

UNIVERZITET U BEOGRADU  
MEDICINSKI FAKULTET

Jelena Spasić

**Ispitivanje uticaja varijanti u genima *TP53*,  
*XRCC1* i *RAD51* i kliničkih faktora na  
efikasnost i ispoljenu toksičnost platinske  
hemioterapije u uznapredovalom  
nesitnoćelijskom karcinomu pluća**

Doktorska disertacija

Beograd, 2022. godine

UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF MEDICINE

Jelena Spasić

**Evaluation of the effect of genetic variants in genes *TP53*, *XRCC1* and *RAD51* and clinical factors on the efficacy and toxicity of platinum-based chemotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer**

Doctoral dissertation

Belgrade, 2022.

**Mentor:**

Prof. dr Ljudmila Nagorni Obradović – redovni profesor, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

**Komentor:**

VNS dr Davorin Radosavljević – Institut za onkologiju i radiologiju Srbije

**Članovi komisije:**

1. Prof. dr Svetislav Tatić, redovni profesor, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu
2. Prof. dr Tatjana Adžić Vukičević, vanredni profesor, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu
3. Prof. dr Bojan Zarić, vanredni profesor, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

## ZAHVALNICA

Zahvalnost dugujem posebnim osobama koji su bili uz mene tokom dugog puta izrade ove doktorske disertacije:

Mom mentoru, prof dr Ljudmili Nagorni Obradović, za sjajnu saradnju i iskreno uživanje i radost pri svakoj maloj pobedi

Mom komentoru, dr Davorinu Radosavljeviću, za moje onkološke početke, višegodišnju saradnju i prijateljstvo

Kolegama iz Odeljenja za eksperimentalnu onkologiju IORSa, a naročito doktoru biohemijskih nauka Mileni Čavić, za pomoć u izvođenju ekperimentalnog dela ove disertacije i otkrivanju malih tajni velikih majstora naučnog rada

Kolegama sa Instituta za plućne bolesti Vojvodine; Bojanu, Tomiju, Vladi, Dariju, profesoru Perinu: hvala što ste na početku ovog putovanja razumeli i prihvatili moju viziju o zajedničkom radu, na sjajnoj saradnji i druženju koje će se nadam se i nastaviti. Radujem se što je saradnja prerasla u prijateljstvo

Maloj grupi mojih najbližih prijatelja (a vi znate ko ste): za to što ste me razumeli i trpeli tokom frustrirajućih perioda rada na ovoj disertaciji; za to što me razumete i trpite i van toga

Mojim roditeljima, Dragici i Radoslavu, na bezrezervnoj i beskrajnoj podršci u svakom trenutku mog života

I na kraju, posebna zahvalnost i neizmerna ljubav mojoj sestri Mileni, bez čije stručne i svake druge podrške ova disertacija nikad ne bi videla svetlost dana

- *'Cause you're a super girl.....*

## **SAŽETAK**

**Uvod:** Cilj ovog istraživanja je bio ispitati da li se određeni klinički i genetski faktori mogu koristiti kao minimalno invazivni prediktori prognoze i toksičnosti platinske hemioterapije kod pacijenata sa odmaklim adenokarcinomom pluća.

**Materijal i metode:** U ovo istraživanje prospektivno-retrospektivnog karaktera uključen je 121 pacijent sa odmaklim adenokarcinomom pluća. Pacijenti su primali hemioterapiju platinskim dubletom u prvoj liniji do progresije bolesti ili maksimalno 6 ciklusa. Efikasnost terapije je procenjivana korišćenjem RECIST kriterijuma 1.1 a toksičnost pomoću CTCAE v.5.0. Genotipizacija gena *XRCC1*, *RAD51* i *TP53* je vršena primenom RT-PCR.

**Rezultati:** Medijana vremena do progresije bolesti (PFS) je bila 5.6 meseci (95%CI 4.8 – 6.5), a medijana ukupnog preživljavanja (OS) 10.0 meseci (95%CI 8.1 – 12.0). Statistički značajno kraće preživljavanje je registrovano kod pacijenata lošeg performans statusa [ECOG PS2 vs. PS1 vs. PS0, 10.02 (9.28-10.76) vs. 5.55 (4.73-6.37) vs. 2.63 (3.91-4.31) meseci]. Nosioци Arg/Arg genotipa *XRCC1* gena imali su statistički značajno duži PFS i OS. Nije dokazan uticaj ispitanih polimorfizama *RAD51* i *TP53* gena na dužinu PFS i OS. Nosioци 399Arg alela *XRCC1* gena su bili statistički značajno podložniji razvoju neuropatije i anemije (Pearson  $\chi^2$  test,  $p=0.025$  i  $p=0.004$  respektivno). Nosioци 135G alela gena *RAD51* su statistički značajno manje podložni razvoju neuropatije. Mučnina i trombocitopenija, naročito visokog gradusa, su statistički značajno češće registrovani kod nosilaca 72Pro alela gena *TP53* ( $p=0.037$  i  $p=0.051$  respektivno).

**Zaključak:** Detektovana je statistički značajna povezanost polimorfizama Arg399Gln gena *XRCC1*, G135C gena *RAD51* i Arg72Pro gena *TP53* sa efikasnošću i specifičnim toksičnostima platinske hemioterapije kod pacijenata sa odmaklim adenokarcinomom pluća. Radi se o minimalno-invazivnim i finansijski isplativim prognostičkim i prediktivnim parametrima koji bi, kao takvi, mogli biti deo algoritama lečenja pacijenata sa odmaklim NSCLC.

**Ključne reči:** adenokarcinom pluća, genski polimorfizmi, *XRCC1*, *RAD51*, *TP53*

**Naučna oblast:** Medicina

**Uža naučna oblast:** Molekularna Medicina

## **Abstract**

**Introduction:** This investigation was conducted in order to determine whether certain clinical and genetic factors can be used as minimally invasive predictors of efficacy and toxicity of platinum-based chemotherapy in patients with advanced lung adenocarcinoma.

**Materials and methods:** A total of 121 advanced lung adenocarcinoma patients were enrolled in this prospective and retrospective investigation. All patients were treated with platinum-based chemotherapy doublet in first line until progression or up to 6 cycles. Response to treatment was evaluated using RECIST1.1 and toxicity graded according to CTCAE v.5.0. RT-PCR was used for *XRCC1*, *TP53* and *RAD51* genotyping.

**Results:** Median progression-free survival (PFS) was 5.6 months (95%CI 4.8 – 6.5), and median overall survival (OS) 10.0 months (95%CI 8.1 – 12.0). Patients with poor ECOG PS had a statistically shorter OS [ECOG PS2 vs. PS1 vs. PS0, 10.02 (9.28-10.76) vs. 5.55 (4.73-6.37) vs. 2.63 (3.91-4.31) months]. *XRCC1* Arg399Gln Arg/Arg carriers had a statistically longer PFS and OS, while there was no influence of the investigated polymorphisms of *RAD51* and *TP53* on PFS or OS. *TP53* Arg72Pro Pro allele carriers were more prone to nausea (p=0.037) and thrombocytopenia (p=0.051), especially high-grade. Anemia and neuropathy occurred more frequently in *XRCC1* Arg399Gln Arg allele carriers (Pearson  $\chi^2$  test, p=0.025 and p=0.004 respectively). *RAD51* G135C G allele carriers were statistically less prone to developing neuropathy.

**Conclusion:** We detected a statistically significant association between gene polymorphisms Arg399Gln of *XRCC1* gene, G135C of *RAD51* gene and Arg72Pro gene *TP53* and the efficacy and certain toxicities of platinum-based chemotherapy in advanced lung adenocarcinoma patients. These parameters might prove useful for the construction of population-specific, time- and cost-efficient prognostic and predictive algorithms in the treatment of advanced lung adenocarcinoma.

**Key words:** Adenocarcinoma of the lung, gene polymorphisms, *XRCC1*, *RAD51*, *TP53*

**Scientific field:** Medicine

**Scientific subfield:** Molecular medicine

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
1.1 Epidemiologija karcinoma pluća.....	1
1.2 Etiologija karcinoma pluća .....	2
1.3 Skrining karcinoma pluća .....	3
1.4 Dijagnostički postupci .....	4
1.5 Patohistološka podela karcinoma pluća .....	5
1.6 Molekularno testiranje i značaj.....	6
1.7 Određivanje stadijuma bolesti – TNM sistem .....	6
1.7.1 TNM sistem kod karcinoma pluća .....	7
1.8 Procena opšteg stanja pacijenta .....	8
1.9 Principi lečenja NSCLC .....	10
1.9.1 Terapija ranih stadijuma bolesti.....	10
1.9.2 Terapija odmakle/metastatske bolesti .....	11
1.10. Osnovni principi citotoksične hemioterapije (HT).....	12
1.10.1. Hemioterapija NSCLC .....	14
1.10.2. Procena efikasnosti terapije .....	15
1.10.3. Toksičnost (neželjena dejstva) hemioterapije .....	16
1.10.4. Platinski derivati u lečenju malignih bolesti .....	17
1.10.5. Mehanizam dejstva cisplatine .....	18
1.10.6. Razvoj rezistencije.....	20
1.11. Toksičnost cisplatine .....	21
1.11.1 Gastrointestinalna toksičnost .....	21
1.11.2. Renalna toksičnost .....	22
1.11.3. Ototoksičnost.....	22
1.11.4. Neurotoksičnost.....	23
1.11.5. Mijelotoksičnost .....	23
1.11.6. Hepatotoksičnost.....	23
1.12. Mehanizmi popravke DNK.....	24
1.12.1. Popravka DNK i oštećenje nastalo pod dejstvom platinskih derivata .....	25
1.13. XRCC1 .....	26

1.14. RAD51 .....	27
1.15. TP53 .....	28
1.16. Polimorfizmi jednog nukleotida (eng. <i>single nucleotide polymorphisms</i> , SNPs) .....	29
1.16.1. Genetička varijanta Arg399Gln (rs25487) gena <i>XRCC1</i> .....	30
1.16.2. Genetička varijanta G135C (rs1801320) gena <i>RAD51</i> .....	30
1.16.3. Genetička varijanta Arg72Pro (rs1042522) gena <i>TP53</i> .....	30
<b>2. CILJEVI RADA .....</b>	<b>31</b>
<b>3. MATERIJAL I METODE .....</b>	<b>32</b>
<b>3.1. Ispitanici .....</b>	<b>32</b>
<b>3.2 Genetičke metode .....</b>	<b>32</b>
3.2.1. Izolovanje DNK iz tumorskog tkiva i testiranje mutacija u genu <i>EGFR</i> .....	33
3.2.2. Analiza polimorfizama dužine restrikcionih fragmenata ( <i>Restriction Fragment Length Polymorphisms</i> , RFLP).....	33
3.2.3. Reakcija lančane polimeraze ( <i>Polymerase chain reaction</i> , PCR).....	34
3.2.4. Restrikciona digestija PCR produkata.....	35
3.2.5. Analiza produkata restrikcione digestije .....	36
<b>3.3. Statističke metode .....</b>	<b>37</b>
<b>4. REZULTATI .....</b>	<b>38</b>
<b>4.1. Rezultati analize distribucije genotipova i frekvencije alela .....</b>	<b>40</b>
<b>4.2. Efikasnost primenjene hemioterapije .....</b>	<b>41</b>
4.2.1. Vreme do progresije bolesti (PFS) .....	42
4.2.2. Ukupno preživljavanje (OS).....	45
<b>4.3. Toksičnost primenjene HT .....</b>	<b>47</b>
<b>4.4. Povezanost preživljavanja i ispoljene toksičnosti .....</b>	<b>49</b>
<b>4.5. Analiza asocijacije polimorfnih varijanti gena <i>XRCC1</i>, <i>RAD51</i> i <i>TP53</i> sa preživljavanjem i efikasnošću primenjene terapije .....</b>	<b>53</b>
4.5.1. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena <i>XRCC1</i> sa preživljavanjem .....	53
4.5.2. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena <i>RAD51</i> (rs1801320) sa preživljavanjem .....	55
4.5.3. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena <i>TP53</i> i preživljavanja .....	57
4.5.4. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena <i>XRCC1</i> sa efikasnošću hemioterapije .....	60



4.5.5. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena <i>RAD51</i> sa efikasnošću hemioterapije .....	60
4.5.6. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena <i>TP53</i> sa efikasnošću hemioterapije .....	60

**4.6. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* i ispoljene toksičnosti hemioterapije.....61**

4.6.1. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena <i>XRCC1</i> sa pojavom leukopenije	62
4.6.2. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena <i>XRCC1</i> sa pojavom neutropenije .....	63
4.6.3. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena <i>XRCC1</i> sa pojavom anemije .....	65
4.6.4. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena <i>XRCC1</i> sa pojavom trombocitopenije .....	66
4.6.5. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena <i>XRCC1</i> sa pojavom dijareje .....	67
4.6.6. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena <i>XRCC1</i> sa pojavom nauzeje (mučnine).....	68
4.6.7. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena <i>XRCC1</i> sa pojavom povraćanja (emeze).....	69
4.6.8. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena <i>XRCC1</i> sa pojavom neuropatije	70
4.6.9. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena <i>XRCC1</i> sa pojavom porasta kreatinina (nefrotoksičnosti).....	71
4.6.10. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena <i>XRCC1</i> sa pojavom porasta transaminaza (hepatotoksičnosti).....	72

**4.7. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena *RAD51* (rs1801320) i ispoljene toksičnosti hemioterapije .....**

4.7.1. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena <i>RAD51</i> sa pojavom leukopenije.....	74
4.7.2. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena <i>RAD51</i> sa pojavom neutropenije .....	75
4.7.3. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena <i>RAD51</i> sa pojavom anemije .....	76
4.7.4. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena <i>RAD51</i> sa pojavom trombocitopenije .....	78
4.7.5. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena <i>RAD51</i> sa pojavom dijareje .....	79
4.7.6. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena <i>RAD51</i> sa pojavom nauzeje (nauzeje).....	80
4.7.7. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena <i>RAD51</i> sa pojavom povraćanja (emeze).....	81
4.7.8. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena <i>RAD51</i> sa pojavom neuropatije (SPN) .....	82
4.7.9. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena <i>RAD51</i> sa pojavom porasta kreatinina (nefrotoksičnost) .....	83

4.7.10. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena <i>RAD51</i> sa pojavom porasta transaminaza (hepatotoksičnost) .....	84
<b>4.8. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena <i>TP53</i> i ispoljene toksičnosti hemioterapije.....</b>	<b>84</b>
4.8.1. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena <i>TP53</i> sa pojavom leukopenije .....	86
4.8.2. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena <i>TP53</i> sa pojavom neutropenije ...	87
4.8.3. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena <i>TP53</i> sa pojavom trombocitopenije .....	88
4.8.4. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena <i>TP53</i> sa pojavom anemije .....	90
4.8.5. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena <i>TP53</i> sa pojavom dijareje .....	91
4.8.6. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena <i>TP53</i> sa pojavom nauzeje (mučnine).....	92
4.8.7. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena <i>TP53</i> sa pojavom emeze (povraćanja).....	93
4.8.8. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena <i>TP53</i> sa pojavom neuropatije .....	94
4.8.9. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena <i>TP53</i> sa pojavom nefrotoksičnosti (porasta kreatinina).....	95
4.8.10. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena <i>TP53</i> sa pojavom hepatotoksičnosti (porasta transaminaza).....	96
<b>4.9. Kombinacije genotipova .....</b>	<b>96</b>
<b>5. DISKUSIJA .....</b>	<b>97</b>
<b>6. ZAKLJUČCI .....</b>	<b>104</b>
<b>7. LITERATURA .....</b>	<b>105</b>

## 1. UVOD

### 1.1 Epidemiologija karcinoma pluća

Karcinom pluća i dalje predstavlja najčešću i najsmrtonosniju malignu bolest u svetu. Sredinom devetnaestog veka moglo se pronaći svega dvadesetak opisanih slučajeva ove bolesti. Adler je 1912. godine opisao 374 slučaj (1), dok je trenutna situacija značajno različita i umnogome poražavajuća. Po podacima *Globocana* iz 2020. godine (2), godišnje se u svetu registruje oko 2,2 miliona novoobolelih od karcinoma pluća, što predstavlja 11.4% od ukupnog broja novobolelih od malignih bolesti i značajan porast od 1.6 miliona novodijagnostikovanih 2012. godine. Prema podacima američkog Nacionalnog Instituta za Rak za period 2014-2016. godine, oko 6.3% ukupnog stanovništva će tokom svog života oboleti od karcinoma pluća (3). Trend incidence i geografska distribucija se razlikuju među polovima, što odražava istorijske, kulturološke i regionalne razlike u prevalenci konzumiranja duvana i izloženosti drugim karcinogenima. Ovo je najčešća maligna bolest muškaraca sa 1.37 miliona novoobolelih godišnje, odnosno 14.5% ukupnog broja novoobolelih od malignih bolesti. Najveće stope incidence u muškoj populaciji se registruju u Mikroneziji/Polineziji, 52.2 na 100.000, Istočnoj Aziji, 47.2, i u gotovo celoj Evropi, naročito istočnoj, gde Mađarska ubedljivo vodi sa stopom incidence od čak 77.4. Kod žena se godišnje registruje oko 720.000 novoobolelih, 8.4% ukupnog broja, čineći karcinom pluća trećim najčešćim karcinomom kod žena, iza karcinoma dojke (24.4%) i kolorektuma (9.5%). Najveće stope incidence se javljaju u Severnoj Americi, 30.7 i Severnoj i zapadnoj Evropi, naročito Danskoj i Holandiji, 26.9, kao i Australiji i Novom Zelandu, 24.0 na 100.000 žena. Kao i u muškoj populaciji, daleko najveće stope incidence se beleže u Mađarskoj, čak 42.0. Interesantan je podatak da je incidence karcinoma pluća kod žena u Kini slična onoj u zapadnoj i severnoj Evropi, oko 22.8, iako postoje značajne razlike u broju žena pušača između ovih regija. Smatra se da je ovo posledica korišćenja uglja za zagrevanje kuća i kuvanje. Kod oba pola, najniže stope incidence su u Africi, 2.4 do 3.8 na 100.000 muškaraca i 1.2 do 2.3 na 100.000 žena, osim pojedinih zemalja kao što je Maroko, gde je stopa incidence 31.9 i Južnoafričke Republike, 28.2. Globalno postoji trend pada incidence karcinoma pluća kod muškaraca kao posledica zabrane pušenja na javnim mestima (1,2,4) Edukacija i kampanje o štetnosti duvanskog dima su dovele do činjenice da je u Evropskoj Uniji 2016. godine karcinom pluća kod muškaraca prvi put posle više decenija po incidenci pao na drugo mesto iza karcinoma prostate (5). Kod žena su incidence ove bolesti i dalje u porastu na globalnom nivou, ali se registruje diskretno smanjenje u razvijenim zemljama. Smrtnost od ovog oboljenja je konstatno visoka i sa procenjenih 1.79 miliona umrlih godišnje čini karcinom pluća jednom od najsmrtonosnijih bolesti, sa odnosom obolevanja i umiranja od 0,85 (1,4). Postoji značajna razlika u stopama incidence između pripadnika različitih rasa kao i socio-ekonomskih grupa. Najveće stope incidence su među Afro-amerikancima, 83,7, nešto niže su kod pripadnika kavkaskе rase, 66,3, a najniže kod Hispano-amerikanaca, 33,3. (1,3). Neke studije su pokazale korelaciju između nižeg socio-ekonomskog statusa i karcinoma pluća bez obzira na pušenje što ukazuje i na druge etiološke i faktore sredine kao što su uslovi života i profesionalna izloženost karcinogenima (1). Registruje se trend pada mortaliteta za 48% od 1990.godine kod muškaraca i za 23% kod žena od 2002.godine, a u periodu od 2012. do 2016.godine mortalitet opada za 4% kod muškaraca, odnosno za 3% kod žena, što je svakako posledica napredka u lečenju ove bolesti (6).

Epidemiološka situacija u Srbiji u pogledu karcinoma pluća, odgovara onoj u svetu. Prema podacima Instituta za javno zdravlje Srbije iz 2018.godine, godišnje se registruje oko 6600 novoobolelih, a umre oko 5400 obolelih. Kod muškaraca je karcinom pluća najčešći maligni

tumor, zastupljen sa 21.2% od ukupno obolelih od malignih bolesti, sa standardizovanom stopom incidence od 57 na 100.000 i stopom mortaliteta od 53.3, odnosno 30.9% svih umrlih od malignih bolesti čine umrli od karcinoma pluća. Kod žena karcinom pluća čini 10.2% novoobolelih od svih malignih bolesti, što ga stavlja na sada već drugo mesto među malignim bolestima kod žena u Srbiji, iza karcinoma dojke. Stopa incidence iznosi 22.4 na 100.000 žena, a stopa mortaliteta 19.8, odnosno 17.2% svih umrlih, čineći ga drugim malignitetom po smrtnosti, iza karcinoma dojke kome se po mortalitetu iz godine u godinu sve više približava (7). U periodu od 1999. do 2008. godine u Srbiji je zabeležen porast u obolevanju od karcinoma pluća za alarmantnih 27,4% zbog čega se Srbija 2008. godine nalazila u grupi zemalja Evrope sa visokim stopama obolevanja i smrtnosti od karcinoma pluća. Ovaj porast bio je više nego duplo veći kod žena nego kod muškaraca što se pre svega objašnjava povećanjem upotrebe duvanskih proizvoda u ovoj populaciji. Trend porasta stope incidence karcinoma pluća je poslednjih par godina snižen i smatra se da polako dostiže plato, kao i da sledi postepen pad broja obolelih i umrlih (8).

Karcinom pluća se najčešće javlja kod osoba starije životne dobi, sa medijanom starosti pri dijagnozi od 70 godina. Oko polovine obolelih osoba su starosti između 55 i 74 godine, a čak 37% obolelih ima preko 75 godina. Karcinom pluća predstavlja najčešći uzrok smrti uopšte kod muškaraca starijih od 40, i kod žena starijih od 59 godina (6,9,10).

Više od polovine novoobolelih (57%) se dijagnostikuje u odmaklom stadijumu bolesti. Petogodišnje preživljavanje direktno zavisi od stadijuma bolesti pri dijagnozi. Ukupno petogodišnje preživljavanje je iznosilo 19%, 16% kod muškaraca i 22% kod žena, i duže je kod obolelih od nesitnoćelijskog nego od sitnoćelijskog karcinoma, 23% prema 6%. Prema podacima za 2016.godinu u Sjedinjenim Američkim Državama u lokalizovanoj bolesti petogodišnje preživljavanje iznosi oko 56%, za lokalno odmaklu bolest 24%, a za metastasku svega 4% (6). Situacija u Evropi je u prvoj deceniji dvadesetprvog veka bila slična, ukupno petogodišnje preživljavanje je iznosilo 17%, a po stadijumima 52% za rani, 25% za lokalno odmakli i 4% za odmakli, metastatski stadijum bolesti (11).

Primećene su značajne razlike između žena i muškaraca u pogledu faktora rizika, patologije i prognoze (1). Čini se da su osobe ženskog pola podložnije razvoju karcinoma pluća od muškaraca. Postoji veća incidence karcinoma pluća kod žena nepušača u odnosu na muškarce nepušače, češće su mutacije gena za epidermalni factor rasta (eng. *Epidermal growth factor receptor, EGFR*), kao i adenokarcinomi sa lepidičnim tipom rasta (12–14). Neke genske alteracije koje se češće nalaze kod žena pušača mogu biti odgovorne za povećani rizik za razvoj karcinoma pluća: over-ekspresija CYP1A1 gena, mutacija glutation S-trasferaza M1 enzima, mutacije tumor supresorskog gena TP53 i mnoge druge (12,14). Razlike u hormonskom statusu takođe mogu biti značajne. Estrogen receptor (ER)  $\alpha$ , koji se normalno ne nalazi u tkivu pluća je pojačano eksprimiran u tkivu adenokarcinoma pluća kod žena, Antiestrogeni in vitro dovode do inhibicije rasta tumorskih ćelija. Takođe je ispitivan uticaj drugih faktora specifičnih za ženski pol kao što su broj trudnoća i porođaja, godine pri menarhi i menopauzi, trajanje menstrualnog ciklusa, hormonska terapija, ali su rezultati često kontradiktorni a svakako nekonkluzivni za sada (15,16).

## 1.2 Etiologija karcinoma pluća

Etiopatogeneza karcinoma pluća je kompleksna i multifaktorska, a međusobni odnosi između pojedinih uzročnika često su nedovoljno ispitani. Pušenje cigareta je daleko najčešći uzrok nastanka karcinoma pluća. Pušači imaju oko 20 puta veću verovatnoću da obole od

karcinoma pluća od nepušača. Dokazi o povezanosti konzumiranja duvana i razvoja ove bolesti su mnogobrojni, a sama kancerogeneza izazvana duvanskim dimom je višestepeni proces koji obuhvata kako direktno oštećenje epitela disajnih puteva, tako i promene na nivou DNK i mnogih drugih molekularnih struktura (8,17). Rizik za razvoj karcinoma pluća je proporcionalan broju popušenih cigareta, dužini pušačkog staža i koncentraciji katrana koji se udahne. Smatra se da je pušenje odgovorno za nastanak karcinoma pluća kod oko 90% obolelih muškaraca i oko 80% obolelih žena, pri čemu se čini da postoje razlike među polovima u osetljivosti na kancerogene efekte duvanskog dima. Ovaj rizik se smanjuje nakon prestanka pušenja, ali je potrebno oko 30 godina da bi se sveo na polovinu. Međutim, karcinom pluća se javlja kod svega oko 11% svih pušača, što ukazuje na postojanje drugih uzročnika i faktora rizika. Pasivno pušenje, odnosno izloženost duvanskom dimu u životnoj ili radnoj sredini takođe predstavlja faktor rizika. Nepušači koji žive sa pušačem imaju 20-30% veći rizik da obole od raka pluća od drugih nepušača (17,18).

Radon se smatra drugim najčešćim uzročnikom karcinoma pluća odgovornim za oko 2-9% obolelih. Dva produkta prirodnog procesa raspada radona oslobađaju alfa čestice koje svojom velikom energijom i masom dovode do oštećenja DNK epitelnih ćelija disajnih puteva. Pušenje i radon imaju sinergističko dejstvo na rizik od razvoja karcinoma pluća. Mnogi karcinogeni radne sredine kao što su čađ, katran (zbog visokog procenta benzopirena), arsen, hrom, nikel, herbicidi, insekticidi, kao i radioterapija grudnog koša i druge vrste zračenja takođe povećavaju rizik od nastanka karcinoma pluća (8,19).

Pored navedenih spoljnih, ekstrinzičnih faktora, identifikovani su i određeni intrinzički, odnosno unutrašnji činioci koji određene osobe čine osetljivijim za nastanak karcinoma pluća. Pozitivna porodična anamneza, naročito prvih srodnika, znatno povećava navedeni rizik. Prethodno hronično oboljenje pluća takođe može povećati rizik za nastanak karcinoma pluća. Hronična opstruktivna bolest pluća (HOBP) je često prisutna kod obolelih od karcinoma pluća, ali je i ova bolest najčešće izazvana izlaganjem duvanskom dimu, te je teško utvrditi uzročno-posledičnu povezanost. Jedna od mogućih veza između razvoja HOBPa i karcinoma pluća, nezavisno od pušenja, je deficijencija alfa1-antitripsina ( $\alpha$ 1ATD) koja se češće javlja kako kod obolelih od HOBP-a tako i kod obolelih od karcinoma pluća. Prevalenca  $\alpha$ 1ATD je veća kod osoba obolelih od karcinoma pluća nego u opštoj populaciji, bez obzira na njihov pušački status (20,21).

Mnogi drugi genetski faktori se smatraju faktorima rizika. Deficijencija folata može biti povezana sa promenama u sintezi, popravci i metilaciji DNK, što doprinosi ukupnoj nestabilnosti genoma i povećanom riziku za razvoj malignih bolesti. Genski polimorfizmi enzima koji učestvuju u metabolizmu folata, kao što su metilentetrahidrofolat reduktaza (MTHFR) i timidilat sintetaza (TYMS) su povezani sa izmenjenim nivoom folata u serumu i mogu biti faktori rizika za razvoj karcinoma pluća. Uz to, predstavljaju faktore loše prognoze i dovode do povećane toksičnosti primenjene terapije, što je pokazano i na grupi pacijenata u Srbiji (18).

### 1.3 Skrining karcinoma pluća

U većini slučajeva, simptomi karcinoma pluća se javljaju kasno, kada je bolest već u odmakloj fazi i kada je mogućnost izlječenja veoma mala. Stoga je jasan značaj ranog otkrivanja bolesti. Ranije metode skrininga primenom radiografije grudnog koša ili citologije sputuma nisu pokazale značajne rezultate (10). Prvi značajni rezultati skrininga su došli nakon velike studije sprovedene u Sjedinjenim Američkim Državama, *The National Lung Cancer Screening Trial*, NLST (22). U ovu studiju je uključeno preko 53000 osoba starosti između 55 i 74 godine koji su

bili višegodišnji trenutni ili bivši pušači (preko 30 paklo/godina ili manje od 15 godina od prestanka pušenja). Svi ispitanici su podeljeni u dve grupe, jedna koja je podvrgnuta radiografijama grudnog koša jednom godišnje tokom tri godine, i druga koja je praćena niskodoznim CT pregledom (LDCT). Pokazano je da primena skrininga LDCTom dovodi do smanjenja smrtnosti povezane sa karcinomom pluća za 20%, a smanjenja smrtnosti od bilo kog uzroka za 6.7%. Na osnovu ove studije u SAD je uveden program skrininga pomoći LDCTa za grupu visokorizične populacije u visoko specijalizovanim centrima (22,23). Holandska NELSON studija čiji su rezultati objavljeni 2018.godine, je pratila više od 15000 osoba pod visokim rizikom za razvoj karcinoma pluća, tokom 10 godina, i poredila grupu praćenu pomoću LDCTa i grupu na kojoj nije sproveden skrining. Rezultati su pokazali redukciju u smrti povezanom sa karcinomom pluća za 26% kod muškaraca i za čak 39-61% kod žena (24). Za sada evropske smernice preporučuju skrining za karcinom pluća za visokorizične grupe u okviru dobro organizovanih programa u ekspertskim centrima gde je moguć multidisciplinarni tretman i praćenje suspektnih nalaza, uz uključivanje u programe za odvikavanje od pušenja (10).

#### **1.4 Dijagnostički postupci**

Kada postoji sumnja na karcinom pluća neophodno je sprovesti odgovarajuće dijagnostičke procedure koje imaju za cilj potvrdu dijagnoze, određivanje histološkog tipa tumora, precizno određivanje stadijuma bolesti i procenu stanja pacijenta. Dijagnostički postupak obuhvata anamnezu i fizički pregled, laboratorijske analize, radiološku dijagnostiku, neinvazivnu i invazivnu internističku dijagnostiku, hiruršku dijagnostiku, procenu opšteg stanja i multidisciplinarnu odluku o lečenju (8). Koji će dijagnostički postupak biti adekvatan za pacijenta zavisi od veličine i lokalizacije tumora, prisustva ili odsustva udaljenih metastaza i karakteristika samog pacijenta, odnosno postojanja plućnih ili drugih značajnih komorbiditeta (25). Preporuka je da se dijagnostički postupci sprovode istovremeno kada je to moguće, a ne sekvencijalno, i uz učešće iskusnog multidisciplinarnog tima od samog početka, u cilju što bržeg postavljanja dijagnoze i određivanja terapijskog plana, obzirom da se radi o agresivnoj bolesti (26).

Neinvazivne dijagnostičke metode obuhvataju citologiju sputuma, (koja daje pozitivan rezultat maligniteta u oko 90% centralno lokalizovanih tumora, ali je nedovoljna za određivanje histološkog i molekularnog podtipa tumora), radiografiju grudnog koša, CT (kompjuterizovana tomografija) grudnog koša i abdomena, CT ili MR endokranijuma, scintigrafiju skeleta, PET CT (pozitron emisiona tomografija). Danas je CT pregled grudnog koša osnovna metoda procene intratorakalne proširenosti bolesti i neophodan je uvek, a naročito kada se razmatra hirurško lečenje ili kod utvrđivanja izlečenja. (8). MR ili CT pregled (ako MR nije dostupan) glave je indikovano kod svih pacijenata koji imaju neurološke simptome, kod svih pacijenata sa dijagnozom sitnoćelijskog karcinoma pluća, kao i kod pacijenata kod kojih se planira kurativni tretman (osim kod stadijuma IA), a naročito za stadijum III i adenokarcinome (8,10,25,26). Scintigrafija skeleta je indikovana kod pacijenata sa simptomima koštanih metastaza i kod sitnoćelijskih karcinoma. PET CT pregled je superioran za procenu medijastinalne proširenosti bolesti i ekstratorakalnih metastaza (osim CNS metastaza zbog fiziološki visokog metabolizma glukoze u mozgu), i indikovano je kod svih pacijenata kod kojih se razmatra kurativni tretman. Ne preporučuje se kod pacijenata sa sitnoćelijskim karcinomom, osim u retkim slučajevima kada se planira hirurško lečenje ili kao pomoćni metod prilikom planiranja zračne terapije (8,26)

Zadatak invazivnih dijagnostičkih procedura je dobijanje adekvatnog uzorka tkiva tumora za histološku i molekularnu analizu. Uvek treba izabrati onu metodu koja će biti najmanje invazivna a kojom će se dobiti najbolji uzorak tkiva (25). Mogu se koristiti minimalno

invazivne metode kao što su uzimanje uzorka pleuralnog ili perikardnog izliva, aspiraciona biopsija perifernih limfnih čvorova ili udaljenih metastaza. Na ovaj način se dobija citološki uzorak na kome se može adekvatno odrediti vrsta tumora i uraditi neke molekularne analize, ali ovakav uzorak nije dovoljan za kompletno molekularno profilisanje tumora. U najvećem broju slučajeva, naročito kada se radi o centralno lokalizovanim tumorima, bronhoskopija je metod izbora za dobijanje histološke dijagnoze. Najčešće se koristi bronhoskopija savitljivim bronhoskopom u lokalnoj anesteziji, dok je rigidna bronhoskopija rezervisana za retke slučajeve kada postoji rizik od nekontrolisanog krvarenja ili postoji potreba za održavanjem kompetentnosti disajnih puteva. Uzorak tumora se može uzeti lavažom bronhija (citološki), četkanjem bronhija (brush), biopsijom bronha (BB), transbronhijalnom biopsijom (TBB) ili transbronhijalnom iglenom aspiracijom (TBNA). Koja će od ovih metoda biti korišćena se određuje tokom same procedure u zavisnosti od endoskopskog nalaza (8). Za procenu zahvaćenosti medijastinalnih limfnih čvorova koriste se endobronhijalni ultrazvuk (EBUS), endoezofagealni ultrazvuk (EUS), a u slučaju da se ovim metodama ne dobije adekvatan nalaz, a postoji visoka sumnja da su čvorovi zahvaćeni, savetuju se hirurške metode uzorkovanja limfnih čvorova, od kojih se najčešće koriste medijastinoskopija i video-asistirana torakoskopija (VATS). Ove metode naročito imaju veliki značaj za precizno određivanje intratorakalne proširenosti bolesti kod pacijenata koji nemaju ekstratorakalne metastaze i kod kojih se planira kurativni pristup (8,10,25).

## 1.5 Patohistološka podela karcinoma pluća

Prvi zapisi o histološkim tipovima karcinoma pluća se mogu naći još u radovima objavljenim tridesetih godina prošlog veka. Već tada se kao histološki entiteti izdvajaju sitnoćelijski, skvamozni i adenokarcinom, ali uz nejasno definisane karakteristike svakog od ovih tipova i uz opisivanje i mnoštva drugih, nejasno okarakterisanih histoloških entiteta (27). Svetska Zdravstvena Organizacija (SZO) je prvu verziju histološke klasifikacije karcinoma pluća izdala 1967.godine, a ona je doživela nekoliko revizija. Poslednja verzija ove podele, koja se i danas koristi je objavljena 2015.godine i donela je značajne izmene u načinu izveštavanja o tipu tumora, uvela nove histološke entitete, a neke ranije široko korišćene, kao što je bronhioalveolarni karcinom, izbacila iz upotrebe. Najznačajnije izmene se odnose na preporuke o načinu postavljanja dijagnoze u malim uzorcima za razliku od operativnog materijala, adekvatnoj primeni imunohistohemijskih markera, a naročito u podtipovima adenokarcinoma, što je direktna posledica izmena u klasifikaciji adenokarcinoma predloženim 2011.godine od strane Međunarodne Asocijacije za Istraživanja Karcinoma Pluća (*International Association for the Study of Lung Cancer, IASLC*), Evropskog Respiratornog Društva (*European Respiratory Society, ERS*) i Američkog Torakalnog Udruženja (*American Thoracic Society*) (28,29). Ono što je i u ovoj verziji klasifikacije ostalo nepromenjeno je osnovna i najjednostavnija podela karcinoma pluća na sitnoćelijski i nestinoćelijski karcinom. Globalno, sitnoćelijski karcinom se dijagnostikuje kod oko 15%, a nesitnoćelijski kod oko 85% svih obolelih. U okviru nesitnoćelijskih karcinoma najčešći su adenokarcinom i skvamozni karcinom, dok su drugi, brojni, podtipovi znatno ređe zastupljeni.

Po dobijanju adekvatnog uzorka tkiva tumora zadatak patologa je da precizno odredi histološki tip i podtip tumora vodeći se najnovijim smernicama koje, kao što je ranije naglašeno, po prvi put podrazumevaju različite principe izveštavanja u zavisnosti od toga da li se radi o malim uzorcima (citološki, biopsije) ili o operativnom materijalu (28,29). Bez obzira na vrstu uzorka, neophodno je očuvati što je više moguće tkiva za kasnije molekularne analize. Takođe, savetuje se i racionalno korišćenje imunohistohemijskih markera. Preporuka je da se, ukoliko se tip tumora ne može odrediti na osnovu samo morfoloških karakteristika ćelija, koriste samo

po jedan marker za skvamocelularnu diferencijaciju (p63 ili p40 najčešće), adenokarcinom (TTF-1 ili napsin-A) ili neuroendokrinu diferencijaciju (sinaptofizin, hromogranin ili CD56) (9,25,28). U slučaju dijagnoze adenokarcinoma ili prisustva adenokarcinomske komponentne, neophodna su dodatna molekularna ispitivanja shodno preporukama (9).

## 1.6 Molekularno testiranje i značaj

Dostignuća na polju molekularne medicine i genetike su dovela do identifikovanja značajnih genskih alteracija u ćelijama karcinoma bronha, od kojih su pojedine od suštinskog prognostičkog i prediktivnog značaja. Ove se promene često nalaze u genima koji kodiraju proteine signalnih puteva ćelije koji su neophodni za nastanak, razvoj i opstajanje maligne ćelije, odnosno uzrokuju takozvanu onkogenu adikciju. Kao takve, predstavljaju i "Ahilovu petu" maligne ćelije, odnosno odlična su meta za razvoj ciljanih lekova koji, prekidanjem tih signalnih puteva, dovode do smrti maligne ćelije (30,31). Najčešće i klinički najznačajnije alteracije su mutacije u genu za receptor epidermalnog faktora rasta (eng. *epidermal growth factor receptor*, EGFR), ALK translokacije (eng. *Anaplastic lymphoma kinase*), ROS1 fuzija (*c-ros oncogene 1*), KRAS (*Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog*) mutacija, BRAF mutacije, naročito V600E, a u poslednje vreme se sve više ispituju i HER2 mutacije (*human epidermal growth factor receptor 2*), mutacije u egzonu 14 MET gena, kao i RET (eng. *rearranged during transfection*) i NTRK fuzije (*neurotropic tropomyosin receptor kinase 1*) (32). Ove alteracije se, uglavnom, ne nalaze istovremeno kod jednog pacijenta. Češće su prisutne kod žena, nepušača ili osoba koje su malo pušile i prestale više godina pre pojave karcinoma, mlađih osoba i osoba žute rase. Međutim, ove kliničke karakteristike se nikako ne smeju koristiti za izdvajanje pacijenata koje treba testirati, već treba testirati sve adenokarcinoma u stadijumu IV, sve tumore koji pokazuju adenokarcinomsku komponentu, NOS (eng. *not otherwise specified*) karcinome i određene pacijente sa skvamoznim karcinomom, kada se možemo koristiti ovim kliničkim karakteristikama (9,31,32). Poslednjih godina je imunoterapija dovela do prave revolucije u lečenju metastatskog NSCLC, sa uvođenjem u kliničku praksu novih agenasa nazvanih inhibitori kontrolne tačke (eng. *checkpoint inhibitors*). To su monoklonska antitela koja vrše interakciju između maligne ćelije i ćelija imunog sistema i na taj način omogućavaju da imuni sistem prepozna malignu ćeliju kao stranu i uništi je. Ova interakcija se ostvaruje putem PD-1 receptora (eng. *programmed cell death receptor 1*) koji je eksprimiran na ćelijama imunog sistema i PD-L1 (eng. *programmed cell death receptor ligand*) koji može biti eksprimiran i na ćelijama tumora. Učestalost PD-L1 ekspresije kod nesitnoćelijskog karcinoma bronha nezavisno od histološkog tipa se kreće između 20% i 50%. Nivo ekspresije PD-L1 na ćelijama tumora može imati uticaj na efikasnost imunoterapije, te je i ova analiza poslednjih godina ušla u sve preporuke za molekularno testiranje (33,34). Prema preporukama svih svetskih onkoloških udruženja neophodna su sledeće molekularne analize: EGFR, ALK, ROS1, PD-L1, a prema nekim preporukama i K-Ras, BRAF, MET, RET, NTRK (9).

## 1.7 Određivanje stadijuma bolesti – TNM sistem

Stadijum maligne bolesti predstavlja proširenost bolesti u organizmu. Pravilno i precizno određivanje stadijuma je neophodno radi donošenja adekvatne odluke o daljim terapijskim postupcima i radi procene prognoze. U najširoj upotrebi u onkologiji je TNM sistem, formiran sredinom dvadesetog veka od strane Američnog Udruženog Komiteta za Rak (*American Joint Committee for Cancer, AJCC*) i Međunarodne Unije za Borbu protiv Raka (*International Union Against Cancer, UICC*). Ovaj sistem uzima u obzir anatomsku proširenost bolesti, i to prateći lokalnu i regionalnu proširenost, odnosno T-tumor i N-limfne čvorove, kao i



prisustvo ili odsustvo udaljenih promena, odnosno M-metastaze. Glavni ciljevi korišćenja TNM sistema su pored određivanja najboljeg terapijskog modaliteta i procena prognoze, evaluacija rezultata lečenja, olakšavanje razmene podataka između centara koji se bave malignim bolestima, a takođe i pomoć u praćenju i kontroli malignih bolesti kroz registre (35).

### 1.7.1 TNM sistem kod karcinoma pluća

Određivanje stadijuma karcinoma pluća pomoću TNM sistema je u upotrebi od sedamdesetih godina dvadesetog veka i prošlo je kroz nekoliko revizija. U vreme početka ovog istraživanja u upotrebi je bila sedma revizija TNM klasifikacije malignih tumora grudnog koša (36–38). Ova revizija je počela da se primenjuje od početka 2010.godine, i korišćena je za određivanje stadijuma bolesti u ovom istraživanju. U Tabelama 1 do 4 su prikazana obeležja sedme verzije TNM klasifikacije karcinoma pluća (8).

**Tabela 1.** T deskriptor prema sedmoj TNM klasifikaciji.

<b>Tabela</b>	Tx	Primarni tumor nije utvrđen, ili je pozitivan nalaz malignih ćelija u sputumu ili u ispirku bronha, bez vizualizacije radiološkim tehnikama i bronhoskopijom.	<b>2. N</b>
	T0	Primarni tumor nije evidentiran	
	Tis	<i>Carcinoma in situ</i>	
	T1	Tumor 3 cm ili manji u najvećem dijametri, okružen plućnim tkivom ili visceralnom pleurom, bez bronhoskopski vidljive invazije proksimalno od lobarnih bronha, lokalizovan van glavnog bronhija	
	T1a	Tumor 2cm ili manji. Kao T1a klasifikuje se tumor površnog širenja bilo koje veličine sa invazijom ograničenom na zid bronhija, koji se proksimalno širi i u glavni bronh.	
	T1b	Tumor veći od 2 cm, ali ne više od 3 cm u najvećem dijametri	
	T2	Tumor veći od 3cm, ali manji od 7cm, ili tumor koji zahvata glavni bronh na udaljenosti od 2cm ili većoj od karine traheje, zahvata visceralnu pleuru, udružen je sa atelektazom ili opstruktivnim pneumonitisom koji se širi nahilarnu regiju, ali ne zahvata cela pluća.	
	T2a	Tumor veći od 3cm, ali manji od 5cm u najvećoj dimenziji	
	T2b	Tumor veći od 5cm, ali manji od 7cm u najvećoj dimenziji	
	T3	Tumor veći od 7cm ili direktno (zahvatanje) zida grudnog koša (uključujući i tumor gornjeg sulkusa), dijafragme, freničnog nerva, medijastinalne pleure, parijetalnog perikarda; ili tumor u glavnom bronhu na manje od 2cm distalno od karine treheje bez zahvatanja karine; ili udružen sa atelektazom ili opstruktivnim pneumonitisom celog plućnog krila ili odvojeni tumorski nodus/i u istom režnju kao i primarni tumor	
T4	Tumor bilo koje veličine koji zahvata: medijastinum, srce, velike krvne sudove, traheju, rekurentni nerv, jednjak, kičmene pršljenove I karinu traheje, odvojeni nodusi u različitom režnju istog pluća kao primarni tumor.		

deskriptor prema sedmoj TNM klasifikaciji.

Nx	Regionalne limfne žlezde nisu određivane
N0	Nema metastaza u regionalnim limfnim žlezdama
N1	Metastaze u ipsilateralnim peribronhijalnim i/ili ipsilateralnim hilarnim limfnim žlezdama i intrapulmonalne limfne žlezde uključujući rastom direktno zahvatanje
N2	Metastaze u ipsilateralnim medijastinalnim i/ili subkarinalnim limfnim žlezdama
N3	Metastaze u kontralateralnim medijastinalnim, kontralateralnim hilarnim, ipsilateralnim ili kontralateralnim skalenskim ili supraklavikularnim limfnim žlezdama

**Tabela 3.** M deskriptor prema sedmoj TNM klasifikaciji.

M0	Nema udaljenih metastaza
M1	Udaljene metastaze
M1a	Odvojeni tumorski nodus u kontralateralnom delu pluća, tumor sa pleuralnim nodusima, maligni pleuralni i perikardni izliv
M1b	Udaljene, vanplućne metastaze

**Tabela 4.** Stadijum bolesti prema sedmoj TNM klasifikaciji.

<b>Okultni karcinom</b>	Tx	N0	M0
<b>Stadijum 0</b>	Tis	N0	M0
<b>Stadijum IA</b>	T1a,b	N0	M0
<b>Stadijum IB</b>	T2a	N0	M0
<b>Stadijum IIA</b>	T2b	N0	M0
	T1a,b	N1	M0
	T2a	N1	M0
<b>Stadijum IIB</b>	T2b	N1	M0
	T3	N0	M0
<b>Stadijum IIIA</b>	T1a,b, T2a,b	N2	M0
	T3	N1, N2	M0
	T4	N0, N1	M0
<b>Stadijum IIIB</b>	T4	N2	M0
	Bilo koji T	N3	M0
<b>Stadijum IV</b>	Bilo koji T	Bilo koji N	M1

## 1.8 Procena opšteg stanja pacijenta

Procena opšteg stanja pacijenta u medicini uopšte, a naročito u onkologiji je jedan od najvažnijih elemenata u određivanju adekvatne terapije za pacijenta i prognoze. Opšte stanje pacijenta predstavlja mogućnost pacijenta da samostalno obavlja aktivnosti svakodnevnog života (eng. *Activities of Daily Living, ADL*), koje podrazumevaju oblačenje, uzimanje hrane, održavanje lične higijene, kao i kompleksnije aktivnosti kao što su kućni poslovi i obavljanje svog posla (39). U onkologiji se za procenu stanja pacijenta najčešće koriste dve skale, Karnofski Performans Skala (KPS) i ECOG (*European Cooperative Oncology Group*) Performans Status (PS). Karnofski skala se naziva po svom izumitelju, dr Dejvidu Karnofskom (*David Karnofsky*), koji je još 1948.godine sa kolegama Ejbelmanom, Krejverom i Buršenalom (*dr Walter H. Abelmann, dr Lloyd F. Craver, dr Joseph H. Burchenal*) stvorio skalu procene opšteg stanja pacijenta. Pacijentu se dodeljuje broj od 0 do 100 u deseticama, pri čemu je 0 smrt, a 100 je stanje kao pre početka

bolesti, bez ikakvih tegoba. Ova skala je u to vreme bila korišćena za procenu sposobnosti pacijenta da preživi primenu hemioterapije (40). ECOG PS skala se u poslednje vreme češće koristi, jednostavnija je, koristi ocenu od 0 do 5, pri čemu je 0 stanje bez tegoba, kao pre početka bolesti, a 5 označava smrt. Objavljena je od strane Okena i saradnika 1982. godine (41). Tabela 5 uporedno prikazuje elemente obe ove skale.

