

**UNIVERZITET U BEOGRADU
FARMACEUTSKI FAKULTET**

Kristina Z. Denić

**HEPATOTOKSIČNOST CITOTOKSIČNE
KOMBINOVANE HEMIOTERAPIJE SA
BIOLOŠKOM TERAPIJOM ILI BEZ NJE
KOD BOLESNIKA SA METASTATSKIM
KOLOREKTALNIM KARCINOMOM**

Doktorska disertacija

Beograd, 2016

**UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF PHARMACY**

Kristina Z. Denić

**HEPATOTOXICITY OF COMBINED
CITOTOXIC CHEMOTHERAPY WITH OR
WITHOUT BIOLOGICAL THERAPY IN
PATIENTS WITH METASTATIC
COLORECTAL CARCINOMA**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2016

Mentori

Dr Nenad Ugrešić, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

Dr Dino Tarabar, vanredni profesor
Univerzitet odbrane u Beogradu
Medicinski fakultet Vojnomedicinske akademije

Članovi komisije

Dr Miroslav Savić, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

Dr Zoran Šegrt, vanredni profesor
Univerzitet odbrane u Beogradu
Medicinski fakultet Vojnomedicinske akademije

dr Slobodan Obradović, vanredni profesor
Univerzitet odbrane u Beogradu
Medicinski fakultet Vojnomedicinske akademije

U Beogradu, _____

Svojim mentorima,

Profesoru Nenadu Ugrešiću, veliko hvala za stručne sugestije, razumevanje i dragocene savete. Profesoru Dinu Tarabaru, dugujem ogromnu zahvalnost za bezrezervnu podršku, brigu, posvećeno vreme, stručne savete i pre svega nesebičnu pomoć bez koje ovaj rad ne bi postojao.

Profesoru Saviću se zahvaljujem na pomoći, razumevanju, strpljenju i perfekciji pri izradi ove disertacije. Profesoru Obradoviću se zahvaljujem na korisnim savetima i dragocenim smernicama tokom izrade ovog rada. Profesoru Šegrtu hvala na razumevanju i savetima pri izradi ove disertacije.

Osećaj zahvalnosti dugujem prof. Dubravku Bokonjiću koji je svojim stručnim savetima i stalnom podrškom usmeravao sprovođenje ovog istraživanja.

Prof. Bogdanu Boškoviću, idejnom tvorcu ovog rada, dugujem posebnu zahvalnost zbog nesebične i samo njemu svojstvene pomoći koja je bila od ogromnog značaja pri realizaciji ovog rada.

Zahvaljujem se kolegama Dr Nemanji Staniću, Dr Jeleni Spasić i Dr Mariji Ristić sa Instituta za onkologiju i radiologiju na saradnji, pruženoj pomoći i stručnim savetima.

Prof. Vesni Kilibardi hvala na razumevanju i podršci koju mi je pružala pri izradi disertacije.

Zahvaljujem se kolegi Aleksandru Roškulecu i gđji Nataliji Marić na tehničkoj pomoći pri izradi ovog rada.

Posebno se zahvaljujem Branislavi Ždrale, kolegici i prijatelju koja je uvek bila tu kada je bilo najpotrebnije.

Svojoj porodici se zahvaljujem na podršci i požrtvovanju što mi je davalo snagu da istrajem do kraja. Briga i ljubav mojih roditelja su za mene od najvećeg značaja. Zahvalnost je najmanje što im dugujem.

Posebnu zahvalnost, koja se teško može opisati rečima dugujem svojoj majci koja mi je onako kako to samo majka ume davala snagu da istrajem i ne odustanem na putu do završetka disertacije. Danas bi da je ovde bila najponosnija osoba na svetu. Ovaj dan i uspeh posvećujem svojoj majci Tanji.

Hepatotoksičnost citotoksične kombinovane hemioterapije sa biološkom terapijom ili bez nje kod bolesnika sa metastatskim kolorektalnim karcinomom

REZIME

Kolorektalni karcinom (CRC) je jedno od najčešćih malignih oboljenja. U trenutku dijagnostikovanja kod većine obolelih se detektuju metastaze na jetri. Zbog toga je pravovremena upotreba hemioterapeutika za njihovo lečenje od velikog značaja. Tretman metastatskog kolorektalnog karcinoma se zasniva na kombinovanoj upotrebi konvencionalnih citostatika i monoklonskih antitela kao što je npr. bevacizumab. Konvencionalni citostatski protokoli lečenja ispoljavaju neželjene efekte na tkivo jetre. Hepatotoksični efekti hemioterapije se manifestuju u vidu poremećaja vrednosti biohemijskih parametara funkcionalnog statusa jetre. Dodatak bevacizumaba konvencionalnim citostaticima poboljšava njihov terapijski efekat, dok je njegov uticaj na prouzrokovani poremećaj vrednosti biohemijskih parametara nepoznat. Takođe, nije poznata korelacija postignutog kliničkog odgovora sa narušenim vrednostima biohemijskih parametara.

Shodno tome, primarni cilj našeg istraživanja je bio komparativna analiza vrednosti biohemijskih parametara funkcije jetre bolesnika lečenih konvencionalnim citostaticima sa vrednostima parametara bolesnika dodatno tretiranih bevacizumabom. Kao sekundarni, ne manje važan cilj, je bio utvrđivanje odnosa kliničkih ishoda bolesnika sa vrednostima biohemijskih parametara jetre.

U studiju je uključeno 96 bolesnika obololelih od CRC sa histološki potvrđenim, neresektabilnim metastazama na jetri zbog kojih do trenutka uključivanja u studiju nisu tretirani hemioterapijskim protokolom. Bolesnici koji su prethodno, radi primarnog CRC lečeni određenim hemioterapijskim ili radioterapijskim protokolom su uključeni u studiju samo ukoliko je sprovedeni terapijski protokol završen najmanje mesec dana pre početka studije. Bolesnicima je na osnovu odluke ordinirajućeg onkologa dodeljen FOLFOX4 ili FOLFOX4+Bevacizumab hemioterapijski protokol kao terapijski protokol prve linije. Bolesnici su grupisani na osnovu hemioterapijskog protokola koji su primali.

Jedna grupa bolesnika (n=44) je lečena po FOLFOX4 protokolu (grupa 1), dok je druga (n=52) lečena udruženom upotrebom FOLFOX4 i bevacizumaba (grupa 2). U zavisnosti od kliničkog odgovora na primenjenu terapiju, lečenje bolesnika je trajalo od 2 do 6 meseci.

Istraživanje je sprovedeno na Institutu za onkologiju i radiologiju u Beogradu, Srbija. Demografski i kliničko-epidemiološki podaci bolesnika lečenih u periodu od januara 2009. do decembra 2014. godine su dobijeni pregledom medicinske dokumentacije. Istraživanje je sprovedeno u skladu sa propisima Helsinške deklaracije, Dobre kliničke prakse kao i zahtevima etičkog komiteta ustanove u kojoj su lečeni bolesnici. Pre početka studije, svi bolesnici su dali pisani pristanak za uključivanje u istraživanje.

Određivanje rutinskih biohemijskih parametara funkcije jetre korišćenih za praćenje hepatotoksičnog efekta hemioterapije je vršeno pre početka i na kraju terapijskog protokola. Klinički odgovor na terapiju je do kraja lečenja procenjivan posle svakog četvrtog ciklusa hemioterapije. Odgovor na primenjenu terapiju je procenjivan u skladu sa vodičima za procenu kliničkog odgovora kod solidnih tumora verzije 1.1 (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors). Klinički odgovor bolesnika je procenjen kao regresija (kompletna ili parcijalna), stabilizacija ili progresija bolesti. Procenu su vršili članovi (hirurg, onkolog, radiolog i patolog) konzilijuma za tumore gastrointestinalnog trakta ustanove u kojoj su lečeni bolesnici. Članovi konzilijuma nisu učestvovali u studiji.

Nakon završenog lečenja, kompletna regresija bolesti je postignuta kod samo 3 (3,13%) bolesnika, parcijalna regresija kod 38 (39,58%), stabilizacija kod 23 (23,96%) i progresija bolesti kod 32 (33,33%) bolesnika. Kompletna regresija bolesti je ostvarena samo kod bolesnika u grupi 2. Od 38 bolesnika sa parcijalnom regresijom bolesti 30 bolesnika (78,95%) je pripadalo grupi 2. Broj bolesnika sa stabilizacijom bolesti je bio skoro podjednak u obe grupe bolesnika, dok je progresija bolesti bila zastupljenija kod bolesnika iz grupe 1.

Rezultati pokazuju da su početne vrednosti nekih od analiziranih biohemijskih parametara bile iznad referentnih vrednosti. Poremećaj vrednosti biohemijskih parametara kod bolesnika koji su tretirani konvencionalnim citostaticima, posledica je ne samo metastatskih promena već i toksičnog efekta hemioterapije.

Nakon sprovedenog lečenja, između dve grupe bolesnika su se statistički značajno razlikovale krajnje vrednosti AST, ALP, GGT i LDH (*p* vrednosti su bile redom: 0,002 za AST; 0,001 za ALP i GGT; 0,000 za LDH). Vrednosti pomenutih parametara su bile niže kod

bolesnika u grupi 2, dodatno lečenih bevacizumabom. Suprotno tome, poređenjem početnih i krajnjih vrednosti ALT, ukupnog bilirubina i ukupnih proteina na početku i kraju lečenja nije pokazana statistički značajna razlika između grupa.

Nakon korelacije kliničkog odgovora sa vrednostima biohemijskih parametara funkcije jetre, pokazano je da je u grupi bolesnika sa regresijom bolesti, nivo AST, ALT i bilirubina na kraju lečenja bio statistički značajno povišen. Suprotno tome, vrednosti GGT i proteina su nakon sprovedenog lečenja bile statistički značajno niže u odnosu na inicijalne vrednosti. Kod bolesnika sa stabilizacijom bolesti se razlikuje samo nivo proteina koji je značajno niži na kraju lečenja u odnosu na inicijalne vrednosti. Kod bolesnika sa progresijom bolesti vrednosti AST i bilirubina su bile značajno povišene nakon sprovedenog lečenja.

Sumarno, metastatski kolorektalni karcinom i lečenje konvencionalnim citostaticima dovode do značajnih poremećaja vrednosti nekih od biohemijskih parametara kojima se prati funkcija jetre. Dodatak bevacizumaba konvencionalnim citostaticima ne utiče dodatno na poremećaj nivoa biohemijskih parametara. Suprotno tome, bevacizumab značajno poboljšava klinički odgovor kod bolesnika koji su ga dodatno primali. Postignuti klinički odgovor nije u potpunosti u korelaciji sa vrednostima biohemijskih parametara funkcije jetre. Jedini parametar koji korelira sa kliničkim nalazom je GGT. Smanjenje njegove vrednosti je praćeno regresijom bolesti.

Ključne reči: kolorektalne metastaze na jetri; hepatotoksičnost hemioterapije; kombinovani hemioterapijski protokoli; bevacizumab; parametri funkcionalnog statusa jetre; klinički odgovor

Naučna oblast: Farmacija

Uža naučna oblast: Farmakologija

UDK broj: 616.006.55:[615.277:615.065(043.3)]

Hepatotoxicity of combined cytotoxic chemotherapy with or without biological therapy in patients with metastatic colorectal carcinoma

ABSTRACT

Colorectal carcinoma (CRC) is one of the most frequently malignant diseases with early liver metastasis. This requires timely use of anticancer drugs. Current treatment of metastatic CRC consists of combined usage of conventional anticancer drugs with the addition of monoclonal antibodies, e.g. bevacizumab. Conventional treatment protocols exert undesired effects on liver tissue which are manifested as a disturbance of liver function test parameters. The addition of bevacizumab improves their therapeutic effect, but its influence on caused biochemical disturbances is not completely known. Also, the relation between clinical outcome and disorder of biochemical parameters has not been completely evaluated.

Therefore the primary objective of our study was comparative analysis of liver function test parameters in patients treated with conventional anticancer drugs with those additionally treated with bevacizumab. Secondary, but not less important objective was to examine whether clinical outcome in this way treated patients, correlates with the level of liver function test parameters or not.

The study included 96 patients with histologically confirmed and previously untreated liver metastatic CRC, without possibility for curative liver resection. Prior used chemotherapy and radiotherapy for CRC treatment was allowed if they were completed the treatment at least one month before patient inclusion in the study. Patients were assigned to FOLFOX4 or FOLFOX4+Bevacizumab as first line treatment protocol according to physician decision. According to treatment protocol they were assigned, the patients were divided in two groups, one group (n=44) was treated with FOLFOX4 (group 1), and the other one (n=52) with bevacizumab added to FOLFOX4 treatment protocol (group 2). Depending on the response of patients, the duration of treatment varied from 2 to 6 months.

Treatment was conducted at the Institute for Radiology and Oncology in Belgrade, Serbia. Demographic and clinical data were obtained by reviewing medical records for period from January 2009 to December 2014. The study was carried out in accordance with the Declaration of Helsinki, Good Clinical Practice Guidelines and institutional ethics committee requirements. All patients gave written informed consent before study participation.

Routine liver function tests parameters relevant to monitor chemotherapy hepatotoxic effects, were performed before and after the completion of the treatment. Treatment response was evaluated after every fourth cycle until the completion of the study treatment.

Response Evaluation Criteria in Solid Tumors guidelines version 1.1 were used to define all responses. They were determined as disease regression (complete or partial regression), stabilization and progression of the disease. Tumor responses were assessed by members (surgeon, medical oncologist, radiologist and pathologist) of the joint interdisciplinary committee for gastro-intestinal tumors of the host institutions, who were not involved in the study.

After completed treatment, complete response was accomplished in only 3 (3.13%) patients, partial response in 38 (39.58%), stable disease in 23 (23.96%) and progression of disease was observed in 32 (33.33%) patients. Complete response was accomplished only in group 2 of patients. Out of 38 patients with partial response 30 (78.95%) patients belonged to group 2 of patients. Stabilization of the disease was almost equally represented in both groups of patients while progression of the disease was more common for patients in group 1.

Results of studied biochemical parameters show that initial values of some biochemical function test parameters (ALP in group 1 of patients, GGT and LDH in both groups) were increased in relation to the normal reference values. Biochemical disorder of liver function tests in the group of patients treated with conventional anticancer drugs was due not only to their metastases, but also to hepatotoxic effect of used drugs. After the treatment significant intergroup differences in post-treatment values of biochemical liver tests parameters were found in AST, ALP, GGT and LDH (p values were: 0.002 for AST; 0.001 for ALP and GGT; 0.000 for LDH), being lower in the group 2 of patient additionally treated by bevacizumab. In contrast to this, comparison of post- and pre-treatment value of ALT, bilirubin and proteins difference between groups was not statistically significant.

After correlating clinical outcome with liver function tests parameters level was shown that in group of patients with disease regression the post-treatment level of AST, ALT and bilirubin was statistically significantly increased. In contrast to this, GGT and protein post-treatment values were significantly lower in relation to initial values. In patients with stable disease, difference was found only in the level of proteins being lower after the treatment.

In patients with disease progression values of AST and bilirubin were significantly increased after completed treatment.

Both, metastatic colorectal carcinoma and treatment with the conventional anticancer drugs induce significant disorders of several liver function parameters. The addition of bevacizumab to the conventional anticancer drugs did not affect the disorder of biochemical parameters which they caused. On the other side, bevacizumab significantly improved clinical outcome in patients who received it, but the treatment responses were not completely associated with the level of liver function tests parameters. The only parameter which correlated with treatment response was GGT. Its decrease is accompanied with disease regression.

Key words: colorectal liver metastases; chemotherapy induced hepatotoxicity; antineoplastic combined chemotherapy protocols; bevacizumab; liver function test parameters; treatment response

Academic expertise: Pharmacy

Major in: Pharmacology

UDC number: 616.006.55:[615.277:615.065(043.3)]

Sadržaj

1. UVOD	1
1.1. Epidemiološki podaci.....	1
1.2. Faktori rizika za razvoj kolorektalnog karcinoma	3
1.2.1. Starost	3
1.2.2. Higijensko-dijetetski režim života	3
1.2.3. Pozitivna porodična anamneza/Nasledni faktori.....	4
1.2.4. Pozitivna lična anamneza.....	5
1.3. Klinička slika kolorektalnog karcinoma.....	5
1.3.1. Simptomi.....	5
1.3.2. Laboratorijski nalaz.....	6
1.3.3. Dijagnostičke skrining procedure	7
1.4. <i>Staging</i> sistem kolorektalnog karcinoma.....	8
1.5. Klasifikacija kolorektalnog karcinoma	11
1.6. Molekularni mehanizmi razvoja kolorektalnog karcinoma	11
1.6.1. Hromozomska nestabilnost	12
1.6.2. Mikrosatelitna nestabilnost	14
1.6.3. Metilatorski fenotip CpG ostrvaca	14
1.7. Terapija kolorektalnog karcinoma	15
1.7.1. Adjuvantni i neoadjuvantni hemioterapijski protokoli lečenja.....	15
1.7.2. Hemioterapijski modaliteti lečenja kolorektalnog karcinoma – počeci i savremeni.....	17
1.7.3. Biološka terapija	21
1.7.4. Razvoj inhibitora angiogeneze i upotreba bevacizumaba za lečenje mCRC	23
1.8. Hepatotoksičan efekat konvencionalnih citostatika primenjenih u terapiji metastatskog kolorektalnog karcinoma	26
1.9. Testovi za ispitivanje funkcionalnog statusa jetre	29
1.10. Uzroci poremećaja vrednosti biohemijskih parametara jetre kod onkoloških	31
1.10.1. Uticaj maligne bolesti na biohemijske parametre jetre.....	31
1.10.2. Uticaj drugih faktora koji nisu vezani za malignu bolest na biohemijske parametre funkcionalnog statusa jetre	32
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	34
3. METODOLOGIJA.....	35
3.1. Bolesnici i terapijski protokoli lečenja	35
3.2. Plan izvođenja pregleda (analiza).....	37
3.2.1. Pre početka sprovođenja terapijskog protokola	37
3.2.2. Tokom trajanja terapijskog protokola.....	37
3.3. Procena terapijske efikasnosti i neželjenih efekata primenjenih terapijskih protokola.....	38
3.4. Procena hepatotoksičnih efekata primenjenih terapijskih protokola	39
3.5. Metode.....	39
3.6. Statistička analiza podataka	40

4. REZULTATI.....	41
4.1. Biohemijski parametri i tumor markeri kod bolesnika lečenih FOLFOX4	42
4.1.1. Biohemijski parametri i tumor markeri kod bolesnika sa nepromenjenim biohemijskim statusom na početku i kraju lečenja	53
4.1.2. Biohemijski parametri i tumor markeri kod bolesnika sa promenjenim biohemijskim statusom na početku i kraju lečenja	57
4.1.3. Biohemijski parametri i tumor markeri kod bolesnika bez progresije bolesti	59
4.2. Biohemijski parametri i tumor markeri u odnosu na klinički ishod	67
4.3. Klinički ishod bolesnika u odnosu na broj primenjenih hemioterapija.....	78
5. DISKUSIJA.....	80
5.1. Klinička efikasnost udružene primene bevacizumaba i konvencionalnog citostatskog protokola u poređenju sa konvencionalnom citostatskom terapijom	81
5.2. Biohemijski parametri funkcije jetre u odnosu na klinički ishod.....	85
5.3. Prognostički i prediktivni značaj tumor markera kod mCRC	87
5.4. Biohemijski parametri jetre kod lečenih bolesnika.....	91
6. ZAKLJUČCI.....	95
7. LITERATURA.....	97

LISTA SKRAĆENICA:

5-FU - 5 fluorouracil

ALP - alkalna fosfataza

APC - *Adenomas Polyposis Coli*

AST - aspartat aminotransferaza

BRAF - *B-raf murine sarcoma* viralni onkogen

CRC - kolorektalni karcinom

DCC - Deleted in Colon Cancer

DNK - dezoksiribonukleinska kiselina

DPD - dihidropirimidin dehidrogenaza

dTTP - deoksitimidin trifosfat

EGFR - *Epidermal Growth Factor Receptor*

FdUMP - 5-fluorodeoksiuridin monofosfat

F-UTP - 5-fluoroksiuridin trifosfat

GGT - gama glutamiltransferaza

GST - glutation S-transferaza

GTP - guanozin trifosfat

KRAS- *Kristen Rat Sarcoma* viralni onkogen

LDH - laktat dehidrogenaza

LV - leukovorin

mCRC - metastatski kolorektalni karcinom

mDNK - mitohondrijalna dezoksiribonukleinska kiselina

NCCN - *National Comprehensive Cancer Network*

PT - protrombinsko vreme

ROS - slobodni kiseonični radikali

SOS - sinusoidalni opstrukcioni sindrom

SZO - Svetska Zdravstvena Organizacija

TGF- β - transforming growth factor beta

TNF-alfa - faktor nekroze tumora alfa

TNF-beta - faktor nekroze tumora beta

TP 53 - tumor protein *p53*

TS - timidin sintetaza

UGT - uridin difosfat glukuronozil transferaza

VEGF - vaskularni endotelni faktor rasta

1. UVOD

1.1. Epidemiološki podaci

Maligna oboljenja su jedan od vodećih zdravstvenih problema u svetu. Prema podacima Svetske zdravstvene organizacije (SZO) za 2012. godinu, u svetu je te godine od karcinoma obolelo 14,1 miliona, a 8,2 miliona je preminulo od posledica bolesti (Ferlay i sar., 2015). Takođe, očekuje se da će se do 2030. godine godišnji broj obolelih povećati na 21,7 milion, a preminulih na 13 miliona. Danas su po stopi mortaliteta maligna oboljenja posle kardiovaskularnih, drugi, najčešći uzrok smrti u svetu. Međutim, očekivano je da će u narednih nekoliko godina trend porasta broja preminulih od karcinoma učiniti malignitete vodećim uzrokom smrti u svetu (Siegel i sar., 2016). Pokazano je da na učestalost razvoja maligniteta utiče pol i stepen razvoja društva. Podaci SZO ukazuju da je 2012. godine u zemljama u razvoju registrovano 8,01 miliona obolelih, dok je u razvijenim zemljama taj broj iznosio 6,05 miliona. Takođe, uočeno je da češće oboljevaju muškarci nego žene. To potvrđuju i podaci koji ukazuju da je broj obolelih muškaraca za 25% veći u odnosu na broj obolelih žena (Ferlay i sar., 2015). Učestalost oboljevanja muškaraca se između različitih regiona u svetu razlikuje i do pet puta. Tako je u zapadnoj Africi sa 79 obolelih na 100 000 stanovnika najmanja, a u Australiji i Novom Zelandu sa 365 na 100 000 stanovnika najveća učestalost oboljevanja (Ferlay i sar., 2015). Najčešće dijagnostikovana maligna oboljenja kod muškaraca su karcinom prostate, pluća i kolorektralni karcinom. Predviđa se da će navedeni tipovi maligniteta tokom 2016. godine biti dijagnostikovani kod 44% maligno obolelih muškaraca. Pri tome, karcinom prostate je najzastupljeniji i smatra se da će jedna od pet dijagnoza maligne bolesti biti ovaj tip karcinoma (Siegel i sar., 2016). Broj obolelih žena u određenim delovima sveta se razlikuje do 3 puta. U južnoj i centralnoj Aziji je najmanji (103 obolelih na 100 000 stanovnika), a u severnoj Americi (295 obolelih na 100 000 stanovnika) najveći broj žena obolelih od karcinoma. Karcinom dojke, pluća i kolorektralni karcinom predstavljaju najčešće tipove maligniteta koji se registruju kod žena. Očekuje se da će se tokom 2016. godine ovi tipovi karcinoma dijagnostikovati kod skoro 50% maligno obolelih žena, pri čemu će karcinom dojke sa 29% zastupljenosti biti vodeći tip maligniteta od kojih će žene oboljevati (Siegel i sar., 2016).

Kolorektalni karcinom (CRC) se sa godišnjom incidencijom u svetu od 1,2 miliona registrovanih slučajeva nalazi na trećem mestu po učestalosti među svim malignim tumorima. Posle karcinoma pluća i karcinoma prostate kod muškaraca, odnosno karcinoma dojke kod žena, kolorektalni karcinom najčešći je uzrok smrti kod obolelih (Simonds i sar., 2006; Sturgeon i sar., 2008; Ferlay i sar., 2013; Cornett i Dea, 2016). Prema podacima američkog onkološkog udruženja (American Cancer Society) u Americi će tokom 2016. godine od ovog tipa maligniteta oboleti 134 490, a od posledica bolesti preminuti 49 190 osoba. Poredeći ove podatke sa podacima za period od 2008. godine do danas, uočava se smanjenje broja novo obolelih za 4,5% godišnje kod osoba starosne dobi 50 godina i više. Suprotno tome, zabeležen je porast incidencije oboljevanja od 1,8% na godišnjem nivou kod osoba mlađih od 50 godina. Razlog tome još uvek nije jasno definisan (American Cancer Society, 2016; Siegel i sar., 2016).

U Evropi je 2012. godine CRC dijagnostikovao kod 241 813 muškaraca i 205 323 žena, a od posledica bolesti je preminulo 113 246 osoba muškog i 101 620 ženskog pola (Ferlay i sar., 2013). Time, CRC sa incidencijom od 13,3% i stopom mortaliteta od 12,2% predstavlja drugi, najčešći tip maligniteta u Evropi (Ferlay i sar., 2013; Ferlay i sar., 2015). Određeni evropski region se značajno razlikuju po učestalosti oboljevanja i stopi mortaliteta kada je u pitanju ovaj tip karcinoma. Najveća incidencija i stopa mortaliteta je zabeležena u zemljama centralne i zapadne Evrope (Ferlay i sar., 2013). Procenjeni rizik oboljevanja od CRC na globalnom nivou iznosio je 1,95% ukupnog stanovništva (2,36% muškaraca i 1,57% žena), dok je za evropske zemlje ukupni rizik oboljevanja bio veći i iznosio je 3,51% ukupnog stanovništva (4,48% muškaraca i 2,73% žena) (Ferlay i sar., 2013, Ferlay i sar., 2015).

Republika Srbija, pripada grupi evropskih zemalja sa srednjim rizikom oboljevanja od CRC. Prema podacima SZO iz 2014. godine u našoj zemlji je od CRC obolelo 3370 muškaraca i 2143 žena. Time je posle karcinoma pluća kod muškaraca i karcinoma dojke kod žena CRC drugi, najčešći tip maligniteta od kojeg oboljevaju osobe oba pola (World Health Organization, 2014). Broj obolelih i preminulih od ovog malignog oboljenja u Srbiji je u stalnom porastu i varira između različitih okruga i polova (Antić, 2014). Učestalost oboljevanja od CRC je veća u razvijenijim delovima zemlje (Beograd, Kolubarski, Šumadijski okrug) u odnosu na manje razvijene okruge jugoistočne Srbije (Toplički i Pčinjski okrug) (Antić, 2014). Sa prosečnom standardizovanom stopom razvoja ovog oboljenja kod muškaraca od 40,4 Srbija je 2010. godine bila na dvadesetom mestu po učestalosti razvoja CRC u Evropi (Antić, 2014). Međutim, 2012. godine sa standardizovanom stopom razvoja od 29,9-35,7 Srbija zauzima deseto mesto među evropskim zemljama sa najvećom incidencijom

razvoja CRC kod osoba muškog pola (Ferlay i sar., 2013). Iste godine je stopa razvoja CRC kod žena bila 20,1-22,5. Time je Srbija bila na 22. mestu među evropskim zemljama sa najvećom učestalošću razvoja kolorektalnog karcinoma kod osoba ženskog pola (Ferlay i sar., 2013).

Od ukupnog broja maligno obolelih osoba oba pola u Srbiji, CRC je bio uzrok smrti kod 13,3% muškaraca i 12,2% žena. Shodno tome kod muškaraca predstavlja drugi, a kod žena treći najčešći uzrok smrti među svim malignim oboljenjima. Takođe, podaci SZO ukazuju da se u našoj zemlji u periodu od 2000 - 2012. godine uočava porast broja preminulih od ovog tipa maligniteta kod oba pola (World Health Organization, 2014). Time se Srbija bez obzira na srednju incidenciju razvoja CRC, izdvaja kao zemlja sa visokom stopom mortaliteta od ovog tipa karcinoma. Razlog tome je najvećim delom izostanak pravovremene primene skrining dijagnostičkih metoda te se kod najvećeg broja obolelih bolest detektuje u uznapredovalom stadijumu kada je uspešnost lečenja ograničena.

1.2. Faktori rizika za razvoj kolorektalnog karcinoma

1.2.1. Starost

Značajnim epidemiološkim faktorom za razvoj CRC smatraju se godine života. Rizik od oboljevanja raste sa povećanjem godina starosti te je najveći broj obolelih, oko 90%, starosne dobi 50 godina ili više, dok se kod osoba mlađih od 30 godina CRC detektuje ređe. Međutim, poslednjih godina zapaža se trend povećanja broja obolelih mlađih od 50 godina za 1,8% (American Cancer Society, 2014; American Cancer Society, 2016).

1.2.2. Higijensko-dijetetski režim života

Neadekvatan higijensko-dijetetski režim života koji se karakteriše nepravilnom ishranom, prekomernom telesnom težinom i smanjenom fizičkom aktivnošću takođe doprinosi razvoju CRC (American Cancer Society, 2016). Pokazano je da je rizik za razvoj CRC kod fizički aktivnih osoba za 25% manji u odnosu na fizički neaktivne osobe. Gojaznost se takođe izdvaja kao značajan faktor koji povećava rizik od oboljevanja kod oba pola. Kod gojaznih osoba se razvija tolerancija na insulin što za posledicu ima povećanje koncentracije cirkulišućeg insulina. U uslovima povišenih koncentracija insulina se povećava i nivo inslinu sličnog faktora rasta tipa I (insuline like growth factor type I, IGF-I) koji stimuliše proliferaciju intestinalne mukoze i time povećava rizik za razvoj karcinoma (Mayer, 2016). Učestalost razvoja CRC kod gojaznih osoba je za 20% veća u odnosu a osobe sa normalnom telesnom težinom (American Cancer Society, 2014). Takođe, abdominalna gojaznost predstavlja značajniji rizik za razvoj CRC u odnosu na ukupnu gojaznost.

Broj gojaznih osoba je zbog savremenog načina života i nepravilne ishrane u stalnom porastu, a time i rizik za razvoj ovog tipa maligniteta. Osobe u čijoj ishrani dominira upotreba crvenog mesa, životinjskih masti i mesnih prerađevina imaju značajno veći rizik za razvoj bolesti (Norat i sar., 2005; American Cancer Society, 2014). Razlog tome mogu biti karcinogeni koji se stvaraju pri obradi crvenog mesa i nitrati koji se dodaju mesnim prerađevinama. Osim toga, životinjske masti povećavaju sadržaj anaerobnih bakterija u normalnoj mikroflori žuči što za posledicu ima konverziju žučnih kiselina u karcinogene koji dodatno pospešuju proces kancerogeneze (Mayer, 2016). Međutim, ishrana bogata biljnim vlaknima, voćem i povrćem smanjuje rizik za razvoj CRC. Osobe koje u svakodnevnoj ishrani upotrebljavaju oko 10g biljnih vlakana imaju 10% manji rizik za razvoj kolorektalnog karcinoma (Aune i sar., 2011). Preporučeni dnevni unos kalcijuma, uglavnom putem hrane, takođe smanjuje rizik od oboljevanja. Zbog toga se preporučuje da ishrana bude bogata mlekom i mlečnim proizvodima. Umerena i izražena upotreba alkohola značajno doprinosi razvoju ovog malignog oboljenja. Pokazano je da je kod osoba koje svakodnevno popiju od 2 do 4 alkoholna pića (> 30g dnevno) imaju 23% veći rizik da obole od CRC u odnosu na osobe koje dnevno unesu jedno ili nijedno alkoholno piće (Klarich i sar., 2015; American Cancer Society, 2014). Višegodišnja upotreba duvana još jedan je faktor rizika koji pospešuje razvoj ovog karcinoma. Pokazano je da je karcinogeni efekat duvana izraženiji kod muškaraca kao i osoba koje istovremeno koriste alkohol. Takođe, češća je povezanost između upotrebe duvana i razvoja karcinoma rektuma nego karcinoma kolona (Cross i sar., 2014; American Cancer Society, 2014).

