

**NASTAVNO NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRDU**

Na sednici Nastavno-naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 31.08.2022. godine, broj 11/VIII-2/3-JS, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom „**Ispitivanje uticaja varijanti u genima *TP53*, *XRCC1* i *RAD51* i kliničkih faktora na efikasnost i ispoljenu toksičnost platinske hemioterapije u uznapredovalom nesitnoćelijskom karcinomu pluća**”

kandidata dr Jelene Spasić, zaposlene na Klinici za Medikalnu Onkologiju Instituta za onkologiju i radiologiju Srbije.

Mentor je Prof. dr Ljudmila Nagorni Obradović, a komentor N.Sar. dr Davorin Radosavljević

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof dr Svetislav Tatić, profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
2. Prof dr Tatjana Adžić Vukićević, vanredni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
3. Prof dr Bojan Zarić, vanredni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Naučnom veću Medicinskog fakulteta UB sledeći

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija dr Jelene Spasić napisana je na ukupno 117 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 94 tabele, 16 grafikona i 12 slika. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata i podatke o komisiji.

U **uvodu** je opisana epidemiologija i etiopatogeneza karcinoma pluća, objašnjena dijagnostička evaluacija pacijenata sa suspektim i dokazanim karcinomom pluća, kao i patohistološka i TNM klasifikacija ovog maligniteta. Obrađena je i molekularna dijagnostika nesitnoćelijskog karcinoma pluća (NSCLC), kao i postojeći modaliteti lečenja koji podrazumevaju hirurgiju, radioterapiju i medikalnu terapiju. Detaljno je prikazano lečenje pacijenata sa adenokarcinomom pluća u lokalno uznapredovalom i metastatskom stadijumu bolesti. Objasnjeni su principi primene hemioterapije u onkologiji, sa posebnim osvrtom na njenu primenu u lečenju

NSCLC. Posebna pažnja je usmerena na mehanizam dejstva platinskih derivata, naročito cisplatine, njihovu primenu u lečenju NSCLC, a detaljno su objašnjene najčešće ispoljene toksičnosti ovog leka.

Precizno je definisan pojam polimorfizma jednog nukleotida (eng. Single nucleotide polymorphisms, SNPs) i njihovog značaja uopšte u medicini i onkologiji. Data je uloga gena čiji su polimorfizmi tema ove disertacije, a objašnjen je potencijalni uticaj ispitivanih polimorfizama na razvoj malignih tumora, odgovor na terapiju i pojavu toksičnosti terapije. Takođe su detaljno objašnjeni principi popravke DNK u ćelijama i uloga produkata ispitivanih gena u ovim procesima.

Ciljevi rada precizno su definisani. Sastoje se od ispitivanja demografskih karakteristika pacijenata, karakteristika tumora i ispitivanih genskih polimorfizama kao prediktivnih faktora efikasnosti i ispoljene toksičnosti platinske hemioterapije. Ispitivan je uticaj ovih parametara na ukupno preživljavanje (*overall survival* - OS) i preživljavanje bez progresije bolesti (*progression free survival* – PFS), kao i na ispoljenu toksičnost terapije.

U poglavlju **materijal i metode** je navedeno da se radi o studiji koja je sprovedena na Institutu za onkologiju i radiologiju Srbije i Institutu za plućne bolesti Vojvodine, u skladu sa Helsinškom deklaracijom, a odobrena je i od strane Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, Instituta za onkologiju i radiologiju Srbije i Instituta za plućne bolesti Vojvodine. Svi pacijenti koji su bili živi u trenutku uključivanja u istraživanje su dali pisani pristanak pre uključivanja u studiju. Detaljno je opisan način uključivanja pacijenata u istraživanje. Svi pacijenti su tretirani platinskom hemioterapijom u prvoj liniji do progresije ili neprihvatljive toksičnosti, a maksimalno do 6 ciklusa. Odgovor na hemioterapiju je procenjivan na redovnim radiološkim pregledima na osnovu RECIST 1.1 kriterijuma. Toksičnost primenjene terapije je procenjivana i praćena nakon svakog ciklusa hemioterapije korišćenjem CTCAE kriterijuma verzije 5.0. Opisan je i način izvođenja eksperimentalnih analiza kao što su izolovanje DNK iz parafinskih uzoraka tkiva tumora, način izvođenja Analize polimorfizama dužine restrikcionih fragmenata (*Restriction Fragment Length Polymorphisms*, RFLP) i korišćene statističke metode.

