mammalian Target of Rapamycin
NCCN	National Comprehensive Cancer Network from USA
NICE	National Institute for Health And Care Excellence
NTRK	Neurotrophic Tyrosine Receptor Kinase
PARP	Poly-ADP ribose polymerase
PR	Progesteronireseptori
PR+	Progesteronireseptoriposiitivinen
RB	Retinoblastoma Tumor Suppression Protein
SG	Sacituzumab Govitecan

T-DM1	Ado-Trastuzumab Emtansine
T-Dxd	Fam-Trastuzumab Deruxtecan
TKI	Tyrosine Kinase Inhibitor, Tyrosiinikinaasi-inhibiittori
TNBC	Triple-Negative Breast Cancer, Kolmoisnegatiivinen rintasyöpä
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor, Verisuonten endoteelin kasvutekijä
VEGFR	Vascular Endothelial Growth Factor Reseptor

## 1. Rintasyövän tilastoja

Rintasyöpä on yleisin syöpä, johon naiset sairastuvat. Suomessa diagnosoitiin vuonna 2021 5105 uutta tapausta. Rintasyöpä oli myös yleisin syöpäkuolemien aiheuttajana naisilla (Kuva 1). Suomessa viiden vuoden jälkeinen elossa olon ennusteprosentti oli 92 % vuonna 2021. (Seppä *et al.* 2021) Tämä oli kuudenneksi paras tulos verrattuna muihin syöpiin, joihin naiset sairastuivat. Tuloksissa tulisi kuitenkin ottaa huomioon, että useissa tapauksissa uusiutuminen käy ilmi vasta kyseisen ajanjakson jälkeen ja tämän takia tilastollinen ennuste ei anna kokonaiskuvaa rintasyövän elossaoloennusteesta (Pan *et al.* 2017). Suomessa hoitotulokset rintasyövän kohdalla olivat kansainvälisessä vertailussa huipputasoa vuonna 2018 julkaistun tutkimuksen mukaan (Allemani *et al.* 2018).

Miesten riski sairastua rintasyöpään Suomessa vuonna 2021 oli 0,1 %, kun vastaava luku naisilla oli 13,3 % (Seppä *et al.* 2021).



**Kuva 1. Uusien syöpätapausten lukumäärät sekä syöpäkuolemien lukumäärät naisilla vuonna 2021. Kuva on muokattu lähteestä Seppä *et al.* 2021.**

## 2. Erilaisten rintasyöpätyyppien jaottelu solun reseptorien mukaan

Biologisten tekijöiden mukaan rintasyöpä voidaan jakaa neljään eri alaryhmään. Ryhmät ovat hormonireseptoriposiitiiviset luminal A ja luminal B, HER2-positiivinen (HER2+) ja kolmoisnegatiivinen (TNBC). Luokittelu pohjautuu hormonireseptorien poikkeavaan ilmenemiseen. Nämä reseptorit toimivat sitoutumiskohtina estrogeenille, progesteronille ja epidermiselle kasvutekijälle. Tutkimuksen kehittyessä on kyetty saamaan lisätietoa syöpien luokittelussa molekyyllitasolla ja niiden tyypillisesti ilmentävistä tekijöistä, joita kutsutaan markkereiksi. Nykytekniikalla voidaan hyödyntää tietoa ennusteeseen ja hoidon suunnitteluun monista syövässä esiintyvistä tyypillisistä merkeistä, kuten eri mikro RNA:sta ja mutaatioista tietyissä geneissä, kuten BRCA 1:ssä ja 2:ssa sekä p53:ssa. Ki-67 on solujen erittämä antigeeni, joka toimii merkinä solujen lisääntymiselle. Antigeeni on kyetty yhdistämään syövän aggressiivisuuteen, toipumisaikaan ja hoidon vasteeseen. Ki-67-indeksi jakautuu korkeaan, keskitasoon ja matalaan, kun sitä hyödynnetään syövän diagnostiikassa (Haroon *et al.* 2013).

Estrogeenireseptorin liiallinen ilmeneminen (ER+) on tyypillistä noin 70–75 %:lle leviävistä syöpätapauksista (Orrantia-Borunda *et al.* 2022). Progesteronireseptorin ilmeneminen (PR+) on yleisempää tapauksissa, joissa myös estrogeenin reseptoria ilmenee. Tämä johtuu siitä, että estrogeeni säätelee progesteronireseptorien tuottamista. Estrogeenireseptoriposiitiivinen syöpä on 50 %:n todennäköisyydellä myös progesteroniposiitiivinen. Hyvin harvoissa tapauksissa syöpä ilmentää progesteroniposiitiivisuutta ilman estrogeeniposiitiivisuutta. Korkeamman progesteronitason on huomattu olevan kytköksissä parempaan ennusteeseen, kun taas matalampi taso korreloi aggressiivisempaa sairautta ja huonompaa ennustetta (Purdie *et al.* 2014).

Rintasyöpätapauksista 15–25 %:a ilmentää epidermisen kasvutekijän sitovaa HER2 -reseptoria. On hoidon kannalta oleellista määrittää kyseisen reseptorin ilmaantuvuus, sillä se vaikuttaa käytössä oleviin hoitomuotoihin merkittävästi. HER2-reseptorin havaitseminen ja verenkuvasta selviävä pitoisuuksien selvittäminen mahdollistaa syövän leviämisen sekä uusiutumisen havaitsemisen, sillä HER2 toimii reaaliaikaisena indikaattorina olemassa olevalle kasvaimelle. HER2:n havainnointi kasvattaa metastoituneen kasvaimen tai uusiutumisen kasvaimen havainnoinnin mahdollisuutta 50–80 %:lla (Orrantia-Borunda *et al.* 2022). Korkeampi HER2 -pitoisuus aktivoi proto-onkogeenista signaaliketjua entisestään ja johtaa hallitsemattomaan solujen jakautumiseen, mikä korreloi huonomman ennusteen kanssa.

Tutkimukset ovat osoittaneet, että HER2:n liiallinen aktiivisuus korreloi myös kokonaisselviytymisen sekä sairaudesta vapaan ajan kanssa (Gusterson *et al.* 1992, Press *et al.* 1993, Andrulis *et al.* 1998).

Erilaisille syöpätyypeille erotellut ominaisuudet on esitetty taulukossa I.

## **2.1. Luminal A -alaluokka**

Luminal A on yleisin rintasyöpätyyppi. Noin 50–60 % syöivistä ovat tätä alaluokkaa (Yersal *et al.* 2014). Luminal A -ryhmän syövät ovat joko ER+ ja PR+ tai ilmentävät vain toista reseptorityyppiä. Solut eivät ilmennä HER2-reseptoria. Syöväälle on tyypillistä myös matala Ki-67-antigeenin tuotto. Syövän alaluokalle on tyypillistä hitaampi kasvunopeus sekä solujen jakautuminen. Hoitoennuste on parhain verrattuna muihin alaluokkiin. Tämä pätee niin uusiutumisen kuin kokonaisselviytymisen kannalta. Kyseisen syövän hoidossa hormonihoidoilla, kuten tamofixenillä sekä aromataasi-inhibiittoreilla, on korkea vaste. Vastaavasti kemoterapian hyöty on rajoittuneempi (Higgins *et al.* 2009). Geneettistä profiloointia hyödyntävät tutkimukset ovat kuitenkin osoittaneet, että joissain tapauksissa potilaat voisivat hyötyä kemoterapian yhdistämisestä eri hormonihoitoihin (Paik *et al.* 2006). European Society of Medical Oncology (ESMO) ja National Comprehensive Cancer Network from USA (NCCN) ovat määrittäneet, että geneettisten profiloointitestien hyödyntäminen olisi suositeltavaa kyseistä syöpätyyppiä sairastavalla potilasryhmällä, jotta voitaisiin nähdä jokaisen potilaan yksilöllinen tarve kemoterapialle yhtenä oheishoidoista uusiutumisen estämiseksi sekä selviytymisasteen nostamiseksi (Paluch-Shimon *et al.* 2020, Zhou *et al.* 2020). Syövän leviäminen luminaalilla A -luokalla on yleisempää luustoon ja harvinaisempaa muuhun pehmytkudokseen sekä keskushermostoon.

## **2.2. Luminal B -alaluokka**

Luminaalille B -luokalle on tyypillistä olla joko ER+ tai PR+. Suurin osa syöpätyypeistä ilmentää estrogeeni-positiivista muotoa. Ki-67-antigeenin ilmeneminen on runsasta syövässä. Luminal B -syöpätyypin ennuste on yleisesti huonompi kuin A-alaluokan syöville. Solujen jakautuminen ja kasvu ovat nopeaa muun muassa korkean Ki-67 ilmenemisen takia (Inic *et al.* 2014). Jakautuminen voidaan luokitella kyseiselle syöpätyypille keskitasoa tai korkeaa ilmentäväksi. Luminaaleista syöivistä 10–20 % ovat B-alaluokan syöpiä. Syövän hoidossa



hormonihoidolla on korkea vaste ja myös kemoterapian vaste on korkeampi kuin verrattaessa luminaaliin A -ryhmään. Syövän uusiutumisen riski on korkeampi ja selviytymisen ennuste uusiutumisesta on matalampi (Park *et al.* 2012).

### **2.3. HER2-positiivinen alaluokka**

Noiin 10–15 % rintasyövistä on HER2-reseptoriposiitivisia syöpiä. Tälle syöväälle on ominaista korkea HER2, epidermaalisen kasvuhormonin, reseptorin ilmeneminen. Estrogeeni ja progesteroni reseptoreita ei tyypillisesti ole ylimäärin. Alaluokka voidaan jakaa kuitenkin vielä kahteen erilliseen ryhmään eroavaisuuksien myötä. Luminaalissa HER2 -muodossa syöpä ilmentää kaikkia kolmea reseptoryyppiä ja vähemmän Ki-67-antigeeniä, kun taas HER2-ilmennetyssä ryhmässä, vain HER2-reseptoria on tuotettu liikaa. Näistä kahdesta ryhmästä luminaali versio on parempiennusteisempi. HER2+-syövässä erilaisten reseptorien vähäisempi valikoima johtaa siihen, että lääkinnällisiä hoitomenetelmiä on vähemmän ja hoidon paine kohdistuu olemassa oleviin reseptoreihin eli tässä tilanteessa vain HER2-reseptoriin. HER2+-alaluokan syöpä on yleisesti aggressiivisempi ja nopeammin kasvava kuin edelliset alaluokat ja ennuste on verrattain huonompi. Ennuste on kuitenkin parantunut täsmälääkehoitojen myötä, jotka kohdistuvat HER2 -reseptoriin. Esimerkkeinä tällaisista täsmälääkehoidoista ovat monoklonaaliset vasta-aineet trastuzumab sekä pertuzumab, vasta-aineeseen konjugoitu lääkehoito kuten T-DM1 sekä tyrosiinikinaasi-inhibiittorit neratinib ja lapatinib. Myös leikkaushoito ja kemoterapia ovat osana hoitoa. Metastoituminen luustoon, on yleisin leviämisen muoto. Uusiutuminen yleisesti sekä sisäelimiin kohdistunut uusiutuminen ovat yleisempiä kuin aikaisemmissa alaryhmissä.

### **2.4. Kolmoisnegatiivinen alaluokka**

Kolmoisnegatiivinen rintasyöpä (TNBC, Triple negative breast cancer) on syövistä kaikista huonoennusteisin muoto. Noiin 20 % rintasyövistä ovat kyseistä alaluokkaa ja syöpätyyppi ilmenee yleisimmin alle 40-vuotiailla naisilla. Syöpätyypin luokittelu ja nimi muodostuu siitä, että syöpäsoluissa ei ole normaalia suurempaa ilmentymistä minkään aiemmin mainitun reseptorin kohdalla. Tämä aiheuttaa suuria haasteita syöpätyypin hoidossa ja täsmälääkkeiden kehittämisessä sekä toimivuudessa. Kolmoisnegatiivinen luokka voidaan jakaa useampaan alaryhmään erilaisten ominaisuuksien, kuten fenotyypin ja farmakologisen herkyyden

mukaan. Alaryhmiä ovat basaalinen, claudin matala sekä tavallisemman rintasyöpäkasvaimen muodostava.

Noin 80 % kasvaimista, jotka sisältävät syöpägeenin BRCA 1 ja BRCA 2 aktiivisen muodon, ovat kolmoisnegatiivisia syöpiä. Syövälle on tyypillistä nopea uusiutuminen, aggressiivisuus sekä varhaisten vaiheiden tunnistettavuus. Syövässä on korkea jakautumisen aste. DNA:n korjaussysteemeissä ilmenee yleensä paljon muutoksia ja genomissa yleisesti epävakautta. Histologisesta näkökulmasta jakautuminen on nopeaa ja erilaistuminen heikkoa.

### **3. Jaottelu paikallisuuden mukaan**

Rintasyöpätyypeistä 70–75 % ovat duktaalisia. Syöpäsolut levittäytyvät tiehytkudoksesta tiehyettä ympäröiviin kudoksiin. Mikäli syöpä todetaan jo ennen sen leviämistä tiehytkudoksen ulkopuolelle, käytetään tällöin nimitystä intraduktaalin karsinoma. Tämä luokitellaan syövän esiasteeksi. Syöivistä 12–15 % on lobulaarisia, eli sijaitsevat rinnan rauhaskudoksessa. Näiden lisäksi on 18 eri alatyyppeä, jotka voidaan luokitella tiettyyn luokkaan paikallisuuden mukaan. Nämä ovat kuitenkin harvinaisempia (0,5–5 %). Lobulaarinen ja duktaalin ovat yleisimmät. (Cardoso *et al.* 2019)

Lobulaarinen rintasyöpä (ILC, invasive lobular carcinoma) muodostaa tyypillisemmin lineaarisempaa kasvustoa, kun taas duktaalin (IDC, invasive ductal carcinoma) muodostaa selkeämmin suurempia pyöreitä kasvainmassoja. Kasvutapa vaikuttaa syövän aikaisemman vaiheen havaitsemiseen ja siihen, joudutaanko hoidossa mahdollisesti turvautumaan masektomiaan, eli rinnan poistoon. Lobulaarisella syövällä on huonompi ennuste kuin duktaalisella. Erityisesti kasvaimilla, joissa havaitaan estrogeenireseptorin ilmentäminen, muttei progesteronireseptoria. (Chen *et al.* 2017, Yang *et al.* 2020)

Rintasyöpää luokitellaan myös sen levinneisyyden mukaan. Tässä kutsutaan TNM-luokitukseksi. T-luokka kertoo syöpäkasvaimen koosta, N-luokka levinneisyydestä kinalalon imusolmukkeisiin ja M-luokka vastaavasti levinneisyydestä muualle elimiin.

### **4. Syövälle altistavat geenit BRCA 1 ja BRCA 2 sekä p53**

Perinnöllisistä syistä johtuva syövälle altistumisen prosentti kasvaa sen mukaan, onko perheessä tai suvussa aiempia syöpätapauksia. Ensimmäisen asteen sukulaiset tuplaavat sairastumisriskin. Näihin sukulaisiin lukeutuvat äiti, tytär tai sisar. Toisen asteen sukulaisia ovat isoäiti, tati ja sisaren tytär. Syöpään sairastuneen kahden ensimmäisen asteen sukulaisen

omaaminen voi kolminkertaistaa syöpäriskin. (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer 2001)

Suurimmassa osassa perinnöllisissä rintasyöpätapauksissa suvussa on aiempi sairastuminen. Suurin osa geneettisistä poikkeavuuksista kohdistuu rintasyöpään herkistävään geeniin 1 ja 2 (BRCA1 ja BRCA2, Breast cancer susceptibility gene). Tutkimukset ovat pyrkineet selvittämään sairastumisen todennäköisyyttä mutaation kantajilla. Erään tutkimuksen mukaan 72 % potilaista sairastui rintasyöpään 80 ikävuoteen mennessä BRCA 1 -mutaation seurauksena (95 % CI 65–79 %), kun taas 69 % potilaista sairastui BRCA 2 -mutaation seurauksena (95 % CI 61–77 %). (Kuchenbaecker *et al.* 2017)

P53 on eniten ilmenevä geneettinen mutaatio rintasyövissä. Se ilmenee 30 % syöpätapauksista. P53 toimii syövänestogeeninä ja se toimii solun kasvun hillitsemiseksi erilaisten vauriotilojen kuten DNA vaurion, hypoksian ja liiallisten kasvusignaalien ilmetessä. Suurin osa mutaatioista on pistemutaatioita, jotka sijoittuvat DNA:n sitovaan domeeniin muodostuneessa proteiinissa. Tämä aiheuttaa transkription heikentymisen. Pistemutaatioita ilmenee yleensä kasvaimen muodostavissa syöpätyypeissä. Mutaation on havaittu heikentävän ennustetta (Lai *et al.* 2004). Syövän muodostumiseen vaikuttaa merkittävästi genetiikka ja perintötekijät. Muita vaikuttavia tekijöitä ovat ikä, ympäristö, lisääntymishistoria sekä mahdolliset muut, vielä tuntemattomat tekijät. Myös syöpää aiheuttavia tekijöitä kuten ylipaino, tupakointi, alkoholin kulutus, fyysinen aktiivisuus ja erilaiset hormonaaliset hoidot on osattu yhdistää rintasyöpäriskin kohoamiseen.

**Taulukko 1. Erilaisille rintasyöpätyypeille ominaiset ominaisuudet. Taulukossa on eroteltu eri rintasyöpätyyppien yleisyys, soluille tyypillisten reseptorien ilmeneminen, Ki-67 antigenin pitoisuus, mahdolliset ominaiset mutaatiot sekä syöpätyypin ennusteen oletus. Taulukko muokattu lähteestä Orrantia-Borunda *et al.* 2022.**

Luokka	Yleisyys	ER	PR	HER -2	Ki-67	Mutaatio	Ennuste
Luminal A	50–60 %	+/+/-	+/-/+	-	matala	-	Parhain
Luminal B	10–20 %	+	+/-	-	korkea	BRCA2	Keskiverto
HER2+	10–15 %	-	-	+	korkea	P53	Keskiverto/ Melko huono
Kolmoisnegatiivinen	20 %	-	-	-	korkea	BRCA1 / P53	Huonoin

## 5. Täsmälääkehoidot

Täsmälääkkeiksi kutsutaan lääkehoitoja, jotka kohdentavat vaikutuksensa spesifisti haluttuun kohteeseen. Tässä tapauksessa, lääkehoidoilla pyritään kohdentamaan rintasyövän soluja. Täsmälääkkeiden tarkoitus on vähentää hoidon vaikutusta terveisiin soluihin. Lääkkeet kohdentuvat eri solun toimintoihin eri mekanismien kautta. Jokaisella on tarkoituksena estää syöpäsolun toiminta, leviäminen ja johtaa solun apoptoosiin. Kohdentaminen onnistuu siten, että syöpäsoluissa on löydetty eroavaisuuksia normaaleihin soluihin ja näitä eroavaisuuksia pyritään hyödyntämään lääkkeiden kohteina. Eroavaisuuksia ovat muutokset solukalvon reseptorikonaisuuksissa, eroavaisuuksia proteiinien pitoisuuksissa tai rakenteessa sekä muutokset DNA:ssa. Nykyisiä rintasyövässä käytössä olevia hoitomuotoja ovat muun muassa vasta-aineilla syöpäsoluihin kohdenneet monoklonaaliset vasta-aineet ja vasta-aineisiin konjugoidut lääkeaineet, CDK4/6-proteiinikinaasiin kohdenneet, PARP-proteiinikompleksiin, NTRK-reseptoriin, erilaisiin signaaliketjuihin vaikuttaviin proteiineihin kuten mTOR-, PI3K- sekä AKT-proteiinikomplekseihin kohdenneet ja verisuonten kasvuun vaikuttavien reseptoreiden toimintaan kohdenneet lääkehoidot.

### 5.1. Vasta-aineisiin konjugoidut lääkehoidot

Vasta-aineisiin konjugoidut lääkkeet (Antibody drug conjugates, ADCs) koostuvat vasta-aineesta ja siihen liitetystä solusalpaajasta. Vasta-aineen tehtävä on tunnistaa syöpäsolu ja ohjata näin solusalpaaja oikeaan kohteeseen tarkoituksena olla vaurioittamatta terveitä soluja. Tällä hetkellä rintasyövän hoidossa on käytössä kolme erilaista ADC:tä, jotka U.S. Food and Drug Administration (FDA) on hyväksynyt. Kyseiset lääkkeet ovat ado-trastuzumab emtansine (T-DM1), fam trastuzumab deruxtecan (T-Dxd) ja sacituzumab govitecan (SG). T-DM1 käytetään HER2+-rintasyövissä tämän aikaisessa, kehittyneessä, uusiutuneessa ja metastaatteisessa rintasyövän hoidossa. T-Dxd on käytössä HER2+ ja HER2 -matalassa metastaatteisissa, sekä hormonireseptoriposiitivisissa syövissä. SG on hyväksytty kolmoisnegatiivisen rintasyövän hoidossa sekä hormonireseptoriposiitivisissa metastoituneissa syövissä ensimmäisten kemoterapioiden jälkeen. (Raheem *et al.* 2023)

### **5.1.1. Rakenne**

ADC:t rakentuvat monoklonaalisesta vasta-aineesta sekä solusalpaajasta. Nämä ovat kiinnittyneinä toisiinsa kovalenttisesti kemiallisen kiinnikkeen avulla. Lääkkeen toimivuuden ja turvallisuuden osalta on erittäin tärkeää, että rakenne pysyy stabiilina siihen asti, kunnes kompleksi saavuttaa halutun solun ja hajotetaan solun sisäisissä prosesseissa. Jokaisella rakenteen komponentilla on vaikutusta ADC:n toimintaan ja tämä tulee ottaa huomioon niiden suunnittelussa.

### **5.1.2. Antigeeni**

Antigeeni toimii solun puoleisena tunnistimena ja mahdollistaa lääkeaineen pääsyn solun sisälle endosytoottisesti. Lääkeaineen suunnittelussa tulisi huomioida seuraavat asiat liittyen kohteeksi valittavaan antigeeniin. Antigeenin tulee olla solun ulkoinen ja sellainen, jota ei eritetä ympäristöön, jotta kohdennus ei tapahdu ei-toivottuun kasvaimen lähiympäristöön. Tällainen virheellinen kohdennus voi joissain tapauksissa aiheuttaa merkittävän toksiinien pitoisuuden nousun. Tärkeimpänä vaatimuksena antigeenille on, että sitä ilmennetään syöpäsoluissa tai vastaavasti vähän tai ei ollenkaan terveissä soluissa. Tämä mahdollistaa tarkan tunnistuksen ja sen, että hoito ei kohdennu ei-toivottuun kohteeseen.