Dugotrajna upotreba aspirina i drugih lekova iz grupe nesteroidnih anti inflamatornih lekova deluje protektivno i smanjuje rizik za razvoj CRC. Međutim, bez obzira na to nacionalne smernice za prevenciju razvoja CRC ne preporučuju upotrebu ovih lekova u cilju smanjenja rizika nastanka ovog oboljenja.

1.2.3. Pozitivna porodična anamneza/Nasledni faktori

Navedeni faktori rizika koji pospešuju razvoj oboljenja mogu se promenom načina života u velikoj meri korigovati. Suprotno njima, nasledni faktor koji je odgovoran za razvoj bolesti kod približno 20-30% obolelih smatra se izuzetno značajnim faktorom rizika na koji se ne može uticati (Cornett i Dea, 2016; American Cancer Society, 2014). Osobe čiji su bliski srodnici oboleli od CRC imaju povećan rizik da se bolest i kod njih manifestuje.

Verovatnoća nastanka bolesti tada zavisi od broja članova bliskog srodstva (prvi rođaci) koji su oboleli kao i od godina starosti kada im je bolest dijagnostikovana. Kod osoba čiji je jedan član uže porodice oboleo od CRC, rizik od oboljevanja je dva puta veći u odnosu na osobe sa negativnom porodičnom anamnezom oboljevanja od ovog maligniteta.

Međutim, ukoliko je bolest dijagnostikovana pre 45 godine života, tada se rizik za razvoj bolesti udvostručuje. Sa povećanjem broja bliskih srodnika koji su imali dijagnozu CRC raste i rizik od oboljevanja. Tako, osobe sa dva rođaka obolela od CRC imaju 25-30% veću verovatnoću da će tokom života oboleti od ovog karcinoma (Cornett i Dea, 2016).

Nasledni genetski sindrom (familijarna adenomatozna polipoza (FAP) ili nasledni nepolipozni kancer debelog creva (HNPCC ili Lynch sindrom) su uzroci razvoja karcinoma kod oko 5% obolelih (Kosmider i Lipton, 2007; American Cancer Society, 2014).

1.2.4. Pozitivna lična anamneza

Lična anamneza o postojanju inflamatornih bolesti creva (IBD) još jedan je značajan faktor rizika za razvoj CRC. Kod osoba obolelih od ulceroznog kolitisa ili Kronove bolesti, verovatnoća za razvoj karcinoma zavisi od dužine trajanja bolesti i stepena inflamacije (Tarabar, 2011; Cornett i Dea, 2016; Jurjus i sar., 2016). Nakon osam godina od dijagnoze bolesti, rizik za razvoj CRC raste te je nakon 20 godina verovatnoća da će ove osobe oboleti od CRC 5% (Cornett i Dea, 2016). Takođe, osobe sa dijagnozom adenomatoznih polipa su sa povećanim rizikom da će oboleti od CRC u odnosu na globalnu populaciju. Verovatnoća razvoja karcinoma u ovom slučaju zavisi od veličine polipa i stepena displazije (American Cancer Society, 2014). Osim lične, pozitivna familijarna istorija na adenomatozne polipe povećava rizik za razvoj karcinoma. Mogućnost razvoja CRC kod osoba čiji su članovi porodice prvog stepena imali adenomatozne polipe je dva puta veća u odnosu na ukupnu populaciju (Cornett i Dea, 2016).

Od drugih komorbiditeta značajnih kao faktor rizika koji doprinosi razvoju CRC izdvaja se tip 2 dijabetes melitus (Jurjus i sar., 2016; American Cancer Society, 2014). Pokazano je da se CRC češće razvija kod muškaraca obolelih od dijabetesa tipa 2 u odnosu na žene. Međutim, bez obzira na pol, kod CRC bolesnika koji su istovremeno oboleli i od dijabetesa period preživljavanja je kraći u odnosu na CRC bolesnike bez ovog komorbiditeta (American Cancer Society, 2014).

1.3. Klinička slika kolorektalnog karcinoma

1.3.1. Simptomi

Kod velikog broj obolelih bolest je tokom dugog vremenskog perioda asimptomatska. Kada se pojave simptomi bolest je uglavnom u odmaklom stadijumu. Simptomatologija je raznolika i nespecifična i zavisi od lokalizacije tumora.

Tumor lokalizovan na desnoj strani kolona ne dovodi do poremećaja u crevnom pražnjenju zbog većeg lumena kolona sa desne u odnosu na levu stranu.

Takođe, ne uočava se poremećaj konzistencije stolice s obzirom na tečniji sadržaj stolice koji stiže iz tankog creva u desni kolon.

Kod bolesnika sa tumorima na desnoj strani se javljaju malaksalost i opšta slabost koji nastaju kao posledica anemije uzrokovane hroničnim, dugotrajnim krvarenjem iz tumora. Gubitak telesne težine još jedan je od pratećih simptoma koji se može javiti kod tumora desnog kolona (Cornett i Dea, 2016).

Dijametar levog kolona je manji te usled rasta tumora dolazi do opstrukcije lumena. Kod ovih bolesnika su prisutni poremećaji u ritmu pražnjenja koji se karakterišu smenom zatvora i dijareje, zatim nadimanjem, mučninom, povraćanjem i bolom nakon unosa hrane (Cornett i Dea, 2016).

Kod bolesnika sa tumorom u završnom delu kolona (rektumu) je takođe prisutna smena zatvora i dijareje, zatim lažni pozivi na pražnjenje i osećaj neispražnjenosti. Stolica je tanka, a može biti i krvava. Svetlija krv ukazuje da je tumor bliži izlaznom delu kolona (Cornett i Dea, 2016).

1.3.2. Laboratorijski nalaz

Laboratorijski nalaz obolelog u najvećem broju slučajeva ukazuje na mikrocitnu anemiju odnosno nedostatak gvožđa. Rutinski se kod dokazanog CRC određuju vrednosti karcinoembrionalnog antigena (CEA) i CA 19-9. Vrednost CEA pri uspostavljanju dijagnoze ima prognostički značaj, te su kod bolesnika sa vrednostima ovog tumor markera iznad 5 ng/L lošije prognoze lečenja. Standardnim setom laboratorijskih analiza se mogu registrovati povišene vrednosti enzima jetre, a pre svega alkalne fosfataze (ALP) i gama-glutamil transferaze (GGT) (Saif i sar., 2005; He i sar., 2013). Takav nalaz bi mogao biti posledica metastatskih promena na jetri (Cornett i Dea, 2016; Mayer, 2016). Međutim, tumačenju takvih laboratorijskih nalaza treba pristupiti obazrivo s obzirom na nespecifičnost biohemijskog nalaza jetre. Biohemijski nalaz bolesnika sa metastatskim promenama na jetri je raznolik. Parametri jetre kod obolelih mogu biti nepromenjeni i u opsegu referentnih vrednosti, dok se kod drugih sasvim suprotno može registrovati skok vrednosti transaminaza (aspartat aminotrasferaza-AST i alanin aminotrasferaza-ALT) koji je u nekim slučajevima, a u zavisnosti od stepena zahvaćenosti jetre metastatskom bolešću, praćen povišenim vrednostima GGT i bilirubina.

Kod bolesnika sa takvim nalazom se klinički dijagnostikuje žutica. Uzimajući u obzir nespecifičnost laboratorijskih nalaza, za uspostavljanje sigurne i pouzdane dijagnoze CRC potrebno je sprovesti druge, potvrđne dijagnostičke procedure.

1.3.3. Dijagnostičke skrining procedure

Pregled stolice na okultno krvarenje (fecal occult blood test-FOBT) je najmanje invazivan od svih skrining testova korišćenih za dijagnostikovanje CRC (Strul i Arber, 2007; Daly i sar., 2015). Ovim testom se u stolici može detektovati krvarenje koje potiču iz tumora ili velikih polipa. Pozitivan FOBT nije i siguran znak postojanja karcinoma ili adenoma, ali je svakako pokazatelj postojanja rizika da se maligna bolest otkrije (Strul i Arber, 2007; Daly i sar., 2015). Shodno tome, pozitivan FOBT nalaz je uvod za dalja, pouzdanija endoskopska ispitivanja.

U endoskopske dijagnostičke tehnike korišćene za otkrivanje CRC ubrajaju se kratka (fleksibilna sigmoidoskopija) i duga kolonoskopija.

Kratkom kolonoskopijom se mogu detektovati promene u rektumu i donjoj trećini debelog creva, što ujedno predstavlja i najveće ograničenje ove dijagnostičke procedure. Međutim, bez obzira na to, sprovođenje ove procedure kao dijagnostičke metode za skrining na CRC je rezultovalo smanjenjem incidencije razvoja za 21% i stope mortaliteta od ovog karcinoma za 26% (American Cancer Society, 2014). Bolesnici sa pozitivnim sigmoidoskopskim nalazom na polipe ili karcinom se dodatno upućuju na kolonoskopiju (American Cancer Society, 2014).

Duga kolonoskopija se smatra zlatnim standardom u dijagnostici CRC. Osobe se pozitivnim FOBT testom kao i one sa povećanim rizikom za razvoj CRC se obavezno upućuju na ovaj tip ispitivanja. Ovom metodom se karcinom može dijagnostikovati u najranijem stadijumu kada je uspešnost izlečenja velika. Takođe, detektovana promena se može biopsirati što je od posebnog značaja u postavljanju dijagnoze i planiranju daljeg lečenja (Levin i sar., 2008). Osim detekcije karcinoma u najranijem stadijumu, prednost kolonoskopije se ogleda i u mogućnosti detekcije polipa sa jedne i njihovog endoskopskog uklanjanja sa druge strane. Pokazano je da se na ovaj način smanjuje rizik od maligne alteracije polipa za oko 53% (American Cancer Society, 2014).

Osim endoskopskih, kao skrining tehnike se primenjuju rendgenska snimanja debelog creva. Rendgensko snimanje kontrastom (barijum sulfat) se danas sve ređe koristi. Metoda je manje senzitivna u odnosu na kolonoskopiju, te je mala mogućnost da se detektuju mali polipi kao i karcinom u ranom stadijumu. Takođe, detektovane promene se ne mogu biopsirati niti endoskopski ukloniti, te je posle pozitivnog nalaza dobijenog ovim putem bolesnika potrebno uputiti na kolonoskopski pregled.

Kolonoskopija predstavlja metodu izbora za skrining na CRC. S obzirom na činjenicu da je bolest tokom dužeg vremenskog perioda asimptomatska i da je rizik od oboljevanja značajno

povećan posle 50. godine života, a da se ovom metodom bolest može otkriti u ranom stadijumu, kolonoskopija bi trebalo da se rutinski sprovodi kod svake osobe posle 50. godine (jednom u deset godina ukoliko je prvi kolonoskopski nalaz uredan ili jednom u pet godina kod osoba kod kojih su pri prvom kolonoskopskom pregledu otkriveni polipi bez rizika da maligno alterišu).

1.4. *Staging* sistem kolorektalnog karcinoma

Nakon dijagnostikovanja karcinoma kolona primenom određenih endoskopskih metoda, bolesnik se dalje upućuje na CT ili ultrazvuk abdomena, odnosno na magnetnu rezonancu karlice u slučaju karcinoma rektuma, kako bi se dobio podatak o stepenu raširenosti bolesti. Međutim, tek nakon operativnog uklanjanja tumora i histopatoloških analiza je moguće precizno definisati stadijum bolesti i stepen raširenosti (American Cancer Society, 2014).

Određivanje stadijuma karcinoma se vrši pomoću TNM *staging* klasifikacionog sistema, pri čemu T označava koliko je duboko tumor zahvatio zid creva, N opisuje stepen zahvaćenosti okolnih limfnih čvorova, dok M pokazuje da li je tumor metastazirao i proširio se na okolne organe.

T kategorizacija

Tx: Primarni tumor ne može biti određen.

T0: Nema prisustva primarnog tumora.

Tis: Karcinom *in situ*, najraniji stadijum karcinoma kada je tumor lokalizovan u mukozi i još uvek nije zahvatio zid creva ili rektuma.

T1: Tumor je probio mukožu i zahvatio submukožu.

T2: Tumor je probio submukožu i zahvatio mišićni sloj creva ili rektuma.

T3: Tumor je probio mišićni sloj, ali se nije proširio na okolna tkiva i organe.

T4a: Tumor je probio serozu (visceralni peritoneum).

T4b: Tumor je probio sve slojeve zida creva i direktno vrši invaziju ili je adheriran na okolne organe ili strukture. □

N kategorizacija

Nx: Zahvaćenost regionalnih limfnih čvorova ne može biti precizno definisana.

N0: Tumor nije zahvatio regionalne limfne čvorove.

N1: Tumor je prisutan u 1-3 regionalna limfna čvora.

• **N1a:** Tumorske ćelije nađene u jednom regionalnom limfnom čvoru.

• **N1b:** Tumorske ćelije nađene u 2-3 regionalna limfna čvora.

• **N1c:** Tumorski depoziti su prisutni u subserozi, mezenterijumu ili u neperitonealnom perikolonu ili perirektalnom tkivu bez metastaza u regionalnim čvorovima.

N2: Tumorske ćelije nađene u ≥ 4 regionalna limfna čvora.

• **N2a:** Tumorske ćelije nađene u 4-6 regionalnih limfnih čvorova.

• **N2b:** Tumorske ćelije nađene u ≥ 7 regionalnih limfnih čvorova.

M kategorizacija

M0: Nema udaljenih metastaza.

M1: Postoje udaljene metastaze.

• **M1a:** Metastaze ograničene na 1 organ ili mesto (npr. jetra, pluća, neregionalni limfni čvor).

• **M1b:** Metastaze su prisutne na više organa/neregionalnih limfnih čvorova ili u peritoneumu.

T, N i M kategorije se određuju nakon sprovedenog hirurškog zahvata, a kombinovanjem dobijenih podataka se formiraju stadijumi CRC. Postoje četiri stadijuma karcinoma koji se obeležavaju rimskim brojevima od I do IV.

TNM kategorizacija stadijuma kolorektalnog karcinoma:

- **Prvi stadijum (I)** - T1 ili T2, N0 i M0
- **Drugi stadijum (II)** se u zavisnosti od T kategorije dalje deli na IIa, IIb i IIc
 - IIa**-T3N0M0
 - IIb**-T4aN0M0
 - IIc**-T4bN0M0
- **Treći stadijum (III)** se u zavisnosti od T i N kategorije deli na IIIa, IIIb i IIIc
 - IIIa**-T1/T2 N1/N1cM0 ili T1N2aM0
 - IIIb**-T3/T4 N1/N1cM0; T2/T3N2aM0 ili T1/T2N2bM0
 - IIIc**-T4aN2aM0; T3/T4N2bM0 ili T4BN1/N2M0
- **Četvrti stadijum (IV)** se u zavisnosti od M kategorije deli na IVa i IVb
 - IVa**-bilo koji T i N i M1a
 - IVb**-bilo koji T i N i M1b

Osim navedenih stadijuma CRC se može, ali vrlo retko dijagnostikovati u nultom stadijumu kada je tumor u svom *in situ* obliku. Međutim, kod najvećeg broja obolelih se bolest dijagnostikuje u odmaklom, III ili IV stadijumu. Uspešnost lečenja je kod ovakvih bolesnika ograničena i zavisi od stepena raširenosti bolesti u trenutku uspostavljanja dijagnoze. Tako je petogodišnje preživljavanje bolesnika u III stadijumu bolesti sa 1-3 pozitivna limfna čvora 50-70%, dok se kod onih sa 4 ili više pozitivnih limfnih čvorova ovaj procenat smanjuje na 25-60% obolelih. Bolesnici u IV stadijumu bolesti imaju najgoru prognozu te je petogodišnje preživljavanje zabeleženo kod svega 5% obolelih (Mayer, 2016). Kod bolesnika dijagnostikovanih u II stadijumu bolesti (oko 31% obolelih od karcinoma kolona i 25% od karcinom rektuma) preživljavanje je tokom petogodišnjeg perioda

zabeleženo u oko 70-85% slučajeva. Najbolju prognozu i uspešnost lečenja imaju bolesnici kod kojih je bolest detektovana u početnom, I stadijumu (23% karcinoma kolona i 34% karcinoma rektuma). Broj obolelih sa I stadijumom bolesti koji preživi pet godina od dijagnoze je najveći i iznosi 95% (Mayer, 2016).

Postoperativno sprovedene histopatološke analize nam daju podatak o histološkom tipu i stepenu diferentovanosti (gradus) tumorskog tkiva što je značajno pri odabiru terapijskog protokola. Histološki se razlikuju nekoliko tipova CRC pri čemu je najčešći nemucinozni adenokarcinom, dok su mucinozni adenokarcinomi (Signet ring cell tip karcinoma, skvamocelularni, adenoskvamozni i neuroendokrini histološki tipovi CRC) ređi (Yangi sar., 2014). Postoje četiri različita stepena diferentovanosti tumora (G1-G4), pri čemu G1 označava dobro diferentovan tumor koji je po svojim osobinama najbliži normalnom tkivu iz kojeg je nastao, a G4 slabo nediferentovan tumor, koji se u potpunosti razlikuje od normalnog tkiva. Međutim u praksi se vrlo često stepen diferentovanosti tumora opisuje kao nizak gradus „*low grade*“ (G1 i G2) ili visok gradus „*high grade*“ (G3 i G4) (American Joint Committee on Cancer – AJCC, 2010). Najveći broj dijagnostikovanih CRC su srednje ili dobro diferentovani tumori.

1.5. Klasifikacija kolorektalnog karcinoma

Kolorektalni karcinom se u zavisnosti od etioloških faktora koji dovode do njegovog razvoja može podeliti na sporadični, hereditarni (nasledni) i familijarni tip.

Sporadični CRC, sa zastupljenošću od oko 70% predstavlja najčešći tip ovog maligniteta. Sporadični slučajevi ovog malignog oboljenja se uglavnom javljaju kod osoba starijih od 50 godina koji nemaju pozitivnu porodičnu anamnezu za CRC. Uticaj faktora životne sredine u velikoj meri utiče na razvoj ovog tipa CRC (Stigliano i sar., 2014).

Hereditarni (nasledni) tip CRC je najređi oblik ovog karcinoma i javlja se kod manje od 10% ukupnog broja obolelih. Najčešći hereditarni sindromi odgovorni za razvoj ovog tipa CRC su nasledni nepolipozni kolorektalni karcinom (HNPCC-Lynch sindrom) i familijarna adenomatozna polipoza (FAP). Lynch sindrom se kao uzrok nastanka nasledne forme CRC javlja kod oko 5% slučajeva, dok je FAP zabeležena kod svega 1% obolelih (American Cancer Society, 2014). Osim FAP, kao prekancerski nasledni sindromi u čijoj je osnovi postojanje polipoze, a koji mogu biti uzrok razvoja hereditarnih CRC su MYH-udružena polipoza kolona, Peutz-Jeghersov sindrom, Cowdenov sindrom i juvenilna polipoza (Sampson i sar., 2003; Nagorni i sar., 2004; Stigliano i sar., 2014).

Familijarni tip CRC se javlja kod 25% obolelih. Osnovni faktor rizika za razvoj ovog tipa je pozitivna porodična anamneza za kolorektalni karcinom kod srodnika prvog stepena. Suprotno naslednom tipu, kod familijarnog tipa CRC nisu registrovane nasledne, genetske promene (American Cancer Society, 2014).

1.6. Molekularni mehanizmi razvoja kolorektalnog karcinoma

Najveći broj CRC (95%) se patohistološki definiše kao adenokarcinom (Stewart i sar., 2006; Mayer, 2016). Približno 85% kolorektalnih karcinoma nastaje malignom alteracijom adenomatoznih polipa (Cornett i Dea, 2016).

Proces maligne alteracije je dosta dug i traje do 10 godina. Taj period je uglavnom bez simptoma koji bi mogli da ukažu na mogućnost razvoja ili postojanje karcinoma u najranijem stadijumu kada je uspešnost lečenja velika. Kod oko 30% osoba starosne dobi do 50 godina i kod 50% starijih osoba se u kolonu može detektovati prisustvo adenomatoznih polipa. Međutim, manje od 1% adenomatoznih polipa se maligno transformiše u CRC (Mayer, 2016). Verovatnoća prelaska adenoma u karcinom zavisi od veličine i stepena displazije polipa. Što je veći polip to je veća i verovatnoća njegovog prelaska u karcinom. Tako je rizik od maligne alteracije kod polipa manjih od 1,5cm i stepenom displazije manjim od 2% zanemarljiv, dok su adenomatozni polipi veličine 1,5-2,5 cm sa stepenom displazije od 2-10% umereno rizični.

Kod polipa većih od 2,5 cm (10% displastično izmenjeni) sa velikom sigurnošću se može reći da će maligno alterisati (Mayer, 2016). Razvoju kolorektalnog karcinoma prethode brojne molekularne promene koje vode destabilizaciji genoma i posledičnoj inaktivaciji tumor supresorskih gena ili aktivaciji proto-onkogena.

Osnovim putevima kolorektalne karcinogeneze smatraju se put hromozomske nestabilnosti (Chromosomal Instability-CIN), mikrosatelitne nestabilnosti (MicroSattelite Instability-MSI) i put metilatorskog fenotipa CpG ostrvaca (CpG Island Methylator Phenotype-CIMP).

1.6.1. Hromozomska nestabilnost

Hromozomska nestabilnost je kao molekularni mehanizam razvoja karcinoma prisutna kod oko 70-85% sporadičnih CRC. U osnovi ovog patogenetskog mehanizma su molekularne promene u vidu numeričkih ili strukturnih hromozomskih aberacija, tačkastih mutacija, amplifikacija i delecija određenih gena koje dovode do gubitka sekvenci u jednom od roditeljskih hromozoma a time i do gubitka heterozigotnosti (Loss of Heterozigosity-LOS) (Worthley i sar., 2007; Worthley i Leggett, 2010; Mayer, 2016). Mutagene promene zahvataju tumor supresorske gene i proto-onkogene kao što su APC gen (Adenomas polyposis coli), KRAS, DCC (Deleted in colon cancer), SMAD2, SMAD 4 i TP53 gen.

APC je tumor supresorski gen lociran na dugom (q) kraku hromozoma 5 u poziciji 5q21 (Cornett i Dea, 2016). Kodira sintezu APC proteina koji se fiziološki veže za β -catenin, a formirani kompleks suprimirajući Wnt signalni put kontroliše ćelijsku deobu, odnos sa ostalim ćelijama u tkivu, adheziju, migraciju i apoptozu kolonocita. (Davis i sar., 2005; Worthley i Leggett, 2010). Mutagene promene APC gena smatraju se ranim, inicijalnim događajem u kolorektalnoj karcinogenezi, a detektovane su kod oko 60% sporadičnih karcinoma kolona i 82% karcinoma rektuma.

KRAS (Kristen-ras) je proto-onkogen odgovoran za sintezu KRAS proteina koji pripada porodici GTP (guanin tri fosfat) vezujućih proteina. Nishodni je medijator signalnog puta posredovan aktivacijom receptora za epidermalni faktor rasta (Epidermal Growth Factor Receptor-EGFR). Takođe, u svom aktivnom GTP stanju se veže za određene kinaze i pokreće niz drugih nishodnih signalnih puteva (RAS-RAF-MEK-ERK) koji kontrolišu ćelijski rast i deobu, proces apoptoze, angiogeneze, organizaciju citoskeleta kao i aktivaciju određenih DNK reparacionih mehanizama (Worthley i Leggett, 2010). Usled mutagenih promena KRAS gena, sintetisani KRAS protein je stalno u svojoj aktivnoj, GTP formi. Njegova nekontrolisana aktivnost ima za posledicu inicijaciju tumora sa jedne i favorizaciju tumorskog rasta i progresije malignog procesa sa druge strane. Tačkaste mutacije ovog gena su najčešći tip promena koje se javljaju kod CRC.

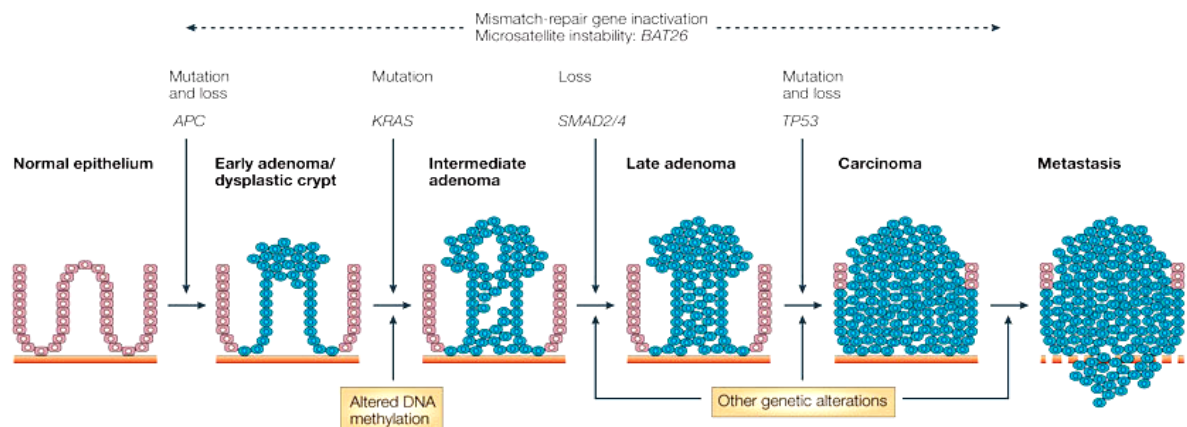
Registruju se kod oko 35-42% obolelih od CRC i predstavljaju rani događaj u kolorektalnoj karcinogenezi. Mutageni status KRAS gena ima ulogu prediktivnog faktora za kreiranje optimalnih terapijskih protokola koji podrazumevaju upotrebu monoklonskih antitela specifičnih za EGFR receptore (panitumumab i cetuksimab).

U daljem procesu kolorektalne karcinogeneze posredovane hromozomskom nestabilnošću kod velikog broja CRC bolesnika je zabeležen gubitak alela na 18q kraku DCC, SMAD 2 i SMAD4 gena.

DCC gen je tumor supresorski gen koji pokretanjem apoptotskih mehanizama kontroliše životni vek epitelnih ćelija u intestinalnim kriptama čime sprečava njihovu eventualnu malignu alteraciju (Mehlen i Fearon, 2004; Khan i sar., 2011). Gubitak heterozigotnosti kao najčešćeg vida molekularnog poremećaja ovog gena kod CRC karakterističan je za kasnije faze kolorektalne karcinogeneze i registruje se kod oko 60% obolelih (Mehlen i Fearon, 2004; Bruce i sar., 2007; Adrienne i sar., 2011; Khan i sar., 2011).

SMAD2 i SMAD 4 posreduju u TGF- β signalnom putu i na taj način kontrolišu procese ćelijske deobe i apoptoze. Nakon delecije alela ovih gena, izostaje njihova fiziološka, proapoptotska uloga što vodi daljoj progresiji malignog procesa (Worthley i Leggett, 2010).

Poslednji u nizu događaja karakterističnih za malignu transformaciju adenoma je delecija alela na 17p kraku TP53 tumor supresorskog gena (Worthley i Leggett, 2010). Gubitak funkcije TP53 gena usled mutagenih promena za posledicu ima izostanak aktivacije proapoptopskih mehanizama i napredovanje malignog procesa. Narušena funkcija TP53 gena je registrovana kod oko 50% adenoma sa invazivnim lezijama i 50-75% uznapredovalih oblika CRC.



Slika 1. Maligna alteracija adenomatoznih polipa u kolorektalni karcinom (Preuzeto iz Davies i sar., 2005)

1.6.2. Mikrosatelitna nestabilnost

Kolorektalna karcinogeneza u čijoj je osnovi mikrosatelitna nestabilnost se karakteriše poremećajem funkcionisanja DNK reparacionih mehanizama. Reparacioni mehanizam (Mismatch Repair Mechanism -MMR) se sastoji od najmanje sedam proteina MLH1, MLH3, MSH2, MSH3, MSH6, PMS1 i PMS2 od kojih su za reparaciju pogrešno sparenih baza pri procesu replikacije najznačajniji MLH1 i MSH2 (Worthley i Leggett, 2010). Usled mutacije gena koji kodiraju sintezu ovih proteina narušava se funkcionisanje reparacione mašinerije zbog čega dolazi do nagomilavanja mutagenih promena u kratkim ponavljajućim nukleotidnim sekvencama, mikrosatelitima (Worthley i Leggett, 2010). U zavisnosti od stepena izraženosti mikrosatelitne nestabilnosti kolorektalni karcinomi su podeljeni na MSI-H (MSI High) tip kod kojeg se od pet mikrosatelita više od dva odlikuje genomskom nestabilnošću, MSI-L (MSI Low) tip kod kojeg je genomaska nestabilnost prisutna na jednom mikrosatelitu i MSS (Microsatellite stable) tip CRC kod kojeg nije zabeležena genomaska nestabilnost (Worthley i Leggett, 2010). Kod mikrosatelitno nestabilnih CRC zabeleženo je da su često prisutne i mutagene promene u mikrosatelitima gena koji ih sadrže kao što su MSH3, TGFBR2, BAX, CASP5, MSH6, CTNBN1, APC, IGF2 i E2F4.26 (Bresalier, 2002; Liefers i Tollenaar, 2002). Mikrosatelitna nestabilnost nastala usled nasledne mutacije MMR gena smatra se osnovnim molekularni mehanizam karcinogeneze kod naslednih nepolipoznih formi CRC (Worthley i Leggett, 2010; Perea i sar., 2015). Kod sporadičnih kolorektalnih karcinoma ovaj put karcinogeneze je zabeležen kod oko 10-15% slučajeva. Najveći broj mikronestabilnih sporadičnih CRC nastaje kao posledica hipermetilacije promotorskog regiona MLH1 gena te ovakav tip karcinoma pored MSI pokazuju i CIMP fenomen (Worthley i Leggett, 2010).