**Tabela 5.** Karnofsky i ECOG performans status skale (42).

Status	Karnofsky	ECOG	Status
Normalne aktivnosti, bez tegoba	100	0	Bez tegoba. Potpuno aktivan, izvršava sve životne aktivnosti kao pre bolesti bez ograničenja.
Sposoban za normalnu aktivnost. Minorni simptomi i znaci bolesti	90	1	Ima simptome ali je kompletno aktivan. Povremeno ograničen u teškoj fizičkoj aktivnosti. Sposoban za izvršenje lakog posla ili sedeće prirode, npr., lak posao u kući, kancelarijski posao
Normalna aktivnost sa naporom, sposobnost za aktivan rad umanjena	80		
Sposoban da brine o sebi. Nesposoban za aktivni rad.	70	2	Ima simptome. Pokretan i kompletno brine o sebi, ali je radno nesposoban. Van kreveta više od 50% dana.
Potrebna povremeno tuđa pomoć, ali sposoban da zbrine najveći broj sopstvenih potreba.	60		
Zahteva stalnu tuđu pomoć i često medicinsko zbrinjavanje	50	3	Ima simptome i u krevetu više od 50% dana, ali nije vezan za postelju. Ograničeno sposoban za zbrinjavanje sopstvenih potreba
Nesposoban. Zahteva posebnu brigu i pomoć	40		
Veoma nesposoban. Indikovana hospitalizacija, premda smrtni ishod nije skorašnji.	30	4	Kompletno nesposoban. Ne može da brine o sebi. U potpunosti vezan za krevet ili stolicu.
Veoma bolestan. Neophodna hospitalizacija i aktivna terapija podrške.	20		
Moribundan	10		
Smrtni ishod	0	5	Smrtni ishod

Performans status pacijenta predstavlja jedan od najznačajnijih nezavisnih prognostičkih parametara u karcinomu pluća. Pacijenti sa lošijim PS teže podnose primenjenu terapiju i skloniji su razvoju toksičnosti. Imaju lošiju prognozu od pacijenata sa boljim PS bez obzira na druge prognostičke parametre i bez obzira na vrstu lečenja (43,44). Većina kliničkih studija regrutuje samo pacijente dobrog performans statusa, 0 ili 1, eventualno 2, te i nema mnogo randomizovanih podataka o podnošenju terapije i ishodima kod pacijenata lošijeg

opšteg stanja. Poznato je da su rizici kod ovih pacijenata veći, ponekad i prevazilaze potencijalnu korist, te je to svakako grupa pacijenata kojoj treba pristupati sa oprezom. Značajno je naglasiti da performans status pacijenta nije stalna mera, već se može menjati u oba smera tokom trajanja bolesti u zavisnosti od stanja same bolesti i lečenja (39).

## 1.9 Principi lečenja NSCLC

Princip lečenja karcinoma pluća najpre zavisi od stadijuma bolesti koji je neophodno adekvatno odrediti, opšteg stanja pacijenta i komorbiditeta, a kod nesitnoćelijskih karcinoma i od histološkog podtipa bolesti i molekularnog statusa tumora. Primenuju se svi terapijski modaliteti koji se inače koriste u onkologiji: hirurgija, radioterapija i sistemska terapija. Sve odluke o lečenju treba do donosi iskusni multidisciplinarni tim koji obuhvata najmanje torakalnog hirurga, medikalnog onkologa, radijacionog onkologa i patologa (8,10).

### 1.9.1 Terapija ranih stadijuma bolesti

Terapija izbora za sve pacijente u stadijumu I i II jeste hirurgija. Pre svake hirurške intervencije neophodna je dobra preoperativna procena rizika i predviđenog postoperativnog statusa pacijenta, naročito njegove plućne funkcije. Ova procena obuhvata adekvatnu pulmološku i kardiološku obradu shodno smernicama (45,46). Osnovni hirurški princip je anatomska resekcija koju je neophodno uraditi uvek osim u slučajevima kada plućna funkcija ili drugi komorbiditeti ne dozvoljavaju takvu resekciju, u tim slučajevima se može pribeći *wedge* resekciji. Za sve tumora veće od 2cm zlatni standard je i dalje lobektomija. Nema značajne razlike između otvorene torakotomije ili video-asistirane (VATS) ukoliko se učini adekvatno stadiranje medijastinuma (10,45,46). Postoje jasne preporuke IASLC i Evropskog Udruženja Torakalnih Hirurga (eng. *European Society of Thoracic Surgery, ESTS*) o adekvatnoj disekciji medijastinalnih limfnih čvorova (47). U slučaju kontraindikacija za hirurgiju ili ako je pacijent odbija, za stadijum I se savetuje stereotaktična radiohirurgija (*Stereotactic Radiosurgery, SRS*), ili ako ova metoda nije dostupna radikalna zračna terapija hipofrakcionisanim režimima (10). Postoperativna zračna terapija nije indikovana kod kompletno resekovanih NSCLC sa N0 i N1 statusom, može se razmatrati jedino kod R1 resekcije. Adjuvantna hemioterapija je indikovana u stadijumu II, III i kod nekih tumora stadijuma IB koji ispoljavaju visoko-rizične osobine (veći od 4cm, g3, limfovaskularna invazija). Savetuje se primena dubleta zasnovanog na cisplatinu gde god je moguće, 3 do 4 ciklusa uz ukupnu dozu cisplatine oko 300mg/m<sup>2</sup>. Najviše podataka ima za primenu vinorelbina u kombinaciji sa cisplatinom, ali se mogu primeniti drugi hemioterapeutici (48,49). Najnoviji podaci se odnose na adjuvantni tretman adenokarcinoma koji eksprimiraju mutaciju EGFR gena stadijuma Ib-III. Naime, studija faze III ADAURA objavljena 2020.te godine, je pokazala značajno produženje vremena bez relapsa bolesti pacijenata koji su u adjuvantnom pristupu, sa ili bez adjuvantne hemioterapije, primali osimertinib tokom 2 godine (DFS HR 0.17; 99.06% CI 0.11-0.26; P<0.001 u celoj grupi), što je dovelo do uvođenja ove terapije u sve preporuke svetskih onkoloških udruženja (50).

Najveće nedoumice i problemi postoje u tretmenju stadijuma III NSCLC. Radi se o jako heterogenim stadijumu bolesti, gde spadaju pacijenti sa velikim tumorima ali bez zahvatanja medijastinalnih limfnih čvorova koji su potencijalno resektabilni, kao i pacijenti kod kojih postoji značajno zahvatanje tih čvorova (N2 ili N3) i kod kojih kurabilni tretman nije moguć. Posebnu grupu čine pacijenti kod kojih je tek nakon operativnog lečenja dokazano zahvatanje medijastinuma, takozvani „slučajni, incidentalni“ N2 stadijum, čak i nakon adekvatnog preoperativnog stažiranja. Bez obzira na sve ovo, ovo je grupa pacijenata koju je neophodno dobro proceniti u okviru multidisciplinarnog tima, i u najvećem broju slučajeva lečenje je

multimodalno, odnosno primenjuje se više od jednog terapijskog modaliteta. Kada hirurgija kao kurativni tretman nije moguća, terapijski standard predstavlja konkurentna hemioradioterapija, tokom koje se primenjuje hemioterapijski dublet baziran na platini (cisplatin ukoliko nema kontraindikacija) i zračna terapija sa 60-66Gy u 30 do 33 frakcije. I pored toga do skoro su rezultati lečenja ove grupe pacijenata bili nezadovoljavajući, sa petogodišnjim preživljavanjem oko 15% (8,10). Najveći napredak u ovoj grupi pacijenata donela je 2017.godine PACIFIC studija. U ovoj studiji su pacijenti stadijuma III kod kojih je primenjena definitivna konkurentna HT-RT, po kompletiranju iste tretirani Durvalumabom (anti PD-L1 antitelo) u dozi 10mg/kg na dve nedelje u trajanju od godinu dana i poredjeni sa grupom pacijenata koji su po kompletiranju HT-RT samo praćene. Rezultati stuije su pokazali statistički i klinički značajno produženje vremena do progresije bolesti (*progression-free survival, PFS*), sa medijanom od 16.8 meseci u grupi koja je primala durvalumab prema 5.6 meseci u grupi placebo, i statistički i klinički značajno produžanje ukupnog preživljavanja, čija medijana nije dostignuta u grupi sa durvalumabom, a iznosila je 28.7 meseci u placebo grupi. Ovo je sada terapija izbora u lečenju ove grupe pacijenata (51,52).

### 1.9.2 Terapija odmakle/metastatske bolesti

U fazi odmakle bolesti primena sistemske terapije je u palijativne svrhe i na žalost ne može dovesti do izlečenja. Do pre desetak godina prognoza ovih pacijenata je bila jako loša, sa petogodišnjim preživljavanjem manjim od 5%. Poslednjih godina, primena ciljane i imunološke terapije je dovela do revolucije u lečenju ove grupe pacijenata. Generalno, terapijski pristup zavisi od histološkog podtipa tumora, molekularnog statusa, opšteg stanja pacijenta, komorbiditeta i naravno želja pacijenta (9). U dijagnostičkom algoritmu za NSCLC, a naročito adenokarcinom, molekularna testiranja su standard i moraju se sprovesti kod svakog pacijenta, najmanje EGFR, ALK, ROS1, PD-L1. Osnovni princip je da svi pacijenti čiji tumor ispoljava jednu od aktivirajućih mutacija za koju postoji ciljana terapija, mora tom terapijom biti lečen najbolje u prvoj liniji, jer je tada aktivnost najveća, ali ako iz nekog razloga ciljana terapija nije mogla biti primenjena u prvoj, mora biti primenjena u nekom trenutku tokom lečenja svakog takvog pacijenta (8).

Kod pacijenata čiji tumori pokazuju aktivirajuću mutaciju EGFR gena, terapija izbora u prvoj liniji je EGFR tirozin-kinazni inhibitor (TKI) prve, druge ili treće generacije (gefitinib, erlotinib, afatinib, dakomitinib, osimertinib). Ovi lekovi su u svim studijama faze III pokazali superiorni PFS, stopu odgovora (RR) i imaju bolji profil toksičnosti u odnosu na hemioterapiju. Primenom ovih lekova se produžava ukupno preživljavanje pacijenata i preko 24 meseca. Ono što je značajno naglasiti jeste da se ovi lekovi mogu primeniti i kod pacijenata lošijeg opšteg stanja, PS 3 pa i 4, obzirom na dobro podnošenje i drugačiji profil toksičnosti, a i kod pacijenata sa CNS metastazama, u određenim slučajevima i pre lokalnog tretmana (20,53-56) I pored ovako značajne aktivnosti EGFR TKI dolazi do progresije bolesti koja je posledica rezistencije na lek. Najčešći mehanizam razvoja rezistencije jeste razvoj sekundarne T790M mutacije, u oko 50-60% lečenih. U takvim slučajevima indikovana je primena osimertiniba, TKI treće generacije, koji je pokazao superiornu aktivnost u drugoj liniji naspram hemioterapije (57). Drugi mehanizmi rezistencije su ređi ali uglavnom ne postoji ciljana terapija koja deluje na njih, te je u tim situacijama indikovana primena hemioterapije. Poslednjih par godina se mnogo istražuje na temu primene imunoterapije u ovoj grupi pacijenata, ali trenutni stavovi su da je imunoterapija indikovana kada su iscrpljene druge mogućnosti lečenja (9).

Druga grupa pacijenata kod koje je viđen značajan benefit od primene ciljane terapije su pacijenti čiji tumori pokazuju EML-ALK translokaciju. U kavkaskoj populaciji ovih pacijenata je do 5% u grupi adenokarcinoma, ali i pored malog procenta, ALK testiranje je deo dijagnostičkog

algoritma za sve adenokarcinome. Slično kao kod pacijenata sa EGFR mutacijom, ALK tirozin-kinazni inhibitori su terapija izbora za prvu liniju terapije ovih pacijenata. Oni su pokazali bolji RR, PFS i drugačiji profil toksičnosti u studijama faze II i III u poređenju sa hemioterapijom, i takođe se mogu primenjivati kod pacijenata sa ECOG PS 3, pa čak i 4 (58,59). I u ovim situacijama dolazi do razvoja rezistencije putem različitih molekularnih mehanizama. Noviji ALK TKI treće generacije pokazuju aktivnost kod nekih od ovih sekundarnih mutacija (60–63).

Od značaja je i mala grupa pacijenata sa ROS1 mutacijom, kao i BRAF V600E mutacijom, kod kojih je takođe indikovana ciljana terapija u prvoj liniji lečenja. Kada postoji ROS1 mutacija terapija izbora je ALK TKI crizotinib koji ima i jaku ROS1 aktivnost (64), kao i ceritinib, a u toku su studije primene ALK TKI nove generacije. Pacijenti čiji tumori ispoljavaju BRAF V600E mutaciju treba da budu lečeni kombinacijom dabrametinib-trametinib (65).

Poslednjih par godina identifikovano je još nekoliko ređih genskih alteracija koje se smatraju značajnim za razvoj adenokarcinoma, kao što su HER2 amplifikacija, MET exon 14 mutacija, RET amplifikacija. U toku su kliničke studije ciljane terapije čiji bi rezultati trebalo da postave novi terapijski standard u ovim podgrupama adenokarcinoma pluća (9).

Karcinom pluća je do skoro smatran ne-imunogenim tumorom kod koga ranija primena imunološke terapije (vakcine, modulatori citokina) nije dovela do značajnih rezultata. Primena takozvanih inhibitora kontrolne tačke (eng. *Immune check-point inhibitors, ICI*) međutim, je u potpunosti promenila principe lečenja karcinoma pluća. Pored gore navadenih molekularnih testiranja, sada u dijagnostički algoritam ulazi i PD-L1 testiranje. Kod pacijenata čiji tumori pokazuju PD-L1 pozitivnost veću od 50% terapija izbora u prvoj liniji jeste pembrolizumab, koji je u velikoj randomizovanoj studiji faze III Keynote-024 pokazao značajno bolju efikasnost u odnosu na hemioterapiju, i medijanu ukupnog preživljavanja od 30 meseci (66), a u rezultatima petogodišnjeg praćenja studije Keynote-001, ono je iznosilo 23.2% što je do sada retko viđen rezultat u metastatskom NSCLC (67). Rezultati velikih studija u kojima je standardna hemioterapija kombinovana sa ICI u prvoj liniji terapije kod NSCLC bez obzira na PD-L1 status, Keynote-189 (68), Impower150 (69) i Impower132 (70) kod neskavmoznih karcinoma, odnosno Impower131 (71) i Keynote-407 (72) kod skvamoznih, postavili su novi terapijski standard. Danas se smatra da svaki pacijent čiji tumor ne eksprimira neku od aktivirajućih mutacija treba da u prvoj liniji lečenja primi imunoterapiju pembrolizumabom ili kombinaciju ICI i hemioterapije (9).

Ranija okosnica lečenja ove bolesti, citotoksična hemioterapija, sada ima mnogo manju ulogu, naročito u prvoj liniji. Međutim, i dalje postoje bolesnici kod kojih postoje kontraindikacije za primenu imunoterapije i kod njih se i dalje primenjuje hemioterapija. Takođe, u mnogim delovima sveta imunoterapija još uvek nije odobrena od strane regulatornih i osiguravajućih agencija, te je primena hemioterapije i dalje osnova. Hemioterapija ima svoje mesto i u drugoj liniji lečenja nakon imunoterapije, kao i kod pacijenata sa aktivirajućim mutacijama nakon što se iscrpe sve mogućnosti ciljane terapije. Naravno, važna je i uloga hemioterapije u kombinaciji sa imunoterapijom u prvoj liniji. U nastavku će biti više reči o osnovnim principima primene citotoksične hemioterapije, mehanizmima dejstva i toksičnostima, sa posebnim osvrtom na primenu hemioterapije u nesitnoćelijskom karcinomu pluća, što je tema ove disertacije.

## **1.10. Osnovni principi citotoksične hemioterapije (HT)**

Po definiciji, hemioterapija predstavlja primenu hemijskih supstanci za terapiju određenog oboljenja. U onkologiji, hemioterapija je primena jedne ili više supstanci koje sprečavaju rast tumora, tako što ubijaju tumorske ćelije (citotoksični agensi) ili sprečavaju njihovu deobu (citostatski agensi) (73,74). Ovaj izraz potiče još od dr Paula Erliha (*Paul Ehrlich*)

koji je početkom dvadesetog veka tokom svojih istraživanja lečenja sifilisa, prvi put upotrebio naziv hemioterapija (75). Prva primena u onkologiji je opisana četrdesetih godina dvadesetog veka, kada je iperit (bojni otrov nitrogen mustard) bio primenjen u terapiji Hočkin limfoma, a na osnovu primećene činjenice tokom Prvog i Drugog svetskog rata da izlaganje ovom gasu dovodi do oštećenja koštane srži (76). Danas je hemioterapija jedan od osnovnih metoda sistemske terapije malignih bolesti. Postoji više vrsta citostatika koji imaju različiti mehanizam dejstva i neželjena dejstva, te se i koriste u različitim bolestima. Mogu se ordinirati intravenski, intraarterijski, peroralno, ili pod kožu u zavisnosti od vrste tumora i kliničke situacije. Koji će lek i na koji način biti primenjen zavisi od mnogih osobina tumora ali i samog pacijenta. Hemioterapija se daje u sledećim kliničkim situacijama tokom bolesti:

1. Adjuvantna HT: nakon lokalnih terapijskih metoda, najčešće hirurgije, kao preventivna, sa ciljem da se smanji rizik od lokalnog ili udaljenog širenja bolesti
2. Neoadjuvantna: kod lokalno odmaklog stadijuma bolesti, sama ili u kombinaciji, najčešće sa zračnom terapijom, sa ciljem da se bolest smanji i na taj način omogući neka vrsta radikalnog lokalnog tretmana
3. Sistemska ili palijativna: u metastatskoj bolesti, kada se bolest ne može izlečiti nekom od lokalnih metoda. Njen cilj je kontrola bolesti, ne izlečenje (osim u pojedinim hematološkim malignitetima), odnosno produženje života bolesnika uz očuvanje kvaliteta života.

Danas se u lečenju malignih bolesti retko primenjuje samo jedan lek, jer se smatra da jedan lek u dozi koja je efikasna a ne izaziva neprihvatljive toksičnosti, ne može dovesti do značajnog benefita ili izlečenja. Ovaj pristup se primenjuje ponekad u kasnijim linijama lečenja kada su druge terapijske mogućnosti iscrpljene a stanje pacijenta dozvoljava nastavak lečenja i ima u potpunosti palijativni cilj. U većini slučajeva koristi se kombinacija dva ili više citotoksična leka. Ciljevi kombinovanja citotoksičnih lekova su postići maksimalni citostatski efekat uz prihvatljivu toksičnost svakog pojedinačnog leka i sprečiti razvoja rezistencije na terapiju. Ovi ciljevi se ispunjavaju kombinovanjem lekova koji imaju različiti mehanizam citotoksičnosti dejstva i različiti profil toksičnosti. S tim u vezi su i neka osnovna pravila za kombinovanje citostatika:

- U kombinaciji se mogu koristiti samo oni lekovi koji i samostalno imaju dejstvo protiv tog tumora
- Ako postoji više lekova unutar jedne klase koji bi se mogli primeniti, uvek treba primeniti onaj čiji se toksični efekti ne preklapaju sa efektima ostalih lekova u kombinaciji. Na taj način se zaista povećava broj različitih nuzefekata, ali se i smanjuje verovatnoća letalne toksičnosti na jedan organski sistem
- Izabrane lekove treba primenjivati u njihovim optimalnim dozama
- Intervali davanja ciklusa hemioterapije moraju takođe biti optimalni, odnosno takvi da je efikasnost očuvana, a omogućeno je dovoljno vreme da se oporavi najosetljiviji organski sistem (najčešće koštana srž).
- Neophodno je poznavati interakcije između lekova čije se kombinovanje razmatra (77)

Ono što je možda još uvek nedovoljno definisano jeste dužina primene hemioterapije. U adjuvantnom pristupu, u ovom trenutku se smatra da je 6 meseci primene optimalno, mada se poslednjih par godina pojavljuju podaci da je u određenim grupama obolelih od karcinoma kolona na primer, i 3 meseci adjuvantne hemioterapije dovoljno (78,79). U metastatskoj bolesti, jasno je da je razvoj progresije bolesti jedan od razloga za prekid primene HT, ali trajanje sistemske HT bez znakova progresije bolesti je takođe polje koje nije jasno definisano. U skladu sa principom adjuvantne HT, i ovde se smatra da je 6 meseci, naročito u primarnom pristupu, minimalni vremenski period primene hemioterapije koji dovodi do značajne koristi. Nema podataka da će primena HT neograničeno, odnosno do progresije bolesti dovesti do boljeg

efekta, a poznato je da, što je trajanje HT duže, veća je mogućnost razvoja toksičnosti. U nekim slučajevima primenjuje se i stani-kreni princip, odnosno naizmenično primena HT i pauze određene dužine (77).

Nekoliko je glavnih klasa citostatskih agenasa obzirom na njihov mehanizam delovanja (80,81)

1. Agensi koji deluju na strukturu DNK:

- Alkilirajući agensi, koji deluju stvarajući kovalentne veze sa nukleinskim kiselinama DNK i na taj način ometaju njenu funkciju. Najčešće korišćeni lekove iz ove grupe su ciklofosamid, derivati nitrozureje, ifosfamid, melfalan
- Antimetaboliti, koji deluju na nivou sinteze DNK na nekoliko različitih načina, ali svi onemogućavaju normalnu sintezu DNK u tumorskoj ćeliji. U ovu grupu lekova spadaju neki od najčešće korišćenih citostatika kao što su metotreksat, pemetreksed (antifolati), 5-fluorouracil, gemcitabin, fludarabin, citarabin, hidroksiurea
- Inhibitori topoizomerase I i II: deluju tako što blokiraju dejstvo enzima neophodnih za formiranje tercijarne structure molekula DNK. Najčešće korišćeni lekovi iz ove grupe su irinotecan i topotecan kao inhibitori topoizomerase I i etopozid koji je inhibitor topoizomerase II.
- Interkalirajući agensi: njihov mehanizam dejstva je sličan alkilirajućim agensima, ali se oni vezuju između molekula baznih parova, odnosno vezuju adenin za timin i citozin za guanin. Ovo takođe onemogućava replikaciju DNK. Najpoznatiji predstavnici ove grupe su platinski derivati cisplatin, karboplatin i oksaliplatin

2. Agensi koji deluju na mitozu, odnosno inhibitori mikrotubula: sprečavaju normalno formiranje deobnog vretena. Dve su glavne grupe ovih lekova:

- prva grupa koji deluju direktno toksično na deobno vreteno depolimerizujući mikrotubule, kao što su vinka alkaloidi (vinblastine, vinorelbine, vindezin)
- agensi koji dovode do polimerizacije tubulina. Predstavnici ove grupe su taksani

3. Inhibitori prenosa signala

4. Agensi koji indukuju apoptozu

5. Agensi koji deluju na vaskularne strukture tumora

- Antiangiogenesni lekovi
- Lekovi koji remete postojeću vaskularnu strukturu tumora

6. Antitumorski antibiotici: doksorubicin, epirubicin, amrubicin

### 1.10.1. Hemioterapija NSCLC

Do početka dvadesetprvog veka, hemioterapija je bila osnov lečenja odmaklog nesitnoćelijskog karcinoma pluća. Sa otkrićem aktivirajućih mutacija, najpre EGFR gena, zatim ALK translokacija i drugih ređih mutacija, a zatim i sa rezultatima koje je pokazala imunoterapija, hemioterapija je polako pomerena u drugi plan, naročito u prvoj liniji terapije. Međutim, i dalje postoje pacijenti i kliničke situacije kada jeste indikovana, te se ne može u potpunosti zaboraviti. Najpre su to pacijenti čiji tumori ne ekspimiraju neku od mutacija koje se mogu ciljati a kod kojih postoje kontraindikacije za primenu imunoterapije, kao i druga i kasnije linije lečenja i kada je u prvoj linij primenjena imunoterapija. I na kraju, hemioterapija je zadržala svoje mesto u prvoj liniji terapije u kombinaciji sa imunoterapijom.

Hemioterapija se primenjuje u lečenju karcinoma pluća još od četrdesetih godina dvadesetog veka uz različitu efikasnost. Definitivni dokaz o značaju hemioterapije kod ovih pacijenata dala je velika britansko-francuska meta analiza 52 randomizovane studije koje su



poredile hemioterapiju i suportivnu terapiju (*Best Supportive Care*, BSC), objavljena 1995. godine. Analizirani su individualni podaci 9387 pacijenata i pokazana je redukcija rizika od smrti za 23% primenom hemioterapije zasnovane na platini, produžetak jednogodišnjeg preživljavanja za 9% i apsolutno produženje medijane ukupnog preživljavanja za 6 nedelja bez obzira na godine pacijenta, pol, histologiju i PS (82). Ista grupa je ponovila analizu 2005.godine sa novijim studijama i dobila praktično iste rezultate (83). Ovi rezultati se odnose na kombinovanu hemioterapiju koja sadrži platinski derivate, jer su ne-platinske kombinacije pokazale inferiorne rezultate, što je i potvrđeno u meta analizi 2006.godine (redukcija rizika od smrti za 22% nakon godinu dana) (84). Sa pojavom citostatika treće generacije (taksani, vinorelbine, gemcitabine), njihova kombinacija sa platinskim derivatima je postala terapijski standard, na osnovu rezultata studija objavljenih oko 2000.godine, koje su pokazale prednost kombinacija sa ovim lekovima u pogledu efikasnosti, profila toksičnosti i kvaliteta života. Koji će od ovih režima biti primenjen je individualna odluka za svakog pacijenta uzimajući u obzir razlike u toksičnostima, obzirom da je velika studija ECOG1594 iz 2002.godine pokazala da praktično nema razlike u vremenu do progresije i ukupnog preživljavanja (85). Iz svega navedenog jasno je da je platinski derivat osnov hemioterapije NSCLC, a meta analiza Ardiconija (*Andrea Ardizoni*) i saradnika pokazala je veću stopu odgovora (30% prema 24%) u korist cisplatinских u odnosu na karboplatinske režime, dok postoji trend u korist cisplatinских režima i u pogledu ukupnog preživljavanja koji nije bio statistički značajan (HR 1.11). Kako postoje značajne razlike u pogledu toksičnosti ova dva leka, sadašnje preporuke kažu da treba primeniti hemioterapijski dublet sa cisplatinom ukoliko ne postoje kontraindikacija za primenu ovog leka (86). Prva studija koja je napravila iskorak ka personalizaciji sistemske terapije jeste čuvena studija Skaljotija (*Giorgio Scagliotti*) i saradnika, koja je pokazala benefit primene kombinacije pemetrekseda i cisplatine naspram standardnog režima gemcitabin/cisplatin u pogledu ukupnog preživljavanja samo u grupi ne-skvamocelularnih karcinoma (87). Dodavanje antiangiogenoznog agensa bevacizumaba cisplatinском dubletu u prvoj liniji terapije je dovelo do poboljšanja ORR, PFS i OS kod pacijenata sa neskvamoznim NSCLC, te se i on može uvrstiti u terapijski algoritam uz kombinaciju paklitaksel/karboplatin, ukoliko nema kontraindikacija za njegovu primenu (88).

Optimalno trajanje terapije je takođe ispitano u randomizovanim studijama i u meta analizi 2014.godine i pokazano je da nema koristi u ukupnom preživljavanju primenom 6 naspram 4 ciklusa iako postoji nešto veći PFS ali uz veću i toksičnost (89).

Na osnovu svih navedenih rezultata današnje preporuke svih svetskih onkoloških udruženja su da je HT izbora platinski dublet treće generacije, koji sadrži pemetreksed u grupi ne-skvamocelularnih karcinoma, i to optimalno 4, a ne više od 6 ciklusa, pri čemu treba primeniti cisplatin pre nego karboplatin, ukoliko nema kontraindikacija za primenu cisplatine (8,9).

### **1.10.2. Procena efikasnosti terapije**

Tokom primene bilo koje vrste sistemske terapije neophodno je u određenim vremenskim intervalima vršiti procenu njenog efekta, kako pacijente ne bismo izlagali potencijalnim neželjenim efektima terapije, a bez efekta na sam tumor. Svetska Zdravstvena Organizacija je još 1981.godine donela prve kriterijume za procenu efikasnosti terapije koji su se zasnivali na sabiranju dve dimenzije svih tumorskih promena i upoređivanju sa inicijalnom sumom dobijenom na isti način (90). Kasnije su ovi kriterijumi revidirani i precizirani. Danas se najčešće koriste RECIST kriterijumi (eng. *Response Evaluation Criteria in Solid Tumours*) i to njihova poslednja verzija 1.1 iz 2016.godine. Osnovni principi ovih kriterijuma su najpre inicijalno (pre početka lečenja) određivanje i definisanje merljivih i nemerljivih tumorskih

promena, lezija (eng. *target* i *non-target*), kojih može biti maksimalno 5, odnosno maksimalno 2 po organu, sabiranje njihovih najdužih dijametara (ili kraćih dijametara ukoliko se radi o limfnom čvoru), i zatim praćenje promena ove sume dijametara u tačno određenim vremenskim intervalima. Bitno je naglasiti da je potrebno da se svaki put procena efekta vrši korišćenjem iste dijagnostičke metode. Procena efekta terapije se procenjuje kao kompletna remisija (CR, eng. *complete response*), odnosno potpuni gubitak svih merljivih i nemerljivih lezija, parcijalna remisija (PR, eng. *partial response*) što predstavlja smanjenje sume dijametara za najmanje 30% u odnosu na inicijalnu vrednost, progresija bolesti (PD, eng. *progressive disease*) – najmanje 20% povećanja sume dijametara u odnosu na najmanju zabeleženu sumu dijametara (pri čemu ta promena mora biti makar 5mm), i stabilna bolest (SD, eng. *stable disease*) – promena u sumi dijametara koja ne ispunjava kriterijume ni za PR ni za PD (91–93). RECIST kriterijumi verzija 1.1 se koriste kako u svakodnevnoj kliničkoj praksi, tako i tokom sprovođenja kliničkih studija. Poslednjih godina doživeli su još par revizija, obzirom na različiti mehanizam dejstva novih terapija, naročito ciljane i imunološke terapije, što je van opsega ovog rada.

### 1.10.3. Toksičnost (neželjena dejstva) hemioterapije

Prema definiciji Svetske Zdravstvene Organizacije (WHO) neželjeno dejstvo je svaka neželjena reakcija na lek/medicinsko sredstvo primenjeno u uobičajnoj dozi i indikaciji (94). Učestalost neželjenih dejstava lekova je obično oko 0.1%, dok kod citostatika iznosi oko 90%, što jasno govori o njihovom velikom značaju (94). Pojava neželjenih dejstava citotoksičnih agenasa na normalne ćelije i tkiva je, uz razvoj rezistencije ćelija tumora, jedan od glavnih razloga nedovoljne efikasnosti hemioterapije. Uopšteno govoreći, razlozi za pojavu neželjenih efekata bilo kog leka su višestruki i potiču kako od bolesnika (starost, pol, ECOG PS, alerije, komorbiditeti...), tako i od samog leka. Za razumevanje pojave specifičnih neželjenih efekata citostatika, bitno je imati u vidu kinetiku ćelija, kako tumorskih tako i normalnih, specifične mehanizme dejstva citostatika i njihovu neselektivnost.

Kinetika maligne i normalne ćelije je u osnovi ista. Svaka ćelija prolazi kroz fazu deobe, mitoze (M), zatim G1, S i G2 faze u kojima se dešava niz biohemijskih reakcija koje pripremaju ćeliju za deobu i G0 faza, ili faza mirovanja. Velika većina citotoksičnih lekova deluje na ćeliju u fazi deobe. Što je veći broj ćelija koje se dele, veći će broj ćelija biti i oštećen. U nekim tkivima se ćelije dele brzo, odnosno ćelijski ciklus je kratak, i ta tkiva su najosetljivija na dejstvo citostatika. Dužina ćelijskog ciklusa zavisi od dužine trajanja G1 faze, dok su S, G2 i M faza konstantne u svim tkivima, te u stvari trajanje G1 faze određuje trajanje ćelijskog ciklusa, brzinu deobe i samim tim osetljivost na dejstvo citostatika. Postoje međutim neka tkiva u čijim ćelijama je G1 faza konstantna (srce, mišići, nervi), te toksičnost citostatika na ova tkiva nastaje drugim mehanizmom. Na osnovu svega navedenog, jasno je da se najveća toksičnost citostatika ispoljava na tkivima čije se ćelije brzo dele kao što su hematopoezni sistem, sluzokoža digestivnog trakta, folikul dlake, germinativni epitel. Prema vremenu nastanka neželjeni efekti mogu biti akutni ili neposredni, koji se javljaju par sati do par dana od primene leka, rani, par dana do par nedelja, odloženi (par nedelja do par meseci) ili kasni koji se mogu javiti i nekoliko godina po primeni leka.

Druga značajna podela je prema sistema organa koji je oštećen:

- Hematološki: leukopenija, neutropenija, anemija, trombocitopenija, krvarenja
- Gastrointestinalni: mučnina, povraćanje, stomatitis, dijareja, porast bilirubina, porast transaminasa
- Renalni: porast azotnih materija, proteinurija, hematurija
- Neurološki: senzorna neuropatija, poremećaji stanja svesti

- Kožni
- Kardiološki: akutni koronarni sindrom (infarkt miokarda), aritmije, pad ejeckione frakcije
- Respiratorni
- Alergijske reakcije
- Opadanje kose
- Ostali

Jako je značajno odrediti stepen oštećenja, odnosno gradirati sam neželjeni efekat. Američki Nacionalni Institut za Rak (*The National Cancer Institute, NCI*) izdaje vodiče sa standardizovanim definicijama neželjenih reakcija koje se javljaju kod pacijenata obolelih od malignih bolesti i njihovom težinom, odnosno gradusom. Ovi vodiči, koji se nazivaju *Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE)*, definišu neželjenu reakciju, odnosno dejsvo, kao bilo koji neočekivan simptom ili znak koji se javi kod osobe koja prima antineoplastičnu terapiju, pri čemu se uzročno-posledična veza između leka i reakcije ne mora dokazati. Oni su u širokoj upotrebi u svakodnevnoj onkološkoj praksi kao i kliničkim studijama. Prema CTCAE neželjeni efekti se gradiraju u 5 stepena, odnosno gradusa (95):

Gradus 1 – blagi

Gradus 2 – srednje težak

Gradus 3 – težak

Gradus 4 – opasan po život, i

Gradus 5 – smrt izazvana neželjenim dejstvom leka

U odnosu na tip neželjenog dejstva i ispoljenog gradusa se donosi odluka o eventualnoj terapiji kao i daljoj primeni leka koji je to neželjeno dejstvo ispoljio. Pojedine preporuke su iste bez obzira na vrstu toksičnosti: kada je neželjeno dejstvo gradusa 1, uglavnom nema potrebe za njegovim lečenjem i hemioterapeutik se može ponovo ordinirati u istoj dozi i adekvatnom intervalu. Sa druge strane, neželjena dejstva gradusa 3 i 4 uvek zahtevaju intenzivno lečenje, pojava toksičnosti gradusa 3 gotovo uvek, a gradusa 4 uvek onemogućava ponovnu primenu citostatika koji ga je izazvao. Terapija toksičnosti gradusa 2 i ponovna primena citostatika se mogu donekle razlikovati u zavisnosti od vrste toksičnosti.

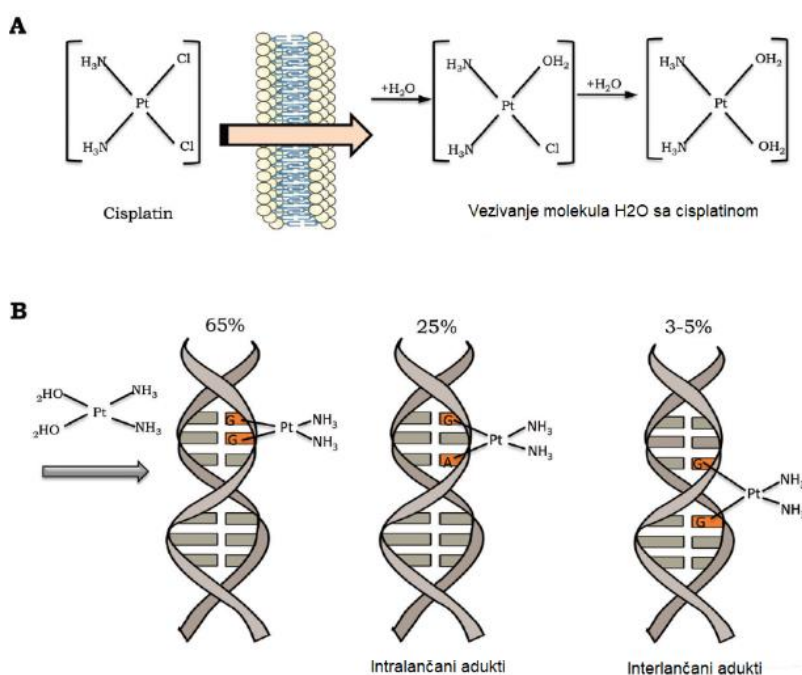
#### **1.10.4. Platinski derivati u lečenju malignih bolesti**

Platinski derivati spadaju u najznačajnije i najšire korišćene citotoksične agense u onkologiji, naročito u terapiji solidnih tumora. Njihov citotoksični efekat na ćeliju je otkriven 1961. godine, slučajno, tokom istraživanja dr Barneta Rozenberga (*Barnett Rosenberg*) koji je ispitivao uticaj elektromagnetnih talasa na rast bakterije *Escherichia coli*, i primetio da, kada se ove bakterije izlože dejstvu platinskih elektroda dolazi do značajnih morfoloških promena na ispitivanim bakterijama i inhibicije njihovog rasta. Kasnije je identifikovana supstanca koja dovodi do ovog efekta kao cis-dihlordiaminplatina (II) ili cisplatin (96,97).

Kasnija istraživanja su otkrila značajnu antitumorsku aktivnost cisplatine, ali i značajnu renalnu, neurološku i drugu toksičnost, te su sintetisani i drugi platinski derivati sa sličnom efikasnošću, ali drugačijim profilom toksičnosti. Trenutno su najšire u upotrebi pored cisplatine, karboplatin (cis-diaminciklobutandikarboksiplatina (II)) i oksaliplatin (1,2-diaminocikloheksanokalal platina (II)). Platinski derivati po svom mehanizmu dejstva spadaju u grupu interkalirajućih agenasa i utiču na strukturu DNK stvarajući DNK adukte putem kovalentnih veza što remeti sekundarnu strukturu DNK (98).

### 1.10.5. Mehanizam dejstva cisplatine

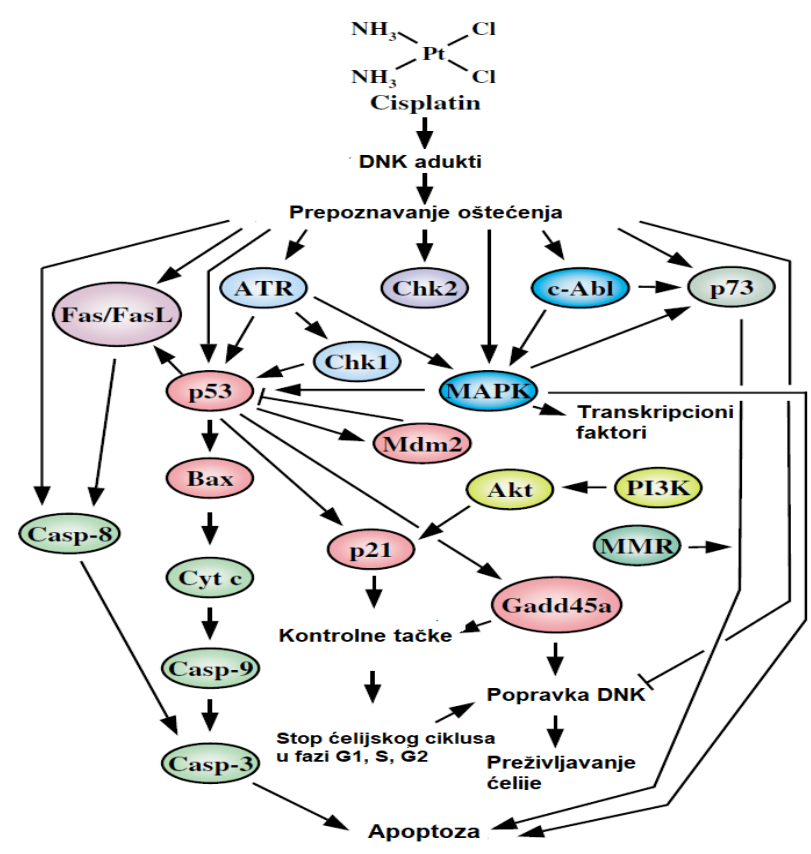
Cisplatin je neutralni neogranski metalokompleks, mali molekul sastavljen od jednog atoma platine za koji su povezane dve amonijum grupe i dva atoma hlora. Na sobnoj temperaturi je u vidu belog ili žutog kristalnog praška, koji je malo rastvorljiv u vodi i stabilan pod normalnom temperaturom i pritiskom. Najjednostavnije rečeno, cisplatin u ćeliji reaguje sa DNK (nuklearna DNK, nDNK) oštećujući njenu strukturu, a to dovodi ili do popravke oštećene DNK i preživljavanja ćelije ili, ukoliko se to oštećenje ne može popraviti, do aktivacije procesa apoptoze (99). Međutim, mehanizam dejstva cisplatine je mnogo kompleksniji od ovoga. Cisplatina je stabilna u sredinama gde je koncentracija hlorida visoka, kao što je u krvotoku (oko 100mmol/l). U citoplazmi ćelije koncentracija hlorida je značajno manja, 4-20 mmol/l, i tu hloridni joni cisplatine bivaju zamenjeni sa jednim ili dva molekula vode, čime nastaje jako reaktivan produkt hidrolize, potentni elektrofil, koji može da reaguje sa bilo kojim nukleofilom, uključujući sulfhidrilne grupe proteina i atome azota u nukleinskim kiselinama. Ovo formiranje kovalentnih veza cisplatine sa metama na proteinima i nukleinskim kiselinama je osnova svih različitih efekata koje cisplatin izaziva u ćeliji. Cisplatin ima najveći afinitet za azot na poziciji 7 purinskih baza (N7) za koje se kovalentno vezuje, a zatim se stvaraju veze između dve purinske baze putem jednog molekula cisplatine. Na taj način se stvaraju DNK adukti (97,99,100). Ako su povezane purinske baze na istom lancu DNK, radi se o intralančanim aduktima, a ako su na različitim lancima DNK, adukti su interlančani (Slika 1, (100)).



**Slika 1.** Vezivanje cisplatine za molekul DNK i formiranje DNK adukata, adaptirano iz Rocha et al, 2018 (100)

Ostvarivanje veze cisplatine i guanozina je verovatnije od veze sa adenozinom, a razlog je veća stabilnost takvog kompleksa zbog formiranja vodonične veze. Posledica vezivanja cisplatine je distorzija DNK lanaca tj. narušavanje sekundarne strukture DNK, što dovodi do blokade transkripcije i replikacije DNK (najverovatnije putem inhibicije DNK polimeraza). Sve ovo dovodi do zaustavljanja ćelijskog ciklusa kako bi ćelija imala dovoljno vremena da,

aktivacijom kompleksne kaskade signalnih puteva, odnosno sistema popravke DNK, popravi nastalo oštećenje. Ukoliko su i sistemi popravke DNK na neki način oštećeni ili ne funkcionišu u dovoljnoj meri, ili je pak oštećenje preveliko, aktivira se kaskada programirane ćelijske smrti, odnosno apoptoze (97,99). (Slika 2 (99)) Ovaj mehanizam dejstva putem vezivanja za nDNK je odgovoran za veliko citotoksično dejstvo cisplatine na ćelije koje se ubrzano dele.



Slika 2. Intraćelijski efekti cisplatine, adaptirano iz Siddik et al, 2003 (99)

Zinc-finger proteini koji deluju kao regulatori ekspresije određenih gena takođe su meta cisplatine. Najbolje je objašnjeno dejstvo na jedan od njih koji predstavlja mesto vezivanja DNK-polimeraze A za DNK. Cisplatin se vezuje za Zn<sup>2+</sup> jon u ovom molekulu što onemogućava adekvatno vezivanje i dejstvo DNK-polimeraze A, a ona predstavlja jedan od najznačajnijih enzima u DNK replikaciji (101).

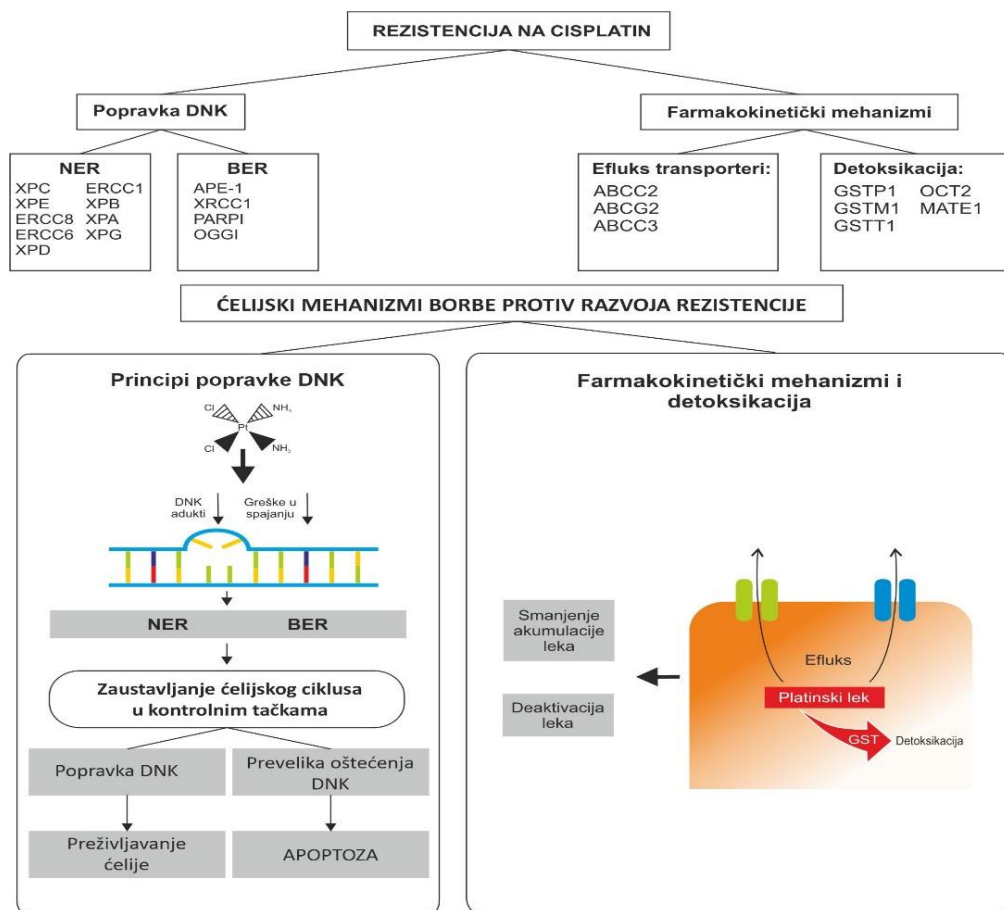
Pored ovog dejstva na nuklearnu DNK, cisplatin deluje na ćeliju i na mnoge druge načine nevezane za DNK, od kojih su neki odgovorni za razvoj specifične toksičnosti cisplatine. RNK je jedna od tih drugih „meta“. Pokazano je da se čak i do dvadeset puta više platine veže za RNK, nego za DNK i to tako što se tri molekula aktivirane cisplatine veže za heliks 18 18S ribozomalne RNK (rRNK) stvarajući interlančane adukte (101). Značajan je mehanizam delovanja cisplatine i putem povećanja oksidativnog stresa ćelije, odnosno povećanja slobodnih kiseoničnih radikala (eng. *Reactive oxygen species, ROS*). ROS oštećuju ćelijske proteine, lipide i DNK što dovodi do moguće karcinogeneze ili aktivacije nekog od mnogih puteva apoptoze. Pri normalnim fiziološkim uslovima ćelije održavaju stabilan nivo ROS njihovom eliminacijom putem tzv *scavenger* sistema, odnosno sistema eliminacije. Maligne ćelije su i inače pod višim nivoom oksidativnog stresa zbog onkogene stimulacije, oštećenja mitohondrija i povećanog

metabolizma. Cisplatin deluje na mitohondrije tako što se vezuje za mitohondrijalnu DNK (mtDNK) na isti način kao na nDNK stvarajući adukte, ali se ova oštećenja ne mogu popraviti sistemima popravke DNK, jer mitohondrije ne poseduju NER sistem. Ovo dovodi do poremećaja transkripcije mtDNK i smanjene sinteze mitohondrijalnih proteina, naročito onih koji su komponente sistema transporta elektrona preko mitohondrijalne membrane. Ovo posledično dovodi do poremećene respiracije i povećanja stvaranja ROS (102). Takođe, dejstvo cisplatine na mitohondrije dovodi do poremećaja homeostaze kalcijuma. Najverovatnije putem sniženja nivoa mitohondrijalnog glutaciona (GSH) i nikotinamid adenin dinukleotida (NADH) koji su značajni za održavanje električnog potencijala preko mitohondrijalne membrane, dolazi do povećanog izlaska kalcijuma iz mitohondrija u citosol, a ovaj poremećaj nivoa kalcijuma u citosolu može dovesti do njenog oštećenja. Primećeno je i da izlaganje ćelijske linije karcinoma ovarijuma SKOV3 cisplatinu dovodi do povećanja veza između mitohondrija i endoplazmatskog retikuluma (ER) što je dovelo do povećanja transporta kalcijuma iz ER u mitohondrije, a ovo do apoptoze ispitivanih ćelija. Pokazana su i toksična dejstva cisplatine na lizosome i ER u smislu njihove destrukcije, što opet dovodi do povećane koncentracije kalcijuma u citosolu. Smatra se da su ova dejstva na mitohondrije i homeostazu kalcijuma najodgovornija za toksična dejstva cisplatine, naročito na ćelije bubrega (97). Još jedna „meta“ cisplatine osim DNK je membranski protein NHE čiji je zadatak razmena natrijumovih i vodonikovih jona preko membrane. Kada se cisplatin veže za ovaj protein dolazi do pojave acidoze u ćeliji i aktivacije apoptoze putem *fas* signalnog puta. Vezivanje cisplatine za ovaj molekul se dešava nakon samo nekoliko minuta po izlaganju ćelija dok se vezivanje za nDNK dešava znatno kasnije, tako da je moguće da je ovo prvi način citotoksičnog dejstva cisplatine na maligne ćelije (101).