HER2 toimii antigeenina T-DM1:lle sekä T-DXd:lle. Vastaavana antigeenina SG:lle toimii trophoblast cell-surface antigeeni 2 (Trop2). Trop2 on transmembraaninen glykoproteiini, jota ilmenee joissain kiinteissä kasvaintyyeissä myös rintasyövässä. (Raheem *et al.* 2023)

#### **5.1.2.1. HER2-tyrosiinikinaasi**

Epidermaalisen kasvutekijän reseptorit muodostavat reseptoriperheen, johon kuuluu neljä erilaista tyrosiinikinaasi-proteiinia. Neljä erilaista reseptoria ovat EGFR (ErbB1, HER1), ErbB2 (HER2), ErbB3 (HER3) ja ErbB4 (HER4). Reseptorit ovat solukalvon läpäiseviä glykoproteiineja. Kaikki reseptorit ovat rakenteeltaan melko samanlaisia. Runko koostuu solun ulkoisesta ligandin sitovasta osasta, kalvon läpi kulkevasta transmembraanisesta osasta, juxtamembraanisesta osasta, tyrosiinikinaasin osasta sekä tyrosiinista muodostuvasta C-terminaalista hännästä. Kun reseptorille ominainen ligandi sitoutuu, tämä aiheuttaa reseptorin dimerisaation samanlaisen tai erilaisen reseptorirakenteen kanssa. Dimerisaatio

muuttaa proteiinin konformaatiota ja näin aktivoi solun sisäisen tyrosiinikinaasin ja fosforyloi C-terminaalisen hännän. Reseptorin fosforylaatio aktivoi tämän jälkeen toisiolähettiproteiineja tai suoraan solun sisäisiä signaaliteitä esimerkiksi Ras/MAPK. PLC $\gamma$ 1/PKC, STAT tai PI $_3$ K/AKT/mTOR. Ras/Raf/MAPK vaikuttavat SOS-tekijöiden kautta, joka vaikuttaa erityisesti solujen jakautumiseen (Lowenstein *et al.* 1992, Batzer *et al.* 1994, Hallberg *et al.* 1994). PI $_3$ K/Akt vaikuttaa merkittävästi solun selviytymiseen (Schulze *et al.* 2005). PLC $\gamma$ 1/PKC reaktiotie vaikuttaa myös solun jakautumiseen (Chattopadhyay *et al.* 1999). STAT3 vaikuttaa epiteelisolujen adheesioon ja polaarisuuteen toimien transkriptiofaktorina solussa. STAT5-reaktiotie vaikuttaa epiteelisolujen organisoitumiseen ja mahdollistaa solujen paremman jakautumiskyvyn sekä selviytymisen. Solun eri signaalitiet risteävät ja mahdollistavat tätä kautta signaalin ilmenemisen monen erilaisen mekanismin kautta. Tämä myös mahdollistaa signaalin vaikutuksen laajenemisen. Risteäminen voi kuitenkin aiheuttaa myös sen, että syöpäsolut kykenevät tulemaan resistenteiksi tyrosiinikinaaseja kohdentaville lääketoimille (Engelman *et al.* 2007, Sergina *et al.* 2007).

HER2 -reseptorin kohdalla ei ole tunnettua ligandia, joka vaikuttaisi siihen suoraan. Kuitenkin tiedetään, että se dimerisoituu muiden perheeseen kuuluvien reseptorien kanssa (Sliwkowski *et al.* 1994, Karunagaran *et al.* 1996). HER2 on konformaatioiltaan auki olevassa asennossa koko ajan ja kykenee tässä muodossa dimerisoitumaan EGFR ja ErbB3 kanssa (Schultz *et al.* 2023).

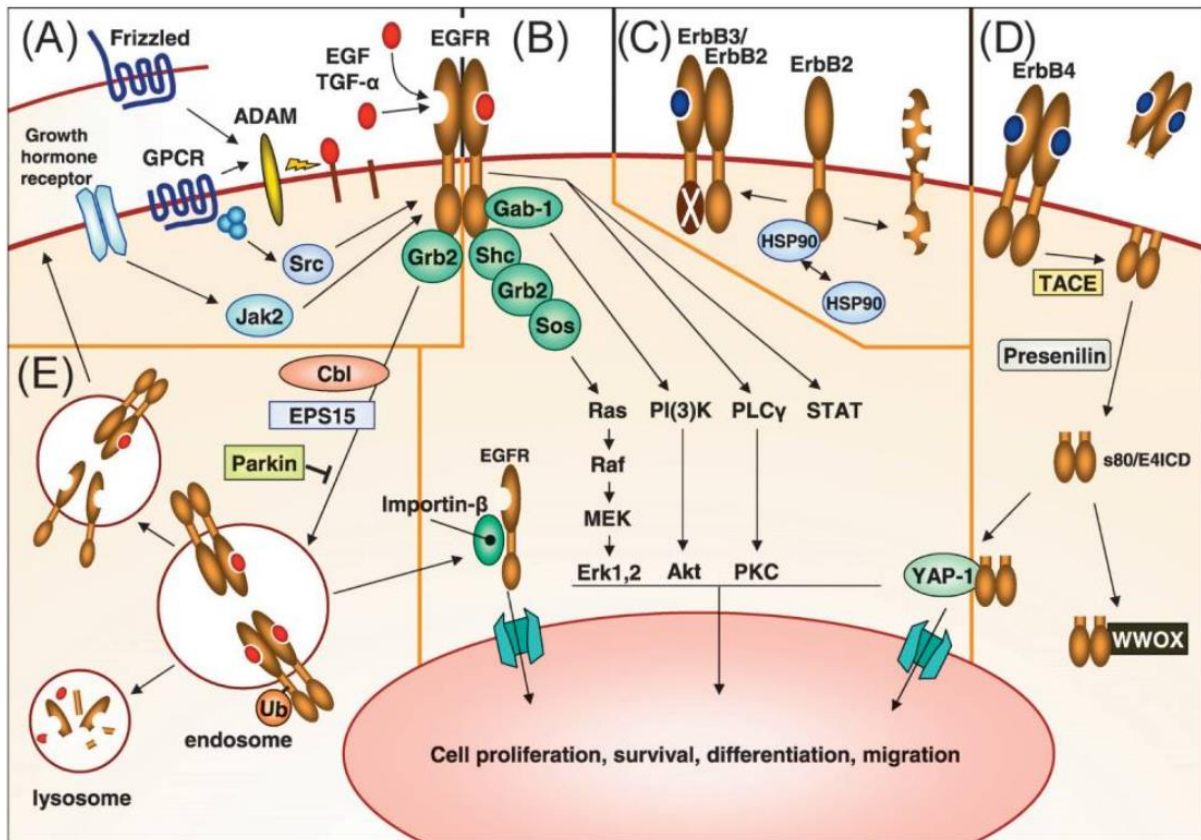
Aktivoitunut reseptori voi signaalin välittämisen lisäksi mahdollistaa klatriinivälitteisen endosytoosin. Esimerkiksi T-DM1 sitoutuu HER2-reseptorissa solun ulkoiseen osaan ja käynnistää tätä kautta reseptorivälitteisen endosytoosin, jolla lääkeaine pääsee solun sisälle ja solusalpaaja vapautetaan soluun (Ritchie *et al.* 2013). Reseptorin fosforylaatio aiheuttaa growth factor receptor-bound protein 2 (GrbB2) proteiinin sitoutumisen, joka puolestaan johtaa adaptoriproteiini-kompleksi- complex-2 aktivoitumiseen. Myös muut endosytoosia säätelevät yksiköt kykenevät vaikuttamaan klatriinivälitteisen endosytoosin muodostumiseen. Endosomin muodostumisen jälkeen sen sisältö menee joko lysosomaaliseen hajotukseen, kierrätettäväksi takaisin solukalvolle ja osa voidaan ohjata tumaan. Solusignaloinnin ja endosomien kierrätyksen virheellinen toiminta johtaa reseptorin liialliseen ilmenemiseen solukalvolla. Tämä mahdollistaa solun kehittyneen selviytymisen, jakautumisen ja kasvainten kehityksen.

Monoklonaalisilla vasta-aineilla kohdennetut hoidot ovat pääosin tyrosiinikinaasestäjiä, jotka vaikuttavat solusignaalointiin. Ongelmallista on, että solut kykenevät muodostamaan

resistenssin inhibiittoreja vastaan, jolloin näissä tapauksissa hoito ei enää tehoa (Jackman D. *et al.* 2010).

HER2 -kohdennettu T-DM1 inhiboi ligandin sitoutumisen aktivoivaa signaalinvälitystä, aktivoi solun sisään ottoa ja estää solun ulkoisen domeenin leviämistä sekä dimerisaatiota (Junttila *et al.* 2009, Ram *et al.* 2014, Fehling-Kaschek *et al.* 2019). Solut kykenevät muodostamaan resistenssin myös T-DM1:stä vastaan. Resistenssin muodostuminen on erittäin monimutkainen ja moniosainen tapahtuma, johon vaikuttaa ligandin sitovan osan muutokset, muutokset reseptorien ilmenemisessä, mutaatiot tyrosiinikinaasissa, joka voi mahdollistaa ligandista riippumatonta aktivaatiota, sekä vielä muutokset signaalikaskadin toiminnassa (Angulo *et al.* 2007, Scaltriti *et al.* 2007, Kong *et al.* 2019, Yi *et al.* 2020, Wu *et al.* 2022).

Reseptorin erilaiset signaaliketjut ja toimintamekanismi on esitetty kuvassa 2.



Kuva 2. EGFR/ErbB reseptorien signaali ja sen säätely. A) Reseptorin aktivaatio voi tapahtua erilaisilla parakriinisilla sekä autokriinisilla mekanismeilla. EGFR fosforylaatio voi tapahtua kasvuhormonireseptorin aktivaatiolla Jak2 välitteisesti. Signaaliketju voi aktivoitua myös erilaisten G-proteiinien toimesta. Toiminta voi välittyä Src tyrosiinikinaasin välittämänä EGFR:lle tai ADAM-perheen proteiinien aktivoitumisen kautta, joka mahdollistaa ligandien irtautumisen ja sitoutumisen EGFR-reseptoreihin. B) Signaaliketjun välittyminen tumaan. EGFR-reseptorin aktivoituminen vaikuttaa STAT, PLC $\gamma$ /PKC, PI3K/AKT, RAS/MAPK signaalipolkuihin. Erilaiset säätelyproteiinit kuten Shc, Grb2, Sos ja Gab-1 välittävät aktivaation reseptorilta signaaliketjun komponentteihin. Itse reseptori kykenee myös translokoitumaan tumaan yhdessä importin- $\beta$  kanssa ja vaikuttamaan suoraan geeninluentaan. Solusignaaliereitit vaikuttavat solun jakautumiseen, selviytymiseen, erilaistumiseen sekä leviämiseen. C) Reseptoritoiminnan säätely HSP90 molekyylin kautta. HSP90 stabiloi ErbB2 rakennetta ja estää säätlemättömän heterodimeerin muodostumisen ErbB3 kanssa. HSP90 estää myös ErbB2 hajoituksen solukalvolla. D) ErbB4 proteolyysi solukalvolla. Kaksivaiheisessa hajoituksessa solunulkoinen osa hajotetaan TACE/ADAM17 toimesta. Tämän jälkeen presellin vapauttaa hajoituksesta jäljelle jääneen s80/E4ICD:n. Tämä toimii tumen sisäisenä kaperonina YAP-1 ja STAT5A -molekyyleille. WWOX kykenee myös sitomaan tämän ja eristämään sytosoliin. E) Ligandin sitoutumisen aiheuttama aktivaatio sekä reseptorin dimerisaatio voi johtaa myös reseptorivälitteiseen endosytoosiin. Parkin inhiboi endosytoosia. EPS15 ja Cbl sitoutuvat endosomiin, joka johtaa ubiquinaatioon sekä lysosomaaliseen kohdentumiseen. Hajoittamattomat reseptorit, EGFR tai EGFR/ErbB2 dimeerit kierrätetään takaisin solukalvolle. Kuva ja kuvatekti ovat muokattu lähteestä Wieduwilt & Moasser 2008.

### 5.1.3. Monoklonaalinen vasta-aine

Monoklonaaliset vasta-aineet toimivat lääkeaineissa lääkkeen puoleisena tunnistusmekanismina. Optimaalisen toiminnan kannalta tärkeitä ominaisuuksia ovat korkea affiniteetti antigeeniin, tunnistautumisen jälkeinen tehokas solun sisään kulkeutuminen, matala immunogeenisyys, jolloin lääke ei aiheuttaisi immuunipuolustuksen reaktiota verenkiertoon päästyään, ja korkea selviytymisaika plasmassa kulkeutumisen aikana. Yleisin hyödynnetty



monoklonaalinen vasta-aine on immunoglobuliini-G (IgG) ja tästä IgG1-versio, jota käytetään kaikissa kolmessa käytössä olevassa lääkehoidossa vasta-aineena. Nykyisin hyödynnettävät vasta-aineet ovat ihmisen monoklonaalisia vasta-aineita. IgG1:llä on korkea selviytymisaika sekä tämä voi indusoida antigeeniriippuvaista solun ohjattua sytotoksisuutta ja fagosytoosia.

#### 5.1.3.1 IgG1, Trastuzumab (Herceptin)

Immunoglobuliinit ovat vasta-aineita, jotka muodostavat viisi erilaista luokkaa. Näitä ovat IgM, IgG, IgA, IgE ja IgD. IgG puolestaan jakautuu neljään eri alaluokkaan, jotka voidaan jakaa luvuin 1–4.

IgG1 keskimääräinen elinikä on noin 21 päivää. Sen molekyylipaino on 150 kDa. Rakenteeltaan IgG1 koostuu kahdesta raskaasta ketjusta sekä kahdesta kevyestä ketjusta, jotka muodostavat kolme itsenäistä motiivia. Näistä kaksi ovat Fab-alueita (The Fragment antigen-binding), jotka sisältävät vasta-aineen antigeenin sitovan osan ja jäljelle jäävä Fc-alue (The fragment crystallizable region) vastaa vuorovaikutuksesta erilaisten proteiinien ja sekundaaristen vasta-aineiden kanssa. Fc-alueen kiinnittyminen kahteen Fab-alueeseen tapahtuu hinge-kiinnikkeen kautta.

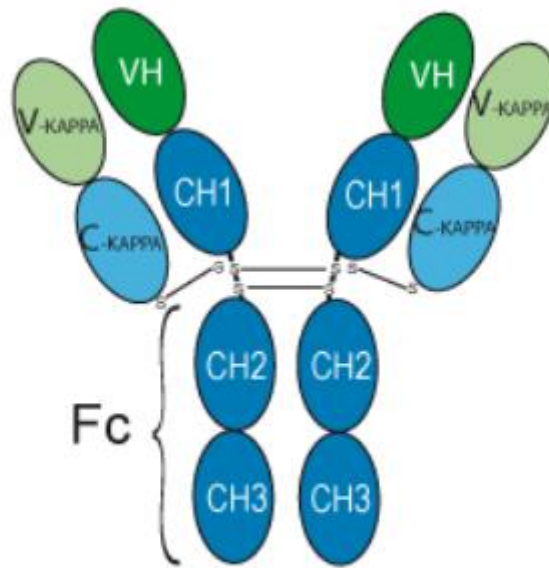
Vasta-aineen fysiologiseen vasteeseen vaikuttaa kaksi asiaa. Ensimmäisenä vaikuttavana tekijänä on vasta-aineen sitoutuminen antigeeniin ja tämän vuorovaikutuksen muuttuminen. Toiseksi vaikuttavana tekijänä on vasta-aineen mahdolliset kyvyt sen mukaan, minkälainen tekijä siihen on liitetty, esimerkiksi lääkeaine. Vasta-aineen toimintoja kyetään muuttamaan tuottamalla eri lailla suunniteltuja muotoja. Tämä tapahtuu muodostamalla uusi aminohapposekvenssi vasta-aineen tietyille ketjurakenteille. Tutkimukset osoittavat, että on olemassa tietyntyyppisiä sekvenssejä, jotka parantavat vasta-aineen sitoutumista immuunipuolustuksen solujen Fc-reseptoriin ja tämä kasvattaa solujen sytotoksisuutta merkittävästi. (Lazar *et al.* 2006)

Kliinisissä tutkimuksissa on huomattu, että yhtenä vasta-aineiden haasteena on lääkeaineiden sisältämien vasta-aineiden kilpailu veressä luontaisesti olevien vasta-aineiden kanssa. Tämä aiheuttaa lääkeaineen vaikutuksen inhibitiota. Inhibitio vaikuttaa siihen, millainen annossuuruus on riittävä tuottamaan riittävän sytotoksisuuden tason mahdollistaakseen toimivan vasteen. (Prang *et al.* 2005, Iida *et al.* 2006)

T-DM1-lääkemolekyylissä trastuzumab muodostaa lääkekompleksin vasta-aineen rakenneosan, joka on humanisoitu anti-HER2 IgG1 (Kuva 3.). Vasta-aineet tuotetaan

kiinanhamsterin munasarjoista johdetuissa soluissa. Trastuzumab sitoutuu HER2 -reseptorin juxtamembraaniseen osaan ja vaikuttaa täten solun sisäiseen signalointiin (Cuello *et al.* 2001). Se kykenee estämään HER2 -reseptorin kykyä muodostaa heterodimeeri HER3 -reseptorin kanssa itsenäisesti ilman aktivoivaa signaalia (Juntila *et al.* 2009). Lääkeen sitoutuminen reseptoriin estää reseptorin solunulkoisen osan hajotuksen ja estää aktiivisemmän kompleksin p95-HER2 muodostumisen (Molina *et al.* 2001). Trastuzumab kasvattaa solun sytotoksisyyttä nostamalla immuunipuolustuksen vastetta syöpäsoluja vastaan (Arnould *et al.* 2006).

Trastuzumab on ensimmäinen monoklonaalinen vasta-aine, jota on käytetty hoitomuotona rintasyövässä jo ennen lääkekonjugaattimuodon kehittämistä. Monoklonaalisia vasta-aineita voidaan käyttää erillisenä omana täsmälääkehoitona syöpää vastaan. Trastuzumab on yleensä yhdistettynä kemoterapiahoitoon, mutta ainoana annettuna hoitomuotona sen on todettu toimivan kasvainta pienentävänä 26 %:lla potilaista (95 % CI 18,2–34,4 %) (Vogel *et al.* 2002). Yhdistäminen kemoterapiaan kasvattaa sytotoksisuutta ja tehostaa hoitomuotoa. Kuten muissa lääkehoidoissa, solut kykenevät muodostamaan trastuzumabia vastaan resistenssin. Tämä on yleisempää sairauden pidemmälle edenneissä muodoissa.



**Kuva 3. Trastuzumabin proteiinirakenne. Monoklonaalinen humanisoitu anti-HER2 vasta-aineen rakenne koostuu kahdesta raskaasta ketjusta, jotka kulkevat molekyylin keskellä, sekä kahdesta kevyestä ketjusta, jotka sijoittuvat raskaan ketjun molemmille puolille. Kevyttä ketjua on kahta eri tyyppiä, joista kappa ilmenee trastuzumabissa. Molekyylissä kyetään muuttamaan sekä raskaan ketjun (VH, Variable heavy) sekä kevyen ketjun (V-kappa, Variable light) ylimmät rakenteet. Nämä ovat merkattu kuvaan vihreällä värillä. Siniset rakenteet muodostavat pysyvät rakenteet raskaasta (CH, Constant Heavy) ja kevyestä ketjusta (C-kappa, Constant Light). Fc (Fragment crystallizable) sitoutuu solukalvoon, kun taas molekyylin ylimpien rakenteiden yhdessä muodostama Fab (Fragment antigen binding) sitoutuu antigeeniin. Kuva lähteestä DrugBank 2005. Teksti muokattu lähteestä Mark et al. 2022.**

#### 5.1.4. Kiinnike

Kiinnike toimii vasta-aineen ja lääkeaineen välissä yhdistäen nämä toisiinsa. Tämä toimii tärkeässä roolissa sytotoksisen lääkkeen vapautumisessa ja onkin tärkeää, että sen rakenne pysyy stabiilina vielä ollessaan sitoutuneena vasta-aineeseen.

Kiinnikkeet jaetaan hajotettaviin ja ei-hajotettaviin. Hajotettavat kiinnikkeet ovat herkkiä kasvaimen ympäristölle, jossa ne voivat joutua kemiallisen tai entsyymattisen hajotuksen kohteeksi vapauttaen sitoutuneet yhdisteet. Kemiallinen hajotus tapahtuu hydrolysaationa tai disulfidien hajotuksena kohdistuen hydratsonien ja disulfidien sidoksiin. Entsyymattinen hajotus tapahtuu peptidaasien tai glukuronidaasien aktiivisuudella. (Bargh et al. 2019)

Hydratsoni-sidokset reagoivat pH muutokseen herkästi. Sidokset hydrolysoituvat endosomeissa ja lysosomeissa, joissa pH laskee alle 7. SG:issä hyödynnettävät kiinnikkeet ovat

pH herkkiä. Nämä karbonaattilinkkerin sisältävät kiinnikkeet hajotetaan matalassa pH:ssa (Cardillo *et al.* 2015). Yleisimpinä käytössä käytössä olevat kiinnikkeet ovat peptidikiinnikkeet, jotka hajotetaan lysosomeissa peptidaasien toimesta. T-Dxd:ssä hyödynnetään kyseistä kiinnikettä. (Yver *et al.* 2020) Cathepsin B on yleinen peptidaasi syöpäsoluissa, jota voidaan hyödyntää juuri hajotukseen.

Ei-hajotettavat kiinnikkeet ovat yleensä stabiilimpia ja aiheuttavat vähemmän vääriin kohteeseen kulkeutumista. Nämä kiinnikkeet eivät ole herkkiä ympäristön muutoksille, joita kasvain aiheuttaa (Kovtun *et al.* 2006, Erickson *et al.* 2010). T-DM1 hyödynnetään ei-hajoitettavia kiinnikkeitä. Solusalpaaja pääsee vapautumaan soluun vasta vasta-aineen hajotuksen jälkeen.

### **5.1.5. Solusalpaaja**

Solusalpaajan vapautumiselle soluun on edellytyksenä tunnistautumisen onnistuminen ja tämän jälkeen solun sisällä tapahtuva hajotus ja kiinnikkeen tuhoutuminen. Solusalpaajan vapauduttua sen vaikutus riippuu kyseessä olevasta lääkeaineesta. Nykyiset käytössä olevat lääkeaineet sisältävät joko tubuliinin inhibiittoreita, DNA:ta vaurioittavia tekijöitä tai immunomodulaattoreita.