1.6.3. Metilatorski fenotip CpG ostrvaca

U osnovi trećeg puta kolorektalne karcinogeneze su epigenetski mehanizmi koji utišavaju tumor supresorske gene. Krucijalni epigenetski događaj je metilacija citozina u okviru CpG sekvenci (fosfodiesterarskom vezom povezani citozin i guanin) promotorskog regiona gena. Ovako nastali CRC predstavljaju poseban entitet i označeni su kao CpG metilacioni fenotip (CIMP) CRC. Suprotno CRC nastalim iz adenomatoznih polipa, prekursori CIMP fenotipa CRC su sesilni, rećkasti adenomi. U zavisnosti od stepena metilacije razlikuju se CIMP pozitivan i CIMP negativan metilacioni fenotip CRC. CIMP pozitivni CRC imaju dobro definisane kliniĀko-patološke osobine i uglavnom se javljaju kod starijih osoba ženskog pola. Odlikuju se prisutnom BRAF i KRAS mutacijom, pri Āemu je daleko veći broj CpG

metilacionog fenotipa CRC sa BRAF mutagenim statusom (oko 90% CIMP pozitivnih CRC). (Worthley i Leggett, 2010; Perea i sar., 2011). Smatra se da je metilacija CpG sekvenci promotorskog regiona tumor supresorskog gena odgovorna za razvoj oko 15% sporadičnih CRC. Pomenuto je da se većina mikronestabilnih sporadičnih CRC zbog metilacije MLH1 gena odlikuje i CIMP fenomenom. Pokazano je da se CIMP pozitivni, mikronestabilni tipovi CRC odlikuju dobrom prognozom. Međutim, ne moraju svi CIMP pozitivni CRC biti i mikronestabilni. Takvi karcinomi su progresivni i imaju lošu prognozu.

1.7. Terapija kolorektalnog karcinoma

Definisani stadijum i lokalizacija tumora osnovne su smernice za određivanje optimalnog terapijskog protokola za lečenje obolelog.

Terapijski pristup izbora je hirurško odstranjivanje tumora. Bolesnici kod kojih je moguća resekcija se upućuju na operaciju, a po potrebi se naknadno podvrgavaju određenom hemioterapijskom protokolu (adjuvantna hemioterapija).

Suprotno njima, kod bolesnika sa potencijalno resektabilnim tumorom se najpre primenjuje hemioterapija (neoadjuvantna hemioterapija), a zatim se ukoliko je resekcija moguća upućuju na operaciju. Ukoliko i nakon sprovedenog neoadjuvantnog protokola nije moguće hirurški odstraniti karcinom, tada je cilj terapije poboljšati kvaliteta života i produžiti period preživljavanja (American Cancer Society, 2014).

1.7.1. Adjuvantni i neoadjuvantni hemioterapijski protokoli lečenja

Kolorektalni karcinom *in situ* i I stadijum bolesti

U slučajevima karcinoma *in situ* i karcinoma u I stadijumu, operativnim uklanjanjem tumora se završava lečenje obolelog (American Cancer Society, 2014; Cornett i Dea, 2016).

II stadijum bolesti

Kod resektabilnih bolesnika sa II stadijumom bolesti kod kojih ne postoji povećan rizik za ponovno javljanje bolesti se hirurškim odstranjivanjem tumora, bez naknadne primene adjuvantne hemioterapije može završiti lečenje. Izuzetak su bolesnici sa pT4 karakteristikama tumora, operisani u stanju ileusa dominantno sa mucinoznom komponentom, a time i povećanim rizikom da će se bolest ponovo razviti. Primena adjuvantnog hemioterapijskog protokola može biti od velikog značaja za takve bolesnike. Kao adjuvantna terapija se primenjuje monoterapija kapecitabinom ili kombinovani citostatski protokoli na bazi 5-FU, leukovorina i oksaliplatin (FOLFOX ili FLOX protokol) (American Cancer Society, 2014; Cornett i Dea, 2016).

III stadijum bolesti

Lečenje bolesnika sa III stadijumom bolesti, kod kojih je moguće operativno odstraniti tumor se nakon operacije nastavlja primenom adjuvantne hemioterapije. Lečenje hirurģijom bez naknadne upotrebe adjuvantne hemioterapije rezultuje petogodišnjim preživljavanjem kod oko 30-50% obolelih. Suprotno tome, naknadna upotreba hemioterapije povećava stopu petogodišnjeg preživljavanja za oko 30%. Adjuvantni hemioterapijski protokoli lečenja se najčešće primenjuju u trajanju od 6 meseci. Zasnivaju se na upotrebi FOLFOX protokola, monoterapiji 5-FU ili udruženoj upotrebi 5-FU i leukovorina (5-FU/LV protokol). Najviša stopa petogodišnjeg preživljavanja (73,3%) je zabeležena kod bolesnika lečenih FOLFOX terapijskim režimom zbog čega se on smatra i adjuvantnim hemioterapijskim protokolom izbora (Cornett i Dea, 2016). Pokazano je da udružena upotreba monoklonskih antitela (bevacizumab ili cetuksimab) i FOLFOX protokola u ovoj fazi bolesti ne dovodi do povećanja stope preživljavanja tokom perioda od pet godina (Cornett i Dea, 2016).

IV stadijum bolesti (metastatska bolest)

Primarno mesto hematogenih metastaza kolorektalnog karcinoma je jetra (Simonds i sar., 2006), te je prilikom postavljanja dijagnoze kod približno 25% bolesnika moguće istovremeno registrovati metastaze na jetri (sinhrone metastaze), dok se kod trećine bolesnika metastaze razvijaju tokom daljeg praćenja (metahrone metastaze) (Schima i sar., 2005; Chibaudel i sar., 2012). Osim toga, kod 70% preminulih sa CRC nađene su metastaze na jetri, te se smatra da su one glavni uzrok smrti kod ovih bolesnika (Schima i sar., 2005). Stoga je kod bolesnika sa metastatskim kolorektalnim karcinomom (mCRC) tretman metastaza na jetri od velikog značaja i on u najvećoj meri zavisi od njihove resektabilnosti. Kod manje od 10% bolesnika metastaze su u potpunosti resektabilne i operativno se mogu ukloniti bez prethodne primene hemioterapije (Chun i sar., 2009). Resekcija metastatskih promena omogućava petogodišnje preživljavanje kod oko 35-55% obolelih (Cornett i Dea, 2016). Sprovođenje adjuvantnog protokola lečenja u vidu kombinovanih citostatskih protokola na bazi 5-FU, leukovorina, oksaliplatina, kapecitabina ili irinotekana ili njihove udružene upotrebe sa biološkim lekovima je preporuka za nastavak lečenja ovih bolesnika (American Cancer Society, 2014; Cornett i Dea, 2016).

Međutim, daleko je veći broj bolesnika sa potencijalno resektabilnim ili neresektabilnim metastazama čije je hirurģsko uklanjanje moguće tek nakon primene neoadjuvantne hemioterapije. Neoadjuvantna hemioterapija prve linije se zasniva na kombinovanoj upotrebi konvencionalnih citostatika 5-FU, leukovorina i oksaliplatina (FOLFOX) ili irinotekana (FOLFIRI) sa biološkom terapijom (bevacizumab, panitumumab i cetuksimab) ili bez nje.

Često se umesto 5-FU u kombinaciji sa oksaliplatinom i leukovorinom koristi oralni fluoropirimidin, kapecitabin (CAPOX protokol). Podaci ukazuju da primena neoadjuvantne hemioterapije dovodi do poboljšanja resektabilnosti kod približno 30% bolesnika sa neresektabilnim metastazama na jetri, a time i do povećanja stope očekivanog 5-godišnjeg preživljavanja ovih bolesnika i do 25% (Chun i sar., 2009; Cunningham i sar., 2010; Abrams i sar., 2014, Cornett i Dea, 2016). Ukoliko bolest napreduje bez obzira na primenu hemioterapije, bolesnik se sa neoadjuvantnog protokola prve linije prevodi na odgovarajući protokol druge linije. Kao protokol druge linije se može primenjivati bilo koji od navedenih protokola koji se nije primenjivao kao prva linija lečenja. Takođe, kao terapija druge linije se primenjuje udružena upotreba FOLFIRI protokola i afliberceta, novog anti-angiogenetskog agensa. Primarni cilj terapije druge linije je da se bolesniku maksimalno produži i očuva kvalitet života. U slučaju dobrog odgovora na terapiju period preživljavanja bolesnika se može produžiti i na više od 20 meseci (Cornett i Dea, 2016). U slučaju progresije bolesti i nakon terapije druge linije, bolesnik se prevodi na treću liniju hemioterapije. Tada se kao neoadjuvantna terapija treće linije može upotrebiti bilo koji od hemioterapijskih protokola kojim bolesnik nije prethodno lečen. Takođe, kod bolesnika sa nemutiranim KRAS statusom treća linija hemioterapije se može sprovesti primenom monoterapije biološkim lekovima, panitumumabom ili cetuksimabom. Upotreba regorafeniba (multikinaznog inhibitora) u trećoj liniji hemioterapije dovodi do produžavanja perioda ukupnog preživljavanja ovako tretiranih bolesnika u odnosu na one iz placebo grupe (Grothey i sar., 2013).

1.7.2. Hemioterapijski modaliteti lečenja kolorektalnog karcinoma – počeci i savremeni pristupi

Lečenje kolorektalnog karcinoma je značajno unapređeno tokom poslednjih 25 godina. Evolucija lečenja mCRC počinje 80-tih godina kada simptomatski suportivni terapijski protokoli bivaju zamenjeni citostatskom terapijom koja se zasnivala na upotrebi 5-fluoropirimidinskog analoga nukleozida pirimidina, 5-fluorouracila (5-FU). Prvobitni citostatski protokol na bazi fluoropirimidina se zasnivao na monoterapiji 5-FU. Zatim se u cilju modulacije njegove antitumorske aktivnosti, terapiji 5-FU dodaje imunomodulator levamizol. Kod tako tretiranih bolesnika je zabeležen napredak u odnosu na dotadašnje simptomatsko lečenje u smislu produžavanja perioda preživljavanja. Ubrzo levamizol biva zamenjen leukovorinom. Upotreba 5-FU i leukovorina (5-FU/LV) rezultuje produžavanjem perioda preživljavanja sa dotadašnjih 4-6 meseci na 12,1 mesec (de Gramont i sar., 2000; Field i Lipton., 2007; Chibaudel i sar., 2012).

5-FU se najpre primenjivao u vidu *bolus* injekcije, a kasnije i u vidu višerasovne infuzije (*iv*). Kod bolesnika koji su bili na *iv* režimu davanja leka zabeleženi su bolji klinički odgovor i duži period bez progresije bolesti u odnosu na bolesnike kojima je 5-FU aplikovan u vidu *bolus* injekcije (Weinerman i sar., 1992; Kosmider i Lipton, 2007; Gustavsson i sar., 2015). Osim u kliničkoj efikasnosti pomenuti režimi aplikacije se značajno razlikuju i u pogledu neželjenih efekata do kojih dovode. 5-FU primenjen u vidu infuzija dovodi do dijareja i "hand-foot" sindroma, dok *bolus* režim dovodi do razvoja hematološke toksičnosti. Osim načina aplikacije 5-FU, na razvoj neželjenih efekata utiče i doza LV. Rezultati QUASAR randomizovane studije ukazuju da veća doza LV u odnosu na standardnu korelira sa većom stopom razvoja neželjenih efekata, ali ne i sa boljim ishodom lečenja (Worhtley i sar., 2007). Takođe, pokazano je da ne postoji značajna razlika u terapijskom odgovoru kao ni ukupnom preživljavanju kada se porede protokoli ordinirani sa većom dozom LV (400 mg/m²) u odnosu na one sa nižom dozom (20 mg/m²) (de Gramont i sar., 1997; Reynolds i sar., 2014). Ovakva saznanja postaju prihvaćena u praksi, te se terapijski protokoli sprovode i sa nižim dozama LV.

Za antitumorski efekat 5-FU su odgovorni njegovi aktivni metaboliti 5-fluoroksiuridin trifosfat (F-UTP) i 5-fluorodeoksiuridin monofosfat (FdUMP). F-UTP se umesto uracila inkorporira u RNK lanac čime se inhibira sazrevanje ribozomalne RNK i ometa sinteza proteina što rezultuje usporavanjem ćelijskog rasta. S druge strane, F-dUMP inhibira aktivnost enzima timidilat sintaze koji katalizuje sintezu deoksitimidin trifosfata (dTTP), nukleotida koji se ugrađuje u DNK molekul (Noordhuis i sar., 2004; Cai i sar., 2014; Gustavsson i sar., 2015). Time se remete procesi reparacije i sinteze DNK molekula koji su neophodni za ćelijski rast. Leukovorin koji je sastavni deo hemioterapijskih protokola na bazi fluoropirimidina, svoj antitumorski efekat ispoljava stabilizacijom veze između 5-FU i timidilat sintaze čime pojačava inhibitorski efekat 5-fluorouracila na proces DNK replikacije.

Iako su savremeni protokoli lečenja značajno unapređeni uvođenjem novih citostatika, upotreba 5-FU je i danas osnova hemioterapijskih protokola namenjenih za lečenje mCRC. Klinička iskustva pokazuju da odgovor bolesnika na primenjeni 5-FU može biti različit. Kod nekih se registruje progresija bolesti, dok kod drugih kod kojih se primenjuje čak i kao druga ili treća linija terapije dovodi do stabilizacije bolesti i produžavanja perioda preživljavanja na preko dve godine (Jelić, 2009). Razlog tome je različiti stepen ekspresije dihidropirimidin dehidrogenaze (DPD) i timidin sintetaze (TS) u tumorskom tkivu. Pokazano je da su tumori koji imaju visok nivo TS, a nizak stepen ekspresije DPD senzitivniji na primenu 5-FU.

Terapijski odgovor kod bolesnika sa ovakvim molekularnim karakteristikama tumorskog tkiva se nakon primene režima na bazi 5-FU ogleda u produžavanju perioda regresije ili stabilizacije bolesti. Nivo DPD u tumorskom tkivu je značajan za procenu terapijskog odgovora na 5-FU, dok je nivo ovog enzima u normalnim ćelijama značajan za prognozu toksičnih efekata do kojih primena 5-FU može da dovede (Jelić, 2009). Imajući i ovo u vidu, određivanje molekularnog profila tumorskog tkiva se smatra neophodnim kako bi se primenio optimalni terapijski režim sa najmanje izraženim neželjenim efektima. Na taj način će primena klasičnog i starog leka 5-FU biti u većoj meri deo personalizovanog, a ne standardnog hemioterapijskog protokola.

Pored parenteralnih analoga pirimidina, u terapiju CRC se uvodi i oralni fluoropirimidin, kapecitabin. To je pro-lek koji se u organizmu prevodi u 5-FU kroz tri enzimski katalizovane reakcije. Jedan od enzima koji učestvuje u enzimskoj konverziji je timidin fosforilaza. Aktivnost ovog enzima je kod obolelih od mCRC značajno povećana na mestu sekundarnih depozita te je time i sama konverzija kapecitabina intenzivnija (Papamichael, 1999; Field i Lipton., 2007). Terapijska efikasnost kapecitabina se može porediti sa efikasnošću *bolus* aplikovanog 5-FU, dok su neželjeni efekti do kojih dovodi slični onima koji se javljaju kod *iv* režima davanja leka (Hoff i sar., 2001; Cutsem i sar., 2004; Field i Lipton., 2007). Uvođenje kapecitabina omogućava korišćenje terapije u kućnim uslovima čime se poboljšava komfor bolesnika pri lečenju. Međutim, za uspešnost lečenja se mora osigurati i potvrditi poštovanje komplijanse.

Kasnije, tokom 90-tih godina se lečenje unapređuje kreiranjem dvojnih citostatskih protokola koji podrazumevaju kombinovanu upotrebu 5FU/LV i oksaliplatin (FOLFOX) (de Gramont i sar., 2000; Goldberg i sar., 2004; Diaz-Rubio i sar., 2007, Chibaudel i sar., 2012) ili irinotekana (FOLFIRI) (Tournigand i sar., 2004; Fuchs i sar., 2006; Chibaudel i sar., 2012). Sa unapređenjem znanja o biologiji tumorskog tkiva i očekivanom odgovoru na primenjenu terapiju, neretko, i tripleti pomenutih citostatika postaju standardni terapijski protokoli za lečenje mCRC (de Gramont i sar., 2005; Falcone i sar., 2007; Chibaudel i sar., 2012). Rezultat toga je značajno smanjenje mortaliteta obolelih od CRC (Oukarim i sar., 2015).

Oksaliplatin je predstavnik derivata platine treće generacije. Pripada grupi alkilirajućih antineoplastičnih agenasa te alkilacijom ciljnog mesta unutar ili između DNK lanaca dovodi do stvaranja mono ili bi platinastih DNK produkata čime se inhibira proces DNK transkripcije i replikacije (Field i Lipton., 2007; Cai i sar., 2014). Upotrebljen kao monoterapija u lečenju mCRC pokazuje minimalne efekte, dok njegova udružena primena sa 5-FU/LV protokolom značajno unapređuje lečenje obolelih zbog čega se smatra jednim od najefikasnijih citostatika

primenjenih u terapiji uznapredovalog CRC (Rothenberg i sar., 2003; Field i Lipton., 2007; Gustavsson i sar., 2015). U radu de Gramont i saradnika (2000) prikazani su rezultati studije koji ukazuju na bolji klinički odgovor i na duži period bez progresije bolesti kod bolesnika lečenih 5-FU/LV protokolom sa oksaliplatinom u odnosu na one koji nisu primali oksaliplatin. Danas je terapijski protokol na bazi oksaliplatina i 5-FU/LV (FOLFOX protokol), prema NCCN (National Comprehensive Cancer Network) smernicama prihvaćen kao protokol prve linije za lečenje mCRC.

Međutim, osim željenog poboljšanja kliničkog odgovora, terapijski protokoli na bazi oksaliplatina se odlikuju razvojem neželjene, dozno zavisne neurotoksičnosti zbog koje se sprovođenje terapije obično obustavlja nakon 8 ciklusa, a time efikasnost lečenja dovodi u pitanje. Terapijska efikasnost sa jedne i toksičnost oksaliplatina sa druge strane zavisi od cirkulišuće koncentracije ovog citostatika. Detoksikaciona, druga faza metabolizma oksaliplatina posredovana je enzimom glutation S-transferazom (GST) (Cotton i sar., 2000; Jelić, 2009; Kap i sar., 2014). Aktivnost enzima utiče na brzinu eliminacije leka, a time i na njegovu koncentraciju u organizmu. Tako se u slučajevima brze razgradnje leka smanjuje njegova antitumorska aktivnost, a time i uspešnost lečenja. Suprotno tome, u slučajevima spore degradacije se razvijaju neželjeni, toksični efekti leka. Postoje tri polimorfna oblika ovog enzima koja se međusobno razlikuju po aminokiselinskom sastavu na poziciji 105 koji može biti u vidu izoleucin/izoleucin, valin/valin ili izoleucin/valin sekvence. Razlika u sastavu aminokiselinske sekvence je odrgovorna za razliku u stepenu aktivnosti ovih polimorfnih oblika (Cotton i sar., 2000; Jelić, 2009). Kod bolesnika koji su primali oksaliplatin kao terapiju druge linije zabeležena je značajna razlika u periodu preživljavanja u zavisnosti od polimorfnog oblika GST enzima koji su imali. Tako je kod bolesnika sa izoleucin/izoleucin sekvencom period preživljavanja bio 7,9 meseci, kod onih sa valin/valin sekvencom 24,9, a sa izoleucin/valin sekvencom 13,3 meseca (Jelić, 2009). Imajući navedeno u vidu, određivanje polimorfnog statusa GST enzima od velikog je značaja pri odluci o primeni oksaliplatina u terapiji obolelih.

Irinotekan pripada grupi polusintetskih derivata kaptopotecina. U organizmu se prevodi u svoj aktivni metabolit SN-38 koji inhibira topoizomerazu I nuklearne DNK i sprečava odvijanje DNK lanaca (Field i Lipton., 2007; Cai i sar., 2014). Time se narušava proces replikacije i transkripcije DNK molekula što se smatra osnovnim antineoplastičnim mehanizmom ovog leka. Svoj optimalni antitumorski efekat pokazuje pri udruženoj upotrebi sa 5-FU/LV. To je i potvrđeno rezultatima studija koji govore o značajnom poboljšanju kliničkog odgovora, produžavanju perioda bez progresije bolesti kao i ukupnog preživljavanja

kod bolesnika koji su lečeni udruženom upotrebom irinotekana i FU/LV (FOLFIRI protokol) u odnosu na one koji su tretirani irinotekanom ili 5-FU/LV protokolom (Saltz i sar., 2000; Fiedl i Lipton., 2007; Gustavsson i sar., 2015). Kod više od 50% obolelih koji su lečeni irinotekanom se kao neželjeni efekat javlja dijareja. Pri tome je kod oko 22-44% bolesnika zabeležen treći ili četvrti stepen dijareje što je ujedno bio i osnovni razlog za obustavu terapije. Osim dijareje, kao ozbiljan neželjeni efekat se javlja depresija kosne srži. Za razvoj neželjenih efekata irinotekana odgovoran je njegov aktivni metabolit SN-38. Brzina njegove metaboličke degradacije određuje verovatnoću i stepen ispoljavanja neželjenih efekata. U metabolizmu SN-38 učestvuje uridin difosfat glukuronozil transferaza (UGT) te njena aktivnost određuje farmakološki i toksični profil SN-38 (Ando i sar., 2007). Polimorfizam UGT1-A7 i UGT1-A9 članova UGT porodice smatra se glavnim razlogom za postojanje interindividualnih razlika u aktivnosti i toksičnosti SN-38 (Ando i sar., 2000; Brockton, 2002; Jelić, 2009). Tako je kod osoba sa niskom enzimskom aktivnošću UGT1-A7 i onih sa genotipom UGT1-A9-118 zabeležen bolji terapijski odgovor i blaža toksičnost irinotekana (Ando i sar., 2000; Jelić 2009; Kanekiyo i sar., 2013). Takođe, smanjenje toksičnosti je registrovano kod obolelih koji imaju hetero ili homozigotni oblik UGT1-A28 enzima (Jelić 2009; Kanekiyo i sar., 2013). Navedeni farmakogenetski podaci predstavljaju značajne smernice pri odabiru bolesnika kod kojih će se primenom irinotekana postići željeni terapijski efekat uz istovremenu maksimalnu redukciju neželjenih, toksičnih efekata.

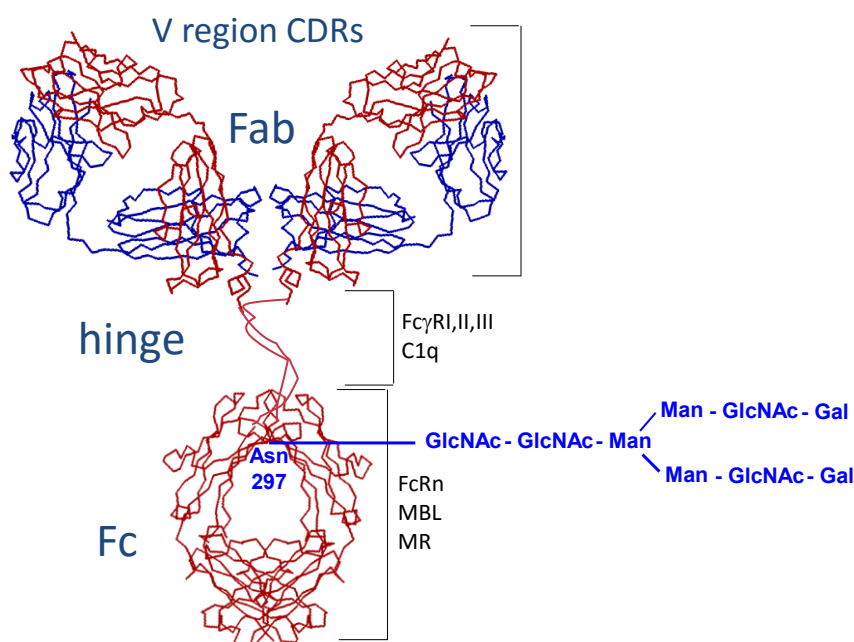
Primena kombinovanih citostatskih protokola je značajno unapredila terapijski tretman obolelih od mCRC. Napretku u lečenju bolesnika su u velikoj meri doprinela i farmakogenetska saznanja koja su omogućila da se dotadašnja empirijska doziranja citostatika donekle prilagode karakteristikama obolelog. Na taj način je osim poboljšanja terapijskog odgovora, produžavanja perioda preživljavanja na preko 17 meseci, značajno redukovana toksičnost primenjenih lekova i time sprečena obustava sprovođenja terapije (Douillard i sar., 2000).

1.7.3. Biološka terapija

Razvoj molekularne biologije, a time i unapređenje znanja o biologiji tumorskog tkiva omogućilo je razvoj ciljane, biološke terapije koja značajno proširuje mogućnosti lečenja ovih bolesnika.

Monoklonska antitela su sastvani deo biološkog, personalizovanog terapijskog protokola za lečenje karcinoma. Predstavljaju najsavremenije lekove današnjice, a odlikuju se izuzetno složenom strukturom i postupkom dobijanja. S obzirom na to da zahtevaju posttranslacijsku modifikaciju dobijaju se složenim procesom prečišćavanja iz sisarskih ćelija koje potiču samo

od jedne ćelije kultivisane pod specijalnim uslovima. Specifično se vezuju za jedan epitop na antigenu što ih razlikuje od poliklonskih antitela. Pripadaju IgG1 klasi imunoglobulina i karakterišu se dugim poluvremenom eliminacije od oko 23 dana što omogućava doziranje leka na svake 2-3 nedelje. Monoklonska antitela se sastoje od dva istovetna teška lanca (eng. heavy, H) molekulske težine od 50 kDa i dva istovetna laka lanca (eng. light, L) od po 25 kDa. Teški lanci su sačinjeni od jednog varijabilnog (V) i tri konstantna (CH1, CH2, CH3) domena, a laki od po jednog varijabilnog i konstantnog (CL) domena. Antitelo se specifično vezuje za epitop na antigenu preko antigen-vezujućeg mesta u okviru Fab fragmenta (eng. Fragment antigen binding), dok svoju biološku funkciju ispoljava preko konstantnog Fc fragmenta (eng. fragment crystalline) nakon vezivanja za Fc receptore makrofaga, urođenoubilačkih ćelija ili C1q komponentu komplekta. Za ostvarivanje farmakološkog efekta potrebno je da Fc fragment bude u konformaciji otvorene potkvice. Fab i Fc regioni su međusobno povezani savitljivim zglobnim regionom koji pored Fc regiona učestvuju u ostvarivanju efektornih funkcija monoklonskog antitela (Jefferis i Lund, 2002).



Slika 2. Prikaz IgG strukture (preuzeto iz Jefferis i Lund, 2002)

Biološki lekovi koji su tokom poslednje decenije postali deo standardnih neoadjuvantnih protokola za lečenje mCRC pripadaju grupi inhibitora receptora za epidermalni faktor rasta (cetuksimab, panitumumab) i inhibitora vaskularnog endotelnog faktora rasta (bevacizumab).

Cetuksimab je rekombinantno humanizovano mišje monoklonsko antitelo koje se veže za ekstracelularni deo receptora za epidermalni faktor rasta (EGFR) i inhibira ga.

Pokazano je da je ushodna regulacija ili povećana ekspresija gena koji kodira sintezu EGFR prisutna kod 60-80% obolelih od CRC (Porebska i sar., 2000; Worthley i sar., 2007). Imajući to u vidu jasno je da se inhibicijom ovog receptora kontroliše rast i deoba maligne ćelije. Terapijska primena cetuksimaba zavisi od KRAS (Kristen Rat Sarcoma virusni onkogen) proteinskog statusa tumora. Rezultati kliničkih studija ukazuju da je primena cetuksimaba u smislu optimalne terapijske efikasnosti opravdana kod obolelih sa *wild* tipom KRAS onkogen. Međutim, rezultati novijih istraživanja ukazuju da je terapijska korist upotrebe cetuksimaba moguća i kod podgrupe bolesnika sa G-12D KRAS mutiranim genetskim statusom (De Devitiis i sar., 2007). Ovakva saznanja predstavljaju izazov za kliničare i istraživače sa jedne strane, ali i proširenje terapijskih mogućnosti za bolesnike sa druge strane. Primena cetuksimaba u kombinaciji sa irinotekanom ili kao monoterapija rezultovala je značajnim poboljšanjem kliničkog odgovora i produžavanjem perioda bez progresije bolesti, dok produženje ukupnog preživljavanja nije zabeleženo.

Panatumab je humano monoklonsko antitelo koje kao i cetuksimab inhibira EGFR kod obolelih sa *wild* KRAS onkogenim statusom (Green, 1999; Field i Lipton., 2007).

U studiji sprovedenoj na 463 bolesnika sa progresijom bolesti nakon primene irinotekana i oksaliplatina, poređen je klinički efekat bolesnika koji su primali panatumab u odnosu na one koji su dobijali najbolju suportivnu negu. Rezultati studije ukazuju da je kod 8% bolesnika koji su primali panatumab zabeležena parcijalna regresija bolesti, a kod 28% stabilizacija bolesti. Suprotno njima, u kontrolnoj grupi bolesnika nije zabeležena parcijalna regresija bolesti dok je stabilizacija registrovana kod značajno manjeg broja obolelih (10%). Ukupno preživljavanje se nije značajno razlikovalo između ispitivanih grupa bolesnika (Peeters i sar., 2006; Field i Lipton., 2007).

1.7.4. Razvoj inhibitora angiogeneze i upotreba bevacizumaba za lečenje mCRC

Začetnik hipoteze da je za rast i razvoj maligne ćelije neophodna mreža krvnih sudova čije je stvaranje podstaknuto samom kancerskom ćelijom je dr Juda Folkman. Folkmanova hipoteza o neoangiogenezi kao neophodnom faktoru za napredovanje maligne bolesti je prvi put prezentovana 1971. godine i od tada predstavlja osnovu za niz istraživanja u oblasti angiogeneze koja rezultuju mnogobrojnim saznanjima i otkrićima (Folkman, 1971; Cook, 2001; Cao i Langer, 2008).

Folkman navodi da je bez angiogeneze rast tumorske ćelije ograničen na svega nekoliko milimetara zbog toga što tada rast ćelije zavisi od dotoka kiseonika i hranljivih materija koje se do tumora dopremaju mrežom krvnih sudova koja normalno ishranjuje tkivo. U uslovima

takve metaboličke restrikcije tumorska masa dostiže veličinu od 1-2 mm³ što predstavlja početni stadijum bolesti označen kao karcinom *in situ* (Cao i Langer, 2008). Imajući to u vidu, Folkman pretpostavlja da maligna ćelija stvara supstance koje mogu da stimulišu proliferaciju endotelnih ćelija koje oblažu kapilare postojeće mreže krvnih sudova što predstavlja početak procesa angiogeneze. Shodno navedenom, zaključuje da populacija tumorskih ćelija i endotelnih ćelija kapilarne mreže u okviru tumorske mase čine visoko organizovani ekosistem koji podržava rast maligne ćelije kao i da bi se blokiranjem procesa angiogeneze onemogućio ekspanzivan rast tumorske mase (Cavallo i sar., 1972; Cao i Langer, 2008).

Nizom eksperimentalnih oglada grupa istraživača predvođena Folkmanom potvrđuje navedene hipoteze i zaključuje da kancerska ćelija produkuje pro- i anti-angiogenetske proteine (Ausprunk i sar., 1974; Folkman i sar., 1979). Kada prevagne pro-angiogenetska aktivnost produkovanih proteina tumorska masa dobija angiogenetski fenotip i počinje ubrzano da raste. U odsustvu prelaska tumora na angiogenetski fenotip, mogućnost razvoja metastaza je minimalna, a time i uticaj tumorske mase na zdravlje obolelog. Takva saznanja potvrđuju krucijalni značaj angiogeneze za napredovanje maligne bolesti (Folkman i Kalluri, 2004; Cao i Langer, 2008).