Efikasnost cisplatine kao i drugih citotoksičnih lekova je ograničena razvojem neželjenih efekata na zdrava tkiva i razvojem rezistencije tumorskih ćelija na njeno dejstvo.

#### **1.10.6. Razvoj rezistencije**

Većina pacijenata ima dobar inicijalni odgovor na cisplatin, koji je međutim ograničenog trajanja, odnosno razvoj relapsa ili progresije bolesti je neizbežna. Do ovoga dolazi usled razvoja rezistencije na cisplatin, koja može biti urođena (intrinzička) ili stečena. Rezistencija na hemioterapiju se definiše kao urođena ili stečena sposobnost malignih ćelija da izbegnu citotoksično dejstvo hemioterapeutika i to je jedan od glavnih uzroka interindividualnih razlika u efikasnosti terapije (103). Mnogi su načini na koje tumorska ćelija razvije rezistenciju na cisplatin, uglavnom kao posledica epigenetskih promena na molekularnom i ćelijskom nivou. Istraživanja na kulturama tumorskih ćelija kao najčešće od ovih mehanizama su izdvojila smanjenu akumulaciju platine u ćeliji, putem ili smanjenog ulaska u ćeliju (inluksa) ili pojačanog izbacivanja (efluksa) iz ćelije, pojačanu detoksifikaciju platinskih adukata pod dejstvom GSH glutaciona i drugih antioksidanata, inaktivaciju puteva apoptoze, kao i značajne promene na nivou reparacije DNK i to uglavnom pojačanjem funkcije NER i MMR sistema popravke DNK (Slika 3). Mnogi drugi mehanizmi sigurno igraju manje značajne uloge, i nije potpuno jasno koji od ovih mehanizama imaju najznačajniju ulogu u kojim ćelijama tumora (104,105).



Slika 3. Mehanizmi razvoja rezistencije na cisplatinu, adaptirano iz Afifah et al, 2020. (103)

## 1.11. Toksičnost cisplatine

Cisplatin ima specifičan i dobro poznat profil toksičnosti. Najčešća neželjena dejstva su gastrointestinalna, u vidu mučnine i povraćanja, oštećenje funkcije bubrega odnosno nefrotoksičnost, neurotoksičnost, mijelotoksičnost, ototoksičnost, hepatotoksičnost i retko kardiotoksičnost.

### 1.11.1 Gastrointestinalna toksičnost

Najčešće se javljaju mučnina i povraćanje i to visokog gradusa. Hemioterapijom-izazvana mučnina i povraćanje (eng. *chemotherapy-induced nausea and vomiting*, CINV) je jedno od najčešće ispoljenih neželjenih dejstava hemioterapije uopšte. Može biti akutna koja se javlja unutar 24h od primene leka, odložena koja se javlja nakon 24h od primene leka i traje do 5-7 dana, ili anticipatorna koja se javlja i pre primene leka. Takođe se definiše i refraktorna CINV koja se javlja u uzastopnim ciklusima hemioterapije i pored primene savetovanih antiemetika, i proboj mučnine koji se javlja bilo kada nakon primene leka, kao akutno pogoršanje mučnine i pored adekvatne antiemetičke profilakse i zahteva interventnu terapiju. Mehanizam nastavka CINV je kompleksan i podrazumeva učešće kako centralnog, tako i perifernog nervnog sistema, a postoje i razlike u mehanizmu nastanka akutne i odložene CINV. Zbog toga je najčešće potrebna kombinacija antiemetika za prevenciju i terapiju CINV.

Cisplatin spada u grupu najemetogenijih citostatika izazivajući sve tipove CINV. Kada bi se cisplatin primenio bez antiemetičke profilakse, akutna CINV bi se javila u 90% pacijenata.



Pojavljuje se već unutar par sati od primene leka i obično traje 3-5 dana, kod nekih osoba i duže (106). Može se javiti i gubitak apetita i poremećaj ukusa, ređe dijareja i dehidracija. Prilikom primene cisplatine obavezna je adekvatna antiemetička profilaksa primenom kombinacije deksametazona, antagonista 5HT-3 receptora i antagonista NK1 receptora shodno preporukama (107).

### **1.11.2. Renalna toksičnost**

Glavna limitirajuća toksičnost cisplatine jeste renalna. Javlja se najčešće tokom druge nedelje nakon primene leka i uglavnom je asimptomatska, što upućuje na oprez i neophodnost praćenja bubrežne funkcije. Utvrđeni su neki faktori koji povećavaju verovatnoću pojave renalne toksičnosti kao što su veća doza leka, ženski pol, starije životno doba, hipoalbuminemija, pušenje. Najčešća i najozbiljnija manifestacija toksičnosti cisplatine je pojava akutne bubrežne insuficijencije sa porastom azotnih materija (ureje i kreatinina) u krvi, najčešće hipomagnezije, uz očuvanu diurezu i prisustvo glukoze i manje količine proteina u urinu. Moguća je i distalna tubularna acidoza, hipokalcemija, hiperurikemija. Oporavak bubrežne funkcije je obično nakon 2-4 nedelje mada su moguća i trajna oštećenja. Cisplatin se eliminiše putem urina glomerularnom filtracijom i tubularnom sekrecijom. U prvih 24h nakon infuzije se urinom izluči 30-50% primenjene količine cisplatine. Koncentracija cisplatine u korteksu bubrega je nekoliko puta veća od koncentracije u plazmi i drugim tkivima, što ukazuje na aktivni unos cisplatine u bubrežne ćelije u kojima se transformiše u još toksičniji metabolit. Dominantno je oštećenje proksimalnih tubula verovatno direktnim toksičnim efektom na ćelije. Može se javiti i vazokonstrikcija mikrovaskulature bubrega kao i inflamacija (97,108). Na subcelularnom nivou cisplatinom-izazvano oštećenje bubrega nastaje putem višestrukih mehanizama: povećanim transportom leka u renalne ćelije posebnim transporterima, oštećenjem nuklearne i dominantno mitohondrijske DNK (proksimalni tubuli bubrega su bogati mitohondrijama), oksidativnim stresom, aktivacijom multiplih signalnih puteva koje vode u apoptozu kao i značajnim inflamatornim procesom. Ovi mehanizmi bi mogli ukazati na mogućnost prevencije ove toksičnosti, ali i pored mnoštva studija i ispitivanih protektora, za sada nema supstance koja bi značajno smanjila renalnu toksičnost cisplatine. U svakodnevnoj praksi se, kao profilaksa ove toksičnosti, koristi pojačana hidracija i fosirana diureza na dan primene i dan nakon primene cisplatine. U budućnosti će verovatno kombinacija blokade više od jednog mehanizma nastanka renalne toksičnosti dovesti do najbolje prevencije, naravno uzimajući u obzir činjenicu da se mora održati citotoksična aktivnost na ćelije tumora (108).

### **1.11.3. Ototoksičnost**

Ototoksičnost je takođe limitirajuća toksičnost za primenu cisplatine. Oštećenje sluha pod dejstvom cisplatine je najčešće u rangu visokih frekvencija, obostrano je, trajno i značajno pogoršava kvalitet života pacijenata. Klinički se najpre javlja zujanje u ušima, moguć je i osećaj zapanjenosti uha i poremećaj ravnoteže, a zatim slabiji sluh. Deca i stariji od 70 godina su osetljivija. Mehanizam nastanka je višestruk, najčešće se okrivljuje pojačano stvaranje ROS (putem više različitih mehanizama na nivou mitohondrija ili enzimskih sistema) u ćelijama kohlee što može aktivirati apoptozu ili izazvati inflamaciju u ovim ćelijama, a opisano je i stvaranje nDNK adukata u ćelijama kohlee i auditornog centra u CNSu. Na osnovu ovih opisanih mehanizama ispituju se mnoge supstance koje bi mogle da deluju protektivno ili terapijski na oštećenje sluha izazvano cisplatinom. Za sada međutim, takve supstance nema, te je neophodna klinička procena pre primene samog leka kao i stalno praćenje pacijenta tokom lečenja (109).



#### **1.11.4. Neurotoksičnost**

Neurotoksičnost svih platinskih agenasa se ogleda u njihovom dejstvu na periferni nervni sistem uglavnom u vidu senzorne periferne neuropatije. Klinički pacijent se žali na osećaj trnjenja ili pečenja u šakama i stopalima, naročito pri izlaganju hladnoći, ponekad uz bol, zatim na slabost u potkolenicama i podlakticama i poremećen ukus. Smatra se da se javlja u oko polovine svih pacijenata tretiranih cisplatinom, najčešće kada doza cisplatine pređe 300mg/m<sup>2</sup> telesne površine. Po prestanku primene cisplatine ovi simptomi se postepeno smanjuju i mogu se u potpunosti povući, ali takođe mogu biti i trajni. Od mehanizama koji mogu biti odgovorni za ovo neželjeno dejstvo cisplatine, najčešće se okrivljuje oksidativni stres i izazivanje apoptoze ćelija perifernih neurona. Što se tiče prevencije i terapije, mnogi lekovi su ispitivani naročito u prevenciji, kao što su vitamin E, magnezijum, kalcijum, ali bez značajnog efekta. U terapiji se danas najčešće koriste antikonvulzivi gabapentin i pregabalin, naročito kada je neuropatija bolna, a mogu se primeniti i male doze morfina, uz ograničenu efikasnost. (110).

#### **1.11.5. Mijelotoksičnost**

Cisplatin spada u blago do umereno mijelosupresivne citostatike, sa pojavom hematološke toksičnosti kod oko 25-30% tretiranih pacijenata. Mijelosupresija je uglavnom blaga do umerene i reverzibilna, retko uz razvoj komplikacija. Leukopenija i trombocitopenija su dozno-zavisne i mogu biti visokog gradusa kod pacijenata koji primaju visoke doze ili su već primali mijelosupresivnu terapiju. Nadir sa javlja oko 2 nedelje po primeni leka i obično se vrednosti normalizuju nakon 3-4 nedelje. Anemija se takođe može javiti, u manje od 10% pacijenata, nije dozno-zavisna i često izazvana hemolizom. Mehanizam nastanka mijelotoksičnosti cisplatine je isti onaj koji izaziva citotoksičnost maligne ćelije, obzirom da se radi o tkivu koje se brzo deli, znači dominantno stvaranje adukata sa nDNK i poremećajem replikacije (111).

#### **1.11.6. Hepatotoksičnost**

Visoke doze cisplatine mogu izazvati hepatotoksičnost koja se manifestuje najčešće u vidu porasta transaminaza. Javlja se kod manje od 10% tretiranih pacijenata. Patofiziološki radi se o oštećenju hepatocita putem oksidativnog stresa ili sniženjem nivoa glutaciona. Patohistološki dolazi do nekroze hepatocita, infiltracije portnih prostora inflamatornim ćelijama i sinusoidalnom dilatacijom. Klinički, hepatotoksičnost je najčešće asimptomatska, a ako se radi o težem oštećenju, može se javiti malaksalost. Nema dokazane susptance koja bi delovala protektivno. Terapija se zasniva na prekidu primene cisplatine kod toksičnosti visokog gradusa, a u manjim gradusima je moguće odlaganje planirane doze (97).

U Tabeli broj 6 prikazani se gradusi toksičnosti koja je praćena u ovoj disertaciji prema CTCAE v.4.0 (95).

**Tabela 6.** Gradusi toksičnosti HT.

Neželjeno dejstvo	Gradus				
	1	2	3	4	5
<b>Leukopenija</b>	3.0x10 <sup>9</sup> /L- DGRV	2.0 - 3.0 x 10 <sup>9</sup> /l	1.0 - 2.0 x 10 <sup>9</sup> /l	< 1.0 x 10 <sup>9</sup> /l	/
<b>Neutropenija</b>	1.5 x 10 <sup>9</sup> /l - DGRV	1.0 - 1.5 x 10 <sup>9</sup> /l	0.5 - 0.9 x 10 <sup>9</sup> /l	< 0.5 x 10 <sup>9</sup> /l	
<b>Trombocitopenija</b>	75 x 10 <sup>9</sup> /l -DGRV	50 - 75 x 10 <sup>9</sup> /l	25 - 50 x 10 <sup>9</sup> /l	< 25 x 10 <sup>9</sup> /l	
<b>Anemija</b>	100 g/l -DGRV	80 - 100 g/l	49 - 79 g/l	< 49 g/l	
<b>Mučnina</b>	Gubitak apetita bez promena u uzimanju hrane	Smanjen unos hrane, bez značajnog gubitka u težini, dehidracija ili malnutricija, i.v.tečnosti tokom manje od 24h	Neadekvatan unos hran I tečnosti, i.v.tečnosti ili parenteralna ishrana indikovana tokom duže od 24h	Opasno po život	
<b>Povraćanje</b>	1 - 2 epizode u 24h	3 - 5 epizoda u 24h	≥6 epizoda u 24h, indikovana parenteralna ishrana	Životna ugroženost	<b>smrt</b>
<b>Dijareja</b>	< 4 stolice od normalnog broja, mali porast stolice na stomu	4 - 6 stolica više od normalnog broja, umeren porast sekrecije na stomu	> 7 stolica preko normalnog broja, inkontinencija, značajan porast sekrecije na stomu, indikovana hospitalizacija	Životna ugroženost, hitna terapija indikovana	<b>smrt</b>
<b>Porast kreatinina</b>	1 - 1.5 x GGRV (ili inicijalne vrednosti)	1.5 - 3 x GGRV (ili inicijalne vrednosti)	3 - 6 x GGRV (ili inicijalne vrednosti)	> 6 x GGRV (ili inicijalne vrednosti)	
<b>Porast transaminaza</b>	>GGRV - 3x GGRV	3 - 5 x GGRV	5 - 20 x GGRV	> 20 x GGRV	
<b>Periferna neuropatija</b>	Asimptomatska ili blage parestezije, gubitak dubokih refleksa	Umereni simptomi, ograničenje u ADL	Izraženi simptomi, smanjenje mogućnosti brige o sebi	Polsedice opasne po život	

DGRV: donja granica referentnih vrednosti; GGRV: gornja granica referentnih vrednosti

## 1.12. Mehanizmi popravke DNK

U ljudskom organizmu ima otprilike 10<sup>14</sup> samostalnih ćelija koje su stalno izložene spoljašnjim i unutrašnjim atacima na stabilnost genoma. Više hiljada različitih promena se svakog dana dešava na molekulu DNK delovanjem spoljašnjih faktora kao što su ultravioletno i gama zračenje, razne hemijske supstance, toplota, onkogeni virusi, ali i unutrašnjih faktora poput slobodnih radikala i različitih produkata metabolizma. Greške nastaju i tokom normalnih procesa replikacije DNK i mitoze. Kao odgovor na oštećenje DNK, ćelija može ući u proces apoptoze - programirane ćelijske smrti, senescencije odnosno starenja ili dolazi do zaustavljanja ćelijskog ciklusa u određenim tačkama, koje se nazivaju kontrolne tačke (eng. *checkpoints*) i aktiviranja sistema popravke DNK. Ovi mehanizmi sprečavaju prenos nastalih oštećenja na ćerke ćelije tokom mitoze. Smatra se da tek jedno od hiljadu oštećenja DNK dovodi do stvaranja nasledne promene, odnosno mutacije, koja će dovesti do stvaranja izmenjene ćelije, dok se sve druge greške eliminišu efikasnim sistemima za popravku DNK. Ovi sistemi se praktično nisu menjali tokom evolucije, njihov sastav je kompleksan, a mehanizmi dejstva različiti i višestruki što sve zajedno ukazuje na njihovu važnost za opstanak zdravih ćelija. Nijedan od ovih sistema za popravku ne bi mogao sam da se nosi sa mnoštvom oštećenja DNK. Kada je jedan sistem oštećen, drugi ga može delimično zameniti. Ipak, oštećenje bilo kog od ovih sistema čini jedinku osetljivijom na razvoj mutacija i maligniteta (77,112,113).

Sistem popravke DNK se definiše kao skup reakcija ćelije koje imaju za cilj ponovno uspostavljanje normalne sekvence baznih parova i strukture oštećene DNK. Ovi sistemi se sastoje iz niza biohemijskih događaja koji dovode do prepoznavanja greške, isecanja i ponovnog uspostavljanja normalne sekvence DNK (113). Postoji najmanje četiri sistema za popravku DNK koji se delimično preklapaju i dopunjuju svojim mehanizmima dejstva: sistem nukleotidne ekcizije reparacije (eng. *nucleotide excision repair*, *NER*) i sistem bazne ekcizije reparacije (eng. *base excision repair*, *BER*) – koji popravljaju jednolančana oštećenja DNK, sistem reparacije homologom rekombinacijom (eng. *homologue recombination repair*, *HRR*) i sistem nehomologog povezivanja krajeva (eng. *non-homologue end-joining*, *NHEJ*), koji popravljaju dvolančana oštećenja.

Dvolančana oštećenja DNK (eng. *double-strand breaks*, *DSB*) najčešće nastaju pod dejstvom jonizujućeg zračenja i smatraju se najopasnijim i najmutagenijim jer samo jedan DSB može dovesti do gubitka više od 100 miliona baznih parova DNK. Homologa reparacija (HR) je proces u kome se dvolančani prekidi popravljaju pomoću homologih sekvenci DNK na sestri hromatidi ili homologom hromozomu, što se dešava u kasnoj S/G2 fazi ćelijskog ciklusa, kada je homologa sekvenca već replikovana. S druge strane, NHEJ se aktivira u drugim fazama ćelijskog ciklusa kada nije moguće koristiti sestru hromatidu kao homologu sekvencu za popravku jer deo DNK koji sadrži oštećenje još uvek nije replikovano. Stoga je ovaj sistem popravke manje precizan, češće se javljaju greške i gubitak genetskog materijala. (73,77,112,113)

Većina citotoksičnih lekova koji se koriste u terapiji NSCLC utiču na neki način na funkciju DNK tumorske ćelije, koja se svojim mehanizmima popravke DNK bori protiv ovog dejstva leka. Jedan od glavnih mehanizama razvoja rezistencije tumora na citotoksične lekove jeste pojačana aktivnost i efikasnost sistema DNK popravke, što se može iskoristiti i u terapijskom pristupu lečenja maligne bolesti. Naime, pokazano je da inhibicija sistema DNK popravke maligne ćelije može pojačati efikasnost hemioterapije, najpre na primeru PARP inhibitora u lečenju karcinoma ovarijuma i dojke (114,115).

### **1.12.1. Popravka DNK i oštećenje nastalo pod dejstvom platinskih derivata**

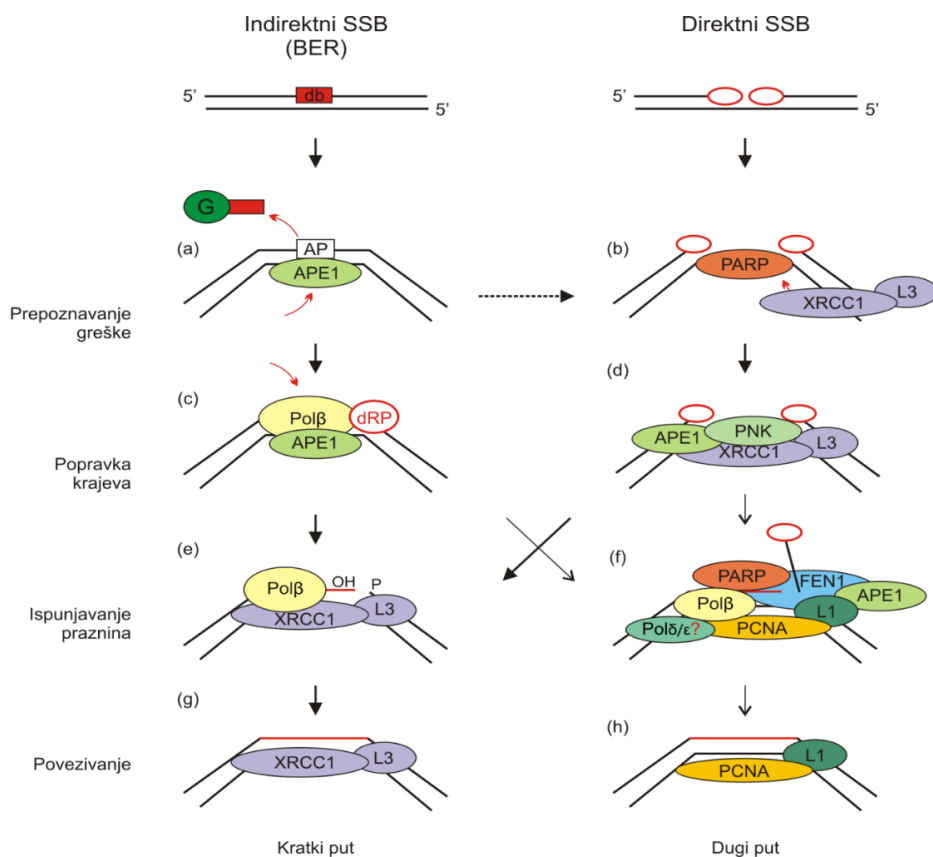
Kao što je prethodno objašnjeno, cisplatin kao alkilirajući agens, deluje tako što se vezuje za DNK, najčešće za guanin ili adenin na poziciji N7 formirajući DNK adukate, inter- ili intralančane, a njihovo prisustvo onemogućuje adekvatnu replikaciju DNK i na taj način može dovesti do smrti ćelije. Efikasnost ali i toksičnost cisplatine su u direktnoj vezi sa količinom stvorenih DNK adukata unutar ćelije (89,91,92). Nakon stvaranja DNK adukata, aktiviraju se mehanizmi popravke DNK maligne ćelije, čime se ona brani od citotoksičnog dejstva. Smatra se da su maligne ćelije koje imaju pojačanu aktivnost ili efikasnost sistema popravke DNK manje osetljive na dejstvo cisplatine, odnosno terapija je manje efikasna a preživljavanje pacijenta kraće. Primenom funkcionalnih eseja za procenu aktivnosti sistema popravke DNK pokazano je da je preživljavanje pacijenata sa NSCLC koji su primali cisplatin znatno kraće što je efikasnost ovih sistema veća, kao i da je potrebna veća doza cisplatine da bi ispoljila adekvatno citotoksično dejstvo (116,117). Obrnuto takođe važi, maligne ćelije koje imaju na bilo koji način oštećen ili slabo funkcionalan sistem popravke DNK su osetljivije na dejstvo cisplatine, i preživljavanje tog pacijenta je duže. Oštećenja nastala primenom cisplatine se popravljaju aktivacijom dominantno NER i HR sistema popravke DNK, povremeno i aktivacijom BER sistema (115). Samim tim, genetske promene u genima koji kodiraju glavne komponente ovih sistema mogu dovesti do značajnog uticaja na njihovu efikasnost i ukupno citotoksično dejstvo cisplatine, što je tema ove disertacije. Mehanizam dejstva ovih veoma kompleksnih sistema će

biti objašnjen u daljem tekstu, sa naglašavanjem značaja onih komponentni sistema čiji su geni ispitivani u ovom radu.

### 1.13. XRCC1

XRCC1 (eng. *X-ray Repair Cross-Complementing Group 1*, XRCC1) je protein koji se sastoji od 633 amino kiseline i ima ulogu u BER mehanizmu popravke jednolančanih oštećenja DNK. Poslednjih godina se pojavljuju dokazi o učešću ovog proteina u popravci i dvolančanih oštećenja nastalih pod dejstvom jonizujućeg zračenja (118). Enzimska aktivnost ovog proteina nije dokazana, ali su identifikovani domeni za protein-protein interakcije i to sa poli(ADP-ribozo) polimerazom (eng. *Poly(ADP-Ribose) Polymerase*, PARP), DNK ligazom III (eng. *DNA Ligase III*, DNA lig III), i DNK polimerazom  $\beta$  (eng. *DNA Polymerase-B*, DNA pol  $\beta$ ) (119).

BER mehanizam popravke DNK predstavlja odgovor na oštećenje DNK nastalo pod dejstvom X zraka, kiseoničkih slobodnih radikala ili metilacijom i deaminacijom, kada su oštećene pojedinačne baze u DNK molekulu. Za ova oštećenja se smatra da nastaju oko 100.000 puta tokom dana u svakoj ćeliji. Oštećene baze odstranjuju DNK glikozilaze i tako nastaju tzv. abazična mesta. Njih prepoznaje multiproteinski kompleks koji čine APE1 endonukleaza, PARP, DNK polimeraza i ligaza i XRCC1, koji predstavlja tzv. gradivni protein ovog kompleksa koji se povezuje sa svim komponentama kompleksa i omogućava njegovu funkciju. APE1 endonukleaza najpre preseca lanac DNK na abazičnom mestu, a dalja popravka može ići kratkim ili dugim putem. U kratkom putu, sledeći korak je ubacivanje jednog nukleotida na 5' kraj isečenog dela pod dejstvom DNK polimeraze  $\beta$ . Ovako nastala praznina se popunjava dejstvom kompleksa XRCC1-ligaza  $3\alpha$ . Ponekad se popravka ne može izvršiti na ovaj kraći način, već se aktivira duži put koji počinje aktivacijom PARPa. PARP se vezuje za oštećenu DNK u formi homodimera i katalizuje konverziju  $\text{NAD}^+$  u nikotinamid i ADP-ribozu. Zatim omogućava transfer ADP riboze na određen broj proteina uključenih u remodelovanje arhitekture hromatina i metabolizam DNK. Povećana aktivnost PARP dovodi do stvaranja većih, razgranatih polimera ADP riboze na mestu oštećenja DNK. Polimeri PARP koji tada nastaju, sterno- i elektrohemijski navode proteine koji direktno učestvuju u popravci oštećenja DNK: XRCC1, DNK ligazu III, DNK pol  $\beta$  i AP endonukleaze. XRCC1 najpre stupa u interakciju sa PNK (eng. *Polynucleotide Kinase*, PNK), a zatim se uspostavlja interakcija sa DNK polimerazom  $\beta$  i DNK ligazom III. DNK polimeraza  $\delta/\epsilon$  ugrađuje 2–15 nukleotida na mestu prekida čime zameni deo lanaca koji sadrži oštećenje, a nastali 5' jednolančani kraj (eng. *5'-flap*) se iseca pomoću endonukleaze FEN 1 (eng. *Flap Endonucleasa 1*, FEN1). Na kraju, DNK ligaza III spaja krajeve (slika 4 (120–123)).

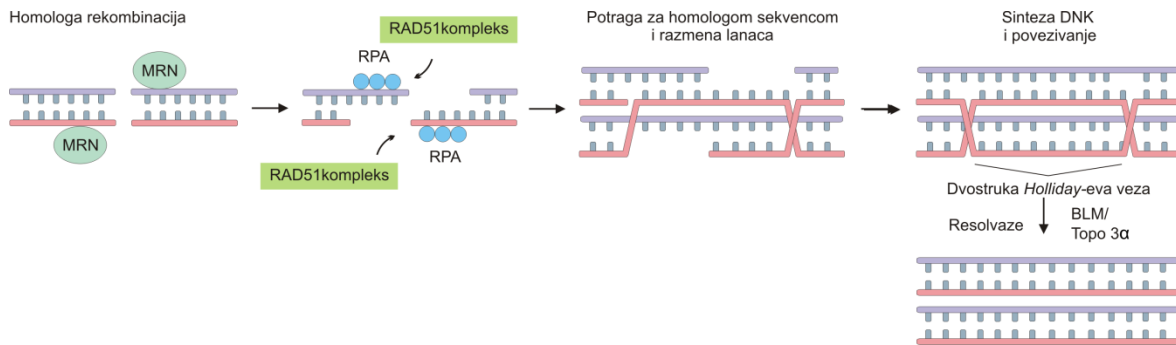


**Slika 4.** BER mehanizam popravke DNK, uloga XRCC1 proteina (Adaptirano iz Caldecott KW et al) (120).

#### 1.14. RAD51

Protein RAD51 pripada familiji proteina za razmenu lanaca (eng. *strand exchange proteins*) i ima centralnu ulogu u procesu homologe rekombinacije (HR). Na njegov značaj ukazuje i činjenica da ima praktično isti sastav i ulogu kako u prokariotskim tako i u eukariotskim ćelijama.

HR je ključni mehanizam kojim se generiše genetički diverzitet, ali omogućava i očuvanje integriteta genoma ispravnom podelom hromozoma tokom mejoze i popravkom kompleksnih DNK oštećenja poput dvolančanih prekida, interlančanih umrežavanja (eng. *Interstrand Cross-Links*, ICL) ili DNK izbočina u neposrednoj blizini neizmenjenog lanca, naročito tokom G1-S faze ćelijskog ciklusa. Kada dođe do pojave ovakvih oštećenja DNK, ćelija zaustavlja ćelijski ciklus i aktiviraju se mehanizmi popravke DNK kako bi se uklonila nastala oštećenja. Prvi korak u ovom procesu je prepoznavanje DSB od strane enzimskog kompleksa koji se naziva MRN kompleks. Zatim 5'-3' endonukleaza stvara jednolančanu sekvencu DNK na mestu oštećenja i za njegov 3' kraj se vezuje replikacioni protein A (RPA). Proteini medijatori kao što su BRCA2 i Rad52 regrutuju RAD51, koji se iz citosola premešta u nukleus, zamenjuje RPA i to predstavlja neophodni inicijalni korak homologe replikacije. Na ovaj način se aktivira potraga za homologom sekvencom DNK, dolazi do invazije oštećenog lanca u homologu sekvencu, zatim dolazi do sinteze i povezivanja DNK što stvara intermedijerne produkte rekombinacije koji sadrže dvostruke Holidejeve veze. Pod dejstvom enzima kao što su RecQ helikaza BLM i topoisomeraza 3α ove veze se raskidaju i DNK je popravljena bez greške (slika 5) (113,124,125).

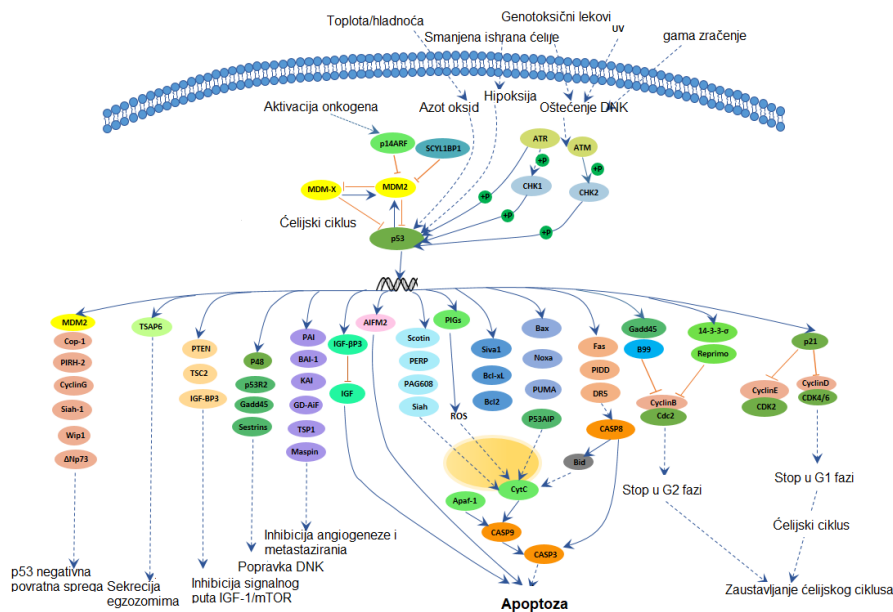


**Slika 5.** Reparacija dvolančanih prekida homologom rekombinacijom. Centralna uloga proteina RAD51 u razmeni lanaca tokom procesa reparacije dvolančanih prekida (Adaptirano iz DeVita, Hellman and Rosenberg's Cancer, (126))

Visok nivo ekspresije RAD51 je uočen u mnogim malignim tumorima kod čoveka, kao što su karcinom pankreasa i karcinom dojke gde je utvrđeno da povećava invazivnost tumora, nesitnoćelijski karcinom pluća gde je nezavisni prognostički marker preživljavanja i mnogim drugim. Smatra se da visoka ekspresija gena koji su uključeni u proces HR doprinosi genomskoj nestabilnosti, odnosno povećava učestalost translokacija, delecija, duplikacija i/ili gubitka heterozigotnosti (eng. *Loss of Heterozygosity*, LOH). Osim toga, postoji sve više dokaza da povećana ekspresija RAD51 doprinosi rezistenciji ćelija na zračnu i hemioterapiju. Ova dva mehanizma, genetska nestabilnost i rezistencija na dejstvo radio i hemioterapije, mogu biti od značaja za opstanak maligne ćelije. Tačan mehanizam nastanka hemio- i radiorezistencije nije poznat, ali se smatra da povećana ekspresija RAD51 dovodi do povećanog kapaciteta maligne ćelije za popravku oštećenja DNK nastalih pod dejstvom radio i hemioterapije (127–129)

### 1.15. TP53

Drugi značajan mehanizam odbrane jeste izazivanje apoptoze oštećene ćelije, koji predstavlja jedan od najkompleksnijih signalnih puteva uopšte u ćelijskom metabolizmu, kako zdravih, tako i malignih ćelija. U ovom sistema jednu od najznačajnijih uloga igra *TP53* koji predstavlja tumor supresor gen i mutiran je u oko 50% malignih bolesti kod čoveka. Aktivacija *TP53* se dešava pod dejstvom mnogih stresora uključujući aktivaciju protoonkogeni i oštećenje DNK koje može biti izazvano i antitumorskim lekovima. Po aktivaciji, on kao značajan transkripcioni faktor, reguliše ekspresiju, lokaciju u ćeliji i aktivnost oko 500 ključnih komponenti ćelijskih procesa uključujući zaustavljanje ćelijskog ciklusa, popravku DNK i izazivanje apoptoze kao odgovor na stresore. Stoga je jasan značaj *TP53* na hemiosenzitivnost. U slučaju inhibicije *TP53* može se razviti hemiorezistencija i preživljavanje maligne ćelije (130–132). *TP53* dovodi do apoptoze kompleksnim mehanizmima, ali se za izazivanje apoptoze malignih ćelija pod dejstvom antitumorskih lekova najznačajnijim smatraju putevi PUMA i NOXA (131). Prilikom odgovora na stresor, uključujući i platinske citostatike, za adekvatnu aktivaciju *TP53* puta ia apoptoze neophodna je komunikacija i koordinacija i sa drugim proteinima, od kojih su se najznačajnijim pokazali *TP73* i *MDM2*. Mutacije u *TP73* genu koje dovode do njegove inaktivacije direktno utiču na smanjenje senzitivnosti maligne ćelije na dejstvo platinskih derivata. Pojačana ekspresija *MDM2* dovodi do sniženja funkcije *TP53*, što dovodi do inaktivacije puta apoptoze maligne ćelije pod dejstvom platinskih lekova (130).



Slika 6. Signalni putevi apoptoze i uloga TP53, adaptirano sa cusabio.com (133)

### 1.16. Polimorfizmi jednog nukleotida (eng. *single nucleotide polymorphisms, SNPs*)

Odavno je poznato da postoje velike varijacije u sekvenci DNK molekula koje su normalno prisutne u genomu i predstavljaju interindividualne varijacije. Najčešće varijacije su polimorfizmi jednog nukleotida. Po definiciji, SNPs predstavljaju mesta u genomskoj DNK na kojima normalno postoje sekvence koje se razlikuju u jednom nukleotidu dajući dve moguće varijante alela, pri čemu ređi alel ima frekvencu bar 1% (134). Posledica su tačkastih mutacija, odnosno izmene pojedinačne baze i javljaju se često, na svakih 300 nukleotida, što znači da ih ima oko 10 miliona u humanom genomu. Osoba nasleđuje po jedan alel od svakog roditelja, tako da genotip na mestu SNP može biti AA, BB ili AB. SNP se može javiti u kodirajućem regionu DNK, ali da ne dovede do promene aminokiseline, tzv. sinonimni SNPs, može biti u kodirajućem regionu i da dovede do promene aminokiseline, tzv. nesinonimni SNPs, može se javiti u regulatornom regionu što može dovesti do promene ekspresije gena, ili se može javiti između gena. Nesinonimni SNPs mogu biti posledica *missense* mutacija – izmena jedne aminokiseline čiji efekat zavisi od mesta izmenjene aminokiseline i vrste supstitucije, ili *nonsense* mutacija gde izmena aminokiseline dovodi do pojave stop kodona, što zaustavlja transkripciju i ima za posledicu stvaranje skraćenog proteina. SNPs u nekodirajućim delovima DNK takođe mogu imati fenotipski uticaj, naročito ako se nađu u regulatornom regionu jer to može uticati na posttranskripcionu kontrolu (134).

Najveći broj SNPs nema uticaj na normalan razvoj i zdravlje jedinke. Neki od njih, međutim, mogu biti značajni u predviđanju odgovora osobe na određeni lek, osetljivosti na razne faktore kao što su toksini i jonizujuće zračenje ili predviđanju rizika za razvoj pojedinih bolesti. Takođe se mogu koristiti za praćenje nasleđivanja pojedinih gena unutar familija (134). Rizik za razvoj maligne bolesti može biti povezan sa tipom SNPs u genima ključnim za razvoj raka. Asocijacija između polimorfizama i pojave maligne bolesti se procenjuje relativnim rizikom, koji predstavlja verovatnoću da se bolest pojavi u zavisnosti od pojedinog polimorfizma. Postoje literaturni podaci da SNPs gena za popravku DNK dovode do izmenjene sposobnosti ćelije da popravi oštećenja DNK nastala dejstvom kancerogenih uticaja, što čini jedinku osetljivijom na pojavu maligniteta (134–136).

### 1.16.1. Genetička varijanta Arg399Gln (rs25487) gena XRCC1

Gen *XRCC1* se nalazi na hromozomu 19, na poziciji 19q13.2, sastoji se od 17 egzona i veličine je oko 32 kb. Otkrivena su najmanje tri polimorfizma ovog gena, od kojih neki imaju veliki značaj za razvoj malignih bolesti i prognozu: rs1799782 (Arg194Trp), rs25489 (Arg280His) i rs25487 (Arg399Gln).

Genetička varijanta rs25487 (Arg399Gln) je najviše istraživana. Radi se o tačkastoj supstituciji guanina (G) alaninom (A) u egzonu 10 gena *XRCC1*, što na aminokiselinskom nivou dovodi do zamene aminokiseline arginina (Arg) glutaminom (Glu). Ova promena se dešava u domenu proteina *XRCC1* za interakcije sa poli (ADP-ribozo) polimerazom i posledično dovodi do nemogućnosti formiranja multimernih proteinskih kompleksa neophodnih za popravku oštećenja u okviru BER mehanizma. Utvrđeno je da osobe koje imaju GlnGln fenotip imaju manje DNK prekida i da brže popravljaju prekide DNK od homozigota ArgArg (homozigotni divlji tip, eng. *wild-type*) i heterozigota (120,122).

### 1.16.2. Genetička varijanta G135C (rs1801320) gena RAD51

Gen *RAD51* je lokalizovan na hromozomu 15, na poziciji 15q15.1, sadrži 10 egzona i veličine je oko 30kb. Opisane su dve genetičke varijante gena *RAD51*, koji se nalaze u 5' UTR (eng. *Untranslated Region*, UTR), G u C (guanin u citozin) supstitucija na poziciji +135 bp (eng. *base pair*, bp), i G u T (guanin u timin) supstitucija na poziciji +172 bp od start kodona. Genetička varijanta rs1801320 (G135C polimorfizam) može imati efekat na splajsovanje, regulaciju transkripcije, efikasnost translacije ili stabilnost mRNK što sve zajedno može imati uticaj na aktivnost finalnog produkta – proteina *RAD51*. Ovo je *gain-of-function* mutacija, te dovodi po povećanja nivoa ekspresije gena *RAD51*, što je suprotno većini drugih genskih varijacija u genima za popravku DNK. Postoje podaci da je polimorfizam G135C značajan za penetraciju *BRCA2*, što povećava rizik za razvoj karcinoma dojke kod mladih osoba, povećava rizik od razvoja karcinoma želuca, akutne mijeloidne leukemije i nesitnoćelijskog karcinoma pluća, gde ima uticaj na prognozu ove bolesti i odgovor na terapiju (104,125,137).

### 1.16.3. Genetička varijanta Arg72Pro (rs1042522) gena TP53

Gen *TP53* je lokalizovan na hromozomu 17, na poziciji 17p13.1, veličine je oko 20kb, a kodirajuća sekvenca pokazuje visok nivo konzerviranosti među svim kičmenjacima, naročito u egzonima 2, 5, 6, 7 i 8, što ukazuje na njegov visok značaj za normalnu funkciju ćelije. Ovaj gen je jedan od najčešće mutiranih u humanom genomu, a pored mutacija otkriveno je i preko 20 SNPs u kodirajućem regionu ovog gena (138). Najčešće ispitivani je nesinonimni polimorfizam rs1042522 koji podrazumeva zamenu baze guanin (G) citozinom (C), odnosno zamenu aminokiseline arginina (Arg) prolinom (Pro) u kodonu 72, obeležava se još kao G12139C ili Arg72Pro. Interesantne su etničke razlike u frekvenci pojave ovog polimorfizma, javlja se u oko 40% osoba bele (kavkaske) rase, a samo u oko 8% afroamerikanaca (138). Kodon 72 se nalazi u egzonu 4 ovog gena u delu gena u kome se najčešće javljaju mutacije, i smatra se da može uticati na stabilnost proteina *TP53*. Ove dve alelne varijante gena dovode do različite sposobnosti malignog tumora ka razvoju i metastaziranju, prisustvo Arg alela dovodi do lakšeg izazivanja apoptoze ćelije, dok je prisustvo Pro alela povezano sa lakšim zaustavljanjem ćelijskog ciklusa u fazi G1 i boljom aktivacijom mehanizama popravke DNK u kojima učestvuje *TP53*. Ovaj polimorfizam je povezan i sa različitim odgovorom na terapiju, kako hemio tako i radioterapiju, a naročito sa individualnom osetljivošću na cisplatin (139).



## 2. CILJEVI RADA

1. Ispitati uticaj demografskih karakteristika pacijenata i karakteristika tumora (pol, starost pri dijagnozi, pušački status, prisustvo inicijalnih metastaza, performans status, histološki gradus tumora) na efikasnost platinske hemioterapije kod pacijenata sa uznapredovalim nesitnoćelijskim karcinomom pluća
2. Ispitati uticaj demografskih karakteristika pacijenata i karakteristika tumora (pol, starost pri dijagnozi, pušački status, prisustvo inicijalnih metastaza, performans status, histološki gradus tumora) na ispoljenu toksičnost primenjene platinske hemioterapije kod pacijenata sa uznapredovalim nesitnoćelijskim karcinomom pluća
3. Ispitati učestalost polimorfnih genetičkih varijanti Arg72Pro gena *TP53* (rs1042522), Arg399Gln gena *XRCC1* (rs25487) i G135C gena *RAD51* (rs1801320) i njihov uticaj na efikasnost primenjene platinske hemioterapije kod pacijenata sa uznapredovalim nesitnoćelijskim karcinomom pluća
4. Ispitati učestalost polimorfnih genetičkih varijanti Arg72Pro gena *TP53* (rs1042522), Arg399Gln gena *XRCC1* (rs25487) i G135C gena *RAD51* (rs1801320) i njihov uticaj na ispoljenu toksičnost primenjene platinske hemioterapije kod pacijenata sa uznapredovalim nesitnoćelijskim karcinomom pluća
5. Ispitati uticaj kombinovanog efekta polimorfnih genetičkih varijanti Arg72Pro gena *TP53* (rs1042522), Arg399Gln gena *XRCC1* (rs25487) i G135C gena *RAD51* (rs1801320) na efikasnost primenjene platinske hemioterapije kod pacijenata sa uznapredovalim nesitnoćelijskim karcinomom
6. Ispitati uticaj kombinovanog efekta polimorfnih genetičkih varijanti Arg72Pro gena *TP53* (rs1042522), Arg399Gln gena *XRCC1* (rs25487) i G135C gena *RAD51* (rs1801320) na toksičnost primenjene platinske hemioterapije kod pacijenata sa uznapredovalim nesitnoćelijskim karcinomom pluća

### 3. MATERIJAL I METODE

#### 3.1. Ispitanici

Ova studija retrospektivno-prospektivnog karaktera je sprovedena na Institutu za onkologiju i radiologiju Srbije (IORS) i Institutu za plućne bolesti Vojvodine (IPBV). Uključen je ukupno 121 pacijent kod kojih je dijagnostikovano primarno adenokarcinom pluća, bez detektovane mutacije gena za EGFR (*Epidermal Growth Factor Receptor*), u IIIb ili IV stadijumu, a koji su u prvoj liniji sistemske terapije primali hemioterapiju baziranu na platini. Stadijum bolesti je određen na osnovu verzije 7 TNM klasifikacije Svetske zdravstvene organizacije (36). Klinički podaci pacijenata su preuzimani iz medicinske dokumentacije (istorije bolesti) kao i Registra za karcinom bronha IPBV. Stepenn ispoljene toksičnosti primenjene hemioterapije (gradus) je određivan na osnovu CTCAE (*Common Terminology Criteria for Adverse Events*) verzija 4.0 (140). Zabeležene su toksičnosti svih gradusa, a za dalju analizu podeljene na toksičnosti niskog gradusa, odnosno gradus 1 i 2 i toksičnosti visokog gradusa, odnosno gradus 3 i više. Vreme do progresije bolesti (eng. *Progression-free survival, PFS*) je definisano kao vreme proteklo od početka primarne hemioterapije do datuma registrovane prve progresije bolesti, a ukupno preživljavanje (eng. *Overall Survival, OS*) kao vreme od trenutka postavljanja histopatološke dijagnoze adenokarcinoma pluća do datuma smrti od bilo kog uzroka. Takođe je praćeno i trajanje postignutog terapijskog odgovora i definisane su dve grupe: grupa u kojoj je trajanje odgovora bilo manje od 6 meseci i grupa u kojoj je odgovor trajao 6 i više meseci. Definisana je i takozvana klinička korist primenjene terapije (eng. *Clinical Benefit Rate, CBR*) kao zbir postignutih kompletnih remisija, parcijalnih remisija i stabilizacija bolesti u trajanju od 6 i više meseci (CR + PR + SD $\geq$ 6 meseci). Drugu grupu pacijenata čine oni bez kliničke koristi, odnosno oni kod kojih je registrovana progresija bolesti kao najbolji odgovor ili stabilizacija bolesti u trajanju od manje od 6 meseci (PD + SD $<$ 6 meseci). Podaci o datumu smrti su dobijeni iz medicinske dokumentacije pacijenata i evidencije Instituta za javno zdravlje Srbije.

Kriterijumi za uključivanje u istraživanje:

1. Osobe starije od 18 godina
2. Patohistološki dokazan adenokarcinom pluća
3. Odsustvo mutacije gena za EGFR
4. Stadijum bolesti IIIb ili IV (TNM verzija 7)
5. ECOG (*European Cooperative Oncology Group*) performans status (PS) 0, 1 ili 2
6. Primenjena prva linije sistemske hemioterapije bazirane na platini, u trajanju od najmanje 2 ciklusa
7. Dostupnost kliničko-patoloških podataka: pol, starost, pušenje, ECOG PS, TNM status i stadijum bolesti, vrsta i trajanje primarne hemioterapije, registrovana toksičnost
8. Adekvatna količina tumorskog tkiva za genske analize

#### 3.2 Genetičke metode

Analiza povezanosti genetičkih varijanti Arg399Gln gena *XRCC1* (rs25487), G135C gena *RAD51* (rs1801320) i Arg72Pro gena *TP53* (rs1042522) sa ishodom hemioterapije izvedena je na formalinom fiksiranim i parafinom ukalupljenim (*Formalin-Fixed and Paraffin-Embedded, FFPE*) uzorcima karcinoma pluća dobijenim biopsijom, za koje je utvrđeno odsustvo mutacija u genu *EGFR*. Sve laboratorijske analize su obavljene u Laboratoriji za molekularnu genetiku Odeljenja za eksperimentalnu onkologiju Instituta za onkologiju i radiologiju Srbije. Istraživanje

je sprovedeno uz saglasnost Etičkog odbora Instituta za onkologiju i radiologiju Srbije (odluka br 5898/2-01 dana 17.12.2014.), i Etičkog odbora Instituta za plućne bolesti Vojvodine (odluka br. XLVIII-2014/14 od 22.12.2014), poštujući pravila Helsinške deklaracije iz 1975. i njene revizije iz 2000. godine. Pacijenti koji su bili živi u vreme sprovođenja istraživanja su potpisali Pristanak informisanog pacijenta kojim su dali saglasnost za učešće u istraživanju.