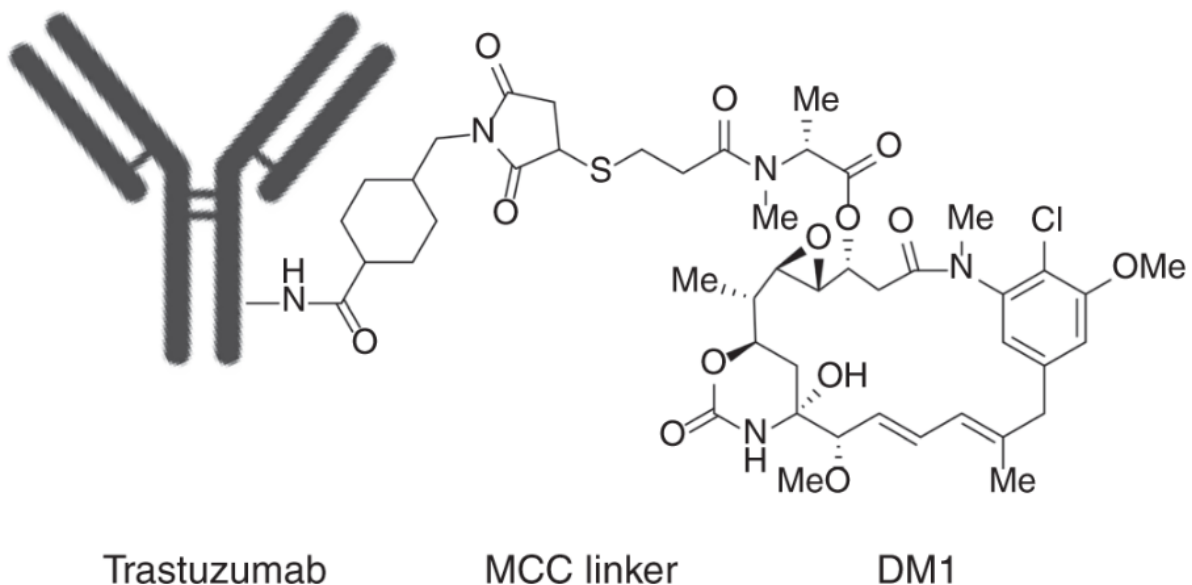
Tubuliinien inhibiittorit jaetaan tubuliinin polymerisaation promoottoreihin ja tubuliinin polymerisaation inhibiittoreihin. Tubuliinien inhibiittorit vaikuttaa mitoosein keskeyttäen tämän spesifissä solusyklin vaiheessa. Esimerkiksi T-DM1 lukeutuu polymerisaation inhibiittoreihin. Konjugoitu lääkeaine on maytansinoid johdannainen DM1.

DNA:ta vaurioittavien tekijöiden mekanismeina toimivat DNA:n alkalointi, kaksoisjuosteen rikkominen, DNA:han sitoutuminen ja DNA-juosteen yhteen kiinnittäminen. T-Dxd:ssä ja SG:ssä kiinnitettyinä olevat lääkeaineet ovat DNA:ta vaurioittavia tekijöitä ja toimivat topoisomeraasin inhibiittoreina.

#### **5.1.5.1. Trastuzumab emtansine, T-DM1 (Kadcyla)**

T-DM1 lääkemolekyylä sisältää trastuzumabin, johon on kiinnittyneenä tioetterisidoksella (4-[N-maleimidomethyl] cyclohexane-1-carboxylate, MCC) keskimäärin 3,6 emtansine-molekyylä (Lewis Phillips *et al.* 2008) (Kuva 4). Yhdessä kiinnikkeen kanssa, emtansine muodostaa DM1-kokonaisuuden. Emtansinella on kasvainta pienentäviä ominaisuuksia

(Kupchan SM. *et al.* 1972). MCC ja DM1 tuotetaan kemiallisella synteesillä. Lääkemolekyyli-DM1 vapautuu soluun trastuzumabin lysosomaalisen hajotuksen jälkeen. Hajotuksessa muodostuu erilaisia yhdistelmiä kuten MCC-DM1, LYS-MCC-DM1 ja DM1. DM1:sta tuotetaan vielä kaksi hajoamistuotetta CYP3A4 ja CYP3A5. DM1 inhiboi tubuliinien polymerisaatiota sitoutumalla tubuliiniin ja estämällä niiden järjestäytymistä (Remillard *et al.* 1975). Tämä lakkauttaa solun toiminnan ja johtaa apoptoosiin. Prekliiniset tutkimukset ovat osoittaneet myös, että DM-1 sitoutuminen mikrotubuliineihin vaikuttaa solun sisäiseen kuljetusjärjestelmään tehden siitä vioittuneen (Barok *et al.* 2011). Tutkimukset osoittavat, että T-DM1 vaikuttaa HER2-reseptorin signalointiin inhiboivasti sekä vasta-aineen välittämään sytotoksisuuden kasvuun (Lewis Phillips *et al.* 2008). Lääkeaineen vaikutus solussa riippuu sen pitoisuudesta. Korkeissa konsentraatioissa se johtaa nopeaan apoptoosiin, kun taas alemmalla konsentraatiolla se vaikuttaa solun sisäiseen toimintaan vaurioittavasti tai matalimmilla konsentraatioilla ei ollenkaan. (Barok *et al.* 2014). Lääkeaine annostellaan suonensisäisesti ja sen puoliintumisaika kehossa on 4 päivää.



**Kuva 4.** T-DM1 rakenne koostuu monoklonalisesta vasta-aineesta trastuzumabista, jonka MCC-tioetterikiinnike yhdistää emtansinemolekyyliin. Kokonaisuudessaan kiinnike sitoo noin 3–3,6 emtansinea yhteen konjugaattiin. Kuva ja teksti muokattu lähteestä Hunter *et al.* 2020.

#### 5.1.5.2. Kliiniset tulokset

Ado-trastuzumab emtansine (T-DM1, Kadcylo<sup>®</sup>) on ensimmäinen vasta-aineeseen konjugoitu lääkeaine, jota alettiin käyttää kiinteiden kasvainten kohdentamiseen. Ensimmäisen kliinisen tutkimuksen tulokset julkaistiin 2010 ja lääke sai käyttöluvan FDA:lta 2013.

Hoitomuoto oli alkuun käytössä metastoituneeseen rintasyöpään, mutta nykyään lupa on laajentunut käytettäväksi myös aikaisemmassa vaiheessa syövän hoidossa edellyttäen, että potilas on saanut kasvainta pienentävää hoitoa ennen ja osoittaa silti merkkejä leviävästä syövästä.

T-DM1:lle toteutettu faasi III -tutkimus EMILIA mahdollisti ensimmäisen käyttöönoton toisen linjan hoitomuotona. Kliininen tutkimus sisälsi 991 potilasta, joilla oli joko metastoitunut HER2-positiivinen rintasyöpä hoitomuotonaan trastuzumab pohjainen kemoterapia tai potilaat olivat vastaanottaneet adjuvanttihoitoa ja sairaus oli uusiutunut kuuden kuukauden aikana. Potilaat jaettiin kahteen ryhmään, jotka vastaanottivat joko T-DM1 tai lapatinibiä ja capecitabinea. 88 % potilaista suoritti keskimäärin 3 kemoterapiakertaa ennen lääkkeenantoa. Tämä toimi hoitona metastoituneille kasvaimille. Tutkimus osoitti, että T-DM1:llä lääkityllä ryhmällä sekä sairauden etenemisen jatkumisen ajankohta oli myöhäisempi että kokonaisselviäminen parempi. Sairauden etenemisen jatkuminen T-DM1 oli 9,6 kuukautta, kun toisella lääkityksellä vastaava oli 6,4 kuukautta (HR 0,65; 95 % CI 0,55–0,85;  $p < 0,001$ ). Kokonaisselviäminen T-DM1:llä oli 30,9 kuukautta ja vastakkaisella ryhmällä 25,1 kuukautta (HR 0,68; 95 % CI 0,55–0,85;  $p < 0,001$ ) (Verma *et al.* 2012). Tämä johti siihen, että T-DM1:nen vakiinnutti asemansa toisen asteen hoitomuotona potilailla, jotka sairastivat tämän luokan rintasyöpää. Tämä muuttui DESTINY-Breast03 tutkimuksen jälkeen, sillä T-Dxd osoitti paremman soveltuvuuden (Cortés *et al.* 2022).

Siirtyminen ensimmäisen linjan hoitomuodoksi mahdollistui faasi III KATHERINE -kokeessa. Tässä potilaat sairastivat aikaisen vaiheen HER2-positiivista rintasyöpää, tai että hoitomuotona oli aikaisemmin ollut taxane tai trastuzumab pohjainen neoadjuvantti kemoterapia. Tutkimuksen 1486 potilasta jaettiin ryhmiin, jotka vastaanottivat T-DM1:tä tai trastuzumabia 14 kertaa. Tärkeimpänä määrittämisnä oli invasive disease free survival IDFS, joka mittasi ajan rintasyövän paikalliselle tai alueelliselle uusimiselle, levinneelle uusimiselle tai kuolemalle. Muina mittareina hyödynnettiin kokonaisselviytymistä ja sairauden etenemistä. 77 % potilaista sai lisäksi anthracycline pohjaista neoadjuvantti kemoterapiaa ja 20 % anti-HER2-terapiaa. Kolmen vuoden IDFS T-DM1 ryhmälle oli 88,3 % ja vastaava arvo trastuzumab ryhmälle 77 % (HR 0,50; 95 % CI 0,39–0,64;  $p < 0,001$ ) (Von Minckwitz *et al.* 2019). Tutkimuksen ansiosta FDA hyväksyi lääkkeen ensimmäisen linjan hoitomuodoksi aikaisen vaiheen rintasyöväälle. Ehtona aikaisempi neoadjuvantti kemoterapia sekä leikkaus.

Tutkimukset osoittavat, että HER2 -kohdennetuilla hoidoilla on ollut merkittävä vaikutus HER2-positiiviseen rintasyöpään. Osa tutkimuksista osoittaa, että T-DM1 yhdistäminen

muihin tyrosiinikinaasin inhibiittoreihin voisi parantaa huomattavasti hoitotulosta (Wu *et al.* 2022, Ma *et al.* 2022), kun taas osa tutkimuksista ei ole kyennyt todistamaan tätä (Huobre *et al.* 2019). Ensimmäisinä meta-analyysinä toteutettu tutkimus tutki T-DM1 hoitovaikutusta yksittäishoitona verrattuna siihen, että sitä käytettiin yhdessä muiden tyrosiinikinaasi-inhibiittoreiden kanssa. Tutkimus osoitti, että T-DM1 yhdistettynä muihin antoi merkittävästi paremman hoitotuloksen ja selviytymisen tulokset (Li *et al.* 2023).

## **5.2. Tyrosiinikinaasi-inhibiittorit**

Kuten monoklonaaliset vasta-ainehoidot, sekä vasta-aineisiin konjukoidut lääkehoidot, tyrosiinikinaasi-inhibiittorit (Tyrosine kinase inhibitors, TKIs) toimivat täsmälääkehoitoina erityisesti HER2-positiivisissa rintasyövissä. Inhibiittorien toiminta perustuu tyrosiinikinaasi reseptorin fosforylaation ehkäisemiseen ja kilpailuun reseptorissa olevasta ATP:tä sitovasta aktiivisesta keskukselta solun sisäisessä reseptorin osassa. Tämä mahdollistaa reseptorin inaktivaation ja estää HER2-reseptoriin kytkennäisiä signaaliketjuja aktivoitumasta ja vaikuttamasta solun toimintoihin. Eri inhibiittorit kykenevät kohdentumaan eri reseptoreihin, mikä mahdollistaa laajemman kohdennuksen solun pinnalle.

Luvallisia kinaasi-inhibiittoreita ovat muun muassa afatinib, lapatinib, neratinib, tucatinib sekä pyrltinib.

### **5.2.1. Lapatinib (Tykerb)**

Lapatinib sitoutuu reseptoreista HER1- ja HER2-tyrosiinikinaaseihin. Sitoutumisellaan ATP:tä sitovaan solun sisäiseen domeeniin, se estää solun sisäisen PI3K/AKT/mTOR-signaaliketjun aktivoitumisen. Tämä johtaa solun kasvun estoon, sekä lopulta kasvainsolun apoptoosiin.

Lapatinib on suun kautta otettava lääke. Se sai lääkeluvan ensimmäistä kertaa FDA:lta 2007 ja EMA:lta ehdollisen markkinoinnin luvan 2008. Ensimmäiset luvat pohjautuivat faasi III -satunnaistettuun tutkimukseen, jossa 324 HER2-positiivista rintasyöpää sairastavaa potilasta lääkittiin lapatinibilla ja capecitabinella. Kontrolliryhmänä toimi pelkästään capecitabinella lääkitty ryhmä. Tutkimukseen osallistuneita potilaita oli lääkitty ennen monoklonaalisilla vasta-aineilla, mutta lääkinnästä huolimatta sairaus oli edennyt. Tulokset osoittivat, että lapatinib ja capecitabine siirsi sairauden etenemistä keskimäärin 8,4 kuukaudella, kun taas monoterapiana annettu kontrolli mahdollisti 4,4 kuukauden siirtymän sairauden etenemiseen

(HR 0,49; 95 %CI 0,34–0,71;  $p < 0,001$ ) (Geyer *et al.* 2006). Kokonaisselviytymisessä ei ollut eroa ryhmien välillä. Uudemmassa tutkimustulosten läpikäynnissä tulokset osoittivat, että sairauden siirtymä olisi ollut vai 6,2 kuukautta lapatinib-ryhmällä vs. 4,3 kuukautta kontrolliryhmällä (HR 0,57; 95 %CI 0,43–0,77;  $p < 0,001$ ). Myöskään näissä tuloksissa kokonaisselviytymisessä ei huomattu eroja ryhmien välillä (Cameron *et al.* 2008).

Vuonna 2010 EMA hyväksyi lapatinibin käytön yhdistettynä aromataasi-inhibiittori hoitoihin ensimmäisen linjan hoitona hormoneireseptoripositiivisille sekä HER2-positiivisille metastoituneille rintasyöville. Satunnaistetussa tutkimuksessa lapatinib yhdistettynä letrozoleen mahdollisti keskimäärin 8,2 kuukauden ajan ilman sairauden etenemistä, kun taas kontrolliryhmällä vastaava arvo oli 3 kuukautta (HR 0,71; 95 %CI 0,53–0,96;  $p = 0,019$ ) (Johnston *et al.* 2009). Lapatinibin käytöllä voisi olla lääkinnälliset mahdollisuudet toisen ja ensimmäisen linjan hoitoina. Kuitenkin vaikka sairauden etenemisen estossa lääke kykeni osoittamaan ihanteellisia tuloksia, se ei vaikuttanut kokonaisselviytymiseen ja näin ollen esimerkiksi National Institute for Health And Care Excellence (NICE), ei suosittele lääkkeen käyttöä epäonnistuneiden aikaisempien lääkehoitojen jälkeen tai ensimmäisen linjan hoitona yhdistettynä muihin hoitomuotoihin. Käyttöä suositellaan ainoastaan kliinisissä tutkimuksissa (National Institute for Health And Care Excellence, 2012).

### 5. 3. CDK4/6-estäjät

CDK4/6-estäjiä hyödynnetään hormoneireseptoripositiivisten ja HER2-negatiivisen edenneen rintasyövän hoidossa. FDA on hyväksynyt käytettäväksi kolmea eri lääkeainetta, jotka ovat palbociclib, abemaciclib ja ribociclib. Näitä hyödynnetään hoitomuotoina yhdessä endokriiniterapian kanssa. Uusinta lääkettä DAWNA-1:stä testataan faasi III -kokeissa.

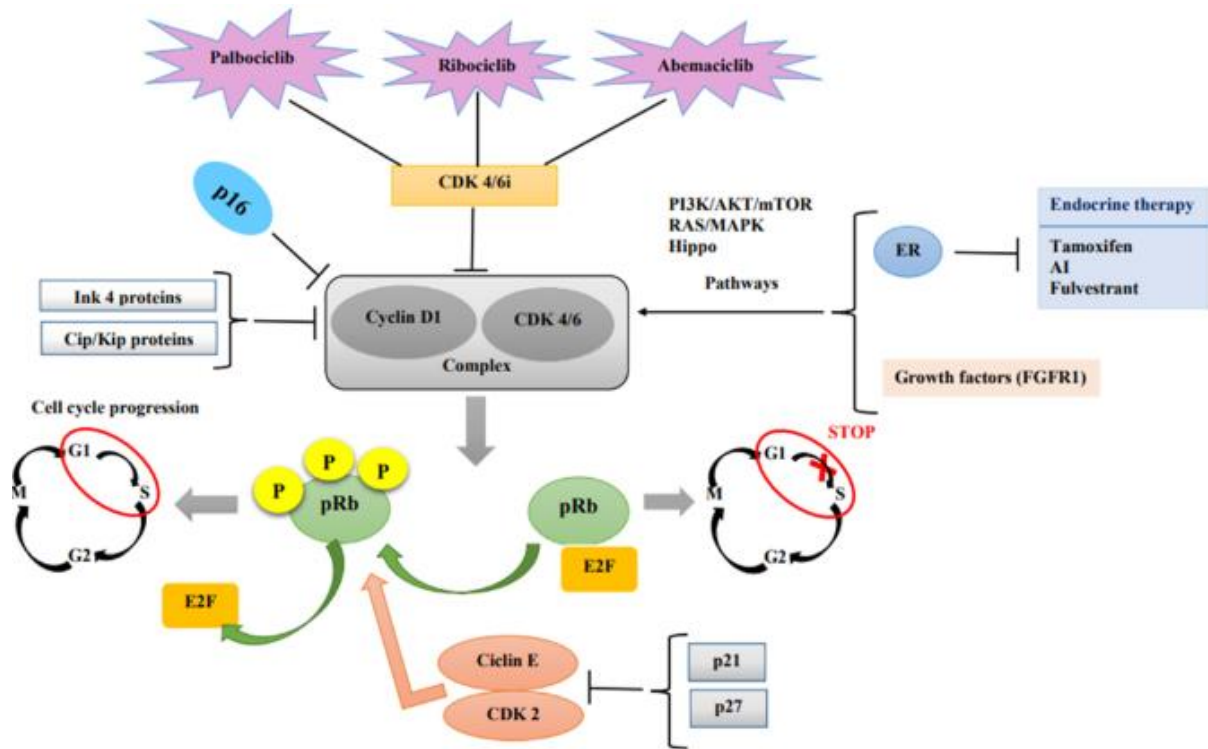
Sykliineistä riippuvaiset kinaasit, Cyclin-dependent kinases (CDKs), ovat seriini-threoniini kinaaseja. Erilaiset solun ulkoiset ja sisäiset signaalit aktivoivat lukuisia signaaliteitä, joiden seurauksena sykliini D:n ilmeneminen ja aktiivisuus muuttu. Sykliini D yhdessä CDK4- ja CDK6-kinaasin kanssa, muodostaa toimivan kompleksin, joka kykenee inhiboimaan retinoblastoma tumor suppression proteiinin (Rb), erityisesti sen muodot 1 (p107) sekä 2 (p130). Toimiva kompleksi monofosforyloi Rb:n, joka mahdollistaa transkriptiotekijä E2F:n kautta tapahtuvan eston löyhentymisen. Tämän seurauksena cyclin E:tä tuotetaan, joka vastaavasti sitoutuu CDK2-kinaasiin aktivoiden tämän ja hyperfosforyloi Rb-proteiinin (Lundberg & Weinberg 1998, Harbour *et al.* 1999). Hyperfosforylaatio estää Rb-proteiinia



sitomasta transkriptiotekijöitä, jolloin nämä pääsevät aktivoimaan geeninluntaa ja tätä kautta vaikuttamaan solun siirtymistä G1 vaiheesta S vaiheeseen (Narasimha *et al.* 2014). Solusyklin eteneminen mahdollistaa syöpäsolujen jakautumisen ja tätä kautta kasvun.

CDK4/6-estäjät vaikuttavat signaaliketjuun niin, että Rb-proteiini defosforyloidaan ja solun siirtyminen solusykliin eteenpäin G1-vaiheesta estyy, ja solu jää ikään kuin osittaiseen G1-vaiheeseen (Choi *et al.* 2012). Useat tutkimukset osoittavat, että CDK4/6-aktiivisuus on koholla syöpäsoluissa. Yleensä rintasyövissä on havaittu cyclin D1 -ekspressoitua, joka johtaa myös samalla CDK4/6-aktiivisuuden kasvuun (Gillett *et al.* 1994, McIntosh *et al.* 1995, Weinstein-Saslow *et al.* 1995, Kenny *et al.* 1999, Yu *et al.* 2006, Choi *et al.* 2012). Erityisesti CDK-perheen INK4-proteiinit kykenevät inhiboimaan CDK4/6 toimintaa ja vaikuttavaan soluissa tapahtuviin signaaliketjuihin (Serrano *et al.* 1993).

Syöpäsoluissa tapahtuneet tietyntyyppiset mutaatiot ovat osoittaneet, että syöpäsolut kykenevät jakautumaan ja kiertämään CDK4/6-signaaliketjun inhibition vaikutuksen. Häiriö säätelyproteiini p16<sup>Ink4a</sup>:han tai Rb proteiiniin aiheuttaa kasvaimen muodostumista. Mutaatiot CDK2A- ja RB1-geeneissä vaikuttavat säätelyproteiinin ja kasvaimen ehkäisyn toimintaan sekä johtavat pro-mitoottiseen signaalointiin sekä sykliini E1- ja CDK2-aktivoitumiseen. Tämän perusteella on huomattu, että syöpäsolut kykenevät ohittamaan CDK4/6-järjestelmän ja on päätelty, että solusykliin vaikuttava toiminta, kuten inhibitio, onnistuu vain, jos Rb-proteiini on täysin toimiva (Dean *et al.* 2010). CDK4/6-signaali ja inhibiittorien vaikutus on esitetty kuvassa 5.



Kuva 5. CDK4/6-inhibiittorien vaikutus solusignaalointiin. Erilaiset solun vastaanottamat signaalit aktivoivat reaktiotien. Sykliini D muodostaa CDK4/6 kinaasien kanssa toimivan komponentin, joka vaikuttaa Rb-proteiinin toimintaan fosforylaation kautta. Rb:n monofosforylaation seurauksena sykliini E:n tuotto kasvaa ja tämä sitoutuu CDK2:een, joka johtaa Rb:n hyperfosforylaatioon. Tämä vapauttaa transkriptiofaktori E2F:n ja solu kykenee siirtymään syklin vaiheesta G1 S-vaiheeseen. Inhibiittorien toiminta inhiboi kompleksin muodostumista ja täten vaikuttaa Rb-proteiinin fosforylaation kautta transkriptiofaktoriin sitoutumiseen ja solusyklin vaiheiden pysähtymiseen. Myös erilaisilla proteiineilla, kuten Ink4- ja Cip/Kip -proteiineilla on sykliä estäviä ominaisuuksia. Kuva lähteestä Stanciu et al. 2023.