U poglavlju **rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati.

Diskusija je napisana jasno i pregledno, uz prikaz podataka drugih istraživanja sa uporednim pregledom dobijenih rezultata doktorske disertacije.

Zaključci sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada. Korišćena **literatura** sadrži spisak od 171 reference.

B) Provera originalnosti doktorske disertacije

Proverom originalnosti doktorske disertacije 05.07.2022 utvrđen je procenat podudarnosti doktorske disertacije sa postojećom literaturom korišćenjem programa iThenticate i dobijena je vrednost Similarity indexa od 16%. Ovaj stepen podudarnosti je posledica prethodno publikovanih rezultata doktorandovih istraživanja, koji su proistekli iz njene disertacije, podudaranja složenih imena naučnih pojmova, korišćenja standardne metodologije ustraživanja koja se sprovode u Odeljenju Eksperimentalne Onkologije Instituta za onkologiju i radiologiju Srbije, kao i sličnosti u korišćenju statističkih testova. Ovakva analiza je u skladu sa članom 9. Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu („Glasnik Univerziteta u Beogradu“, broj 204/18).

C) Kratak opis postignutih rezultata

Od ukupno 121 ispitanika uključenih u ovo ispitivanje, većina su bili muškog pola (njih 79, odnosno 65.3%), pušači, njih 81.8%, sa medijanom starosti u trenutku postavljanja dijagnoze od 61 godinu (opseg 37 do 84). Najveći broj ispitanika je procenjen kao dobrog opšteg stanja, ECOG PS1 (94.2%), dok je 2.5% bilo ECOG PS0, odnosno 3.3% (4 ispitanika) ECOG PS2. Svi pacijenti su primili najmanje 2, a najviše 6 ciklusa platinske hemioterapije, sa medijanom broja ciklusa od 4. Analizom zastupljenosti genotipova proučavane polimorfne varijante gena *XRCC1*, *RAD51* i *TP53* nisu uočena odstupanja od Hardi-Vajnbergove ravnoteže ($p > 0.05$).

Efikasnost primenjene hemioterapije je procenjivana korišćenjem RECIST 1.1 kriterijuma. Parcijalna regresija je detektovana kod 23 (19.0%) pacijenata, stabilna bolest kod 62 (51.2%), dok je progresiju bolesti na prvoj kontroli imalo 25 (20.7%) pacijenata. Medijana vremena do progresije bolesti (mPFS) u ovoj studiji je bila 5.65 meseci (4.76-6.54, CI 95%). Detektovana je statistički značajna razlika u medijani PFSa u odnosu na ECOG performans status, pri čemu je najkraća mPFS kod pacijenata sa ECOG PS2, 10.02 prema 5.55 prema 2.63 meseci (PS0 prema PS1, prema PS2, $p = 0.04$). Nije bilo statistički značajne razlike u mPFS u odnosu na ostale demografske i kliničke karakteristike pacijenata i tumora. Medijana ukupnog preživljavanja (mOS) u celoj ispitivanoj grupi je bila 10.05 meseci (8.15-11.96, CI 95%). Nije detektovana statistički značajna razlika u mOS u odnosu na ispitivane demografske i kliničke karakteristike pacijenata i tumora, kao ni vrstu hemioterapijskog protokola.

Detektovane su sledeće toksičnosti primenjene terapije: leukopenija kod 37 (30.6%) ispitanika, neutropenija kod 40 (33.1%), trombocitopenija kod 22 (18.2%), anemija kod 44 (36.4%), dijareja kod 15 (12.4%), mučnina kod 33 (27.3%), povraćanje kod 11 (9.1%), neuropatija kod 16 (13.2%), porast kreatinina, odnosno nefrotoksičnost kod 15 (12.4%) i porast transaminaza, odnosno hepatotoksičnost kod 3 ispitanika (2.5%). Posebno je definisana toksičnost visokog gradusa, kao