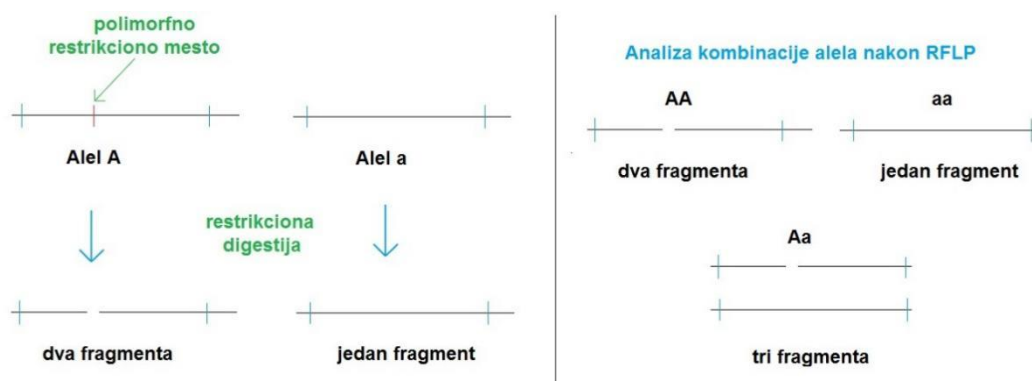
### 3.2.1. Izolovanje DNK iz tumorskog tkiva i testiranje mutacija u genu *EGFR*

FFPE uzorci biopsija pacijenata su iskorišćeni za dobijanje 3-5 listića debljine 5-10  $\mu\text{m}$  pomoću mikrotoma (Leica Biosystems Nussloch GmbH) koji su ubačeni u ependorf tubicu. DNK je izolovana pomoću Cobas® DNA Sample Preparation kita (Roche Molecular Diagnostics) prema uputstvu proizvođača, i korišćena za rutinsku analizu mutacija u genu za epidermalni faktor rasta (eng. *Epidermal growth factor receptor*, *EGFR*). Količina i kvalitet izolovane DNK utvrđena je pomoću UV-VIS spektrofotometra (Shimadzu BioSpec-nano), iz 1  $\mu\text{L}$  uzorka. Za procenu kvaliteta korišćeni su odnosi A260/280 i A260/230, pri čemu su očekivane vrednosti čistih DNK uzoraka oko 1,8 odnosno 2,0 - 2,2, respektivno. *EGFR* testiranje na prisustvo mutacija u *hot-spot* regionima izvedeno je metodom kvantitativnog PCR u realnom vremenu (qRT-PCR) korišćenjem kita Cobas® *EGFR* Mutation Test na aparatu Cobas® 4800 prema uputstvu proizvođača.

### 3.2.2. Analiza polimorfizama dužine restrikcionih fragmenata (*Restriction Fragment Length Polymorphisms*, RFLP)

Ova metoda se zasniva na detekciji razlike u dužini PCR fragmenata koji nastaju nakon ciljane restrikcione digestije polimorfnih mesta DNK koja se analiziraju. Nakon izolovanja DNK, region od interesa koji sadrži polimorfno mesto se umnoži specifično dizajniranim prajmerima reakcijom lančane polimeraze (*Polymerase chain reaction*, PCR). Zatim se PCR produkt iseca odgovarajućom restrikcionom endonukleazom i produkti se elektroforetski razdvajaju da bi se detektovali dobijeni fragmenti. Prisustvo mutacije u DNK može da ukine postojanje restrikcionog mesta za korišćeni enzim ili da stvori novo, pa se na osnovu broja i dužine dobijenih fragmenata određuje tip početnog uzorka. Primer RFLP analize je dat na Slici 7.

Restrikcioni enzim prepoznaje i seče polimorfno restrikciono mesto samo na alelu A PCR proizvod, pa se nakon digestije dobijaju dva fragmenta. Usled izmene sekvence, alel a nema odgovarajuće mesto za dejstvo restrikcionog enzima, pa PCR proizvod ostaje neisečen.



Slika 7. Shematski primer RFLP analize.

Ranije urađenim sekvenciranjem potvrđeno je da fragmenti gena *TP53*, *XRCC1* i *RAD51* koji se dobijaju postupkom koji je detaljno opisan u nastavku odgovaraju predviđenim po sekvenci.

### 3.2.3. Reakcija lančane polimeraze (*Polymerase chain reaction, PCR*)

Genomska DNK se umnožava prajmerima za PCR koji se dizajniraju tako da PCR produkt sadrži polimorfno mesto koje se analizira, i obe varijante alela daju PCR produkt iste veličine. Uspešnost PCR reakcije za svaki uzorak (pacijenti i kontrole) proveravana je elektroforezom na 2% agaroznom gelu u sistemu za elektroforezu GNA 100 (Pharmacia Biotech, Sweden), uz dodatak boje GelRed™ Nucleic Acid Stain (Biotium, CA, USA) u gel, u cilju vizuelizacije PCR produkata na UV/VIS transiluminatoru MacroVue UV-25 (Hoefler, MA, USA). Veličina PCR produkata je određivana upoređivanjem sa markerom molekularnih masa Ready-to-use Molecular Weight Marker O'Gene Ruler™ 100 bp DNA Ladder (Fermentas, MA USA) na svaki gel.

Sekvence prajmera i PCR programi korišćeni za amplifikaciju regiona koji sadrže analizirane polimorfizme prikazani su u Tabeli 7 a sastav PCR smeša u Tabeli 8.

**Tabela 7.** Sekvence korišćenih PCR prajmera i PCR programi.

Genetička varijanta	dbSNP <sup>1</sup> identifikacioni broj	Sekvenca prajmera (5'-3')	PCR program
<i>TP53</i> Arg72Pro	rs1042522	f:ATCTACAGTCCCCCTTGCCG r:GCAACTGACCGTGCAAGTCA	95 °C 3 min
			95 °C 30s -----
			58 °C 30s  35x
			72 °C 40s -----
			72 °C 10 min
<i>XRCC1</i> Arg399Gln	rs25487	f:CAAGTACAGCCAGGTCCTA r:CCTTCCCTCATCTGGAGTAC	94 °C 5 min
			94 °C 60s -----
			58 °C 30s   32
			x
			72 °C 40s -----
			72 °C 7 min
<i>RAD51</i> G135C	rs1801320	f:GGGAAGTGC AACTCATCTGG r:GCGCTCCTCTCTCCAGCAG	94 °C 3 min
			94 °C 60s -----
			54 °C 30s   35
			x
			72 °C 40s -----
			72 °C 7 min

<sup>1</sup>dbSNP - The Single Nucleotide Polymorphism database (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>)

**Tabela 8.** Sastav PCR reakcione smeše.

Komponente	Finalno	Zapremina (µL)
Fermentas DreamTaq® PCR Master Mix 2x	1x	10
<i>Forward</i> prajmer	8pmol	1
<i>Reverse</i> prajmer	8pmol	1
DNK	300ng	X <sup>1</sup>
voda		8-X
Σ		20

<sup>1</sup>Zapremina genomske DNK koja je potrebna za PCR reakciju određuje se na osnovu izmerene koncentracije nakon izolovanja DNK

Kvantifikacija dobijenih PCR produkata je izvedena pomoću fluorimetra Qubit® 3.0 Fluorometer i kita Qubit dsDNA BR Assay Kit (Thermo-Fisher Scientific, MA, USA).

### 3.2.4. Restrikciona digestija PCR produkata

Dobijeni PCR produkti se nakon kvantifikacije koriste kao supstrat za restrikcionu digestiju restrikcionim endonukleazama koje katalizuju hidrolizu fosfodiestarskih veza unutar molekula DNK. Svaki enzim specifično prepoznaje određeni niz nukleotida (4-8 baznih parova), vezuje se za njega i ciljano iseca molekul DNK.

Restrikciona digestija 296 bp dugačkog PCR produkta gena *TP53* koji sadrži polimorfno mesto Arg72Pro izvršena je pomoću enzima Bsh1236I (Fermentas, MA, USA). Restrikciona digestija 268 bp dugačkog PCR produkta gena *XRCC1* koji sadrži polimorfno mesto Gln399Arg izvršena je pomoću BcnI enzima (Fermentas, MA, USA). Restrikciona digestija PCR produkta veličine 157 bp gena *RAD51* koji sadrži polimorfno mesto G135C izvršena je MvaI enzimom (Fermentas, MA, USA). Osobine enzima i sastav reakcione smeše za restrikcionu digestiju date su u Tabelama 9 i 10.

Restrikciona digestija je podrazumevala inkubaciju na 37°C tokom 15 minuta, praćenu inaktivacijom enzima na 80°C tokom 20 minuta.

**Tabela 9.** Osobine korišćenih restrikcionih enzima.

Enzim	Genetička varijanta	Sekvenca koju enzim prepoznaje	Temperaturni optimum	Dužina RFLP fragmenata
<i>Bsh1236I</i>	<i>TP53</i> rs1042522 (Arg72Pro)	5`-CG↓CG-3` 3`- GC↑GC-5`	37° C	126 bp 170 bp
<i>BcnI</i>	<i>XRCC1</i> rs25487 (Arg399Gln)	5`-CC↓SGG-3` 3`- GGS↑CC-5`	37° C	91 bp 177 bp
<i>MvaI</i>	<i>RAD51</i> rs1801320 (G135C)	5`-CC↓SGG-3` 3`-GGS↑CC-5`	37° C	86 bp 71 bp

**Tabela 10.** Sastav smeše za restrikcionu digestiju.

Komponente	Finalno	Zapremina (µL)
Fast Digest Green Buffer (Fermentas)	10x	2
Restrikcioni enzim		0,5
PCR produkt	200 ng	X <sup>1</sup>
Voda (nuclease free)		27,5-X
Ukupno		30

<sup>1</sup>Zapremina PCR produkta koji je potreban za restrikcionu digestiju određuje se na osnovu izmerene koncentracije nakon PCR reakcije

### 3.2.5. Analiza produkata restrikcione digestije

Produkti restrikcione digestije analizirani su na aparatu Bioanalyzer 2100 (Agilent, CA, USA), koji koristi platformu zasnovanu na mikrokapilarnoj elektroforetskoj ćeliji na čipu za određivanje veličine, količine i kvaliteta uzoraka DNK, RNK i proteina. *TP53* wild type (wt) alel (Arg) se digerira *Bsh1236I* enzimom dajući produkte dužina 126 i 170 baznih parova, dok se mutirani (Pro) alel ne digerira ovim enzimom, i na gelu daje samo jednu traku nedigeriranog PCR proizvoda dužine 296 baznih parova. *XRCC1* wild type (wt) alel (Arg) se digerira *BcnI* enzimom dajući produkte dužina 177 i 91 baznih parova, dok se mutirani (Gln) alel ne digerira ovim enzimom, i na gelu daje samo jednu traku nedigeriranog PCR proizvoda dužine 268 baznih parova. *RAD51* wt alel (G) se digerira *MvaI* enzimom dajući produkte dužina 86 i 71 baznih parova, dok se mutirani (C) alel ne digerira ovim enzimom, i na gelu daje samo jednu traku nedigeriranog PCR proizvoda dužine 157 baznih parova. Genotipovi su određivani interpretacijom elektroforetskih rezultata prema Tabeli 11.

**Tabela 11.** Analiza genotipova polimorfnih varijanti nakon RFLP.

Genetička varijanta	Dominantni homozigot	Heterozigot	Recesivni homozigot
<i>XRCC1</i> (Arg399Gln)	ArgArg 2 trake (177 i 91bp)	ArgGln 3 trake (268, 177 i 91bp)	GlnGln 1 traka (268bp)
<i>RAD51</i> (G135C)	GG 2 trake (86 i 71bp)	GC 3 trake (157, 86 i 71bp)	CC 1 traka (157bp)
<i>TP53</i> (Arg72Pro)	ArgArg 2 trake (170 i 126bp)	ArgPro 3 trake (296, 170 i 126bp)	ProPro 1 traka (296bp)

### 3.3. Statističke metode

Za analizu demografskih osobina, karakteristika pacijenata i osobnosti oboljenja korišćene su deskriptivne statističke metode, a njihova distribucija između grupa, kao i značajnost razlike osobnosti između pojedinih grupa, su testirane pomoću Pearson-ovog  $\chi^2$  - testa sa Bonferroni-jevom korekcijom ili Fisher-ovim egzaktnim testom, Wilcoxon-Mann-Whitney testom, Kruskal-Wallis testom. Razlike između aritmetičkih sredina kontinuiranih podataka su testirane t testom, ANOVA-om ili ekvivalentom u slučaju odstupanja od normalne raspodele. Vezani uzorci su kontrolisani t-testom za vezane uzorke, u slučaju kontinuiranih obeležja posmatranja, a u suprotnom Wilcoxon ili McNemar testom. Saglasnost kontinuiranih podataka sa normalnom raspodelom je testirana pomoću Kolmogorov-Smirnov i Shapiro-Wilk testa, a u zavisnosti od toga po potrebi je učinjena i logaritamska transformacija obeležja posmatranja. Logistička regresija je korišćena za izračunavanje odds ratio (OR) i 95% intervala pouzdanosti (confidence interval, CI), za identifikaciju faktora od značaja na ishod, a za utvrđivanje statističke značajnosti pojedinih faktora u modelu korišćen je Likelihood Ratio test i Wald-ov test. Pomoću Kaplan–Meier kriva su određene medijane preživljavanja, sa 95% CI, na osnovu čega su dobijene vrednosti za preživljavanje bez progresije (Progression free survival, PFS) i ukupno preživljavanje (Overall survival, OS). Stratifikovane analize su izvedene među odabranim podgrupama prema polu, godinama u trenutku obolevanja i kako i drugima parametrima same bolesti. Za ispitivanje značajnosti razlike je korišćen Log rank i/ili Breslow test. Cox regresiona analiza je korišćena za dobijanje hazard ratio (HR), ukoliko je preživljavanje između pojedinih grupa statistički različito. Za analizu genskih i alelskih frekvencija su korišćene deskriptivne statističke metode, a njihova distribucija između grupa je testirana pomoću Pearson-ovog  $\chi^2$ -testa sa Bonferroni-jevom korekcijom ili Fisher-ovim egzaktnim testom. Hardi-Vajnbergova ravnoteža je ispitivana pomoću  $\chi^2$  testa.

Statistička obrada je urađena pomoću programa SPSS (IBM-SPSS program ver. 21) i Rcmdr (R Commander, V2.6-1, GLP). Dijagrami i slike su dodatno obrađivane pomoću programa Adobe Photoshop CC 2015 (Adobe Systems Incorporated, CA, USA) i Excel 2016 (v16.0; Microsoft corp, CA, USA).

#### 4. REZULTATI

Od ukupno 121 ispitanika uključenih u ovo ispitivanje, 79 (65.3%) su bili muškog, a 42 ženskog pola (34.7%), sa medijanom starosti u trenutku postavljanja dijagnoze od 61 godinu (opseg 37 do 84). Većina ispitanika su bili pušači (ili bivši pušači koji su prestali da puše pre manje od 30 godina), njih 81.8%, dok je nepušača bilo 18.2% što odgovara realnoj situaciji među obolelima od karcinoma pluća u Srbiji. Srednja vrednost indeksa paklo-godine iznosila je 42.5. 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) je bilo nešto lošijeg stanja, ECOG PS2. U Tabeli 12 su prikazane demografske karakteristike ispitanika.

**Tabela 12.** Opšte karakteristike ispitanika, N-121.

<b>POL</b>	<b>N (%)</b>
Muški	79 (65.3)
Ženski	42 (34.7)
<b>STAROST</b>	<b>Medijana (opseg)</b>
	61 (37-84)
<b>ECOG PS</b>	<b>N (%)</b>
0	3 (2.5)
1	114 (94.2)
2	4 (3.3)
<b>PUŠAČKI STATUS</b>	<b>N (%)</b>
Nepušač/pretao pre > 30 godina	22 (18.2)
Pušač/pretao pre < 30 godina	99 (81.8)
<b>PCKY</b>	<b>Medijana (opseg)</b>
	42.5 (2-165)

ECOG PS - *The Eastern Cooperative Oncology Group* performance status; PCKY – packyears, indeks paklo-godine

Većina ispitanika, 81.8%, su u trenutku uključivanja u ovo istraživanje, bili u stadijumu IV, odnosno metastatskoj bolesti, a 18.2% je bilo u stadijumu IIIb, dakle bez udaljenih metastaza. Detaljne karakteristike tumora prema TNM7 klasifikaciji, su prikazane u Tabeli 13.



**Tabela 13.** Karakteristike tumora po TNM7 klasifikaciji.

<b>T deskriptor</b>	<b>N (%)</b>
T0	0
T1a	6 (5.0)
T1b	4 (3.3)
T2a	16 (13.2)
T2b	19 (15.7)
T3	28 (23.1)
T4	45 (37.2)
Tx	3 (2.5)
<b>N deskriptor</b>	
N0	19 (15.7)
N1	13 (10.7)
N2	31 (25.6)
N3	52 (43.0)
Nx	6 (5.0)
<b>M</b>	
M0	3 (2.5)
M1a	114 (94.2)
M1b	4 (3.3)
<b>Klinički stadijum</b>	
IIIb	22 (18.2)
IV	99 (81.8)

Tumori svih uključenih ispitanika su testirani i nisu detektovane aktivirajuće mutacije u genu *EGFR*. Shodno preporukama za lečenje odmaklog adenokarcinoma pluća i indikacijama Republičkog Fonda za zdravstveno osiguranje Srbije koje su bile aktuelne u trenutku početka lečenja, svi ispitanici su u prvoj liniji lečeni primenom sistemske hemioterapije bazirane na platini, odnosno platinskim dubletom. Primenjeno je maksimalno 6 terapijskih ciklusa, takođe shodno svetskim preporukama.

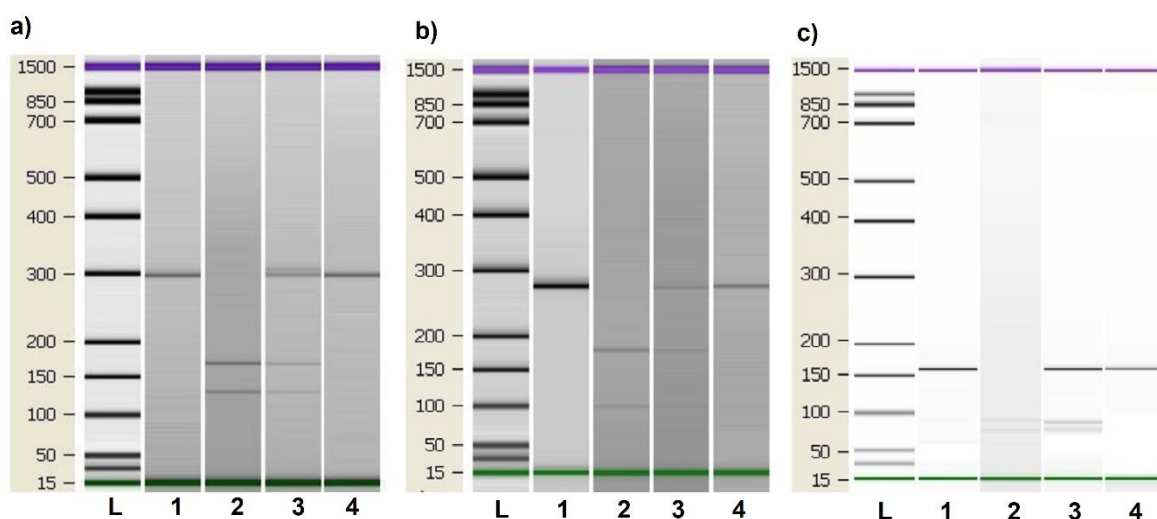
Vrsta hemioterapijskog protokola, platinskog derivata i broj primenjenih ciklusa su prikazani u Tabeli 14.

**Tabela 14.** Vrsta hemioterapijskog protokola i broj ciklusa.

HEMIOTERAPIJSKI PROTOKOL	N (%)
Gemcitabin-cisplatin (GP)	90 (74.4)
Gemcitabin-karboplatin (GC)	11 (9.1)
Etoposid-cisplatin (EP)	11 (9.1)
Taxol-karboplatin (TC)	7 (5.8)
Vinorelbin-cisplatin	1 (0.8)
Vinorelbin-karboplatin	1 (0.8)
PLATINSKI DERIVAT	
Cisplatin	101 (83.5)
Karboplatin	20 (16.5)
Broj primenjenih ciklusa HT	Medijana (opseg)
	4 (1-6)

#### 4.1. Rezultati analize distribucije genotipova i frekvencije alela

Na slici 8 je prikazan elektroferogram dobijen na aparatu Bioanalyzer 2100 PCR produkata analiziranih polimorfni varijanti i odgovarajućih proizvoda restrikcione digestije.



**Slika 8.** PCR i RFLP rezultati analiziranih polimorfni varijanti. a) *TP53* Arg72Pro; kolona 1: PCR produkt 296 bp; kolona 2: Arg/Arg; kolona 3: Arg/Pro; kolona 4: Pro/Pro. b) *XRCC1* Arg399Gln; kolona 1: produkt PCR 268bp; kolona 2: Arg/Arg, kolona 3: Arg/Gln, kolona 4: Gln/Gln. c) *RAD51* G135C; kolona 1: PCR produkt 157 bp; kolona 2: G/G, kolona 3: G/C, kolona 4: C/C (c). L - Marker molekularne dužine *High-sensitivity DNA ladder*. Gornji marker od 1500 bp i donji od 15 bp su prisutni u svakoj koloni.

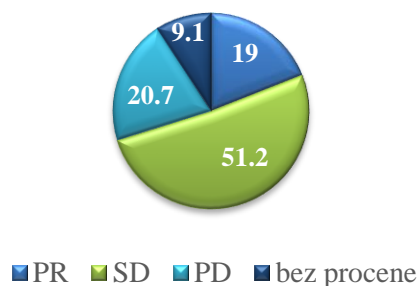
Analiza zastupljenosti genotipova proučavane polimorfne varijante gena *XRCC1*, *RAD51* i *TP53* data je u Tabeli 15. Rezultate analize polimorfizama gena *XRCC1* prikazujemo za 103 pacijenta, gena *RAD51* za 109, a gena *TP53* za 106, kod kojih je ova analiza bila uspešna. Distribucija analiziranih genotipova nije odstupala od Hardi-Vajnbergove ravnoteže ( $p > 0.05$ ).

**Tabela 15.** Zastupljenost alela i genotipova ispitivanih polimorfnih varijanti gena *XRCC1*, *RAD51* i *TP53*.

Genotip	N (%)	Alel	frekvencij a	Hardy-Weinberg ekvilibrijum $\chi^2$ test <sup>1</sup>	p vrednost
<b>TP53 Arg72Pro</b>				0.0002	0.988
ArgArg	34 (28)	Arg	0.57		
ArgPro	52 (43)	Pro	0.43		
ProPro	20 (17)				
NA	15 (12)				
<b>XRCC1Arg399Gln</b>				0.3715	0.542
ArgArg	58 (46)	Arg	0.75		
ArgGln	37 (31)	Gln	0.25		
GlnGln	8 (7)				
NA	18 (15)				
<b>RAD51 G135C</b>				0.2246	0.636
GG	77 (64)	Arg	0.84		
GC	30 (25)	Pro	0.16		
CC	20 (16)				
NA	12 (12)				

#### 4.2. Efikasnost primenjene hemioterapije

Za procenu efekta primenjene terapije korišćene su dijagnostičke metode koje su korišćene za postavljanje dijagnoze i inicijalno određivanje stadijuma bolesti i merljivih, odnosno nemerljivih lezija. Najčešće korišćene metode su bile CT grudnog koša i abdomena, CT ili MR endokranijuma. Dijagnostika je sprovedena u određenim vremenskim intervalima, najčešće nakon 2 ili 3 ciklusa hemioterapije. Procena je vršena shodno RECIST1.1 kriterijumima (93) i ovde je prikazana u smislu postignute kompletne remisije (CR), parcijalne regresije (PR), stabilne bolesti (SD) ili progresije bolesti (PD). 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. Nijedan od praćenih ispitanika nije imao kompletnu remisiju kao najbolji odgovor. U ovoj grupi, 11 pacijenata je umrlo pre prve procene efikasnosti terapije, što se posredno takođe smatra brzom progresijom bolesti. Kod pacijenata kod kojih je registrovana progresija bolesti na prvoj kontroli, ona se manifestovala skoro jednako i porastom postojećih lezija, kao i pojavom novih. Sekundarna hemioterapija je primenjena kod svega 27.3% pacijenata nakon progresije bolesti.

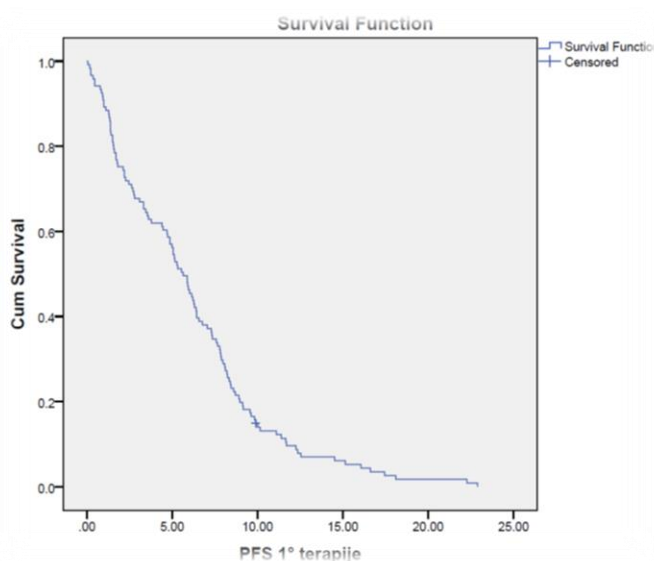


**Slika 9.** Najbolji efekat primenjene hemioterapije (%).

Što se tiče postignute značajne kliničke koristi (CBR), ona je registrovana kod 64, odnosno 52.9% ispitanika, a nije je bilo kod preostalih 57 (47.1%) ispitanika. Statistički značajna razlika nije pokazana u postignutoj CBR u odnosu na pol, godine, pušački status, T, N, M deskriptore, stadijum bolesti i vrstu primenjene HT. Registrovana je statistički značajna razlika u odnosu na ECOG PS, najmanji benefit su ostvarili pacijenti lošijeg opšteg stanja, odnosno PS2 (Pearson  $\chi^2$  p-0.049). Takođe je registrovana statistički značajna razlika u odnosu na primenjeni platinski derivat: 57.4% pacijenata koji su primali cisplatin je ostvarilo CBR, a svega 30% pacijenata koji su primali karboplatin (Pearson  $\chi^2$  p-0.025).

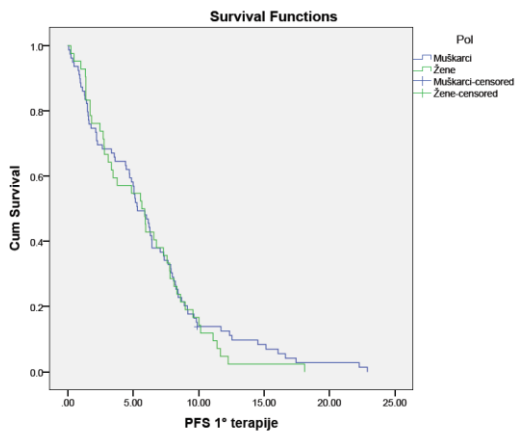
#### 4.2.1. Vreme do progresije bolesti (PFS)

U ispitivanoj grupi medijana vremena do progresije bolesti (mPFS) je bila 5.65 meseci (4.76-6.54, CI 95%) (grafikon 1).

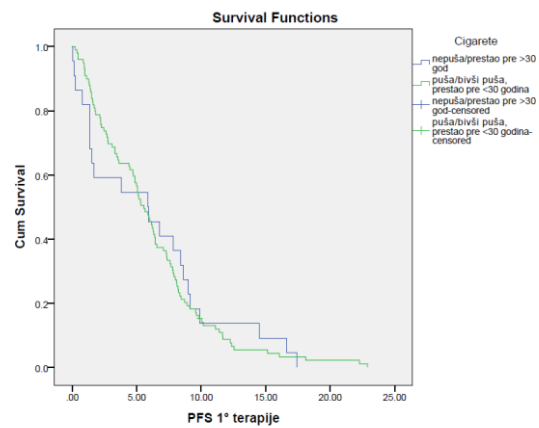


**Grafikon 1.** Vreme do progresije bolesti (PFS) u celoj grupi.

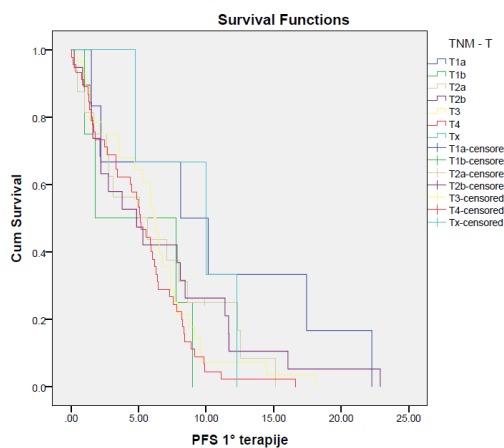
Nije bilo statistički značajne razlike u mPFS između muškog i ženskog pola (mPFS 5.32 vs 5.65 meseci, p-0.603), u odnosu na pušački status (mPFS 5.52 vs 5.88 meseci, p-0.868), T i N deskriptore, kao ni u odnosu na stadijum bolesti (lokalno odmakla bolesti, stadijum IIIb u odnosu na metastatsku bolest, stadijum IV), što je prikazano na grafikonu 2.



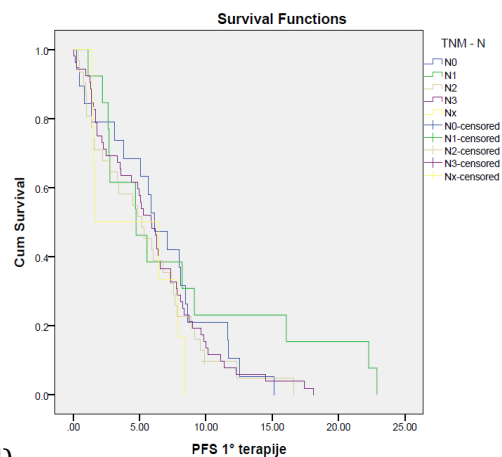
a)



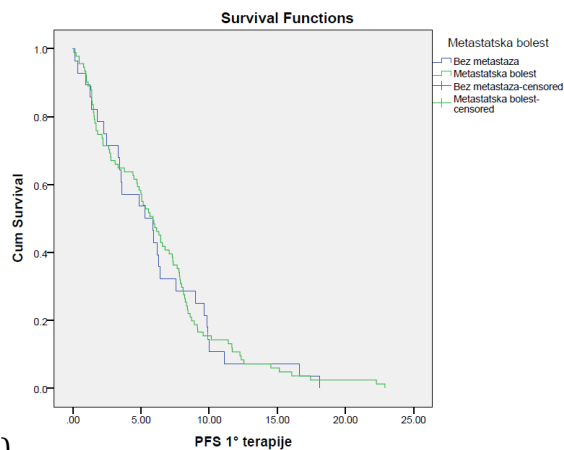
b)



c)



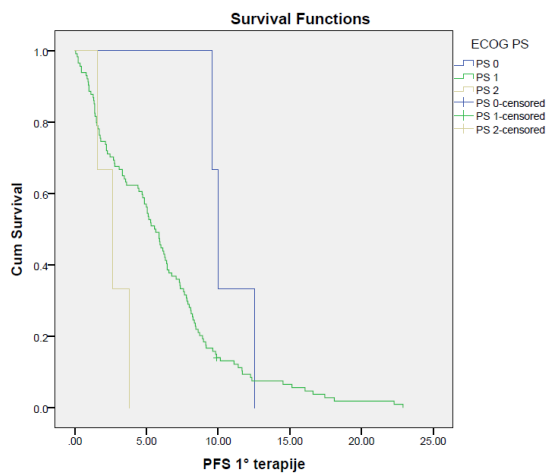
d)



e)

**Grafikon 2.** Razlika u mPFS u odnosu na a) pol, b) pušački status, c) T deskriptor, d) N deskriptor, e) M deskriptor.

Detektovana je statistički značajna razlika u medijani PFSa u odnosu na ECOG performans status, odnosno stanje pacijenta, 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), što odgovara literaturnim podacima, jer performans status pacijenta predstavlja nezavisan prognostički faktor preživljavanja (grafikon 3)

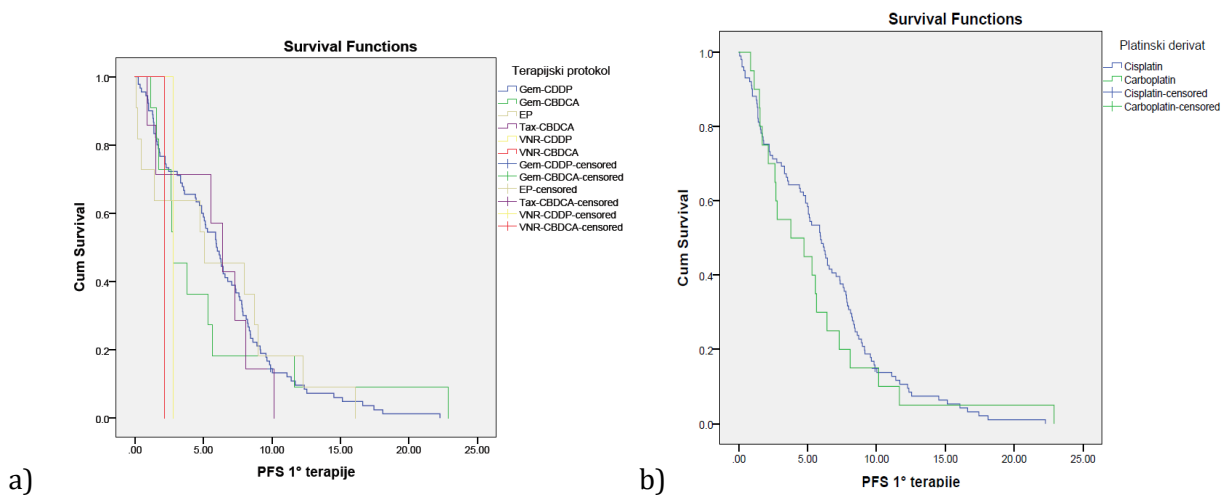


ECOG PS	mPFS meseci (CI 95%)
<b>0</b>	10.02 (9.28-10.76)
<b>1</b>	5.55 (4.73-6.37)
<b>2</b>	2.63 (3.91-4.31)

**p-0.04**

**Grafikon 3.** PFS u odnosu na ECOG PS.

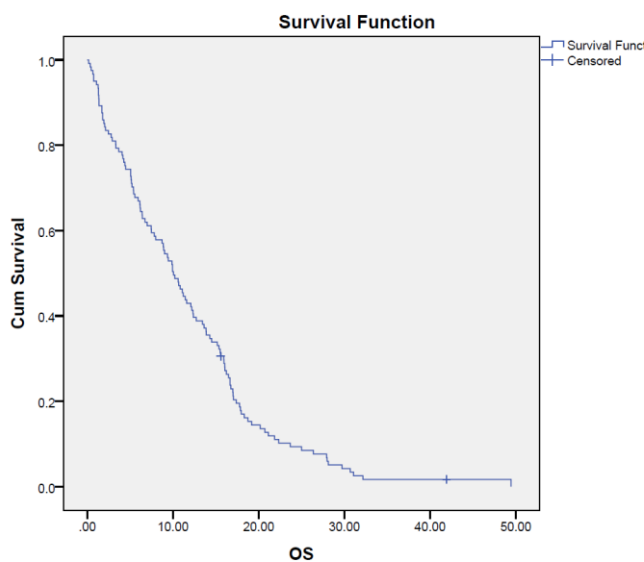
U odnosu na vrstu primenjenog hemioterapijskog protokola, nije detektovana statistički značajna razlika u medijani PFSa, kao ni u odnosu na vrstu platinskog derivata (cisplatin prema karboplatin, mPFS 5.95 prema 3.78 meseci, p-0.59).



**Grafikon 4.** Vreme do progresije bolesti u odnosu na a) vrstu hemioterapijskog protokola i b) platinski derivat.

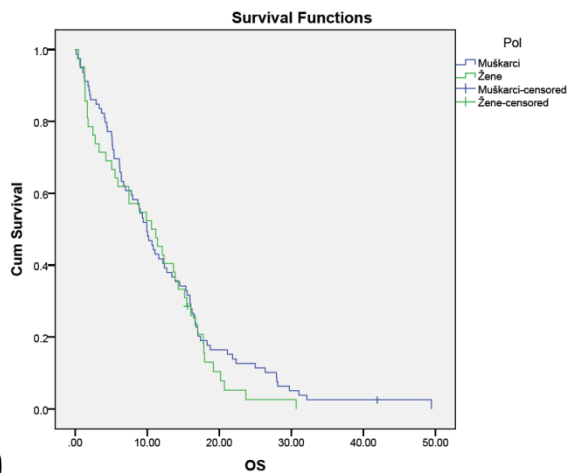
#### 4.2.2. Ukupno preživljavanje (OS)

Medijana ukupnog preživljavanja (mOS) u celoj ispitivanoj grupi je bila 10.05 meseci (8.15-11.96, CI 95%). U trenutku analize dva pacijenta su i dalje bila živa.

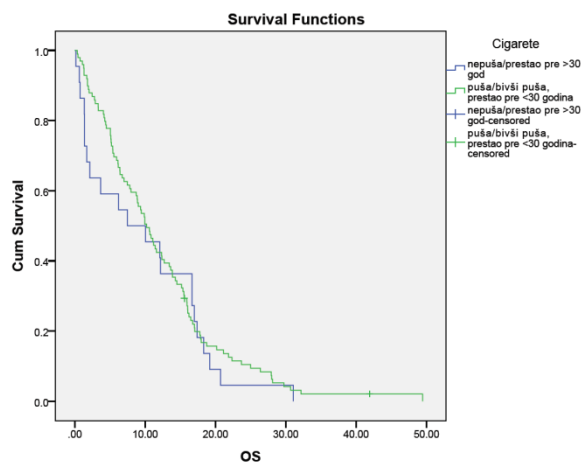


**Grafikon 5.** Ukupno preživljavanje u celoj grupi.

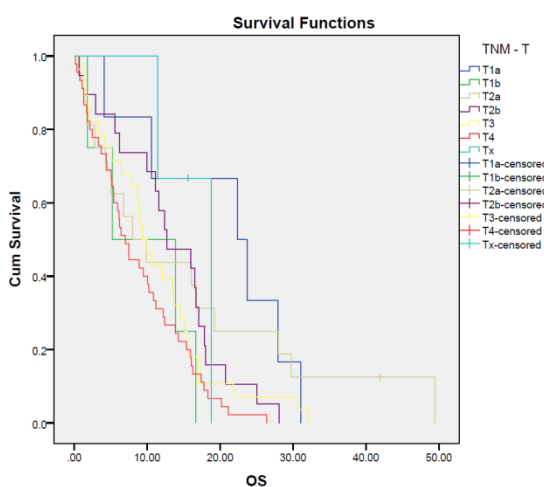
Nije bilo statistički značajne razlike u mOS između muškog i ženskog pola (mPFS 9.95 vs 10.61 meseci, p-0.366), u odnosu na pušački status (pušač vs nepušač 10.21 vs 7.49 meseci, p-0.542), T i N deskriptore, stadijum bolesti (lokalno odmakla bolesti, stadijum IIIb u odnosu na metastatsku bolest, stadijum IV), kao ni ECOG performans status (grafikon 6).



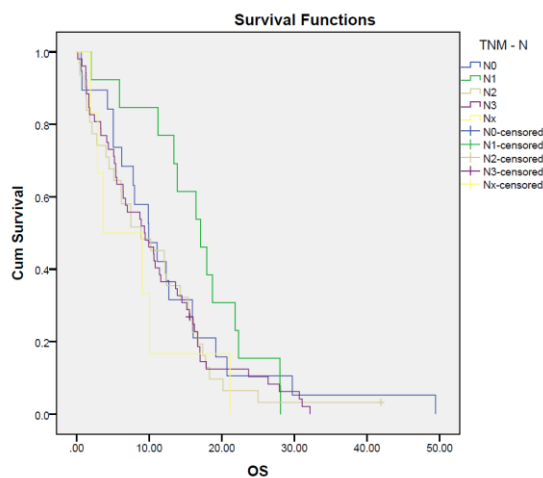
a)



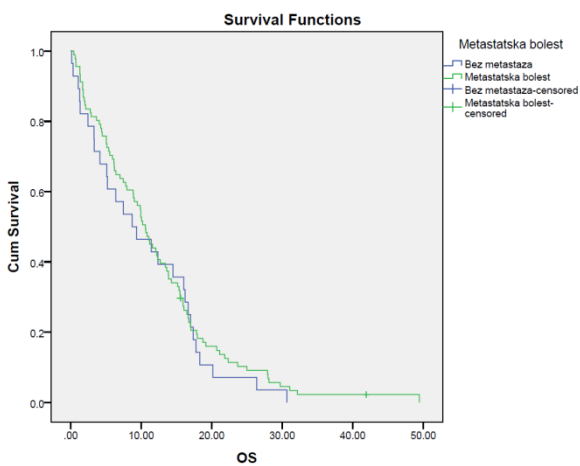
b)



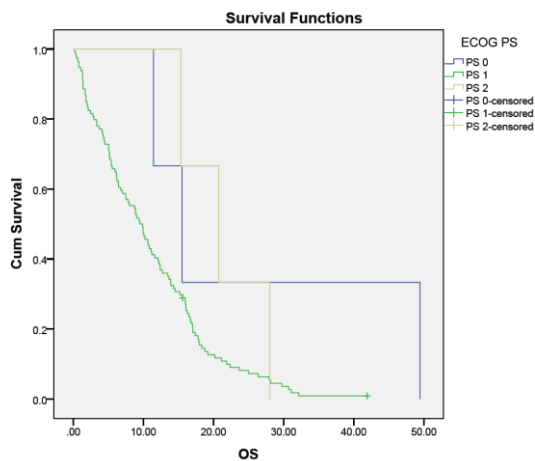
c)



d)



e)

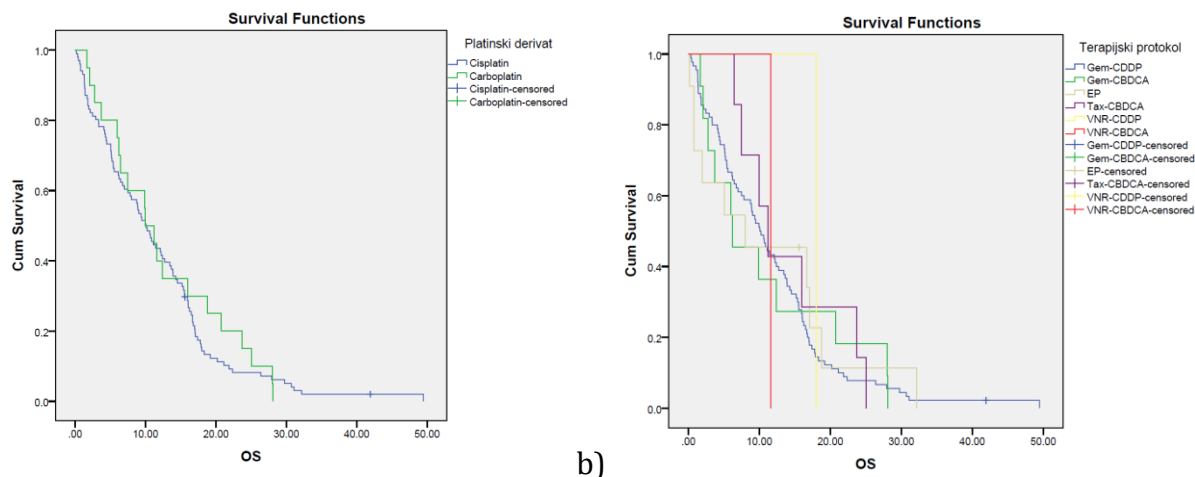


f)

**Grafikon 6.** Razlika u OS u odnosu na a) pol, b) pušački status, c) T deskriptor, d) N deskriptor, e) M deskriptor, f) ECOG PS.

Takođe nije registrovana statistički značajna razlika u mOS u odnosu na vrstu hemioterapijskog protokola i vrstu platinskog derivata koji je primenjen (cisplatin prema karboplatin, mOS 10.05 prema 9.95 meseci,  $p=0.65$ ).



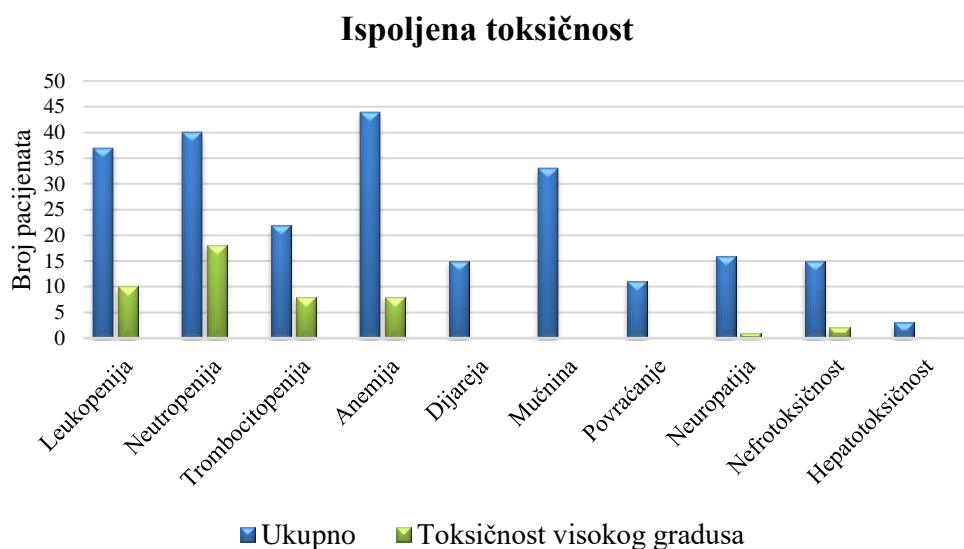


**Grafikon 7.** OS u odnosu na a) platinski derivat i b) vrstu hemioterapijskog protokola.

### 4.3. Toksičnost primenjene HT

Procena ispoljenih neželjenih efekata hemioterapije je vršena nakon svakog primenjenog ciklusa. Toksičnost bilo kog gradusa je tokom lečenja registrovana kod 63, odnosno 52.1% ispitanika, a toksičnost visokog gradusa, ovde definisano kao gradus 3 i više, je zabežena kod 46, odnosno 38% ispitanika. Kod dva ispitanika je ispoljena toksičnost dovela do smrtnog ishoda, u oba slučaja se radilo o neutropeniji gr.4 sa febrilnim stanjem i sepsom.

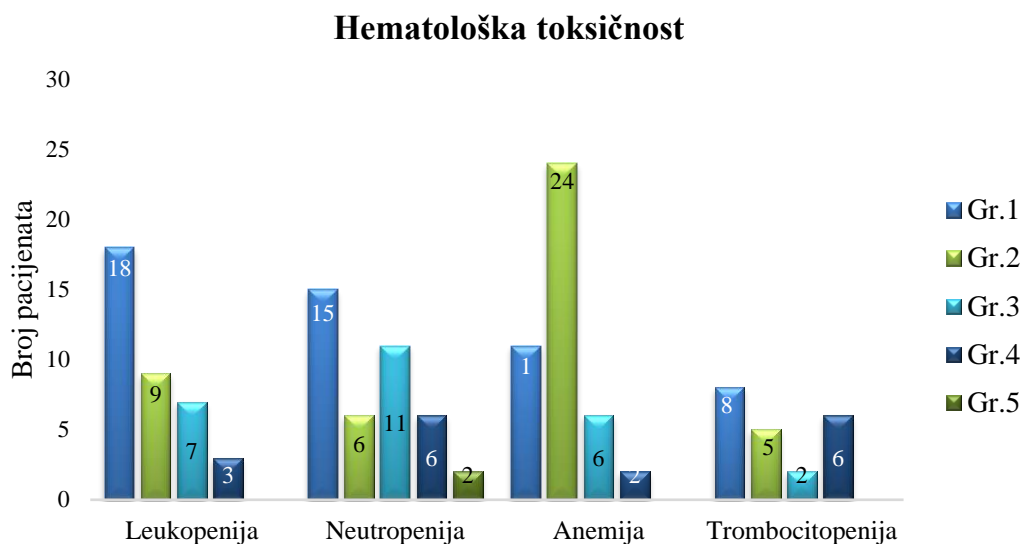
Toksičnosti koje su praćene u ovom radu su detektovane u sledećem rasporedu: leukopenija kod 37 (30.6%) ispitanika, neutropenija kod 40 (33.1%), trombocitopenija kod 22 (18.2%), anemija kod 44 (36.4%), dijareja kod 15 (12.4%), mučnina kod 33 (27.3%), povraćanje kod 11 (9.1%), neuropatija kod 16 (13.2%), porast kreatinina, odnosno nefrotoksičnost kod 15 (12.4%) i porast transaminaza, odnosno hepatotoksičnost kod 3 ispitanika (2.5%), što je prikazano na slici 10.