### 5.3.1. Palbociclib (Ibrance)

Palbociclib on ensimmäinen CDK4/6-inhibiittori, jolla huomattiin syöpää vastustavia ominaisuuksia. 2009 toteutetussa tutkimuksessa Finn *et al.* löysivät, että palbociclib kykeni tehostamaan tamofixenin, endokriiniterapiassa käytetyn estrogeenireseptori modulaattorin, vaikutusta ER+ -solulinjoissa inhiboimalla Rb:n fosforylaatiota (Finn *et al.* 2009). Myöhemmin hiirimalleilla on kyetty todistamaan, että palbociclib pienentää syöpäsolujen kasvua myös tamofixenille resistenteissä kasvaimissa (Wardell *et al.* 2015).

Ensimmäinen faasi I -tutkimus palbociclibille toteutettiin 2011, jossa määritettiin lääkeaineen annosmäärän toksisuutta. Tutkimus mahdollisti siirtymisen seuraavaan vaiheeseen, pitäen myeliinisuppressiota toksisuuden rajana (Schwartz *et al.* 2011).

Faasi II -tutkimuksissa tutkittiin sekä lääkkeen yksittäistä että yhteisvaikutusta toisten lääkkeiden kanssa. Monoterapiana palbociclibin vaikutusta tutkittiin metastoituneeseen

rintasyöpään potilailla, jotka ilmensivät ylimäärin Rb-proteiinia syöpäkudoksessa. Tutkimus seurasi kasvaimen reaktiota lääkaineeseen, mutta myös Rb-proteiinin ilmenemistä, p16<sup>Ink4a</sup> häviämistä, cyclin D1 -geenin amplifikaatiota sekä PFS:ssää (Progressio-free survival), joka indikoi etenemisen jatkumiseen kestävästä ajasta. Koska potilaat olivat vastaanottaneet jo paljon erilaisia hoitoja, tulokset kokeissa jäivät vaatimattomiksi. Objektiiivinen vaikutus 5 %, kliininen tehokkuus 19 % ja PFS 3,7 kuukautta (95 % CI 1,9–5,1; p=0,03) (DeMichele *et al.* 2015). Kuitenkin yhdistelmäkoheet PALOMA-1/TRIO-18 tuottivat erilaisia tuloksia. Palbociclib yhdistettynä letrozoleen paransi etenemisen jatkumisen ajankohtaa 20,2 kuukauden kohdalle (95 % CI 13,8–27,5). Yksittäin letrozole kykeni viivästyttämään etenemistä 10,2 kuukaudella (95 % CI 5,7–12,6). Tutkimus mahdollisti hoitomuodon siirtymisen ensimmäisen linjan hoitomuodoksi. Palbociclib osoitti myös komplikaatioiden puolesta matalaa riskiä kuumeiselle neutropenialle (Finn *et al.* 2015).

Faasi III -tutkimus, nimeltään PALOMA-2, suoritettiin 666 naiselle. Tutkimukset osoittivat, että palbociclibillä ja letrozolella lääkityllä ryhmällä sairauden etenemisen jatkumisen arvo oli 24,8 kuukautta, kun taas verrokkiryhmänä käytetty letrozole-plasebo ryhmän vastaava arvo oli 14,5 kuukautta, (HR 0,58; 95 % CI 0,46–0,72; P < 0,001) (Finn *et al.* 2016). Palbociclibin vaikutusta tutkittiin myös naisilla, joiden sairaus oli edennyt endokriiniterapiasta huolimatta. PALOMA-3 tutkimus kokosi 521 hormonireseptoripositiivista potilasta, joille annettiin joko palbociclibiä yhdessä fulvestrant hormonihoidon kanssa tai pelkkää fulvestranttia. Fulvestrant on estrogeenireseptoriin sitoutuva lääke, joka estää estrogeenin vaikutuksen solussa. Keskimääräinen selviytymisaika tutkimuksessa oli 6,9 kuukautta parempi palbociclibin kanssa verrattuna kontrolliryhmään (HR 0,81; 95 % CI 0,64–1,03; p=0,09) (Turner *et al.* 2018). Tutkimukset osoittivat myös korkeampia tuloksia erityisesti potilailla, jotka olivat osoittaneet herkkyyttä endokriiniterapialle, mutta myös 9,3 kuukauden parannuksen sairauden etenemisessä henkilöillä, joilla oli viskeraali sairaus, jolloin syöpä on levinnyt pehmytkudokseen (Turner *et al.* 2018). PALOMA-3 on edelleen jatkuva kliinisen vaiheen tutkimus, jota toteutetaan satunnaistetulla ja kaksoissokaistulla kokeella, jossa kokeeseen osallistuja tai tutkija eivät tiedä minkä hoidon osallistuja vastaanottaa. On osoitettu, että palbociclib yhdistettynä endokriinihoitoon kasvattaa etenemisen jatkumisen aikaa ja tämän seurauksena se sopii hoitomuodoksi hormonireseptoripositiiviseen ja HER2-negatiiviseen rintasyöpään (Cristofanilli *et al.* 2016).

### 5.3.2. Ribociclib (*Kisqali*)

Ribociclib on myös suun kautta otettava CDK4/6-estäjä. Faasi III -tutkimukset alkoivat 2016 MONALEESA-2 tutkimuksella. Tutkimus toteutettiin 668 vaihdevuodet kokeneelle naiselle, jotka sairastivat hormonireseptoriposiitivista tai HER2-negatiivista rintasyöpää. Tutkimukset osoittivat, että ribociclib yhdistettynä letrozoleen mahdollistivat pidemmän sairauden etenemismuotoon ajan ja johtivat ensimmäiseen FDA lupaan käyttää ribociclibiä ensimmäisen linjan hoitomuotona estrogeenireseptoriposiitivisille, HER2-negatiivisille ja metastoituneen syövän omaaville potilaille (Hortobagyi *et al.* 2016). Hoitomuoto astui voimaan 2017. MONALEESA-7 kliiniset tutkimukset mahdollistivat nopeasti lääkeluvan laajentumisen vuonna 2018 koskemaan myös naisia, jotka eivät ole vielä kokeneet vaihdevuotia. Tutkimuksessa 672 vaihdevuotia kokematonta naista lääkittiin ribociclibillä endokriiniterapian lisäksi ja hoitomuoto kasvatti sairauden etenemisen ajankohtaa 13 kuukaudesta 23,8 kuukauteen (HR 0,55; 95 % CI 0,44–0,69;  $p < 0,0001$ ) (Tripathy *et al.* 2018). Lisäksi ribociclibin vaikutusta fulvestrantin kanssa tutkittiin potilailla, jotka olivat uusineet syövän tai heitä ei ollut hoidettu endokriiniterapialla MONALEESA-3 tutkimuksessa. Tutkimus sisälsi 726 vaihdevuodella olevaa naista hormonireseptoriposiitivisella tai HER2-negatiivisella syöväällä. Sairauden eteneminen jatkui 12,8 kuukauden arvolla plasebo ryhmällä, kun taas ribociclib ryhmällä vastaava arvo oli 20,5 kuukautta (HR 0,59; 95 % CI 0,48–0,73;  $p < 0,001$ ) (Slamon *et al.* 2018).

### 5.3.3. Abemaciclib (*Verzenio*)

MONARCH-2-tutkimus mahdollisti abemaciclibin käyttöönoton vuonna 2017. Faasi III-tutkimuksessa verrattiin abemaciclibin vaikutusta fulvestrantin kanssa. 669 potilasta sisällyttänyt tutkimus todisti abemaciclibin pidentävän etenemisajankohtaa 16,4 kuukauden päähän verraten 9,3 kuukauteen kontrolliryhmällä (HR 0,55; 95 % CI 0,45–0,68;  $p < 0,001$ ) (Sledge *et al.* 2017). Tutkimus sai jatkoa MONARCH-3:lla, jossa abemaciclibin yhdistämistä hormoniterapiaan tutkittiin ensimmäisen linjan hoitokeinona. Satunnaistettu koe kokosi 493 vaihdevuotia läpikäyvää naista ja tutkimukset osoittivat merkittävää parannusta selviytymisessä sekä sairauden etenemisen siirtymisessä myöhemmäksi. Hoitomuoto sai lääkeluvan vuonna 2018 (Goetz *et al.* 2017).

MONARCH-1 mahdollisti lääkkeen hoitomuotona erittäin huonon ennusteen saaneille potilaille 2017 saadun lääkeluvan myötä. Tutkimuksessa abemaciclib osoitti monoterapiana parempia tuloksia kuin ribociclib tai plabociclib potilailla, joilla syöpä oli uusiutunut endokriiniterapiasta tai kemoterapiasta huolimatta. 132 potilasta koonnut MONARCH-1 osoitti, että yksittäin jatkettuna pidemmän aikavälin hoitona se ilmensi kliinistä aktiivisuutta 12 kuukauden jälkeen (Dickler *et al.* 2017).

#### 5.4. PARP-estäjät

DNA:han muodostuu jatkuvasti mutaatioita ja muuta vahinkoa. Terveet solut kykenevät korjaamaan nämä vahingot viidellä erilaisella mekanismilla. Näitä kutsutaan DDR-pathwayksi (DNA damage repair). Mikäli DNA:n kaksoisjuosterakenteesta vain toinen juoste katkeaa, emäksen korjaus (Base excision repair) mahdollistaa juosteen korjautumisen. Suuremmat helixiin kohdistuvat vauriot korjataan nukleotidin korjausjärjestelmällä (Nucleotide excision repair). DNA:n replikoitumisessa tapahtuvat virheet, eli väärän nukleotidin korjas juosteesta tapahtuu yhteensopimattomien nukleotidien korjauksella (Mismatch repair). Mikäli molemmat juosteet katkeavat, korjaus voi tapahtua joko homologisella rekombinaatiolla (HRR, Homologous recombination repair), jossa sisarkromatidia hyödynnetään mallina ja tämä mahdollistaa vastaavanlaisen juosteen uudelleenmuodostumisen, tai korjaus voi tapahtua non-homologisena päiden yhteenliittävänä korjausmekanismina (Non-homologous end joining), jossa vastaavaa mallia ei hyödynnetä.

Korjausmekanismit ovat erittäin vaativia ja monimuotoisia järjestelmiä. 2015 toteutetussa analyysissä esitettiin, että olisi ainakin 450 proteiinia, jotka osallistuvat DNA:n korjaus toimintoihin (Pearl *et al.* 2015). Erilaiset mekanismit käynnistyvät solussa sen mukaan, missä solusyklin vaiheessa solu on. Solun jakautumisessa on kolme eri tarkistuspistettä G1/S, S ja G2/M kohdat, joissa eri järjestelmän proteiinit kykenevät aktivoitumaan DNA:n vaurion korjaamiseksi ennen solun jakautumista. Sykliin erilaiset proteiinikoostumukset ja toimintamallit mahdollistavat sen, että jokin toinen järjestelmä kykenisi paikkaamaan edellisen mahdollisesti epäonnistuneen yrityksen korjata olemassa oleva virhe.

PARP-entsyymit (poly-ADP ribose polymerase) lukeutuvat mukaan tähän korjausjärjestelmän proteiinikokonaisuuteen. PARPit toimivat emäksen korjausjärjestelmässä. Yksittäisen juosteen vaurioituessa, PARP1 kiinnittyy juosteen rikkiinäiseen kohtaan N-terminaalisen sinkkisormen avulla. Kiinnittyminen aktivoi C-terminaalisen domeenin, joka hydrolysoi NAD<sup>+</sup> tämän

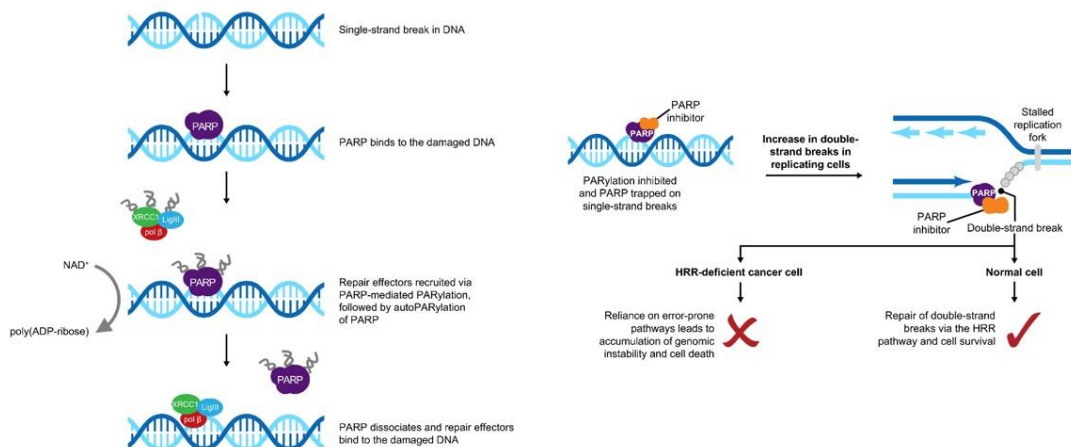
sitoutuessa sen aktiiviseen kohtaan. Tämä käynnistää tapahtumaketjun, jota kutsutaan PARylaatioksi. ADP-riboosi molekyylit, joita syntyy NAD<sup>+</sup> sitoutumisen toimesta, mahdollistavat DNA-juosteen korjaukseen vaikuttavien proteiinien kertymisen korjauspaikalle. Tämän seurauksena PARP irtoaa ja inaktivoituu, kun juosteen korjaavat tekijät kiinnittyvät sen tilalle. (Cortesi *et al.* 2021)

Yksittäisen juosteen hajoaminen voi muodostaa toisen juosteen hajoamisen ja näin ollen kaksoisjuosteen hajoamisen, mikäli yksittäistä juostetta ei korjata. Kaksoisjuosteen korjaaminen HRR-mekanismilla käynnistyy monen eri vaikuttavan rakenteen kautta. Näitä ovat ataxia telangiectasia and rad-3 (ATR), ataxia telangiectasia mutated (ATM), CHK2 ja BRCA1 proteiinit. BRCA1- ja BRCA2-proteiinit toimivat HRR-mekanismissa merkittävinä tekijöinä. Tässä BRCA1 mahdollistaa DNA:ta korjaavien proteiinien kokoontumisen korjattavalle paikalle muodostamalla näistä toimivan yksikön. BRCA2 mahdollistaa homologisen liittämisen RAD51-rekombinaasin välittämänä.

Syöpäsolut, joissa on HRR-geenimutaatio kuten esimerkiksi BRCA1 tai BRCA2, toimivat kohteina PARP-inhibiittori hoidoille. Kohdennetulla hoidolla pyritään muodostamaan mekanismi, joka tunnetaan synteettisenä tuhoutumisena. PARP-inhibiittorit toimivat PARP-entsyymien toiminnan estäjinä. Inhibiittorin sitoutuessa PARP:iin, PARylaatio estyy ja entsyymi kiinni paikalleen. Tämä estää replikoitumisen tapahtumisen ja johtaa lopulta kaksoisjuosteen hajoamiseen. Kun inhibitio tapahtuu solussa, jossa ei ole täysin oikein toimivia HRR-proteiineja ja DNA:n korjaus HRR-mekanismilla ei onnistu (BRCA1 JA BRCA2 mutatoituneet solut), kaksoisjuoste korjataan non-homologisella päiden yhteen kiinnittymisellä. Korjausmekanismi on kuitenkin epästabiili ja johtaa siihen, että muutaman replikoitumisen jälkeen solu ajautuu solukuolemaan. Näin ollen PARP-inhibiittorit kykenevät ajamaan syöpäsolut apoptoosiin.

PARP-inhibiittoreista kahdella, olaparibilla sekä talazoparibilla, on lääkeluvat rintasyövän hoidossa. Molemmat lääkkeet ovat suun kautta otettavia tabletteja. Kolmatta lääkettä, niraparibiä, on tutkittu faasi III -tutkimuksissa, mutta tutkimus keskeytettiin ennenaikaisesti kontrolliryhmään kohdistuneiden ongelmien vuoksi. Ongelmat estivät tutkimuksen hypoteesin kriittisen arvioinnin, mutta tuloksista näkyi kuitenkin niraparibin selvää aktiivisuutta. (Turner *et al.* 2021)

Kuva 6 esittää PARP1-entsyymin toiminnan DNA:n korjausmekanismissa, sekä PARP-inhibiittorien toimintamekanismin.



**Kuva 6. PARP1 ohjaama yhden juosteen korjaus ja PARP-estäjien vaikutusmekanismi. PARP1 sitoutuu vauriokohtaan ja hydrolysoi NAD<sup>+</sup>:n. Tämän seurauksena muodostuu ADP-riboosi molekyylejä, jotka toimivat signaalimolekyyleinä korjauksesta vastaaville proteiineille. Proteiinien sitoutuminen mahdollistaa PARP1 irtautumisen sekä inaktivaation. PARP-estäjien mekanismi pohjautuu PARP-molekyylin sitoutumiseen, joka estää PARPia irtoutumasta juosteesta. Tämä aiheuttaa kaksoisjuosteen hajoamisen, joka johtaa HRR-mekanismiin puutteellisilla soluilla apoptoosiin. Kuva muokattu lähteestä Cortesi et al. 2021.**

#### 5.4.1. Olaparib (Lynparza)

Olaparibi sai lääkeluvan FDA:lta 2018 metastaattisen rintasyövän hoitoon. Vuonna 2019 EMA, European Medicines Agency, hyväksyi lääkkeen käyttönoton paikallisesti edenneeseen ja metastoituneeseen rintasyöpään. Lääkeluvat mahdollistanut tutkimus oli OlympiaAD, joka toteutettiin avoimena, satunnaistettuna kansainvälisenä faasi III -tutkimuksena. Tutkimukseen osallistui 205 potilasta, joilla oli perinnöllinen BRCA mutaation sisältävä HER2 negatiivinen rintasyöpä. Osallistujat olivat vastaanottaneet maksimissaan kaksi kertaa sytostaattihoitoa ennen tutkimukseen osallistumista. Tutkittavat vastaanottivat olaparibia tablettina 300 mg annoksina kahdesti päivässä tai yhtä vaikuttavaa ainetta (capecitabinea, eribulinia tai vinorelbinea) sisältävää solusalpaajahoitoa. Ensimmäisen tutkimuksen lopetuskohta sisälsi sairauden etenemisvapaan ajan määrittämisen. Toisessa ennalta määritetyssä lopetuskohtassa tutkittiin kokonaisselviytymistä, vaikuttavuutta sekä tervettä elämänlaatua. Olaparib ryhmän keskimääräinen sairauden etenemisestä vapaa aika oli 7 kuukautta, kun kontrolliryhmällä vastaava arvo oli 4,2 kuukautta (HR 0,58; 95 % CI 0,43–0,80; p<0,001). Paremmat tulokset olivat suhteessa samanlaisia kaikilla potilailla syöpätyypistä ja aiemmasta hoidosta riippumatta. Tämä oli erittäin hyvä tulos erityisesti kolmoisnegatiivisen syövän omaaville

potilaille, sillä syöpä on kaikista huonoennusteisin ja sen hoitomahdollisuudet sekä menetelmät ovat erittäin rajatut (Robson *et al.* 2017).