toksičnost gradusa 3 i više. U grupi pacijenata koji su ispoljili toksičnost visokog gradusa, to su bile: leukopenija kod 10, neutropenija kod 18, trombocitopenija i anemija kod po 8 ispitanika, neuropatija gr.3 kod jednog i nefrotoksičnost kod 2 ispitanika. Više od jedne vrste toksičnosti su zabeležene kod 53 ispitanika, i to: kod 16 pacijenata 2 vrste, kod 7 3 vrste, kod 10 pacijenata 4 vrste toksičnosti, 5 vrsta toksičnosti kod 4 pacijenta, 6 vrsti kod 3, 7 vrsti kod 5 a jedan pacijent je tokom svog lečenja imao 8 različitih vrsti toksičnosti. Nije registrovana statistički značajna razlika u mPFS između pacijenata kod kojih je ispoljena toksičnost hemioterapije bez obzira na gradus, mPFS 6.14 (5.07-7.22 CI 95%) prema 5.06 (2.85-7.26, CI 95%) meseci, p=0.102. Međutim, postoji statistički značajna razlika u mPFS između pacijenata kod kojih je registrovana toksičnost visokog gradusa i onih kod kojih je toksičnost bila nižeg gradusa, mPFS 7.29 meseci (5.31-9.28, CI 95%), prema 5.06 meseci (4.08-6.04, CI 95%), log-rank p=0.012. Pacijenti kod kojih je registrovano 2 i više različitih toksičnosti su imali duže vreme do progresije bolesti, mPFS 7.59 meseci (5.43-9.75, CI 95%) prema 4.47 meseci (2.81-6.13 CI 95%), log-rank p=0.004. Statistički značajna razlika u mPFS je viđena i u odnosu na broj različitih toksičnosti koje su se javile, odnosno što više različitih toksičnosti, to je mPFS duža (od 3.61 meseci do 8.61), log-rank p=0.014.

Pacijenti kod kojih je ispoljena toksičnost HT su imali statistički značajno duže ukupno preživljavanje u odnosu na one kod kojih nije ispoljena toksičnost, mOS 13.63 prema 6.44 meseci, log rank p=0.032, Breslow p=0.001. Kod pacijenata koji su imali 2 i više različitih toksičnosti, mOS je bila 15.67 meseci (13.55-17.79, CI 95%) prema 8.57 meseci (6.22-10.93, CI 95%), log-rank 0.032. Ova razlika je još izraženija što je više toksičnosti prisutno i dostigla je visoku statističku značajnost sa log-rank p=0.001. mOs se kretala od 7.72 meseci (4.26-11.18, CI 95%) do 18.17 meseci (8.28-28.01, CI 95%).

Ispitivanjem uticaja polimorfnih varijanti gena *XRCCI*, *TP53* i *RAD51* na efikasnost i toksičnost hemioterapije dobijeni su određeni značajni rezultati. Što se tiče polimorfizma Arg399Gln gena *XRCCI*, pokazano je da nosioci Arg alela smo u homozigotnom obliku ArgArg imaju statistički značajno duže preživljavanje u odnosu na nosioce Gln alela u bilo kom obliku, ArgGln ili GlnGln (Arg/Arg mOS 15.01 naspram Arg/Gln + Gln/Gln mOS 8.57 meseci, p=0.009). Nije pokazan uticaj polimorfizama C135G gena *RAD51* niti Arg72Pro gena *TP53* na dužinu preživljavanja niti vreme do progresije bolesti u ovoj grupi pacijenata. Nije viđen uticaj ova tri polimorfizma na pojavu toksičnosti hemioterapije, u celini kao ni toksičnosti visokog gradusa, kao ni na broj različitih toksičnosti viđenih kod pojedinačnih pacijenata. Utvrđen je uticaj ovih polimorfizama na pojavu pojedinih specifičnih toksičnosti. Nosioci 399Arg alela *XRCCI* gena su bili statistički značajno podložniji razvoju neuropatije i anemije (Pearson χ^2 test, p=0.025 i p=0.004 respektivno). Mučnina i trombocitopenija, naročito trombocitopenija visokog gradusa, su statistički značajno češće registrovani kod nosilaca 72Pro alela gena *TP53* (p=0.037 i p=0.051 respektivno).

D) Usporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

U ovoj grupi od 121 pacijenta lečenih platinskom hemioterapijom u dve velike ustanove u Srbiji registrovana je medijana vremena do progresije bolesti (mPFS) od 5.65 meseci (4.76-6.54) i medijana ukupnog preživljavanja od 10.05 meseci (8.15-11.96), što je u skladu sa literaturnim podacima za primenu samo platinske hemioterapije u odmaklom adenokarcinomu pluća (Planchard et al, 2018, Francisci et al, 2015). Detektovan je statistički značajan uticaj opšteg stanja pacijenta, odnosno ECOG PS, na vreme do progresije bolesti, što potvrđuje dobro poznatu činjenicu da ECOG PS predstavlja nezavistan prognostički faktor u karcinomu pluća, bez značajnog uticaja na ukupno preživljavanje, što se može objasniti relativno malim brojem ispitvanih uzoraka. Druge ispitane karakteristike pacijenata i tumora nisu ispoljile značajan uticaj na preživljavanje pacijenata (Planchard et al, 2018, Francisci et al, 2015).

Ispitivani polimorfizmi gena XRCC1, RAD51 i TP53 samostalno nisu ispoljili značajan uticaj na PFS i OS u ovoj grupi pacijenata. Međutim, registrovan je značajan uticaj pojedinih alela i genotipova na ispitivane varijable. Nosioci 399ArgArg genotipa gena XRCC1, wild type homozigoti, su imali duže ukupno preživljavanje u dominantnom modelu, ali ne i u recesivnom, što znači da je samo homozigotni genotip faktor bolje prognoze. U istraživanjima drugih autora, rezultati su oprečni i često nekonkluzivni. Tan i autori su 2016. godine objavili meta analizu 111 studija koje su na preko 18000 pacijenata ispitivale uticaj polimorfizama na efikasnost platinske i hemioterapije i zaključili da nosioci ArgAgr genotipa ovog polimorfizma imaju bolju stopu odgovora, ali ne i duže vreme do progresije bolesti i ukupno preživljavanje (Tan L-M et al, 2017). U meta analizi Yuana i saradnika 2015.godine (Yuan Z et al, 2015) nosioci Gln alela su imali nižu stopu odgovora u dominantnom modelu ispitivanja, samo kod Azijata. Takođe, ovi pacijenti imaju kraće ukupno preživljavanje i veći rizik za smrt od karcinoma pluća ($p=0.043$). Slične podatke su izneli Jian i saradnici u meta analizi 17 studija sa preko 2200 pacijenata objavljenoj 2012. godine (Chen J et al, 2012), gde su nosioci ArgAgr genotipa u dominantnom modelu imali bolju stopu odgovora (OR 0.455 (0.313-0.663, CI 95%), $p=0.0001$). Liao i autori su 2012. godine pokazali da su nosioci recesivnog GlnGln genotipa imali značajno kraće ukupno preživljavanje u odnosu na ArgArg i ArgGln genotipove, mOS 22 meseca (CI 95%, 10-34) dok medijana nije dostignuta za druge dve grupe pacijenata, $p=0.005$, što je potvrđeno i u recesivnom modelu ispitivanja, sa HR 0.29 (0.12-0.705, CI 95%) i log-rank $p=0.006$ (Liao W-Y et al, 2012). Sa druge strane, u meta analizi Gua i saradnika 2015. godine (Gu A-Q et al, 2015) nije potvrđen uticaj polimorfizma Arg399Gln gena XRCC1 na RR ni OS (OR 0.82) u celoj grupi, a primećeno je da su nosioci ArgGln genotipa samo kineskog porekla imali manju osetljivost na cisplatinsku hemioterapiju. U meta analizi Liu i autora 2017. godine na 19 studija i preko 2800 pacijenata u celoj grupi pacijenata nije viđjena povezanost polimorfizma Arg399Gln sa stopom odgovora i sa ukupnim preživljavanjem, ali je u dominantnom modelu viđena povezanost Gln alela sa lošim odgovorom na terapiju (OR 0.72 (CI 95%, 0.50-1.04, $p=0.000$) samo u azijskoj populaciji.