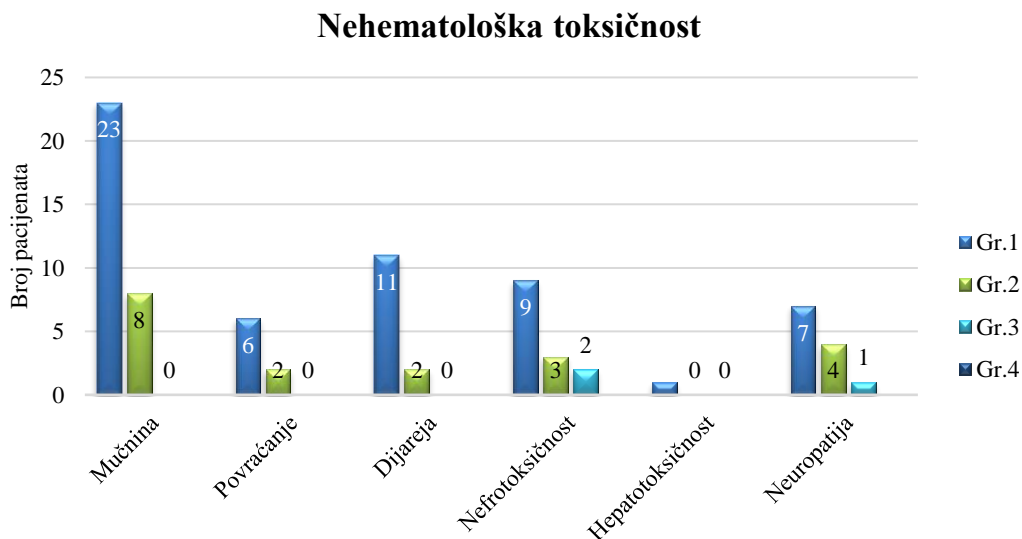
**Slika 10.** Ispoljena toksičnost u celoj grupi.

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.

Na slikama 11 i 12 je prikazan broj pacijenata i gradusi pojedinačnih toksičnosti praćenih u ovom radu:

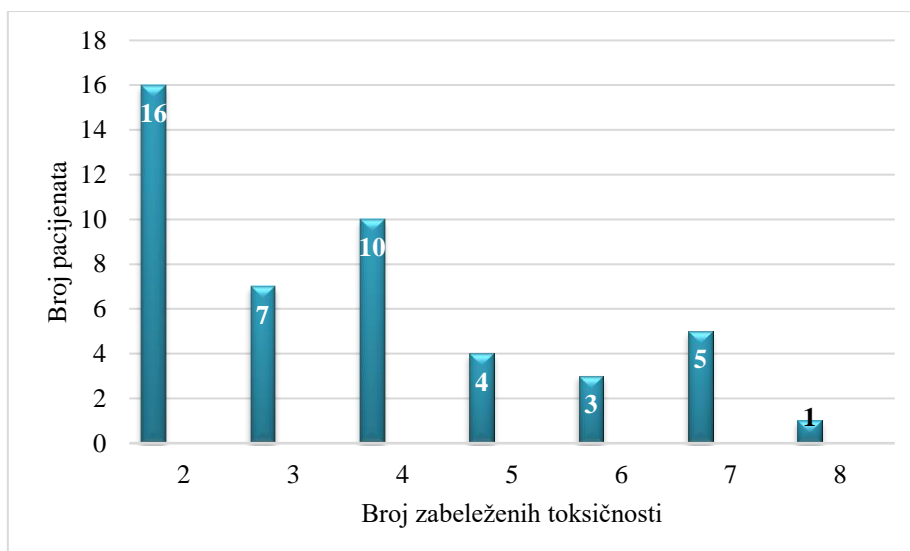


**Slika 11.** Hematološka toksičnost u celoj grupi, broj pacijenata i gradusi.



**Slika 12.** Nehematološka toksičnost u celoj grupi, broj pacijenata i gradusi.

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 čak 8 različitih vrsti toksičnosti, što je prikazano na slici 13.



**Slika 13.** Broj pacijenata sa više toksičnosti.

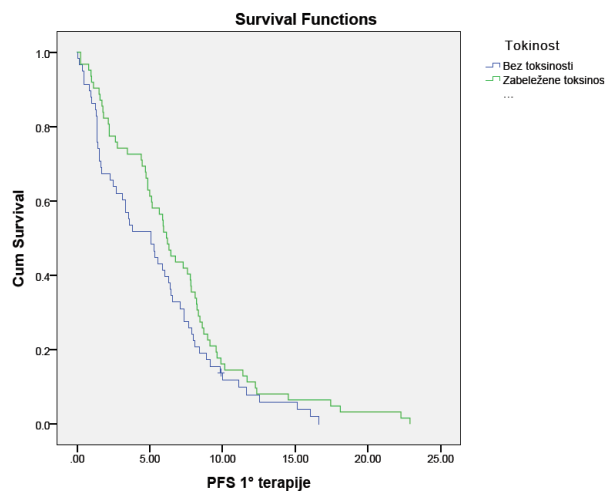
Kod samo 3 pacijenta je ispoljena toksičnost zahtevala redukciju doze lekova. Nije bilo potrebe za prekidom primene terapije usled toksičnosti. Hematološka toksičnost se najčešće javljala nakon drugog i trećeg ciklusa HT, a nehematološka ranije, nakon prvog ciklusa, osim neuropatije koja se najčešće javljala nakon 3 do 4 ciklusa HT.

#### **4.4. Povezanost preživljavanja i ispoljene 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 (gradus 3 i više) 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  $p=0.012$  (grafikon 8).

	<b>mPFS meseci (CI 95%)</b>
<b>Bez toksičnosti</b>	5.06 (2.85-7.26)
<b>Ispoljena toksičnost</b>	6.14 (5.07-7.22)

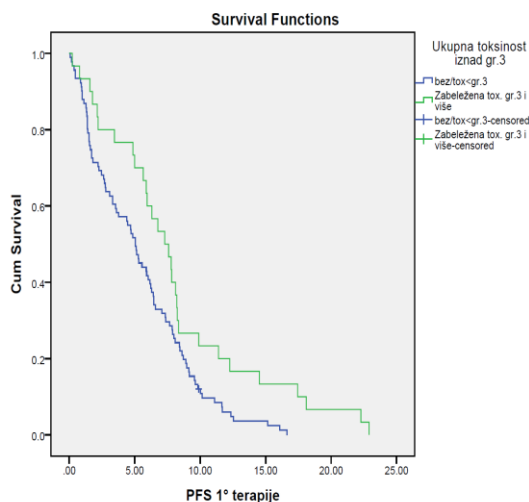
p-0.102



a)

	<b>mPFS meseci (CI 95%)</b>
<b>Tox niskog gradusa</b>	5.06 (4.08-6.04)
<b>Tox ≥ gradus 3</b>	7.29 (5.31-9.28)

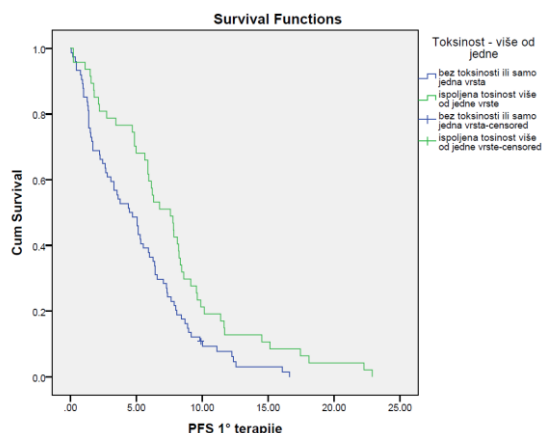
p-0.012



b)

**Grafikon 8.** PFS u odnosu na ispoljenu toksičnost, a) u celini i b) u odnosu na gradus.

Takođe je registrovana visoko statistički značajna razlika u mPFS u odnosu na broj različitih vrsta toksičnosti, odnosno 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%) kod pacijenata kod kojih je ispoljena samo jedna vrsta toksičnosti ili nisu imali toksičnosti, log-rank p-0.004. (Grafikon 9)

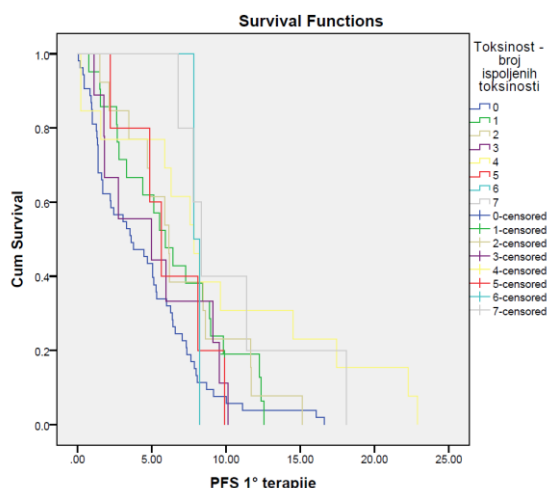


	mPFS meseci (CI 95%)
<b>Bez ili 1 toksičnost</b>	4.47 (2.81-6.13)
<b>≥2 toksičnosti</b>	7.59 (5.43-9.75)

**p-0.004**

**Grafikon 9.** PFS u odnosu na broj ispoljenih toksičnosti, manje od 2 vs 2 i više.

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 (Grafikon 10).



**Grafikon 10.** PFS u odnosu na broj različitih toksičnosti

Što se tiče ukupnog preživljavanja, detektovana je visoko statistički značajna razlika u medijani ukupnog preživljavanja. 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. Za razliku od PFS, u ovoj analizi nije registrovana statistički značajna razlika u mOS u odnosu na pojavu toksičnosti visokog gradusa, mOS 15.24 meseci (13.07-17.42 CI 95%) kod pacijenata kod kojih je ispoljena toksičnost visokog gradusa prema 9.99 meseci (7.90-12.08, CI 95%) kod onih bez visoke toksičnosti, log-rank p-0.082 (grafikon 11).

a)

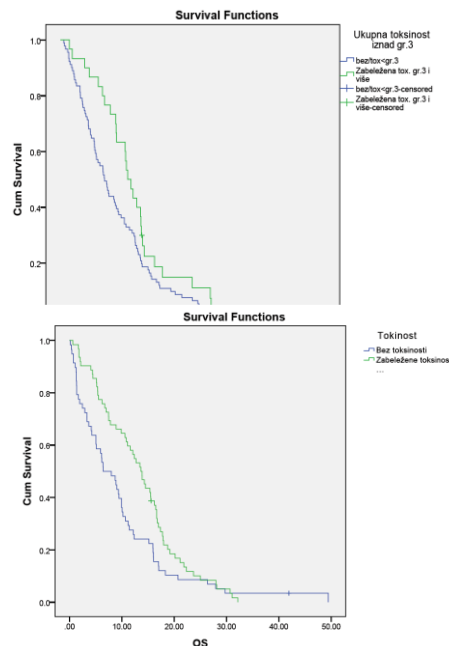
	<b>mOS meseci (CI 95%)</b>
<b>Bez toksičnosti</b>	6.44 (7.20-12.81)
<b>Ispoljena toksičnost</b>	13.63 (11.51-15.50)

**p-0.032**

b)

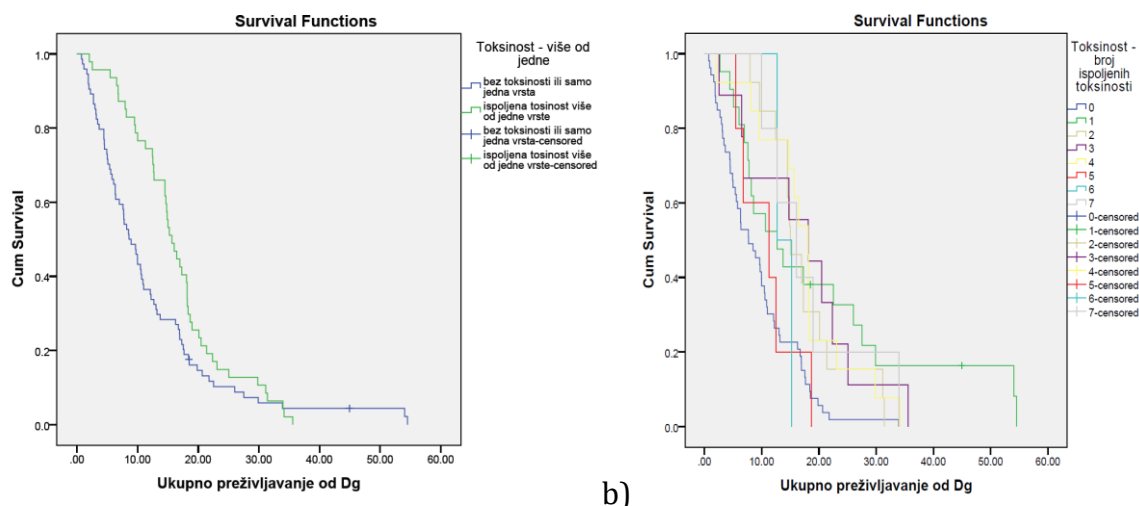
	<b>mOS meseci (CI 95%)</b>
<b>Tox niskog gradusa</b>	9.99 (7.90-12.08)
<b>Tox visokog gradusa</b>	15.24 (13.07-17.42)

**p-0.098**



**Grafikon 11.** OS u odnosu na ispoljenu toksičnost, a) u celini i b) u odnosu na gradus.

Statistički značajna razlika je viđena i u odnosu na broj ispoljenih toksičnosti. 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%) kod pacijenata bez ili sa jednom ispoljenom toksičnosti, log-rank 0.032. Kao i kod vremena do progresije, 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%), što je prikazano na grafikonu 12.



	mPFS meseci (CI 95%)	Log-rank <b>p-0.001</b>
<b>Bez ili 1 toksičnost</b>	8.57 (6.22-10.93)	
<b>≥2 toksičnosti</b>	15.67 (13.55-17.79)	

**p-0.032**

**Grafikon 12.** OS u odnosu na broj ispoljenih toksičnosti, a) manje od 2 vs 2 i više; b) u odnosu na broj.

#### 4.5. Analiza asocijacije polimorfnih varijanti gena *XRCC1*, *RAD51* i *TP53* sa preživljavanjem i efikasnošću primenjene terapije

##### 4.5.1. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* sa preživljavanjem

Analiza asocijacije ispitivanih genotipova pojedinačno (Arg/Arg vs Arg/Gln vs Gln/Gln) nije pokazala statistički značajnu razliku u medijani PFS, 6.14 prema 4.86 prema 5.32 meseci, log rank p-0.46. Što se tiče medijane ukupnog preživljavanja, postoji trend ka statističkoj značajnosti u korist dužeg ukupnog preživljavanja nosioca Arg/Arg genotipa, mOS 16.89 prema 11.62 prema 11.03 meseci, Breslow p-0.033, međutim ova razlika se nije pokazala statistički značajnom korišćenjem log-rank testa (p-0.184).

**Tabela 16.** mPFS i mOS u odnosu na pojedinačne genotipove *XRCC1*.

	mPFS meseci (95% CI)	mOS meseci (95% CI)
<b>Arg/Arg</b>	6.14 (4.60-7.68)	16.89 (10.47-14.96)
<b>Arg/Gln</b>	4.86 (1.81-7.92)	11.62 (3.37-10.10)
<b>Gln/Gln</b>	5.32 (2.68-7.96)	11.03 (5.22-8.77)
<b>Log-rank</b>	0.463	0.184
<b>Breslow</b>	0.295	<b>0.033</b>

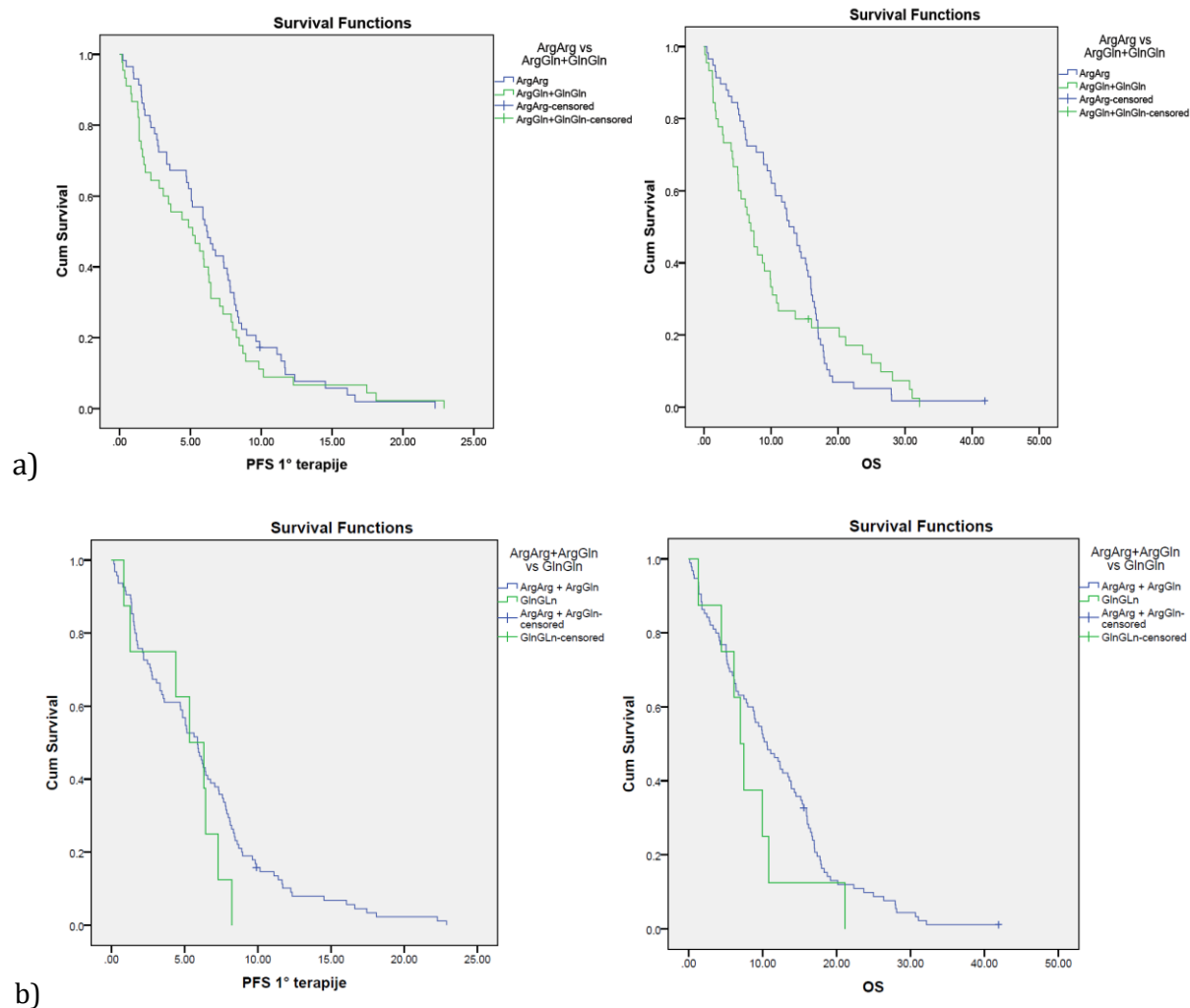
Eventualni značaj uočenih potencijalnih razlika je dalje ispitivan primenjujući dominantni i recesivni model nasleđivanja, a rezultati su prikazani u Tabeli 17.

**Tabela 17.** Uticaj genetičke varijante Arg399Gln gena *XRCC1* na PFS i OS u dominantnom i recesivnom modelu.

Gen	Model asocijacije	mPFS, meseci (95% CI)	p vrednost (Log Rank test)	mOS, meseci (95% CI)	p vrednost (Log Rank test)
<b>XRCC1</b>	<b>Dominantni model</b>	6.14 (4.60-7.68)	0.397	15.01(13.13-16.89)	<b>0.009</b>
	ArgArg vs. ArgGln+ GlnGln	5.16 (2.48-7.84)		8.58 (6.24-10.91)	
	<b>Recesivni model</b>				
	ArgArg + ArgGln vs. GlnGln	5.88 (4.81-6.95)	0.262	12.65 (9.17-16.13)	0.158
		5.32 (2.68-7.96)		8.57 (6.12-11.03)	

Kada se primeni dominantni model nasleđivanja (Arg/Arg vs Arg/Gln + Gln/Gln), nema statistički značajne razlike u medijani PFS 6.14 prema 5.16 meseci (p-0.397). Međutim, primenom istog modela, pokazana je statistički visoko značajna razlika u medijani ukupnog preživljavanja, Arg/Arg mOS 15.01 naspram Arg/Gln + Gln/Gln mOS 8.57 meseci, p-0.009. Primenom recesivnog modela nasleđivanja nije uočena statistički značajna razlika u medijani PFS niti OS. Ovi rezultati ukazuju na to da nosioci Arg alela samo u homozigotnom obliku imaju statistički značajno duže preživljavanje, odnosno da nosioci Arg/Arg genotipa imaju veću verovatnoću za kasnijom pojavom progresije bolesti. Dakle, kod nosilaca Arg/Arg genotipa može se očekivati da ukupno preživljavanje od dijagnoze bude duže u odnosu na nosioce Gln alela u bilo kom obliku (Arg/Gln ili Gln/Gln), grafikon 13.





**Grafikon 13.** Uticaj genetičke varijante Arg399Gln gena XRCC1 na PFS i OS korišćenjem a) dominantnog i b) recesivnog modela nasleđivanja.

#### 4.5.2. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena *RAD51* (rs1801320) sa preživljavanjem

U celoj grupi medijana PFSa je iznosila 5.88 meseci. Nije uočena statistički značajna razlika u mPFS između pojedinačnih genotipova, G/G prema G/C prema C/C (5.91 prema 4.47 prema 7.85 meseci).

U celoj grupi medijana ukupnog preživljavanja je iznosila 11.30 meseci. Nije registrovana statistički značajna razlika u mOS između pojedinačnih genotipova, log-rank p-0.497, Breslow 0.839.

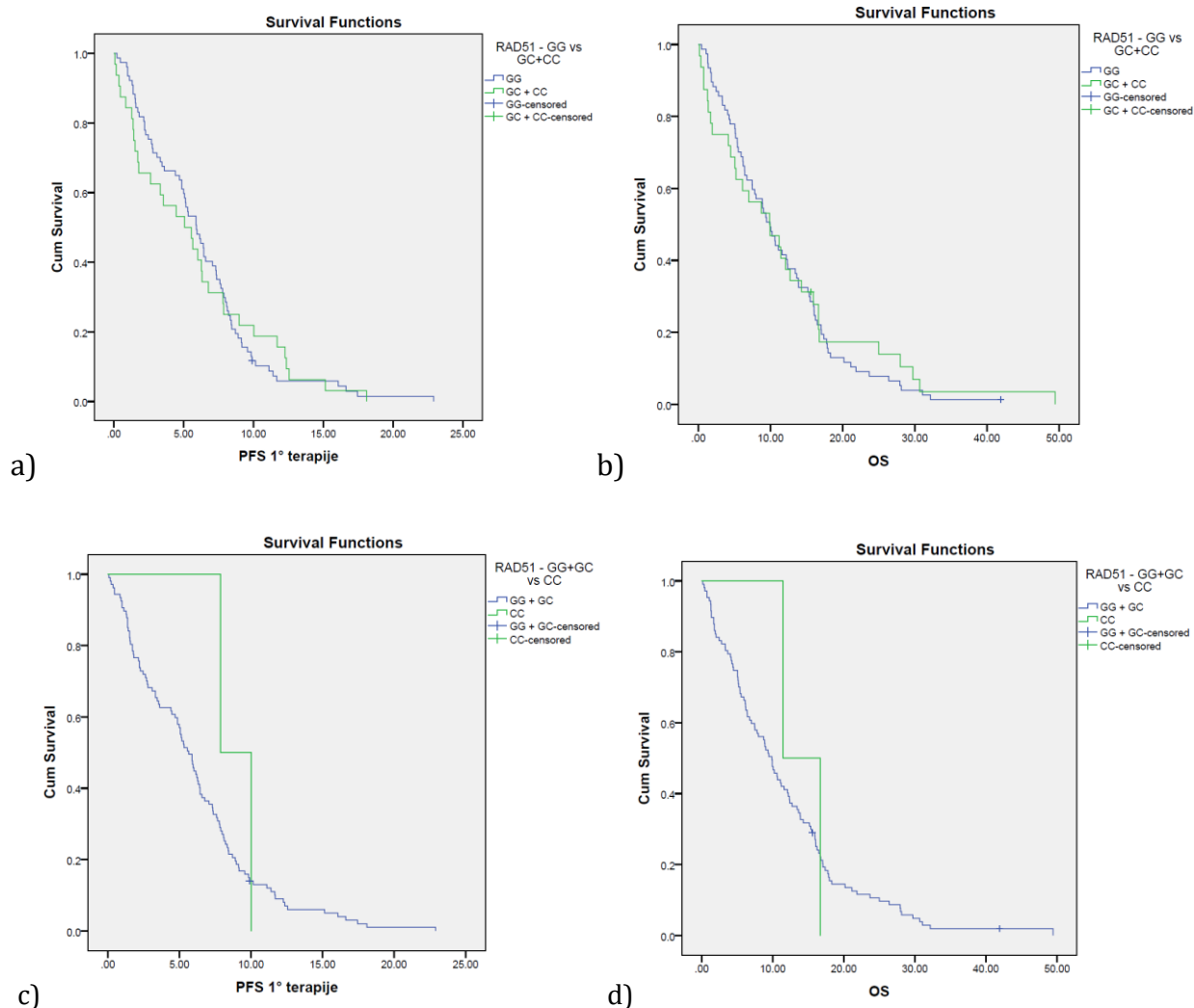
**Tabela 18.** mPFS i mOS u odnosu na pojedinačne genotipove *RAD51*.

	<b>mPFS, meseci (95% CI)</b>	<b>mOS, meseci (95% CI)</b>
<b>G/G (77)</b>	5.91 (4.72-7.11)	11.01 (8.09-13.93)
<b>G/C (30)</b>	4.47 (1.47-7.47)	10.58 (6.35-14.81)
<b>C/C (2)</b>	7.85	12.09
Log-rank	0.770	0.497
Breslow	0.238	0.839

Korišćenjem dominantnog i recesivnog modela nasleđivanja, nije detektovana statistički značajna razlika u medijani PFS i OS, odnosno prisustvo određenih alela gena *RAD51* ispitivane polimorfne varijante ne utiče na preživljavanje pacijenata u ovoj grupi. Ovi rezultati su prikazani u tabeli 19 i grafikonu 14.

**Tabela 19.** Uticaj genetičke varijante G135C gena *RAD51* na PFS i OS u dominantnom i recesivnom modelu.

<b>Gen</b>	<b>Model asocijacije</b>	<b>mPFS, meseci (95% CI)</b>	<b>p vrednost (Log Rank test)</b>	<b>mOS, meseci (95% CI)</b>	<b>p vrednost (Log Rank test)</b>
<b>RAD51</b>	<b>Dominantni model</b>			11.01 (8.09- 13.92)	
	GG vs.	5.91 (4.72-7.11)	0.941		0.242
	GC + CC	5.06 (2.14-7.97)		12.09 (7.95- 16.23)	
	<b>Recesivni model</b>			11.01 (8.55- 13.46)	0.927
	GG + GC vs. CC	5.65 (4.77-6.53)	0.503		
		7.85 (-)		12.09 (-)	



**Grafikon 14.** Uticaj genetičke varijante G135C gena *RAD51* na PFS i OS u dominantnom (a,b) i recesivnom modelu nasleđivanja (c,d).

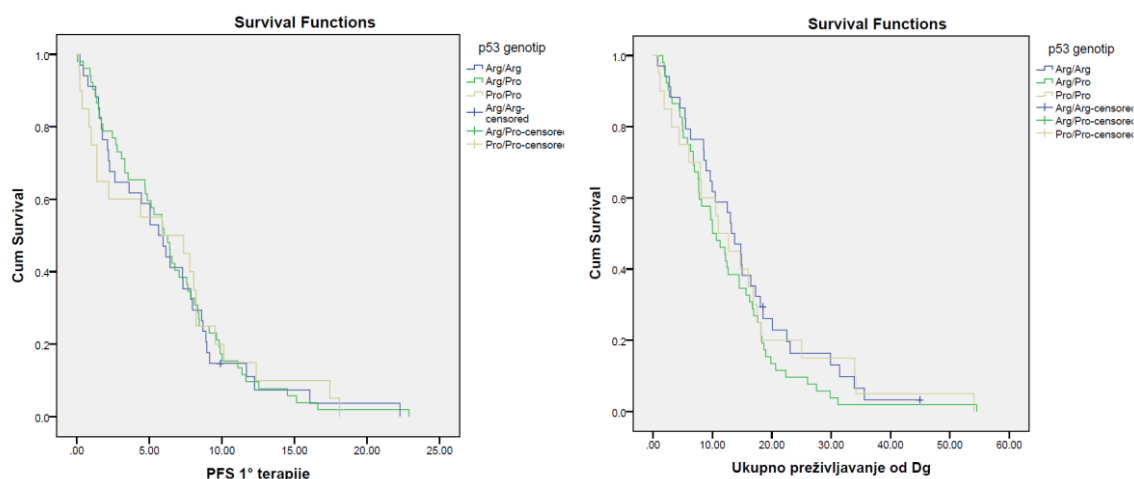
#### 4.5.3. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* i preživljavanja

U celoj grupi medijana PFSa je iznosila 5.95 meseci. Nije uočena statistički značajna razlika u mPFS između pojedinačnih genotipova, Arg/Arg prema Arg/Pro prema Pro/Pro (5.65 prema 6.01 prema 5.88 meseci, log-rank p-0.972).

**Tabela 20.** mPFS i mOS u odnosu na pojedinačne genotipove *TP53*.

	mPFS (CI 95%)	mOS (CI 95%)
<b>Arg/Arg</b>	5.65 (3.74-7.57)	13.21 (9.67-16.45)
<b>Arg/Pro</b>	6.01 (4.69-7.33)	10.02 (7.16-12.88)
<b>Pro/Pro</b>	5.88 (0.00-12.36)	11.01 (6.33-15.69)
Log-rank	0.972	0.417
Breslow	0.856	0.503

U celoj grupi medijana ukupnog preživljavanja je iznosila 12.09 meseci. Nije registrovana statistički značajna razlika u mOS između pojedinačnih genotipova, log-rank p-0.417, Breslow 0.503 (tabela 20 i grafikon 15).

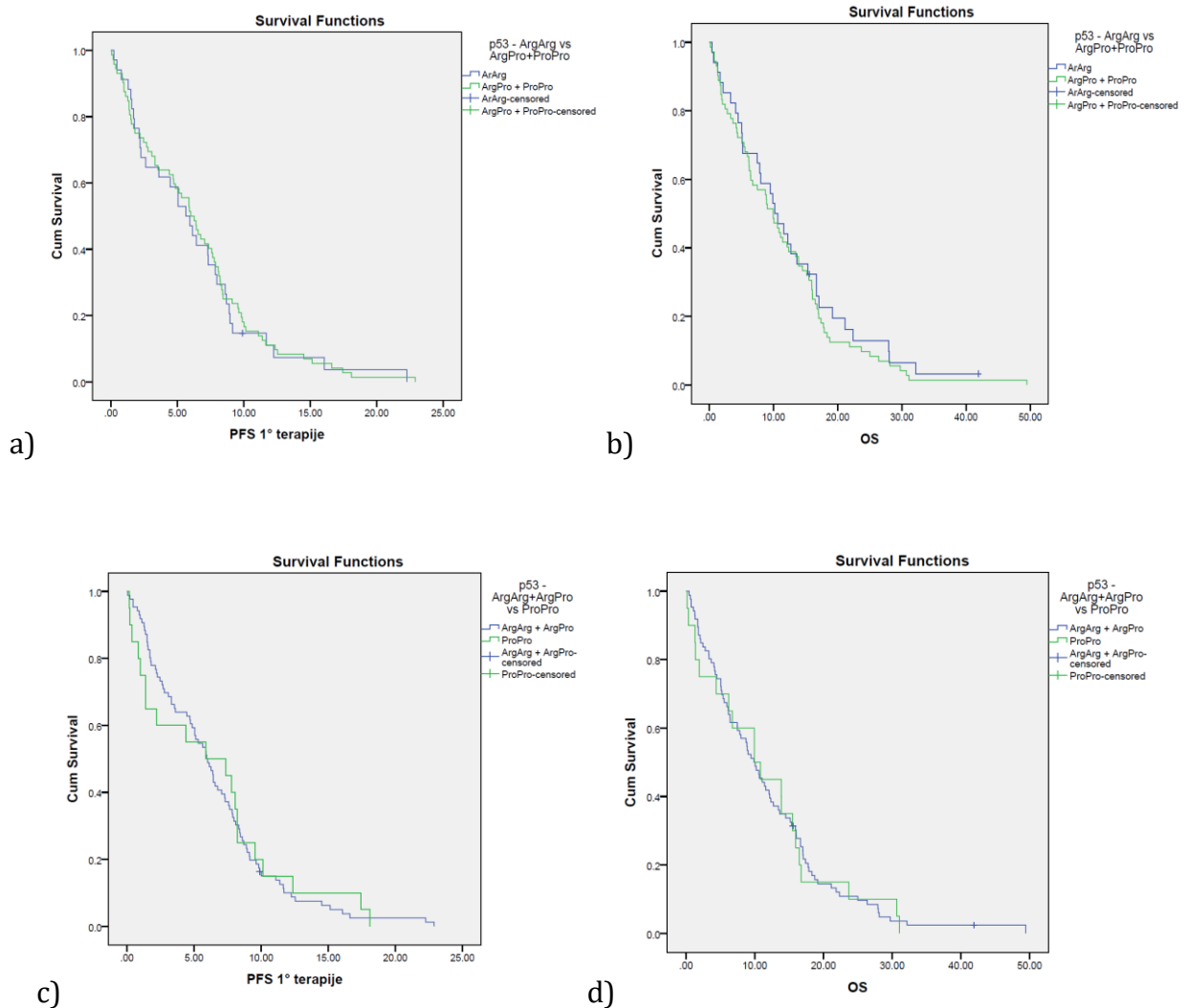


**Grafikon 15.** PFS i OS u odnosu na pojedinačne genotipove *TP53*.

Mogućnost pojave razlike u preživljavanju je dalje ispitivana primenom dominantnog i recesivnog modela nasleđivanja. Nije detektovana statistički značajna razlika u mPFS i mOS u odnosu na polimorfne varijante ovog gena ni korišćenjem ove metode (tabela 21, grafikon 16).

**Tabela 21.** Uticaj genetičke varijante Arg72Pro gena *TP53* na PFS i OS u dominantnom i recesivnom modelu.

Gen	Association model	mPFS, meseci (95% CI)	P vrednost (Log Rank test)	mOS, months (95% CI)	P vrednost (Log Rank test)
<b>Dominantni model</b>					
	ArgArg vs. ArgPro + ProPro	5.65 (3.74-7.57)	0.831	13.20 (10.00-16.45)	0.288
<b>TP53</b>					
<b>Recesivni model</b>					
	ArgArg + ArgPro vs. ProPro	5.95 (4.86-7.03)	0.909	12.09 (9.31-14.87)	0.754



**Grafikon 16.** Uticaj genetičke varijante Arg53Pro gena *TP53* na PFS i OS u dominantnom (a,b) i recesivnom modelu nasleđivanja (c,d).

#### **4.5.4. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* sa efikasnošću hemioterapije**

Učinjena je analiza asocijacije polimorfizma Arg399Gln gena *XRCC1* sa najboljim postignutim terapijskim odgovorom (CR, PR, SD ili PD). Korišćenjem dominantnog i recesivnog modela nasleđivanja nije detektovana statistički značajna razlika između nosilaca različitih varijanti (Pearson  $\chi^2$  p-0.321 u dominantnom i p-0.740 u recesivnom modelu.).

Nije registrovana statistički značajna razlika u registrovanoj CBR između nosilaca pojedinačnih genotipova (Pearson  $\chi^2$  p-0.125). Statistički značajna razlika nije detektovana ni korišćenjem dominantnog (Pearson  $\chi^2$  p-0.119) ni recesivnog modela nasleđivanja (Pearson  $\chi^2$  p-0.752).

Što se tiče duže trajanja postignutog terapijskog efekta (6 i više u odnosu na manje od 6 meseci) nije postignuta statistički značajna razlika između nosilaca pojedinačnih genotipova (Pearson  $\chi^2$  p-0.175). kao ni korišćenjem dominantnog (Pearson  $\chi^2$  p-0.175). i recesivnog modela nasleđivanja (Pearson  $\chi^2$  p-0.886).

#### **4.5.5. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena *RAD51* sa efikasnošću hemioterapije**

Učinjena je analiza asocijacije genetičke varijante G135C gena *RAD51* sa najboljim postignutim terapijskim odgovorom (CR, PR, SD ili PD). Analizom uticaja pojedinačnih genotipova (GG vs GC vs CC), a zatim i korišćenjem dominantnog (GG vs GG + CC) i recesivnog (GG + GC vs CC) modela nasleđivanja nije detektovana statistički značajna razlika (Pearson  $\chi^2$  p-0.451 u dominantnom i p-0.457 u recesivnom modelu.).

Nije registrovana statistički značajna razlika u registrovanoj CBR između nosilaca pojedinačnih genotipova (Pearson  $\chi^2$  p-0.096). Statistički značajna razlika nije detektovana ni korišćenjem dominantnog (Pearson  $\chi^2$  p-0.161) ni recesivnog modela nasleđivanja (Pearson  $\chi^2$  p-0.189).

Ispitujući asocijaciju ove polimorfne varijante sa dužinom trajanja postignutog terapijskog efekta (6 i više u odnosu na manje od 6 meseci) nije postignuta statistički značajna razlika između nosilaca pojedinačnih genotipova (Pearson  $\chi^2$  p-0.237). kao ni korišćenjem dominantnog (Pearson  $\chi^2$  p-0.422). i recesivnog modela nasleđivanja (Pearson  $\chi^2$  p-0.128).

#### **4.5.6. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* sa efikasnošću hemioterapije**

Učinjena je analiza asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* sa najboljim postignutim terapijskim odgovorom (CR, PR, SD ili PD). Analizom uticaja pojedinačnih genotipova (Arg/Arg vs Arg/Pro vs Pro/Pro), a zatim i korišćenjem dominantnog (Arg/Arg vs Arg/Pro + Pro/Pro) i recesivnog (Arg/Arg + Arg/Pro vs Pro/Pro) modela nasleđivanja nije detektovana statistički značajna razlika (Pearson  $\chi^2$  p-0.830 u dominantnom i p-0.779 u recesivnom modelu.).

Nije registrovana statistički značajna razlika u registrovanoj CBR između nosilaca pojedinačnih genotipova (Pearson  $\chi^2$  p-0.096). Statistički značajna razlika nije detektovana ni korišćenjem dominantnog (Pearson  $\chi^2$  p-0.161) ni recesivnog modela nasleđivanja (Pearson  $\chi^2$  p-0.189).

Ispitujući asocijaciju ove polimorfne varijante sa dužinom trajanja postignutog terapijskog efekta (6 i više u odnosu na manje od 6 meseci) nije postignuta statistički značajna razlika između nosilaca pojedinačnih genotipova (Pearson  $\chi^2$  p-0.907). kao ni korišćenjem dominantnog (Pearson  $\chi^2$  p-0.598) i recesivnog modela nasleđivanja (Pearson  $\chi^2$  p-0.418).

#### 4.6. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* i ispoljene toksičnosti hemioterapije

Ispitana je povezanost ovog polimorfne varijante gena *XRCC1* sa ispoljenom toksičnošću primenjene HT kako ukupno, tako i pojedinačnih toksičnosti, uzimajući u obzir i gradus toksičnosti. Ispitan je uticaj genotipova pojedinačno, a zatim korišćenjem dominantnog i recesivnog modela asocijacije.

**Tabela 22.** Uticaj pojedinačnih genotipova na ispoljenu toksičnost ukupno i visokog gradusa.

	Ispoljena toksičnost (N, %)	Bez toksičnosti (N, %)	Toksičnost visokog gradusa (N, %)	Bez toksičnosti visokog gradusa (N, %)
<b>Arg/Arg</b>	33 (32.4)	25 (24.5)	17 (16.5)	41 (39.8)
<b>Arg/Gln</b>	18 (17.6)	18 (17.6)	9 (8.7)	28 (27.2)
<b>Gln/Gln</b>	3 (2.9)	5 (4.9)	3 (2.9)	5 (4.9)
<b>Pearson test</b> $\chi^2$	0.730		0.722	

Nije registrovana statistički značajna razlika u pojavi toksičnosti bilo kog gradusa u odnosu na pojedinačni genotip (Pearson  $\chi^2$  p-0.642), kao ni korišćenjem dominantnog (Pearson  $\chi^2$  p-0.730) i recesivnog (Pearson  $\chi^2$  p-0.653) modela asocijacije (Tabela 23).

U odnosu na toksičnost visokog gradusa takođe nije viđena statistički značajna razlika ni pojedinačno ni korišćenjem dominantnog i recesivnog modela asocijacije, odnosno ispitivana polimorfna varijanta gena *XRCC1* nema uticaj na pojavu toksičnosti visokog gradusa ( $\geq 3$ ) (Tabele 22 i 23).

**Tabela 23.** Uticaj polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* na ispoljenu toksičnost hemioterapije, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)							
Gen	Model asocijacije	Ispoljena toksičnost	Bez toksičnosti	P	Tox visokog gradusa	Bez tox visokog gradusa	tox p
<b><i>XRCC1</i></b>	<b>Dominantni model</b>	33 (32.4)	25 (24.5)	0.642	17 (16.5)	41 (39.8)	0.767
	Arg/Arg vs Arg/Gln + Gln/Gln	23 (22.5)	21 (20.6)		Vs 12 (11.7)	Vs 33 (32.0)	
	<b>Recesivni model</b>	51 (50.0) vs 5 (4.9)	43 (42.2) vs 3 (2.9)	0.653	26 (25.2)	69 (67.0)	0.541
	Arg/Arg + Arg/Gln vs Gln/Gln				Vs 3 (2.9)	Vs 5 (4.9)	

U odnosu na pojavu više od jedne različite vrste toksičnosti kod istog pacijenta, analizom uticaja ispitivanog polimorfizama gena *XRCC1* nije detektovana statistički značajna razlika ni u odnosu na pojedinačni genotip, ni primenom dominantnog i recesivnog modela, iako se uvidom u podatke stiče utisak da se više toksičnosti javljalo kod pacijenata koji su nosioci Arg alela, tabela 24.

**Tabela 24.** Uticaj polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* na broj različitih toksičnosti, pojedinačnih genotipova i korišćenjem dominantnog i recesivnog modela nasleđivanja.

	Broj pacijenata (%)				
	Arg/Arg	Arg/Gln	Gln/Gln	Dominantni model Arg/Arg vs Arg/Gln + Gln/Gln	Recesivni model Arg/Arg + Arg/Gln vs Gln/Gln
Bez ili jedna vrsta tox	31 (30.1)	25 (24.3)	6 (5.8)	31 (30.1) vs 31 (30.1)	56 (54.4) vs 6 (5.8)
Više od jedne vrste tox	27 (26.2) (48.5)	12 (11.7)	2 (1.9)	27 (26.2) vs 14 (13.6)	39 (37.9) vs 2 (1.9)
Pearson $\chi^2$	0.263			0.112	0.373

Zatim su učinjene analize asocijacije ispitivane polimorfne varijante gena *XRCC1* i ispoljenih različitih toksičnosti pojedinačno. Za svaku toksičnost je ispitano uticaj genotipova pojedinačno i korišćenjem dominantnog i recesivnog modela. Najpre je ispitana asocijacija sa svakim gradusom toksičnosti pojedinačno, a zatim u odnosu na pojavu toksičnosti visokog gradusa (gradus 3 i više).

#### 4.6.1. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* sa pojavom leukopenije

Pad broja leukocita, leukopenija, je ukupno registrovana kod 34 pacijenta, dok njih 69 nije ispoljilo ovu vrstu toksičnosti. U Tabeli 25 je prikazan broj pacijenata nosilaca pojedinih genotipova kod kojih je registrovana leukopenija, kao i raspodela po gradusima. Nije registrovana statistički značajna razlika u pojavi leukopenije uopšte, niti pojedinačno gradusa leukopenije u odnosu sa genotipove, Pearson  $\chi^2$  p-0.744.

**Tabela 25.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu leukopenije.

	Broj pacijenata (%)						
	Ispoljena leukopenija	Bez leukopenije	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
Arg/Arg	22 (21.4)	36 (35.0)	9 (8.7)	5 (4.9)	5 (4.9)	3 (2.9)	0
Arg/Gln	10 (9.7)	27 (26.2)	6 (5.8)	3 (2.9)	1 (1.0)	0	0
Gln/Gln	2 (2.0)	6 (5.8)	1 (1.0)	0	1 (1.0)	0	0
Pearson $\chi^2$ test	0.744						

Detaljnija analiza je sprovedena korišćenjem dominantnog i recesivnog modela nasleđivanja. Ni na taj način nije viđena statistički značajna razlika u pojavi leukopenije uopšte, niti u pojavi pojedinačnih gradusa, Pearson  $\chi^2$  u dominantom moledu p-456, a u recesivnom p-0.831 (tabela 26).



**Tabela 26.** Uticaj polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* na ispoljenu leukopeniju, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)								
Gen	Model asocijacije	Ispoljena leukopenija	Bez leukopenije	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
<i>XRCC1</i>	<b>Dominantni model</b>	22 (21.4)	36 (35.0)	9 (8.7)	5 (4.9)	5 (4.9)	3 (2.9)	0 vs 0
	Arg/Arg vs Arg/Gln + Gln/Gln	vs	vs	vs	vs	vs	vs	
	12 (11.7)	33 (32.0)	7 (6.8)	3 (2.9)	2 (1.9)	0		
	<b>Recesivni model</b>	Arg/Arg + Arg/Gln vs Gln/Gln	63 (61.2)	15 (14.6)	8 (7.8)	6 (5.8)	3 (2.9)	0 vs 0
		vs	vs	vs	vs	vs	vs	
		6(5.8)	1 (1.0)	0	1 (1.0)	0		
<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>		<b>Dominantni model</b>			0.456			
		<b>Recesivni model</b>			0.831			

U ovoj grupi pacijenata nije detektovana statistički značajna razlika u pojavi leukopenije visokog gradusa između genotipova pojedinačno (Pearson  $\chi^2$  0.197), niti korišćenjem dominantnog (Pearson  $\chi^2$  0.112) i recesivnog modela nasleđivanja (Pearson  $\chi^2$  0.781).

**Tabela 27.** Uticaj polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* na pojavu leukopenije visokog gradusa, pojedinačni genotipovi i korišćenjem dominantnog i recesivnog modela asocijacije.

	Broj pacijenata (%)				
	Arg/Arg	Arg/Gln	Gln/Gln	Dominantni model Arg/Arg vs Arg/Gln + Gln/Gln	Recesivni model Arg/Arg + Arg/Gln vs Gln/Gln
<b>Leukopenija gr <math>\geq 3</math></b>	8 (7.8)	1 (1.0)	1 (1.0)	8 (7.8) vs 2 (1.9)	9 (8.7) vs 1 (1.0)
<b>Bez leukopenije gr <math>\geq 3</math></b>	50 (48.5)	36 (35.0)	7 (6.8)	50 (48.5) vs 43 (41.7)	86 (83.5) vs 9 (8.7)
<b>Pearson <math>\chi^2</math></b>	0.197			0.112	0.781

#### 4.6.2. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* sa pojavom neutropenije

Neutropenija bilo kog gradusa je registrovana kod 35 (34%) pacijenata. Raspodela broja pacijenata kod kojih je registrovana neutropenija po gradusima i u odnosu na genotip je prikazana u tabeli 28. U odnosu na pojedinačne genotipove, nema statistički značajne razlike u pojavi pojedinačnih gradusa neutropenije (Pearson  $\chi^2$  p-0.953).

**Tabela 28.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu neutropenije.

Broj pacijenata (%)							
	Ispoljena neutropenija	Bez neutropenije	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
Arg/Arg	22 (24.6)	36 (35.3)	7 (6.9)	3 (2.9)	5 (4.9)	5 (4.9)	2(1.94)
Arg/Gln	11 (12.3)	26 (25.5)	5 (4.9)	1 (1.0)	4 (3.9)	1 (1.0)	0
Gln/Gln	2 (1.94)	6 (5.9)	1 (1.0)	0	1 (1.0)	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> test</b>	0.953						

Korišćenjem dominantnog i recesivnog modela nasleđivanja takođe nije pokazana statistički značajna razlika u pojavi pojedinačnih gradusa neutropenije, Pearson  $\chi^2$  u dominantnom modelu p-606, a u recesivnom p-0.955 (tabela 29).