Daljim ispitivanjima ova grupa istraživača uspeva da početkom 80-tih godina u potpunosti identifikuje porodicu molekula koja kontroliše proces angiogeneze. Zahvaljujući tome danas je poznato više od 10 endogenih pro-angiogenetskih molekula kao i više od 28 molekula koji inhibiraju proces angiogeneze. Ovakva saznanja postaju osnov za razvoj nove grupe lekova, inhibitora angiogeneze koji unose revoluciju u lečenju onkoloških bolesnika (Cao i Langer, 2008; Italiano i sar., 2008).

Uticaj i značaj angiogeneze za rast maligne ćelije je bio dugo osporavan od strane tadašnjeg naučnog sveta. Međutim, krajem 80-tih godina uporan rad Folkmanove istraživačke grupe biva prihvaćen, a ubedljivi rezultati koji potvrđuju postavljene hipoteze postaju osnovno polazište za dalja istraživanja u oblasti neoangiogeneze.

Folkmanovo otkriće o angiogenetski zavisnom rastu tumora dovodi do korenitih promena stavova o lečenju malignih bolesti (Carmeliet, 2005). Danas je opšte prihvaćeno da su osim same maligne ćelije ciljno mesto delovanja antikancerske terapije i endotelne ćelije mikrovaskularne tumorske mreže.

Terapijska upotreba inhibitora angiogeneze počinje 2003. godine uvođenjem bortezumiba u terapiju multiplog mijeloma (Sunwoo i sar., 2001). Od tada je za kliničku upotrebu odobreno još 10 lekova iz grupe inhibitora angiogeneze od kojih se 8 koristi za lečenje onkoloških bolesnika.

Među njima je i bevacizumab, koji se od 2004. godine upotrebljava kao terapijski protokol prve linije za lečenje metastatskog kolorektalnog karcinoma (Cao i Langer, 2008).

Bevacizumab je rekombinantno humanizovano monoklonsko antitelo koje veže cirkulišući vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF) i sprečava njegovo vezivanje za VEGF-receptore. Izvedeno je iz mišijeg anti-VEGF antitela, a sastoji se iz humane (93%) i mišije komponente (7%) (Presta i sar., 1997;). VEGF je homodimerni glikoprotein molekulske težine od 45kDa. Porodici vaskularnog endotelnog faktora rasta pripadaju četiri strukturno slična molekula VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C i VEGF-D. Sve četiri izoforme učestvuju u procesu fiziološke angiogeneze stimulišući rast endotelnih ćelija krvnih sudova, dok se VEGF-A smatra ključnim posrednikom patološke, tumorske angiogeneze (Ferrara i sar., 2004; Gressett i Shah, 2009). Bevacizumab prepoznaje i veže sve izoforme VEGF, ali se smatra da najveću selektivnost pokazuje za VEGF-A izoformu. Koncentracija ovog glikoproteina je značajno povišena kod približno 50% obolelih od CRC, te se njegovom inhibicijom značajno utiče na rast i razvoj tumorske ćelije (Field i Lipton., 2007).

Tačan mehanizam antitumorskog efekta bevacizumaba nije u potpunosti razjašnjen. Pretpostavlja se da sprečava stvaranje novih krvnih sudova, dovodi do regresije postojeće tumorske vaskulature i normalizacije nepravilne i haotične vaskularne mreže tumorskog tkiva. Na taj način sprečava tumorsku angiogenezu, rast i metastaziranje maligne ćelije (Strickler i Hurwitz, 2012). Normalizacijom postojeće tumorske vaskulature smanjuje intratumorski pritisak i povećava distribuciju citostatika do samog tumora. Ovim se može objasniti zašto se bevacizumab ne daje kao monoterapija, već u kombinaciji sa konvencionalnim citostaticima kada može potpomoći njihov antitumorski efekat (Willett i sar., 2004; Klinger i sar., 2009).

Bevacizumab se najčešće kombinuje sa citostaskim protokolom na bazi parenteralnih ili oralnih fluoropirimidina, irinotekana i oksaliplatina (FOLFOX, FOLFIRI ili XELOX protokol) kada se koristi kao hemioterapijski protokol prve linije za lečenje mCRC. Kod tako lečenih bolesnika se postiže bolji terapijski odgovor u odnosu na bolesnike koji su lečeni bez bevacizumaba (Cutsem i sar., 2009; Diaz-Rubio i sar., 2012; Strickler i Hurwitz, 2012). To se ogleda u produženju perioda preživljavanja na preko 24 meseca, produženju perioda bez progresije bolesti, kao i ukupnog preživljavanja bolesnika (Hurwitz i sar., 2005; Kabbnavir i sar., 2005; Grothey i sar., 2008; Cutsem i sar., 2009; Diaz-Rubio i sar., 2012; Strickler i Hurwitz, 2012). Takođe, pokazano je da se kod bolesnika lečenih dodatnom primenom bevacizumaba postiže bolja resektabilnost metastatskih promena te je time moguća kurativna resekcija metastaza što značajno utiče na uspešnost lečenja (Klinger i sar., 2009; Strickler i Hurwitz, 2012).

Prednost udružene upotrebe bevacizumaba i konvencionalne citostatske terapije ogleda se i u smanjenju broja ciklusa hemioterapije potrebnih za postizanje optimalnog odgovora kod bolesnika (Klinger i sar., 2009). Optimizacija trajanja primenjene hemioterapije kod takvih bolesnika je od velikog značaja, uzimajući u obzir njene toksične efekte (King i Perry, 2001; Field i Lipton., 2007; Kandutsch i sar., 2008).

Osim željenih terapijskih efekata, bevacizumab ispoljava i svoje neželjene efekte. Kod bolesnika dodatno lečenih bevacizumabom najčešće se registruju hipertenzivne krize, gastrointestinalne perforacije, krvarenja i otežano zarastanje rane nakon hirurške intervencije. Hipertenzivne krize drugog i trećeg stepena se uspešno kontrolišu nakon primene antihipertenzivne terapije, dok teži, životno ugrožavajući oblik hipertenzije zahteva obustavu primene bevacizumaba do normalizacije pritiska. Zbog težeg zarastanja rane i krvarenja do kojeg dovodi, preporuka je da se hirurška intervencija sprovodi 6-8 nedelja nakon poslednje primenjene doze bevacizumaba. Tromboembolijski događaji koji rezultuju prolaznim angioznim napadom, infarktom miokarda ili cerebrovaskularnim insultom takođe su neželjeni efekti koji se mogu javiti kod obolelih koji su u sklopu svog neoadjuvantnog ili adjuvantnog terapijskog protokola primali bevacizumab (Van Cutsem i sar., 2007; Cutsem i sar., 2009; Klinger i sar., 2009; Diaz-Rubio i sar., 2012; Strickler i Hurwitz, 2012).

Inicijalni performans status bolesnika, komorbiditeti, resektabilnost i stepen proširenosti metastatske bolesti neke su od osnovnih smernica kojima se treba rukovoditi pri izboru udruženih terapijskih protokola kao protokola prve linije za lečenje mCRC. Na taj način se kod bolesnika može ostvariti najpovoljniji terapijski efekat uz minimalizaciju pratećih neželjenih efekata bevacizumaba (Strickler i Hurwitz, 2012).

1.8. Hepatotoksičan efekat konvencionalnih citostatika primenjenih u terapiji metastatskog kolorektalnog karcinoma

Konvencionalni citostatici ispoljavaju direktan hepatotoksičan efekat koji se manifestuje kao hemioterapijom izazvana: (i) masna bolest jetre (steatoza ili steatohepatitis) i (ii) sinusoidalno oštećenje koje se može gradirati od sinusoidalne dilatacije do sinusoidalnog opstrukcionog sindroma (SOS). Hemioterapijom uzrokovane histološke promene okolnog zdravog tkiva jetre zavise od vrste primenjenog citostatika. Tačan mehanizam hepatotoksičnog efekta konvencionalnih citostatika nije u potpunosti razjašnjen. Pretpostavlja se da je oksidativni stres posredovan produkcijom slobodnih kiseoničnih radikala (ROS) ključni događaj u oštećenju jetre (Pelicano i sar., 2004; Lim i sar., 2008; Chun i sar., 2009; Ortega i sar., 2010).

Hepatotoksični efekat 5-fluorouracila manifestuje se razvojem steatoze. Prema literaturnim podacima, histopatološki nalazi tkiva jetre ukazuju da je kod 30%-47% bolesnika tretiranih 5-fluorouracilom prisutna steatoza (Zorzi i sar., 2007; Chun i sar., 2009). Mehanizam hepatotoksičnog dejstva 5-FU nije jasno definisan, ali se ključnim događajem smatra oštećenje membrane mitohondrija. 5-FU narušava membranski intergritet mitohondrija čime se redukuje njihov oksidativni kapacitet i posledično povećava produkcija ROS. Kompenzatorno se, usled narušenog procesa β -oksidacije masnih kiselina u mitohondrijama, aktiviraju ekstramitohondrijalni putevi oksidacije u mikrozomima i peroksizomima što vodi daljoj produkciji ROS. Povećano stvaranje ROS i narušen proces β -oksidacije dovodi do nakupljanja masnih kiselina u hepatocitima i razvoja steatoze. Posledično se pokreće niz kaskadnih reakcija i aktiviraju stelatne (zvezdaste) ćelije koje vode razvoju fibroze (Chun i sar., 2009; Cai i sar., 2014).

Takođe, hiperprodukcija slobodnih radikala indukuje proinflamatorne citokine i ekspimiranje Fas-ligand receptora što u krajnjoj liniji vodi programiranoj ćelijskoj smrti hepatocita. Osim oštećenja hepatocita posredovanog slobodnim radikalima, metabolička funkcija jetre je narušena i kataboličkim proizvodom 5-fluorouracila, fluoro- β -alaninom koji se dugo zadržava u hepatocitima i nakon prekidanja terapije (Miyake i sar., 2005; Chun i sar., 2009). Ovako narušen metabolizam lekova i masnih kiselina rezultuje akumulacijom intracelularnih lipida što dodatno doprinosi već pokrenutom razvoju steatoze.

Pokazano je da rizik od razvoja steatoze korelira sa indeksom telesne mase (BMI) bolesnika. Tako je, kod bolesnika sa vrednostima BMI>25 verovatnoća razvoja steatoze veća od 20%, dok su svi bolesnici sa BMI>30 izloženi riziku za razvoj steatoze (Cai i sar., 2014;). Drugi epidemiološki faktori kao što su starosna dob bolesnika, pol i dijabetes ne utiču na pojavu steatoze. Hepatotoksični profil kapecitabina je sličan onom koji pokazuje 5-fluorouracil (Kufe i Major, 1981; Cai i sar., 2014).

Rezultati sprovedenih studija ukazuju da se kod 19-52% bolesnika tretiranih oksaliplatinom razvio sinusoidalni opstrukcioni sindrom (SOS) koji se manifestuje dilatacijom sinusa, perisinusoidalnom fibrozom i hepatocelularnom nekrozom (Chun i sar., 2009; Klinger i sar., 2009; Tamandl i sar., 2011). Oksaliplatinom uzrokovana produkcija ROS i pražnjenje depoa glutaciona u endotelnim ćelijama sinusoida smatraju se inicijalnim događajima koji vode razvoju SOS (Chun i sar., 2009; Cai i sar., 2014). Oštećenje endotelnih ćelija praćeno je subintimalnim zadebljanjem i ekstravazacijom eritrocita u perisinusoidalni prostor. To za posledicu ima embolizaciju sinusoida i blokiranje protoka krvi kroz male krvne sudove jetre što rezultuje hepatičkom kongestijom i dilatacijom sinusa. Oštećenje dalje

progredira i karakteriše se deponovanjem kolagena u perisinusoidalnom prostoru i posledičnim razvojem perisinusoidalne fibroze. Pretpostavlja se da osim navedenog, oksaliplatin pokreće proces ushodne regulacije metaloproteinaza i povećava koncentraciju metaloproteinaze-9 što dodatno doprinosi razvoju SOS (Chun i sar., 2009; Cai i sar., 2014).

U radu Vathay i saradnika (2006) pokazano je da primena irinotekana dovodi do razvoja steatohepatitisa. Iako precizan mehanizam njegovog hepatotoksičnog dejstva nije jasno definisan, smatra se da je poremećaj funkcionisanja mitohondrija u osnovi oštećenja jetrenog parenhima. Za funkcionisanje mitohondrija je neophodan adekvatan nivo mitohondrijalne DNK (mDNK). Smanjenje nivoa mDNK za 20-40% ispod bazalnog nivoa rezultuje disfunkcijom mitohondrija koja se karakteriše poremećajem u transportu elektrona duž respiratornog lanca, narušenim procesom beta oksidacije masnih kiselina i pojačanom lipidnom peroksidacijom što rezultuje povećanom produkcijom ROS (Labbe i sar., 2008; Cai i sar., 2014). Navedeni događaji se smatraju inicijalnom kapislom za pokretanje citokinske reakcije posredovane pro-apoptotskim (TNF-alfa) i pro-fibrotičnim (TNF-beta) citokinima koji dovode do inflamacije, fibroze i ćelijske smrti (Begrache i sar., 2006; Chun i sar., 2009).

Rezultati sprovedenih istraživanja ukazuju da je topoizomeraza I mDNK slična onoj koju sadrži nuklearna DNK, a koja je inhibirana irinotekanom. Shodno tome, pretpostavlja se da irinotekan inhibira i mDNK, prazni njene depoe i na taj način uzrokuje disfunkciju mitohondrija što vodi razvoju steatohepatitisa (Zhang i sar., 2001; Labbe i sar., 2008). Resekcija metastatskih promena na jetri kod osoba kod kojih se razvio steatohepatitis je visoko rizična po život obolelih. U studiji koja je sprovedena na 406 bolesnika koji su nakon sprovedenog neoadjuvantnog protokola lečenja irinotekanom podvrgnuti resekciji metastaza, pokazano je da je u 90-dnevnom postoperativnom periodu značajno veći broj preminulih koji su razvili steatohepatitis (15% operisanih bolesnika) u odnosu na one koji nisu imali oštećeni jetreni parenhim (2% operisanih) (Vauthey i sar., 2006).

Hemioterapijski protokol lečenja bolesnika sa mCRC zasniva se na kombinovanju pomenutih citostatika. Shodno tome, realno je očekivati i potenciranje njihovih hepatotoksičnih efekata. Zbog oštećenja parenhima jetre i njegove diskutabilne regeneracije smanjuje se verovatnoća kurativne resekcije metastaza i uspešnost daljeg lečenja bolesnika. U radu Chun i saradnika (2009) pokazano je da biološka terapija za razliku od konvencionalnih citostatika ne deluje hepatotoksično. Takođe, kliničke studije ukazuju da bevacizumab u kombinaciji sa citostaticima smanjuje učestalost pojave SOS (Klinger i sar., 2009). Kod osoba kod kojih se razvio SOS detektovan je visok nivo VEGF-C, čije je stvaranje indukovano oštećenjem endotelnih ćelija sinusoida i hipoksijom hepatocita.

Hepatoprotektivno dejstvo bevacizumaba se može objasniti time da vezivanjem cirkulišućeg VEGF sprečava pokretanje niza reakcija koje pospešuju već inicirani proces razvoja SOS. Osim toga, pretpostavlja se da blokada VEGF dovodi i do nishodne regulacije metaloproteinaza koje značajno doprinose oštećenju sinusoida (Chun i sar., 2009).

1.9. Testovi za ispitivanje funkcionalnog statusa jetre

Hepatotoksičan efekat citostatika manifestuje se poremećajem strukture, metaboličke i sintetske funkcije jetre. Histopatološkim analizama se mogu potvrditi strukturne promene parenhima jetre, dok se rutinski za monitoring hepatotoksičnog efekta hemioterapije primenjuju konvencionalni biohemijski testovi.

Konvencionalnim biohemijskim testovima može se proceniti sintetska sposobnost jetre, ali i funkcija hepatocita i žučnih kanalića.

Funkcija hepatocita se procenjuje određivanjem vrednosti aspartat-aminotransferaze (AST) i alanin-aminotransferaze (ALT), dok se za procenu funkcije žučnih kanalića koriste vrednosti alkalne fosfataze (ALP), gama-glutamilttransferaze (GGT) i direktnog bilirubina (Majkić-Singh, 1993; Field i sar., 2008; Chun i sar., 2009).

Aspartat-aminotransferaza je intracelularni enzim koji se osim u citoplazmi nalazi i u mitohondrijama hepatocita. Katalizuje reakciju prenošenja amino grupe sa aspartata na α -ketoglutarat i time njegovo prevođenje u glutamat. Osim u jetri, lokalizovan je i u skeletnoj muskulaturi, srčanom mišićnom tkivu, bubrezima, eritrocitima i epitelnim ćelijama žučnih kanalića što ga čini nespecifičnim markerom oštećenja tkiva jetre. S tim u vezi, poremećaj vrednosti ovog enzima može biti uzrokovan oštećenjem drugih, ekstrahepatičnih organa u kojima se enzim nalazi (King i sar., 2001; Field i Michael, 2008; Field i sar., 2008; Chun i sar., 2009).

Alanin-aminotransferaza se u hepatocitima javlja u vidu citoplazmatske i mitohondrijalne izoforme. Učestvuje u reakciji prenošenja amino grupe sa alanina na α -ketoglutarat što rezultuje stvaranjem glutamata i oksalacetata. ALT predstavlja enzim specifičan za tkivo jetre što ga čini osetljivim markerom za praćenje oštećenja hepatocita (King i sar., 2001; Field i Michael, 2008; Field i sar., 2008; Chun i sar., 2009).

Alkalna fosfataza je lokalizovana u epitelnim ćelijama žučnih kanalića. Osim u jetri, ALP se nalazi i u kostima i bubrezima. Hepatička funkcija ovog enzima nije jasno definisana, ali se pretpostavlja da učestvuje u transportu metabolita kroz ćelijsku membranu. Povišene vrednosti ALP mogu ukazivati na intra ili ekstrahepatičku opstrukciju protoka žuči, ali i na bolest koštanog sistema (King i sar., 2001; Field i Michael, 2008; Field i sar., 2008; Chun i sar., 2009).

Gama-glutamyltransferaza je lokalizovana u membrani žučnih kanalića, epitelu tankog creva, bubrezima i pankreasu. Katalizuje transfer gama-glutamyl grupe između peptida. Povišene vrednosti katalitičke aktivnosti GGT predstavljaju pouzdan marker oštećenja jetre, bez obzira što je ovaj enzim lokalizovan i u drugim organima osim u jetri (King i sar., 2001; Field i Michael, 2008; Field i sar., 2008; Chun i sar., 2009).

Bilirubin je katabolički produkt hema koji nastaje iz hem-proteina. Najveći deo bilirubina (85%) nastaje iz hema hemoglobina oslobođenog nakon razgradnje ostarelih eritrocita, dok se preostalih 15% dobija iz prekuzora eritrocita koji nisu sazreli u kostnoj srži kao i drugih hem-proteina (mioglobina, citohroma, peroksidaze i *pool-a* slobodnog hema). Bilirubin se iz plazme transportuje u jetru gde se konjuguje sa glukuronskom kiselinom i u vidu bilirubin-glukuronida ekskretuje u žuč. Povišene koncentracije nekonjugovanog bilirubina u serumu ukazuju na poremećaj sposobnosti jetre da preuzme i konjuguje slobodni bilirubin što se može registrovati kod Gilbertovog i Crigler-Najjar sindroma. Kod osoba obolelih od mCRC kod kojih postoji poremećaj konjugacije bilirubina je potrebno voditi računa o doziranju irinotekana imajući u vidu da se njegov aktivni metabolit metaboliše iz organizma procesom glukuronizacije. U suprotnom se, u ovakvim uslovima poremećenog metabolizma pospešuje hepatotoksični potencijal leka što se ogleda u povišenim vrednostima bilirubina. Povišene vrednosti konjugovanog bilirubina se registruju usled ekstra ili intrahepatične opstrukcije žučnih puteva koja može biti posledica hepatotoksičnog efekta primenjenih lekova (kapecitabina i mitomicina) ili metastatskih promena u jetri. Jetra se karakteriše rezervnim kapacitetom koji joj omogućava da uprkos oštećenju održava normalan nivo bilirubina. Povišene vrednosti bilirubina će se registrovati onda kada stepen oštećenja tkiva jetre prevaziđe kapacitet jetre za eliminaciju bilirubina. Shodno tome, poremećaj vrednosti bilirubina predstavlja specifičan marker oštećenja tkiva jetre (Field i sar., 2008).

Sintetska funkcija jetre se prati određivanjem nivoa ukupnih proteina, albumina i faktora koagulacije.

Većina proteina plazme se primarno sintetiše u jetri. Jetra se karakteriše visokim rezervnim kapacitetom proteina zbog čega se čak i kada postoje velika oštećenja jetre njihova koncentracija u serumu može dugo održati normalnom. Osim toga, mnogi proteini imaju dugačak poluživot tako da ih to dodatno čini malo specifičnim i osetljivim parametrom za praćenje oštećenja jetre (Singh-Majkić, 1993; King i sar., 2001; Field i sar., 2008).

Albumin je najzastupljeniji protein plazme koji se produkuje isključivo u jetri. U slučaju izostanka mogućih ekstrahepatičkih uzroka hipoalbuminemije (malnutricija, gastroenteropatije, nefropatije, enteropatije i opekotine), registrovanje niskih vrednosti ovog

proteina u serumu može biti značajan pokazatelj oštećenja jetre (King i sar., 2001; Field i sar., 2008).

U jetri se osim albumina vrši sinteza i protrombinske grupe faktora koagulacije (I, II, V, VII i X). Za praćenje sinteze faktora koagulacije određuje se protrombinsko vreme (PT) merenjem aktivnosti fibrinogena (faktora I), protrombina (faktora II) i faktora V, VII i X. S obzirom na to da se svi faktori koji se koriste za merenje protrombinskog vremena sintetišu u jetri, produženje PT predstavlja značajan marker oštećenja jetre (Singh-Majkić, 1993; King i sar., 2001; Field i Michael., 2008).

1.10. Uzroci poremećaja vrednosti biohemijskih parametara jetre kod onkoloških bolesnika

Rutinskim određivanjem biohemijskih parametara jetre se kod velikog broja onkoloških bolesnika pre početka sprovođenja hemioterapijskog protokola mogu registrovati povišene vrednosti nekih od pomenutih parametra. Pri tome, kod određenog broja takvih bolesnika će se povišene vrednosti biohemijskih parametara održati i tokom trajanja terapijskog protokola (Field i sar., 2008; Field i Michael, 2008). Veliki je broj faktora koji utiče na vrednosti parametara funkcionalnog statusa jetre. Neki od njih su u korelaciji sa samim oboljenjem (maligna infiltracija jetrenog tkiva, citokinska reakcija pokrenuta tumorskim procesom), dok su ostali vezani za postojanje drugih komorbiditeta ili upotrebe lekova koji su propisani od strane lekara ali i onih koje bolesnik samoinicijativno koristi. Poznavanje mogućih uzroka inicijalno povišenih vrednosti parametara je od velikog značaja za optimalan odabir i doziranje citostatika.

1.10.1. Uticaj maligne bolesti na biohemijske parametre jetre

Tumori, bilo primarni ili u metastatskom obliku, koji su prisutni u samom tkivu jetre ili u njenoj neposrednoj blizini mogu dovesti do razvoja intra ili ekstrahepatičke opstrukcije žučnih puteva, a time i do povećanja serumskih vrednosti konjugovanog bilirubina (Field i sar., 2008; Field i Michael, 2008). Takođe, svojim prisustvom vrše kompresiju na okolno zdravo tkivo jetre uz istovremeno korišćenje hranljivih materija za sopstvene metaboličke potrebe, a na račun normalne, zdrave ćelije (Gür i sar., 2011). Maligna ćelija se odlikuje brzom i nekontrolisanom deobom te je potrebna velika količina hranljivih materija da podrži njen intenzivan rast. U takvim, energetske izmenjenim uslovima se narušava integritet ćelijske membrane hepatocita, a time i funkcionisanje jonskih pumpi što za posledicu ima izlazak enzima iz ćelije i povećanje njihovog nivoa u sistemske cirkulaciji (Singh-Majkić, 1993; Gür i sar., 2011). Osim toga, maligna ćelija pokreće inflamatorne procese posredovane

interleukinom 6 i tumorskim faktorom nekroze α što se kod obolelog manifestuje febrilnim stanjem, kaheksijom i povišenim serumskim vrednostima C reaktivnog proteina (Rivory i sar., 2002; Charles i sar., 2006; Field i sar., 2008). U stanju pokrenute inflamatorne reakcije je aktivnost CYP3A4 enzimskog sistema smanjena. S obzirom na to da se citostatiki i biološki lekovi metabolišu u jetri, poremećaj metaboličke funkcije jetre dovodi do njihovog izmenjenog metabolizma. To kao posledicu može dati izraženije neželjene efekte citostatika. Zbog toga bi primena citostatika mogla biti obustavljena, a efikasnost lečenja bolesnika umanjena (Field i sar., 2008).

1.10.2. Uticaj drugih faktora koji nisu vezani za malignu bolest na biohemijske parametre funkcionalnog statusa jetre

Onkološki bolesnici često pre ili u toku sprovođenja hemioterapije samoinicijativno upotrebljavaju alternativne lekove od kojih neki mogu interagovati sa primenjenim citostaticima i izmeniti njihov metabolizam. Tada se usled potencirane hepatotoksičnosti citostatskih lekova mogu registrovati povišene vrednosti biohemijskih parametara funkcionalnog statusa hepatocita ili žučnih kanalića. S obzirom na činjenicu da veliki broj bolesnika ne govori o upotrebi alternativnih lekova, pravilna interpretacija dobijenih biohemijskih nalaza je otežana i može rezultovati redukcijom doza ili obustavom primene hemioterapeutika (Tascilar i sar., 2006; Field i sar., 2008). Imajući to u vidu, detaljni anamnestički podaci su od velikog značaja za uspešno sprovođenje hemioterapije.

Alkohol i pušenje takođe mogu biti uzrok poremećaja jetrenih biohemijskih parametara. Upotreba alkohola dovodi do poremećaja vrednosti AST i GGT, dok duvan utiče na metabolizam i toksične efekte irinotekana. Kod bolesnika koji su pušači je registrovana manja incidencija razvoja neželjenih efekata irinotekana, ali i manja efikasnost sprovedene terapije. Razlog tome je intenzivnija glukuronizacija SN-38, a time i prevođenje u neaktivni oblik (Benowitz, 2007; van der Bol i sar., 2007; Field i sar., 2008). Uzimajući u obzir navedene interakcije, individualizacija doziranja irinotekana kod ovih bolesnika je neophodna za uspešnost lečenja.

Gojaznost, lična anamneza na hepatitis B ili C, starost i pol su mogući uzroci poremećaja vrednosti biohemijskih parametra funkcionalnog statusa jetre. Kod oko 80% gojaznih se u okviru metaboličkog sindroma dijagnostikuje nealkoholna masna bolest jetre koja može biti uzrok povišenih vrednosti AST, ALT i GGT (Field i sar., 2008; Chun i sar., 2009). Starosna dob utiče na funkcionalni status jetre i CYP450 enzimskog sistema. Kod starijih osoba se aktivnost metaboličkog CYP enzimskog sistema smanjuje zbog čega je metabolizam primenjenih citostatika usporeniji, a time njihov hepatotoksični potencijal izraženiji. Takođe,

prateći komorbiditeti dodatno oslabljuju funkcionalni status jetre. To je posebno značajno sa aspekta farmakokinetičkih interakcija između lekova korišćenih za lečenje drugih, pratećih oboljenja i primenjenih citostatika čime se značajno utiče na njihov hepatotoksični potencijal (King i sar., 2001; Field i sar., 2008; Balducci i sar., 2013).

Kod onkoloških bolesnika sa mCRC, jetra je izložena hepatotoksičnom efektu metastaza sa jedne i hemioterapije sa druge strane. Biohemijska slika funkcionalnog statusa jetre obolelog je jedna, ali ne i odlučujuća smernica za kreiranje terapijskog protokola. Klinička praksa pokazuje da su često kod obolelih inicijalne vrednosti transaminaza povišene i da kao takve nisu prepreka za ordiniranje terapije. Međutim, bolesnici koji osim povišenih transaminaza imaju i poremećaj vrednosti bilirubina i GGT zahtevaju prethodnu normalizaciju povišenih parametara. U takvim uslovima je očuvanje normalne funkcije okolnog zdravog tkiva jetre od velikog značaja za uspešnost sprovođenja hemioterapijskog protokola, a time i lečenja CRC bolesnika sa metastazama u jetri. Kod bolesnika koji su tretirani citostaticima i bevacizumabom stepen histološkog oštećenja jetre je manji u odnosu na one koji su lečeni samo konvencionalnim citostaticima (Mafhud i sar., 2010; Volk i sar., 2016). Bilo bi za očekivati da registrovane razlike na histološkom nivou budu, bar delom, praćene i poboljšanjem vrednosti parametara funkcionalnog statusa jetre u bolesnika koji su dobijali bevacizumab. Međutim, praktično nema podataka o uticaju primenjenih terapijskih protokola na standardne biohemijske parametre jetre kao ni o njihovoj međusobnoj korelaciji.

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

U okviru istraživanja sprovedenog na dve grupe bolesnika sa metastatskim CRC na jetri od kojih je jedna lečena primenom FOLFOX4, a druga dodatnom primenom bevacizumaba su postavljeni sledeći **Ciljevi** istraživanja:

1. Odrediti standardne biohemijske parametare funkcionalnog statusa jetre (AST, ALT, ALP, γ -GT, LDH) u obe terapijske grupe i utvrditi hepatotoksični efekat primenjene terapije.
2. Utvrditi da li postoji značajna razlika u stepenu hepatotoksičnog efekta ispoljenog u bolesnika lečenih udruženom upotrebom FOLFOX4 i bevacizumaba u odnosu na one koji su tretirani konvencionalnim FOLFOX4 protokolom.
3. Na osnovu prihvaćenih međunarodnih klasifikacija proceniti kliničku efikasnost terapije.
4. Korelisati gore navedene nalaze i proceniti prognostički značaj praćenja biohemijskih parametara jetre u bolesnika sa metastatskim kolorektalnim karcinomom.

3. METODOLOGIJA

3.1. Bolesnici i terapijski protokoli lečenja

Istraživanje je bilo sprovedeno na Institutu za onkologiju i radiologiju Srbije (IORS), a korišćeni su podaci iz istorija bolesti bolesnika lečenih u periodu od 01.01.2009. do 31.12.2014. godine.

Odlukom stručne konzilijarne komisije bolesnicima je dodeljivan FOLFOX4 terapijski protokol sa bevacizumabom ili bez njega.

Osnovna podela bolesnika u ovoj studiji (2 grupe), napravljena je u odnosu na primenjenu terapiju. Prva grupa se odnosila na bolesnike koji su primali kombinovanu konvencionalnu citostatsku hemioterapiju (FOLFOX4) (dalje u tekstu grupa 1), a druga grupa na bolesnike koji su lečeni udruženom upotrebom biološke i konvencionalne terapije (bevacizumab+FOLFOX4) (dalje u tekstu grupa 2).

Konvencionalna citostatska hemioterapija:

1. **FOLFOX4 (folna kiselina + fluorouracil + oksaliplatin)**

Bolesnik prima 1. i 2. dana ciklusa: folnu kiselinu u dozi od 20 mg/m² u vidu 2-časovne infuzije, fluorouracil 400 mg/m² *iv* bolus i fluorouracil 600 mg/m² u vidu kontinuirane 22-časovne infuzije. Oksaliplatin u dozi od 135 mg/m² aplikuje se 1. dana ciklusa. Period između dva ciklusa hemioterapije je 2 nedelje.