Takođe, detektovano je duže preživljavanje nosioca Gln alela u odnosu na ArgArg genotip kod azijata (HR 0.65 (95% CI: 0.43-0.98, $p=0.003$), dok je kod pripadnika bele rase viđeno kraće preživljavanje nosioca GlnGln genotipa (GlnGln vs ArgArg: HR 2.29 (CI 95%: 1.25-3.33) $p=0.045$), kao i u našoj grupi pacijenata koji su svi bili pripadnici bele rase. (Liu HF et al, 2016).

Polimorfizam G135C gena *RAD51* u ovom istraživanju nije pokazao statistički značajnu povezanost sa vremenom do progresije bolesti niti sa ukupnim preživljavanjem. Nije bilo značajnog uticaja ni pojedinačnih genotipova korišćenjem dominantnog i recesivnog modela. Literaturni podaci su oskudni i oprečni. Nogueira i saradnici (115,125) su u svom istraživanju pokazali da nosioci recesivnog C alela imaju duže ukupno preživljavanje korišćenjem dominantnog modela (CC+CG vs GG, mOS 56.0 vs 41.7 meseci, $p=0.024$), a primetili su da statistički značajna razlika postoji samo kod pušača/bivših pušača, dok kod nepušača te razlike nema. U grupi pacijenata u ovoj disertaciji nije bilo uticaja ovog polimorfizma na preživljavanje bez obzira na pušački status. Yin i saradnici su ispitivali uticaj polimorfizma G135C gena *RAD51* na ukupno preživljavanje i rizik od pojave radijacionog pneumonitisa u grupi od preko 220 pacijenata koji su lečeni kombinacijom platinske hemioterapije i transkutane zračne terapije pluća i medijastinuma i pronašli da nosioci C alela imaju veći rizik od rane smrti, odnosno kraće ukupno preživljavanje (CG+CC vs GG u multivarijantnoj analizi HR=1.70; 95% CI, 1.14–2.62, $P=0.009$) kao i veći rizik za razvoj radijacionog pneumonitisa (Yin et al, 2011).

U ispitivanoj grupi pacijenata nije bilo statistički značajnog uticaja polimorfizma Arg72Pro gena *TP53* na vreme do progresije bolesti ni ukupno preživljavanje, kako između pojedinačnih genotipova, tako ni korišćenjem dominantnog i recesivnog modela, mada je primećen trend ka dužem preživljavanju nosioca Arg alela u dominantnom modelu, bez dostizanja statističke značajnosti (13.2 meseci (10.0 – 16.5) vs. 10.7 meseci (8.1 – 13.3), Log Rank (Mantel-Cox) $p=0.288$). Kumari je analizirao njegov uticaj na 420 pacijenata u Indiji i nije pokazao povezanost na stopom terapijskog odgovora, ali je prisustvo Pro alela uticalo na duže ukupno preživljavanje, naročito u homozigotnom obliku ($p=0.003$). (Kumari A et al, 2016). U studiji u Japanu (Shiraishi K et al, 2010) nosioci ProPro genotipa su imali značajno bolju stopu odgovora u odnosu na ArgArg (54.3% vs 29.1%), značajno duži PFS (HR 0.85, CI 95%, 0.74-0.98, $p=0.020$) i značajno duže OS (HR 0.86, CI 95%, 0.74-0.99, $p=0.037$), naročito u grupi skvamocelularnih karcinoma. Suprotno ovim rezultatima i rezultatima u grupi pacijenata u ovoj disertaciji, analiza učinjena na oko 100 pacijenata isključivo kavkaskе rase u Belgiji, stadijuma I-IV pokazala je da je prisustvo Pro alela nezavistan prognostički factor lošijeg preživljavanja, naročito u stadijumu I ($p=0.032$) (Deben C et al, 2017). Slične rezultate su objavili Liu i saradnici 2017. godine na oko 200 pacijenata stadijuma III-IV koji su lečeni platinskom hemioterapijom (Liu L et al, 2011). U njihovom istraživanju nosioci ProPro genotipa su imali značajno kraće preživljavanje u odnosu na nosioce ArgArg genotipa (12.0 vs 20.0 meseci, log-rank $p=0.002$, HR 1.86, CI 95%, 1.15-3.02). Studija Hana i saradnika iz 2008.godine pokazala je da su

nosioci ProPro genotipa češće imali progresiju na prvoj kontroli u odnosu na nosioce ArgPro i ArgArg genotipova (56% vs 28%, $p=0.018$), kao i da su imali kraći PFS, 2.7 (CI 95% 1.9-3.6) prema 4.6 (3.8-5.5) meseci (Han J-Y et al, 2008).