Viimeisimmässä tulosten analysoinnissa käytiin läpi kokonaisselviytyminen, joka ei ollut merkittävästi parempi olaparib-ryhmällä verrattuna kontrolliryhmään. Kokonaisselviytyminen oli 19,3 kuukautta, kun vastaava oli kontrolliryhmällä 17,1 kuukautta (HR 0,90; 95 % CI 0,66–1,23;  $p=0,513$ ). Kun tutkittujen potilaiden tuloksen jaettiin alaryhmiin syöpätyyppien ja aikaisempien hoitojen mukaan, huomattiin, että potilailla, jotka olivat saaneet olaparibia ensimmäisenä hoitona metastaattiseen rintasyöpään, kokonaisselviytyminen oli parempi kuin kontrolliryhmällä. Kokonaisselviytyminen oli 22,6 kuukautta vs. 14,7 kuukautta (HR 0,51; 95 % CI 0,29–0,90;  $n=87$ ). Tulos oli parhain verrattuna kaikkiin tutkimukseen osallistuneisiin. Olaparib ryhmä raportoi vähemmän äärimmäisen huonoista sivuvaikutuksista tai niiden korkeasta vaikutuksesta. Yleisin sivuvaikutus oli huonovointisuus, tämän jälkeen anemia ja oksentelu. Kontrolliryhmä raportoi ensimmäisenä anemiasta, neutropeniasta ja huimauksesta. Alle 5 % potilaista keskeytti hoidon sivuvaikutusten takia. (Robson *et al.* 2019)

#### **5.4.2. Talazoparib (Talzenna)**

Talazoparib sai lääkeluvan FDA:lta 2018 ja EMA:lta 2019. Käyttölupa koskee molemmilla paikallisesti edennyttä tai metastoitunutta rintasyöpää. EMBRACA faasi III -tutkimus mahdollisti lääkeluvan antamisen. Tutkimus oli avoin, satunnaistettu, kansainvälinen ja monen laitoksen yhteistyössä toteuttama tutkimus talazoparibin vaikutuksesta perinnölliseen BRCA-mutaation aiheuttamaan paikalliseen tai levinneeseen rintasyöpään. Kontrolliryhmänä toimi solusalapaajahoidossa oleva ryhmä. Lääkinnällisenä aineena toimi capacitabine, eribuline, gemcitabine tai vinorelbine. Potilaita oli hoidettu maksimissaan kolmella eri hoitokerralla ennen tutkimukseen osallistumista. Tutkimukseen osallistui 287 osallistujaa. Ensimmäisessä lopetuskohdassa arvioitiin etenemätön aika, toisessa kokonaisselviytyminen ja vaikuttavuus. Etenemisvapaa aika osoittautui pidemmäksi talazoparibilla, 8,6 kuukautta vs. kontrolliryhmällä 5,6 kuukautta (HR 0,54; 95 % CI 0,41–0,71;  $p<0,001$ ). Tulokset olivat johdonmukaisia kaikilla tutkimukseen osallistuneilla potilailla syöpätyypistä ja aiemmasta hoitotaustasta riippumatta (Litton *et al.* 2018, Rugo *et al.* 2019). Kokonaisselviytymisessä ei ollut merkittäviä eroja koeryhmien välillä. Keskimääräinen selviytyminen talazoparibilla oli 19,3 kuukautta ja kontrolliryhmällä 19,5 kuukautta (HR 0,85; 95 % CI 0,67–1,07;  $P=0,17$ ). Selviytymisen



todennäköisyys 48 kuukauden kohdalla oli 0,19 talazoparibilla ja 0,07 kontrolliryhmällä. (Litton *et al.* 2020)

Potilaiden elämänlaatu oli merkittävästi parempi talazoparib-lääkityksen kanssa. (Ettl *et al.* 2018) Sivuvaikutuksista hematologiset oireet, kuten anemia, neutropenia ja trompysytopenia, ilmenivät enemmän kontrolliryhmään verrattuna, kun taas muita sivuoireita, kuten huonovointisuutta, huimausta, pääkipua ja oksentelua, oli vähemmän. Myöhemmästä datan käsittelystä selvisi myös, että talazoparib johti vähemmän sairaalahoitoihin vakavien sivuoireiden takia kuin standardoitu sytostaattihoito. Luvut olivat 46,8 sairaalatapausta 100 potilasta kohden vs. 71,9. Potilaista 5,9 % keskeytti talazoparib-hoidon sivuvaikutusten takia. (Litton *et al.* 2018, Hurvitz *et al.* 2020)

### **5.4.3. Olaparib vs. Talazoparib**

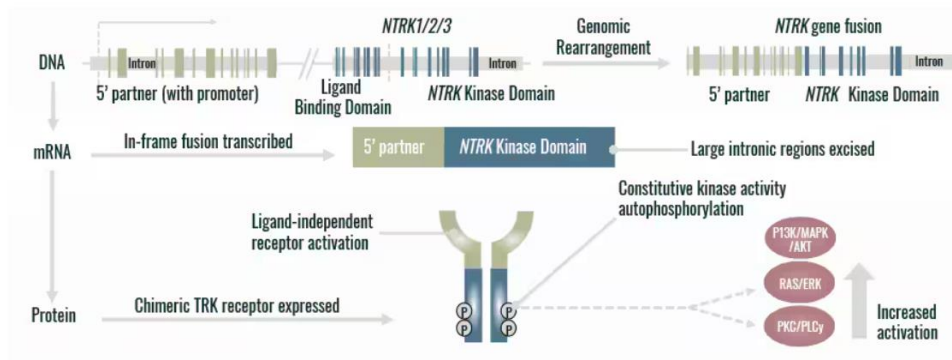
Vuonna 2019 julkaistu tutkimus kokosi epäsuoran hoitovertailun olaparibin ja talazoparibin tehokkuudesta ja turvallisuudesta. Vertailu osoitti, että lääkkeet ovat yhtä tehokkaita mahdollistamaan etenemisvapaan ajan sairaudessa. Lääkkeillä oli kuitenkin erilaiset sivuvaikutukset. Olaparib aiheutti vähemmän hematologisia komplikaatioita, mutta vastaavasti se aiheutti enemmän muita sivuvaikutuksia kuten huonovointisuutta sekä oksentelua. Tuloksista esitettiin, että ne vaatisivat komparatiivisia tutkimuksia vahvistamaan saadut tulokset ja päätelmät. Rajoittavina tekijöinä tutkimuksessa toimivat eroavaisuudet sivuoireiden esittämisessä julkaistuissa kirjallisuuksissa, tutkimuksien rakenteissa sekä kontrolliryhmien erilaisissa solusalpaajahoidoissa. EMBRACA-tutkimuksessa kontrolliryhmä saattoi vastaanottaa gemcitabinea, mutta tätä hoitomuotoa ei ollut käytössä OlympiaAD-tutkimuksessa. (McCrea *et al.* 2021)

## **5.5. NTRK-estäjät**

Tropomyosiinireseptorikinaasit muodostavat tyrosiinikinaasi-perheen, johon kuuluu kolme reseptoria TRKA, TRKB ja TRKC. Reseptorit toimivat kriittisenä osana signaaliketjuja, jotka vaikuttavat hermosolujen kehittymiseen. Reseptorien rakenne koostuu solun ulkoisesta rakenteesta, joka vastaa ligandin sitomisesta, transmembraanisesta osasta, sekä ATP:n sitovasta solun sisäisestä kokonaisuudesta, joka mahdollistaa signalikaskadin aktivoitumisen. Reseptori kykenee sitomaan useita erilaisia neuronefriinejä, joiden reseptorin aktivoiva

vaikutus johtaa eri signaaliketjujen, kuten MAPK, PI3K ja PLC $\gamma$  aktivoitumiseen. Nämä signaaliketjut vastaavat solussa jakautumisesta, erilaistumisesta, angiogeneesistä, sekä selviytymisestä.

Reseptoreja koodaavat geenit ovat NTRK1, NTRK2 ja NTRK3. Geenien muutokset ovat yhdistetty kasvaimien muodostumiseen. Yleisimmät mutaatiot ovat kromosomien sisäiset ja toisesta kromosomista muodostuva uudelleenjärjestäytyminen, jota kutsutaan geneettiseksi fuusioksi. Epäsuotuisa geenimutaatio aiheuttaa NTRK proto-onkogeenin aktivoitumisen, kun uudelleenjärjestäytymisessä geenin promoottori ja NTRK-kinaasin domeenia koodaava geeni fuusioituvat. Tämän johtaa muodostuvan reseptorin vääränlaiseen rakenteeseen, sillä ligandin sitova osa puuttuu reseptorista. Reseptori kykenee pysymään aktivoituneena jatkuvasti. Väärin aktivoitunut reseptori johtaa solun liialliseen jakautumiseen ja kasvaimen muodostumiseen. Yli 20 eri geeniä on tunnistettu pariuuvan väärin erilaisin yhdistelmin. Näihin geneihin lukeutuvat muun muassa ETV6, PAN3 ja TMP3. ETV6-NTRK3-geenifuusiota on löydetty harvinaisemmista kasvaimista, joita ovat esimerkiksi sekretoriset rintasyöpäkasvaimet. Tyrosiinikinaasin inhibiittorit toimivat TRK-signalointiin vaikuttavina lääkehoitoina spesifisissä NTRK-geenifuusion sisältävissä syövässä. Larotrectinib oli ensimmäinen FDA:n hyväksymä tyrosiinikinaasi-inhibiittori syövän hoidossa. Vuonna 2019 FDA antoi käyttöluvan myös entrectinibile osana kiinteiden kasvainten hoitoa.



**Kuva 7. Geneettinen uudelleenjärjestäytyminen aiheuttaa geenifuusion NTRK 1-3 geneeissä. Tämä aiheuttaa DNA:sta ligandin sitovan osan poistumisen ja johtaa lopulta uudenlaisen mRNA syntyyn, sekä reseptorirakenteen muodostumiseen. Ligandin sitovan osan puuttuminen mahdollistaa reseptorin jatkuvan aktivaation ja johtaa signaaliketjujen kohonneeseen aktiivisuuteen sekä mahdollistaa kasvainsolujen jakautumisen sekä selviytymisen. Kuva lähteestä *Role of NTRK Fusions in Oncogenesis, 2015*.**

### 5.5.1. Larotrectinib (Vitrakvi, LOXO-101)

Larotrectinib kilpailee TRK:n sotysolisesta ATP:n sitovasta aktiivisesta kohdasta. Se toimii kilpailevana komponenttina kaikilla reseptorimuodoilla A:lla, B:llä ja C:llä. Sitoutuminen aktiiviseen kohtaan estää reseptorin autofosforylaation, joka johtaa solun sisäisen signaalin katkeamiseen.

Prekliinisiä tutkimuksia lääkkeelle tehtiin useissa eri solulinjoissa. Kolme solulinjaa osoitti vastetta lääkkeelle. Näitä olivat CUTO-3.29-solut keuhkosityöpötilaasta, jolla oli MPRIP-NTRK-geenifuusio, KM12-solut kolorektaalista adenokarsinoomasta, joka sisälsi TPM3-NTRK3-geenifuusion ja MO-91-solut akuutista myelooisesta leukemiasta, jotka sisälsivät ETV6-NTRK3-mutaation. In vitro -tutkimukset toteutettiin karvattomilla hiirillä, joilta puuttuu kateenkorva, tätä kautta myös T-solut ja immuunipuolustusjärjestelmä. Hiiriin injektoidiin KM12-soluja ja lääkittiin larotrectinibillä. Kriittisen tarkastelun kohteena olivat annoksesta riippuvainen kasvaimen inhibitio sekä kyky inhiboida kasvaimen kasvua in vivo -ympäristössä. Tulokset antoivat lupaavia merkkejä lääkkeen inhiboivasta toiminnasta, joka mahdollisesti siirtymisen kliinisiin potilastutkimuksiin. (Doebele *et al.* 2015)

Ensimmäinen kliininen potilastutkimus toteutettiin 41-vuotiaalle naiselle, joka sairasti pehmytkudoksen erilaistumatonta sarkoomaa, joka oli metastoitunut keuhkoihin. Laajoissa geneettisissä tutkimuksissa ilmeni, että kasvain ilmensi LMNA-NTRK1-geenifuusiota, joka aiheutti sairauden. Faasi I -kliininen tutkimus aloitettiin 2015 larotrectinibin osalta. Tutkimuksen alussa naiselta löytyi keuhkometastaaseja molemmista keuhkoista ja erittäin laajaa kasvaimien etenemistä. Potilas joutui käyttämään lisähapetta ylläpitääkseen riittävän happitason. Neljän kuukauden kohdalla tutkimuksen aloittamisesta CT kuva paljasti, että suurikokoisin noin 7 cm kasvain oli melkein täysin kadonnut ja potilas ei tarvinnut enään lisähapetta. (Doebele *et al.* 2015)

Useat potilastapaukset myöhemmin osoittivat larotrectinibin toimivaa hoitovaikutusta. Rintasyövän osalta larotrectinibin hoitovaikutus raportoitiin ensimmäistä kertaa 2017. Potilastapauksessa 14-vuotialla työllä oli sekretorinen rintasyöpä, joka oli larotrectinib hoidon aloitukseen mennessä metastoitunut keuhkoihin ja rintakehään. Geneettiset tutkimukset paljastivat, että kasvaimet ilmensivät ETV6-NTRK3- ja TERT-promoottorin geenifuusiota. FDA ja LOXO onkologia avasivat yksittäisen lääkkeen käyttöluvan tälle potilastapaukselle. Lääkinnän seurauksena potilaan kasvaimen aiheuttamat kivut pienenevät heti kolmen päivän jälkeen lääkinnän aloittamisesta. Ensimmäisen viikon jälkeen, vasemman keuhkon kasvainmassa osoitti merkittävää ja nopeaa pienenemistä ja kahden kuukauden jälkeen,

kasvain oli melkein kokonaan poistunut. Myös keuhkojen muut metastaasit hävisivät melkein täydellisesti. (Shukla *et al.* 2017)

2018 FDA antoi lääkkeelle käyttöluvan aikuisten ja lasten hoidossa, joilla on edennyt kiinteä kasvain, joka on aiheutunut NTRK-fuusiosta. 2019 FDA antoi lääkeluvan toiselle NTRK-inhibiittorille, entrectinibille. Lääkelupa koski kaikkia potilaita, jotka olivat yli 12-vuotiaita. Uusin 2023 annettu lupa mahdollistaa kaikkien potilaiden hoidon 1-kuukauden ikäisestä vauvasta ylöspäin. (National cancer institute 2019)

## 5.6. Verisuonten kasvun esto

Syöpäsolut jakautuvat terveitä soluja nopeampaan tahtiin, joka johtaa kohonneeseen ravinteiden ja hapen tarpeeseen. Angiogeneesissä verisuonia muodostuu nopeasti, mikä mahdollistaa syöpäkasvaimen tehokkaan kasvun. Paikallinen angiogeneesi on yksi tärkeimmistä kasvaimen adaptoitumistapahtumista ympäristöönsä sekä elintärkeää sen kehitykselle, etenemiselle ja leviämislle. Kasvaimen alkuvaiheessa matala happi- ja ravinnetaso rajoittavat sen kasvun noin 1–2 mm kokoiseksi. Tässä vaiheessa solujen kuoleminen ja uusien muodostuminen tasapainottavat toisiaan, johtuen tarpeiden täyttämättömyydestä. Kasvain kykenee menemään ikään kuin lepotilaan. Angiogeneettisten tekijöiden ja inhibiittorien tason muuttaminen mahdollistaa aktivoimaan aktiivisen angiogeneettisen vaiheen verisuonten kehittämiseksi. (Kandel *et al.* 1991, Arbeit *et al.* 1994) Uusien verisuonikapillaarien muodostuminen mahdollistaa solujen paremmat olosuhteet ja nopean kasvun vaiheen. Varhaisessa vaiheessa tarvetta matalampi happitaso (hypoksia), käynnistää hypoksia välitteisten tekijöiden (HIFs), erityisesti HIF-1 $\alpha$ , aktivoitumisen ja transkription käynnistymisen. HIF-1 $\alpha$  muodostaa heterodimeerin HIF-1 $\beta$  kanssa vähähappisissa olosuhteissa ja kyseinen dimeeri toimii transkriptiofaktorina useille geneille. Geenien aktivaatio, johtaa muun muassa metabolisiin muutoksiin, angiogeneesiin sekä solujen jakautumiseen. HIF-1 $\alpha$ - ja HIF-2 $\alpha$ -ilmenemisen on tutkittu indikoivan huonompaa ennustetta useissa syövissä. (Birner *et al.* 2001, Schindl *et al.* 2002, Hiraga *et al.* 2007)

Angiogeneesin signaloinnissa toimivat eri tuotetut kasvutekijät, pääasiasaa verisuonten endoteelin kasvutekijä (VEGF) ja fibroblasti kasvutekijä (FGF). Tutkimukset ovat osoittaneet, että kasvutekijöiden tasot veressä voivat ennustaa tietynlaista syöpätyyppiä ja toimia diagnostisena indikaattorina muun muassa syövän ennusteelle ja leviämislle. (Weidner *et al.* 1991, Vartanian *et al.* 1994, Joukov *et al.* 1996)

Kasvutekijät sitoutuvat endoteelisolujen solukalvolla toimiviin VEGF-reseptorimolekyyleihin. Reseptoriperhe koostuu viidestä proteiinista (VEGFR-1–3, NRP-1 ja NRP-2), joista kolme (VEGFR-1–3) välittää kasvutekijöiden signaalia. Ligaasin sitoutuminen aiheuttaa reseptorin tyrosiinikinaasin autofosforylaation ja aktivoi solun sisäisen signaalikaskadin, jota seuraa solujen jakautumiseen, selviytymiseen ja endoteelisolujen levittäytymiseen, apoptoosin inhibitioon ja lopulta verisuonien putkirakenteiden muodostumiseen. Ajan myötä, prosessi kehittää toimivan verenkiertojärjestelmän kasvaimen ympärille.

Hiirimallit ovat osoittaneet, että valkoinen rasvakudos ylläpitää verisuonten kasvua ja tukee rintasyövän kehittymistä ja etenemistä. (Zhang *et al.* 2009, Orecchioni *et al.* 2013) Ruskea rasvakudos puolestaan tuo jatkuvasti happea sekä ravinteita tukien kasvaimen kasvamista. Molemmat kudostyypit tuottavat angiogeneettisiä kasvutekijöitä. Kasvutekijöiden ilmenemisen on tutkittu olevan olennaisena osana kasvaimen muodostumiselle rintasyövässä ja erityisesti VEGF ja sen eri isomeerien ilmeneminen on tyypillistä rintasyövissä (Relf *et al.* 1997). VEGF-3-reseptorin ilmeneminen on löydetty tyypillisenä leviävämmälle syöpätyypille ja kasvutekijä VEGF-A- ja VEGFR1 /2-reseptorin vuorovaikutuksen on huomattu vaikuttavan rintasyövän kehittymiseen, metastaatioon sekä etenemiseen. (Valtola *et al.* 1999, Srabovic *et al.* 2013)

Lääkinnällinen verisuonten muodostumisen estäminen perustuu VEGF-ketjun estämiseen. Lääkkeiden mekanismit vaihtelevat. Osa lääkkeistä toimii kohdennettuina vasta-aineina kasvutekijään tai sen reseptoriin, ja jotkin toimivat tyrosiinikinaasin inhiboivina tekijöinä.

### **5.6.1. Everolimus (Afinitor)**

Mammalian target of rapamycin, mTOR, toimii signaalinvälittäjänä toiminnoissa, jotka vaikuttavat solujen jakautumiseen sekä angiogeneesiin. mTOR on seriini-treoniini kinaasi, joka toimii osana PI3K/AKT/mTOR signaaliketjua.

mTOR-inhibiittorit estävät VEGF-tekijöiden ilmenemisen ja tätä kautta VEGF-välitteisen angiogeneesin. Everolimus on yksi useista mTOR-inhibiittoreista. Sen vaikutusmekanismi pohjautuu FKBP12-reseptoriin sitoutumiseen, jonka kautta se inhiboi mTOR-signaaliketjua ja tämän vaikutuksia (Kuva 8).

BOLERO-2-tutkimus mahdollisti everolimuksen lääkeluvan hormonireseptoripositivisissa ja HER2-negatiivisissa metastoituneissa rintasyövissä 2012. Tutkimuksen kohteena oli selvittää everolimuksen vaikutus endokriiniterapian ohella, sillä mTOR-signaalipolun aktivoituminen

oli yhdistetty endokriiniterapian resistenssin muodostumisen kanssa. Tutkimus toteutettiin satunnaistettuna faasi III -tutkimuksena, johon osallistui 724 potilasta. Tutkimusryhmät vastaanottivat everolimusta exemestanen kanssa tai pelkkää exemestanea. Everolimus yhdessä exemestanen kanssa, tuotti paremman tuloksen sairauden etenemisen jatkumisen hidastamiseksi noin neljällä kuukaudella. Keskiarvoina näille olivat 6,9 kuukautta vs. kontrolliryhmän 2,8 kuukautta (HR 0,43; 95 % CI 0,35–0,54;  $p < 0,0001$ ) (Baselga *et al.* 2012). Kokonaisselviytymisen kannalta tutkimustulokset eivät osoittaneet tilastollisesti merkittäviä parannuksia. Kokonaisselviytyminen everolimus ryhmällä mitattuna oli 31 kuukautta (95 % CI 28–34,6) ja kontrolliryhmällä 26,6 kuukautta (95% CI 22,6–33,1) (HR 0,89; 95% CI 0,73–1,10;  $p = 0,14$ ) (Piccart *et al.* 2014). Everolimus oli melko hyvin siedetty lääkehoito. Lääkehoidon lopettaneita oli enemmän everolimus testiryhmässä, kuin kontrolliryhmässä (Yardley *et al.* 2013).

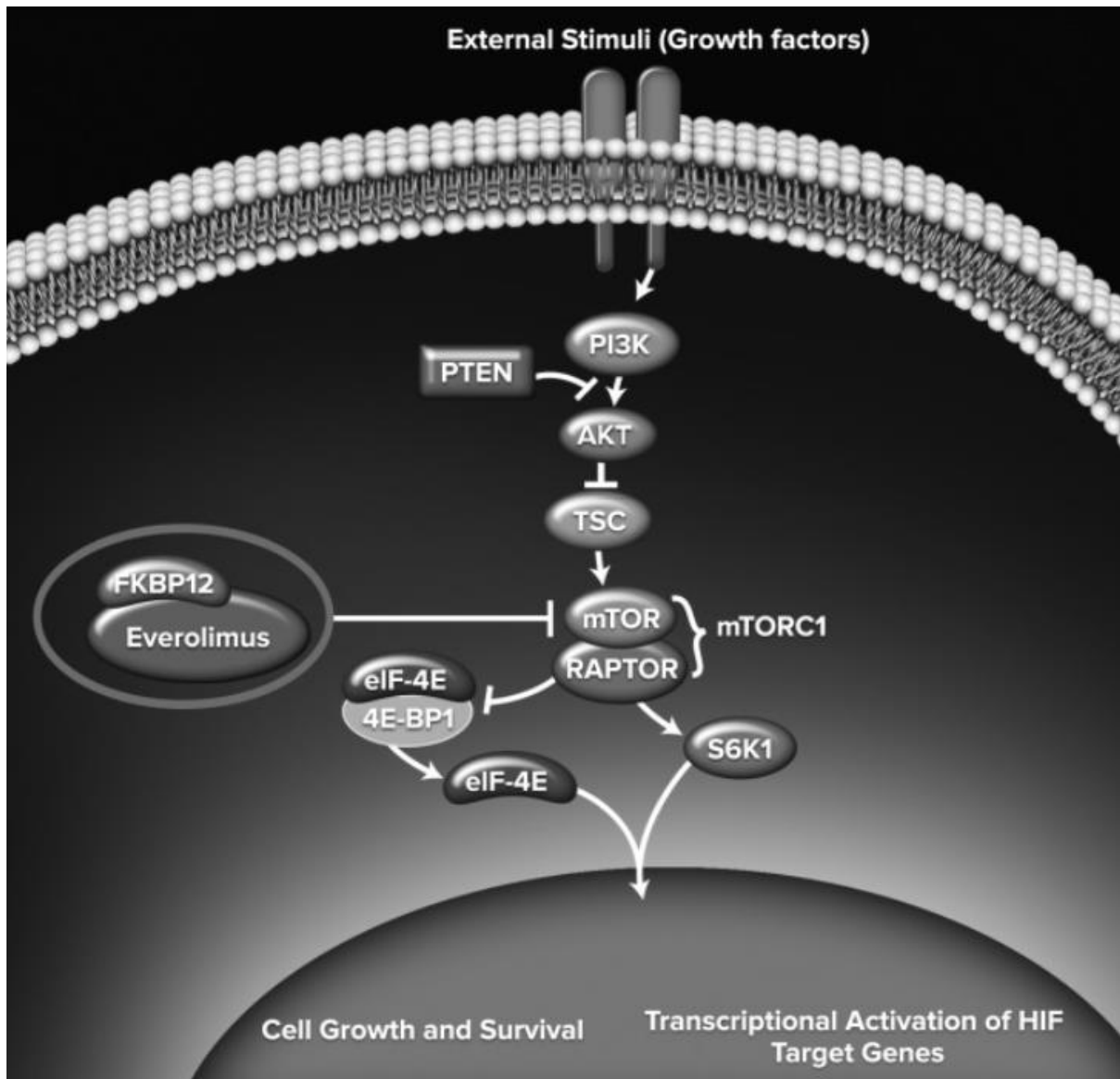
Everolimuksen tehoa on tutkittu myös HER2-positiivisten syöpien osalta. HER2-syövän lääkinnässä käytettyä trastuzumabia vastaan voi kehittyä resistanssi osalla potilaista. Resistenssin kehittymiseen on yhdistetty PTEN-aktiivisuuden väheneminen ja PI3K-signaaliketjun aktivoituminen (Berns *et al.* 2007). Hiirimallit osoittivat, että everolimus kykenee palauttamaan trastuzumabin kasvainta pienentävän vaikutuksen ja vaikuttamaan positiivisesti hoidon vaikutukseen (Miller *et al.* 2009). Potilastutkimukset ovat osoittaneet vain hiukan parempia tuloksia tutkimuksissa, joissa everolimus on yhdistetty trastuzumabin kanssa. Faasi I -tason tutkimukset, joissa everolimus on tuottanut hyviä tuloksia, ovat sisältäneet potilaita, jotka ovat sairastaneet syövästä erittäin vaikeaa muotoa sekä osoittaneet resistanssia aikaisemmille hoidoille, ja hoitokertojen määrä on ollut jo merkittävän korkea (Andre *et al.* 2010, Jerusalem *et al.* 2011). BOLERO-3-tutkimus oli ensimmäinen faasi III -tutkimus, joka todisti mTOR-inhibition hyödyn HER2-positiivisilla potilailla. Sairauden etenemisestä vapaa aika oli kuitenkin vain viisi viikkoa parempi everolimus ryhmällä, joka ei ole kliinisesti merkittävää (André *et al.* 2014). Myöskään myöhemmin toteutettu BOLERO-1-tutkimus ei kyennyt todistamaan merkittävää parannusta tutkimustuloksissa (Hurvitz *et al.* 2015).