Kombinovana terapija se razlikuje od odgovarajuće konvencionalne po dodavanju bevacizumaba:

1. **bevacizumab plus FOLFOX4 (folna kiselina + fluorouracil + oksaliplatin)**

Bevacizumab se aplikuje 1. dana u dozi od 5 mg/kg u vidu 30-90 minutne infuzije koja se sprovodi pre aplikovanja konvencionalnih citostatika.

Bolesnici

Kriterijumi za uključivanje bolesnika u studiju:

- bolesnici starosti od 18 do 75 godina, oba pola, sa dijagnozom metastatskog kolorektalnog karcinoma postavljenom na osnovu nalaza kompjuterizovane tomografije (CT) i histološki potvrđenom lokalno uznapredovalom bolešću/metastatskim kolorektalnim karcinomom na jetri.
- bolesnici sa merljivim metastazama (ciljne lezije) - većim od 1 cm prema RECIST kriterijumima (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors version 1.1) (Eisenhauer i sar., 2009).
- bolesnici sa neresektabilnim i potencijalno resektabilnim metastazama koji do trenutka uključivanja u studiju nisu primali terapiju radi lečenja metastatskih promena ili
- koji su primali terapiju radi lečenja primarnog kolorektalnog karcinoma, a čije je sprovođenje završeno najmanje mesec dana do trenutka uključivanja bolesnika u studiju
- bolesnik za koga je procenjeno da ima >3 meseca života, procenu vrši onkolog na osnovu ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) status skora, performans status skor 0-2 (ecog.dfc.harvard.edu)

Ovi bolesnici će imati:

- normalnu funkciju kosne srži (leukociti >4x10⁹/L, trombociti >100x10⁹/L)
- normalnu funkcija bubrega (vrednost kreatinina u serumu u opsegu referentnih vrednosti 44-88 µmol/L)
- adekvatnu funkciju jetre (koncentracija bilirubina u serumu <1,5 puta iznad gornje granice referentne vrednosti)
- izostanak kontraindikacija za primenu lekova (folna kiselina, fluorouracil, oksaliplatin i bevacizumab)

U studiju neće biti uključene trudnice i dojilje, kao i bolesnici: (Popov i sar., 2007)

- sa resektabilnim metastazama kod kojih se lečenje metastatskih promena može sprovesti bez primene neoadjuvantne polihemioterapije
- sa metastazama na mozgu
- sa drugim tipom maligniteta u prethodnih 10 godina (osim ukoliko je u pitanju bazalni karcinom kože i karcinom *in situ* grlića materice)
- sa nekontrolisanim kongestivnim srčanim oboljenjem, klinički značajnim aritmijama i nekontrolisanom anginom pektoris
- sa kontraindikacijom za primenu lekova (folna kiselina, fluorouracil, oksaliplatin i bevacizumab)

3.2. Plan izvođenja pregleda (analiza)

3.2.1. Pre početka sprovođenja terapijskog protokola

- klinički pregled
- endoskopija
- radiološka ispitivanja (CT intraabdominalnih, pelvičnih, retroperitonealnih i intrahepatičnih masa, rentgen i/ili CT pluća/medijastinalnih lezija)
- određivanje hematoloških parametara (broj leukocita i trombocita)
- određivanje sledećih biohemijskih parametara:
aspartat-aminotransferaza (AST), alanin-aminotransferaza (ALT), laktat dehidrogenaza (LDH), alkalna fosfataza (ALP), gama-glutamilttransferaza (γ -GT), ukupni bilirubin, nivo ukupnih proteina
- određivanje vrednosti tumor markera-karcinoembrionalnog antigena (CEA) i CA19-9

3.2.2. Tokom trajanja terapijskog protokola

Bolesnici su primali najmanje četiri, a najviše dvanaest ciklusa kombinovane konvencionalne citostatske hemioterapije sa bevacizumabom ili bez njega.

Prvog dana svakog ciklusa hemioterapije u plazmi bolesnika određivani su sledeći biohemijski parametri:

- aktivnost AST, ALT, ALP, LDH i GGT(aktivnost enzima izražavana je u internacionalnim jedinicama na litar plazme IJ/L). Za tumačenje i analizu dobijenih rezultata korišćene su referentne vrednosti za svaki enzim: AST 0-40 IJ/L za muškarce i 0-30 IJ/L za žene; ALT 0-40 IJ/L za muškarce i 0-30 IJ/L za žene; ALP 53-128 IJ/L za muškarce i 42-141 IJ/L za žene; GGT10-60 IJ/L za muškarce i 10-40 IJ/L za žene; LDH 230-460 IJ/L.
- nivo ukupnog bilirubina (koncentracija bilirubina u plazmi izražavana je u $\mu\text{mol/L}$). Dobijeni rezultati analizirani su u odnosu na predložen opseg referentnih vrednosti: 3,4-20,5 $\mu\text{mol/L}$ za ukupni bilirubin.
- količina ukupnih proteina izražavana je u g/L plazme. Analiza i tumačenje dobijenih vrednosti vršena je u odnosu na opseg referentnih vrednosti za ukupne proteine 65-82 g/L.

U periodu između dva ciklusa hemioterapije u plazmi bolesnika određivane su vrednosti tumor markera (karcinoembrionalnog antigena-CEA i CA19-9) i hematoloških parametara (broj leukocita, eritrocita, trombocita, hemoglobin). Takođe, bolesnici su testirani na postojanje infektivnog oboljenja jetre uzrokovanog HBV ili HBC virusom.

Vrednosti tumor markera izražavane su u internacionalnim jedinicama na litar plazme (IJ/L) i $\mu\text{g/L}$. Dobijeni rezultati analizirani su u odnosu na predloženi opseg referentnih vrednosti: 0-5 IJ/mL za CEA i 0-31 $\mu\text{g/L}$ za CA19-9.

Hematološki parametri određivani su jednom nedeljno i to uvek istog dana. Kod bolesnika koji su primali bevacizumab radi praćenja funkcije bubrega u istom danu kada su određivani hematološki parametri vršena je i analiza urina.

3.3. Procena terapijske efikasnosti i neželjenih efekata primenjenih terapijskih protokola

Terapijska efikasnost primenjenih protokola i operabilnost metastaza procenjivani su posle svakog četvrtog ciklusa hemioterapije do završetka terapije. Klinički odgovor je procenjivan od strane stručnog tima za tumore gastrointestinalnog trakta IORS sačinjenog od hirurga, onkologa, radiologa i patologa koji nisu učestvovali u studiji. Postignuti klinički odgovor procenjen je u skladu sa RECIST smernicama (verzija 1.1) kao kompletna ili parcijalna regresija bolesti (CR ili PR), stabilizacija (SB) ili progresija bolesti (PB) (Eisenhauer i sar., 2009).

Prema preporukama RECIST kriterijuma operativno lečenje metastaza moguće je kod bolesnika kod kojih je postignuta PR ili SB (Tamandl i sar., 2011). Bolesnici za koje je procenjeno da su resektabilni, podvrgnuti su operativnom lečenju metastatskih promena u jetri (Pawlik i sar., 2008).

Kod bolesnika uključenih u studiju kod kojih je procenjeno da metastatske promene na jetri, nakon primene određenog terapijskog protokola nisu operabilne, lečenje je nastavljeno do:

- progresije bolesti (Popov i sar., 2007)
- ili registrovanja toksičnih efekata terapije (Popov i sar., 2007).

Uvećanje postojećih i pojava novih hepatičnih sekundarnih depozita predstavljalo je progresiju bolesti. Takvi bolesnici su isključivani iz studije i njihovo lečenje je dalje nastavljeno primenom terapijskog protokola druge linije.

Neželjeni efekti hemioterapije su klasifikovani kao nehematološki i hematološki toksični efekti citostatika.

U slučaju drugog i trećeg stepena nehematoloških toksičnih efekata (mukozitisa, dijareje i proteinurije) sprovođenje terapijskog protokola je odloženo za 1 nedelju ili do potpunog oporavka, a biohemijski parametri praćeni su jednom nedeljno. Takođe, u slučaju razvoja proteinurije analiza urina vršena je jednom nedeljno do potpunog oporavka. Kod četvrtog stepena mukozitisa, dijareje ili proteinurije sprovođenje terapijskog protokola je prekinuto.

U slučaju hematološke toksičnosti 3. i 4. stepena, hematološki parametri su određivani svakodnevno, a sprovođenje terapijskog protokola je odloženo do potpunog oporavka. Sprovođenje terapije je u potpunosti obustavljeno u slučaju pojave krvarenja ili tromboembolije, a takvi bolesnici su isključivani iz studije.

Za određivanje stepena toksičnih efekata primenjene terapije korišćen je NCI – Common Toxicity Criteria, Version 2.0 (Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 2.0, 1999).

3.4. Procena hepatotoksičnih efekata primenjenih terapijskih protokola

Po završetku sprovođenja terapijskog protokola procenjivani su hepatotoksični efekti primenjene terapije. Procena je vršena poređenjem početnih i krajnjih vrednosti analiziranih biohemijskih parametara u grupi bolesnika lečenih istim terapijskim protokolom kao i između bolesnika lečenih različitim terapijskim protokolima. Takođe, izvršena je i korelacija vrednosti biohemijskih parametara sa kliničkim ishodom bolesnika i brojem ciklusa primenjenog HT protokola sa ciljem da se utvrdi preciznije uloga i značaj bevacizumaba u ispoljavanju kako željenih tako i neželjenih terapijskih dejstava ovog leka.

3.5. Metode

Biohemijski parametri (AST, ALT, ALP, LDH i γ -GT, ukupni bilirubin, ukupni proteini i albumin) određivani su primenom komercijalnih testova na biohemijskom analizatoru Advia 1800.

Za određivanje vrednosti tumor markera CEA i CA19-9 korišćen je Advia Centaur XP imunochemijski sistem.

3.6. Statistička analiza podataka

Snaga studije treba da bude minimalno 0,8 (80%) a verovatnoća greške prvog tipa ($\alpha = 0,05$). Uz očekivanu umerenu razliku vrednosti pojedinih biohemijskih parametara jetre između ispitivanih grupa (jačina efekta 0,3) proizilazi da je potreban broj ispitanika u obe grupe minimalno 82. Procena je izvršena primenom t-testa uz pomoć komercijalno dostupnog programa GPower 3.1.

Podaci će biti analizirani po *intention to treat* (ITT) modelu. Za interpretaciju rezultata korišćeni su bazični parametri deskriptivne statistike [srednja vrednost \pm standardna devijacija, (SD), 95%-ne granice poverenja, medijana, interkvartalni raspon, frekvencije].

Poređenje rezultata u grupi i između grupa izvedeno je, u zavisnosti od normalnosti raspodele podataka putem:

- Studentovog t-testa za sparana ili nezavisna obeležja, za parametarske podatke,
- ili primenom Wilcoxon odnosno Mann-Whitney testa, za neparametarske podatke.

Rezultati izraženi u vidu distribucija frekvencija poređeni su primenom χ^2 testa ili, ukoliko su bile prisutne frekvencije < 5 korišćenjem Kolmogorov-Smirnov testa.

Nakon poređenja dobijenih vrednosti analiziranih parametara značajnim razlikama smatrane su vrednosti za $p < 0,05$, a granično značajnim p vrednosti koje su u opsegu od 0,05 do 0,1.

Za utvrđivanje međusobne povezanosti klinički važnih parametara korišćena je Pearsonova i Spearmanova korelaciona analiza.

Za statističku obradu dobijenih rezultata korišćen je komercijalni statistički softver za PC računare - SPSS Statistics 17.0, 2008.

4. REZULTATI

Rezultati ovih ispitivanja prikazani su na 29 tabela i na 15 slika. Radi bolje preglednosti, rezultati su podeljeni u tri grupe:

4.1. Biohemijski parametri i tumor markeri kod bolesnika lečenih FOLFOX4 protokolom sa bevacizumabom ili bez njega;

4.1.1. Biohemijski parametri i tumor markeri kod bolesnika sa nepromenjenim biohemijskim statusom na početku i kraju lečenja;

4.1.2. Biohemijski parametri i tumor markeri kod bolesnika sa promenjenim biohemijskim statusom na početku i kraju lečenja;

4.1.3. Biohemijski parametri i tumor markeri kod bolesnika bez progresije bolesti nakon lečenja FOLFOX4 protokolom sa bevacizumabom ili bez njega;

4.2. Biohemijski parametri i tumor markeri u odnosu na klinički ishod;

4.3. Klinički ishod ispitivanih bolesnika u odnosu na broj primenjenih hemioterapija.

4.1. Biohemijski parametri i tumor markeri kod bolesnika lečenih FOLFOX4 protokolom sa bevacizumabom ili bez njega

Demografski i kliničko-epidemiološki podaci bolesnika prikazani su u Tabeli 1.

Tabela 1. Demografski i kliničko epidemiološki podaci bolesnika

Parametri	Svi	FOLFOX4	FOLFOX4 + bevacizumab	Značajnost (p)
Ukupan broj bolesnika	96	44	52	
Pol, n (%)				
muškarci	55 (57,30)	27 (61,40)	28 (53,80)	$(\chi^2=0,286)$ 0,593
žene	41 (42,70)	17 (38,60)	24 (46,20)	
Starosna dob, godine				
Medijana	60	60	60	$(z=1,323)$ 0,186
Raspon godina	35-79	35-79	36-76	
ECOG¹, n (%)				
0	51 (53,10)	18 (40,90)	33 (63,50)	$(\chi^2=5,602)$ 0,061
1	44 (45,80)	25 (56,80)	19 (36,50)	
2	1 (1,10)	1 (2,30)	-	
Lokalizacija primarnog tumora, n (%)				
kolon	59 (61,50)	27 (61,40)	32 (61,50)	$(\chi^2=1,568)$ 0,457
rektum	32 (33,30)	16 (36,40)	16 (30,80)	
kolorektum	5 (5,20)	1 (2,20)	4 (7,70)	
Prethodna terapija primarnog tumora, n (%)				
HT	22 (22,92)	12 (27,30)	10 (19,20)	$(\chi^2=3,228)$ 0,358
radioterapija	1 (1,00)	-	1 (1,90)	
HT+radioterapija	2 (2,08)	-	2 (3,80)	
Hirurški uklonjen primarni tumor, n (%)				
da	91 (94,80)	41 (93,20)	50 (96,20)	$(\chi^2=0,037)$ 0,848
ne	5 (5,20)	3 (6,80)	2 (3,80)	
Metastaze na jetri, n (%)				
sinhrone	52 (54,20)	24 (54,54)	28 (53,85)	$(\chi^2=0,000)$ 1,000
metahrone	44 (45,80)	20 (45,45)	24 (46,15)	
Broj metastaza na jetri, n (%)				
1	11 (11,46)	4 (9,10)	7 (13,50)	$(\chi^2=2,089)$ 0,352
2	13 (13,54)	4 (9,10)	9 (17,30)	
≥2	72 (75,00)	36 (81,80)	36 (69,20)	
Broj ciklusa neoadjuvantne HT, n (%)				
4-5	46 (47,90)	12 (27,30)	34 (65,40)	$(\chi^2=20,007)$ 0,000
6-9	24 (25,00)	11 (25,00)	13 (25,00)	
10-12	26 (27,10)	21 (47,70)	5 (9,60)	
Resekcija metastaza na jetri nakon neoadjuvantne HT				
da	32 (33,33)	2 (4,54)	30 (57,70)	$(\chi^2=27,949)$ 0,000
ne	64 (66,67)	42 (95,45)	22 (42,30)	

¹Performans status skor; n - broj bolesnika

Tabela 1 pokazuje da je od 96 bolesnika 44 lečeno FOLFOX4 protokolom, a 52 udruženom upotrebom FOLFOX4 protokola i bevacizumaba. Podaci takođe pokazuju da nije bilo statistički značajne razlike između ovako lečenih bolesnika u odnosu na pol, starosnu dob i ECOG performans status skor. Takođe, između posmatranih grupa nije bilo statistički značajne razlike u pogledu lokalizacije, prethodne terapije i hirurškog uklanjanja primarnog tumora. Bolesnici iz obe grupe se nisu značajno razlikovali u odnosu na lokalizaciju i broj metastaza na jetri. Međutim, ustanovljena je statistički značajna razlika između dve grupe bolesnika u odnosu na broj primenjenih ciklusa neoadjuvantne hemioterapije i broj bolesnika resektovanih nakon primene neoadjuvantnog hemioterapijskog protokola.

Biohemijski parametri funkcije hepatocita kod svih bolesnika prikazani su u Tabeli 2. Parametri za praćenje oštećenja hepatocita bili su AST i ALT.

Tabela 2. Biohemijski parametri funkcije hepatocita kod bolesnika sa metastatskim kolorektalnim karcinomom

Parametri funkcije hepatocita	Medijana, IQV, n=96		Značajnost ¹ (p)
	Terapija		
	Pre	Posle	
AST (U/L)	22,00	27,00	0,000
	17,25-29,00	23,00-41,00	
ALT (U/L)	21,50	26,00	0,010
	15,25-31,00	19,00-35,00	

¹ - poređenje početnih i krajnjih vrednosti parametara;
 IQV - interkvartalna vrednost; n - broj bolesnika; AST - Aspartat aminotransferaza; ALT - Alanin aminotransferaza

U Tabeli 2 prikazane su medijane i interkvartalni rasponi praćenih parametara. Prikazane vrednosti medijana su bile u opsegu referentnih vrednosti analiziranih parametara (AST 0-40 IJ/L za muškarce i 0-30 IJ/L za žene; ALT 0-40 IJ/L za muškarce i 0-30 IJ/L za žene).

Biohemijski parametri funkcije žučnih kanalića kod svih bolesnika prikazani su u Tabeli 3. Kao parametri procene oštećenja služili su nivoi ALP, GGT, LDH i ukupnog bilirubina.

Tabela 3. Biohemijski parametri funkcije žučnih kanalića kod bolesnika sa metastatskim kolorektalnim karcinomom

Parametri funkcije žučnih kanalića	Medijana, IQV, n=96		Značajnost ¹ (p)
	Terapija		
	Pre	Posle	
ALP (U/L)	106,50 80,00-172,50	109,50 81,25-152,50	0,401
GGT (U/L)	59,50 34,25-127,75	54,00 30,00-104,25	0,021
LDH (U/L)	368,50 314,25-664,50	411,50 347,75-513,25	0,381
Bilirubin (µmol/L)	8,40 6,90-11,37	10,40 8,00-13,80	0,000

¹ - poređenje početnih i krajnjih vrednosti parametara;
 IQV -interkvartalna vrednost; n - broj bolesnika; ALP - Alkalna fosfataza;
 GGT - gama glutamil transferaza; LDH - Laktat dehidrogenaza

Rezultati prikazani u Tabeli 3 pokazuju da su vrednosti medijana praćenih parametara u opsegu referentnih vrednosti za dati parametar (ALP 53-128 IJ/L za muškarce i 42-141 IJ/L za žene; GGT10-60 IJ/L za muškarce i 10-40 IJ/L za žene; LDH 230-460 IJ/L i 3,4-20,5 µmol/L za ukupni bilirubin).

Nivo tumor markera, u odnosu na referentne opsege, kod svih ali i pojedinačnih grupa bolesnika prikazan je u Tabeli 4, a od tumor markera praćeni su nivoi CEA i CA19-9 u serumu.

Tabela 4. Broj bolesnika u Grupi 1 i Grupi 2 čije su početne i krajnje vrednosti tumor markera u opsegu i iznad gornje granice referentnog opsega

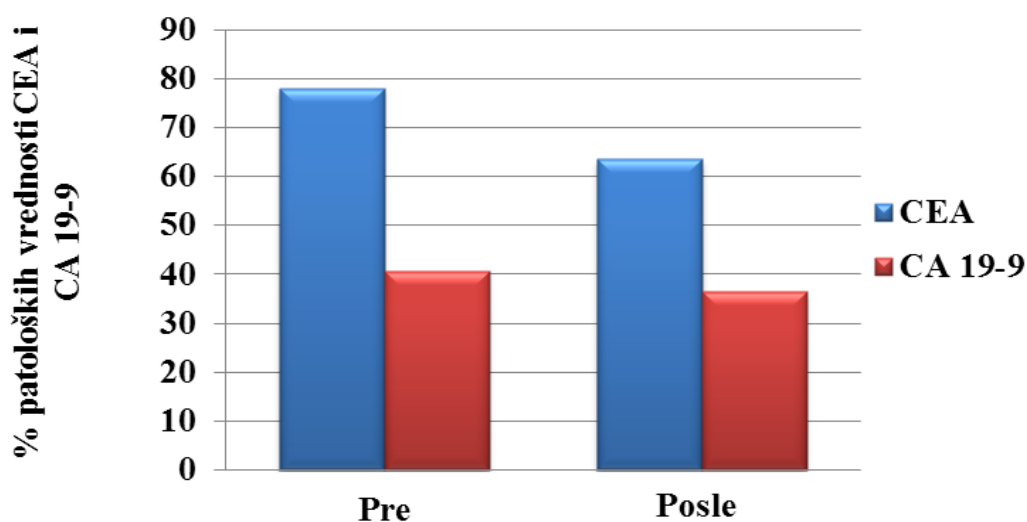
Tumor markeri	Terapija	n, (%)			Značajnost ¹ (p)
		Terapijski protokol			
		Svi	Grupa 1	Grupa 2	
CEA	Pre u opsegu iznad opsega	21 (21,87) 75 (78,13)	2 (4,54) 42 (95,45)	19 (36,54) 33 (63,46)	$\chi^2=12,464$ 0,000
	Posle u opsegu iznad opsega	35 (36,46) 61 (63,54)	9 (20,45) 35 (79,54)	25 (48,10) 27 (51,90)	
Značajnost² (p)			0,016	0,070	
CA 19-9	Pre u opsegu iznad opsega	57 (59,40) 39 (40,60)	25 (56,82) 19 (43,18)	32 (61,54) 20 (38,46)	$\chi^2=0,068$ 0,794
	Posle u opsegu iznad opsega	61 (63,54) 35 (36,46)	25 (56,82) 19 (43,18)	37 (71,15) 15 (28,85)	
Značajnost² (p)			1,000	0,125	

¹ poređenje vrednosti frekvenci između grupa;

² poređenje početnih i krajnjih vrednosti frekvenci u grupi; n - broj bolesnika;
CEA - karcinoembrionalni antigen; CA 19-9 - karbohidrat antigen 19-9

Tabela 4 pokazuje da se vrednosti CEA statistički značajno razlikuju između dve grupe bolesnika kako pre tako i posle terapije, s tim što su vrednosti CEA bile statistički značajno više kod bolesnika koji su lećeni konvencionalnim FOLFOX4 protokolom. Međutim, praćene grupe bolesnika se nisu značajno razlikovale u pogledu vrednosti CA19-9 kako pre tako i posle primenjene terapije.

Procenat bolesnika sa patološkim vrednostima tumor markera (n=96) prikazan je na Slici 3.



CEA - karcinoembrionalni antigen; CA 19-9 - karbohidrat antigen 19-9

Slika 3. Patološke vrednosti CEA i CA 19-9 pre početka i nakon završenog lečenja

U Tabeli 5 su prikazane početne i krajnje vrednosti tumor markera kod svih bolesnika uključenih u ispitivanje.

Tabela 5. Početne i krajnje vrednosti tumor markera kod bolesnika sa metastatskim kolorektalnim karcinomom

Tumor markeri	Referentni opseg	Medijana, IQV, n=96	
		početna vrednost	krajnja vrednost
CEA (U/L)	0-5	37,08 7,11-218,93	15,01 2,79-125,94
CA19-9 (µg /L)	0-31	20,65 4,52-81,77	13,50 6,20-62,72

IQV - interkvartalna vrednost; CEA - karcinoembrionalni antigen;
CA 19-9 - karbohidrat antigen 19-9

Rezultati Tabele 5 pokazuju da su medijane početnih i krajnjih vrednosti za CEA daleko iznad gornje granice referentnog opsega, iznoseći 37,08 U/L pre početka i 15,01 U/L po završetku terapije. Nasuprot tome, medijane početnih i krajnjih vrednosti za CA19-9 bile su u oba slučaja u referentnom opsegu.

Biohemijski parametri za praćenje funkcije hepatocita za obe grupe bolesnika prikazani su u Tabeli 6.

Tabela 6. Biohemijski parametri funkcije hepatocita kod bolesnika sa metastatskim kolorektalnim karcinomom u Grupi 1 i Grupi 2

Parametri funkcije hepatocita	Terapija	Medijana, IQV		Značajnost ¹ (p)
		Terapijski protokol		
		Grupa 1 n=44	Grupa 2 n=52	
AST (U/L)	Pre	24,00 17,25-35,75	21,00 17,25-26,00	0,091
	Posle	33,00 25,25-46,75	25,00 20,25-34,25	0,230
Značajnost² (p)		0,002	0,001	
ALT (U/L)	Pre	23,00 17,25-37,25	20,00 14,00-28,75	0,093
	Posle	26,00 21,00-33,25	25,00 18,00-38,00	0,076
Značajnost² (p)		0,717	0,001	

¹ poređenje početnih vrednosti kao i razlika krajnjih i početnih vrednosti između grupa (posle);

² poređenje početnih i krajnjih vrednosti u grupi;

IQV - interkvartalna vrednost; AST- Aspartat aminotransferaza; ALT - Alanin aminotransferaza

Tabela 6 pokazuje da se nisu statistički značajno razlikovale početne i razlike krajnjih i početnih vrednosti vrednosti za AST i ALT između ispitivanih grupa bolesnika. Suprotno tome, kod intragrupnog poređenja vrednosti analiziranih parametara na početku i po završetku terapije pokazana je statistički značajna razlika za AST u obe grupe bolesnika (p=0,002 i p=0,001) dok su se početne i krajnje vrednosti ALT značajno razlikovale samo u grupi 2 bolesnika (p=0,001).

Biohemijski parametri za praćenje funkcije žučnih kanalića za obe grupe bolesnika prikazani su u Tabeli 7.

Tabela 7. Biohemijski parametri funkcije žučnih kanalića kod bolesnika sa metastatskim kolorektalnim karcinomom u Grupi 1 i Grupi 2

Parametri funkcije žučnih kanalića	Terapija	Medijana, IQV		Značajnost ¹ (p)
		Terapijski protokol		
		Grupa 1 n=44	Grupa 2 n=52	
ALP (U/L)	Pre	134,00 93,25-228,00	94,50 72,00-126,25	0,001
	Posle	129,00 105,00-187,50	99,00 76,50-133,50	0,892
Značajnost² (p)		0,431	0,594	
GGT (U/L)	Pre	87,00 44,25-236,75	47,00 30,00-97,00	0,001
	Posle	76,00 47,00-149,00	38,50 23,25-70,25	0,713
Značajnost² (p)		0,119	0,061	
LDH (U/L)	Pre	449,00 347,00-955,25	350,50 287,75-490,25	0,001
	Posle	475,50 394,25-724,00	380,50 327,25-439,00	0,675
Značajnost² (p)		0,829	0,299	
Bilirubin (µmol/L)	Pre	8,75 7,00-11,55	8,00 6,82-11,17	0,427
	Posle	10,70 8,67-15,17	10,10 7,57-13,60	0,455
Značajnost² (p)		0,001	0,006	

¹ poređenje početnih vrednosti kao i razlika krajnjih i početnih vrednosti između grupa (posle);

² poređenje početnih i krajnjih vrednosti u grupi;

IQV – interkvartilna vrednost; ALP - Alkalna fosfataza; GGT - gamma glutamil transferaza;

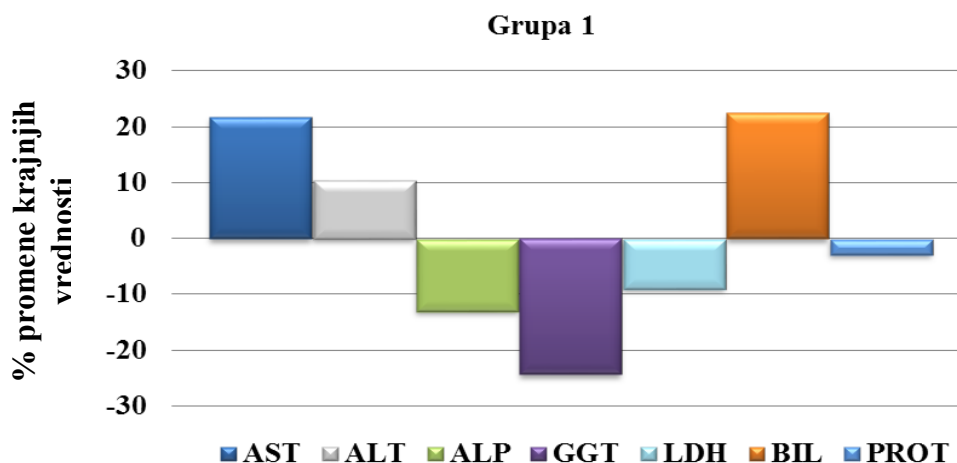
LDH - Laktat dehidrogenaza

Tabela 7 pokazuje da su vrednosti ALP, GGT i LDH pre terapije bile statistički značajno veće u grupi bolesnika lečenih monoterapijom (FOLFOX4) (p=0,001). Nasuprot tome, razlike početnih i krajnjih vrednosti za ALP, GGT i LDH nisu dostigle nivo statističke značajnosti

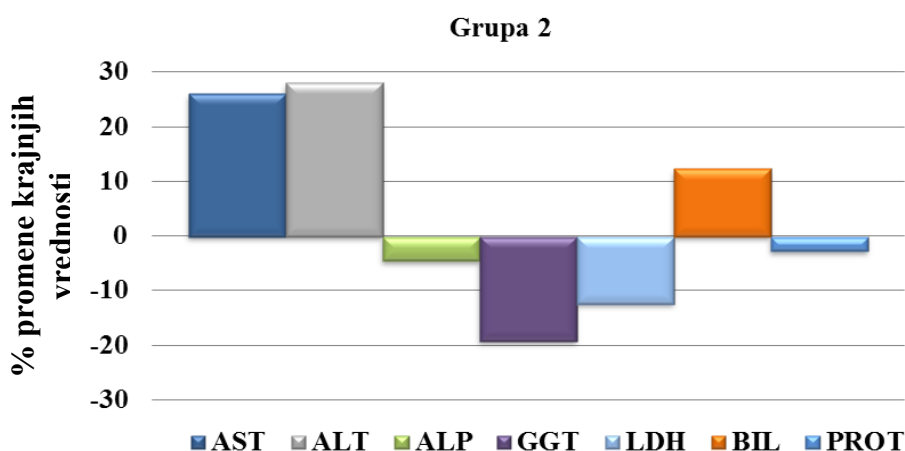
između ispitivanih grupa bolesnika. Takođe, nije zabeležena značajna razlika kako početnih tako i razlika krajnjih i početnih vrednosti bilirubina između dve grupe bolesnika.