**Tabela 29.** Uticaj polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* na ispoljenu neutropeniju, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)								
Gen	Model asocijacije	Ispoljena neutropenija	Bez neutropenije	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
	<b>Dominantni model</b>	22 (21.3)	36 (35.3)	7 (6.9)	3 (2.9)	5 (4.9)	5 (4.9)	2 (1.94)
	Arg/Arg vs Arg/Gln + Gln/Gln	vs	vs	vs	vs	vs	vs	vs
		13 (12.6)	32 (31.4)	6 (5.9)	1 (1.0)	5 (4.9)	1 (1.0)	0
<i>XRCC1</i>	<b>Recesivni model</b>							2 (1.94)
	Arg/Arg + Arg/Gln vs Gln/Gln	33 (32.0)	62 (60.8)	12(11.8)	4 (3.9)	9 (8.8)	6 (5.9)	vs
		vs	vs	) vs	vs	vs	vs	vs
		8 (7.77)	6 (5.9)	1 (1.0)	0	1 (1.0)	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>		<b>Dominantni model</b>			0.606			
		<b>Recesivni model</b>			0.955			

Što se tiče ispoljene neutropenije visokog gradusa nema statistički značajne razlike između nosilaca pojedinačnih genotipova (Pearson  $\chi^2$  0.723) niti korišćenjem dominantnog (Pearson  $\chi^2$  0.422) i recesivnog modela nasleđivanja (Pearson  $\chi^2$  0.742).

**Tabela 30.** Uticaj polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* na pojavu neutropenije visokog gradusa, pojedinačni genotipovi i korišćenjem dominantnog i recesivnog modela asocijacije.

	Broj pacijenata (%)				
	Arg/Arg	Arg/Gln	Gln/Gln	Dominantni model Arg/Arg vs Arg/Gln + Gln/Gln	Recesivni model Arg/Arg + Arg/Gln vs Gln/Gln
<b>Neutropenija gr ≥3</b>	11 (10.8)	5 (4.9)	1 (1.0)	11 (10.8) vs 6 (5.9)	16 (15.7) vs 1 (1.0)
<b>Bez neutropenije gr ≥3</b>	46 (45.1)	32 (31.4)	7 (6.8)	46 (45.1) vs 39 (38.2)	78 (76.5) vs 7 (6.9)
<b>Pearson <math>\chi^2</math></b>	0.723			0.422	0.742

#### 4.6.3. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* sa pojavom anemije

Anemija kao toksičnost primenjene terapije je registrovana kod 38 (36.9%) pacijenata, a kod svega 8 visokog gradusa (3 i više). U odnosu na pojedinačne ispitivane genotipove nije registrovana statistički značajna razlika u pojavi pojedinačnih gradusa anemije (Tabela 31).

**Tabela 31.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu anemije.

	Broj pacijenata (%)						
	Ispoljena anemija	Bez anemije	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
<b>Arg/Arg</b>	25 (24.3)	33 (32.4)	4 (3.9)	15(14.7)	4 (3.9)	2 (2.0)	0
<b>Arg/Gln</b>	10 (9.7)	27 (26.5)	3 (2.9)	5 (4.9)	2 (2.0)	0	0
<b>Gln/Gln</b>	3 (2.9)	4 (3.9)	1 (1.0)	2 (2.0)	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> test</b>	<b>0.094</b>						

U daljoj analizi korišćen je dominantni i recesivni model nasleđivanja (tabela 32). Nije registrovana statistički značajna razlika u pojavi pojedinačnih gradusa anemije u dominantnom modelu nasleđivanja (Pearson  $\chi^2$  p-0.509). U recesivnom modelu nasleđivanja detektuje se statistički značajna razlika u pojavi pojedinačnih gradusa anemije (Pearson  $\chi^2$  p-p-0.025), što bi ukazivalo na to da su nosioci Gln alela *XRCC1* gena u homozigotnom obliku Gln/Gln podložniji razvoju anemije.

**Tabela 32.** Uticaj polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* na ispoljenu anemiju, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)									
Gen	Model asocijacije	Ispoljena anemija	Bez anemije	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5	
<i>XRCC1</i>	<b>Dominantni model</b>								
	Arg/Arg vs Arg/Gln + Gln/Gln	24 (23.3) vs 18 (17.5)	33 (32.4) vs 31 (30.4)	4 (3.9) vs 4 (3.9)	15(14. 7 vs 7 (6.9)	4 (3.9) vs 7 (6.9)	1 (1.0) vs 0	0	
	<b>Recesivni model</b>								
	Arg/Arg + Arg/Gln vs Gln/Gln	33 (32.0) vs 8 (7.77)	60 (58.8) vs 4 (3.9)	7 (6.9) vs 1 (1.0)	20(19. 6 (5.98)	6 (5.98)	1 (1.0) vs 0	0	
	<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>				0.509				
		<b>Dominantni model</b>			<b>0.025</b>		<b>Recesivni model</b>		

Kao što je već navedeno, anemija visokog gradusa je registrovana kod svega 8 pacijenata u ovoj grupi. Obzirom na tako male brojeve učinjene analize nisu mogle detektovati eventualne razlike u pojavi ove toksičnosti kako u odnosu na pojedinačne genotipove, ali je razlika detekovana korišćenjem recesivnog modela nasleđivanja.

#### 4.6.4. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* sa pojavom trombocitopenije

Trombocitopenija je registrovana u malom broju pacijenata, njih 19 (18.4%) i to uglavnom gradusa 1 i 2. Nije detektovana statistički značajna razlika u pojavi trombocitopenije u odnosu na pojedinačne genotipove, Pearson  $\chi^2$  p-0.755 (Tabela 33).

**Tabela 33.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu trombocitopenije.

Broj pacijenata (%)							
	Ispoljena trombocitopenija	Bez trombocitopenije	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
Arg/Arg	12 (11.6)	45 (44.1)	5 (4.9)	4 (3.9)	1 (1.0)	2 (2.0)	0
Arg/Gln	6 (5.8)	31 (30.4)	1 (1.0)	1 (1.0)	1 (1.0)	3 (2.9)	0
Gln/Gln	1 (1.0)	7 (6.9)	0	0	0	1 (1.0)	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> test</b>	0.755						

Numerički se vidi razlika u pojavi toksičnosti u odnosu na prisustvo Arg alela, odnosno kod tih pacijenata se češće javlja visoki gradus trombocitopenije. Korišćenjem dominantnog i recesivnog modela nasleđivanja nije utvrđena statistički značajna razlika u pojavi pojedinačnih gradusa trombocitopenije, Pearson  $\chi^2$  u dominantom modelu p-0.358, a u recesivnom p-0.774 (tabela 34).

**Tabela 34.** Uticaj polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* na pojavu trombocitopenije, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)									
Gen	Model asocijacije		Ispoljena trombocitopenija	Bez trombocitopenije	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
<i>XRCC1</i>	<b>Dominantni model</b>		12 (11.6)	45 (44.1)	5 (4.9)	4 (3.9)	1 (1.0)	2 (2.0)	
	Arg/Arg vs Arg/Gln + Gln/Gln	vs	7 (6.8)	38 (37.3)	1 (1.0)	1 (1.0)	1 (1.0)	4 (3.9)	0
	<b>Recesivni model</b>		18 (17.5)	76 (74.5)	6 (5.9)	5 (4.9)	2 (2.0)	5 (4.9)	0
	Arg/Arg + Arg/Gln vs Gln/Gln	vs	1 (1.0)	7 (6.9)	0	0	0	1 (1.0)	
	<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>						0.358		
							0.774		

Kao i u pojave anemije, i trombocitopenija visokog gradusa se javila kod malog broja pacijenata, njih 8. Iako je numerički vidljiv trend češće pojave trombocitopenije kod nosilaca Arg alela, statističke analize nisu detektovale značajnu razliku ni u odnosu na pojedinačne genotipove, ni u dominantnom i recesivnom modelu nasleđivanja.

#### 4.6.5. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* sa pojavom dijareje

U ovoj grupi pacijenata, dijareja je registrovana kod svega 11 pacijenata, i to kod svih u gradusu 1 i 2. Pojedinačni podaci pokazuju da se dijareja javljala jedino kod nosilaca Arg alela kako u homozigotnom, tako i u heterozigotnom obliku. Međutim, statistički značajna razlika u pojavi dijareje među pojedinačnim genotipovima nije registrovana (Pearson  $\chi^2$  p-0.458, tabela 35), kao ni korišćenjem dominantnog (Pearson  $\chi^2$  p-0.355) i recesivnog modela nasleđivanja (Pearson  $\chi^2$  p-0.588, Tabela 36).

**Tabela 35.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu dijareje.

Broj pacijenata (%)							
	Ispoljena dijareja	Bez dijareje	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
Arg/Arg	6 (5.8)	51 (50.0)	4 (3.9)	2 (2.0)	0	0	0
Arg/Gln	5 (4.8)	31 (30.4)	5 (4.9)	0	0	0	0
Gln/Gln	0	7 (6.9)	0	0	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> test</b>	0.458						

**Tabela 36.** Uticaj polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* na pojavu dijareje, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)								
Gen	Model asocijacije	Ispoljena dijareja	Bez dijareje	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
<i>XRCC1</i>	<b>Dominantni model</b>							
	Arg/Arg vs Arg/Gln + Gln/Gln	6 (5.8) vs 5 (4.9)	51 (50.5) vs 39 (38.6)	4 (3.9) vs 5 (4.9)	2 (2.0) vs 0	0	0	0
	<b>Recesivni model</b>							
	Arg/Arg + Arg/Gln vs Gln/Gln	11 (10.7) vs 0	82 (81.2) vs 8 (7.9)	9 (8.9) vs 0	2 (2.0) vs 0	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>				<b>Dominantni model</b>		0.355		
				<b>Recesivni model</b>		0.588		

#### 4.6.6. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* sa pojavom nauzeje (mučnine)

U ispitivanoj grupi pacijenata, mučnina se javila kod njih 27 (26.2%). Nije bilo mučnine visokog gradusa, odnosno svi pacijenti su imali mučninu gradusa 1 ili 2. Nije registrovana statistički značajna razlika u pojavi mučnine u odnosu na pojedinačne genotipove (Pearson  $\chi^2$  p-0.727, Tabela 37).

**Tabela 37.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu mučnine.

Broj pacijenata (%)							
	Ispoljena mučnina	Bez mučnine	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
<b>Arg/Arg</b>	16 (15.5)	41 (40.6)	11 (10.9)	5 (5.0)	0	0	0
<b>Arg/Gln</b>	9 (8.7)	27 (26.7)	8 (7.9)	1 (1.0)	0	0	0
<b>Gln/Gln</b>	2 (2.0)	6 (5.9)	2 (2.0)	0	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> test</b>	0.727						

Korišćenjem dominantnog i recesivnog modela nasleđivanja, takođe nije registrovana statistički značajna razlika između nosilaca pojedinačnih alela, Pearson  $\chi^2$  u dominantnom modelu p-0.379, a u recesivnom p-0.743 (tabela 38).

**Tabela 38.** Uticaj polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* na pojavu mučnine, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)									
Gen	Model asocijacije	Ispoljena mučnina	Bez mučnine	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5	
XRCC1	<b>Dominantni model</b>			11(10.9)					
	Arg/Arg vs Arg/Gln + Gln/Gln	16 (15.5) vs 11 (10.9)	41 (40.6) vs 33 (32.7)	9 vs 10 (9.9)	5 (4.9) vs 1 (1.0)	0	0	0	
	<b>Recesivni model</b>			19(18.8)	6 (5.9)	0	0	0	
	Arg/Arg + Arg/Gln vs Gln/Gln	25 (24.3) vs 8 (7.8)	68 (67.3) vs 6 (5.9)	19(18.8) vs 2 (2.0)	6 (5.9) vs 0	0	0	0	
	<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>				<b>Dominantni model</b>		0.379		
					<b>Recesivni model</b>		0.743		

#### 4.6.7. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* sa pojavom povraćanja (emeze)

Povraćanje (emeza) je registrovano kod samo 7 pacijenata, kod svih gradusa 1 i 2, što ukazuje da je primenjena adekvatna antiemetička premedikacija. Numerički se vidi da se emeza nije javila ni kod jednog pacijenta sa homozigotnim Gln/Gln genotipom, odnosno moglo bi se reći da prisustvo Arg alela utiče na pojavu emeze. Međutim, radi se o malim brojevima te svi rezultati moraju biti uzeti sa tom ogradom. Nije detektovana statistički značajna razlika u pojavi emeze u odnosu na pojedinačne genotipove (Pearson  $\chi^2$  p-0.721), kao ni u odnosu na pojedinačni alel, kada je učinjena analiza korišćenjem dominantnog (Pearson  $\chi^2$  p-0.437) i recesivnog (Pearson  $\chi^2$  p-0.721) modela.

Rezultati su prikazani u Tabelama 39 i 40.

**Tabela 39.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu emeze.

Broj pacijenata (%)							
	Ispoljena emeza	Bez emeze	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
Arg/Arg	5 (4.9)	51 (51.0)	3 (2.9)	2 (2.0)	0	0	0
Arg/Gln	2 (2.0)	34 (34.0)	2 (2.0)	0	0	0	0
Gln/Gln	0	8 (7.9)	0	0	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> test</b>	0.721						

**Tabela 40.** Uticaj polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* na pojavu emeze, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)									
Gen	Model asocijacije	Ispoljena emeza	Bez emeze	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5	
<i>XRCC1</i>	<b>Dominantni model</b>								
	Arg/Arg vs Arg/Gln + Gln/Gln	5 (4.9) vs 2 (2.0)	51 (51.0) vs 42 (40.8)	3 (2.9) vs 2 (2.0)	2 (2.0) vs 0	0	0	0	
	<b>Recesivni model</b>								
	Arg/Arg + Arg/Gln vs Gln/Gln	7 (6.8) vs 0	85 (82.5) vs 8 (7.8)	5 (4.9) vs 0	2 (2.0) vs 0	0	0	0	
	<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>				Dominantni model Recesivni model		0.437 0.721		

#### 4.6.8. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* sa pojavom neuropatije

Kao jedna od mogućih toksičnosti primenjene hemioterapije karcinoma pluća javlja se i neuropatija, u ovom slučaju najčešće kao senzorna periferne neuropatija (SPN), i to najčešće prilikom primene cisplatine i paklitaksela. U ovoj grupi ispitanika SPN je registrovana kod 10 pacijenata (9.7%). Na osnovu analize uticaja pojedinačnih genotipova na pojavu SPN, viđena je statistički značajna razlika (Pearson  $\chi^2$  p-0.034, tabela 41).

**Tabela 41.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu neuropatije.

Broj pacijenata (%)							
	Ispoljena SPN	Bez SPN	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
Arg/Arg	5 (4.9)	50 (48.5)	3 (2.9)	2 (2.0)	0	0	0
Arg/Gln	3 (2.9)	33 (33.0)	2 (2.0)	1 (1.0)	0	0	0
Gln/Gln	2 (2.0)	6 (5.9)	0	1 (1.0)	1 (1.0)	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> test</b>	<b>0.034</b>						

Obzirom da se radi o malim brojevima, ova razlika je dalje ispitana primenom dominantnog i recesivnog modela asocijacije (Tabela 42).



**Tabela 42.** Uticaj polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* na pojavu trombocitopenije, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)									
Gen	Model asocijacije	Ispoljena SNP	Bez SNP	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5	
<i>XRCC1</i>	<b>Dominantni model</b>								
	Arg/Arg vs Arg/Gln + Gln/Gln	5 (4.9) vs 5 (4.9)	50 (48.5) vs 39 (37.9)	3 (2.9) vs 2 (2.0)	2 (2.0) vs 2 (2.0)	0 vs 1 (1.0)	0	0	
	<b>Recesivni model</b>								
	Arg/Arg + Arg/Gln vs Gln/Gln	8 (8.9) vs 2 (2.0)	83 (83.8) vs 6 (6.1)	5 (4.9) vs 0	3 (2.9) vs 1 (1.0)	0 vs 1 (1.0)	0	0	
	<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>				0.716				
		<b>Dominantni model</b>					<b>0.004</b>		
	<b>Recesivni model</b>								

Registrovana je statistički visoko značajna razlika primenom recesivnog modela (Pearson  $\chi^2$  p-0.004), što ukazuje da su nosioci Arg alela u bilo kom obliku, homo- ili heterozigotnom, podložniji razvoju neuropatije bilo kog gradusa.

#### 4.6.9. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* sa pojavom porasta kreatinina (nefrotoksičnosti)

Porast vrednosti kreatinina kao znak bubrežne (nefro) toksičnosti primenjene HT je registrovana kod 14 pacijenata (13.6%). Nema statistički značajne razlike u pojavi nefrotoksičnosti u odnosu na pojedinačni genotip (Pearson  $\chi^2$  p-0.911, tabela 43).

**Tabela 43.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu nefrotoksičnosti.

Broj pacijenata (%)							
	Ispoljena nefrotoksičnost	Bez nefrotoksičnosti	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
Arg/Arg	9 (8.9)	48 (47.1)	5 (4.9)	2 (2.0)	2 (2.0)	0	0
Arg/Gln	4 (3.9)	33 (32.4)	3 (2.9)	1 (1.0)	0	0	0
Gln/Gln	1 (1.0)	7 (6.9)	1 (1.0)	0	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> test</b>	0.911						

Analizom razlika korišćenjem dominantnog i recesivnog modela nasleđivanja takođe nije viđena statistički značajna razlika u pojavi ove vrste toksičnosti Pearson  $\chi^2$  u dominantnom modelu p-0.618, a u recesivnom p-0.906 (tabela 44). Samo 2 pacijenta su doživela pojavu nefortoksičnosti gradusa 3, oba su bili nosioci Arg/Arg genotipa, ali se obzirom na jako mali broj pacijenata, ne može govoriti o eventualnoj povezanosti pojave ove toksičnosti sa Arg alelom.

**Tabela 44.** Uticaj polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* na pojavu nefrotoksičnosti, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)								
Gen	Model asocijacije	Ispoljen ↑ kreatinina	Bez ↑ kreatinina	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
<i>XRCC1</i>	<b>Dominantni model</b>	9 (8.79)	48 (47.1)	5 (4.9)	2 (2.0)	2 (2.0)		
	vs			vs				
	Arg/Arg vs Arg/Gln + Gln/Gln	5 (4.9)	40 (39.2)	4 (3.9)	1 (1.0)	0	0	0
	<b>Recesivni model</b>							
	Arg/Arg + Arg/Gln vs Gln/Gln	13 (12.6)	81 (79.4)	8 (7.9)	3 (2.9)	2 (2.0)		
	vs			vs				
	Arg/Gln vs Gln/Gln	1 (1.0)	7 (6.9)	1 (1.0)	0	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>		<b>Dominantni model</b>			0.618			
		<b>Recesivni model</b>			0.906			

#### 4.6.10. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg399Gln gena *XRCC1* sa pojavom porasta transaminaza (hepatotoksičnosti)

Porast transaminasa je registrovana samo kod jednog od ispitana 103 pacijenta, u niskom gradusu, gr.1, tako da se ne može komentarisati povezanost pojave ove vrste toksičnosti sa određenim polimorfnim varijantama *XRCC1* gena.

#### 4.7. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena *RAD51* (rs1801320) i ispoljene toksičnosti hemioterapije

Ispitana je povezanost polimorfne varijante G135C gena *RAD51* sa ispoljenom toksičnošću primenjene HT kako ukupno, tako i pojedinačnih toksičnosti, uzimajući u obzir i gradus toksičnosti. Ispitan je uticaj polimorfnih varijanti pojedinačno, a zatim korišćenjem dominantnog i recesivnog modela nasleđivanja (Tabele 45 i 46).

**Tabela 45.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu toksičnosti, uopšte i visokog gradusa.

Broj pacijenata (%)				
	Ispoljena toksičnost	Bez toksičnosti	Toksičnost visokog gradusa	Bez toksičnosti visokog gradusa
G/G	38 (35.2)	38 (35.2)	18 (16.5)	59 (54.1)
G/C	14 (13.0)	16 (14.8)	7 (6.4)	23 (21.1)
C/C	1 (0.9)	1 (0.9)	0	2 (1.8)
<b>Pearson test</b>	$\chi^2$	0.953		0.738

**Tabela 46.** Uticaj polimorfne varijante G135C gena *RAD51* na pojavu toksičnosti, uopšte i visokog gradusa, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)							
Gen	Model asocijacije	Ispoljena toksičnost	Bez toksičnosti	p	Tox visokog gradusa	Bez visokog gradusa	tox p
RAD51	<b>Dominantni model</b> G/G vs G/C + C/C	38 (35.2) vs 17 (15.7)	38 (35.2) vs 15 (13.9)	0.767	18 (16.5) vs 7 (6.4)	59 (54.1) vs 25 (22.9)	0.865
	<b>Recesivni model</b> G/G + G/C vs C/C	54 (50.0) vs 1 (0.9)	52 (48.1) vs 1 (0.9)	0.979	25 (22.9) vs 0	82 (75.2) vs 2 (1.9)	0.436

Nije registrovana statistički značajna razlika u pojavi toksičnosti bilo kog gradusa u odnosu na pojedinačni genotip (Pearson  $\chi^2$  p-0.953), kao ni korišćenjem dominantnog (Pearson  $\chi^2$  p-0.767) i recesivnog (Pearson  $\chi^2$  p-0.979) modela nasleđivanja. Što se tiče pojave toksičnosti visokog gradusa, uvidom u pojedinačne podatke stiče se utisak da se ovaj nivo toksičnosti češće javljao kod pacijenata koji su nosioci G alela (nijedan pijent sa C/C genotipom nije imao visoku toksičnost), ali ovako viđene rezalike nisu potvrđene učinjenim statističkim analizama.

U odnosu na pojavu više od jedne različite vrste toksičnosti kod istog pacijenta, nije detektovana statistički značajna razlika ni u odnosu na pojedinačni genotip, ni primenom dominantnog i recesivnog modela asocijacije (Tabela 47).

**Tabela 47.** Uticaj polimorfne varijante G135C gena *RAD51* na pojavu više različitih toksičnosti.

	Broj pacijenata (%)				
	G/G	G/C	C/C	Dominantni model G/G vs G/C + C/C	Recesivni model G/G + G/C vs C/C
<b>Bez ili jedna vrsta tox</b>	45 (41.3)	22 (20.2)	1 (0.9)	45 (41.3) vs 23 (21.1)	67 (61.5) Vs 1 (0.9)
<b>Više od jedne vrste tox</b>	32 (29.4)	8 (7.3)	1 (0.9)	32 (29.4) vs 9 (8.3)	40 (36.7) vs 1 (0.9)
<b>Pearson <math>\chi^2</math></b>	0.337			0.187	0.715

Takođe su učinjene i analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena *RAD51* i ispoljenih različitih vrsta toksičnosti pojedinačno. Za svaku toksičnost je ispitan uticaj genotipova pojedinačno i korišćenjem dominantnog i recesivnog modela. Najpre je ispitana asocijacija sa svakim gradusom toksičnosti pojedinačno, a zatim u odnosu na pojavu toksičnosti visokog gradusa (gradus 3 i više). Rezultati su prikazani u odeljcima koji slede.

#### 4.7.1. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena *RAD51* sa pojavom leukopenije

Pad broja leukocita, leukopenija, je ukupno registrovana kod 32 (29.4%) pacijenta, dok njih 77 nije ispoljilo ovu vrstu toksičnosti. U tabeli 48 je prikazan broj pacijenata nosilaca pojedinih genotipova kod kojih je registrovana leukopenija, kao i raspodela po gradusima. Nije registrovana statistički značajna razlika u pojavi leukopenije uopšte, niti pojedinačno gradusa leukopenije u odnosu sa genotipove, Pearson  $\chi^2$  p-0.505. U ovoj grupi pacijenata, njih 6 je ispoljilo leukopeniju visokog gradusa.

**Tabela 48.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu leukopenije.

Broj pacijenata (%)							
	Ispoljena leukopenija	Bez leukopenije	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
G/G	21 (19.3)	56 (51.4)	10 (9.2)	6 (5.5)	3 (2.8)	2 (2.8)	0
G/C	10 (9.2)	20 (18.3)	7 (6.4)	2 (1.8)	1 (0.9)	0	0
C/C	1 (0.9)	1 (0.9)	0	1 (0.9)	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> test</b>	0.505						

Detaljnija analiza je sprovedena korišćenjem dominantnog i recesivnog modela nasleđivanja. Ni na taj način nije viđena statistički značajna razlika u pojavi leukopenije uopšte, niti u pojavi pojedinačnih gradusa (Pearson  $\chi^2$  u dominantnom modelu p-456, a u recesivnom p-0.831), iako numerički deluje da se leukopenija veoma retko javlja kod homozigotnih nosilaca recesivnog alela (CC). Radi se međutim o malom broju pacijenata koji imaju takav genotip (svega 3) tako da statističke analize ne mogu adekvatno obraditi tako male brojeve (Tabela 49).

**Tabela 49.** Uticaj polimorfne varijante G135C gena *RAD51* na pojavu leukopenije, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)								
Gen	Model asocijacije	Ispoljena leukopenija	Bez leukopenije	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
	<b>Dominantni model</b>	21 (19.3)	56 (51.4)	10 (9.2)	6 (5.5)	3 (2.8)	2 (1.8)	0 vs 0
	vs G/G vs G/C + C/C	11 (10.1)	21 (19.3)	7 (6.84)	3 (2.8)	1 (0.9)	0	
<b>RAD51</b>	<b>Recesivni model</b>	31 (28.4)	76 (69.7)	17	8 (7.3)	4 (3.7)	2 (1.0)	0 vs 0
	vs G/G + G/C vs C/C	1 (0.9)	1 (0.9)	(16.6) vs 0	vs 1 (0.9)	vs 0	vs 0	
<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>		<b>Dominantni model</b>			0.691			
		<b>Recesivni model</b>			0.303			

Ispitan je i uticaj ove varijante na pojavu leukopenije visokih gradusa, koja je registrovana kod svega 6 pacijenata. Iako je jasno da se u ovoj grupi pacijenata leukopenija gradusa 3 više javila isključivo kod nosilaca G alela, statističke analize nisu ukazale na značajnost ovog opažanja (Tabela 50).

**Tabela 50.** Uticaj polimorfne varijante G135C gena *RAD51* na pojavu leukopenije u odnosu na gradus.

	Broj pacijenata (%)				
	G/G	G/C	C/C	Dominantni model G/G vs G/C + C/C	Recesivni model G/G + G/C vs C/C
Leukopenija gr ≥3	5 (4.6)	1 (0.9)	0	5 (4.6) vs 1 (0.9)	6 (5.5) vs 0
Bez leukopenije gr ≥3	72 (66.1)	29 (26.6)	2 (1.8)	72 (66.1) vs 31 (28.4)	101 (92.7) vs 2 (1.8)
Pearson $\chi^2$	0.766			0.483	0.730

#### 4.7.2. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena *RAD51* sa pojavom neutropenije

Neutropenija je registrovana kod 36 (33%) od ukupno 109 pacijenata, od toga kod njih 15 (13.4%) visokog gradusa, kod 2 pacijenta registrovan je smrtni ishod (gr.5) kao posledica toksičnosti, kod oba pacijenta se radilo o pojavi febrilnog stanja i sepse. U tabeli XXXX prikaza je raspodela zabeležene neutropenije u odnosu na gradus i genotip *RAD51* gena. Nije registrovana statistički značajna razlika u pojavu neutropenije u odnosu na pojedinalne genotipove, iako postoji tren ka značajnosti (Pearson  $\chi^2$  p=0.060) u smislu češće pojave neutropenije kod nosilaca G alela.

**Tabela 51.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu neutropenije.

	Broj pacijenata (%)						
	Ispoljena toksičnost	Bez toksičnosti	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
G/G	22 (20.2)	55 (50.9)	7 (6.5)	2 (1.9)	7 (6.5)	4 (3.7)	2 (1.9)
G/C	12 (11.0)	18 (16.7)	7 (6.5)	2 (1.9)	2 (1.9)	1 (0.9)	0
C/C	2 (1.9)	0	1 (0.9)	1 (0.9)	0	0	0
Pearson $\chi^2$ test	<b>0.060</b>						

Potencijalne razlike su dalje ispitivane korišćenjem dominantnog i recesivnog modela nasleđivanja (Tabela 52). Korišćenjem dominantnog modela nije viđena statistički značajna razlika u pojavi neutropenije bilo kog gradusa. Međutim, u recesivnom modelu je viđena statistički značajna razlika u pojavi neutropenije. Ovaj rezultat ukazuje da su nosioci recesivnog alela u homozigotnom obliku manje podložni razvoju neutropenije bilo kog gradusa, odnosno kod njih će se neutropenija statistički značajno ređe javiti (Pearson  $\chi^2$  p=0.027).

**Tabela 52.** Uticaj polimorfne varijante G135C gena *RAD51* na pojavu leukopenije, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)								
Gen	Model asocijacije	Ispoljena neutropenija	Bez neutropenij	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
RAD51	<b>Dominantni model</b>	22 (20.2)	55 (50.9)	7 (6.5)	2 (1.9)	7 (6.5)	4 (3.7)	2 (1.9)
	vs		vs	vs	vs	vs	vs	vs
	G/G vs G/C + C/C	14 (12.8)	18 (16.7)	8 (7.4)	3 (2.8)	2 (1.9)	1 (0.9)	0
	<b>Recesivni model</b>	34 (32.2)	73 (67.6)	14 (13.0)	4 (3.7)	9 (8.3)	5 (4.6)	2 (1.9)
	G/G + G/C vs C/C	Vs	vs	vs	vs	vs	vs	Vs
		0	0	0	0	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>				<b>Dominantni model</b>		0.156		
				<b>Recesivni model</b>		<b>0.027</b>		

Toksičnost visokog gradusa je u ovoj grupi pacijenata registrovana kod njih 15 (14.2%). Vrlo jasan je trend pojave ove toksičnosti kod nosilaca G alela, odnosno nije se javila ni kod jednog homozigotnog nosioca recesivnog alela, međutim statističke analize ne ukazuju na to da je ova razlika značajna, ni između pojedinačnih genotipova ni primenom dominantnog i recesivnog modela naseđivanja (Tabela 53).

**Tabela 53.** Uticaj polimorfne varijante G135C gena *RAD51* na pojavu leukopenije u odnosu na gradus.

	Broj pacijenata (%)				
	G/G	G/C	C/C	Dominantni model G/G vs G/C + C/C	Recesivni model G/G + G/C vs C/C
<b>Neutropenija gr <math>\geq 3</math></b>	12 (11.1)	3 (2.8)	0	12 (11.1) vs 3 (2.8)	15 (13.9) vs 0
<b>Bez neutropenije gr <math>\geq 3</math></b>	64 (59.3)	27 (25.0)	2 (1.9)	64 (59.3) vs 29 (26.9)	91 (84.3) vs 2 (1.9)
<b>Pearson <math>\chi^2</math></b>	0.628			0.379	0.566

#### 4.7.3. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena *RAD51* sa pojavom anemije

Anemija je registrovana kod 37 (33.9%) od ukupno 109 pacijenata, od toga kod njih 7 (6.4%) visokog gradusa. U tabeli 54 prikazana je raspodela zabeležene anemije u odnosu na gradus i genotip *RAD51* gena. Nije registrovana statistički značajna razlika u pojavu neutropenije u odnosu na pojedinačne genotipove, (Pearson  $\chi^2$  p-0.511)

**Tabela 54.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu anemije.

Broj pacijenata (%)							
	Ispoljena anemija	Bez anemije	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
G/G	27 (24.8)	49 (45.4)	6 (5.6)	17 (15.7)	3 (2.8)	1 (0.9)	0
G/C	9 (8.3)	21 (19.4)	2 (1.9)	4 (3.7)	2 (1.9)	1 (0.9)	0
C/C	1 (0.9)	1 (0.9)	1 (0.9)	0	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> test</b>	0.511						

Korišćenjem dominantnog i recesivnog modela (tabela 55) asocijacije takođe nije viđena statistički značajna razlika u pojavi anemije bilo kog gradusa u odnosu na prisustvo pojedinačnih alela RAD51 gena, Pearson  $\chi^2$  p=0.507 u dominantnom i p=0.434 u recesivnom modelu. Ovi rezultati govore da prisustvo dominantnog ili recesivnog alela u bilo kom obliku, homo ili heterozigotnom, ne utiče na pojavu anemije u ovoj grupi pacijenata.

**Tabela 55.** Uticaj polimorfne varijante G135C gena RAD51 na pojavu anemije, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)								
Gen	Model asocijacije	Ispoljena anemija	Bez anemije	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
RAD51	<b>Dominantni model</b>	27 (24.8)	49 (45.4)	6 (5.6)	17 (15.7)	3 (2.8)	1 (0.9)	0
	vs		vs	vs	) vs	vs	vs	vs
	G/G vs G/C + C/C	10 (9.2)	22 (20.4)	3 (2.8)	4 (3.7)	2 (1.9)	1 (0.9)	0
	<b>Recesivni model</b>	36 (33.0)	70 (66.8)	8 (7.4)	21 (19.4)	5 (4.6)	2 (1.9)	0
	G/G + G/C vs C/C	1 (0.9)	1 (0.9)	1 (0.9)	0	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>		<b>Dominantni model</b>			0.507			
		<b>Recesivni model</b>			0.434			

U odnosu na pojavu anemije visokog gradusa ponovo je jasna razlika u pojavi između nosilaca alela, ova toksičnost se ređe javljala kod nosilaca C alela, a nije se uopšte javila kod homozigotnih nosilaca recesivnog C alela, ali ni ovde statističke analize nisu utvrdile značajnost ovog zapažanja (Tabela 56).

**Tabela 56.** Uticaj polimorfne varijante G135C gena *RAD51* na pojavu anemije visokog gradusa, dominantni i recesivni model asocijacije.

	Broj pacijenata (%)				
	G/G	G/C	C/C	Dominantni model G/G vs G/C + C/C	Recesivni model G/G + G/C vs C/C
<b>Anemija gr ≥3</b>	4 (3.7)	3 (2.8)	0	4 (3.7) vs 3 (2.8)	7 (6.5) vs 0
<b>Bez anemije gr ≥3</b>	72 (66.7)	27 (25.0)	2 (1.9)	72 (66.7) vs 29 (26.9)	99 (91.7) vs 2 (1.9)
<b>Pearson <math>\chi^2</math></b>	0.626			0.428	0.707

#### 4.7.4. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena *RAD51* sa pojavom trombocitopenije

U ovoj grupi pacijenata, trombocitopenija tokom primene hemioterapije je registrovana kod 18 (16.5%) pacijenata. Nema statistički značajne razlike u pojavi trombocitopenije u odnosu na pojedinačne genotipove gena *RAD51* (Tabela 57).

**Tabela 57.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu trombocitopenije.

	Broj pacijenata (%)						
	Ispoljena trombocitopenija	Bez trombocitopenije	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
<b>G/G</b>	14 (12.8)	62 (57.4)	6 (5.6)	2 (1.9)	2 (1.9)	4 (3.7)	0
<b>G/C</b>	3 (2.7)	27 (25.0)	1 (0.9)	1 (0.9)	0	1 (0.9)	0
<b>C/C</b>	1 (0.9)	1 (0.9)	1 (0.9)	0	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> test</b>	0.510						

Dalja analiza je vršena korišćenjem dominantnog i recesivnog modela (Tabela 58). Ni takvim analizom nije registrovana statistički značajna razlika u pojavi trombocitopenije bilo kog gradusa u odnosu na prisustvo pojedinačnih alela, Pearson  $\chi^2$  p-0.868 u dominantnom i p-0.244 u recesivnom modelu.



**Tabela 58.** Uticaj polimorfne varijante G135C gena *RAD51* na pojavu trombocitopenije, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)								
Gen	Model asocijacije	Sa trombocitopenijom	Bez trombocitopenije	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
RAD51	<b>Dominantni model</b>	14 (12.8)	62(57.4)	6 (5.6)	2 (1.9)	2 (1.9)	4 (3.7)	0
	vs		vs	vs	vs	vs	vs	vs
	G/G vs G/C + C/C	4 (3.7)	28 (25.9)	2 (1.9)	1 (0.9)	0	1 (0.9)	0
	<b>Recesivni model</b>	36 (33.0)	89 (82.4)	7 (6.5)	3 (2.8)	2 (1.9)	5 (4.6)	0
	G/G + G/C vs C/C	1 (0.9)	1 (0.9)	1 (0.9)	0	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>		<b>Dominantni model</b>			0.868			
		<b>Recesivni model</b>			0.244			

Kada se uzme u obzir pojave trombocitopenije samo visokog gradusa, nije registrovana statistički značajna razlika u odnosu na alele, iako je vidljiva numerička razlika, odnosno češća pojava kod nosilaca dominantnog G alela (tabela 59).

**Tabela 59.** Uticaj polimorfne varijante G135C gena *RAD51* na pojavu anemije visokog gradusa, dominantni i recesivni model asocijacije.

	Broj pacijenata (%)				
	G/G	G/C	C/C	Dominantni model G/G vs G/C + C/C	Recesivni model G/G + G/C vs C/C
<b>Trombocitopenija gr <math>\geq 3</math></b>	6 (5.6)	1 (0.9)	0	6 (5.6) vs 1 (0.9)	7 (6.5) vs 0
<b>Bez trombocitopenije gr <math>\geq 3</math></b>	70 (64.8)	29 (26.9)	2 (1.9)	70 (64.8) vs 31 (28.7)	99 (91.7) vs 2 (1.9)
<b>Pearson <math>\chi^2</math></b>	0.644			0.358	0.707

#### 4.7.5. Rezultati analize asocijacije polimorfni varijanti G135C gena *RAD51* sa pojavom dijareje

U grupi pacijenata za koje postoje podaci o vrsti polomorfne varijante gena *RAD51*, dijareja bilo kog gradusa je registrovana kod njih 13 (11.9%), i to kod svih gradusa 1 i 2, dakle niskog gradusa. Nije detektovana statistički značajna razlika u pojavi dijareje u odnosu na genotipove *RAD51* pojedinačno (Pearson  $\chi^2$  p-0.889, Tabela 60).

**Tabela 60.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu dijareje.

Broj pacijenata (%)							
	Ispoljena dijareja	Bez dijareje	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
G/G	10 (9.2)	65 (60.7)	8 (7.5)	2 (1.9)	0	0	0
G/C	3 (2.7)	27 (25.0)	3 (2.8)	0	0	0	0
C/C	0 (0.0)	2 (1.9)	0	0	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> test</b>	0.889						

Razlika nije viđena ni korišćenjem dominantnog i recesivnog modela nasleđivanja, iako se numerički vidi da nosioci C alela ređe dobijaju dijareju u ovoj grupi (Tabela 61).

**Tabela 61.** Uticaj polimorfne varijante G135C gena *RAD51* na pojavu trombocitopenije, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)								
Gen	Model asocijacije	Sa trombocitopenijom	Bez trombocitopenije	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
RAD51	<b>Dominantni model</b>	10 (9.2)	65(60.7)	8 (7.5)	2 (1.9)	0	0	0
	G/G vs G/C + C/C	3 (2.7)	29 (27.1)	3 (2.8)	0	0	0	0
	<b>Recesivni model</b>	13 (9.7)	92 (86.0)	11(10.3)	2 (1.9)	0	0	0
	G/G + G/C vs C/C	0	2 (1.9)	0	0	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>		<b>Dominantni model</b>			0.628			
		<b>Recesivni model</b>			0.869			

#### 4.7.6. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena *RAD51* sa pojavom mučnine (nauzeje)

Mučnina je u ovoj grupi registrovana kod 28 (25.7%), takođe bez pojave visokog gradusa, odnosno kod svih pacijenata mučnina je bila gradusa 1 i 2. Nije viđena statistički značajna razlika u pojavi mučnine i pojedinačnih genotipova *RAD51* gena (Pearson  $\chi^2$  p-0.553, Tabela 62).

**Tabela 62.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu mučnine.

Broj pacijenata (%)							
	Ispoljena mučnina	Bez mučnina	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
G/G	19 (17.4)	56 (52.3)	12 (11.2)	7 (6.5)	0	0	0
G/C	8 (7.4)	22 (20.6)	7 (6.5)	1 (0.9)	0	0	0
C/C	1 (0.9)	1 (0.9)	1 (0.9)	0	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> test</b>	0.553						

U Tabeli 62 su prikazani rezultati analize asocijacije alela i pojave mučnine korišćenjem dominantnog i recesivnog modela. I ovde je numerički vidljiva razlika u smislu ređe pojave ove vrste toksičnosti kod nosilaca C alela, ali to opažanje nije statistički značajno (Pearson  $\chi^2$  p-0.341 u dominantnom i p-0.502 u recesivnom modelu).

**Tabela 63.** Uticaj polimorfne varijante G135C gena *RAD51* na pojavu mučnine, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)								
Gen	Model asocijacije	Ispoljena mučnina	Bez mučnine	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
RAD51	<b>Dominantni model</b>	19 (17.4)	56(52.3)	12(11.2)	7 (6.5)	0	0	0
	vs		vs	) vs	vs	vs	vs	vs
	G/G vs G/C + C/C	9 (8.3)	23 (21.5)	8 (7.5)	1 (0.9)	0	0	0
	<b>Recesivni model</b>	27 (24.8)	78 (72.9)	19(17.4)	8 (7.5)	0	0	0
	G/G + G/C vs C/C	Vs	vs	vs	vs	vs	vs	Vs
		1 (0.9)	1 (0.9)	1 (0.9)	0	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>		<b>Dominantni model</b>			0.341			
		<b>Recesivni model</b>			0.502			

#### 4.7.7. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena *RAD51* sa pojavom povraćanja (emeze)

I mučnina je u ovoj grupi pacijenata bila retka toksičnost, registrovana je kod 8 (7.3%) pacijenata, kod svih u gradusu 1 i 2, što ukazuje na činjenicu da su svi pacijenti dobili adekvatnu profilaksu mučnine i povraćanja. Ponovo je viđena numerička razlika u smislu veoma retke pojave povraćanja kod nosilaca C alela, ali nije registrovana statistički značajna razlika u pojavi ove vrste toksičnosti između pojedinačnih genotipova (Tabela 64), niti primenom dominantnog i recesivnog modela naleđivanja (Tabela 65).

**Tabela 64.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu emeze.

Broj pacijenata (%)							
	Ispoljena emeza	Bez emeze	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
G/G	7 (6.4)	68 (63.6)	5 (4.7)	2 (1.9)	0	0	0
G/C	1 (0.9)	29 (27.1)	1 (0.9)	0	0	0	0
C/C	0	2 (1.9)	0	0	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> test</b>	0.829						

**Tabela 65.** Uticaj polimorfne varijante G135C gena *RAD51* na pojavu emeze, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)								
Gen	Model asocijacije	Ispoljena emeza	Bez emeze	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
RAD51	<b>Dominantni model</b>	7 (6.4)	68(63.6)	5 (4.7)	2 (1.9)	0	0	0
	vs G/G vs G/C + C/C	1 (0.9)	31 (29.0)	1 (0.9)	0	0	0	0
	<b>Recesivni model</b>	8 (7.3)	97 (0.7)	6 (5.6)	2 (1.9)	0	0	0
	Vs G/G + G/C vs C/C	0	2 (1.9)	0	0	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>		<b>Dominantni model</b>			0.485			
		<b>Recesivni model</b>			0.921			

#### 4.7.8. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena *RAD51* sa pojavom neuropatije (SPN)

Periferna neuropatija je registrovana kod 10 (9.4%) pacijenata u ovoj grupi, kod samo jednog od njih je bila gradusa 3. Ponavlja se opažanje da se kod nosilaca recesivnog C alela ređe javlja SNP, ali ni ovde nije viđena statistički značajna razlika niti u odnosu na pojedinačni genotip (Pearson  $\chi^2$  p=907, tabela 66), a ni korišćenjem dominantnog i recesivnog modela nasleđivanja (Tabela 67). Najverovatnije objašnjenje jeste mali broj pacijenata kod kojih su zabeležene ove toksičnosti, te statistička analiza tu razliku nije mogla da detektuje.

**Tabela 66.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu neuropatije.

Broj pacijenata (%)							
	Ispoljena SNP	Bez SNP	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
G/G	7 (6.4)	67 (63.2)	4 (3.8)	2 (1.9)	1 (0.9)	0	0
G/C	3 (2.8)	27 (25.5)	3 (2.8)	0	0	0	0
C/C	0	2 (1.9)	0	0	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> test</b>	0.907						

**Tabela 67.** Uticaj polimorfne varijante G135C gena *RAD51* na pojavu neuropatije, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)								
Gen	Model asocijacije	Ispoljena SNP	Bez SNP	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
RAD51	<b>Dominantni model</b>	7 (6.4)	67(63.2)	4 (3.8)	2 (1.9)	1 (0.9)	0	0
	G/G vs G/C + C/C	vs 3 (2.8)	vs 29 (27.4)	vs 3 (2.8)	vs 0	vs 0	vs 0	vs 0
								0
	<b>Recesivni model</b>	10 (9.4)	94 (88.7)	7 (6.6)	2 (1.9)	1 (0.9)	0	0
	G/G + G/C vs C/C	Vs 0	vs 2 (1.9)	vs 0	vs 0	vs 0	vs 0	Vs 0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>					<b>Dominantni model</b>		0.608	
					<b>Recesivni model</b>		0.976	

#### 4.7.9. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena *RAD51* sa pojavom porasta kreatinina (nefrotoksičnost)

Nefrotoksičnost je registrovana kod 11 (10.1%) pacijenata u ovoj grupi. Kod dva pacijenta je bila gradusa 3, kod ostalih nižeg gradusa. Nema statistički značajne razlike u pojavi ove toksičnosti u odnosu na pojedinačni genotip RAD51 gena, Pearson  $\chi^2$  p-990 (Tabela 68).

**Tabela 68.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu nefrotoksičnosti.

Broj pacijenata (%)							
	Ispoljena nefrotoksičnost	Bez nefrotoksičnosti	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
G/G	7 (6.4)	69 (63.9)	4 (3.8)	2 (1.9)	1 (0.9)	0	0
G/C	4 (3.8)	26 (24.1)	2 (1.9)	1 (0.9)	1 (0.9)	0	0
C/C	0	2 (1.9)	0	0	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> test</b>	0.990						

Još jednom, zbog malog broja pacijenata, primena dominantnog i recesivnog modela nasleđivanja nije detektovala statistički značajnu razliku u odnosu na alele, iako je jasno da prisustvo G alela utiče na češću pojavu nefrotoksičnosti (Tabela 69).

**Tabela 69.** Uticaj polimorfne varijante G135C gena *RAD51* na pojavu nefrotoksičnosti, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)								
Gen	Model asocijacije	Ispoljena emeza	Bez emeze	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
RAD51	<b>Dominantni model</b>	7 (6.4)	69(63.9)	4 (3.8)	2 (1.9)	1 (0.9)	0	0
	G/G vs G/C + C/C	vs	vs	vs	vs	vs	vs	vs
		4 (3.8)	28 (25.9)	2 (1.9)	1 (0.9)	1 (0.9)	0	0
	<b>Recesivni model</b>	11 (10.2)	95 (87.2)	6 (5.6)	3 (2.8)	2 (1.9)	0	0
	G/G + G/C vs C/C	Vs	vs	vs	vs	vs	vs	Vs
		0	2 (1.9)	0	0	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>					<b>Dominantni model</b>		0.922	
					<b>Recesivni model</b>		0.972	

#### 4.7.10. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante G135C gena *RAD51* sa pojavom porasta transaminaza (hepatotoksičnost)

Hepatotoksičnost se javila kod samog jednog pacijenta u ovoj grupi i to gradusa 1, se te ne može komentarisati uticaj polimorfizama ovog gena na pojavu ove vrste toksičnosti.

#### 4.8. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* i ispoljene toksičnosti hemioterapije

Ispitana je povezanost polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* sa ispoljenom toksičnošću primenjene HT kako ukupno, tako i pojedinačnih toksičnosti, uzimajući u obzir i gradus toksičnosti. Ispitan je uticaj polimorfni varijanti pojedinačno (Tabela 70), a zatim korišćenjem dominantnog i recesivnog modela nasleđivanja (Tabela 71).

**Tabela 70.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu toksičnosti uopšte i visokog gradusa.

		Broj pacijenata, N-106 (%)			
<i>TP53</i>		Ispoljena toksičnost	Bez toksičnosti	Toksičnost visokog gradusa	Bez toksičnosti visokog gradusa
Arg/Arg		21 (20.0)	13 (12.4)	11 (10.4)	23 (21.7)
Arg/Pro		20 (19.0)	31 (29.5)	9 (8.5)	43 (40.6)
Pro/Pro		12 (11.4)	8 (7.6)	5 (4.7)	20 (18.9)
<b>Pearson test</b>	$\chi^2$	<b>0.080</b>		0.106	

U ovoj grupi od 106 pacijenata sa poznatim genotipom gena *TP53*, toksičnost je registrovana kod njih 53 (50%), a toksičnost visokog gradusa kod njih 25 (23.6%). Nije registrovana statistički značajna razlika u pojavi toksičnosti bez obzira na gradus, uzimajući u obzir genotipove pojedinačno (Pearson  $\chi^2$  p-0.080). Takođe nije registrovana statistički značajna razlika u pojavi toksičnosti visokog gradusa u odnosu na pojedinačne genotipove (Pearson  $\chi^2$  p-0.106).

U Tabeli 71 su prikazni rezultati kada je korišćen dominantni i recesivni model nasleđivanja. Ni na ovaj način nije registrovana statistički značajna razlika u pojavi toksičnosti, Pearson  $\chi^2$  p-0.082 u dominantnom i p-0.243 u recesivnom modelu. Ovi rezultati govore da ne postoji povećana sklonost ka razvoju toksičnosti primenjene HT uopšte u odnosu na pojedinačne genotipove gena TP53. Što se tiče pojave toksičnosti primenjene HT visokog gradusa, u ovoj grupi pacijenata nije registrovana statistički značajna razlika u odnosu na pojedinačne genotipove, niti korišćenjem dominantnog i recesivnog modela nasleđivanja.