### **5.6.2. mTOR, PI3K, AKT inhibiitio**

MTOR/PI3K/AKT-signaaliketju vastaa solussa toiminnoista, jotka vaikuttavat solun ravinteiden saantiin, kasvutekijöihin ja hormoneihin. Tätä kautta toiminnot vaikuttavat suuresti solun kasvuun sekä jakautumiseen.

Signaaliketjun keskinäisinä komponentteina ovat PI3K, AKT ja mTOR. PI3K on heterodimeeri, joka koostuu kahdesta alayksiköstä. Dimeerin aktiivisuutta säätelee kasvuhormonireseptorin aktiivisuus. PI3K fosforyloituminen PIP<sub>2</sub> muodosta PIP<sub>3</sub> muotoon aikaansaa signaaliketjun aktivoitumiseen, joka puolestaan vaikuttaa AKT:n sekä mTOR:n toimintaan. PTEN toimii solussa hallittoman jakautumisen estävänä komponenttina ja toimii vastakkaisella mekanismilla PI3K fosforyloitumiselle. Syöpäsoluissa AKT vaikuttaa solusykliin, syöpäsolujen kasvamiseen sekä selviytymiseen. Tutkimukset osoittavat, että PIK3CA-mutaatio geenissä, joka koodaa PI3K alayksikön rakenteellista osaa, mahdollistaisi AKT:n itsenäisen aktivoitumisen signaaliketjusta irrallisena ja mahdollistaisi tätä kautta kasvaimen kehittymisen. (Philp *et al.* 2001, Shekar *et al.* 2005)

PI3K- ja AKT-inhibiittorit toimivat yhdessä mTOR-inhibiittorien kanssa vaikuttavina komponentteina tähän kyseiseen signaaliketjuun. PI3K-inhibiittoreista alpelisib (vijoice) sai FDA lääkeluvan 2019 hormoonireseptoriposiitiviselle, HER2-negatiiviselle sekä PIK3CA-mutaation sisältäville edenneille tai metastoituneille rintasyöville. Tutkimus, joka mahdollisti lääkeluvan, oli faasi III -tutkimus SOLAR-1. (André *et al.* 2021) Uusin FDA hyväksymä AKT-inhibiittori, capivasertib (tuqap) yhdistettynä fulvestrantti faslodexiin, sai lääkeluvan 2023 hormonireseptoriposiitivisten ja HER2-negatiivisten rintasyöpien hoidossa, jotka sisältävät muuttunutta toimintaa PIK3CA, AKT1 tai PTEN toiminnassa. Lääkeluvan mahdollistanut tutkimus oli faasi III CAPItello-291 (Turner *et al.* 2023).



Kuva 8. Everolimus sitoutuu FKBP12-reseptoriin ja inhiboi mTOR välittämää signaalireittiä. mTOR toimii yhtenä signaalikaskadin keskeisenä tekijänä PI3K/AKT/mTOR-reaktioreitillä. Signaalitie vaikuttaa solun kasvuun ja selviytymiseen, sekä HIF, hypoksia välitteisten tekijöiden synteesiin. HIF-tekijät toimivat transkriptiofaktoreina geeneille, jotka vastaavat angiogeneesistä, solun metabolisista muutoksista sekä solun jakautumisesta. Kuva lähteestä Royce & Osman 2015.

## 6. Seulonnat ja syöpäkuolemien ehkäiseminen

Rintasyöpäseulonnat pyrkivät löytämään väestöstä syövän esiasteita ja varhaisen vaiheen syöpiä järjestelmällisellä toiminnalla. Seulontojen tarkoitus on pyrkiä vähentämään syöpien aiheuttamia kuolemia, sillä aikaisessa vaiheessa havaittu syöpä mahdollistaa paremman hoitoennusteen. Suomessa syöpäseulontojen ohjausryhmä toimii syöpäseulontojen seuraajana



sekä ohjaajana. Sosiaali- ja terveysministeriö valmistelee seulontoihin liittyvän lainsäädännön ja asetukset.

Rintasyöpäseulonta toteutetaan 50–69-vuotiaille naisille 20–26 kuukauden väliajoin. Myös sukupuolensa mieheksi vahvistaneet ja pitkäaikaisesti hormonivalmisteita käyttäneet henkilöt ovat oikeutettuja seulontoihin. Ensisijaisena seulonnassa toteutettavana tutkimuksena käytetään mammografiaa eli rintojen röntgenkuvausta. Tarvittavia mahdollisia jatkotutkimuksia ovat ultraäänitutkimus sekä neulanäytteet.

Suomessa havaitaan keskimäärin 5000 uutta rintasyöpätapausta vuosittain. Noin puolet tästä on seulontaikäisiä ja noin kaksi kolmasosaa näistä syöivistä havaitaan seulonnoissa. Loput rintasyöivistä todetaan henkilöiltä, jotka eivät ole osallistuneet seulontoihin esimerkiksi iän vuoksi, tai henkilöiltä, joilla syöpä on muodostunut vasta seulonnan jälkeen tai sitä ei ole kyetty havaitsemaan seulonnoissa (Sarkeala *et al.* 2014). Keskustelua on herännyt siitä, pitäisikö seulontaikärajaa muuttaa. Ensisijaisena vaihtoehtona ikärajaa olisi mahdollista laskea koskemaan 46–49-vuotiaita naisia, mutta keskustelua on myös käyty ikärajan nostamisesta 74 vuotiaisiin. EU:n komission nykyinen suositus olisi harkita ikärajan muutosta. (Shafik *et al.* 2023, European Commission 2023)

Seulontatutkimusten vaikutusta rintasyöpäkuolleisuuteen on myös tutkittu. Vuonna 2016 julkaistussa tutkimuksessa tarkasteltiin vuosien 1992–2011 välisellä ajalla naisten kuolleisuutta rintasyöpään ja syöpäseulontojen vaikutusta kuolleisuuteen. Tutkimus osoitti, että seulonnat pienensivät 33 % kuolleisuutta suhteessa tilanteeseen, jossa seulontoja ei olisi järjestetty. (Heinävaara *et al.* 2016)

Rintasyövän hallitsevuus naisten yleisimpänä syöpänä, sekä suurin syöpäkuolleisuuden aiheuttaminen todistavat, että rintasyöpä on nyky-yhteiskunnan suuri ajankohtainen ongelma. Rintasyöpien jatkuvasti kasvava kokonaismäärä indikoi myös, että sairaus tulee vaikuttamaan varteenotettavasti yhteiskuntaan myös tulevaisuudessa. Vaikka hoitomuodot ja hoitojen tulokset ovat kehittyneet valtavasti, tutkimusta aiheeseen tarvitaan erittäin paljon, sillä vielä ei kyetä tekemään tarpeeksi liian monen potilaan kohdalla.

## 7. Kirjallisuusviitteet

Allemani, C., Matsuda, T., Di Carlo, V., Harewood, R., Matz, M., Nikšić, M., Bonaventure, A., Valkov, M., Johnson, C. J., Estève, J., Ogunbiyi, O. J., Azevedo E Silva, G., Chen, W. Q., Andre, F., Campone, M., O'Regan, R., Manlius, C., Massacesi, C., Sahmoud, T., Mukhopadhyay, P., Soria, J. C., Naughton, M., & Hurvitz, S. A. (2010). Phase I study of everolimus plus weekly paclitaxel and trastuzumab in patients with metastatic breast cancer pretreated with trastuzumab. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 28(34), 5110–5115. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.27.8549>

André, F., Ciruelos, E. M., Juric, D., Loibl, S., Campone, M., Mayer, I. A., Rubovszky, G., Yamashita, T., Kaufman, B., Lu, Y. S., Inoue, K., Pápai, Z., Takahashi, M., Ghaznawi, F., Mills, D., Kaper, M., Miller, M., Conte, P. F., Iwata, H., & Rugo, H. S. (2021). Alpelisib plus fulvestrant for PIK3CA-mutated, hormone receptor-positive, human epidermal growth factor receptor-2-negative advanced breast cancer: final overall survival results from SOLAR-1. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*, 32(2), 208–217. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.11.011>

André, F., O'Regan, R., Ozguroglu, M., Toi, M., Xu, B., Jerusalem, G., Masuda, N., Wilks, S., Arena, F., Isaacs, C., Yap, Y. S., Papai, Z., Lang, I., Armstrong, A., Lerzo, G., White, M., Shen, K., Litton, J., Chen, D., Zhang, Y., ... Gianni, L. (2014). Everolimus for women with trastuzumab-resistant, HER2-positive, advanced breast cancer (BOLERO-3): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial. *The Lancet. Oncology*, 15(6), 580–591. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)70138-X](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)70138-X)

Andrulis, I. L., Bull, S. B., Blackstein, M. E., Sutherland, D., Mak, C., Sidlofsky, S., Pritzker, K. P., Hartwick, R. W., Hanna, W., Lickley, L., Wilkinson, R., Qizilbash, A., Ambus, U., Lipa, M., Weizel, H., Katz, A., Baida, M., Mariz, S., Stoik, G., Dacamara, P., ... McCready, D. (1998). neu/erbB-2 amplification identifies a poor-prognosis group of women with node-negative breast cancer. Toronto Breast Cancer Study Group. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 16(4), 1340–1349. <https://doi.org/10.1200/JCO.1998.16.4.1340>

Arbeit, J. M., Münger, K., Howley, P. M., & Hanahan, D. (1994). Progressive squamous epithelial neoplasia in K14-human papillomavirus type 16 transgenic mice. *Journal of virology*, *68*(7), 4358–4368. <https://doi.org/10.1128/JVI.68.7.4358-4368.1994>

Arnould, L., Gelly, M., Penault-Llorca, F., Benoit, L., Bonnetain, F., Migeon, C., Cabaret, V., Fermeaux, V., Bertheau, P., Garnier, J., Jeannin, J. F., & Coudert, B. (2006). Trastuzumab-based treatment of HER2-positive breast cancer: an antibody-dependent cellular cytotoxicity mechanism?. *British journal of cancer*, *94*(2), 259–267. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6602930>

Bargh, J. D., Isidro-Llobet, A., Parker, J. S., & Spring, D. R. (2019). Cleavable linkers in antibody–drug conjugates. *Chemical Society Reviews*, *48*, Article 16. <https://doi.org/10.1039/c8cs00676h>

Barok, M., Joensuu, H. & Isola, J. Trastuzumab emtansine: mechanisms of action and drug resistance. *Breast Cancer Res* **16**, 209 (2014). <https://doi.org/10.1186/bcr3621>

Barok, M., Tanner, M., Köninki, K., & Isola, J. (2011). Trastuzumab-DM1 causes tumour growth inhibition by mitotic catastrophe in trastuzumab-resistant breast cancer cells in vivo. *Breast cancer research : BCR*, *13*(2), R46. <https://doi.org/10.1186/bcr2868>

Baselga, J., Campone, M., Piccart, M., Burris, H. A., 3rd, Rugo, H. S., Sahmoud, T., Noguchi, S., Gnant, M., Pritchard, K. I., Lebrun, F., Beck, J. T., Ito, Y., Yardley, D., Deleu, I., Perez, A., Bachelot, T., Vittori, L., Xu, Z., Mukhopadhyay, P., Lebwohl, D., ... Hortobagyi, G. N. (2012). Everolimus in postmenopausal hormone-receptor-positive advanced breast cancer. *The New England journal of medicine*, *366*(6), 520–529. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1109653>

Batzer, A. G., Rotin, D., Ureña, J. M., Skolnik, E. Y., & Schlessinger, J. (1994). Hierarchy of binding sites for Grb2 and Shc on the epidermal growth factor receptor. *Molecular and cellular biology*, *14*(8), 5192–5201. <https://doi.org/10.1128/mcb.14.8.5192-5201.1994>

Berns, K., Horlings, H. M., Hennessy, B. T., Madiredjo, M., Hijmans, E. M., Beelen, K., Linn, S. C., Gonzalez-Angulo, A. M., Stemke-Hale, K., Hauptmann, M., Beijersbergen, R. L., Mills, G. B., van de Vijver, M. J., & Bernards, R. (2007). A functional genetic approach identifies the PI3K pathway as a major determinant of trastuzumab resistance in breast cancer. *Cancer cell*, *12*(4), 395–402. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2007.08.030>

Berns, K., Horlings, H. M., Hennessy, B. T., Madiredjo, M., Hijmans, E. M., Beelen, K., Linn, S. C., Gonzalez-Angulo, A. M., Stemke-Hale, K., Hauptmann, M., Beijersbergen, R. L., Mills,

G. B., van de Vijver, M. J., & Bernards, R. (2007). A functional genetic approach identifies the PI3K pathway as a major determinant of trastuzumab resistance in breast cancer. *Cancer cell*, 12(4), 395–402. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2007.08.030>

Birner, P., Gatterbauer, B., Oberhuber, G., Schindl, M., Rössler, K., Prodinger, A., Budka, H., & Hainfellner, J. A. (2001). Expression of hypoxia-inducible factor-1 alpha in oligodendrogliomas: its impact on prognosis and on neoangiogenesis. *Cancer*, 92(1), 165–171. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(20010701\)92:1<165::aid-cnrcr1305>3.0.co;2-f](https://doi.org/10.1002/1097-0142(20010701)92:1<165::aid-cnrcr1305>3.0.co;2-f)

Cameron, D., Casey, M., Press, M., Lindquist, D., Pienkowski, T., Romieu, C. G., Chan, S., Jagiello-Gruszfeld, A., Kaufman, B., Crown, J., Chan, A., Campone, M., Viens, P., Davidson, N., Gorbounova, V., Raats, J. I., Skarlos, D., Newstat, B., Roychowdhury, D., Paoletti, P., ... Geyer, C. E. (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. <https://doi.org/10.1007/s10549-007-9885-0>

Cardillo, T. M., Govindan, S. V., Sharkey, R. M., Trisal, P., Arrojo, R., Liu, D., Rossi, E. A., Chang, C. H., & Goldenberg, D. M. (2015). Sacituzumab Govitecan (IMMU-132), an Anti-Trop-2/SN-38 Antibody-Drug Conjugate: Characterization and Efficacy in Pancreatic, Gastric, and Other Cancers. *Bioconjugate chemistry*, 26(5), 919–931. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.5b00223>

Cardoso, F., Kyriakides, S., Ohno, S., Penault-Llorca, F., Poortmans, P., Rubio, I. T., Zackrisson, S., Senkus, E., & ESMO Guidelines Committee. Electronic address: [clinicalguidelines@esmo.org](mailto:clinicalguidelines@esmo.org) (2019). Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*, 30(8), 1194–1220. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz173>

Chattopadhyay, A., Vecchi, M., Ji, Q.s, Mernaugh, R., & Carpenter, G. (1999). The role of individual SH2 domains in mediating association of phospholipase C-gamma1 with the activated EGF receptor. *The Journal of biological chemistry*, 274(37), 26091–26097. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.37.26091>

Chen, Z., Yang, J., Li, S., Lv, M., Shen, Y., Wang, B., Li, P., Yi, M., Zhao, X., Zhang, L., Wang, L., & Yang, J. (2017). Invasive lobular carcinoma of the breast: A special histological

type compared with invasive ductal carcinoma. *PloS one*, 12(9), e0182397. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182397>

Choi, Y. J., Li, X., Hydbring, P., Sanda, T., Stefano, J., Christie, A. L., Signoretti, S., Look, A. T., Kung, A. L., von Boehmer, H., & Sicinski, P. (2012). The requirement for cyclin D function in tumor maintenance. *Cancer cell*, 22(4), 438–451. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2012.09.015>

Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer (2001). Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58,209 women with breast cancer and 101,986 women without the disease. *Lancet (London, England)*, 358(9291), 1389–1399. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)06524-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(01)06524-2)

Cortés, J., Kim, S. B., Chung, W. P., Im, S. A., Park, Y. H., Hegg, R., Kim, M. H., Tseng, L. M., Petry, V., Chung, C. F., Iwata, H., Hamilton, E., Curigliano, G., Xu, B., Huang, C. S., Kim, J. H., Chiu, J. W. Y., Pedrini, J. L., Lee, C., Liu, Y., ... DESTINY-Breast03 Trial Investigators (2022). Trastuzumab Deruxtecan versus Trastuzumab Emtansine for Breast Cancer. *The New England journal of medicine*, 386(12), 1143–1154. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2115022>

Cortesi, L., Rugo, H. S., & Jackisch, C. (2021). An Overview of PARP Inhibitors for the Treatment of Breast Cancer. *Targeted oncology*, 16(3), 255–282. <https://doi.org/10.1007/s11523-021-00796-4>

Cristofanilli, M., Turner, N. C., Bondarenko, I., Ro, J., Im, S. A., Masuda, N., Colleoni, M., DeMichele, A., Loi, S., Verma, S., Iwata, H., Harbeck, N., Zhang, K., Theall, K. P., Jiang, Y., Bartlett, C. H., Koehler, M., & Slamon, D. (2016). Fulvestrant plus palbociclib versus fulvestrant plus placebo for treatment of hormone-receptor-positive, HER2-negative metastatic breast cancer that progressed on previous endocrine therapy (PALOMA-3): final analysis of the multicentre, double-blind, phase 3 randomised controlled trial. *The Lancet. Oncology*, 17(4), 425–439. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(15\)00613-0](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(15)00613-0)

Cuello, M., Ettenberg, S. A., Clark, A. S., Keane, M. M., Posner, R. H., Nau, M. M., Dennis, P. A., & Lipkowitz, S. (2001). Down-regulation of the erbB-2 receptor by trastuzumab (herceptin) enhances tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-mediated apoptosis in breast and ovarian cancer cell lines that overexpress erbB-2. *Cancer research*, 61(12), 4892–4900.

Dean, J. L., Thangavel, C., McClendon, A. K., Reed, C. A., & Knudsen, E. S. (2010). Therapeutic CDK4/6 inhibition in breast cancer: key mechanisms of response and failure. *Oncogene*, 29(28), 4018–4032. <https://doi.org/10.1038/onc.2010.154>

DeMichele, A., Clark, A. S., Tan, K. S., Heitjan, D. F., Gramlich, K., Gallagher, M., Lal, P., Feldman, M., Zhang, P., Colameco, C., Lewis, D., Langer, M., Goodman, N., Domchek, S., Gogineni, K., Rosen, M., Fox, K., & O'Dwyer, P. (2015). CDK 4/6 inhibitor palbociclib (PD0332991) in Rb+ advanced breast cancer: phase II activity, safety, and predictive biomarker assessment. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 21(5), 995–1001. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-2258>

Dickler, M. N., Tolaney, S. M., Rugo, H. S., Cortés, J., Diéras, V., Patt, D., Wildiers, H., Hudis, C. A., O'Shaughnessy, J., Zamora, E., Yardley, D. A., Frenzel, M., Koustenis, A., & Baselga, J. (2017). MONARCH 1, A Phase II Study of Abemaciclib, a CDK4 and CDK6 Inhibitor, as a Single Agent, in Patients with Refractory HR<sup>+</sup>/HER2<sup>-</sup> Metastatic Breast Cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 23(17), 5218–5224. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-0754>

Doebele, R. C., Davis, L. E., Vaishnavi, A., Le, A. T., Estrada-Bernal, A., Keysar, S., Jimeno, A., Varella-Garcia, M., Aisner, D. L., Li, Y., Stephens, P. J., Morosini, D., Tuch, B. B., Fernandes, M., Nanda, N., & Low, J. A. (2015). An Oncogenic NTRK Fusion in a Patient with Soft-Tissue Sarcoma with Response to the Tropomyosin-Related Kinase Inhibitor LOXO-101. *Cancer discovery*, 5(10), 1049–1057. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-0443>

DrugBank. (2005). *Trastuzumab*. Go.drugbank.com.