Istovremeno, osim za vrednost bilirubina ($p=0,001$ i $p=0,006$) za ostale parametre nije ustanovljena značajna razlika između početnih i krajnjih vrednosti unutar grupa. U grupi 2 bolesnika se uočava grančna statistički značajna razlika između početnih i krajnjih vrednosti GGT. Vrednosti proteina pre početka terapije (grupa 1:grupa 2 = 73,00:74,00 g/L; $p=0,420$), kao i razlike krajnjih i početnih ($p=0,499$) vrednosti nisu dostigle statistički značajnu razliku između dve grupe bolesnika. Međutim, kada se porede početne i krajnje vrednosti za svaku grupu ponaosob, uočava se statistički značajna razlika i u grupi 1 (73,00:71,00g/L; $p=0,043$) i u grupi 2 bolesnika (74,00:72,00 g/L; $p=0,005$).

Numeričke vrednosti date u Tabelama 6 i 7 prikazane su i grafički na Slikama 4 i 5. Na Slici 4 su prikazani bolesnici iz grupe 1, dok se prikaz bolesnika iz grupe 2 nalazi na Slici 5.



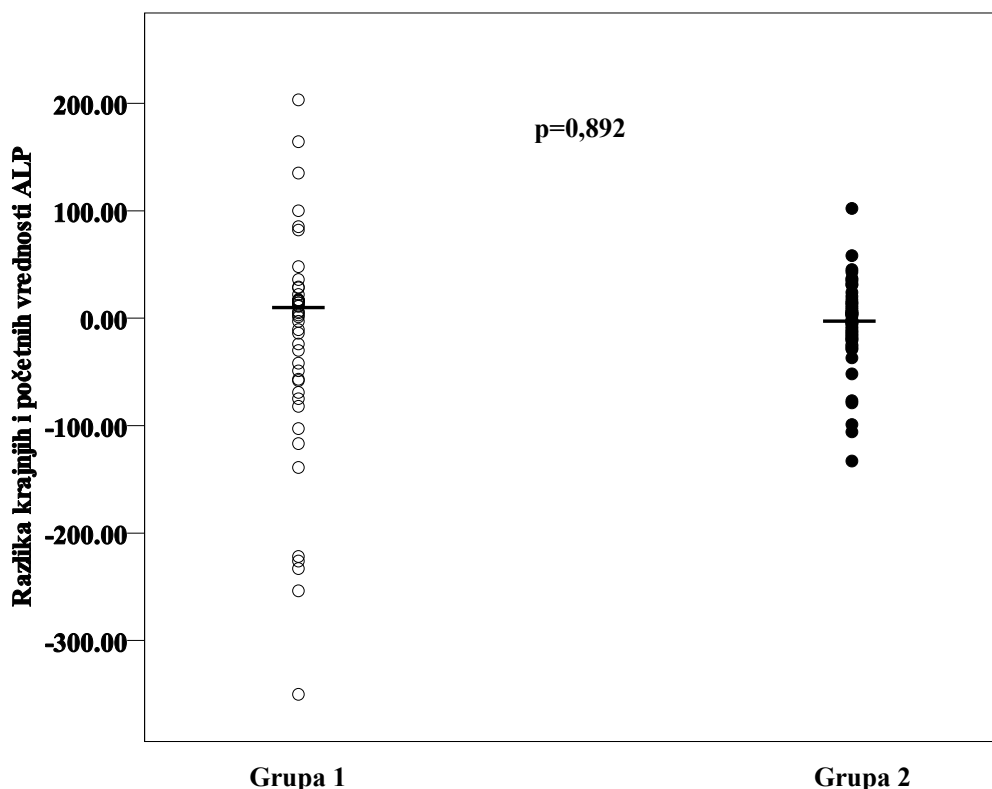
Slika 4. Procenat promene krajnjih vrednosti biohemijskih parametara jetre u odnosu na početne vrednosti kod bolesnika u Grupi 1



Slika 5. Procenat promene krajnjih vrednosti biohemijskih parametara jetre u odnosu na početne vrednosti kod bolesnika u Grupi 2

Pri tome, ne postoji značajna razlika između grupa u odnosu na procenat promene krajnjih vrednosti za AST i proteine u odnosu na početne, dok je najveća razlika ustanovljena za GGT i bilirubin pri čemu je ona bila izraženija kod bolesnika iz grupe 1 i za ALT u grupi 2 bolesnika.

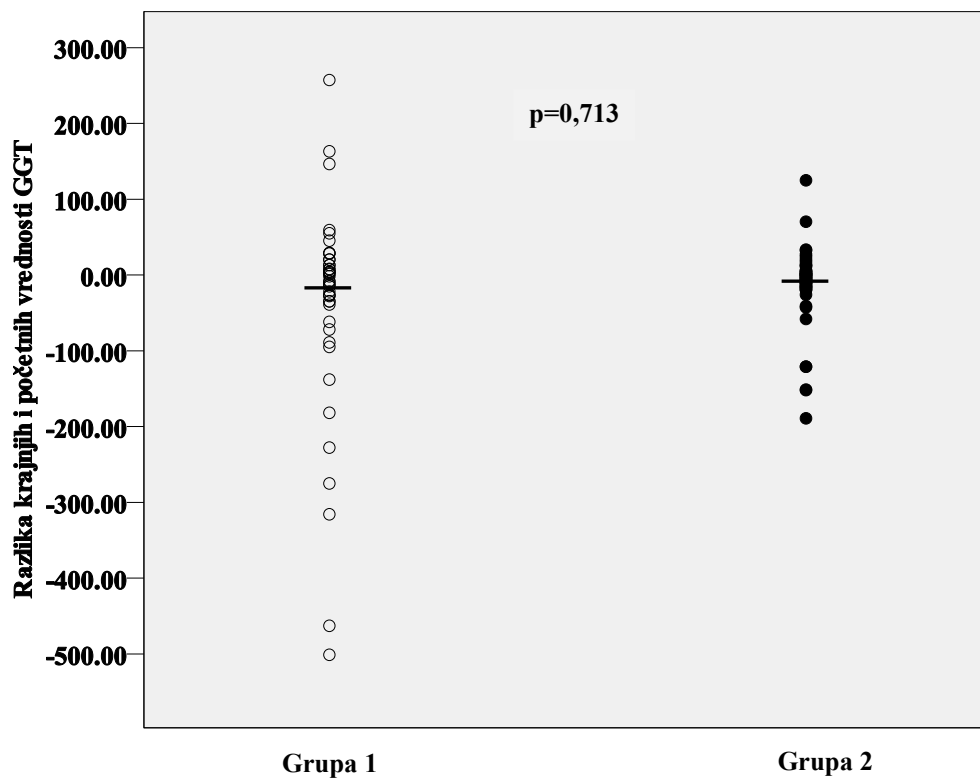
Razlike između krajnjih i početnih vrednosti ALP i njihovo poređenje između grupa 1 i 2 prikazano je na Slici 6.



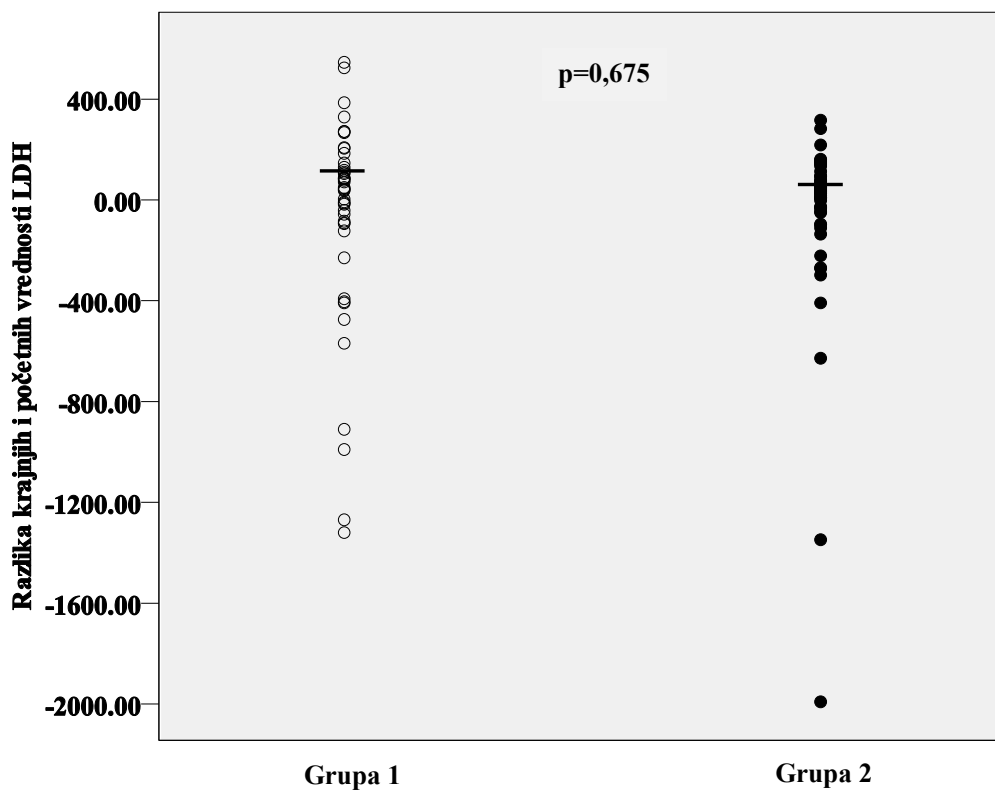
Slika 6. Poređenje razlika početnih i krajnjih vrednosti ALP između grupa Alkalna fosfataza - ALP

Slika 6 pokazuje da ne postoji statistički značajna razlika između razlika krajnjih i početnih vrednosti ALP kada se porede obe grupe. Takođe, na Slici 6 se uočava izraženija varijabilnost vrednosti ALP u grupi 1 bolesnika.

Na Slikama 7 i 8, prikazane su razlike krajnjih i početnih vrednosti za GGT i LDH i poređenje istih između dve grupe bolesnika.



Slika 7. Poređenje razlika početnih i krajnjih vrednosti GGT između grupa Gama glutamil transferaza - GGT



Slika 8. Poređenje razlika krajnjih i početnih vrednosti LDH Laktat dehidrogenaza - LDH

Slike 7 i 8 pokazuju da nema statistički značajne razlike kada se između dve grupe bolesnika porede razlike krajnjih i početnih vrednosti za GGT i LDH. U grupi 1 bolesnika uočava se izrazita varijabilnost vrednosti za oba parametra.

Vrednosti tumor markera za svaku grupu bolesnika pojedinačno prikazane su u Tabeli 8.

Tabela 8. Početne i krajnje vrednosti tumor markera kod bolesnika sa metastatskim kolorektalnim karcinomom u Grupi 1 i Grupi 2

Tumor markeri	Terapija	Medijana, IQV		Značajnost ¹ (p)
		Terapijski protokol		
		Grupa 1	Grupa 2	
CEA (U/L)	Pre	106,88 21,37-395,90	15,58 2,26-86,03	0,000
	Posle	45,60 8,01-383,86	6,16 2,41-25,17	
Značajnost² (p)		0,852	0,007	
CA 19/9 (µg/L)	Pre	23,65 3,40-156,85	18,25 4,52-68,57	0,777
	Posle	17,10 4,80-407,05	12,90 6,42-46,45	
Značajnost² (p)		0,185	0,072	

¹ poređenje početnih vrednosti kao i razlika krajnjih i početnih vrednosti između grupa (posle);

² poređenje početnih i krajnjih vrednosti u grupi; IQV – interkvartalna vrednost; CEA – karcinoembrionalni antigen; CA 19-9 – karbohidrat antigen 19-9

Rezultati međugrupnog poređenja pokazuju da je vrednost CEA pre terapije u grupi 1 bolesnika bila statistički značajno viša u odnosu na vrednost u grupi 2. Nivo CEA posle terapije je bio viši kod bolesnika iz grupe 1, ali zbog velikog raspona vrednosti ta razlika nije bila statistički značajna u odnosu na grupu 2. U odnosu na CA 19-9, vrednosti pre terapije se nisu značajno razlikovale, dok je posle terapije ustanovljena statistički značajno manja vrednost kod grupe 2 u poređenju sa grupom 1.

Intragrupno poređeni rezultati pokazuju da se u grupi 1 bolesnika nisu statistički značajno razlikovale početne i krajnje vrednosti kako za CEA tako i za CA 19-9. Suprotno tome, u grupi 2 bolesnika su statistički značajno niže vrednosti CEA posle terapije, a granično značajno za CA 19-9.

4.1.1. Biohemijski parametri i tumor markeri kod bolesnika sa nepromenjenim biohemijskim statusom na početku i kraju lečenja

Broj bolesnika sa nepromenjenim biohemijskim statusom na početku i kraju lečenja, a koji ukazuje na funkciju hepatocita prikazan je u Tabeli 9.

Tabela 9. Broj bolesnika sa nepromenjenim biohemijskim statusom na početku i kraju lečenja u Grupi 1 i Grupi 2 bolesnika

Parametri funkcije hepatocita	Biohemijski status	n, (%)		
		Terapijski protokol		Značajnost ¹ (p)
		Grupa 1	Grupa 2	
AST	0	23 (52,30)	39 (75,00)	$\chi^2=23,7074$ 0,340
	2	9 (20,45)	4 (7,69)	$\chi^2=13,000$ 0,369
ALT	0	29 (65,90)	38 (73,07)	$\chi^2=28,253$ 0,206
	2	5 (11,36)	4 (7,69)	$\chi^2=9,000$ 0,253

0 – početne i krajnje vrednosti parametara u upsegu referentnih vrednosti;

2 - početne i krajnje vrednosti parametara iznad gornje granice referentnog opsega; n – broj bolesnika;

AST - Aspartat aminotransferaza; ALT - Alanin aminotransferaza

Rezultati Tabele 9 pokazuju da je broj bolesnika sa nepromenjenim vrednostima AST i ALT na početku i kraju lečenja bio statistički neznačajan između grupa 1 i 2.

Broj bolesnika sa nepromenjenim biohemijskim statusom na početku i kraju lečenja, a koji ukazuje na funkciju žučnih kanalića prikazan je u Tabeli 10.

Tabela 10. Broj bolesnika sa nepromenjenim biohemijskim statusom na početku i kraju lečenja u Grupi 1 i Grupi 2 bolesnika

Parametri oštećenja žučnih kanalića	Biohemijski status	n, (%)		
		Terapijski protokol		
		Grupa 1	Grupa 2	Značajnost ¹ (p)
ALP	0	18 (40,91)	38 (73,08)	$\chi^2=40,500$ 0,493
	2	15 (34,09)	7 (13,48)	$\chi^2=22,000$ 0,400
GGT	0	13 (29,54)	26 (50,00)	$\chi^2=13,125$ 0,832
	2	23 (52,27)	14 (26,92)	$\chi^2=34,874$ 0,379
LDH	0	14 (31,82)	33 (63,46)	$\chi^2=44,609$ 0,363
	2	16 (36,36)	35 (67,31)	$\chi^2=21,000$ 0,397
Bilirubin	0	40 (90,91)	47 (90,38)	$\chi^2=37,437$ 0,495
	2	1 (2,27)	1 (1,92)	$\chi^2=21,000$ 0,337

0 – početne i krajnje vrednosti parametara u upsegu referentnih vrednosti;

2 - početne i krajnje vrednosti parametara iznad gornje granice referentnog opsega;

n – broj bolesnika; ALP - Alkalna fosfataza; GGT - gamma glutamil transferaza; LDH - Laktat dehidrogenaza

Rezultati Tabele 10 pokazuju da je broj bolesnika sa nepromenjenim vrednostima ALP, GGT i LDH na početku i kraju lečenja bio statistički neznačajan između grupa 1 i 2.

Vrednosti biohemijskih parametara koji ukazuju na funkciju hepatocita kod bolesnika sa nepromenjenim biohemijskim statusom pre i posle lečenja prikazani su u Tabeli 11.

Tabela 11. Biohemijski parametri funkcije hepatocita kod bolesnika sa nepromenjenim biohemijskim statusom na početku i kraju lečenja

Parametri funkcije hepatocita		Medijana, IQV					
		Terapija		Biohemijski status			
				0		2	
		Grupa 1	Grupa 2	Značajnos ^{t1}	Grupa 1	Grupa 2	Značajnost ¹
AST (U/L)	Pre	21,00 16,00-24,00	20,00 17,00-23,00	0,447	70,00 49,00-76,50	40,50 32,75-61,00	0,076
	Posle	26,00 23,00-28,00	23,00* 19,00-26,00	0,569	57,00 39,00-68,50	51,50 43,50-58,75	0,247
ALT (U/L)	Pre	21,00 13,50-24,00	18,00 12,00-24,25	0,425	56,00 41,50-76,50	42,00 37,25-56,50	0,413
	Posle	23,00 18,00-26,00	22,00 17,00-29,00	0,278	52,00 35,00-73,00	67,50 51,50-70,75	0,327

¹ poređenje početnih kao i razlika krajnjih i početnih vrednosti između grupa;

0 – početne i krajnje vrednosti parametara u upsegu referentnih vrednosti;

2 - početne i krajnje vrednosti parametara iznad gornje granice referentnog opsega;

AST - Aspartat aminotransferaza; ALT - Alanin aminotransferaza

Tabela 11 pokazuje da se ni jedan od posmatranih parametara nije razlikovao između dve grupe bolesnika ni pre terapije kao ni po njenom završetku, gde se raspon p vrednosti kretao od 0,278 za ALT na početku do 0,569 za AST na kraju lečenja.

Kolona 2 pokazuje da je granična statistički značajna razlika između grupa 1 i 2 (p=0,076) ustanovljena samo za AST pre početka terapije, sa višim vrednostima za AST u grupi 1. Za vrednosti AST posle terapije kao i za ALT i pre i po završenoj terapiji nije nađena međugrupna razlika.

Vrednosti biohemijskih parametara koji ukazuju na funkciju žučnih kanalića kod bolesnika sa nepromenjenim biohemijskim statusom pre i posle lečenja prikazani su u Tabeli 12.

Tabela 12. Biohemijski parametri funkcije žučnih kanalića kod bolesnika sa nepromenjenim biohemijskim statusom na početku i kraju lečenja

Parametri funkcije žučnih kanalića	Terapija	Medijana, IQV					
		Biohemijski status					
		0			2		
		Grupa 1	Grupa 2	Značajnost ¹	Grupa 1	Grupa 2	Značajnost ¹
ALP (U/L)	Pre	91,00 78,00-108,00	85,00 68,00-100,75	0,178	268,00 161,00-402,00	213,00 174,00-372,00	0,581
	Posle	105,00 76,00-118,00	84,00 70,00-104,00	0,431	217,00 172,00-319,00	195,00 160,00-352,00	0,724
GGT (U/L)	Pre	35,00 23,00-44,50	30,00 20,75-35,00	0,178	233,00 98,00-327,00	126,00 87,25-193,00	0,122
	Posle	35,00 27,00-47,00	26,50 18,75-25,25	0,395	149,00 89,00-202,00	132,50 82,00-163,75	0,452
LDH (U/L)	Pre	354,00 307,00-408,50	326,00 268,00-363,50	0,075	1097,00 867,50-1702,25	960,00 523,00-2062,50	0,660
	Posle	388,00 343,75-432,00	354,00 318,00-395,00	0,607	857,50 637,25-1762,25	849,00 477,00-1225,00	0,398
Bilirubin (μmol/L)	Pre	8,55 6,92-11,25	7,60 6,70-10,60	0,392	24,50 -	27,10 -	0,317
	Posle	10,20 8,22-13,75	9,00 6,90-12,20	0,612	23,70 -	24,80 -	0,317

¹ poređenje početnih kao i razlika krajnjih i početnih vrednosti između grupa;

0 – početne i krajnje vrednosti parametara u upsegu referentnih vrednosti;

2 - početne i krajnje vrednosti parametara iznad gornje granice referentnog opsega;

ALP - Alkalna fosfataza; GGT - gamma glutamil transferaza; LDH - Laktat dehidrogenaza;

Tabela 12 pokazuje da se ni jedan od posmatranih parametara nije značajno razlikovao između dve grupe bolesnika ni pre terapije kao ni po njenom završetku, gde se raspon p vrednosti kretao od 0,178 za ALP i GGT na početku do 0,612 za bilirubin na kraju lečenja. Izuzetak je LDH čije su se početne vrednosti granično značajno razlikovale između dve grupe bolesnika (p=0,075) sa višim vrednostima za LDH u grupi 1.

Kolona 2 pokazuje da nije nađena međugrupna razlika ni za jedan od analiziranih parametara kako pre tako i nakon sprovedene terapije, gde se raspon p vrednosti kretao od 0,122 za GGT na početku do 0,724 za ALP na kraju lečenja.

4.1.2. Biohemijski parametri i tumor markeri kod bolesnika sa promenjenim biohemijskim statusom na početku i kraju lečenja

Broj bolesnika sa nepromenjenim biohemijskim statusom na početku i kraju lečenja, a koji ukazuje na funkciju hepatocita prikazan je u Tabeli 13.

Tabela 13. Broj bolesnika sa promenjenim biohemijskim statusom na početku i kraju lečenja u Grupi 1 i Grupi 2 bolesnika

Parametri funkcije hepatocita	Biohemijski status	n, (%)	
		Terapijski protokol	
		Grupa 1	Grupa 2
AST	1	-	2 (3,85)
	3	12 (27,27)	7 (13,46)
ALT	1	5 (11,36)	3 (5,77)
	3	5 (11,36)	7 (13,46)

1 – početne vrednosti parametara iznad gornje granice referentnog opsega, a krajnje u referentnom opsegu; 3 - početne vrednosti parametara u referentnom opsegu, a krajnje iznad gornje granice referentnog opsega; n – broj bolesnika; AST - Aspartat aminotransferaza; ALT - Alanin aminotransferaza

Tabela 13 pokazuje da je u grupama 1 i 2 mali broj bolesnika sa promenjenim vrednostima AST i ALT na početku i kraju lečenja.

Broj bolesnika sa nepromenjenim biohemijskim statusom na početku i kraju lečenja, a koji ukazuje na funkciju žučnih kanalića prikazan je u Tabeli 14.

Tabela 14. Broj bolesnika sa promenjenim biohemijskim statusom na početku i kraju lečenja u Grupi 1 i Grupi 2 bolesnika

Parametri funkcije žučnih kanalića	Biohemijski status	n, (%)	
		Terapijski protokol	
		Grupa 1	Grupa 2
ALP	1	6 (13,64)	4 (7,69)
	3	4 (9,09)	3 (5,77)
GGT	1	5 (11,36)	9 (17,31)
	3	3 (6,82)	3 (5,77)
LDH	1	5 (11,36)	8 (15,38)
	3	5 (11,36)	9 (17,31)
Bilirubin	1	-	1 (1,92)
	3	3 (6,82)	3 (5,77)

1 – početne vrednosti parametara iznad gornje granice referentnog opsega, a krajnje u referentnom opsegu;

3 - početne vrednosti parametara u referentnom opsegu, a krajnje iznad gornje granice referentnog opsega;

n – broj bolesnika; ALP - Alkalna fosfataza; GGT - gamma glutamil transferaza; LDH - Laktat dehidrogenaza

Rezultati Tabele 14 pokazuju da je u obe grupe mali broj bolesnika sa promenjenim vrednostima ALP, GGT i LDH na početku i kraju lečenja.

Zbog malog broja bolesnika u obe grupe, poređenje vrednosti biohemijskih parametara funkcije hepatocita i žučnih kanalića između grupa nema statističku značajnost.

4.1.3. Biohemijski parametri i tumor markeri kod bolesnika bez progresije bolesti

Biohemijski parametri funkcije hepatocita kod bolesnika bez progresije bolesti prikazani su u tabeli 15. Parametri posmatranja bili su AST i ALT pre i posle terapije.

Tabela 15. Biohemijski parametri funkcije hepatocita kod bolesnika bez progresije bolesti

Parametri funkcije hepatocita	Medijana, IQV, n=64		Značajnost ¹ (p)
	Terapija		
	Pre	Posle	
AST (U/L)	21,5 17,25-28,00	26,00 22,00-35,75	0,001
ALT (U/L)	20,50 14,25-30,75	25,00 18,25-34,00	0,010

¹ – poređenje početnih i krajnjih vrednosti parametara;
IQV – interkvartalna vrednost; n – broj bolesnika; AST - Aspartat aminotransferaza; ALT - Alanin aminotransferaza

Tabela 15 pokazuje medijane i interkvartalne raspone praćenih parametara. Prikazane vrednosti medijana su bile u opsegu referentnih vrednosti analiziranih parametara (AST 0-40 IJ/L za muškarce i 0-30 IJ/L za žene; ALT 0-40 IJ/L za muškarce i 0-30 IJ/L za žene).

Biohemijski parametri funkcije žučnih kanalića kod bolesnika bez progresije bolesti prikazani su u Tabeli 16. Kao parametri procene funkcije služili su nivoi ALP, GGT, LDH i ukupnog bilirubina.

Tabela 16. Biohemijski parametri funkcije žučnih kanalića kod bolesnika bez progresije bolesti

Parametri funkcije žučnih kanalića	Medijana, IQV, n=64		Značajnost ¹ (p)
	Terapija		
	Pre	Posle	
ALP (U/L)	94,50 73,25-142,25	100,50 76,00-129,00	0,353
GGT (U/L)	50,00 30,00-122,00	41,50 26,25-87,75	0,006
LDH (U/L)	357,00 309,00-529,50	387,00 337,75-448,75	0,470
Bilirubin (µmol/L)	8,40 6,92-11,55	10,10 7,50-13,60	0,016

¹ – poređenje početnih i krajnjih vrednosti parametara;

IQV – interkvartalna vrednost; n – broj bolesnika; ALP - Alkalna fosfataza;

GGT - gamma glutamil transferaza; LDH - Laktat dehidrogenaza

Rezultati Tabele 16 pokazuju da su vrednosti medijana praćenih parametara u opsegu referentnih vrednosti za dati parametar (ALP 53-128 IJ/L za muškarce i 42-141 IJ/L za žene; GGT 10-60 IJ/L za muškarce i 10-40 IJ/L za žene; LDH 230-460 IJ/L i 3,4-20,5 µmol/L za ukupni bilirubin).

Vrednosti tumor markera kod bolesnika bez progresije bolesti pre i posle terapije prikazani su u Tabeli 17.

Tabela 17. Početne i krajnje vrednosti tumor markera kod bolesnika bez progresije bolesti

Tumor markeri	Referentni opseg	Medijana, IQV, n=64	
		početna vrednost	krajnja vrednost
CEA (U/L)	0-5	27,37 3,46-166,81	6,30 2,44-36,23
CA19-9 (µg /L)	0-31	17,00 4,92-51,52	11,45 6,22-23,57

IQV – interkvartalna vrednost; CEA – karcinoembrionalni antigen; CA 19-9 – karbohidrat antigen 19-9

Rezultati Tabele 17 pokazuju da su medijane početnih i krajnjih vrednosti za CEA bile daleko iznad referentnog opsega za ovaj tumor marker, dok su se iste za CA 19-9 nalazile u opsegu referentnih vrednosti.

Biohemijski parametri funkcije hepatocita za obe grupe bolesnika, a bez progresije bolesti prikazani su u Tabeli 18.

Tabela 18. Biohemijski parametri funkcije hepatocita kod bolesnika bez progresije bolesti u Grupi 1 i Grupi 2

Parametri funkcije hepatocita	Terapija	Medijana, IQV		Značajnost ¹ (p)
		Terapijski protokol		
		Grupa 1 n=21	Grupa 2 n=43	
AST (U/L)	Pre	23,00 18,50-36,50	21,00 17,00-26,00	0,190
	Posle	28,00 24,00-41,00	25,00 21,00-35,00	0,452
Značajnost² (p)		0,322	0,000	
ALT (U/L)	Pre	21,00 14,00-36,50	20,00 14,00-28,00	0,444
	Posle	26,00 20,00-30,50	25,00 18,00-38,00	0,089
Značajnost² (p)		0,917	0,002	

¹ poređenje početnih vrednosti kao i razlika krajnjih i početnih vrednosti između grupa (posle);

² poređenje početnih i krajnjih vrednosti u grupi;

IQV – interkvartilna vrednost; AST - Aspartat aminotransferaza; ALT - Alanin aminotransferaza

Rezultati prikazani u Tabeli 18 pokazuju da nije bilo statistički značajne razlike između dve grupe bolesnika ni kod jednog parametra, osim za razliku krajnjih i početnih vrednosti za ALT (p=0,089) čija je statistička značajnost granična.

Intragrupna razlika u grupi 1 bolesnika nije ustanovljena ni za jedan od posmatranih parametara kako pre tako ni posle terapije. U grupi 2 postoji statistički značajna razlika između početnih i krajnjih vrednosti za oba parametra (p=0,000 za AST i p=0,002 za ALT).

Biohemijski parametri funkcije žučnih kanalića kod bolesnika bez progresije bolesti prikazani su u Tabeli 19.

Tabela 19. Biohemijski parametri funkcije žučnih kanalića kod bolesnika bez progresije u Grupi 1 i Grupi 2

Parametri funkcije žučnih kanalića	Terapija	Medijana, IQV		Značajnost ¹ (p)
		Terapijski protokol		
		Grupa 1 n=21	Grupa 2 n=43	
ALP (U/L)	Pre	114,00 82,00-226,00	93,00 72,00-123,00	0,090
	Posle	111,00 82,50-175,00	95,00 71,00-116,00	
Značajnost² (p)		0,498	0,429	
GGT (U/L)	Pre	77,00 37,00-283,00	44,00 23,00-85,00	0,016
	Posle	64,00 40,00-128,00	36,00 23,00-61,00	
Značajnost² (p)		0,135	0,014	
LDH (U/L)	Pre	443,00 341,50-1144,50	349,00 296,00-394,00	0,015
	Posle	431,00 351,00-599,00	364,00 323,00-426,00	
Značajnost² (p)		0,566	0,178	
Bilirubin (µmol/L)	Pre	8,90 7,00-12,50	7,80 6,90-11,20	0,415
	Posle	10,30 7,60-13,45	9,70 6,90-13,70	
Značajnost² (p)		0,244	0,036	

¹ poređenje početnih vrednosti kao i razlika krajnjih i početnih vrednosti između grupa (posle);

² poređenje početnih i krajnjih vrednosti u grupi; IQV – interkvartalna vrednost;

ALP - Alkalna fosfataza; GGT - gamma glutamil transferaza; LDH - Laktat dehidrogenaza

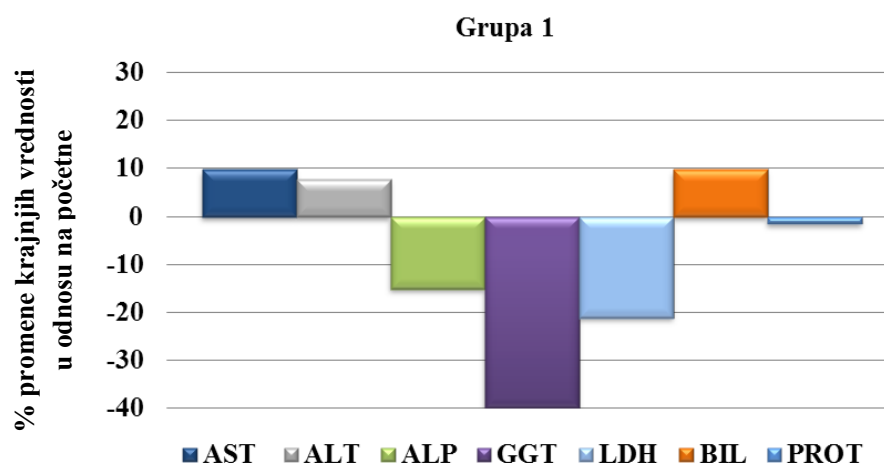
Tabela 19 pokazuje da intergrupno postoji statistički značajna razlika između početnih vrednosti GGT i LDH (grupa 1: grupa 2 za GGT: 77,00 U/L : 44,00 U/L i LDH: 443,00 U/L : 349,00 U/L). Po završetku terapije, nije ustanovljena inetrgrupna razlika ni za jedan od četiri posmatrana parametra.