**Tabela 71.** Uticaj polimorfne varijante arg72Pro gena TP53 na pojavu toksičnosti, uopšte i visokog gradusa, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)								
Gen	Model asocijacije	Ispoljena toksičnost	Bez toksičnosti	p	Tox visokog gradusa	Bez tox visokog gradusa	p	
TP53	<b>Dominantni model</b>							
	Arg/Arg	vs	21 (20.0)	13 (12.4)	<b>0.082</b>	11 (10.4)	23 (21.7)	0.144
	vs Arg/Pro	+	32 (30.5)	39 (37.1)		Vs 14 (13.2)	Vs 58 (54.7)	
	Pro/Pro							
	<b>Recesivni model</b>							
	Arg/Arg	+	41 (39.0)	44 (41.9)	0.243	20 (18.9)	66 (62.3)	0.864
vs Arg/Pro		12 (11.4)	8 (7.6)	5 (4.7)	15 (14.2)			
vs Pro/Pro								

U odnosu na pojavu više od jedne različite vrste toksičnosti kod istog pacijenta, nije detektovana statistički značajna razlika ni u odnosu na pojedinačni genotip, ni primenom dominantnog i recesivnog modela nasleđivanja (Tabela 72).

**Tabela 72.** Uticaj polimorfne varijante Arg72Pro gena TP53 na broj toksičnosti, pojedinačni genotipovi i primenom dominantnog i recesivnog modela asocijacije.

	Broj pacijenata (%)					
	Arg/Arg	Arg/Pro	Pro/Pro	Dominantni model Arg/Arg vs Arg/Pro Pro/Pro	vs +	Recesivni model Arg/Arg + Arg/Pro vs Pro/Pro
Bez ili jedna vrsta tox	21 (19.8)	34 (32.1)	11 (10.4)	21 (19.8) vs 45 (42.5)		55 (51.9) Vs 11 (10.4)
Više od jedne vrste tox	13 (12.3)	18 (17.0)	9 (8.5)	13 (12.3) vs 27 (25.5)		31 (29.2) vs 9 (8.5)
Pearson $\chi^2$	0.716			0.942		0.457

#### 4.8.1. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* sa pojavom leukopenije

Pad broja leukocita, leukopenija, je ukupno registrovana kod 33 (31.3%) pacijenta. U tabeli 73 je prikazan broj pacijenata nosilaca pojedinih genotipova gena p53 kod kojih je registrovana leukopenija, kao i raspodela po gradusima. Nije registrovana statistički značajna razlika u pojavi leukopenije uopšte, niti pojedinačno gradusa leukopenije u odnosu sa genotipove, Pearson  $\chi^2$  p-0.979.

**Tabela 73.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu leukopenije.

Broj pacijenata (%)							
	Ispoljena leukopenija	Bez leukopenije	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
Arg/Arg	13 (12.3)	21 (19.8)	6 (5.7)	3 (2.8)	3 (2.8)	1 (0.9)	0
Arg/Pro	14 (13.2)	38 (35.8)	6 (5.7)	4 (3.8)	3 (2.8)	1 (0.9)	0
ProPro	6 (5.7)	14 (13.2)	3 (2.8)	1 (0.9)	1 (0.9)	1 (0.9)	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> test</b>	0.979						

Primenom dominantnog i recesivnog modela nasleđivanja nije registrovana statistički značajna razlika u pojavi leukopenije između nosilaca ispitivanih alela gena *TP53* (Tabela 74).

**Tabela 74.** Uticaj polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* na pojavu leukopenije, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)								
Gen	Model asocijacije	Ispoljena leukopenija	Bez leukopenije	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
TP53	<b>Dominantni model</b>							
	Arg/Arg vs Arg/Pro	13 (12.3)	21 (19.8)	6 (5.7)	3 (2.9)	3 (2.8)	1 (0.9)	0
	Arg/Pro + Pro/Pro	20 (18.9)	52 (49.1)	9 (8.5)	5 (4.7)	4 (4.8)	2 (1.9)	0
	<b>Recesivni model</b>				7 (6.69)	6 (5.7)	2 (1.9)	0
	Arg/Arg + Arg/Pro	8 (8.9)	59 (55.7)	12 (11.3)	6 (6.69)	6 (5.7)	2 (1.9)	0
	Arg/Pro vs Pro/Pro	2 (2.0)	14 (13.2)	3 (2.8)	1 (0.9)	1 (0.9)	1 (0.9)	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>		<b>Dominantni model</b>			0.864			
		<b>Recesivni model</b>			0.947			

Leukopenija visokog gradusa je registrovana kod 10 pacijenata. Analizom nije videna statistički značajna razlika u pojavu leukopenije visokog gradusa u odnosu na alele gena *TP53* ni u pojedinačnoj analizi ni korišćenjem dominantnog i recesivnog modela (Tabela 75)



**Tabela 75.** Uticaj polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* na pojavu leukopenije visokog gradusa, pojedinačni genotipovi i korišćenjem dominantnog i recesivnog modela asocijacije.

	Broj pacijenata (%)				
	Arg/Arg	Arg/Pro	Pro/Pro	Dominantni model Arg/Arg vs Arg/Pro + Pro/Pro	Recesivni model Arg/Arg + Arg/Pro vs Pro/Pro
<b>Leukopenija gr ≥3</b>	4 (3.8)	4 (3.8)	2 (1.9)	4 (3.8) vs 6 (5.7)	8 (7.5) vs 2 (1.9)
<b>Bez leukopenije gr ≥3</b>	30 (28.3)	48 (45.3)	18 (17.0)	30 (28.3) vs 66 (62.3)	78 (73.6) vs 18 (17.0)
<b>Pearson <math>\chi^2</math></b>	0.815			0.723	0.923

#### 4.8.2. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* sa pojavom neutropenije

Neutropenija je ukupno registrovana kod 34 (32.1%) pacijenta. U tabeli 76 je prikazan broj pacijenata nosilaca pojedinih genotipova gena *TP53* kod kojih je registrovana neutropenija, kao i raspodela po gradusima. Nije registrovana statistički značajna razlika u pojavi neutropenije uopšte, niti pojedinačno gradusa leukopenije u odnosu sa genotipove, Pearson  $\chi^2$  p-0.639.

**Tabela 76.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu neutropenije.

	Broj pacijenata (%)						
	Ispoljena neutropenija	Bez neutropenije	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
<b>Arg/Arg</b>	13 (12.3)	21 (20.0)	4 (3.8)	1 (1.0)	6 (5.7)	2 (1.9)	0
<b>Arg/Pro</b>	14 (13.2)	37 (35.8)	7 (6.7)	2 (1.9)	3 (2.9)	2 (1.9)	0
<b>Pro/Pro</b>	7 (6.6)	11 (10.5)	3 (2.9)	2 (1.9)	1 (1.0)	1 (1.0)	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> test</b>	0.639						

Kada je korišćena analiza pomoću dominantnog i recesivnog modela asocijacije, nije utvrđena statistički značajna razlika u pojavi neutropenije (Tabela 77).

**Tabela 77.** Uticaj polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* na pojavu neutropenije, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)									
Gen	Model asocijacije	Ispoljena neutropenija	Bez neutropenije	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5	
TP53	<b>Dominantni model</b>			4(3.8)					
	Arg/Arg	vs	13 (12.3)	58 (55.2)	vs	1 (1.0)	6 (5.7)	2 (1.9)	0
	Arg/Pro	vs	vs	vs	10	vs	vs	Vs	Vs
	Arg/Pro	+	20 (18.9)	52 (49.1)	(9.5)	4 (3.8)	4 (3.8)	4 (3.8)	1 (1.0)
	Pro/Pro								
	<b>Recesivni model</b>								
Arg/Arg	+	8 (8.9)	59 (55.7)	11(10.5)	3 (2.9)	9 (8.6)	4 (3.8)	1 (0.9)	
Arg/Pro	vs	vs	vs	5) vs	vs	vs	Vs	Vs	
Pro/Pro		2 (2.0)	14 (13.2)	3 (2.9)	2 (1.9)	1 (1.0)	2 (1.9)	0	
<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>				<b>Dominantni model</b>		0.476			
				<b>Recesivni model</b>		0.617			

Neutropenija visokog gradusa je registrovana kod 17 pacijenata, ali takođe bez statistički značajne razlike, između pojedinačnih genotipova, kao i kada je za analizu korišćen dominantni i recesivni model asocijacije (Tabela 78).

**Tabela 78.** Uticaj polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* na pojavu neutropenije visokog gradusa, pojedinačni genotipovi i korišćenjem dominantnog i recsivnog modela asocijacije.

	Broj pacijenata (%)				
	Arg/Arg	Arg/Pro	Pro/Pro	Dominantni model Arg/Arg Arg/Pro Pro/Pro	Recesivni model vs Arg/Arg + Arg/Pro vs Pro/Pro
<b>Neutropenija gr <math>\geq 3</math></b>	8 (7.6)	6 (5.7)	3 (2.9)	8 (7.6) vs 9 (8.6)	14 (13.3) vs 3 (2.9)
<b>Bez neutropenije gr <math>\geq 3</math></b>	26 (24.8)	46 (43.8)	16 (15.2)	26 (24.8) vs 62 (59.0)	72 (68.6) vs 16 (15.2)
<b>Pearson <math>\chi^2</math></b>	0.336			0.158	0.958

#### 4.8.3. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* sa pojavom trombocitopenije

Trombocitopenija je registrovana kod ukupno 19 (17.9%) pacijenata. Analizom uticaja pojedinalnih genotipova na pojavu ove toksičnosti, postoji statistički značajna razlika u pojavi trombocitopenije među nosiocima različitih pojedinačnih genotipova, Pearson  $\chi^2$  p=0.049 (Tabela 79).

**Tabela 79.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu trombocitopenije.

Broj pacijenata (%)							
	Ispoljena trombocitopenija	Bez trombocitopenije	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
Arg/Arg	6 (5.7)	28 (26.7)	2 (1.9)	3 (2.9)	0	1 (1.0)	0
Arg/Pro	7 (6.6)	45 (42.9)	2 (1.9)	2 (1.9)	2 (1.9)	1 (1.0)	0
Pro/Pro	6 (5.7)	13 (12.4)	2 (1.9)	0	0	4 (3.8)	0
Pearson $\chi^2$ test	<b>0.049</b>						

Ove razlike su ispitane primenom dominantnog i recesivnog modela nasleđivanja. Primenom dominantnog modela nije viđena statistički značajna razlika. Međutim primenom recesivnog modela, detektovana je statistički značajna razlika u pojavi trombocitopenije Pearson  $\chi^2$  p=0.014, što znači da su nosioci recesivnog homozigota Pro/Pro skloniji razvoju trombocitopenije (Tabela 80).

**Tabela 80.** Uticaj polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* na pojavu trombocitopenije, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)									
Gen	Model asocijacije		Sa trombo-citopenijom	Bez trombo-citopenije	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
P53	<b>Dominantni model</b>								
	Arg/Arg	vs	6 (5.7)	58 (55.2)	2 (1.9)	3 (2.9)	0	1 (1.0)	0
	Arg/Pro	+	13 (8.9)	52 (49.1)	4 (3.8)	2 (1.9)	2 (1.9)	5 (4.8)	
	Pro/Pro								
	<b>Recesivni model</b>								
	Arg/Arg	+	13 (8.9)	59 (55.7)	4(3.8)	5 (4.8)	2 (1.9)	2 (1.9)	0
Arg/Pro	vs	vs	vs	vs	vs	vs	Vs		
Pro/Pro		6 (5.7)	14 (13.2)	2 (1.9)	0	0	4 (3.8)		
<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>			<b>Dominantni model</b>		0.496				
			<b>Recesivni model</b>		<b>0.014</b>				

Učinjena je i analiza u odnosu na pojavu trombocitopenije visokog gradusa. I u ovom slučaju je viđena statistički značajna razlika u pojavi trombocitopenije u odnosu na pojedinačne genotipove gena *TP53* (Pearson  $\chi^2$  p-0.045). Korišćenjem dominantnog modela nasleđivanja nije viđena statistički značajna razlika, ali korišćenjem recesivnog modela jeste, Pearson  $\chi^2$  p-0.015, što potvrđuje i ranije detektovanu činjenicu da su nosioci recesivnog homoyigota Pro/Pro skloniji razvoju trombocitopenije visokog gradusa (Tabela 81).

**Tabela 81.** Uticaj polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* na pojavu trombocitopenije visokog gradusa, pojedinačni genotipovi i korišćenjem dominantnog i recesivnog modela asocijacije.

	Broj pacijenata (%)				
	Arg/Arg	Arg/Pro	Pro/Pro	Dominantni model Arg/Arg Arg/Pro Pro/Pro	Recesivni model vs Arg/Arg + Arg/Pro + vs Pro/Pro
<b>Trombocitopenija gr ≥3</b>	1 (1.0)	3 (2.9)	4 (3.8)	1 (1.0) vs 7 (6.7)	4 (3.8) vs 4 (3.8)
<b>Bez trombocitopenije gr ≥3</b>	33 (31.4)	49 (46.7)	15 (14.3)	33 (31.4) vs 64 (61.0)	82 (78.1) vs 15 (14.3)
<b>Pearson <math>\chi^2</math></b>	<b>0.045</b>			0.211	<b>0.015</b>

#### 4.8.4. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* sa pojavom anemije

Anemija je registrovana kod 63 pacijenata, odnosno 60%. Iz pojedinačnih rezultata se stiče utisak da su nosioci Pro alela podložniji razvoju anemije, međutim ova razlika se nije pokazala statistički značajnom, kako između pojedinačnih genotipova (Tabela 82) tako ni primenom dominantnog i recesivnog modela asocijacije (Tabela 83).

**Tabela 82.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu anemije.

Broj pacijenata (%)							
	Ispoljena anemija	Bez anemije	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
<b>Arg/Arg</b>	12 (11.3)	22 (21.0)	2 (1.9)	8 (7.6)	2 (1.9)	0	0
<b>Arg/Pro</b>	15 (14.1)	37 (35.8)	4 (3.8)	8 (7.6)	2 (1.9)	1 (1.0)	0
<b>Pro/Pro</b>	36 (33.9)	69 (65.7)	11 (10.5)	20 (19.0)	4 (3.8)	1 (1.0)	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> test</b>	0.322						

**Tabela 83.** Uticaj polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* na pojavu anemije, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)									
Gen	Model asocijacije		Ispoljena anemija	Bez anemije	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
P53	<b>Dominantni model</b>								
	Arg/Arg	vs	12 (11.3)	22 (21.0)	2 (1.9)	8 (7.6)	2 (1.9)	0	0
	Arg/Pro	+	24 (22.8)	47 (44.8)	9 (8.6)	12 (11.4)	2 (1.9)	1 (1.9)	
	Pro/Pro								
	<b>Recesivni model</b>								
	Arg/Arg	+	27 (25.7)	59 (56.2)	6 (5.7)	16 (15.2)	4 (3.8)	1 (1.0)	0
Arg/Pro	vs	vs	vs	vs	vs	vs	vs	vs	
Pro/Pro		9 (8.6)	10 (9.5)	5 (4.8)	4 (3.8)	0	0	0	
<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>					<b>Dominantni model</b>		0.627		
					<b>Recesivni model</b>		0.120		

#### 4.8.5. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* sa pojavom dijareje

U ovoj grupi pacijenata dijareja je registrovana kod njih 11 (10.4%), skoro kod svih gradusa 1, a nije bilo ni jednog pacijenta kod kojeg je dijareja bila visokog gradusa. Nema statistički značajne razlike između pojedinačnih genotipova i pojave dijareje (tabela 84).

**Tabela 84.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu dijareja.

Broj pacijenata (%)							
	Ispoljena dijareja	Bez dijareja	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
<b>Arg/Arg</b>	2 (1.9)	32 (30.5)	1 (1.0)	1 (1.0)	0	0	0
<b>Arg/Pro</b>	7 (6.7)	45 (42.9)	7 (6.7)	0	0	0	0
<b>Pro/Pro</b>	2 (1.9)	17 (16.2)	2 (1.9)	0	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> test</b>	0.327						

**Tabela 85.** Uticaj polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* na pojavu dijareje, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)									
Gen	Model asocijacije		Ispoljena dijareja	Bez dijareje	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
TP53	<b>Dominantni model</b>		6 (5.7)	32 (30.5)	1 (1.0)	1 (1.0)			
	Arg/Arg	vs	vs	vs	vs	vs	0	0	0
	Arg/Pro	+	13 (8.9)	62 (59.0)	9 (8.6)	0			
	Pro/Pro								
	<b>Recesivni model</b>			77 (73.3)	8 (7.6)	1 (1.0)			
	Arg/Arg	+	9 (8.5)	vs	vs	vs	0	0	0
Arg/Pro	vs	vs	17 (16.2)	2 (1.9)	0				
Pro/Pro		2 (1.9)							
<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>			<b>Dominantni model</b>		0.106				
			<b>Recesivni model</b>		0.885				

Korišćenjem dominantnog i recesivnog modela nasleđivanja nije registrovana statistički značajna razlika između nosilaca različitih alela ovog gena, kako u homo tako i u heterozigotnom obliku (Tabela 85).

#### 4.8.6. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* sa pojavom nauzeje (mučnine)

Mučnina je registrovana kod 28 (26.4%) pacijenata, kod svih gradusa 1 i 2. Numerički se vidi češća pojava mučnine kod nosilaca recesivnog Pro alela, ali statistički značajna razlika nije viđena kada su poređeni pojedinačni genotipovi (Tabela 86).

**Tabela 86.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu nauzeje.

Broj pacijenata (%)							
	Ispoljena mučnina	Bez mučnine	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
Arg/Arg	4 (3.8)	30 (28.6)	4 (3.8)	0	0	0	0
Arg/Pro	16 (15.1)	36 (34.3)	11 (10.5)	5 (4.8)	0	0	0
Pro/Pro	8 (7.6)	11 (10.5)	6 (5.7)	2 (1.9)	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> test</b>	0.108						

Kada je analiza učinjena primenom dominantnog i recesivnog modela detektovana je statistički značajna razlika u dominantnom modelu (Pearson  $\chi^2$  p=0.037), što govori da su nosioci Pro alela statistički značajno podložniji razvoju mučnine prilikom primene hemioterapije (tabela 87).

**Tabela 87.** Uticaj polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* na pojavu mučnine, dominantni i recesivni model asocijacije,

Broj pacijenata (%)									
Gen	Model asocijacije		Ispoljena mučnina	Bez mučnine	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
P53	<b>Dominantni model</b>				4 (3.8)				
	Arg/Arg	vs	4 (53.8)	30 (28.6)	vs	0			
	Arg/Pro	+	24 (22.6)	472 (44.8)	17 (16.2)	7 (6.7)	0	0	0
	Pro/Pro								
	<b>Recesivni model</b>								
	Arg/Arg	+	20 (18.9)	66 (62.9)	15 (14.3)	5 (4.8)	0	0	0
Arg/Pro	vs			vs	vs				
Pro/Pro		8 (7.5)	11 (10.5)	6 (5.7)	2 (1.9)				
<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>			<b>Dominantni model</b>		<b>0.037</b>				
			<b>Recesivni model</b>		<b>0.243</b>				

#### 4.8.7. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* sa pojavom emeze (povraćanja)

Povraćanje se javilo kod svega 7 pacijenata, kod svih gradusa 1 ili 2. Ponovo je vidljiv tren češćeg javljanja emeze kod nosilaca Proalela, međutim nije registrovana statistički značajna razlika u pojavi ove vreste toksičnosti u ovoj grupi, uzimajući u obzir genotipove pojedinačno (tabela 88), kao ni korišćenjem dominantnog i recesivnog modela (Tabela 89).

**Tabela 88.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu emeze.

Broj pacijenata (%)							
	Ispoljena emeza	Bez emeze	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr4	Gr.5
Arg/Arg	0	33 (31.7)	0	0	0	0	0
Arg/Pro	4 (3.8)	48 (46.2)	3 (2.9)	1 (1.0)	0	0	0
Pro/Pro	3 (2.9)	16 (15.4)	3 (2.9)	0	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> test</b>	<b>0.162</b>						

**Tabela 89.** Uticaj polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* na pojavu mučnine, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)									
Gen	Model asocijacije		Ispoljena mučnina	Bez mučnine	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
P53	<b>Dominantni model</b>		0	33 (31.7)	0	0			
	Arg/Arg	vs	vs	vs	vs	vs	0	0	0
	Arg/Pro	+	7 (6.6)	64 (61.5)	6 (5.8)	1 (1.0)			
	Pro/Pro								
	<b>Recesivni model</b>								
	Arg/Arg	+	20 (18.9)	81 (77.9)	3 (2.9)	1 (1.0)			
Arg/Pro	vs	vs	vs	vs	vs	0	0	0	
Pro/Pro		8 (7.5)	16 (15.4)	3 (2.9)	0				
<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>			<b>Dominantni model</b>		0.167				
			<b>Recesivni model</b>		0.107				

#### 4.8.8. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* sa pojavom neuropatije

Neuropatija je registrovana kod ukupno 12 pacijenata, samo kod jednog visokog gradusa, gradusa 3. Kada se poredi uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu neuropatije, statistički značajna razlika nije viđena (Tabela 90).

**Tabela 90.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu neuropatije.

Broj pacijenata (%)							
	Ispoljena neuropatija	Bez neuropatije	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
<b>Arg/Arg</b>	2 (1.9)	31 (29.5)	1 (1.0)	0	1 (1.0)	0	0
<b>Arg/Pro</b>	6 (5.7)	45 (42.9)	4 (3.9)	2 (1.9)	0	0	0
<b>Pro/Pro</b>	4 (3.9)	15 (14.6)	2 (1.9)	2 (1.9)	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> test</b>	0.318						

Korišćenjem dominantnog i recesivnog modela nasleđivanja, takođe nije detektovana statistički značajna razlika, odnosno nije viđen statistički značajan uticaj alela na ispoljavanje neuropatije. Obzirom da je samo jedan pacijent imao neuropatiju gr.3, analiza uticaja alela na neuropatiju visokog gradusa nije rađena (Tabela 91).



**Tabela 91.** Uticaj polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* na pojavu neuropatije, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)									
Gen	Model asocijacije		Ispoljena neuropatija	Bez neuropatije	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
P53	<b>Dominantni model</b>		0	31 (30.1)	1 (1.0)	0	1 (1.0)	0	0
	Arg/Arg	vs	vs	vs	vs	vs	Vs	0	0
	Arg/Pro	+	7 (6.6)	60 (58.3)	6 (5.8)	4 (3.9)	0		
	Pro/Pro								
	<b>Recesivni model</b>		20 (18.9)	76 (73.8)	5 (4.9)	2 (1.9)	1 (1.0)		0
	Arg/Arg	+	vs	vs	vs	vs	Vs	0	0
Arg/Pro	vs	8 (7.5)	15 (14.6)	2 (1.9)	2 (1.9)	0			
Pro/Pro									
<b>Pearson <math>\chi^2</math></b>			<b>Dominantni model</b>		0.158				
<b>p vrednost</b>			<b>Recesivni model</b>		0.310				

#### 4.8.9. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* sa pojavom nefrotoksičnosti (porasta kreatinina)

Nefrotoksičnost je registrovana kod 11 (10.4%) pacijenata. Ni u ovom slučaju nije bilo toksičnosti visokog gradusa. Statistički značajna razlika u pojavi ove toksičnosti nije registrovana ni upoređivanjem pojedinačnih alela (Tabela 92), niti korišćenjem dominantnog i recesivnog modela nasleđivanja (Tabela 93).

**Tabela 92.** Uticaj pojedinačnih genotipova na pojavu nefrotoksičnosti.

Broj pacijenata (%)							
	Ispoljena nefrotoksičnost	Bez nefrotoksičnosti	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr4	Gr.5
Arg/Arg	3 (2.9)	31 (29.5)	3 (2.9)	0	0	0	0
Arg/Pro	2 (1.9)	45 (42.9)	5 (4.8)	2 (1.9)	0	0	0
Pro/Pro	1 (1.0)	18 (17.1)	0	1 (1.0)	0	0	0
<b>Pearson <math>\chi^2</math> test</b>	0.487						

**Tabela 93.** Uticaj polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* na pojavu nefrotoksičnosti, dominantni i recesivni model asocijacije.

Broj pacijenata (%)									
Gen	Model asocijacije		Ispoljena nefortox.	Bez nefrotox.	Gr.1	Gr.2	Gr.3	Gr.4	Gr.5
TP53	<b>Dominantni model</b>								
	Arg/Arg	vs	3 (2.9)	31 (29.5)	3 (2.9)	0			
	Arg/Pro	vs					0	0	0
	Arg/Pro	+	8 (7.5)	63 (60.0)	5 (4.8)	3 (2.9)			
	Pro/Pro								
	<b>Recesivni model</b>								
Arg/Arg	+	10 (9.4)	76 (72.4)	8 (7.6)	2 (1.9)				
Arg/Pro	vs					0	0	0	
Pro/Pro	vs	1 (1.0)	18 (17.1)	0	1 (1.0)				
<b>Pearson <math>\chi^2</math> p vrednost</b>			<b>Dominantni model</b>		0.461				
			<b>Recesivni model</b>		0.315				

#### 4.8.10. Rezultati analize asocijacije polimorfne varijante Arg72Pro gena *TP53* sa pojavom hepatotoksičnosti (porasta transaminaza)

Hepatotoksičnost se u ovoj grupi pacijenata javila kod samo jednog, tako da se ne može razmatrati uticaj ovog polimorfizma na pojavu ove toksičnosti.

#### 4.9. Kombinacije genotipova

Uzimajući u obzir međusobne kombinacije genotipova koje bi ukazale na postojanje epistatskih interakcija među njima (izuzimajući *TP53* 72Pro alel koji nosi nezavisan rizik za razvoj toksičnosti), detektovano je da su nosioci *TP53/RAD51* ArgArg/GC+CC kombinacije genotipova statistički značajno skloniji razvoju toksičnosti na HT ( $p=0.030$ , Pirsonov  $\chi^2$  test) (Tabela 94).

**Tabela 94.** Uticaj kombinacija polimorfni varijanti *TP53* Arg72Pro, *XRCC1* Arg399Gln i *RAD51* G135C na ispoljenu toksičnost hemioterapije primenom dominantnog i recesivnog modela.

Gen/Model	Genotip	Pacijenti sa vs bez toksičnosti OR (95% CI)	p vrednost (Pearson $\chi^2$ test)
<b><i>TP53/RAD51</i></b>	ArgArg/GG vs. ArgArg/GC+CC	0.07 (0.01 – 0.70)	<b>0.03</b>
<b><i>TP53/XRCC1</i></b>	ArgArg/ArgArg vs. ArgArg/ArgGln+GlnGln	1.27 (0.28 – 5.87)	0.76
<b><i>XRCC1/RAD51</i></b>	ArgArg/GG vs. ArgArg/GC+CC	2.22 (0.57 – 8.65)	0.40
	ArgArg+ArgGln/GG vs. ArgArrg+Gln/GC+CC	1.33 (0.49 – 3.60)	0.75

## 5. DISKUSIJA

Zahvaljujući boljem razumevanju molekularne osnove karcinogeneze karcinoma pluća, otkrivanju specifičnih genetičkih alteracija koje predstavljaju osnovu onkogene adikcije kao i primeni imunoterapije, od početka dvadesetprvog veka novi terapijski modaliteti su zauzeli primat u lečenju metastatskog NSCLC koji je ranije držala hemioterapija, naročito u prvoj liniji lečenja metastaske bolesti. Međutim, primena hemioterapije i dalje ima svoje važno mesto kod pacijenata čiji tumori nemaju neku od mutacija koje se mogu ciljati a kod kojih postoje kontraindikacije za primenu imunoterapije, u drugoj i kasnijim linijama lečenja kada je u prvoj liniji primenjena imunoterapija, i veoma značajno, u prvoj liniji terapije u kombinaciji sa imunoterapijom (8,9). Takođe, u mnogim delovima sveta, imunoterapija još uvek nije odobrena od strane regulatornih i osiguravajućih agencija, te je primena hemioterapije i dalje osnova lečenja (9). Kada se u lečenju NSCLC primenjuje hemioterapija, platinski dubleti predstavljaju standard, i to kombinacija platine i nekog od citostatika treće generacije (taksani, vinorelbin, gemcitabin), obzirom da su studije objavljene oko 2000. godine pokazale prednost kombinacija sa ovim lekovima u pogledu efikasnosti, profila toksičnosti i kvaliteta života, dok praktično nije pokazana prednost u preživljavanju u odnosu na kombinacije sa starijim lekovima. Rezultati u pogledu efikasnosti ovih režima svakako nisu impresivni u današnje vreme primene ciljane i imunoterapije, sa stopom odgovora između 20 i 30%, medijanom PFS od svega 4.5 meseci i medijanom OS od 8.5 meseci. Koji će od ovih režima biti primenjen je individualna odluka za svakog pacijenta uzimajući u obzir razlike u toksičnostima, jer je velika studija ECOG1594 iz 2002. godine pokazala da praktično nema razlike u vremenu do progresije i ukupnog preživljavanja (9,85,86). Takođe, efikasnost cisplatine kao i svih drugih citotoksičnih lekova je ograničena i razvojem neželjenih efekata na zdrava tkiva. Učestalost neželjenih dejstava lekova je obično oko 0,1%, dok kod citostatika iznosi oko 90%, što jasno ukazuje na značaj njihovog praćenja, prepoznavanja i primene odgovarajuće terapije (81,141).

U svakodnevnoj kliničkoj praksi međutim, jasno je vidljivo da postoje značajne razlike u efikasnosti i toksičnosti hemioterapije između pacijenata. Trend u modernoj onkologiji jeste personalizacija terapijskog pristupa, odnosno primena odgovarajuće terapije za svakog pacijenta, čime bi se povećala efikasnost primenjenog tretmana a minimizovala neželjena dejstva. Da bi se obezbedio ovakav personalizovani pristup, neophodno je pronaći što više karakteristika tumora ili samog pacijenta koje bi služile kao faktori predikcije terapijskog odgovora ili kao faktori rizika za razvoj neželjenih efekata. Neki od ovih prognostičkih faktora su odavno poznati, kao što je ECOG PS, odnosno opšte stanje pacijenta i stadijum bolesti (8,9). Međutim, razlike u efikasnosti i toksičnosti primenjene terapije se ne mogu u potpunosti objasniti samo ovim poznatim faktorima niti karakteristikama tumora i demografskim karakteristikama pacijenta. Ranija istraživanja su pokazala uticaj i genetskih činioca na razvoja malignih bolesti, efikasnost raznih lekova, ne samo citostatika pa samim tim i prognozu, odnosno preživljavanje pacijenata (UBACI REFFF). Stoga su ispitivanja uzroka ovih razlika uključila i genetske činioce kao što su mutacije određenih gena, nivo ekspresije gena i polimorfne varijante. Postoje podaci da mutacije i polimorfizmi gena koji u regionima koji kodiraju proteine ili u promotorskim regionima učesnika kaskade popravke DNK utiču na ekspresiju tih gena i samu efikasnost sistema popravke DNK. Ukoliko je efikasnost ovih sistema snižena u malignoj ćeliji, ona neće biti u mogućnosti da ukloni DNK adukte stvorene pod dejstvom cisplatine, samim tim će dejstvo cisplatine na tumor biti jače, a preživljavanje pacijenta duže (142).

U cilju pronalazjenja novih uzročnika uočenih interindividualnih razlika, u ovom radu je ispitivan uticaj genskih polimorfizama gena *TP53* i dva gena koji učestvuju u mehanizmu

popravke DNK, *XRCC1* i *RAD51*, čiji smo značaj u proceni rizika za razvoj karcinoma pluća u našoj populaciji prethodno opisali (143). Uticaj ovih i drugih polimorfizama navedenih gena na efikasnost platinske hemioterapije NSCLC je i ranije ispitivan, uglavnom na azijskoj populaciji i često uz nekonkluzivne ili čak oprečne rezultate koji se moraju tumačiti i u smislu populaciono specifičnih demografskih i genetičkih karakteristika (126,144–146). Prema našem saznanju, do sada nije ispitivan uticaj ovih polimorfizama na efikasnost i toksičnost platinske hemioterapije u našoj zemlji.

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 (9). 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. Interesantno, ovaj faktor nije imao značajan uticaj na ukupno preživljavanje u ovoj grupi pacijenata, što se može objasniti relativno malim brojem ispitvanih uzoraka. Druge ispitane karakteristike pacijenata i tumora nisu ispoljile značajan uticaj na preživljavanje pacijenata. Takođe nije bilo razlika u preživljavanju u odnosu na vrstu hemioterapijskog režima, kao ni u odnosu na vrstu platinskog derivata koji je primenjen. Ispoljena toksičnost je takođe bila u skladu sa literaturnim podacima za platinsku hemioterapiju, bilo koji gradus toksičnosti je zabeležen kod 52.1% pacijenata, a toksičnost gradusa 3 i više kod 38%. Dominantne toksičnosti, očekivano, bile su neutropenija kod 33.4%, leukopenija kod 30.6%, anemija kod 36.4% i mučnina kod 27.3% pacijenata. Ispoljena toksičnost visokog gradusa je uglavnom bila hematološka, koja je kod 2 pacijenta nažalost dovela do smrtnog ishoda u septičnom stanju kao posledica febrilne neutropenije. Kod pacijenata koji su imali toksičnost visokog gradusa registrovano je statistički značajno duže mPFS, 7.29 (5.31-9.28) prema 5.06 (4.08-6.04) meseci,  $p=0.012$ . Broj ispoljenih toksičnosti je takođe uticao na mPFS, pacijenti kod kojih su zabeležene 2 i više toksičnosti su imali duži mPFS, 7.59 (5.43-9.75) prema 4.47 (2.81-6.13) meseci,  $p=0.004$ , odnosno što je više različitih toksičnosti zabeleženo, duža je mPFS. Isti uticaj je viđen i u odnosu na mOS, koja je bila duža kod pacijenata sa ispoljenom toksičnošću bilo kod gradusa, 13.63 vs 6.44 meseci,  $p=0.001$ , kod pacijenata sa 2 i više različitih toksičnosti, 15.67 (13.55-17.79) prema 8.57 (6.22-10.93),  $p=0.032$ , odnosno što je više toksičnosti ispoljeno, duže je i preživljavanje. Ovi rezultati se mogu lako objasniti samim mehanizmom dejstva hemioterapije, koji utiče kako na efikasnost, tako i na toksičnost.

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. S obzirom na to da prisustvo recesivnog Gln alela indukuje formiranje XRCC1 proteina sa sniženom moći popravke oštećenja DNK, lošiji odgovor na hemioterapiju i/ili kraće preživljavanje pacijenata koji su nosioci ovog alela može se objasniti sniženom tolerancijom tumorskih ćelija na oštećenja DNK izazvanog hemioterapijom. 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 (eng.response rate, RR), ali ne i duže vreme do progresije bolesti i ukupno preživljavanje (147). U meta analizi Yuana i saradnika 2015.godine (142) pokazani su slični rezultati, koji su u skladu i sa rezultatima

dobijenim na našoj grupi pacijenata. Nosioci Gln alela su imali nižu stopu odgovora u dominantnom modelu ispitivanja, ali interesantno, u analizi podgrupa ovaj nalaz nije potvrđen kod pacijenata kavkaske rase, već samo kod Azijata. Takođe, ovi pacijenti imaju kraće ukupno preživljavanje i veći rizik za smrt od karcinoma pluća ( $p=0.043$ ). Nije bilo razlike u vremenu do progresije bolesti ni u jednom modelu nasleđivanja. Slične podatke su izneli Jian i saradnici u meta analizi 17 studija sa preko 2200 pacijenata objavljenoj 2012. godine (148). U njihovoj analizi nosioci ArgAgr genotipa su u dominantnom modelu imali bolju stopu odgovora (OR 0.455 (0.313-0.663, CI 95%),  $p=0.0001$ ), a što se tiče preživljavanja detektovan je trend ka dužem preživljavanju ovih pacijenata, međutim zbog velike heterogenosti između analiziranih studija nije se mogla uraditi adekvatna statistička analiza. Liao i autori su 2012. godine ispitivali uticaj ovog polimorfizma na efikasnost hemioterapije koja je sadržala gemcitabin i platinu i 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  $p=0.006$  (149). Sa druge strane, u meta analizi Gua i saradnika 2015. godine (150) 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 cisplatinu hemioterapiju, što nije viđeno kod pripadnika bele rase. U meta analizi Li i autora 2017. godine na 19 studija i preko 2800 pacijenata pokazani su interesantni rezultati u odnosu na rasnu pripadnost pacijenata (146). Naime, u celoj grupi pacijenata nije viđena 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. Takođe, Liu i saradnici nisu pokazali uticaj ovog polimorfizma na stopu odgovora i ukupno preživljavanje (151). Svi ovi rezultati potvrđuju poznatu činjenicu da je značajan uticaj rasne pripadnosti pacijenata, a sa druge strane jasno je da su rezultati i dalje nekonkluzivni i značajno različiti. Treba imati u vidu i da je udeo pacijenata bele, kavkaske rase znatno manji od azijata u svim ovim analizama, što čini naše istraživanje na isključivo pripadnicima bele rase utom značajnijim i korisnim za buduće meta analize.

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. Nema mnogo literaturnih podataka o uticaju ovog polimorfizma na efikasnost platinske hemioterapije kod NSCLC. 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,  $p=0.024$ ). Takođe su zaključili da je uticaj ovog polimorfizma na preživljavanje u vezi i sa pušenjem, odnosno statistički značajna razlika postoji samo kod pušača/bivših pušača, dok kod nepušača te razlike nema. U našoj grupi pacijenata nije bilo uticaja ovog polimorfizma na preživljavanje bez obzira na pušački status. Interesantni su podaci Yin-a i saradnika koji 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 (152).

U našoj 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)  $p=0.288$ ). Kao i slučaju prethodna dva polimorfizma, literaturni podaci o uticaju ovog polimorfizma na preživljavanje pacijenata sa NSCLC su različiti i nekonkluzivni. 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 ( $p=0.003$ ). Ova razlika je naročito vidljiva kod osoba ženskog pola (145). Slični podaci su dobijeni na skoro 1000 pacijenata u istraživanju u Japanu (153). 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, analiza učinjena na oko 100 pacijenata isključivo kavkaske rase u Belgiji, stadijuma I-IV pokazala je da je prisustvo Pro alela nezavistan prognostički factor lošijeg preživljavanja, naročito u stadijumu I ( $p=0.032$ ) (154). Slične rezultate su objavili Liu i saradnici 2017. godine na oko 200 pacijenata stadijuma III-IV koji su lečeni platinskom hemioterapijom (130). 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). I ranije analize, kao ona Hana i saradnika iz 2008.godine (155) su pokazale da je prisustvo Pro alela povezano sa lošijim odgovorom na terapiju i kraćim preživljavanjem. Ovi autori su na grupi od 148 NSCLC pacijenata pokazali da su nosioci ProPro genotipa češće imali PD 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. Funkcionalni SNP Arg72Pro gena *TP53* u kodonu 72 egzona 4 dovodi do zamene arginina prolinom u sintetisanom TP53 proteinu i promene u konformaciji proteina. Ovaj polimorfizam pogađa domen TP53 proteina koji je bogat prolinom, što je neophodno za proapoptotsku aktivnost proteina, odnosno protein TP53-72Arg je 3 do 4 puta efikasniji u izazivanju apoptoze od proteina TP53-72Pro. Sa druge strane, prisustvo Pro alela povezano je i sa lakšim zaustavljanjem ćelijskog ciklusa u fazi G1 što daje više vremena mehanizmima popravke DNK u kojima učestvuje TP53, te takve maligne ćelije duže žive i manje su osetljive na toksično dejstvo spoljnih faktora, kakvi su citostatici (156,157). Stoga se kraće ukupno preživljavanje pacijenata nosioca Pro alela, iako u našoj grupi bez statistički značajne razlike, može objasniti ovim opisanim konformalnim promenama TP53 proteina. Značajno je imati u vidu i poznate razlike u frekvenciji pojave određenih varijanti ovog gena među pripadnicima različitih rasa etničkih grupa što dalje komplikuje i ovako nekonkluzivne rezultate.

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%). Uključivala je hematološku (leukopenija, neutropenija, anemija, trombocitopenija), zatim dijareju, mučninu, povraćanje, neuropatiju, nefro i hepatotoksičnost, što je sve karakteristično za primenu platinske hemioterapije. Rezultati se mogu komentarisati u skladu sa literarnim podacima, koji su, kao i u slučaju uticaja na efikasnost terapije, različiti i često kontradiktorni. Što se tiče uticaja polimorfizma Arg399Gln gena *XRCC1*, nije registrovana statistički značajna razlika u pojavi toksičnosti bilo

kog gradusa u odnosu na pojedinačni genotip (Pearson  $\chi^2$  p-0.642), kao ni korišćenjem dominantnog (Pearson  $\chi^2$  p-0.730) i recesivnog (Pearson  $\chi^2$  p-0.653) modela nasleđivanja. U odnosu na toksičnost visokog gradusa takođe nije viđena statistički značajna razlika ni pojedinačno ni korišćenjem dominantnog i recesivnog modela nasleđivanja, odnosno ispitivana polimorfna varijanta gena *XRCC1* u ovoj grupi pacijenata nije imala uticaj na pojavu toksičnosti visokog gradusa. Nema statistički značajnog uticaja ni na broj ispoljenih različitih toksičnosti, ali se stiče utisak, numerički gledano, da se više toksičnosti istovremeno javlja kod nosilaca Arg alela. Viđeni su, međutim neki zanimljivi uticaji na specifične toksičnosti. Postoji statistički značajna razlika 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). Ovi rezultati pokazuju da su nosioci Arg alela, u bilo kom obliku, homo- ili heterozigotnom pod većim rizikom za razvoj anemije i neuropatije. Numerički se vidi češća pojava i nefrotoksičnosti, dijareje i emeze kod nosilaca Arg alela, ali u tim slučajevima nije detektovana značajna razlika, međutim radi se o veoma malim brojevima pacijenata, što može uticati na takav rezultat. Ovi rezultati su u skladu sa istraživanjem Penga i saradnika, koji su 2014. ispitali 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 (158). Zheng i kolege (104) su 2017. godine ispitali uticaj 97 polimorfizama u 54 gena koji su uključeni u sisteme popravke DNK i pokazali povezanost Arg alela ovog polimorfizma sa pojavim gastrointestinalne toksičnosti, leukopenije i trombocitopenije (p=0.033, p=0.040 i p=0.021, respektivno). Postoje i oprečni rezultati povezanosti ovog polimorfizma i toksičnosti. U analizi španskih autora iz 2016. godine (159) 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), za razliku od naših rezultata gde se čini da se nefrotoksičnost češće javlja kod nosilaca Arg alela. Da veći rizik od pojave toksičnosti nosi Gln alel pokazali su i Wang i kolege još 2008. godine u svojoj analizi pacijenata u jednoj instituciji u Kini (160). Njihovi pacijenti 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 1.066.03, p=0.03). Za razliku od svega do sada navedenog, Li et al 2011.godine (161), Sullivan et al 2014. (162) i Liu 2016 (163) u svojim istraživanjima nisu našli značajan uticaj polimorfizma Arg399Gln gena *XRCC1* na pojavu toksičnosti platinske hemioterapije kod NSCLC. Iz svega navedenog, očigledno je da postoje populaciono-specifične razlike koje bi trebalo ispitati posredstvom meta-analiza koje bi uključivale veliki broj studija urađenih na više genetički različitih populacija.

Nije registrovana statistički značajna razlika u pojavi toksičnosti bilo kog gradusa u odnosu na pojedinačne genotipove polimorfizma G135C gena *RAD51* (Pearson  $\chi^2$  p-0.953), kao ni korišćenjem dominantnog (Pearson  $\chi^2$  p-0.767) i recesivnog (Pearson  $\chi^2$  p-0.979) modela nasleđivanja, a razlike nema ni u pojavi više od jedne vrste toksičnosti. Što se tiče pojave toksičnosti visokog gradusa, uvidom u pojedinačne podatke stiče se utisak da se ovaj nivo toksičnosti češće javljao kod pacijenata koji su nosioci G alela (nijedan paijent sa C/C genotipom nije imao visoku toksičnost), ali ovako viđene razlike nisu potvrđene učinjenim statističkim analizama. Interesantno je zapažanje da se kod nijednog nosioca homozigotnog genotipa CC nije

javila neutropenija, trombocitopenija, dijareja, emeza, neuropatija niti neforotoksičnost, ali statističke metode nisu potvrdile značajnost ovog opažanja u smislu uticaja na pojavu ovih vrsta toksičnosti, što se može pripisati relativno ograničenom broju ispitivanih uzoraka. 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. U već pomenutoj analizi Zhenga i kolega (104) viđen je uticaj ovog polimorfizma na hematološku toksičnost u celini a naročito leukopeniju. Naime, i njihovi rezultati ukazuju da 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 (164).

Polimorfizam Arg72Pro gena *TP53* u našoj grupi pacijenata nije ispoljio statistički značajan uticaj na pojavu toksičnosti bilo kog gradusa, toksičnosti visokog gradusa niti više od jedne vrste toksičnosti, bez obzira na model ispitivanja. Međutim, ispoljen je uticaj ovog polimorfizma na pojedine vrste toksičnosti. Najveći uticaj viđen je u pojavi 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. Ova razlika je naročito značajna 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. Literaturni podaci retko se odnose na pojedinačne vrste toksičnosti kao u našoj analizi, već se toksičnosti uglavnom grupišu u hematološke i nehematološke. Tako, 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,  $p=0.011$ ) (165). Analizu su sprovedi i Wang i saradnici na 119 pacijenata u Kini koji su primali hemioterapiju u sastavu etopozid-cisplatin u lečenju stadijuma 4 sitnoćelijskog karcinoma pluća i pokazali statistički češću pojavu neutropenije gr.3 i 4 kod nosilaca ProPro genotipa (166). S druge strane, 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,  $p=0.25$ ), a ni kasnijom analizom po podgrupama prema etničkoj pripadnosti (167). 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 cisplatinsku hemioterapiju za metastatski karcinom dojke (168). 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;  $p=0.023$ ) (169). Iako se radi o ispitivanjima u drugim tipovima kancera, primenjena hemioterapija je u svim radovima bila bazirana na cisplatinu, te se mogu izvući zaključci o uticaju polimorfizma Arg72Pro na ispoljenu toksičnost. Interesantan je rezultat Borchiellini-ja i saradnika iz 2017. godine (170) da je Pro alel polimorfizma Arg72Pro gena *TP53* povezan sa značajno povećanim rizikom od razvoja osteonekroze kod pacijenata kod kojih je primenjena zračna terapija u lečenju karcinoma ORL regije, što bi moglo ukazati na njegov značaj generalno u prognozi ishoda lečenja i toksičnosti.



Većina studija potencijalne efekte genetičkih varijanti na razvoj i/ili progresiju bolesti razmatra pojedinačno. Poznato je međutim da postoje tzv. epistatski odnosi između gena, odnosno da zajedničko prisustvo određenih genetičkih varijanti može imati uticaj na češće javljanje i progresiju bolesti. Testiranje zajedničkih efekata varijanti različitih gena na određene aspekte bolesti i lečenja, može doprineti boljem razumevanje kako molekularne patogeneze kompleksnih bolesti, uključujući i malignih, tako i širenje i osetljivost na lečenje (171). Imajući u vidu ulogu proteinskih produkata kako gena *XRCC1*, tako i gena *RAD51* u popravci oštećenja na molekulu DNK, kao i njihovu interakciju sa tumor supresorskim proteinima, kao što su TP53, BRCA1 i BRCA2, u ovom ispitivanju je analiziran i njihov potencijalni uzajamni efekat na efikasnost terapije i toksičnost. Jedini statistički značajan rezultat je viđen kod nosioca *TP53/RAD51* ArgArg/GC+CC genotipova, koji su imali veći rizik za razvoj toksičnosti u celini. Ove kombinovane analize mogu biti korisne pri budućoj konstrukciji specifičnih prognostičkih i prediktivnih panela biomarkera koji uključuju analizu velikog broja gena istovremeno.

Ograničenja ovog istraživanja se najpre ogledaju u činjenici da je delom retrospektivne prirode, kao i da se radi o relativno malom broju ispitivanih pacijenata. Međutim, prema našim saznanjima, ovo je prvo istraživanje u našoj zemlji i region koje je obuhvatilo pacijente sa odmaklim adenokarcinomom pluća a koje se bavilo uticajem genetičkih činioca na pojavu specifične toksičnosti platinske hemioterapije odnosno polimorfizama gena *XRCC1*, *RAD51* i *TP53*. Neophodno je sprovođenje multicentričnih studija na većem broju pacijenata iz različitih populacija kako bi se detaljnije ispitaio uticaj ovih i drugih polimorfizama na efikasnost i toksičnost terapije i možda, konstruisao prognostički algoritam koji bi omogućio približavanje modela precizne medicine u svakodnevnu kliničku praksu primene platinske hemioterapije. Jasno je da bi obzirom na komplikovane signalne puteve unutar maligne ćelije, kompleksne mehanizme popravke DNK kao i međusobne komunikacije za koju se zna da postoji između malignih ćelija, takav prognostički algoritam morao biti prilično kompleksan i obuhvatiti mnogo više različitih gena i njihovih polimorfizama od onih obuhvaćenih ovim istraživanjem. S druge strane, važno je razviti pristupačne i finansijski isplative prognostičke alate koji bi mogli biti od koristi u predviđanju efikasnosti i toksičnosti terapije, jer je cena velikih panela baziranih na NGSu nepristupačna za svakodnevnu kliničku praksu, naročito u nerazvijenim i zemljama u razvoju. Značaj primene polimorfizama gena u eventualnoj predikciji odgovora i toksičnosti terapije ogleda se i u činjenici da se radi o metodi koja ne zahteva novu biopsiju, već se koristi već dostupan tumorski materijal, a znamo da je svaka nova biopsija kod pacijenata sa karcinom pluća često teško izvodljiva. Takođe, moguće je analizu izvesti i u nedostatku biopsije, analizom genetičkog materijala ćelija periferne krvi uzete u trenutku redovnih analiza krvne slike, što je minimalno invazivno po pacijenta.