Engelman, J. A., Zejnullahu, K., Mitsudomi, T., Song, Y., Hyland, C., Park, J. O., Lindeman, N., Gale, C. M., Zhao, X., Christensen, J., Kosaka, T., Holmes, A. J., Rogers, A. M., Cappuzzo, F., Mok, T., Lee, C., Johnson, B. E., Cantley, L. C., & Jänne, P. A. (2007). MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling. *Science (New York, N.Y.)*, 316(5827), 1039–1043. <https://doi.org/10.1126/science.1141478>

Erickson, H. K., Widdison, W. C., Mayo, M. F., Whiteman, K., Audette, C., Wilhelm, S. D., & Singh, R. (2010). Tumor delivery and in vivo processing of disulfide-linked and thioether-linked antibody-maytansinoid conjugates. *Bioconjugate chemistry*, 21(1), 84–92. <https://doi.org/10.1021/bc900315y>

Eser, S., Engholm, G., Stiller, C. A., Monnereau, A., Woods, R. R., Visser, O., Lim, G. H., ... CONCORD Working Group (2018). Global surveillance of trends in cancer survival 2000-14 (CONCORD-3): analysis of individual records for 37 513 025 patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries. *Lancet (London, England)*, 391(10125), 1023–1075. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)33326-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)33326-3)

Ettl, J., Quek, R. G. W., Lee, K. H., Rugo, H. S., Hurvitz, S., Gonçalves, A., Fehrenbacher, L., Yerushalmi, R., Mina, L. A., Martin, M., Roché, H., Im, Y. H., Markova, D., Bhattacharyya, H., Hannah, A. L., Eiermann, W., Blum, J. L., & Litton, J. K. (2018). Quality of life with talazoparib versus physician's choice of chemotherapy in patients with advanced breast cancer and germline BRCA1/2 mutation: patient-reported outcomes from the EMBRACA phase III trial. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*, 29(9), 1939–1947. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy257>

European Commission, EC Initiative on Breast Cancer. *European guidelines for breast cancer and diagnosis*. 2022. <https://data.consilium.europa.eu/doc/document/ST-14770-2022-INIT/en/pdf>, Last accessed 20 April 2023

*FDA Approves Entrectinib for Tumors with NTRK Fusions*. (2019, September 17). National Cancer Institute; Cancer.gov. <https://www.cancer.gov/news-events/cancer-currents-blog/2019/fda-entrectinib-ntkr-fusion>

Fehling-Kaschek, M., Peckys, D. B., Kaschek, D., Timmer, J., & Jonge, N. (2019). Mathematical modeling of drug-induced receptor internalization in the HER2-positive SKBR3 breast cancer cell-line. *Scientific reports*, 9(1), 12709. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49019-x>

Finn, R. S., Crown, J. P., Lang, I., Boer, K., Bondarenko, I. M., Kulyk, S. O., Ettl, J., Patel, R., Pinter, T., Schmidt, M., Shparyk, Y., Thummala, A. R., Voytko, N. L., Fowst, C., Huang, X., Kim, S. T., Randolph, S., & Slamon, D. J. (2015). The cyclin-dependent kinase 4/6 inhibitor palbociclib in combination with letrozole versus letrozole alone as first-line treatment of oestrogen receptor-positive, HER2-negative, advanced breast cancer (PALOMA-1/TRIO-18): a randomised phase 2 study. *The Lancet. Oncology*, 16(1), 25–35. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)71159-3](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)71159-3)

Finn, R. S., Dering, J., Conklin, D., Kalous, O., Cohen, D. J., Desai, A. J., Ginther, C., Atefi, M., Chen, I., Fowst, C., Los, G., & Slamon, D. J. (2009). PD 0332991, a selective cyclin D

kinase 4/6 inhibitor, preferentially inhibits proliferation of luminal estrogen receptor-positive human breast cancer cell lines in vitro. *Breast cancer research : BCR*, 11(5), R77. <https://doi.org/10.1186/bcr2419>

Finn, R. S., Martin, M., Rugo, H. S., Jones, S., Im, S. A., Gelmon, K., Harbeck, N., Lipatov, O. N., Walshe, J. M., Moulder, S., Gauthier, E., Lu, D. R., Randolph, S., Diéras, V., & Slamon, D. J. (2016). Palbociclib and Letrozole in Advanced Breast Cancer. *The New England journal of medicine*, 375(20), 1925–1936. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1607303>

Geyer, C. E., Forster, J., Lindquist, D., Chan, S., Romieu, C. G., Pienkowski, T., Jagiello-Gruszfeld, A., Crown, J., Chan, A., Kaufman, B., Skarlos, D., Campone, M., Davidson, N., Berger, M., Oliva, C., Rubin, S. D., Stein, S., & Cameron, D. (2006). Lapatinib plus capecitabine for HER2-positive advanced breast cancer. *The New England journal of medicine*, 355(26), 2733–2743. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa064320>

Gillett, C., Fantl, V., Smith, R., Fisher, C., Bartek, J., Dickson, C., Barnes, D., & Peters, G. (1994). Amplification and overexpression of cyclin D1 in breast cancer detected by immunohistochemical staining. *Cancer research*, 54(7), 1812–1817.

Goetz, M. P., Toi, M., Campone, M., Sohn, J., Paluch-Shimon, S., Huober, J., Park, I. H., Trédan, O., Chen, S. C., Manso, L., Freedman, O. C., Garnica Jaliffe, G., Forrester, T., Frenzel, M., Barriga, S., Smith, I. C., Bourayou, N., & Di Leo, A. (2017). MONARCH 3: Abemaciclib As Initial Therapy for Advanced Breast Cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 35(32), 3638–3646. <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.75.6155>

Gusterson, B. A., Gelber, R. D., Goldhirsch, A., Price, K. N., Sève-Söderborgh, J., Anbazhagan, R., Styles, J., Rudenstam, C. M., Golouh, R., & Reed, R. (1992). Prognostic importance of c-erbB-2 expression in breast cancer. International (Ludwig) Breast Cancer Study Group. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 10(7), 1049–1056. <https://doi.org/10.1200/JCO.1992.10.7.1049>

Hallberg, B., Rayter, S. I., & Downward, J. (1994). Interaction of Ras and Raf in intact mammalian cells upon extracellular stimulation. *The Journal of biological chemistry*, 269(6), 3913–3916.

Harbour, J. W., Luo, R. X., Dei Santi, A., Postigo, A. A., & Dean, D. C. (1999). Cdk phosphorylation triggers sequential intramolecular interactions that progressively block Rb



functions as cells move through G1. *Cell*, 98(6), 859–869. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81519-6](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81519-6)

Haroon, S., Hashmi, A. A., Khurshid, A., Kanpurwala, M. A., Mujtuba, S., Malik, B., & Faridi, N. (2013). Ki67 index in breast cancer: correlation with other prognostic markers and potential in pakistani patients. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*, 14(7), 4353–4358. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2013.14.7.4353>

Heinävaara, S., Sarkeala, T., & Anttila, A. (2016). Impact of organised mammography screening on breast cancer mortality in a case-control and cohort study. *British journal of cancer*, 114(9), 1038–1044. <https://doi.org/10.1038/bjc.2016.68>

Higgins, M. J., & Stearns, V. (2009). Understanding resistance to tamoxifen in hormone receptor-positive breast cancer. *Clinical chemistry*, 55(8), 1453–1455. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2009.125377>

Hiraga, T., Kizaka-Kondoh, S., Hirota, K., Hiraoka, M., & Yoneda, T. (2007). Hypoxia and hypoxia-inducible factor-1 expression enhance osteolytic bone metastases of breast cancer. *Cancer research*, 67(9), 4157–4163. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-2355>

Hortobagyi, G. N., Stemmer, S. M., Burris, H. A., Yap, Y. S., Sonke, G. S., Paluch-Shimon, S., Campone, M., Blackwell, K. L., André, F., Winer, E. P., Janni, W., Verma, S., Conte, P., Arteaga, C. L., Cameron, D. A., Petrakova, K., Hart, L. L., Villanueva, C., Chan, A., Jakobsen, E., ... O'Shaughnessy, J. (2016). Ribociclib as First-Line Therapy for HR-Positive, Advanced Breast Cancer. *The New England journal of medicine*, 375(18), 1738–1748. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1609709>

<https://go.drugbank.com/drugs/DB00072>

Hunter, F. W., Barker, H. R., Lipert, B., Rothé, F., Gebhart, G., Piccart-Gebhart, M. J., Sotiriou, C., & Jamieson, S. M. F. (2020). Mechanisms of resistance to trastuzumab emtansine (T-DM1) in HER2-positive breast cancer. *British journal of cancer*, 122(5), 603–612. <https://doi.org/10.1038/s41416-019-0635-y>

Huober, J., Holmes, E., Baselga, J., de Azambuja, E., Untch, M., Fumagalli, D., Sarp, S., Lang, I., Smith, I., Boyle, F., Xu, B., Lecocq, C., Wildiers, H., Jouannaud, C., Hackman, J., Dasappa, L., Ciruelos, E., Toral Pena, J. C., Adamchuk, H., Hickish, T., ... Di Cosimo, S. (2019). Survival outcomes of the NeoALTTO study (BIG 1-06): updated results of a randomised multicenter phase III neoadjuvant clinical trial in patients with HER2-positive primary breast

cancer. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, 118, 169–177. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2019.04.038>

Hurvitz, S. A., Andre, F., Jiang, Z., Shao, Z., Mano, M. S., Neciosup, S. P., Tseng, L. M., Zhang, Q., Shen, K., Liu, D., Dreosti, L. M., Burris, H. A., Toi, M., Buyse, M. E., Cabaribere, D., Lindsay, M. A., Rao, S., Pacaud, L. B., Taran, T., & Slamon, D. (2015). Combination of everolimus with trastuzumab plus paclitaxel as first-line treatment for patients with HER2-positive advanced breast cancer (BOLERO-1): a phase 3, randomised, double-blind, multicentre trial. *The Lancet. Oncology*, 16(7), 816–829. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(15\)00051-0](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(15)00051-0)

Hurvitz, S. A., Gonçalves, A., Rugo, H. S., Lee, K. H., Fehrenbacher, L., Mina, L. A., Diab, S., Blum, J. L., Chakrabarti, J., Elmeliegy, M., DeAnnuntis, L., Gauthier, E., Czibere, A., Tudor, I. C., Quek, R. G. W., Litton, J. K., & Ettl, J. (2020). Talazoparib in Patients with a Germline BRCA-Mutated Advanced Breast Cancer: Detailed Safety Analyses from the Phase III EMBRACA Trial. *The oncologist*, 25(3), e439–e450. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2019-0493>

Iida, S., Misaka, H., Inoue, M., Shibata, M., Nakano, R., Yamane-Ohnuki, N., Wakitani, M., Yano, K., Shitara, K., & Satoh, M. (2006). Nonfucosylated therapeutic IgG1 antibody can evade the inhibitory effect of serum immunoglobulin G on antibody-dependent cellular cytotoxicity through its high binding to FcγRIIIa. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 12(9), 2879–2887. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-05-2619>

Inic, Z., Zegarac, M., Inic, M., Markovic, I., Kozomara, Z., Djuricic, I., Inic, I., Pupic, G., & Jancic, S. (2014). Difference between Luminal A and Luminal B Subtypes According to Ki-67, Tumor Size, and Progesterone Receptor Negativity Providing Prognostic Information. *Clinical Medicine Insights. Oncology*, 8, 107–111. <https://doi.org/10.4137/CMO.S18006>

Jackman, D., Pao, W., Riely, G. J., Engelman, J. A., Kris, M. G., Jänne, P. A., Lynch, T., Johnson, B. E., & Miller, V. A. (2010). Clinical definition of acquired resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small-cell lung cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 28(2), 357–360. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.24.7049>

Jerusalem, G., Fasolo, A., Dieras, V., Cardoso, F., Bergh, J., Vittori, L., Zhang, Y., Massacesi, C., Sahmoud, T., & Gianni, L. (2011). Phase I trial of oral mTOR inhibitor everolimus in combination with trastuzumab and vinorelbine in pre-treated patients with HER2-overexpressing metastatic breast cancer. *Breast cancer research and treatment*, *125*(2), 447–455. <https://doi.org/10.1007/s10549-010-1260-x>

Johnston, S., Pippin, J., Jr, Pivot, X., Lichinitser, M., Sadeghi, S., Dieras, V., Gomez, H. L., Romieu, G., Manikhas, A., Kennedy, M. J., Press, M. F., Maltzman, J., Florance, A., O'Rourke, L., Oliva, C., Stein, S., & Pegram, M. (2009). Lapatinib combined with letrozole versus letrozole and placebo as first-line therapy for postmenopausal hormone receptor-positive metastatic breast cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, *27*(33), 5538–5546. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.23.3734>

Joukov, V., Pajusola, K., Kaipainen, A., Chilov, D., Lahtinen, I., Kukk, E., Saksela, O., Kalkkinen, N., & Alitalo, K. (1996). A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, is a ligand for the Flt4 (VEGFR-3) and KDR (VEGFR-2) receptor tyrosine kinases. *The EMBO journal*, *15*(2), 290–298.

Junttila, T. T., Akita, R. W., Parsons, K., Fields, C., Lewis Phillips, G. D., Friedman, L. S., Sampath, D., & Sliwkowski, M. X. (2009). Ligand-independent HER2/HER3/PI3K complex is disrupted by trastuzumab and is effectively inhibited by the PI3K inhibitor GDC-0941. *Cancer cell*, *15*(5), 429–440. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2009.03.020>

Kandel J, Bossy-Wetzel E, Radvanyi F, Klagsbrun M, Folkman J, Hanahan D. Neovascularization is associated with a switch to the export of bFGF in the multistep development of fibrosarcoma. *Cell*. 1991 Sep 20;66(6):1095-104. doi: 10.1016/0092-8674(91)90033-u. PMID: 1717155.

Karunagaran, D., Tzahar, E., Beerli, R. R., Chen, X., Graus-Porta, D., Ratzkin, B. J., Seger, R., Hynes, N. E., & Yarden, Y. (1996). ErbB-2 is a common auxiliary subunit of NDF and EGF receptors: implications for breast cancer. *The EMBO journal*, *15*(2), 254–264.

Kenny, F. S., Hui, R., Musgrove, E. A., Gee, J. M., Blamey, R. W., Nicholson, R. I., Sutherland, R. L., & Robertson, J. F. (1999). Overexpression of cyclin D1 messenger RNA predicts for poor prognosis in estrogen receptor-positive breast cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, *5*(8), 2069–2076.

Kong, X., Zhang, K., Wang, X., Yang, X., Li, Y., Zhai, J., Xing, Z., Qi, Y., Gao, R., Feng, X., Wang, J., & Fang, Y. (2019). Mechanism of trastuzumab resistance caused by HER-2 mutation in breast carcinomas. *Cancer management and research*, *11*, 5971–5982. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S194137>

Kovtun, Y. V., Audette, C. A., Ye, Y., Xie, H., Ruberti, M. F., Phinney, S. J., Leece, B. A., Chittenden, T., Blättler, W. A., & Goldmacher, V. S. (2006). Antibody-drug conjugates designed to eradicate tumors with homogeneous and heterogeneous expression of the target antigen. *Cancer research*, *66*(6), 3214–3221. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-3973>

Kuchenbaecker, K. B., Hopper, J. L., Barnes, D. R., Phillips, K. A., Mooij, T. M., Roos-Blom, M. J., Jervis, S., van Leeuwen, F. E., Milne, R. L., Andrieu, N., Goldgar, D. E., Terry, M. B., Rookus, M. A., Easton, D. F., Antoniou, A. C., BRCA1 and BRCA2 Cohort Consortium, McGuffog, L., Evans, D. G., Barrowdale, D., Frost, D., ... Olsson, H. (2017). Risks of Breast, Ovarian, and Contralateral Breast Cancer for BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *JAMA*, *317*(23), 2402–2416. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.7112>

Kupchan, S. M., Komoda, Y., Court, W. A., Thomas, G. J., Smith, R. M., Karim, A., Gilmore, C. J., Haltiwanger, R. C., & Bryan, R. F. (1972). Maytansine, a novel antileukemic ansa macrolide from *Maytenus ovatus*. *Journal of the American Chemical Society*, *94*(4), 1354–1356. <https://doi.org/10.1021/ja00759a054>

Lai, H., Ma, F., Trapido, E., Meng, L., & Lai, S. (2004). Spectrum of p53 tumor suppressor gene mutations and breast cancer survival. *Breast cancer research and treatment*, *83*(1), 57–66. <https://doi.org/10.1023/B:BREA.0000010699.53742.60>

Lazar, G. A., Dang, W., Karki, S., Vafa, O., Peng, J. S., Hyun, L., Chan, C., Chung, H. S., Eivazi, A., Yoder, S. C., Vielmetter, J., Carmichael, D. F., Hayes, R. J., & Dahiyat, B. I. (2006). Engineered antibody Fc variants with enhanced effector function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *103*(11), 4005–4010. <https://doi.org/10.1073/pnas.0508123103>

Lewis Phillips, G. D., Li, G., Dugger, D. L., Crocker, L. M., Parsons, K. L., Mai, E., Blättler, W. A., Lambert, J. M., Chari, R. V., Lutz, R. J., Wong, W. L., Jacobson, F. S., Koeppen, H., Schwall, R. H., Kenkare-Mitra, S. R., Spencer, S. D., & Sliwkowski, M. X. (2008). Targeting

HER2-positive breast cancer with trastuzumab-DM1, an antibody-cytotoxic drug conjugate. *Cancer research*, 68(22), 9280–9290. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-1776>

Litton, J. K., Hurvitz, S. A., Mina, L. A., Rugo, H. S., Lee, K. H., Gonçalves, A., Diab, S., Woodward, N., Goodwin, A., Yerushalmi, R., Roché, H., Im, Y. H., Eiermann, W., Quek, R. G. W., Usari, T., Lenz, S., Czigler, A., Blum, J. L., Martin, M., & Ettl, J. (2020). Talazoparib versus chemotherapy in patients with germline BRCA1/2-mutated HER2-negative advanced breast cancer: final overall survival results from the EMBRACA trial. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*, 31(11), 1526–1535. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.08.2098>

Litton, J. K., Rugo, H. S., Ettl, J., Hurvitz, S. A., Gonçalves, A., Lee, K. H., Fehrenbacher, L., Yerushalmi, R., Mina, L. A., Martin, M., Roché, H., Im, Y. H., Quek, R. G. W., Markova, D., Tudor, I. C., Hannah, A. L., Eiermann, W., & Blum, J. L. (2018). Talazoparib in Patients with Advanced Breast Cancer and a Germline BRCA Mutation. *The New England journal of medicine*, 379(8), 753–763. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1802905>

Lowenstein, E. J., Daly, R. J., Batzer, A. G., Li, W., Margolis, B., Lammers, R., Ullrich, A., Skolnik, E. Y., Bar-Sagi, D., & Schlessinger, J. (1992). The SH2 and SH3 domain-containing protein GRB2 links receptor tyrosine kinases to ras signaling. *Cell*, 70(3), 431–442. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(92\)90167-b](https://doi.org/10.1016/0092-8674(92)90167-b)

Lundberg, A. S., & Weinberg, R. A. (1998). Functional inactivation of the retinoblastoma protein requires sequential modification by at least two distinct cyclin-cdk complexes. *Molecular and cellular biology*, 18(2), 753–761. <https://doi.org/10.1128/MCB.18.2.753>

Ma, F., Yan, M., Li, W., Ouyang, Q., Tong, Z., Teng, Y., Wang, Y., Wang, S., Geng, C., Luo, T., Zhong, J., Zhang, Q., Liu, Q., Zeng, X., Sun, T., Mo, Q., Liu, H., Cheng, Y., Cheng, J., Wang, X., ... PHILA Investigators (2023). Pyrotinib versus placebo in combination with trastuzumab and docetaxel as first line treatment in patients with HER2 positive metastatic breast cancer (PHILA): randomised, double blind, multicentre, phase 3 trial. *BMJ (Clinical research ed.)*, 383, e076065. <https://doi.org/10.1136/bmj-2023-076065>

Mark, J. K. K., Lim, C. S. Y., Nordin, F., & Tye, G. J. (2022). Expression of mammalian proteins for diagnostics and therapeutics: a review. *Molecular biology reports*, 49(11), 10593–10608. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07651-3>

McCrea, C., Hettle, R., Gulati, P., Taneja, A., & Rajora, P. (2021). Indirect treatment comparison of olaparib and talazoparib in germline BRCA-mutated HER2-negative metastatic breast cancer. *Journal of comparative effectiveness research*, *10*(13), 1021–1030. <https://doi.org/10.2217/cer-2021-0097>

McIntosh, G. G., Anderson, J. J., Milton, I., Steward, M., Parr, A. H., Thomas, M. D., Henry, J. A., Angus, B., Lennard, T. W., & Horne, C. H. (1995). Determination of the prognostic value of cyclin D1 overexpression in breast cancer. *Oncogene*, *11*(5), 885–891.

Miller, T. W., Forbes, J. T., Shah, C., Wyatt, S. K., Manning, H. C., Olivares, M. G., Sanchez, V., Dugger, T. C., de Matos Granja, N., Narasanna, A., Cook, R. S., Kennedy, J. P., Lindsley, C. W., & Arteaga, C. L. (2009). Inhibition of mammalian target of rapamycin is required for optimal antitumor effect of HER2 inhibitors against HER2-overexpressing cancer cells. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, *15*(23), 7266–7276. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-1665>

Molina, M. A., Codony-Servat, J., Albanell, J., Rojo, F., Arribas, J., & Baselga, J. (2001). Trastuzumab (herceptin), a humanized anti-Her2 receptor monoclonal antibody, inhibits basal and activated Her2 ectodomain cleavage in breast cancer cells. *Cancer research*, *61*(12), 4744–4749.

Narasimha, A. M., Kaulich, M., Shapiro, G. S., Choi, Y. J., Sicinski, P., & Dowdy, S. F. (2014). Cyclin D activates the Rb tumor suppressor by mono-phosphorylation. *eLife*, *3*, e02872. <https://doi.org/10.7554/eLife.02872>

National Institute for Health and Care Excellence NICE (2012). Labatinib or trastuzumab in combination with an aromatase inhibitor for the first-line treatment of metastatic hormone-receptor-positive breast cancer that overexpresses HER2. National Institute for Health and Care Excellence. <https://www.nice.org.uk/guidance/ta257/chapter/1-Guidance>

Orecchioni, S., Gregato, G., Martin-Padura, I., Reggiani, F., Braidotti, P., Mancuso, P., Calleri, A., Quarna, J., Marighetti, P., Aldeni, C., Pruneri, G., Martella, S., Manconi, A., Petit, J. Y., Rietjens, M., & Bertolini, F. (2013). Complementary populations of human adipose CD34+ progenitor cells promote growth, angiogenesis, and metastasis of breast cancer. *Cancer research*, *73*(19), 5880–5891. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-0821>

Orrantia-Borunda, E., Anchondo-Nuñez, P., Acuña-Aguilar, L. E., Gómez-Valles, F. O., & Ramírez-Valdespino, C. A. (2022). *Subtypes of Breast Cancer* (H. N. Mayrovitz, Ed.). PubMed; Exon Publications. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK583808/#>

Paik, S., Tang, G., Shak, S., Kim, C., Baker, J., Kim, W., Cronin, M., Baehner, F. L., Watson, D., Bryant, J., Costantino, J. P., Geyer, C. E., Jr, Wickerham, D. L., & Wolmark, N. (2006). Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, *24*(23), 3726–3734. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.04.7985>

Paluch-Shimon, S., Cherny, N. I., de Vries, E. G. E., Dafni, U., Piccart, M. J., Latino, N. J., & Cardoso, F. (2020). Application of the ESMO-Magnitude of Clinical Benefit Scale (V.1.1) to the field of early breast cancer therapies. *ESMO open*, *5*(5), e000743. <https://doi.org/10.1136/esmoopen-2020-000743>

Pan, H., Gray, R., Braybrooke, J., Davies, C., Taylor, C., McGale, P., Peto, R., Pritchard, K. I., Bergh, J., Dowsett, M., Hayes, D. F., & EBCTCG (2017). 20-Year Risks of Breast-Cancer Recurrence after Stopping Endocrine Therapy at 5 Years. *The New England journal of medicine*, *377*(19), 1836–1846. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1701830>

Park, S., Koo, J. S., Kim, M. S., Park, H. S., Lee, J. S., Lee, J. S., Kim, S. I., & Park, B. W. (2012). Characteristics and outcomes according to molecular subtypes of breast cancer as classified by a panel of four biomarkers using immunohistochemistry. *Breast (Edinburgh, Scotland)*, *21*(1), 50–57. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2011.07.008>

Pearl, L. H., Schierz, A. C., Ward, S. E., Al-Lazikani, B., & Pearl, F. M. (2015). Therapeutic opportunities within the DNA damage response. *Nature reviews. Cancer*, *15*(3), 166–180. <https://doi.org/10.1038/nrc3891>

Philp, A. J., Campbell, I. G., Leet, C., Vincan, E., Rockman, S. P., Whitehead, R. H., Thomas, R. J., & Phillips, W. A. (2001). The phosphatidylinositol 3'-kinase p85alpha gene is an oncogene in human ovarian and colon tumors. *Cancer research*, *61*(20), 7426–7429.