Drugi deo ovog istraživanja se odnosio na ispitivanje uticaja ovih polimorfizama na ispoljenu toksičnost platinske hemioterapije uopšte i posebno toksičnosti visokog gradusa, koja je ovde definisana kao toksičnost gradusa 3 i više. Ukupno je toksičnost registrovana kod 63 (52.1%) pacijenata, a visokog gradusa kod 46 (38.0%). Što se tiče uticaja ispitivanih polimorfizama sva tri gena, nije registrovana statistički značajna razlika u pojavi toksičnosti bilo kog gradusa u odnosu na pojedinačni genotip, kao ni korišćenjem dominantnog i recesivnog modela nasleđivanja. Nema statistički značajnog uticaja ni na broj ispoljenih različitih toksičnosti, ali su viđeni uticaji pojedinačnih polimorfizama na specifične toksičnosti. Postoji statistički uticaj polimorfizma Arg399Gln gena *XRCCI* u pojavi anemije u recesivnom modelu ($p=0.025$). Takođe postoji statistički značajna razlika u pojavi neuropatije između pojedinačnih genotipova, (Arg//Arg vs Arg/Gln vs Gln/Gln 4.9% vs 2.9% vs 2.0%, $p=0.034$), a visoko statistički značajna razlika u recesivnom modelu (Arg/Arg + Arg/Gln vs Gln/Gln 8.9% vs 2.0%, $p=0.004$). Peng i saradnici su 2014. ispitivali uticaj ovog polimorfizma na efikasnost i toksičnost platinske hemioterapije i pokazali da je incidenca pojave hematološke toksičnosti gradusa 3 i 4 statistički značajno veća kod nosilaca ArgGln (aOR 1.852, 95% CI 1.019-3.363, $p=0.029$) ili ArgArg genotipa (aOR 5.192, 95% CI 1.22-22.088, $p=0.032$) u odnosu na GlnGln genotip, kao i u recesivnom modelu ArgArg+ArgGln vs GlnGln OR 2.135, 95% CI 1.207-3.777, $p=0.009$, odnosno, kao i u našoj analizi, nosioci Arg alela su pod značajno većim rizikom da razviju hematološku toksičnost (Peng Y et al, 2014). Zheng i kolege su 2017. godine pokazali povezanost Arg alela ovog polimorfizma sa pojavim gastrointestinalne toksičnosti, leukopenije i trombocitopenije ($p=0.033$, $p=0.040$ i $p=0.021$, respektivno). Nasuprot ovim rezultatima, u analizi španskih autora iz 2016. godine (Perez-Ramirez C et al, 2016) nosioci ArgGln i GlnGln genotipova su imali veći rizik za pojavu više od dve vrste toksičnosti ($p=0.0459$), a nosioci GlnGln homozigotnog genotipa su bili pod većim rizikom da razviju nefrotoksičnost visokog gradusa ($p=0.038$). U kineskoj analizi (Wang Z et al, 2008). nosioci bar jednog Gln alela su imali značajno veći rizik da razviju bilo koju toksičnost visokog gradusa (OR 2.05, 95% CI 1.02-4-10, $p=0.04$) i gastrointestinalnu toksičnost visokog gradusa (OR 2.53, 95% CI 1.066-0.03, $p=0.03$). Za razliku od svega do sada navedenog, Li et al 2011.godine, Sullivan et al 2014. i Liu et al 2016 u svojim istraživanjima nisu našli značajan uticaj polimorfizma Arg399Gln gena *XRCC1* na pojavu toksičnosti platinske hemioterapije kod NSCLC.