## 6. ZAKLJUČCI

Rezultati ove doktorske disertacije koja je analizirala uticaj genetičkih varijanti *XRCC1* Arg399Gln i *RAD51* G135C i *TP53* Arg72Pro i kliničkih faktora na efikasnost i ispoljenu toksičnost platinske hemioterapije u uznapređovalom NSCLC pokazali su sledeće:

1. ECOG performans status pacijenata na početku lečenja ima statistički značajan uticaj na vreme do progresije bolesti i ukupno preživljavanje, odnosno što je lošiji ECOG PS, to su PFS i OS kraći
2. ECOG PS takođe statistički značajno utiče na efikasnost primenjene hemioterapije, merenu kroz stopu kliničkog benefita, bolji PS dovodi do bolje efikasnosti hemioterapije
3. Vrsta platinskog derivata koji je primenjen u lečenju statistički značajno utiče na efikasnost hemioterapije, cisplatin je efikasniji od karboplatine
4. Ostali klinički faktori pacijenta i tumora ispitivani u ovoj disertaciji nisu ispoljili značajan uticaj na efikasnost niti toksičnost primenjene hemioterapije
5. Pacijenti kod kojih je ispoljena toksičnost visokog gradusa imaju statistički značajno duži PFS i OS
6. Pacijenti kod kojih je ispoljeno više od jedne različite toksičnosti hemioterapije, imaju statistički značajno duži PFS i OS, pri čemu broj ispoljenih toksičnosti direktno utiče na dužinu PFS i OS
7. Nosioци Arg/Arg genotipa *XRCC1* gena imaju bolju prognozu, odnosno prisustvo Arg/Arg genotipa statistički značajno utiče na duži PFS i OS
8. Nije dokazan uticaj ispitanih polimorfizama *RAD51* i *TP53* gena na dužinu PFS i OS
9. U ovoj grupi pacijenata, nije dokazan uticaj ispitivanih polimorfizama gena *XRCC1*, *RAD51* i *TP53* na terapijski odgovor, dužinu trajanja terapijskog odgovora i stopu kontrole bolesti
10. Nosioци 399Arg alela *XRCC1* gena su statistički značajno podložniji razvoju neuropatije i anemije kao toksičnosti primenjene platinske hemioterapije
11. Nosioци 135G alela gena *RAD51* su statistički značajno manje podložni razvoju neuropatije
12. Postoji statistički značajna razlika između prisustva pojedinačnih genotipova u ispitivanom polimorfizmu gena *TP53* i pojavi trombocitopenije bilo kog gradusa
13. Nosioци 72Pro alela ispitanog polimorfizma gena *TP53* su statistički značajno podložniji razvoju trombocitopenije tokom primene hemioterapije, naročito visokog gradusa
14. Nosioци 72Pro alela ispitanog polimorfizma gena *TP53* su statistički značajno podložniji razvoju mučnine tokom primene hemioterapije

## 7. LITERATURA

1. de Groot PM, Wu CC, Carter BW, Munden RF. The epidemiology of lung cancer. *Transl lung cancer Res.* 2018 Jun;7(3):220–33.
2. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2021 Feb.
3. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/lungb.html>
4. Cancer IA for R on. Lung cancer 2018. 2018;876:2018–9. Available from: <http://gco.iarc.fr/today>
5. <https://www.lungcancereurope.eu/wp-content/uploads/2017/10/LuCE-Report-final.pdf>
6. <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/annual-cancer-facts-and-figures/2019/cancer-facts-and-figures-2019.pdf>
7. <https://www.batut.org.rs/index.php?content=2096>
8. Vodič za dijagnostikovanje i lečenje karcinoma pluća. Available from: [http://www.zdravlje.gov.rs/downloads/2011/Decembar/Vodici/Vodic za dijagnostikovanje i lečenje karcinoma pluća.pdf](http://www.zdravlje.gov.rs/downloads/2011/Decembar/Vodici/Vodic%20za%20dijagnostikovanje%20i%20lečenje%20karcinoma%20pluća.pdf)
9. Planchard D, Popat S, Kerr K, Novello S, Smit EF, Faivre-Finn C, et al. Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. *Ann Oncol* 2018;29(Supplement\_4):iv192–237. Available from: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy275>
10. Postmus PE, Kerr KM, Oudkerk M, Senan S, Waller DA, Vansteenkiste J, et al. Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. *Ann Oncol.* 2017;28(suppl\_4):iv1–21. Available from: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx222>
11. Francisci S, Minicozzi P, Pierannunzio D, Ardanaz E, Eberle A, Grimsrud TK, et al. Survival patterns in lung and pleural cancer in Europe 1999–2007: Results from the EURO CARE-5 study. *Eur J Cancer.* 2015 Oct 1;51(15):2242–53. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2015.07.033>
12. Kligerman S, White C. Epidemiology of lung cancer in women: risk factors, survival, and screening. *AJR Am J Roentgenol.* 2011 Feb;196(2):287–95.
13. Patel JD. Lung cancer in women. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2005 May;23(14):3212–8.
14. Planchard D, Loriot Y, Goubar A, Commo F, Soria J-C. Differential expression of biomarkers in men and women. *Semin Oncol.* 2009 Dec;36(6):553–65.
15. Bae J-M, Kim EH. Hormonal Replacement Therapy and the Risk of Lung Cancer in Women: An Adaptive Meta-analysis of Cohort Studies. *J Prev Med Public Health.* 2015 Nov;48(6):280–6.

16. North CM, Christiani DC. Women and lung cancer: what is new? *Semin Thorac Cardiovasc Surg.* 2013;25(2):87–94.
17. Hecht SS. Lung carcinogenesis by tobacco smoke. *Int J cancer.* 2012 Dec;131(12):2724–32.
18. Cavic M, Krivokuca A, Spasic J, Brotto K, Malisic E, Radosavljevic D, et al. The influence of methylenetetrahydrofolate reductase and thymidylate synthetase gene polymorphisms on lung adenocarcinoma occurrence. *J BUON.* 2014;19(4):1024–8.
19. Alberg AJ, Brock M V, Ford JG, Samet JM, Spivack SD. Epidemiology of lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest.* 2013 May;143(5 Suppl):e1S-e29S.
20. Yang P, Sun Z, Krowka MJ, Aubry M-C, Bamlet WR, Wampfler JA, et al. Alpha1-antitrypsin deficiency carriers, tobacco smoke, chronic obstructive pulmonary disease, and lung cancer risk. *Arch Intern Med.* 2008 May;168(10):1097–103.
21. O’Callaghan DS, O’Donnell D, O’Connell F, O’Byrne KJ. The role of inflammation in the pathogenesis of non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2010 Dec;5(12):2024–36.
22. Reduced Lung-Cancer Mortality with Low-Dose Computed Tomographic Screening. *N Engl J Med.* 2011 Jun 29;365(5):395–409. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1102873>
23. NCCN Guidelines Version 1.2020 Lung CAncer Screening. Available from: [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/lung\\_screening.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/lung_screening.pdf)
24. De Koning H, Van Der Aalst C, Ten Haaf K et al. Effects of volume CT lung cancer screening: Mortality results of the NELSON randomized-controlled population based trial. In.
25. NCCN clinical practice guidelines Non-small-cell lung cancer, Version 5.2019. Available from: [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/nscl.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/nscl.pdf)
26. Detterbeck FC, Lewis SZ, Diekemper R, Addrizzo-Harris D, Alberts WM. Executive Summary: Diagnosis and Management of Lung Cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest.* 2013 May 1;143(5):7S-37S. Available from: <https://doi.org/10.1378/chest.12-2377>
27. Walter, J.B. Pryce DM. The histology of lung cancer. *Thorax.* 1955;10:107–16.
28. Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, Yatabe Y, Austin JHM, Beasley MB, et al. The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances Since the 2004 Classification. *J Thorac Oncol.* 2015;10(9):1243–60. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1556086415335711>
29. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, Nicholson AG, Geisinger KR, Yatabe Y, et al. International association for the study of lung cancer/american thoracic society/european respiratory society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol.* 2011 Feb;6(2):244–85. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21252716>

30. Carper MB, Claudio PP. Clinical potential of gene mutations in lung cancer. *Clin Transl Med.* 2015 Dec;4(1):33.
31. Kerr KM, Bubendorf L, Edelman MJ, Marchetti A, Mok T, Novello S, et al. Second ESMO consensus conference on lung cancer: pathology and molecular biomarkers for non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 2014 Sep;25(9):1681–90.
32. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, Arcila ME, Beasley MB, Bernicker EH, et al. Updated Molecular Testing Guideline for the Selection of Lung Cancer Patients for Treatment With Targeted Tyrosine Kinase Inhibitors: Guideline From the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the . *Arch Pathol Lab Med* 2018 Jan 22;142(3):321–46. Available from: <https://doi.org/10.5858/arpa.2017-0388-CP>
33. Kerr KM, Hirsch FR. Programmed Death Ligand-1 Immunohistochemistry: Friend or Foe? *Arch Pathol Lab Med.* 2016 Apr;140(4):326–31.
34. Jing W, Li M, Zhang Y, Teng F, Han A, Kong L, et al. PD-1/PD-L1 blockades in non-small-cell lung cancer therapy. *Onco Targets Ther.* 2016;9:489–502.
35. No Title. Available from: <https://www.uicc.org/resources/tnm>
36. Goldstraw P. The 7th Edition of TNM in Lung Cancer: What Now? *J Thorac Oncol.* 2009 Jun 1;4(6):671–3. Available from: <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e31819e7814>
37. Goldstraw P, Crowley J, Chansky K, Giroux DJ, Groome PA, Rami-Porta R, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for the Revision of the TNM Stage Groupings in the Forthcoming (Seventh) Edition of the TNM Classification of Malignant Tumours. *J Thorac Oncol.* 2007 Aug 1;2(8):706–14. Available from: <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e31812f3c1a>
38. Groome PA, Bolejack V, Crowley JJ, Kennedy C, Krasnik M, Sobin LH, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Validation of the Proposals for Revision of the T, N, and M Descriptors and Consequent Stage Groupings in the Forthcoming (Seventh) Edition of the TNM Classification of Malignant Tumours. *J Thorac Oncol.* 2007 Aug 1;2(8):694–705. Available from: <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e31812d05d5>
39. West H (Jack), Jin JO. Performance Status in Patients With Cancer Performance Status in Patients With Cancer *JAMA Oncology Patient Page.* *JAMA Oncol.* 2015 Oct 1;1(7):998. Available from: <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2015.3113>
40. Karnofsky DA, Abelmann WH, Craver LF, Burchenal JH. The use of the nitrogen mustards in the palliative treatment of carcinoma. With particular reference to bronchogenic carcinoma. *Cancer.* 1948 Nov 1;1(4):634–56. Available from: [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(194811\)1:4%3C634::AID-CNCR2820010410%3E3.0.CO](https://doi.org/10.1002/1097-0142(194811)1:4%3C634::AID-CNCR2820010410%3E3.0.CO)
41. Oken MM, Creech RH, Tormey DC, Horton J, Davis TE, McFadden ET, et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol.* 1982;5(6). Available from: [https://journals.lww.com/amjclinicaloncology/Fulltext/1982/12000/Toxicity\\_and\\_response\\_criteria\\_of\\_the\\_Eastern.14.aspx](https://journals.lww.com/amjclinicaloncology/Fulltext/1982/12000/Toxicity_and_response_criteria_of_the_Eastern.14.aspx)
42. No Title. Available from: <https://oncologypro.esmo.org/Oncology-in-Practice/Practice-Tools/Performance-Scales>
43. Kawaguchi T, Takada M, Kubo A, Matsumura A, Fukai S, Tamura A, et al. Performance Status and Smoking Status Are Independent Favorable Prognostic Factors for Survival in Non-small Cell Lung Cancer: A Comprehensive Analysis of 26,957 Patients with NSCLC. *J Thorac Oncol.* 2010 May 1;5(5):620–30. Available from: <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e3181d2dcd9>
44. Simmons CP, Koinis F, Fallon MT, Fearon KC, Bowden J, Solheim TS, et al. Prognosis in

- advanced lung cancer &#x2013; A prospective study examining key clinicopathological factors. *Lung Cancer*. 2015 Jun 1;88(3):304–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2015.03.020>
45. Lang-Lazdunski L. Surgery for nonsmall cell lung cancer. *Eur Respir Rev*. 2013 Sep 1;22(129):382 LP – 404. Available from: <http://err.ersjournals.com/content/22/129/382.abstract>
  46. Lim E, Baldwin D, Beckles M, Duffy J, Entwisle J, Faivre-Finn C, et al. Guidelines on the radical management of patients with lung cancer. *Thorax*. 2010 Oct 1;65(Suppl 3):iii1 LP-iii27. Available from: [http://thorax.bmj.com/content/65/Suppl\\_3/iii1.abstract](http://thorax.bmj.com/content/65/Suppl_3/iii1.abstract)
  47. Lardinois D, De Leyn P, Van Schil P, Porta RR, Waller D, Passlick B, et al. ESTS guidelines for intraoperative lymph node staging in non-small cell lung cancer☆. *Eur J Cardio-Thoracic Surg*. 2006 Nov 1;30(5):787–92. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejcts.2006.08.008>
  48. Pignon J-P, Tribodet H, Scagliotti G V, Douillard J-Y, Shepherd FA, Stephens RJ, et al. Lung Adjuvant Cisplatin Evaluation: A Pooled Analysis by the LACE Collaborative Group. *J Clin Oncol*. 2008 Jul 20;26(21):3552–9. Available from: <https://doi.org/10.1200/JCO.2007.13.9030>
  49. Douillard J-Y, Rosell R, De Lena M, Carpagnano F, Ramlau R, Gonzáles-Larriba JL, et al. Adjuvant vinorelbine plus cisplatin versus observation in patients with completely resected stage IB&#x2013;IIIA non-small-cell lung cancer (Adjuvant Navelbine International Trialist Association [ANITA]): a randomised controlled trial. *Lancet Oncol*. 2006 Sep 1;7(9):719–27. Available from: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(06\)70804-X](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(06)70804-X)
  50. Wu Y-L, Tsuboi M, He J, John T, Grohe C, Majem M, et al. Osimertinib in Resected EGFR-Mutated Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2020 Sep 19;383(18):1711–23. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2027071>
  51. Antonia SJ, Villegas A, Daniel D, Vicente D, Murakami S, Hui R, et al. Durvalumab after Chemoradiotherapy in Stage III Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2017 Sep 8;377(20):1919–29. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1709937>
  52. Antonia SJ, Villegas A, Daniel D, Vicente D, Murakami S, Hui R, et al. Overall Survival with Durvalumab after Chemoradiotherapy in Stage III NSCLC. *N Engl J Med*. 2018 Sep 25;379(24):2342–50. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1809697>
  53. Mok TS, Wu Y-L, Thongprasert S, Yang C-H, Chu D-T, Saijo N, et al. Gefitinib or Carboplatin–Paclitaxel in Pulmonary Adenocarcinoma. *N Engl J Med*. 2009 Aug 31;361(10):947–57. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0810699>
  54. Rosell R, Carcereny E, Gervais R, Vergnenegre A, Massuti B, Felip E, et al. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2012 Mar 1;13(3):239–46. Available from: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(11\)70393-X](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(11)70393-X)
  55. Sequist L V, Yang JC-H, Yamamoto N, O’Byrne K, Hirsh V, Mok T, et al. Phase III Study of Afatinib or Cisplatin Plus Pemetrexed in Patients With Metastatic Lung Adenocarcinoma With EGFR Mutations. *J Clin Oncol*. 2013 Jul 1;31(27):3327–34. Available from: <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.44.2806>
  56. Soria J-C, Ohe Y, Vansteenkiste J, Reungwetwattana T, Chewaskulyong B, Lee KH, et al. Osimertinib in Untreated EGFR-Mutated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2017 Nov 18;378(2):113–25. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1713137>
  57. Mok TS, Wu Y-L, Ahn M-J, Garassino MC, Kim HR, Ramalingam SS, et al. Osimertinib or

- Platinum–Pemetrexed in EGFR T790M–Positive Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2016 Dec 6;376(7):629–40. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1612674>
58. Shaw AT, Kim D-W, Nakagawa K, Seto T, Crinó L, Ahn M-J, et al. Crizotinib versus Chemotherapy in Advanced ALK-Positive Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2013 Jun 1;368(25):2385–94. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1214886>
  59. Peters S, Camidge DR, Shaw AT, Gadgeel S, Ahn JS, Kim D-W, et al. Alectinib versus Crizotinib in Untreated ALK-Positive Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2017 Jun 6;377(9):829–38. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1704795>
  60. Shaw AT, Kim TM, Crinò L, Gridelli C, Kiura K, Liu G, et al. Ceritinib versus chemotherapy in patients with <em>ALK</em>-rearranged non-small-cell lung cancer previously given chemotherapy and crizotinib (ASCEND-5): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2017 Jul 1;18(7):874–86. Available from: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30339-X](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30339-X)
  61. Novello S, Mazières J, Oh I-J, de Castro J, Migliorino MR, Helland Å, et al. Alectinib versus chemotherapy in crizotinib-pretreated anaplastic lymphoma kinase (ALK)-positive non-small-cell lung cancer: results from the phase III ALUR study. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2018 Jun 1;29(6):1409–16. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29668860>
  62. Kim D-W, Tiseo M, Ahn M-J, Reckamp KL, Hansen KH, Kim S-W, et al. Brigatinib in Patients With Crizotinib-Refractory Anaplastic Lymphoma Kinase–Positive Non–Small-Cell Lung Cancer: A Randomized, Multicenter Phase II Trial. *J Clin Oncol*. 2017 May 5;35(22):2490–8. Available from: <https://doi.org/10.1200/JCO.2016.71.5904>
  63. Shaw AT, Ou S-HI, Felip E, Bauer TM, Besse B, Gadgeel SM, et al. Efficacy and safety of lorlatinib in patients (pts) with ALK+ non-small cell lung cancer (NSCLC) with one or more prior ALK tyrosine kinase inhibitor (TKI): A phase I/II study. *J Clin Oncol*. 2017 May 20;35(15\_suppl):9006. Available from: [https://doi.org/10.1200/JCO.2017.35.15\\_suppl.9006](https://doi.org/10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.9006)
  64. Shaw AT, Ou S-HI, Bang Y-J, Camidge DR, Solomon BJ, Salgia R, et al. Crizotinib in ROS1-Rearranged Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2014 Sep 27;371(21):1963–71. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1406766>
  65. Planchard D, Smit EF, Groen HJM, Mazieres J, Besse B, Helland Å, et al. Dabrafenib plus trametinib in patients with previously untreated <em>BRAF</em><sup>V600E</sup>-mutant metastatic non-small-cell lung cancer: an open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2017 Oct 1;18(10):1307–16. Available from: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30679-4](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30679-4)
  66. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csósz T, Fülöp A, et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1–Positive Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2016 Oct 8;375(19):1823–33. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1606774>
  67. Garon E, Hellmann M, Costa E, Al E. Five-year long-term overall survival for patients with advanced NSCLC treated with pembrolizumab: Results from KEYNOTE-001. *J Clin Oncol*. 2019;37 (suppl).
  68. Gandhi L, Rodríguez-Abreu D, Gadgeel S, Esteban E, Felip E, De Angelis F, et al. Pembrolizumab plus Chemotherapy in Metastatic Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2018 Apr 16;378(22):2078–92. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1801005>
  69. Socinski MA, Jotte RM, Cappuzzo F, Orlandi F, Stroyakovskiy D, Nogami N, et al. Atezolizumab for First-Line Treatment of Metastatic Nonsquamous NSCLC. *N Engl J Med*. 2018 Jun 4;378(24):2288–301. Available from:

- <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1716948>
70. Papadimitrakopoulou V, Cobo M, Bordoni R, Dubray-Longeras P, Szalai Z, Ursol G, et al. OA05.07 IMpower132: PFS and Safety Results with 1L Atezolizumab + Carboplatin/Cisplatin + Pemetrexed in Stage IV Non-Squamous NSCLC. *J Thorac Oncol*. 2018 Oct 1;13(10):S332–3. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2018.08.262>
  71. Jotte RM, Cappuzzo F, Vynnychenko I, Stroyakovskiy D, Rodriguez Abreu D, Hussein MA, et al. IMpower131: Primary PFS and safety analysis of a randomized phase III study of atezolizumab + carboplatin + paclitaxel or nab-paclitaxel vs carboplatin + nab-paclitaxel as 1L therapy in advanced squamous NSCLC. *J Clin Oncol*. 2018 Jun 7;36(18\_suppl):LBA9000–LBA9000. Available from: [https://doi.org/10.1200/JCO.2018.36.18\\_suppl.LBA9000](https://doi.org/10.1200/JCO.2018.36.18_suppl.LBA9000)
  72. Paz-Ares L, Luft A, Vicente D, Tafreshi A, Gümüş M, Mazières J, et al. Pembrolizumab plus Chemotherapy for Squamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2018 Sep 25;379(21):2040–51. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1810865>
  73. No Title [Internet]. Available from: <https://www.merriam-webster.com/dictionary/chemotherapy>
  74. NCI Dictionary of Cancer Terms. Available from: <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/chemotherapy>
  75. Bosch F, Rosich L. The contributions of Paul Ehrlich to pharmacology: a tribute on the occasion of the centenary of his Nobel Prize. *Pharmacology*. 2008/08/05. 2008;82(3):171–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18679046>
  76. Erf LA, Bauer RD. The Clinical Effect of Nitrogen Mustard on Hodgkin'S Disease. *Am J Clin Pathol*. 1949 Apr 1;19(4):372–80. Available from: <https://doi.org/10.1093/ajcp/19.4.372>
  77. Jr DV, Chu E. Medical Oncology. In: DeVita VT, Hellman S RS, editor. *Cancer, Principles and Practice of Oncology*. 9th ed. Philadelphia: Lippincot, Williams & Wilkins; 2011.
  78. Iveson TJ, Kerr RS, Saunders MP, Cassidy J, Hollander NH, Tabernero J, et al. 3 versus 6 months of adjuvant oxaliplatin-fluoropyrimidine combination therapy for colorectal cancer (SCOT): an international, randomised, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet Oncol*. 2018 Apr 1;19(4):562–78. Available from: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30093-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30093-7)
  79. Grothey A, Sobrero AF, Shields AF, Yoshino T, Paul J, Taieb J, et al. Duration of Adjuvant Chemotherapy for Stage III Colon Cancer. *N Engl J Med*. 2018 Mar 28;378(13):1177–88. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1713709>
  80. Neal A, Hoskin P. Principles of systemic treatment. In: Neal A, Hoskin P, editors. *Clinical Oncology Basic Principles and Practice*. 4th ed. Boca Raton, FL: CRC Press; 2009. p. 52–66.
  81. A S, Baker S. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of anticancer drugs. In: DeVita Jr V, Lawrence T, Rosenbergs S, editors. *DeVita, Hellman and Rosenbergs Cancer, Principles and Practice of Oncology*. 11th ed. Philadelphia: Walters Kluwer; 2019. p. 414–577.
  82. Chemotherapy in non-small cell lung cancer: a meta-analysis using updated data on individual patients from 52 randomised clinical trials. Non-small Cell Lung Cancer Collaborative Group. *BMJ*. 1995 Oct 7;311(7010):899–909. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7580546>
  83. Group NM-AC. Chemotherapy in addition to supportive care improves survival in advanced non-small-cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis of individual patient data from 16 randomized controlled trials. *J Clin Oncol*. 2008/08/04. 2008 Oct 1;26(28):4617–25. Available from:



- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18678835>
84. Pujol J-L, Barlesi F, Daurès J-P. Should chemotherapy combinations for advanced non-small cell lung cancer be platinum-based? A meta-analysis of phase III randomized trials. *Lung Cancer*. 2006 Mar 1;51(3):335–45. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2005.11.001>
  85. Schiller JH, Harrington D, Belani CP, Langer C, Sandler A, Krook J, et al. Comparison of Four Chemotherapy Regimens for Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2002 Jan 10;346(2):92–8. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa011954>
  86. Ardizzoni A, Group F the C (CISplatin versus CaM, Boni L, Group F the C (CISplatin versus CaM, Tiseo M, Group F the C (CISplatin versus CaM, et al. Cisplatin- Versus Carboplatin-Based Chemotherapy in First-Line Treatment of Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer: An Individual Patient Data Meta-analysis. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 2007 Jun 6;99(11):847–57. Available from: <https://doi.org/10.1093/jnci/djk196>
  87. Scagliotti GV, Parikh P, von Pawel J, Biesma B, Vansteenkiste J, Manegold C, et al. Phase III Study Comparing Cisplatin Plus Gemcitabine With Cisplatin Plus Pemetrexed in Chemotherapy-Naive Patients With Advanced-Stage Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol*. 2008 Jul 20;26(21):3543–51. Available from: <https://doi.org/10.1200/JCO.2007.15.0375>
  88. Soria J-C, Mauguen A, Reck M, Sandler AB, Saijo N, Johnson DH, et al. Systematic review and meta-analysis of randomised, phase II/III trials adding bevacizumab to platinum-based chemotherapy as first-line treatment in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2012 Nov 23;24(11):20–30. Available from: <https://doi.org/10.1093/annonc/mds590>
  89. Rossi A, Chiodini P, Sun J-M, O'Brien MER, von Plessen C, Barata F, et al. Six versus fewer planned cycles of first-line platinum-based chemotherapy for non-small-cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis of individual patient data. *Lancet Oncol*. 2014 Oct 1;15(11):1254–62. Available from: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)70402-4](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)70402-4)
  90. Miller AB, Hoogstraten B, Staquet M WA. Reporting results of cancer treatment. *Cancer*. 1981;47(1):207–14.
  91. Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, Wanders J, Kaplan RS, Rubinstein L, et al. New Guidelines to Evaluate the Response to Treatment in Solid Tumors. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 2000 Feb 2;92(3):205–16. Available from: <https://doi.org/10.1093/jnci/92.3.205>
  92. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer*. 2009 Jan 1;45(2):228–47. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2008.10.026>
  93. Schwartz LH, Litière S, de Vries E, Ford R, Gwyther S, Mandrekar S, et al. RECIST 1.1- Update and clarification: From the RECIST committee. *Eur J Cancer*. 2016/05/14. 2016 Jul;62:132–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27189322>
  94. No Title. Available from: <https://www.who.int>
  95. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE). Available from: [https://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic\\_applications/ctc.htm#ctc\\_50](https://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/ctc.htm#ctc_50)
  96. ROSENBERG B, VANCAMP L, TROSKO JE, MANSOUR VH. Platinum Compounds: a New Class of Potent Antitumour Agents. *Nature*. 1969;222(5191):385–6. Available from: <https://doi.org/10.1038/222385a0>
  97. Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol*. 2014/07/21. 2014 Oct 5;740:364–78. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25058905>

98. Reiss KA, Hilary Calvert A, O'Dwyer P. Platinum Analogs. In: Jr DV, Lawrence T, Rosenberg S, editors. *DeVita, Hellman and Rosenbergs Cancer, Principles and Practice of Oncology*. 11th ed. Philadelphia: Walters Kluwer; 2019. p. 431–45.
99. Siddik ZH. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. *Oncogene*. 2003;22(47):7265–79. Available from: <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206933>
100. Rocha CRR, Silva MM, Quinet A, Cabral-Neto JB, Menck CFM. DNA repair pathways and cisplatin resistance: an intimate relationship. *Clinics*. 2018;73. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1807-59322018000200317&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1807-59322018000200317&nrm=iso)
101. Makovec T. Cisplatin and beyond: molecular mechanisms of action and drug resistance development in cancer chemotherapy. *Radiol Oncol*. 2019 Mar 28;53(2):148–58. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30956230>
102. Marullo R, Werner E, Degtyareva N, Moore B, Altavilla G, Ramalingam SS, et al. Cisplatin Induces a Mitochondrial-ROS Response That Contributes to Cytotoxicity Depending on Mitochondrial Redox Status and Bioenergetic Functions. *PLoS One*. 2013 Nov 19;8(11):e81162. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081162>
103. Afifah NN, Diantini A, Intania R, Abdulah R, Barliana MI. Genetic Polymorphisms and the Efficacy of Platinum-Based Chemotherapy: Review. *Pharmgenomics Pers Med*. 2020 Oct 8;13:427–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33116759>
104. Zheng Y, Deng Z, Yin J, Wang S, Lu D, Wen X, et al. The association of genetic variations in DNA repair pathways with severe toxicities in NSCLC patients undergoing platinum-based chemotherapy. *Int J Cancer*. 2017 Dec 1;141(11):2336–47. Available from: <https://doi.org/10.1002/ijc.30921>
105. Chen S-H, Chang J-Y. New Insights into Mechanisms of Cisplatin Resistance: From Tumor Cell to Microenvironment. *Int J Mol Sci*. 2019 Aug;20(17).
106. Nelly A. Overview of Chemotherapy-Induced Nausea and Vomiting and Evidence-Based Therapies. Available from: <https://www.ajmc.com/journals/supplement/2017/managed-care-considerations-in-chemotherapy-induced-nausea-and-vomiting>
107. Roila F, 2015 on behalf of the participants of the MCCC, Molassiotis A, 2015 on behalf of the participants of the MCCC, Herrstedt J, 2015 on behalf of the participants of the MCCC, et al. 2016 MASCC and ESMO guideline update for the prevention of chemotherapy- and radiotherapy-induced nausea and vomiting and of nausea and vomiting in advanced cancer patients. *Ann Oncol*. 2016 Sep 23;27(suppl\_5):v119–33. Available from: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdw270>
108. Miller RP, Tadagavadi RK, Ramesh G, Reeves WB. Mechanisms of Cisplatin nephrotoxicity. *Toxins (Basel)*. 2010/10/26. 2010 Nov;2(11):2490–518. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22069563>
109. Sheth S, Mukherjea D, Rybak LP, Ramkumar V. Mechanisms of Cisplatin-Induced Ototoxicity and Otoprotection. *Front Cell Neurosci*. 2017 Oct 27;11:338. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29163050>
110. Amptoulach S, Tsavaris N. Neurotoxicity Caused by the Treatment with Platinum Analogues. *Chemother Res Pract*. 2011;2011:1–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2011/843019>
111. Cisplatin Summary of Product Characteristics [Internet]. Available from: <https://www.medicines.org.uk/emc/product/3788/smpc>
112. Murphy KM, Cooper A TE. The Human Genome, Gene Regulation and Genetic Variation. In: Sandosh P, editor. *Handbook of Pharmacogenomics and Stratified Medicine*. 2014. p.

- 41–56.
113. Mendelson J, Howley P, Israel M, Gray J TC. *The Molecular basis of Cancer*. 4th ed. Saunders; 2014.
  114. Kling J. PARP inhibitors blaze a trail in difficult-to-treat cancers. Vol. 27, *Nature biotechnology*. United States; 2009. p. 784–6.
  115. Nogueira A, Assis J, Catarino R, Medeiros R. DNA repair and cytotoxic drugs: the potential role of RAD51 in clinical outcome of non-small-cell lung cancer patients. *Pharmacogenomics*. 2013 Apr;14(6):689–700.
  116. Bosken CH, Wei Q, Amos CI, Spitz MR. An analysis of DNA repair as a determinant of survival in patients with non-small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2002 Jul;94(14):1091–9.
  117. Lai SL, Hwang J, Perng RP, Whang-Peng J. Modulation of cisplatin resistance in acquired-resistant nonsmall cell lung cancer cells. *Oncol Res*. 1995;7(1):31–8.
  118. Sterpone S, Cozzi R. Influence of *XRCC1* Genetic Polymorphisms on Ionizing Radiation-Induced DNA Damage and Repair. Basu A, editor. *J Nucleic Acids* [Internet]. 2010;2010:780369. Available from: <https://doi.org/10.4061/2010/780369>
  119. Chen J, Silver D, Cantor S, Livingston D SR. BRCA1, BRCA2, and RAD51 operate in a common DNA damage response pathway. *Cancer Res*. 1999;59(7):1752–6.
  120. Caldecott KW. XRCC1 and DNA strand break repair. *DNA Repair (Amst)*. 2003 Sep;2(9):955–69.
  121. Thompson LH, West MG. XRCC1 keeps DNA from getting stranded. *Mutat Res*. 2000 Feb;459(1):1–18.
  122. Audebert M, Salles B, Calsou P. Involvement of poly(ADP-ribose) polymerase-1 and XRCC1/DNA ligase III in an alternative route for DNA double-strand breaks rejoining. *J Biol Chem*. 2004 Dec;279(53):55117–26.
  123. Hoeijmakers JHJ. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature* [Internet]. 2001;411(6835):366–74. Available from: <https://doi.org/10.1038/35077232>
  124. Padmanabhan S, Murphy KM, Cooper A, Tobias ES. Chapter 3 – The Human Genome, Gene Regulation, and Genomic Variation. In: *Handbook of Pharmacogenomics and Stratified Medicine*. 2014. p. 41–56.
  125. Nogueira A, Catarino R, Coelho A, Araújo A, Gomes M, Medeiros R. Influence of DNA repair RAD51 gene variants in overall survival of non-small cell lung cancer patients treated with first line chemotherapy. *Cancer Chemother Pharmacol* [Internet]. 2010;66(3):501–6. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00280-009-1187-2>
  126. DeVita VT, Laurence TS RS. DeVita, Hellman and Rosenberg's *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. 9th ed. Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business; 2011.
  127. Takenaka T, Yoshino I, Kouso H, Ohba T, Yohena T, Osoegawa A, et al. Combined evaluation of RAD51 and ERCC1 expressions for sensitivity to platinum agents in non-small cell lung cancer. *Int J Cancer*. 2007 Aug 15;121(4):895–900. Available from: <https://doi.org/10.1002/ijc.22738>
  128. Chen Q, Cai D, Li M, Wu X. The homologous recombination protein RAD51 is a promising therapeutic target for cervical carcinoma. *Oncol Rep*. 2017;38(2):767–74. Available from: <https://doi.org/10.3892/or.2017.5724>
  129. Sun Y, McCorvie TJ, Yates LA, Zhang X. Structural basis of homologous recombination. *Cell Mol Life Sci*. 2019/11/20. 2020 Jan;77(1):3–18. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31748913>
  130. Liu L, Wu C, Wang Y, Zhong R, Duan S, Wei S, et al. Combined Effect of Genetic

- Polymorphisms in *P53*, *P73*, and *MDM2* on Non-small Cell Lung Cancer Survival. *J Thorac Oncol*. 2011 Nov 1;6(11):1793–800. Available from: <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e3182272273>
131. Aubrey BJ, Kelly GL, Janic A, Herold MJ, Strasser A. How does p53 induce apoptosis and how does this relate to p53-mediated tumour suppression? *Cell Death Differ*. 2018;25(1):104–13. Available from: <https://doi.org/10.1038/cdd.2017.169>
  132. Ahmad S. Platinum–DNA Interactions and Subsequent Cellular Processes Controlling Sensitivity to Anticancer Platinum Complexes. *Chem Biodivers*. 2010 Mar 1;7(3):543–66. Available from: <https://doi.org/10.1002/cbdv.200800340>
  133. p53 signaling pathway [Internet]. Available from: <https://www.cusabio.com/pathway/p53-signaling-pathway.html>
  134. What aer single nucleotide polymorphisms. Available from: <https://ghr.nlm.nih.gov/primer/genomicresearch/snp>
  135. JS C. DNA Damage & Repair: Mechanisms for Maintaining DNA Integrity. *Nat Educ*. 2008;1(1):103.
  136. Chistiakov DA, Voronova N V, Chistiakov PA. Genetic variations in DNA repair genes, radiosensitivity to cancer and susceptibility to acute tissue reactions in radiotherapy-treated cancer patients. *Acta Oncol (Madr)*. 2008 Jan 1;47(5):809–24. Available from: <https://doi.org/10.1080/02841860801885969>
  137. Qiao G-B, Wu Y-L, Yang X-N, Zhong W-Z, Xie D, Guan X-Y, et al. High-level expression of RAD51 is an independent prognostic marker of survival in non-small-cell lung cancer patients. *Br J Cancer*. 2005 Jul;93(1):137–43.
  138. Barnoud T, Parris JLD, Murphy ME. Common genetic variants in the TP53 pathway and their impact on cancer. *J Mol Cell Biol*. 2019 Jul 19;11(7):578–85. Available from: <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjz052>
  139. Dahabreh IJ, Schmid CH, Lau J, Varvarigou V, Murray S, Trikalinos TA. Genotype misclassification in genetic association studies of the rs1042522 TP53 (Arg72Pro) polymorphism: a systematic review of studies of breast, lung, colorectal, ovarian, and endometrial cancer. *Am J Epidemiol*. 2013/05/31. 2013 Jun 15;177(12):1317–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23729685>
  140. No Title. Available from: [https://www.eortc.be/services/doc/ctc/CTCAE\\_4.03\\_2010-06-14\\_QuickReference\\_5x7.pdf](https://www.eortc.be/services/doc/ctc/CTCAE_4.03_2010-06-14_QuickReference_5x7.pdf)
  141. Shewach DS, Kuchta RD. Introduction to cancer chemotherapeutics. *Chem Rev*. 2009 Jul;109(7):2859–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19583428>
  142. Yuan Z, Li J, Hu R, Jiao Y, Han Y, Weng Q. Predictive assessment in pharmacogenetics of XRCC1 gene on clinical outcomes of advanced lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Sci Rep*. 2015;5(1):16482. Available from: <https://doi.org/10.1038/srep16482>
  143. Cavic M, Spasic J, Krivokuca A, Boljevic I, Kuburovic M, Radosavljevic D, et al. TP53 and DNA-repair gene polymorphisms genotyping as a low-cost lung adenocarcinoma screening tool. *J Clin Pathol*. 2019 Jan;72(1):75–80.
  144. Zhang N, Ouyang Y, Chang J, Liu P, Tian X, Yu J. Pharmacogenetic Association between XRCC1 Polymorphisms and Response to Platinum-Based Chemotherapy in Asian Patients with NSCLC: A Meta-Analysis. Doetsch PW, editor. *Biomed Res Int*. 2020;2020:3520764.
  145. Kumari A, Bahl C, Singh N, Behera D, Sharma S. Association of p53 codon 72 polymorphism and survival of North Indian lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Mol Biol Rep*. 2016;43(12):1383–94.
  146. Li D-J, Xiao D. Association between the XRCC1 polymorphisms and clinical outcomes of

- advanced NSCLC treated with platinum-based chemotherapy: a meta-analysis based on the PRISMA statement. *BMC Cancer*. 2017;17(1):501.
147. Tan L-M, Qiu C-F, Zhu T, Jin Y-X, Li X, Yin J-Y, et al. Genetic Polymorphisms and Platinum-based Chemotherapy Treatment Outcomes in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer: A Genetic Epidemiology Study Based Meta-analysis. *Sci Rep*. 2017;7(1):5593. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05642-0>
  148. Chen J, Zhao Q, Shi G, Wang L. XRCC1 Arg399Gln and clinical outcome of platinum-based treatment for advanced non-small cell lung cancer: a meta-analysis in 17 studies. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2012 Nov;13(11):875–83.
  149. Liao W-Y, Shih J-Y, Chang G-C, Cheng Y-K, Yang J-C-H, Chen Y-M, et al. Genetic Polymorphism of XRCC1 Arg399Gln Is Associated With Survival in Non-Small-Cell Lung Cancer Patients Treated With Gemcitabine/Platinum. *J Thorac Oncol*. 2012;7(6):973–81. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1556086415332627>
  150. Gu A-Q, Wang W-M, Chen W-Y, Shi C-L, Lu J-H, Han J-Q. XRCC1 genetic polymorphisms and sensitivity to platinum-based drugs in non-small cell lung cancer: an update meta-analysis based on 4708 subjects. *Int J Clin Exp Med* 2015 Jan 15;8(1):145–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25784983>
  151. Liu HF, Liu JSDeng JH WR. Role of XRCC1 gene polymorphisms in non-small cell lung cancer cisplatin-based chemotherapy, and their effect on clinical and pathological characteristics. *Genet Mol Res*. 2016;15(4).
  152. Yin M, Yan J, Voutsina A, Tibaldi C, Christiani DC, Heist RS, et al. No evidence of an association of ERCC1 and ERCC2 polymorphisms with clinical outcomes of platinum-based chemotherapies in non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Lung Cancer*. 2010/11/13. 2011 Jun;72(3):370–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21075476>
  153. Shiraishi K, Kohno T, Tanai C, Goto Y, Kuchiba A, Yamamoto S, et al. Association of DNA repair gene polymorphisms with response to platinum-based doublet chemotherapy in patients with non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2010 Nov;28(33):4945–52.
  154. Deben C, Van den Bossche J, Van Der Steen N, Lardon F, Wouters A, de Beeck KO, et al. Deep sequencing of the TP53 gene reveals a potential risk allele for non-small cell lung cancer and supports the negative prognostic value of TP53 variants. *Tumor Biol*. 2017 Feb 1;39(2):1010428317694327. Available from: <https://doi.org/10.1177/1010428317694327>
  155. Han J-Y, Lee GK, Jang DH, Lee SY, Lee JS. Association of p53 codon 72 polymorphism and MDM2 SNP309 with clinical outcome of advanced nonsmall cell lung cancer. *Cancer*. 2008 Aug 15;113(4):799–807. Available from: <https://doi.org/10.1002/cncr.23668>
  156. Lin H-Y, Huang C-H, Wu W-J, Chang L-C, Lung F-W. TP53 codon 72 Gene Polymorphism Paradox in Associated with Various Carcinoma Incidences, Invasiveness and Chemotherapy Responses. *Int J Biomed Sci*. 2008 Dec;4(4):248–54.
  157. Dumont P, Leu JI-J, Della Pietra AC 3rd, George DL, Murphy M. The codon 72 polymorphic variants of p53 have markedly different apoptotic potential. *Nat Genet*. 2003 Mar;33(3):357–65.
  158. Peng Y, Li Z, Zhang S, Xiong Y, Cun Y, Qian C, et al. Association of DNA base excision repair genes (OGG1, APE1 and XRCC1) polymorphisms with outcome to platinum-based chemotherapy in advanced nonsmall-cell lung cancer patients. *Int J Cancer*. 2014 Dec 1;135(11):2687–96. Available from: <https://doi.org/10.1002/ijc.28892>
  159. Pérez-Ramírez C, Cañadas-Garre M, Alnatsha A, Villar E, Delgado JR, Faus-Dáder MJ, et

- al. Pharmacogenetic predictors of toxicity to platinum based chemotherapy in non-small cell lung cancer patients. *Pharmacol Res.* 2016;111:877–84. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1043661816305345>
160. Wang Z, Xu B, Lin D, Tan W, Leaw S, Hong X, et al. XRCC1 polymorphisms and severe toxicity in lung cancer patients treated with cisplatin-based chemotherapy in Chinese population. *Lung Cancer.* 2008 Oct 1;62(1):99–104. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2008.02.019>
  161. Li Y, Huang X-E, Jin G-F, Shen H-B, Xu L. Lack of any relationship between chemotherapy toxicity in non-small cell lung cancer cases and polymorphisms in XRCC1 codon 399 or XPD codon 751. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2011;12(3):739–42.
  162. Sullivan I, Salazar J, Majem M, Pallarés C, Del Río E, Páez D, et al. Pharmacogenetics of the DNA repair pathways in advanced non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Cancer Lett.* 2014 Oct;353(2):160–6.
  163. Liu J-Y, Qian C-Y, Gao Y-F, Chen J, Zhou H-H, Yin J-Y. Association between DNA mismatch repair gene polymorphisms and platinum-based chemotherapy toxicity in non-small cell lung cancer patients. *Chin J Cancer.* 2017 Jan 16;36(1):12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28093084>
  164. Erčulj N, Kovač V, Hmeljak J, Franko A, Dodič-Fikfak M, Dolžan V. DNA repair polymorphisms and treatment outcomes of patients with malignant mesothelioma treated with gemcitabine-platinum combination chemotherapy. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer.* 2012 Oct;7(10):1609–17.
  165. Zheng D, Chen Y, Gao C, Wei Y, Cao G, Lu N, et al. Polymorphisms of p53 and MDM2 genes are associated with severe toxicities in patients with non-small cell lung cancer. *Cancer Biol Ther.* 2014;15(11):1542–51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25482940>
  166. Wang X, Wang Y-Z, Ma K-W, Chen X, Li W. MDM2 rs2279744 and TP53 rs1042522 polymorphisms associated with etoposide- and cisplatin-induced grade III/IV neutropenia in Chinese extensive-stage small-cell lung cancer patients. *Oncol Res Treat.* 2014;37(4):176–80.
  167. Liu W, Wang Y, Luo J, Yuan H, Luo Z. Genetic Polymorphisms and Platinum-Based Chemotherapy-Induced Toxicities in Patients With Lung Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Oncol.* 2020;9:1573. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fonc.2019.01573>
  168. Okishiro M, Kim SJ, Tsunashima R, Nakayama T, Shimazu K, Shimomura A, et al. MDM2 SNP309 and TP53 R72P associated with severe and febrile neutropenia in breast cancer patients treated with 5-FU/epirubicin/cyclophosphamide. *Breast Cancer Res Treat.* 2012 Apr;132(3):947–53.
  169. Khrunin A V, Moisseev A, Gorbunova V, Limborska S. Genetic polymorphisms and the efficacy and toxicity of cisplatin-based chemotherapy in ovarian cancer patients. *Pharmacogenomics J.* 2010 Feb;10(1):54–61.
  170. Borchiellini D, Etienne-Grimaldi MC, Bensadoun RJ, Benezery K, Dassonville O, Poissonnet G, et al. Candidate apoptotic and DNA repair gene approach confirms involvement of ERCC1, ERCC5, TP53 and MDM2 in radiation-induced toxicity in head and neck cancer. *Oral Oncol.* 2017 Apr;67:70–6.
  171. Cordell HJ. Detecting gene-gene interactions that underlie human diseases. *Nat Rev Genet [Internet].* 2009 Jun;10(6):392–404. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19434077>

## BIOGRAFIJA

Kandidat Jelena (Radoslav) Spasić, rođena je u Nišu, 1977. godine. Završila je osnovnu školu Vuk Karadžić u Pirotu, kao i prva dva razreda Gimnazije u Pirotu. Srednje obrazovanje nastavljeno u Velikoj Britaniji, gde je završila *A level*, odnosno ekvivalent trećem i četvrtom razredu srednje škole. U Beogradu 1996. godine je upisala Medicinski fakultet, gde je diplomirala decembra 2002. godine sa prosečnom ocenom 9,37. Nakon završenog fakulteta i položenog stručnog ispita, juna 2004. godine zaposlila se na Institutu za onkologiju i radiologiju Srbije, na odeljenju za tumore digestivnog trakta i pluća, gde je i danas zaposlena. Specijalistički ispit iz Interne medicine položila je jula 2011. godine, a jula 2018. godine stekla naziv subspecijaliste onkologije.

Oktoobra i novembra 2012. godine boravila je na studijskom putovanju u *National Cancer Center* u Tokiju, Japan kao stipendista JICA (Japan International Cooperation Agency). Kao dobitnik *ESMO European Integration Fellowship* nagrade 2018 godine, boravila je *Royal Marsden NHS Foundation Trust* u Londonu, Velika Britanija. Dobitnik je *IASLC International Mentorship Award* nagrade 2018. godine, što je obuhvatalo studijski boravak u *Juravinski Cancer Centre* u Hamiltonu, Kanada.

Redovan je učesnik domaćih i međunarodnih škola, kurseva i kongresa u oblasti medikalne onkologije kao prezenter i predavač. Autor je i koautor više apstrakata na međunarodnim konferencijama, kao i više radova u domaćim i međunarodnim stručnim časopisima.

Образац изјаве о ауторству

## Изјава о ауторству

Име и презиме аутора: Јелена Спасић  
Број индекса: 2019/5025

### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом:

„Испитивање упитацаја варијанти у генима *TP53*, *XRCC1* и *RAD51* и клиничких фактора на ефикасност и испољену токсичност платинске хемиотерапије у узрапредовалом неситноћелијском карциному плућа“

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



Образац изјаве о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

## **Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада**

Име и презиме аутора: Јелена Спасић

Број индекса: 2019/5025

Студијски програм: Молекуларна медицина

Наслов рада: „Испитивање упитацаја варијанти у генима *TP53*, *XRCC1* и *RAD51* и клиничких фактора на ефикасност и испољену токсичност платинске хемиотерапије у узрапредовалом неситноћелијском карциному плућа“

Ментор: Проф др Људмила Нагорни Обрадовић

### **Изјављујем**

да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

---

У Београду, \_\_\_\_\_

Образац изјаве о коришћењу

## Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

„Испитивање упитацаја варијанти у генима *TP53*, *XRCC1* и *RAD51* и клиничких фактора на ефикасност и испољену токсичност платинске хемиотерапије у узрапредовалом неситноћелијском карциному плућа“

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци. Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

---

У Београду, \_\_\_\_\_