Piccart, M., Hortobagyi, G. N., Campone, M., Pritchard, K. I., Lebrun, F., Ito, Y., Noguchi, S., Perez, A., Rugo, H. S., Deleu, I., Burris, H. A., 3rd, Provencher, L., Neven, P., Gnant, M., Shtivelband, M., Wu, C., Fan, J., Feng, W., Taran, T., & Baselga, J. (2014). Everolimus plus exemestane for hormone-receptor-positive, human epidermal growth factor receptor-2-negative advanced breast cancer: overall survival results from BOLERO-2†. *Annals of*

*oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*, 25(12), 2357–2362.  
<https://doi.org/10.1093/annonc/mdu456>

Prang, N., Preithner, S., Brischwein, K., Göster, P., Wöppel, A., Müller, J., Steiger, C., Peters, M., Baeuerle, P. A., & da Silva, A. J. (2005). Cellular and complement-dependent cytotoxicity of Ep-CAM-specific monoclonal antibody MT201 against breast cancer cell lines. *British journal of cancer*, 92(2), 342–349. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6602310>

Press, M. F., Pike, M. C., Chazin, V. R., Hung, G., Udove, J. A., Markowicz, M., Danyluk, J., Godolphin, W., Sliwkowski, M., & Akita, R. (1993). Her-2/neu expression in node-negative breast cancer: direct tissue quantitation by computerized image analysis and association of overexpression with increased risk of recurrent disease. *Cancer research*, 53(20), 4960–4970.

Purdie, C. A., Quinlan, P., Jordan, L. B., Ashfield, A., Ogston, S., Dewar, J. A., & Thompson, A. M. (2014). Progesterone receptor expression is an independent prognostic variable in early breast cancer: a population-based study. *British journal of cancer*, 110(3), 565–572. <https://doi.org/10.1038/bjc.2013.756>

Raheem, F., & Shah, V. (2023). Antibody Drug Conjugates. IntechOpen. doi: 10.5772/intechopen.110804

Ram, S., Kim, D., Ober, R. J., & Ward, E. S. (2014). The level of HER2 expression is a predictor of antibody-HER2 trafficking behavior in cancer cells. *mAbs*, 6(5), 1211–1219. <https://doi.org/10.4161/mabs.29865>

Relf, M., LeJeune, S., Scott, P. A., Fox, S., Smith, K., Leek, R., Moghaddam, A., Whitehouse, R., Bicknell, R., & Harris, A. L. (1997). Expression of the angiogenic factors vascular endothelial cell growth factor, acidic and basic fibroblast growth factor, tumor growth factor beta-1, platelet-derived endothelial cell growth factor, placenta growth factor, and pleiotrophin in human primary breast cancer and its relation to angiogenesis. *Cancer research*, 57(5), 963–969.

Remillard, S., Rebhun, L. I., Howie, G. A., & Kupchan, S. M. (1975). Antimitotic activity of the potent tumor inhibitor maytansine. *Science (New York, N.Y.)*, 189(4207), 1002–1005. <https://doi.org/10.1126/science.1241159>



Ritchie, M., Tchistiakova, L., & Scott, N. (2013). Implications of receptor-mediated endocytosis and intracellular trafficking dynamics in the development of antibody drug conjugates. *mAbs*, 5(1), 13–21. <https://doi.org/10.4161/mabs.22854>

Robson, M. E., Tung, N., Conte, P., Im, S. A., Senkus, E., Xu, B., Masuda, N., Delaloge, S., Li, W., Armstrong, A., Wu, W., Goessl, C., Runswick, S., & Domchek, S. M. (2019). OlympiAD final overall survival and tolerability results: Olaparib versus chemotherapy treatment of physician's choice in patients with a germline BRCA mutation and HER2-negative metastatic breast cancer. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*, 30(4), 558–566. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz012>

Robson, M., Im, S. A., Senkus, E., Xu, B., Domchek, S. M., Masuda, N., Delaloge, S., Li, W., Tung, N., Armstrong, A., Wu, W., Goessl, C., Runswick, S., & Conte, P. (2017). Olaparib for Metastatic Breast Cancer in Patients with a Germline BRCA Mutation. *The New England journal of medicine*, 377(6), 523–533. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1706450>

*Role of NTRK Fusions in Oncogenesis*. (2015). PH NTRK Testing 2021 Version. <https://global.ntkrtesting.com/ntrk-gene-fusions-in-oncology/ntrk-gene-fusions-in-oncogenesis>

Royce, M. E., & Osman, D. (2015). Everolimus in the Treatment of Metastatic Breast Cancer. *Breast cancer : basic and clinical research*, 9, 73–79. <https://doi.org/10.4137/BCBCR.S29268>

Rugo, H. S., Ettl, J., Hurvitz, S. A., Gonçalves, A., Lee, K. H., Fehrenbacher, L., Mina, L. A., Diab, S., Woodward, N. E., Yerushalmi, R., Goodwin, A., Blum, J. L., Martin, M., Quek, R. G. W., Tudor, I. C., Bhattacharyya, H., Gauthier, E., Litton, J. K., & Eiermann, W. (2019). Outcomes in Clinically Relevant Patient Subgroups From the EMBRACA Study: Talazoparib vs Physician's Choice Standard-of-Care Chemotherapy. *JNCI cancer spectrum*, 4(1), pkz085. <https://doi.org/10.1093/jncics/pkz085>

Sarkeala, T., Luostarinen, T., Dyba, T., & Anttila, A. (2014). Breast carcinoma detection modes and death in a female population in relation to population-based mammography screening. *SpringerPlus*, 3, 348. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-348>

Scaltriti, M., Rojo, F., Ocaña, A., Anido, J., Guzman, M., Cortes, J., Di Cosimo, S., Matias-Guiu, X., Ramon y Cajal, S., Arribas, J., & Baselga, J. (2007). Expression of p95HER2, a

truncated form of the HER2 receptor, and response to anti-HER2 therapies in breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 99(8), 628–638. <https://doi.org/10.1093/jnci/djk134>

Schindl, M., Schoppmann, S. F., Samonigg, H., Hausmaninger, H., Kwasny, W., Gnant, M., Jakesz, R., Kubista, E., Birner, P., Oberhuber, G., & Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group (2002). Overexpression of hypoxia-inducible factor 1alpha is associated with an unfavorable prognosis in lymph node-positive breast cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 8(6), 1831–1837.

Schultz, D. F., Billadeau, D. D., & Jois, S. D. (2023). EGFR trafficking: effect of dimerization, dynamics, and mutation. *Frontiers in oncology*, 13, 1258371. <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1258371>

Schulze, W. X., Deng, L., & Mann, M. (2005). Phosphotyrosine interactome of the ErbB-receptor kinase family. *Molecular systems biology*, 1, 2005.0008. <https://doi.org/10.1038/msb4100012>

Schwartz, G. K., LoRusso, P. M., Dickson, M. A., Randolph, S. S., Shaik, M. N., Wilner, K. D., Courtney, R., & O'Dwyer, P. J. (2011). Phase I study of PD 0332991, a cyclin-dependent kinase inhibitor, administered in 3-week cycles (Schedule 2/1). *British journal of cancer*, 104(12), 1862–1868. <https://doi.org/10.1038/bjc.2011.177>

Seppä K, Tanskanen T, Heikkinen S, Malila N, Pitkaniemi J. Syöpä 2021. Tilastoraportti Suomen syöpätilanteesta. Suomen Syöpäyhdistys, Helsinki 2023.

Sergina, N. V., Rausch, M., Wang, D., Blair, J., Hann, B., Shokat, K. M., & Moasser, M. M. (2007). Escape from HER-family tyrosine kinase inhibitor therapy by the kinase-inactive HER3. *Nature*, 445(7126), 437–441. <https://doi.org/10.1038/nature05474>

Serrano, M., Hannon, G. J., & Beach, D. (1993). A new regulatory motif in cell-cycle control causing specific inhibition of cyclin D/CDK4. *Nature*, 366(6456), 704–707. <https://doi.org/10.1038/366704a0>

Shafik, N., Ilmonen, P., Viitasaari, L., Sarkeala, T., & Heinävaara, S. (2023). Flexible transition probability model for assessing cost-effectiveness of breast cancer screening extension to include women aged 45-49 and 70-74. *PloS one*, 18(6), e0287486. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0287486>

Shekar, S. C., Wu, H., Fu, Z., Yip, S. C., Nagajyothi, Cahill, S. M., Girvin, M. E., & Backer, J. M. (2005). Mechanism of constitutive phosphoinositide 3-kinase activation by oncogenic mutants of the p85 regulatory subunit. *The Journal of biological chemistry*, 280(30), 27850–27855. <https://doi.org/10.1074/jbc.M506005200>

Shukla, N., Roberts, S. S., Baki, M. O., Mushtaq, Q., Goss, P. E., Park, B. H., Gundem, G., Tian, K., Geiger, H., Redfield, K., Behr, G., Benayed, R., Zehir, A., Hechtman, J. F., Darnell, R. B., Papaemmanuil, E., Ladanyi, M., Ku, N., Kung, A. L., Baselga, J., ... Hyman, D. M. (2017). Successful Targeted Therapy of Refractory Pediatric *ETV6-NTRK3* Fusion-Positive Secretory Breast Carcinoma. *JCO precision oncology*, 2017, PO.17.00034. <https://doi.org/10.1200/PO.17.00034>

Slamon, D. J., Neven, P., Chia, S., Fasching, P. A., De Laurentiis, M., Im, S. A., Petrakova, K., Bianchi, G. V., Esteva, F. J., Martín, M., Nusch, A., Sonke, G. S., De la Cruz-Merino, L., Beck, J. T., Pivot, X., Vidam, G., Wang, Y., Rodriguez Lorenc, K., Miller, M., Taran, T., ... Jerusalem, G. (2018). Phase III Randomized Study of Ribociclib and Fulvestrant in Hormone Receptor-Positive, Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Negative Advanced Breast Cancer: MONALEESA-3. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 36(24), 2465–2472. <https://doi.org/10.1200/JCO.2018.78.9909>

Sledge, G. W., Jr, Toi, M., Neven, P., Sohn, J., Inoue, K., Pivot, X., Burdaeva, O., Okera, M., Masuda, N., Kaufman, P. A., Koh, H., Grischke, E. M., Frenzel, M., Lin, Y., Barriga, S., Smith, I. C., Bourayou, N., & Llombart-Cussac, A. (2017). MONARCH 2: Abemaciclib in Combination With Fulvestrant in Women With HR+/HER2- Advanced Breast Cancer Who Had Progressed While Receiving Endocrine Therapy. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 35(25), 2875–2884. <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.73.7585>

Sliwkowski, M. X., Schaefer, G., Akita, R. W., Lofgren, J. A., Fitzpatrick, V. D., Nuijens, A., Fendly, B. M., Cerione, R. A., Vandlen, R. L., & Carraway, K. L., 3rd (1994). Coexpression of erbB2 and erbB3 proteins reconstitutes a high affinity receptor for heregulin. *The Journal of biological chemistry*, 269(20), 14661–14665.

Srabovic, N., Mujagic, Z., Mujanovic-Mustedanagic, J., Softic, A., Muminovic, Z., Rifatbegovic, A., & Begic, L. (2013). Vascular endothelial growth factor receptor-1 expression

in breast cancer and its correlation to vascular endothelial growth factor a. *International journal of breast cancer*, 2013, 746749. <https://doi.org/10.1155/2013/746749>

Stanciu, I. M., Parosanu, A. I., Orlov-Slavu, C., Iaciu, I. C., Popa, A. M., Olaru, C. M., Pirlog, C. F., Vrabie, R. C., & Nitipir, C. (2023). Mechanisms of Resistance to CDK4/6 Inhibitors and Predictive Biomarkers of Response in HR+/HER2-Metastatic Breast Cancer-A Review of the Literature. *Diagnostics* (Basel, Switzerland), 13(5), 987. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13050987>

Tripathy, D., Im, S. A., Colleoni, M., Franke, F., Bardia, A., Harbeck, N., Hurvitz, S. A., Chow, L., Sohn, J., Lee, K. S., Campos-Gomez, S., Villanueva Vazquez, R., Jung, K. H., Babu, K. G., Wheatley-Price, P., De Laurentiis, M., Im, Y. H., Kuemmel, S., El-Saghir, N., Liu, M. C., ... Lu, Y. S. (2018). Ribociclib plus endocrine therapy for premenopausal women with hormone-receptor-positive, advanced breast cancer (MONALEESA-7): a randomised phase 3 trial. *The Lancet. Oncology*, 19(7), 904–915. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30292-4](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30292-4)

Turner, N. C., Balmaña, J., Poncet, C., Goulioti, T., Tryfonidis, K., Honkoop, A. H., Zoppoli, G., Razis, E., Johannsson, O. T., Colleoni, M., Tutt, A. N., Audeh, W., Ignatiadis, M., Mailliez, A., Trédan, O., Musolino, A., Vuylsteke, P., Juan-Fita, M. J., Macpherson, I. R. J., Kaufman, B., ... BRAVO Steering Committee and the BRAVO investigators (2021). Niraparib for Advanced Breast Cancer with Germline *BRCA1* and *BRCA2* Mutations: the EORTC 1307-BCG/BIG5-13/TESARO PR-30-50-10-C BRAVO Study. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 27(20), 5482–5491. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-21-0310>

Turner, N. C., Finn, R. S., Martin, M., Im, S. A., DeMichele, A., Ettl, J., Diéras, V., Moulder, S., Lipatov, O., Colleoni, M., Cristofanilli, M., Lu, D. R., Mori, A., Giorgetti, C., Iyer, S., Bartlett, C. H., & Gelmon, K. A. (2018). Clinical considerations of the role of palbociclib in the management of advanced breast cancer patients with and without visceral metastases. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*, 29(3), 669–680. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx797>

Turner, N. C., Oliveira, M., Howell, S. J., Dalenc, F., Cortes, J., Gomez Moreno, H. L., Hu, X., Jhaveri, K., Krivorotko, P., Loibl, S., Morales Murillo, S., Okera, M., Park, Y. H., Sohn, J., Toi, M., Tokunaga, E., Yousef, S., Zhukova, L., de Bruin, E. C., Grinsted, L., ... CAPItello-291 Study Group (2023). Capivasertib in Hormone Receptor-Positive Advanced Breast

Cancer. *The New England journal of medicine*, 388(22), 2058–2070. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2214131>

Turner, N. C., Slamon, D. J., Ro, J., Bondarenko, I., Im, S. A., Masuda, N., Colleoni, M., DeMichele, A., Loi, S., Verma, S., Iwata, H., Harbeck, N., Loibl, S., André, F., Puyana Theall, K., Huang, X., Giorgetti, C., Huang Bartlett, C., & Cristofanilli, M. (2018). Overall Survival with Palbociclib and Fulvestrant in Advanced Breast Cancer. *The New England journal of medicine*, 379(20), 1926–1936. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1810527>

Valtola, R., Salven, P., Heikkilä, P., Taipale, J., Joensuu, H., Rehn, M., Pihlajaniemi, T., Weich, H., deWaal, R., & Alitalo, K. (1999). VEGFR-3 and its ligand VEGF-C are associated with angiogenesis in breast cancer. *The American journal of pathology*, 154(5), 1381–1390. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65392-8](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65392-8)

Vartanian, R. K., & Weidner, N. (1994). Correlation of intratumoral endothelial cell proliferation with microvessel density (tumor angiogenesis) and tumor cell proliferation in breast carcinoma. *The American journal of pathology*, 144(6), 1188–1194.

Verma, S., Miles, D., Gianni, L., Krop, I. E., Welslau, M., Baselga, J., Pegram, M., Oh, D. Y., Diéras, V., Guardino, E., Fang, L., Lu, M. W., Olsen, S., Blackwell, K., & EMILIA Study Group (2012). Trastuzumab emtansine for HER2-positive advanced breast cancer. *The New England journal of medicine*, 367(19), 1783–1791. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1209124>

Vogel, C. L., Cobleigh, M. A., Tripathy, D., Gutheil, J. C., Harris, L. N., Fehrenbacher, L., Slamon, D. J., Murphy, M., Novotny, W. F., Burchmore, M., Shak, S., Stewart, S. J., & Press, M. (2002). Efficacy and safety of trastuzumab as a single agent in first-line treatment of HER2-overexpressing metastatic breast cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 20(3), 719–726. <https://doi.org/10.1200/JCO.2002.20.3.719>

Vogel, C. L., Cobleigh, M. A., Tripathy, D., Gutheil, J. C., Harris, L. N., Fehrenbacher, L., Slamon, D. J., Murphy, M., Novotny, W. F., Burchmore, M., Shak, S., Stewart, S. J., & Press, M. (2002). Efficacy and safety of trastuzumab as a single agent in first-line treatment of HER2-overexpressing metastatic breast cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 20(3), 719–726. <https://doi.org/10.1200/JCO.2002.20.3.719>

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

Wardell, S. E., Ellis, M. J., Alley, H. M., Eisele, K., VanArsdale, T., Dann, S. G., Arndt, K. T., Primeau, T., Griffin, E., Shao, J., Crowder, R., Lai, J. P., Norris, J. D., McDonnell, D. P., & Li, S. (2015). Efficacy of SERD/SERM Hybrid-CDK4/6 Inhibitor Combinations in Models of Endocrine Therapy-Resistant Breast Cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 21(22), 5121–5130. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-0360>

Weidner, N., Semple, J. P., Welch, W. R., & Folkman, J. (1991). Tumor angiogenesis and metastasis--correlation in invasive breast carcinoma. *The New England journal of medicine*, 324(1), 1–8. <https://doi.org/10.1056/NEJM199101033240101>

Weinstat-Saslow, D., Merino, M. J., Manrow, R. E., Lawrence, J. A., Bluth, R. F., Wittenbel, K. D., Simpson, J. F., Page, D. L., & Steeg, P. S. (1995). Overexpression of cyclin D mRNA distinguishes invasive and in situ breast carcinomas from non-malignant lesions. *Nature medicine*, 1(12), 1257–1260. <https://doi.org/10.1038/nm1295-1257>

Wieduwilt, M. J., & Moasser, M. M. (2008). The epidermal growth factor receptor family: biology driving targeted therapeutics. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 65(10), 1566–1584. <https://doi.org/10.1007/s00018-008-7440-8>

Wu, J., Jiang, Z., Liu, Z., Yang, B., Yang, H., Tang, J., Wang, K., Liu, Y., Wang, H., Fu, P., Zhang, S., Liu, Q., Wang, S., Huang, J., Wang, C., Wang, S., Wang, Y., Zhen, L., Zhu, X., Wu, F., ... Zou, J. (2022). Neoadjuvant pyrotinib, trastuzumab, and docetaxel for HER2-positive breast cancer (PHEDRA): a double-blind, randomized phase 3 trial. *BMC medicine*, 20(1), 498. <https://doi.org/10.1186/s12916-022-02708-3>

Wu, Y., Li, L., Zhang, D., & Ma, F. (2022). Prognostic Value of the Serum HER2 Extracellular Domain Level in Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cancers*, 14(19), 4551. <https://doi.org/10.3390/cancers14194551>

- Yang, C., Lei, C., Zhang, Y., Zhang, J., Ji, F., Pan, W., Zhang, L., Gao, H., Yang, M., Li, J., & Wang, K. (2020). Comparison of Overall Survival Between Invasive Lobular Breast Carcinoma and Invasive Ductal Breast Carcinoma: A Propensity Score Matching Study Based on SEER Database. *Frontiers in oncology*, *10*, 590643. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.590643>
- Yardley, D. A., Noguchi, S., Pritchard, K. I., Burris, H. A., 3rd, Baselga, J., Gnant, M., Hortobagyi, G. N., Campone, M., Pistilli, B., Piccart, M., Melichar, B., Petrakova, K., Arena, F. P., Erdkamp, F., Harb, W. A., Feng, W., Cahana, A., Taran, T., Lebwohl, D., & Rugo, H. S. (2013). Everolimus plus exemestane in postmenopausal patients with HR(+) breast cancer: BOLERO-2 final progression-free survival analysis. *Advances in therapy*, *30*(10), 870–884. <https://doi.org/10.1007/s12325-013-0060-1>
- Yi, Z., Rong, G., Guan, Y., Li, J., Chang, L., Li, H., Liu, B., Wang, W., Guan, X., Ouyang, Q., Li, L., Zhai, J., Li, C., Li, L., Xia, X., Yang, L., Qian, H., Yi, X., Xu, B., & Ma, F. (2020). Molecular landscape and efficacy of HER2-targeted therapy in patients with HER2-mutated metastatic breast cancer. *NPJ breast cancer*, *6*, 59. <https://doi.org/10.1038/s41523-020-00201-9>
- Yu, Q., Sicinska, E., Geng, Y., Ahnström, M., Zagozdzon, A., Kong, Y., Gardner, H., Kiyokawa, H., Harris, L. N., Stål, O., & Sicinski, P. (2006). Requirement for CDK4 kinase function in breast cancer. *Cancer cell*, *9*(1), 23–32. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2005.12.012>
- Yver, A., Agatsuma, T., & Soria, J. C. (2020). The art of innovation: clinical development of trastuzumab deruxtecan and redefining how antibody-drug conjugates target HER2-positive cancers. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology*, *31*(3), 430–434. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2019.11.019>
- Zhang, Y., Daquinag, A., Traktuev, D. O., Amaya-Manzanares, F., Simmons, P. J., March, K. L., Pasqualini, R., Arap, W., & Kolonin, M. G. (2009). White adipose tissue cells are recruited by experimental tumors and promote cancer progression in mouse models. *Cancer research*, *69*(12), 5259–5266. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-3444>
- Zhou, G. Q., Lv, J. W., Tang, L. L., Mao, Y. P., Guo, R., Ma, J., & Sun, Y. (2020). Evaluation of the National Comprehensive Cancer Network and European Society for Medical Oncology Nasopharyngeal Carcinoma Surveillance Guidelines. *Frontiers in oncology*, *10*, 119. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00119>