U grupi 1, nije ustanovljena statistički značajna razlika između vrednosti ispitivanih parametara pre i posle terapije.

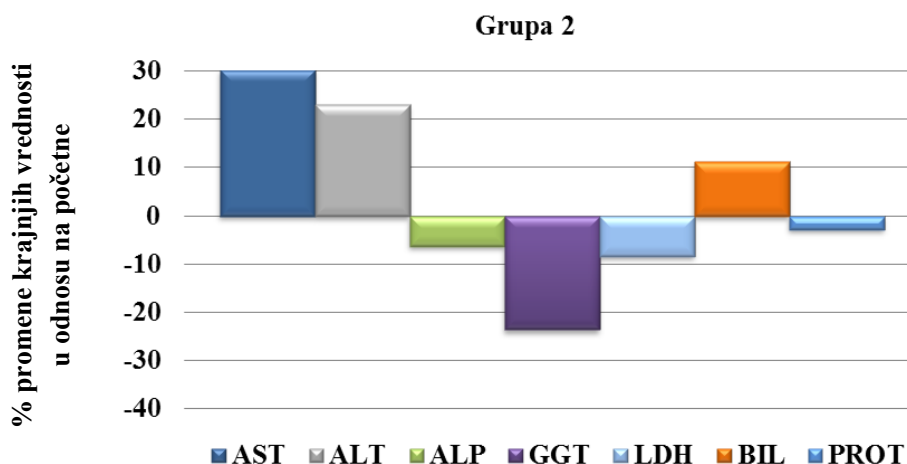
Takođe, u grupi 2 se nisu značajno razlikovale početne i krajnje vrednosti za ALP i LDH. Međutim, u grupi 2 bolesnika nađena je statistički značajna razlika između početnih i krajnjih vrednosti GGT i bilirubina.

Početne i krajnje vrednosti proteina se nisu značajno razlikovale u grupi 1 bolesnika ($p=0,126$), dok je u grupi 2 bolesnika ustanovljena statistički značajna razlika ($73,00:72,00$ g/L, $p= 0,003$). Međutim kada se porede početne i razlike krajnjih i početnih vrednosti proteina ($p=0,487$ i $p=0,272$) između grupa bolesnika ne uočava se statistički značajna razlika (rezultati nisu tabelarno prikazani).

Radi bolje preglednosti numeričke vrednosti date u tabelama 18 i 19 prikazane su i grafički na Slikama 9 i 10. Na Slici 9 su prikazani bolesnici iz grupe 1, dok se prikaz bolesnika iz grupe 2 nalazi na Slici 10.



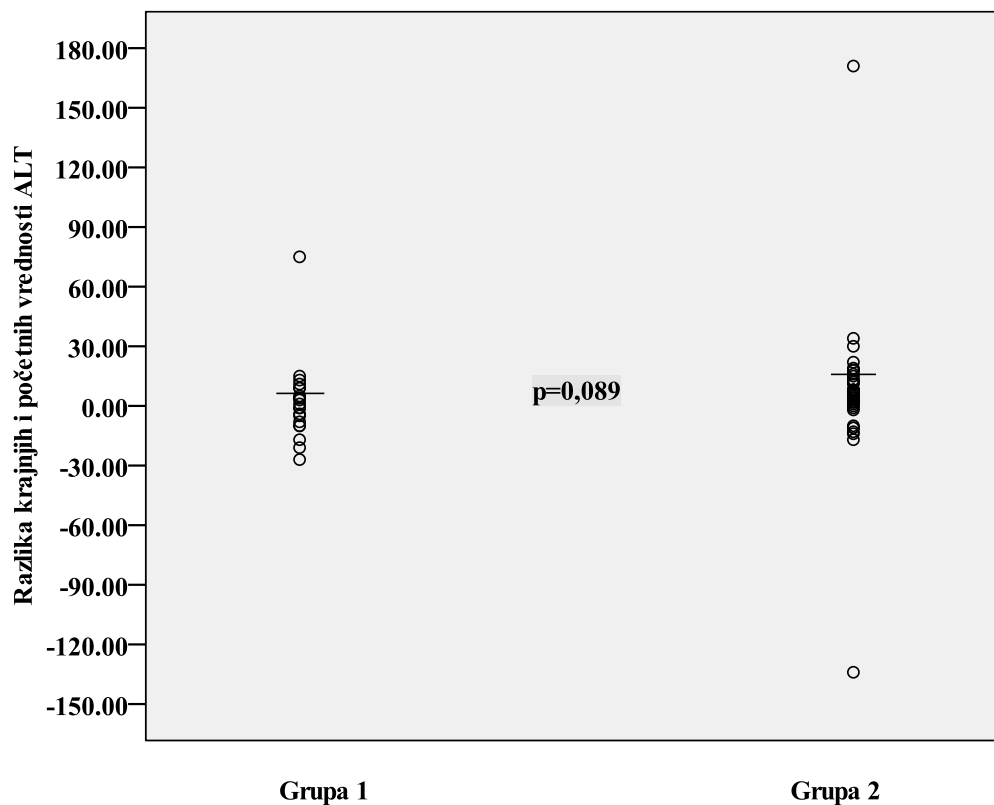
Slika 9. Procenat promene krajnjih vrednosti biohemijskih parametara jetre u odnosu na početne vrednosti kod bolesnika bez progresije bolesti u Grupi 1



Slika 10. Procenat promene krajnjih vrednosti biohemijskih parametara jetre u odnosu na početne vrednosti kod bolesnika bez progresije bolesti u Grupi 2

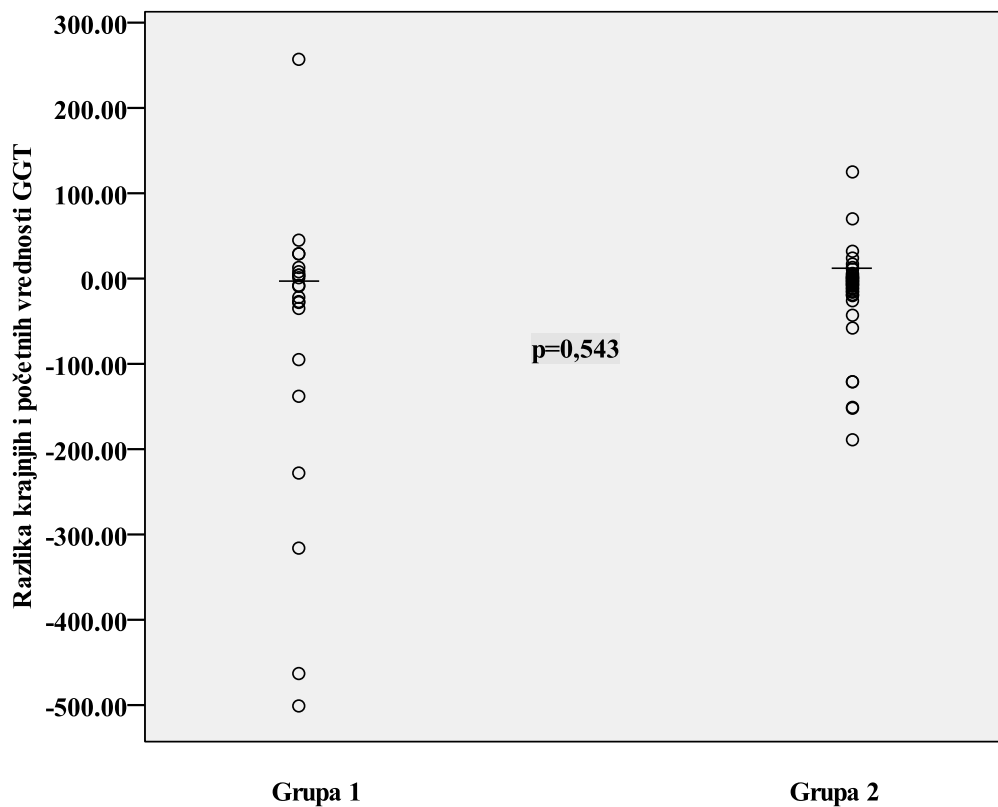
Slike 9 i 10 pokazuju da ne postoji značajna razlika između grupa u odnosu na procenat promene krajnjih vrednosti za bilirubin i proteine u odnosu na početne, dok je najveća razlika ustanovljena za AST i ALT pri čemu je ona bila izraženija kod bolesnika iz grupe 2. Takođe, uočena je i razlika za ALP, GGT i LDH koja je bila izraženija u grupi 1 bolesnika.

Na Slikama 11 i 12, prikazane su razlike krajnjih i početnih vrednosti za ALT i GGT i poređenje istih između dve grupe bolesnika.



Slika 11. Poređenje razlika krajnjih i početnih vrednosti alanin-aminotransferaze (ALT) između grupa

Slika 11 pokazuje da postoji statistički granično značajna razlika između razlika krajnjih i početnih vrednosti ALT kada se porede obe grupe ($p=0,089$).



Slika 12. Poređenje razlika krajnjih i početnih vrednosti gama-glutamiltransferaze (GGT) između grupa

Slika 12 pokazuje da ne postoji statistički značajna razlika između razlika krajnjih i početnih vrednosti GGT kada se porede obe grupe ($p=0,543$).

Vrednosti tumor markera za obe grupe bolesnika, a bez progresije bolesti prikazane su u Tabeli 20.

Tabela 20. Početne i krajnje vrednosti tumor markera kod bolesnika bez progresije bolesti u Grupi 1 i Grupi 2

Tumor markeri	Terapija	Medijana, IQV		Značajnost ¹ (p)
		Terapijski protokol		
		Grupa 1 n=21	Grupa 2 n=43	
CEA (U/L)	Pre	104,09 18,24-300,12	15,56 2,24-90,36	0,011
	Posle	27,43 3,13-55,89	4,87 2,32-15,95	0,102
Značajnost² (p)		0,003	0,001	
CA 19/9 (µg/L)	Pre	13,40 2,50-33,25	17,80 4,90-61,30	0,382
	Posle	10,20 3,15-22,50	12,80 6,40-29,00	0,229
Značajnost² (p)		0,256	0,001	

¹ poređenje početnih vrednosti kao i razlika krajnjih i početnih vrednosti između grupa (posle);

² poređenje početnih i krajnjih vrednosti u grupi;

IQV – interkvartilna vrednost; CEA – karcinoembrionalni antigen; CA 19-9 – karbohidrat antigen 19-9

Tabela 20 pokazuje da su jedino rezultati za CEA pre terapije bili statistički značajno veći kod bolesnika u grupi 1 u odnosu na grupu 2. Međutim, kod CEA posle terapije kao ni kod CA 19-9 pre i posle terapije nije ustanovljena statistički značajna razlika između obe grupe bolesnika.

4.2. Biohemijski parametri i tumor markeri u odnosu na klinički ishod

Parametri funkcije hepatocita u odnosu na klinički ishod prikazani su u tabeli 21.

Tabela 21. Početne i krajnje vrednosti biohemijskih parametara funkcije hepatocita u odnosu na klinički ishod bolesnika

Parametri funkcije hepatocita	Terapija	Medijana, IQV		
		Klinički ishod		
		Regresija bolesti n=41	Stabilizacija bolesti n=23	Progresija bolesti n=32
AST (U/L)	Pre	21,00 17,00-26,50	23,00 20,00-32,00	24,00 17,25-33,75
	Posle	25,00 21,00-33,50	27,00 23,00-36,00	33,00 25,00-50,00
Značajnost¹ (p)		0,002	0,185	0,001
ALT (U/L)	Pre	21,00 14,00-30,00	20,00 17,00-31,00	23,00 18,00-34,75
	Posle	26,00 18,00-38,50	25,00 19,00-29,00	26,50 20,25-40,25
Značajnost¹ (p)		0,002	0,961	0,442

¹ poređenje početnih i krajnjih vrednosti parametara u grupi;

IQV – interkvartalna vrednost; AST - Aspartat aminotransferaza; ALT - Alanin aminotransferaza

Podaci u Tabeli 21 dati su ne na osnovu grupa bolesnika, već ukupno za sve bolesnike grupisane u odnosu na klinički ishod: regresija (RB), stabilizacija (SB) ili progresija bolesti (PB).

Vrednosti AST i ALT posle terapije su u grupi bolesnika sa regresijom bolesti statistički značajno više u odnosu na početne vrednosti ($p=0,002$).

Kod grupe bolesnika sa stabilizacijom bolesti vrednosti AST i ALT se nisu statistički značajno menjale po završetku terapije.

U grupi bolesnika sa progresijom bolesti došlo je do statistički značajnog povećanja vrednosti za AST ($p=0,001$), dok su vrednosti za ALT ostale nepromenjene ($p=0,442$).

Vrednosti biohemijskih parametara koji ukazuju na funkciju žučnih kanalića, a u zavisnosti od kliničkog ishoda (RB, SB ili PB) prikazane su u Tabeli 22.

Tabela 22. Početne i krajnje vrednosti biohemijskih parametara funkcije žučnih kanalića u odnosu na klinički ishod bolesnika lečenih FOLFOX4 terapijskim protokolom sa bevacizumabom i bez njega

Parametri funkcije žučnih kanalića	Terapija	Medijana, IQV		
		Klinički ishod		
		Regresija bolesti n=41	Stabilizacija bolesti n=23	Progresija bolesti n=32
ALP (U/L)	Pre	86.00 69.00-116.00	122.00 91.00-222.00	134.00 104.00-206.00
	Posle	95.00 73.50-127.50	105.00 89.00-143.00	142.50 111.00-184.50
Značajnost¹ (p)		0,780	0,100	0,852
GGT (U/L)	Pre	42.00 27.00-88.50	77.00 35.00-185.00	87.50 44.25-129.50
	Posle	36.00 25.00-61-50	61.00 28.00-127-00	77.00 49.00-146-25
Značajnost¹ (p)		0,119	0,083	0,772
LDH (U/L)	Pre	347,00 288,50-387,50	402,00 347,00-926,00	492,00 320,25-944,00
	Posle	372,00 325,00-419,00	431,00 345,00-624,00	486,00 432,50-732,75
Značajnost¹ (p)		0,829	0,438	0,411
Bilirubin (µmol/L)	Pre	8,20 6,95-11,15	8,60 6,90-14,00	8,45 6,37-11,25
	Posle	10,10 7,25-13.75	10,10 7,50-13,30	11,80 8,92-15,62
Značajnost¹ (p)		0,001	0,681	0,000

¹ poređenje početnih i krajnjih vrednosti u grupi;

IQV – interkvartalna vrednost; ALP - Alkalna fosfataza; GGT - gamma glutamil transferaza; LDH - Laktat dehidrogenaza

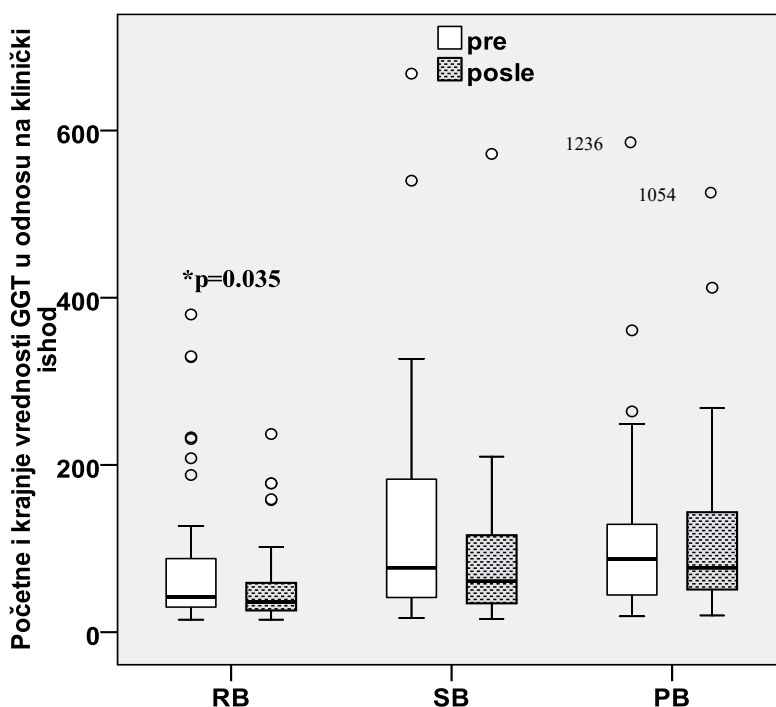
Tabela 22 pokazuje da je kod bolesnika sa regresijom bolesti došlo do statistički značajnog povećanja vrednosti bilirubina u serumu ($p=0,001$), dok se vrednosti za ALP, GGT i LDH nisu značajno menjale po završetku lečenja u odnosu na početak bolesti.

Vrednosti LDH i bilirubina kod bolesnika sa stabilizacijom bolesti ostale su nepromenjene po završetku lečenja, dok su nivoi za ALP i GGT bili statistički granično niži u odnosu na početne vrednosti ($p=0,100$ i $p=0,083$).

U grupi bolesnika sa progresijom bolesti, statistički značajna razlika u smislu povećanja krajnjih u odnosu na početne vrednosti ustanovljena je samo za bilirubin ($p=0,000$), dok se vrednosti za ALP, GGT i LDH nisu statistički značajno menjale.

Apsolutne vrednosti GGT kod sve tri grupe bolesnika (RB, SB i PB) prikazane su na slici 13.

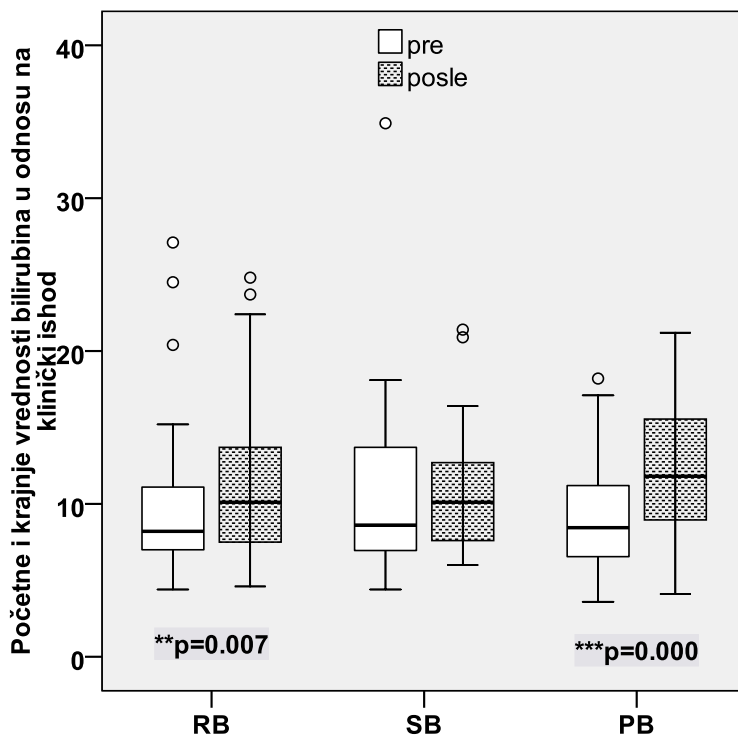
Slika 13 pokazuje da su statistički značajne razlike pre i po završetku terapije ustanovljene samo kod bolesnika sa regresijom bolesti.



Slika 13. Početne i krajnje vrednosti gama –glutamyltransferaze (GGT) u odnosu na klinički ishod

U gornjem desnom uglu su prikazane ekstremne vrednosti GGT u grupi bolesnika sa PB;
 $*p<0,05$ - poređenje početnih i krajnjih vrednosti u grupi; RB – regresija bolesti;
 SB – stabilizacija bolesti; PB – progresija bolesti

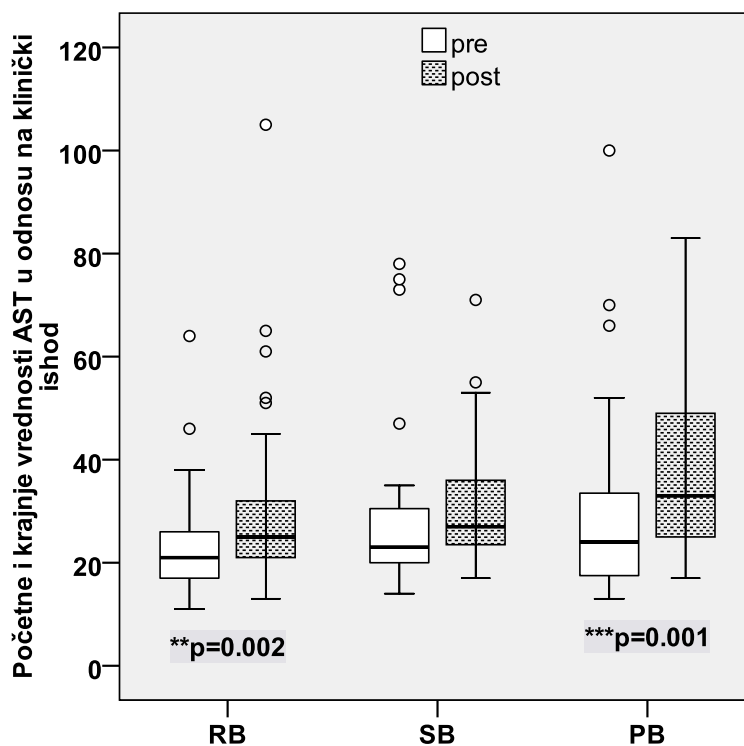
Apsolutne vrednosti početnih i krajnjih vrednosti bilirubina i AST prikazane su na slikama 14 i 15.



Slika 14. Početne i krajnje vrednosti bilirubina u odnosu na klinički ishod

** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ poređenje početnih i krajnjih vrednosti u grupi;
 RB – regresija bolesti; SB – stabilizacija bolesti; PB – progresija bolesti

Slika 14 pokazuje da je statistički značajna razlika nakon poređenja krajnjih u odnosu na početne vrednosti bilirubina ustanovljen u grupi bolesnika sa RB ($p=0,007$) i PB ($p=0,000$), dok razlika u grupi bolesnika sa SB nije bila statistički značajna.



Slika 15. Početne i krajnje vrednosti aspartat aminotransferaze u odnosu na klinički ishod

** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ poređenje početnih i krajnjih vrednosti u grupi; RB – regresija bolesti; SB – stabilizacija bolesti; PB – progresija bolesti

Slika 15 pokazuje da je statistički značajna razlika nakon poređenja krajnjih vrednosti AST u odnosu na početne ustanovljena u grupi bolesnika sa RB ($p=0,002$) i PB ($p=0,001$), dok razlika u grupi bolesnika sa SB nije bila statistički značajna.

Vrednosti biohemijskih parametara funkcije hepatocita kod bolesnika sa regresijom bolesti, prikazane su u Tabeli 23.

Tabela 23. Početne i krajnje vrednosti biohemijskih parametara funkcije hepatocita kod bolesnika sa regresijom bolesti u Grupi 1 i Grupi 2

Parametri funkcije hepatocita	Terapija	Medijana, IQV, Klinički ishod		Značajnost ¹ (p)
		Regresija bolesti		
		Grupa 1 n=8	Grupa 2 n=33	
AST (U/L)	Pre	21,50 16,25-27,00	20,00 17,00-26,50	0,934
	Posle	25,50 24,00-28,00	25,00 20,50-36,50	0,609
Značajnost² (p)		0,271	0,004	
ALT (U/L)	Pre	23,50 16,25-33,00	19,00 13,50-30,00	0,610
	Posle	26,00 23,50-33,25	26,00 17,50-39,00	0,587
Značajnost² (p)		0,261	0,004	

¹ poređenje početnih vrednosti kao i razlika krajnjih i početnih vrednosti između grupa (posle);

² poređenje početnih i krajnjih vrednosti u grupi;

IQV – interkvartalna vrednost; AST - Aspartat aminotransferaza; ALT - Alanin aminotransferaza

Rezultati Tabele 23 pokazuju da se nisu statistički značajno razlikovale početne i razlike krajnjih i početnih vrednosti vrednosti za AST i ALT između ispitivanih grupa bolesnika. Pri tome, p vrednosti su varirale od 0,587 za ALT na kraju do 0,934 za AST na početku lečenja.

Rezultati intragrupnih poređenja početnih i krajnjih vrednosti u grupi 1 pokazuju da nije došlo do statistički značajnih promena ispitivanih parametara po završetku u odnosu na period pre primene terapije. Međutim, u grupi 2 bolesnika statistički značajna razlika ustanovljena je za oba analizirana parametra (uz p i za AST i ALT od 0,004).

Vrednosti parametara funkcije žučnih kanalića pre i posle terapije kod dve ispitivane grupe bolesnika date su u Tabeli 24.

Tabela 24. Početne i krajnje vrednosti biohemijskih parametara funkcije žučnih kanalića kod bolesnika sa regresijom bolesti u Grupi 1 i Grupi 2

Parametri funkcije žučnih kanalića	Terapija	Medijana, IQV		Značajnost ¹ (p)
		Regresija bolesti		
		Grupa 1 n=8	Grupa 2 n=33	
ALP (U/L)	Pre	85,50 69,75-133,50	86,00 68,50-116,00	0,882
	Posle	107,50 76,75-181,50	95,00 70,50-114,00	0,256
Značajnost² (p)		0,293	0,837	
GGT (U/L)	Pre	55,00 27,75-197,00	41,00 26,50-79,00	0,340
	Posle	58,50 32,00-100,25	35,00 23,50-51,50	0,263
Značajnost² (p)		0,779	0,012	
LDH (U/L)	Pre	349,50 288,00-423,75	347,00 288,50-387,50	0,831
	Posle	388,00 351,75-464,00	358,00 305,50-419,00	0,511
Značajnost² (p)		0,208	0,238	
Bilirubin (µmol/L)	Pre	10,25 7,55-11,55	7,80 6,85-11,10	0,199
	Posle	10,35 7,12-12,55	9,70 7,30-14,05	0,090
Značajnost² (p)		0,889	0,003	

¹ poređenje početnih vrednosti kao i razlika krajnjih i početnih vrednosti između grupa (posle);

² poređenje početnih i krajnjih vrednosti u grupi;

IQV – interkvartalna vrednost; ALP - Alkalna fosfataza; GGT - gamma glutamil transferaza;

LDH - Laktat dehidrogenaza

Rezultati poređenja između dve grupe bolesnika pokazuju da je od četiri analizirana parametra do granično statistički značajnih promena post-terapijskih vrednosti došlo samo kod bilirubina (p=0,090) ali ne i kod drugih parametara.

Takođe, Tabela 24 pokazuje da su vrednosti sva četiri posmatrana parametra (ALP, GGT, LDH i bilirubin) u grupi 1 bolesnika ostale statistički nepromenjene posle terapije u odnosu na period pre njene primene. Za razliku od toga kod grupe 2 bolesnika došlo je do statistički značajne promene krajnjih u odnosu na početne vrednosti za GGT i bilirubin, ali ne i za ALP i LDH ($p=0,837$ i $p=0,238$).

Vrednosti biohemijskih parametara funkcije hepatocita kod bolesnika sa stabilizacijom bolesti prikazane su u Tabeli 25.

Tabela 25. Početne i krajnje vrednosti biohemijskih parametara funkcije hepatocita kod bolesnika sa stabilizacijom bolesti u Grupi 1 i Grupi 2

Parametri funkcije hepatocita	Terapija	Medijana, IQV, Klinički ishod		Značajnost ¹ (p)
		Stabilizacija bolesti		
		Grupa 1 n=13	Grupa 2 n=10	
AST (U/L)	Pre	25,00 20,00-60,00	21,00 18,75-25,25	0,225
	Posle	33,00 25,50-49,50	25,00 21,50-30,75	0,732
Značajnost² (p)		0,727	0,058	
ALT (U/L)	Pre	21,00 13,00-44,00	20,00 17,00-26,50	0,732
	Posle	24,00 18,50-28,50	25,00 19,50-29,75	0,214
Značajnost² (p)		0,442	0,285	

¹ poređenje početnih vrednosti kao i razlika krajnjih i početnih vrednosti između grupa (posle);

² poređenje početnih i krajnjih vrednosti u grupi;

IQV – interkvartilna vrednost; AST - Aspartat aminotransferaza; ALT - Alanin aminotransferaza

Tabela 25 pokazuje da se ni jedan od analiziranih parametara nije razlikovao između dve grupe bolesnika ni pre terapije kao ni po njenom završetku, gde se raspon p vrednosti kretao od 0,214 za ALT na kraju do 0,732 za ALT na početku i AST na kraju lečenja.

Takođe, kod intragrupnog poređenja početnih i krajnjih vrednosti analiziranih parametara u grupi 1 bolesnika nije pokazana statistički značajna razlika ni za jedan od parametara. Suprotno tome, u grupi 2 bolesnika ustanovljena je statistički granično značajna razlika krajnjih u odnosu na početne vrednosti za AST ($p=0,058$), dok se vrednosti za ALT nisu značajno razlikovale.

Vrednosti parametara funkcije žučnih kanalića pre i posle terapije kod dve ispitivane grupe bolesnika sa ostvarenom stabilizacijom bolesti nakon lečenja date su u Tabeli 26.

Tabela 26. Početne i krajnje vrednosti biohemijskih parametara funkcije žučnih kanalića kod bolesnika sa stabilizacijom bolesti u Grupi 1 i Grupi 2

Parametri funkcije žučnih kanalića	Terapija	Medijana, IQV, Klinički ishod		Značajnost ¹ (p)
		Stabilizacija bolesti		
		Grupa 1 n=13	Grupa 2 n=10	
ALP (U/L)	Pre	186,00 90,00-369,00	107,00 91,75-138,75	0,239
	Posle	111,00 98,50-180,00	95,00 73,75-148,50	0,535
Značajnost² (p)		0,152	0,139	
GGT (U/L)	Pre	181,00 47,00-321,00	57,50 21,00-90,50	0,054
	Posle	77,00 42,50-155,00	51,00 20,25-110,50	0,107
Značajnost² (p)		0,081	0,575	
LDH (U/L)	Pre	564,00 377,50-1841,00	357,50 299,50-515,50	0,035
	Posle	442,00 351,00-1229,50	378,50 335,25-477,00	0,321
Značajnost² (p)		0,196	0,575	
Bilirubin (µmol/L)	Pre	8,60 6,90-13,70	8,65 6,57-15,42	0,710
	Posle	10,30 7,90-14,95	9,05 6,80-11,80	0,203
Značajnost² (p)		0,162	0,333	

¹ poređenje početnih vrednosti kao i razlika krajnjih i početnih vrednosti između grupa (posle);

² poređenje početnih i krajnjih vrednosti u grupi;

IQV – interkvartilna vrednost; ALP - Alkalna fosfataza; GGT - gamma glutamil transferaza;

LDH - Laktat dehidrogenaza

Rezultati Tabele 26 pokazuju da je nakon poređenja početnih vrednosti analiziranih parametara između dve grupe bolesnika ustanovljena statistički značajna razlika za LDH ($p=0,035$) kao i granična značajnost za GGT ($p=0,054$), a da se ostali parametri nisu značajno razlikovali. Poređenjem razlika krajnjih i početnih vrednosti posmatranih parametara nije uočena statistički značajna razlika ni za jedan od četiri parametra.