Što se tiče uticaja polimorfizma G135C gena *RAD51* na pojedinačne toksičnosti, statistički značajan uticaj je jedino detektovan u recesivnom modelu u odnosu na pojavu neutropenije ($p=0.027$), odnosno prisustvo G alela u bilo kom obliku čini pacijenta podložnijim za razvoj neutropenije bilo kog gradusa. Nema mnogo literaturnih podataka o uticaju ovog polimorfizma na toksičnost hemioterapije u NSCLC. Zheng i saradnici su 2017.godine pokazali uticaj ovog polimorfizma na

hematološku toksičnost u celini a naročito leukopeniju, odnosno prisustvo G alela dovodi do statistički značajno češće pojave hematološke toksičnosti (OR 0.552, 95% CI 0.330-0.924, $p=0.024$) i leukopenije visokog gradusa (OR 0.4343, 95% CI 0.200-0.949, $p=0.037$). Erčulj i saradnici su ispitivali uticaj ovog polimorfizma, između ostalih, na toksičnost hemioterapije u sastavu gemcitabin-cisplatin (koja predstavlja jedan od korišćenih hemioterapijskih protokola i u našem istraživanju), kod pacijenata sa mezoteliomom pleure, ali nisu pokazali značajan uticaj.

Što se tiče polimorfizma Arg72Pro gena *TP53*, ispoljen je uticaj na pojavu trombocitopenije, gde je viđena statistički značajna razlika između pojedinačnih genotipova (ArgArg vs ArgPro vs ProPro kod 5.7% vs 6.6% vs 5.7% pacijenata, $p=0.048$), a naročito ispitivanjem pomoću recesivnog modela ($p=0.014$), što ukazuje da su nosioci Pro alela u homozigotnom obliku pod većim rizikom za pojavu trombocitopenije, a naročito u odnosu na pojavu trombocitopenije visokog gradusa, između pojedinačnih genotipova sa $p=0.045$, a u recesivnom modelu sa $p=0.015$. Druga značajna razlika viđena je u pojavi mučnine, gde postoji razlika u dominantnom modelu. I u ovom slučaju, pojedini podaci iz literatura su u skladu sa ovim dobijenim dok su drugi oprečni. U kineskoj analizi 640 pacijenata sa NSCLC tretiranih platinskom hemioterapijom, genotip ArgArg Arg72Pro gena *TP53* je bio povezan sa češćom pojavom gastrointestinalne toksičnosti (OR 0.274, 95% CI 0.101-0.746, $p=0.011$) (Zheng D et al, 2014). U drugoj studiji u Kini na 119 pacijenata koji su primali hemioterapiju u sastavu etopozid-cisplatin u lečenju stadijuma 4 sitnoćelijskog karcinoma pluća pokazana je statistički češća pojava neutropenije gr.3 i 4 kod nosilaca ProPro genotipa (Wang X et al, 2014). Okishiro i saradnici su pokazali statistički značajno veću incidenciju febrilne neutropenije kod nosilaca ProPro genotipa u odnosu na ArgArg+ArgPro genotipove (58.3% vs 27.3%, $p=0.03$) kod pacijenata koji su primali cisplatinu hemioterapiju za metastatski karcinom dojke. I kod pacijentkinja lečenih platinskom hemioterapijom za metastatski karcinom ovarijuma ProPro genotip je bio statistički značajno povezan sa pojavom neutropenije visokog gradusa (OR 8.57, 95% CI 1.05–69.8; $p=0.023$) (Khrunin AV et al, 2010). Nasuprot tome, u meta analizi Liu i saradnika objavljenoj 2020. godine analizom rezultata 4 studije sa preko 1000 pacijenata nije pokazana značajna povezanost polimorfizma Arg72Pro gena *TP53* sa pojavom hematološke toksičnosti gradusa 3 i 4 (OR = 0.82, 95% CI 0.59–1.15, $p=0.25$).

Sve ovo ukazuje na činjenicu da je većina uporednih studija iz ove oblasti dominantno sprovedena na daleko-azijskoj populaciji pacijenata gde je poznato da postoji specifična molekularne karakteristike tumora, dok su podaci na kavkaskoj, odnosno beloj rasi oskudni. Ovaj podatak čini rezultate ove disertacije još značajnijim za dalje analize.

E) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

Spasic J, Cavic M, Stanic N, Zaric B, Kovacevic T, Radosavljevic D, Nagorni-Obradovic L. Low-Cost Genetic and Clinical Predictors of Response and Toxicity of Platinum-Based Chemotherapy in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *Dose-Response*. April 2022:1-9

Rad je objavljen u časopisu : *Dose-Response* (M22, IF2021-22 = 2.658)

doi:[10.1177/15593258221111666](https://doi.org/10.1177/15593258221111666)

F) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „Ispitivanje uticaja varijanti u genima *TP53*, *XRCC1* i *RAD51* i kliničkih faktora na efikasnost i ispoljenu toksičnost platinske hemioterapije u uznapreovalom nesitnoćelijskom karcinomu pluća” dr Jelene Spasić predstavlja originalni naučni doprinos u ispitivanju i razumevanju uticaja genskih polimorfizama na efikasnost i toksičnost platinske hemioterapije u nestitnoćelijskom karcinomu pluća (NSCLC).

Iako je citotoksična hemioterapija pojavom novih klasa lekova (molekularno ciljana i imunoterapija) polako izgubila primat u terapijskom pristupu lečenja odmaklog NSCLC, i dalje ima svoje mesto kod pacijenata čiji tumori ne ekspimiraju neku aktivirajuću mutaciju a kod kojih postoji kontraindikacije za primenu imunoterapije, kao i u kombinaciji sa imunoterapijom, i u kasnijim linijama lečenja. Postoje jasne interindividualne razlike u efikasnosti hemioterapije, ali i u ispoljenoj toksičnosti, odnosno i dalje nije u potpunosti jasno zašto je kod nekih pacijenata više efikasna, ili zašto se od nekih češće javljaju ozbiljna neželjena dejstva. Ovo je jedna od prvih studija u našoj zemlji koja je ispitivala uticaj demografskih i kliničkih faktora, kao i polimorfizama gena *XRCC1*, *RAD51* i *TP53* na efikasnost i ispoljenu toksičnost platinske hemioterapije u lečenju pacijenata sa uznapreovalim NSCLC. Ovo je prva studija koja je ukazala na direktnu vezu između ispitivanih polimorfizama gena *XRCC1*, *RAD51* i *TP53* i profila specifične toksičnosti pacijenata sa uznapreovalim NSCLC lečenim primenom platinske hemioterapije. Ovi podaci imaju veliki značaj imajući u vidu da je brzo otkrivanje i odgovarajuće lečenje neželjenih efekata onkološke terapije ključno u sprečavanju pojave toksičnosti visokog gradusa kao i potencijalne hospitalizacije, odnosno mogu doprineti boljem razumevanju načina na koji se može postići maksimalan terapijski učinak uz smanjenje toksičnosti i očuvanje kvaliteta života pacijenata. Ono što je važno naglasiti je da se analiza ovih polimorfizama može raditi i iz uzorka periferne krvi kada nije dostupan uzorak biopsije tumora, što bi predstavljalo veoma brz, lak, jeftin i neinvazivan skrining koji bi se mogao izvoditi pre početka sistemskog lečenja, kako bi izbegli eventualnu pojavu ozbiljnih toksičnosti hemioterapije, ili primenu potencijalno neefikasnog terapijskog režima.

Takođe, ovo je prvo istraživanje koje je učinjeno na pacijentima lečenim u dve najveće Ustanove koje se bave lečenjem karcinoma pluća i kao takvo predstavlja značajnu naučnu i stručnu kolaboraciju koja nije česta u našoj zemlji.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani, naučni pristup je bio originalan i pažljivo izabran, a metodologija rada je bila savremena. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući zaključci.

Na osnovu svega navedenog, i imajući u vidu dosadašnji naučni rad kandidata, komisija predlaže Naučnom veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Jelene Spasić i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu i Novom Sadu, septembar 2022.godine

Članovi Komisije:

Mentor:

Prof dr Svetislav Tatić

Prof. dr Ljudmila Nagorni Obradović

Prof dr Tatjana Adžić Vukićević

Komentor:

VNS dr Davorin Radosavljević

Prof. dr Bojan Zarić