Rezultati intragrupnog poređenja početnih i krajnjih vrednosti pokazuju da je u grupi 1 bolesnika ustanovljena granično značajna razlika za GGT ($p=0,081$), dok se ostali parametri nisu statistički značajno razlikovali. Kod grupe 2 bolesnika nije došlo do statistički značajne promene krajnjih u odnosu na početne vrednosti ni za jedan od posmatranih parametara.

Vrednosti biohemijskih parametara funkcije hepatocita kod bolesnika sa progresijom bolesti prikazane su u Tabeli 27.

Tabela 27. Početne i krajnje vrednosti biohemijskih parametara funkcije hepatocita kod bolesnika sa progresijom bolesti u Grupi 1 i Grupi 2

Parametri funkcije hepatocita	Terapija	Medijana, IQV, Klinički ishod		Značajnost ¹ (p)
		Progresija bolesti		
		Grupa 1 n=23	Grupa 2 n=9	
AST (U/L)	Pre	24,00 17,00-36,00	21,00 18,00-29,50	0,225
	Posle	36,00 26,00-51,00	25,00 18,00-41,50	0,042
Značajnost² (p)		0,001	0,593	
ALT (U/L)	Pre	23,00 19,00-38,00	23,00 12,50-32,50	0,378
	Posle	26,00 21,00-44,00	29,00 15,00-39,50	0,834
Značajnost² (p)		0,715	0,362	

¹ poređenje početnih vrednosti kao i razlika krajnjih i početnih vrednosti između grupa (posle);

² poređenje početnih i krajnjih vrednosti u grupi;

IQV – interkvartalna vrednost; AST - Aspartat aminotransferaza; ALT - Alanin aminotransferaza

Tabela 27 pokazuje da intergrupno postoji statistički značajna razlika između razlika krajnjih i početnih vrednosti za AST ($P=0,042$), dok se vrednosti za ALT nisu značajno razlikovali ni pre ni po završetku terapije.

U grupi 1 bolesnika, ustanovljena je statistički značajna razlika između početnih i krajnjih vrednosti za AST ($p=0,001$), ali ne i za ALT. U grupi 2 se nisu značajno razlikovale početne i krajnje vrednosti ni za jedan od analiziranih parametara.

Vrednosti parametara funkcije žučnih kanalića pre i posle terapije kod dve ispitivane grupe bolesnika sa progresijom bolesti nakon lečenja date su u Tabeli 28.

Tabela 28. Početne i krajnje vrednosti biohemijskih parametara funkcije žučnih kanalića kod bolesnika sa progresijom bolesti u Grupi 1 i Grupi 2

Parametri funkcije žučnih kanalića	Terapija	Medijana, IQV, Klinički ishod		Značajnost ¹ (p)
		Progresija bolesti		
		Grupa 1 n=23	Grupa 2 n=9	
ALP (U/L)	Pre	150,00 107,00-241,00	120,00 72,50-181,00	0,209
	Posle	144,00 114,00-209,00	141,00 96,00-164,00	
Značajnost² (p)		0,659	0,678	
GGT (U/L)	Pre	90,00 45,00-176,00	58,00 37,00-116,50	0,240
	Posle	86,00 47,00-149,00	71,00 40,50-115,00	
Značajnost² (p)		0,543	0,515	
LDH (U/L)	Pre	475,00 355,00-965,00	509,00 280,00-786,00	0,304
	Posle	515,00 444,00-735,00	432,00 369,00-804,00	
Značajnost² (p)		0,346	0,859	
Bilirubin (µmol/L)	Pre	8,50 9,36-13,49	8,40 9,01-14,63	0,600
	Posle	12,40 9,00-15,70	11,40 8,30-15,50	
Značajnost² (p)		0,000	0,050	

¹ poređenje početnih vrednosti kao i razlika krajnjih i početnih vrednosti između grupa (posle);

² poređenje početnih i krajnjih vrednosti u grupi;

IQV – interkvartilna vrednost; ALP - Alkalna fosfataza; GGT - gamma glutamil transferaza;

LDH - Laktat dehidrogenaza

Tabela 28 pokazuju da nakon međugrupnog poređenja početnih i razlika krajnjih i početnih vrednosti analiziranih parametara nije ustanovljena statistički značajna razilka ni za jedan od četiri posmatrana parametara.

Rezultati intragrupnog poređenja početnih i krajnjih vrednosti ispitivanih parametara pokazuju da je u obe grupe bolesnika ustanovljena statistički značajna razlika za bilirubin (p vrednosti su redom 0,000 i 0,050), dok se krajnje vrednosti ostalih parametara ni u jednoj od ispitivanih grupa nisu značajno menjale u odnosu početne.

4.3. Klinički ishod bolesnika u odnosu na broj primenjenih hemioterapija

Klinički ishod ispitivanih bolesnika u odnosu na broj primenjenih hemioterapija prikazan je u Tabeli 29.

Tabela 29. Klinički ishod kod bolesnika u Grupi 1 i Grupi 2 u odnosu na broj ciklusa hemioterapije

Klinički ishod	Broj ciklusa hemioterapije	n, (%)			Značajnost ¹ (p)
		Terapijski protokol			
		Svi n=96	Grupa 1 n=44	Grupa 2 n=52	
RB	4-5	27 (28,12)	2 (4,54)	25 (48,08)	$\chi^2=9,197$ 0,010
	6-9	7 (7,29)	2 (4,54)	5 (9,61)	
	10-12	7 (7,29)	4 (9,09)	3 (5,77)	
Značajnost ² (p)			0,414	0,000	
SB	4-5	2 (2,08)	0 (0,00)	2 (3,85)	$\chi^2=7,514$ 0,023
	6-9	12 (12,50)	5 (11,36)	7 (13,46)	
	10-12	9 (9,37)	8 (18,18)	1 (1,92)	
Značajnost ² (p)			0,025	0,005	
PB	4-5	17 (17,71)	10 (22,73)	7 (13,46)	$\chi^2=3,221$ 0,200
	6-9	5 (5,21)	4 (9,09)	1 (1,92)	
	10-12	10 (10,42)	9 (20,45)	1 (1,92)	
Značajnost ² (p)			0,000	0,005	

¹ poređenje frekvenci između grupa;

² poređenje frekvenci u grupi;

n – broj bolesnika; RB – regresija bolesti; SB – stabilizacija bolesti; PB – progresija bolesti

Rezultati Tabele 29 pokazuju da je broj bolesnika sa ostvarenom regresijom i stabilizacijom bolesti u grupi koja je primala bevacizumab (grupa 2) bio statistički značajno veći u odnosu u odnosu na grupu bez bevacizumaba (grupa 1) (p=0,010 i p=0,023). Izvesna razlika ustanovljena je i kod bolesnika sa progresijom bolesti u smislu manjeg broja bolesnika sa progresijom u grupi 2 u odnosu na grupu 1, ali ta razlika nije bila statistički značajna. Pored toga, broj primenjenih ciklusa hemioterapije kod bolesnika sa statistički značajnom razlikom u postignutom kliničkom efektu bio je manji u grupi 2 bolesnika. Tako je npr. broj bolesnika

sa regresijom bolesti koji je primio 4-5 ciklusa hemioterapije u grupi 2 bio 25, dok je u grupi 1 taj broj značajno manji i iznosi svega 2 bolesnika.

U grupi 1 je nakon poređenja broja bolesnika u odnosu na broj primenjenih ciklusa hemioterapije ustanovljena statistički značajna razlika u podgrupi bolesnika sa ostvarenom SB i PB ($p=0,025$ i $p=0,000$). Pri tome je u podgrupi sa SB najveći broj bolesnika primao 10-12 ciklusa hemioterapije, dok je u podgrupi sa PB broj bolesnika tretiranih najmanjim i najvećim brojem ciklusa terapije bio približno isti.

Suprotno tome, u grupi 2 bolesnika je u svakoj od podgrupa bolesnika (RB, SB i PB) pri poređenju broja bolesnika u odnosu na broj primenjenih ciklusa hemioterapije ustanovljena statistički značajna razlika. U podgrupama bolesnika sa ostvarenom RB i PB najveći broj njih je bio lečen primenom najmanjeg broja ciklusa terapije (4-5), dok je u podgrupi sa SB najveći broj bolesnika prima 6-9 ciklusa hemioterapije.

5. DISKUSIJA

Ispitivanjem dve grupe bolesnika sa mCRC na jetri od kojih je jedna lečena primenom kombinovanog citostatskog protokola (FOLFOX4), a druga dodatnom primenom bevacizumaba i praćenjem kliničkog odgovora i biohemijskih parametara kao pokazatelja funkcionalnog statusa jetre je ustanovljeno da je bevacizumab dovodio do značajnog poboljšanja kliničkog odgovora uz smanjenje trajanja lečenja, a da pri tom nije uticao značajno na analizirane biohemijske parametre.

Radi bolje preglednosti, Diskusija je podeljena na sledeće delove: (5.1. Klinička efikasnost udružene primene bevacizumaba i konvencionalnog citostatskog protokola u poređenju sa konvencionalnom citostatskom terapijom; 5.2. Biohemijski parametri funkcije jetre u odnosu na klinički ishod; 5.3. Prognostički i prediktivni značaj tumor markera kod mCRC; 5.4. Biohemijski parametri jetre kod lečenih bolesnika).

5.1. Klinička efikasnost udružene primene bevacizumaba i konvencionalnog citostatskog protokola u poređenju sa konvencionalnom citostatskom terapijom

Stepen težine kliničke slike bolesti na početku lečenja je bio približno jednak u obe grupe bolesnika. Dobijeni rezultati (Tabela 29) pokazuju da je klinički odgovor kod bolesnika dodatno lečenih bevacizumabom bolji u odnosu na one lečene konvencionalnom hemioterapijom. To se ogledalo u većem broju bolesnika sa kompletnom regresijom bolesti u grupi sa bevacizumabom u odnosu na grupu bez bevacizumaba (grupa 2 : grupa 1 = 5,77% : 0% bolesnika, nije prikazano u Tabeli 29) i parcijalnom regresijom bolesti (grupa 2 : grupa 1 = 57,69% : 18,18%) kao i u manjem broju bolesnika sa progresijom bolesti (grupa 2 : grupa 1 = 17,31% : 52,23% bolesnika).

Pored toga, navedeni klinički odgovori u grupi 2 su postignuti primenom značajno manjeg broja ciklusa hemioterapije. S obzirom na to, bolja efikasnost udružene upotrebe bevacizumaba i citostatske terapije u odnosu na konvencionalnu hemioterapiju ogledala se i u manjem broju primenjenih ciklusa hemioterapije. Tako npr., u grupi koja je primala bevacizumab, primenom 4-5 ciklusa hemioterapije regresija bolesti postignuta je kod 48,08% bolesnika, dok je u grupi bez bevacizumaba takvih bolesnika bilo daleko manje (4,54% bolesnika).

Takođe, u grupi sa bevacizumabom je broj bolesnika sa postignutom progresijom bolesti nakon primenjenih 10-12 ciklusa terapije bio značajno manji u odnosu na broj takvih bolesnika u grupi bez bevacizumaba (1,92% : 20,45% bolesnika). Iako se dve grupe bolesnika nisu razlikovale u pogledu broja bolesnika sa ostvarenom stabilizacijom bolesti (grupa 2 : grupa 1 = 19,23% : 29,55%), značajno je pomenuti da je kod najvećeg broja bolesnika u grupi bez bevacizumaba (18,18% bolesnika) primilo 10-12 ciklusa terapijskog protokola, dok je u grupi sa bevacizumabom bio svega jedan bolesnik kod kojeg je SB ostvarena ovako velikim brojem ciklusa terapija.

U prilog boljoj kliničkoj efikasnosti terapijskog protokola sa bevacizumabom govore i podaci koji pokazuju da je u grupi sa bevacizumabom bilo 3,85% bolesnika sa ostvarenom SB, a koji su primili 4-5 ciklusa, dok u grupi bez bevacizumaba nije bilo ovakvih bolesnika.

Klinička efikasnost konvencionalnih hemioterapijskih protokola za lečenje mCRC sa bevacizumabom ili bez njega bila je predmet ispitivanja mnogih istraživačkih grupa.

U radu Klinger i sar. (2009) rezultati istraživanja ukazuju na veći broj bolesnika sa postignutom kompletnom regresijom u grupi koja je lečena udruženom upotrebom

bevacizumaba i FOLFOX4 protokola u odnosu na one tretirane samo FOLFOX4 protokolom (CR=8,9%:4%). Takođe, u grupi sa bevacizumabom registrovan je manji broj bolesnika sa progresijom bolesti u odnosu na grupu bez bevacizumaba (PB=5,4%:8%). Međutim, broj bolesnika sa postignutom PR i SB je bio približno isti u obe grupe bolesnika. Iako nije pokazana statistički značajna razlika nakon poređenja tretmana u odnosu na postignuti klinički odgovor, zaključak autora je da se uočava trend kompletne regresije bolesti u grupi sa bevacizumabom, a u grupi bez bevacizumaba sasvim obrnuto (progresija bolesti).

Osim kliničke efikasnosti, u radu su prikazani rezultati koji ukazuju na manji stepen histološkog oštećenja tkiva (smanjenje razvoja SOS) jetre u grupi bolesnika koja je primala bevacizumab u odnosu na one lečene konvencionalnom terapijom. Shodno navedenom, moglo bi se reći da je dodatak bevacizumaba konvencionalnoj citostatskoj terapiji doveo do značajnog poboljšanja kliničkog odgovora, ali i do smanjenja hepatotoksičnog efekta konvencionalnih citostatika.

Rezultati istraživanja koje su sprovedi Saltz i saradnici (2008) ukazuju na manji broj bolesnika sa PB u grupi koja je primala bevacizumab u odnosu na grupu bez bevacizumaba (29%:47%), kao i većem broju bolesnika koji je operisan nakon primenjene hemioterapije u grupi sa bevacizumabom (8,4%:6,1%). Iako navedene razlike nisu dostigle statističku značajnost moglo bi se reći da one ukazuju na bolji odgovor u grupi bolesnika koja je bila tretirana udruženom upotrebom bevacizumaba i citostatika u odnosu na one koji su lečeni konvencionalnim citostatskim protokolom. Pored efikasnosti primenjenih protokola lečenja, poređena je i dužina primenjivanja hemioterapije. Ustanovljeno je da nije bilo statistički značajne razlike između dužine trajanja protokola sa bevacizumabom i bez njega (190:176 dana).

Ribero i saradnici (2007) su svojim istraživanjem pokazali da prema RECIST kriterijumima i dobijenim CT nalazima nije registrovan značajno bolji odgovor kod bolesnika koji su lečeni bevacizumabom. Međutim, bez obzira na to ističu da je smanjenje vijabilnosti tumorskih ćelija izraženije kod bolesnika koji su dodatno primali bevacizumab u odnosu na one koji su lečeni citostatskim hemioterapijskim protokolom (FOLFOX). Zaključak autora u pogledu kliničke efikasnosti udružene primene bevacizumaba i konvencionalnih citostatika je da bez obzira na to što prema RECIST smernicama nije registrovano poboljšanje kliničkog odgovora, dodatna upotreba bevacizumaba ima fundamentalni značaj za unapređenje lečenja obolelih od mCRC.

Osim toga, pokazano je da je incidencija razvoja SOS značajno manja u grupi bolesnika lečenih bevacizumabom u odnosu na one koji nisu primali bevacizumab. Time se potvrđuju

rezultati drugih istraživača koji ukazuju na značajno smanjenje hepatotoksičnog potencijala hemioterapijskog protokola dodatkom bevacizumaba.

Bolja klinička efikasnost konvencionalnih hemioterapijskih protokola po dodatku bevacizumaba potvrđena je i rezultatima studije koju su sprovedi Popov i saradnici (2007) koji ukazuju da je željeni klinički efekat u smislu ostvarenja kompletne ili parcijane regresije kao i stabilizacije bolesti postignuta kod 75% bolesnika koji su primali bevacizumab kao terapiju prve linije.

Rezultati našeg istraživanja su u pogledu kliničke efikasnosti u skladu sa literaturnim podacima (Hurwitz i sar., 2004; Hurwitz i sar., 2005; Kabbnavir i sar., 2005) koji takođe ukazuju na bolji klinički odgovor bolesnika lečenih udruženom upotrebom bevacizumaba i konvencionalnog citostatskog protokola u odnosu na monoterapiju konvencionalnim citostaticima. Bolji klinički odgovor u grupi bolesnika sa bevacizumabom je u našem istraživanju praćen i primenom manjeg broja ciklusa hemioterapije što nije u potpunoj korelaciji sa prikazanim rezultatima istraživanja koji su poredili dužinu trajanja lečenja protokolom sa bevacizumabom ili bez njega. Međutim, bez obzira na to može se zaključiti da je u svim istraživanjima trajanje lečenja bevacizumabom uz istovremeno postizanje boljeg kliničkog odgovora bilo kraće u odnosu na konvencionalni citostatski protokol.

Poređenjem naših rezultata sa podacima iz literature, može se reći da je bevacizumab efikasan i bezbedan lek koji povećava kliničku efikasnost citostatske terapije, skraćuje vreme trajanja lečenja i značajno smanjuje hepatotoksičnost citostatika. Sve su to razlozi da se on danas udruženo sa konvencionalnim citostaticima koristi kao terapijski protokol prve linije za lečenje mCRC.

Imajući sve navedeno u vidu nameće se pitanje koja su to svojstva bevacizumaba odgovorna za njegovo hepatoprotektivno dejstvo sa jedne i poboljšanje kliničkog odgovora sa druge strane.

Bevacizumab pripada grupi antiangiogenetskih lekova čiji razvoj biva iniciran istraživanjima Jude Folkmana. Folkman kao začetnik teorije da kancerska ćelija formira sopstvenu mrežu krvnih sudova koja podržava i pospešuje njen rast, razvija teoriju da inhibicija angiogeneze predstavlja put uspešnog kontrolisanja toka maligne bolesti. Nakon dugog osporavanja od strane naučnog miljea toga doba, njegova ideja o razvoju lekova koji će inhibirati neoangiogenezu biva konačno prihvaćena 90-tih godina prošlog veka. Tada počinje razvoj prvih inhibitora angiogeneze, endostatina i angiostatina, čiji je bevacizumab danas naslednik.

Bevacizumab je rekombinantno humanizovano monoklonsko antitelo koje se sastoji se iz humane (93%) i mišije komponente (7%) (Presta i sar., 1997). Bevacizumab prepoznaje i veže sve izoforme cirkulišućeg vaskularnog endotelnog faktora rasta (VEGF), koje se smatraju odgovornim za proces neoangiogeneze. Tačan mehanizam antitumorskog efekta bevacizumaba nije u potpunosti razjašnjen. Pretpostavlja se da inhibicijom cirkulišućeg VEGF sprečava stvaranje novih krvnih sudova, dovodi do regresije postojeće tumorske vaskulature i normalizacije nepravilne i haotične vaskularne mreže tumorskog tkiva čime smanjuje intratumorski pritisak i povećava distribuciju citostatika do samog tumora (Ellis, 2006; Gotink i Verheul, 2010). Ovim se može objasniti zašto se udruženo primenjuju bevacizumab i konvencionalni citostatici za lečenje mCRC. Iz predloženog mehanizma antitumorskog dejstva može se pretpostaviti kako bevacizumab ostvaruje svoj hepatoprotektivni efekat. S obzirom na to da se SOS karakteriše povišenim vrednostima VEGF jasno je da će antiangiogenetski agensi, inhibicijom VEGF ispoljiti povoljan efekat u smislu smanjenja stepena oštećenja tkiva jetre.

5.2. Biohemijski parametri funkcije jetre u odnosu na klinički ishod

Analizirani biohemijski parametri jetre se mogu podeliti u dve grupe. U prvu grupu spadaju oni koji su indikatori funkcije hepatocita, a u drugu oni za oštećenje žučnih kanalića, a time i ekskretorne funkcije jetre. Od parametara za praćenje funkcionalnog stanja hepatocita određivani su AST i ALT. U prvom redu treba istaći da se početne vrednosti navedenih parametara nisu značajno razlikovale između dve grupe bolesnika bez obzira na postignuti klinički ishod, iako su u grupi bolesnika koja nije primala bevacizumab one bile iznad gornje granice referentnog opsega. Takođe, vrednosti za AST i ALT se nisu ni po završetku lečenja, a po ostvarenoj RB i SB, razlikovale između dve grupe bolesnika, što nije bio slučaj za bolesnike sa PB gde je uočena statistički značajna razlika za AST ($p=0,042$).

Analizom vrednosti parametara funkcije hepatocita u odnosu na klinički ishod, a za ukupan broj bolesnika, uočen je porast vrednosti za AST po završetku terapije kod bolesnika sa RB i PB, dok je porast krajnjih u odnosu na početne vrednosti za ALT uočen samo kod bolesnika sa RB.

Procena funkcije žučnih kanalića je vršena određivanjem vrednosti ALP, GGT, LDH i bilirubina. Početne vrednosti svih ispitivanih parametara, osim za bilirubin su bile više u odnosu na referentne vrednosti i nisu se značajno razlikovale između dve grupe bolesnika bez obzira na postignuti klinički odgovor. Izuzetak predstavljaju bolesnici sa ostvarenom stabilizacijom bolesti kod kojih je ustanovljena statistički značajna razlika početnih vrednosti za LDH ($p=0,035$) pri čemu su vrednosti u grupi koja nije primala bevacizumab bile veće. U daljem toku lečenja vrednosti navedenih parametara su u grupi sa bevacizumabom bile niže u odnosu na konvencionalnu terapiju, ali se bez obzira na to nisu značajno razlikovale.

Nakon analize vrednosti ispitivanih parametara u odnosu na klinički ishod, a za ukupan broj bolesnika, ustanovljen je porast krajnjih vrednosti bilirubina kod bolesnika sa RB i PB. Istovremeno je kod bolesnika sa RB registrovano smanjenje krajnjih u odnosu na početne vrednosti GGT. Smanjenje vrednosti GGT po završetku terapije korelira sa povoljnim kliničkim odgovorom što bi moglo da izdvoji GGT kao potencijalno prognostički parametar za praćenje hepatotoksičnosti primenjene terapije. Međutim, kada se posmatra svaka grupa bolesnika pojedinačno ne uočava se smanjenje nivoa ovog parametra po završetku terapije. Razlog tome može biti mali broj ispitivanih bolesnika, te je za potvrđivanje ili opovrgavanje dobijenih rezultata potrebno sprovesti dodatna istraživanja.

U dostupnoj literaturi nije bilo podataka o stepenu korelacije biohemijskih parametara jetre kao mere hepatotoksičnog efekta terapijskih protokola primenjenih za lečenje mCRC sa postignutim kliničkim efektom na kraju lečenja. Međutim, u jednom zbirnom radu (Tuğba Gür i sar., 2011) su kod bolesnika sa CRC prikazali vrednosti parametara funkcije jetre (AST, ALT, ALP, LDH i albumin) pre početka i po završetku hemioterapijskog protokola. Iz zbirnih podataka navedene studije proizilazi da su početne vrednosti za ALP kod obolelih bile statistički značajno više od kontrolnih vrednosti, dok je nivo albumina bio značajno niži u odnosu na nivo kod zdravih osoba. Na kraju terapije, došlo je do povećanja vrednosti ALP i AST u odnosu na njihove početne vrednosti, što može delom biti posledica hepatotoksičnog efekta primenjenih terapijskih protokola.

Upotreba neoadjuvantnog hemioterapijskog protokola za lečenje CRC sa metastazama na jetri je kod najvećeg broja bolesnika terapijski pristup izbora. Međutim, osim željenog, terapijskog efekta potrebno je kod takvih bolesnika voditi računa i o hepatotoksičnim efektima do kojih primenjivani protokoli mogu dovesti. Dodatno, konvencionalnim citostaticima uzrokovano oštećenje jetre može biti razlog obustavljanja lečenja ili nemogućnosti resekcije metastaza što značajno umanjuje mogućnost uspešnog lečenja bolesnika.

Literaturni podaci ukazuju na jasnu povezanost između određenog citostatika i histološkog oštećenja tkiva jetre do kojeg dovode. Takođe, rezultati sprovedenih studija pokazuju da upotreba bevacizumaba umanjuje hepatotoksičnost konvencionalnih citostatika korišćenih za lečenje mCRC što se ogleda u boljem histopatološkom nalazu tkiva jetre kod tako lečenih bolesnika. Bilo bi za očekivati da se poboljšanje na histološkom nivou odrazi i na biohemijske parametre funkcije jetre. Međutim, uzimajući u obzir činjenicu da se jetra karakteriše velikim regenerativnim potencijalom, a time i sposobnošću da uprkos postojećim histološkim oštećenjima kompenzuje poremećaj vrednosti biohemijskih parametara može se objasniti zašto se u našem istraživanju nisu statistički značajno razlikovale vrednosti parametara jetre između bolesnika koji su primali bevacizumab i onih koji nisu. Bez obzira na to što nije postignuta statistički značajna razlika, rezultati našeg ispitivanja ukazuju da su vrednosti analiziranih parametara bile niže u grupi bolesnika sa bevacizumabom.

Shodno tome, nameće se pitanje da li bi vrednosti u grupi bolesnika sa bevacizumabom bile podjednako visoke kao u grupi bez bevacizumaba da nije primenjivan biološki lek. Na osnovu dobijenih rezultata i stavova istraživača koji se bave oblašću hepatotoksičnog efekta hemioterapije, potrebno je sprovesti dodatna istraživanja sa ciljem pronalaženja specifičnih biomarkera oštećenja jetre uzrokovanog hemioterapijom.

5.3. Prognostički i prediktivni značaj tumor markera kod mCRC

Kod ispitivanih bolesnika su od tumor markera određivani nivoi CEA i CA 19-9.

Pre početka lečenja je od ukupnog broja kod 78,13% bolesnika nivo CEA bio iznad gornje granice referentnog opsega. Pri tome je broj bolesnika sa vrednostima CEA iznad referentnih bio značajno veći u grupi koja je dobijala konvencionalne citostatike u odnosu na grupu koja je dodatno primala bevacizumab (95,45%:63,46%; $p=0,000$). Nakon završenog lečenja broj bolesnika sa vrednostima CEA iznad referentnog opsega se smanjuje (63,54%), ali i dalje ostaje značajno veći u grupi koja nije dobijala bevacizumab (79,54%:51,90%; $p=0,009$) (Tabela 4). Navedeni rezultati pokazuju da je kod više od polovine ispitivanih bolesnika vrednost CEA pre početka terapije bila znatno povišena i kao takva bila u skladu sa kliničkim nalazom obolelih. Shodno tome dobijeni nalazi su u skladu sa literaturnim podacima koji ukazuju na prognostički značaj određivanja CEA kod obolelih od mCRC (Sturgeon i sar., 2008; Chibudael i sar., 2012; De Devitiis i sar., 2014). Međutim, s obzirom na to da su vrednosti CEA po završetku terapije bile niže u odnosu na početne (Tabela 5) moglo bi se reći da nivo CEA može biti jedan od biomarkera za praćenje terapijskog efekta primenjenog protokola lečenja. Za potvrđivanje korelacije između nivoa CEA i postignutog terapijskog efekta, određivane su početne i post terapijske vrednosti ovog tumor markera kod bolesnika kod kojih nije registrovana progresija bolesti (Tabela 20). Prikazani rezultati pokazuju da su i kod bolesnika lečenih bevacizumabom kao i kod onih koji nisu dobijali ovaj biološki lek krajnje vrednosti za CEA niže u odnosu na početne i time u skladu sa postignutom regresijom ili stabilizacijom bolesti. Takođe, iz prikazanih rezultata se može uočiti da su bez obzira na to što nije postignuta statistička značajnost, krajnje vrednosti ovog tumor markera u grupi bolesnika sa bevacizumabom niže u odnosu na grupu koja nije primala ovaj lek. Takvi nalazi su u skladu sa boljom kliničkom efikasnošću terapijskog protokola koji uključuje primenu bevacizumaba što dodatno potvrđuje i opravdava primenu CEA kao biomarkera za praćenje terapijske efikasnosti primenjenog protokola lečenja.

Pored CEA, kod lečenih bolesnika je praćen nivo CA 19-9 kako pre tako i po završenom lečenju. Prema rezultatima prikazanim u Tabeli 4 uočava se da je od ukupnog broja bolesnika kod 51,40% obolelih nivo CA 19-9 pre terapije bio u referentnom opsegu. Prema tome, ne bi se moglo reći da nivo CA 19-9 pre terapije korelira sa početnim stadijumom bolesti praćenih bolesnika. Shodno dobijenim rezultatima, nivo CA 19-9 pre početka lečenja se ne bi mogao koristiti kao pouzdan prognostički biomarker.

Analiziranjem nivoa CA 19-9 po završenoj terapiji uočava se da je kod 63,54% bolesnika on u referentnom opsegu, kao i da se broj bolesnika sa ovakvim vrednostima CA 19-9 ne

razlikuje značajno između grupe bolesnika koja je primala bevacizumab i one koja to nije (61,54%:56,82%) (Tabela 4). Međutim, kada se između dve grupe bolesnika porede vrednosti za CA 19-9 nakon završenog protokola lečenja uočava se značajna razlika ($p=0,044$) pri čemu su vrednosti praćenog tumor markera niže u grupi koja je primala bevacizumab (Tabela 8). Takvi nalazi su u skladu sa literaturnim podacima kao i rezultatima naše studije koji govore o boljoj kliničkoj efikasnosti konvencionalnog citostatskog protokola sa bevacizumabom u odnosu na protokol bez njega. Međutim, bez obzira na to ne bi mogli da zaključimo da je CA 19-9 pouzdan biomarker za praćenje postignutog terapijskog odgovora.

Pregledom literature nailazi se na radove u kojima su opisane preporuke onkoloških vodiča za određivanje nivoa serumskih tumor markera kao prognostičkih i prediktivnih biomarkera kod obolelih od CRC.

U zbirnom radu Sturgeon i saradnika (2008) se prema preporukama Nacionalne akademije za kliničku laboratorijsku medicinu i drugih onoloških vodiča ukazuje na značaj određivanja CEA i drugih serumskih tumor markera kod obolelih od CRC. Shodno pomenutim smernicama CEA se ne može koristiti kao pouzdani dijagnostički biomarker za detekciju početnog stadijuma CRC kod uslovno rečeno zdrave populacije. Razlog tome može biti nedostatak dovoljne osetljivost i specifičnosti ovog tumor markera, zbog čega njegove vrednosti kod asimptomatskih bolesnika u početnim stadijumima bolesti mogu biti u okviru referentnog opsega. Suprotno tome, autori ističu da početne vrednosti CEA koje su iznad gornje granice referentnog opsega imaju prognostički značaj i kao takve mogu ukazivati na postojanje metastatskih promena. Zbog toga je CEA u vodičima američkog onkološkog društva iz 2006. godine označen kao tumor marker izbora za detekciju udaljenih metastaza kod obolelih od CRC. Takođe, od strane američke grupe patologa početni nivo CEA je zajedno sa TNM stadijumom bolesti, metastatski izmenjenim okolnim limfnim čvorovima, zahvaćenim krvnim i limfnim sudovima kao i stepenom postignute resekcije primarnog tumora svrstan u prvu kategoriju prognostičkih biomarkera za CRC. Time, osim za detekciju udaljenih metastatskih promena, početne vrednosti ovog tumor markera mogu biti od značaja za planiranje hirurškog lečenja obolelih.

U radu se navodi da je određivanje nivoa CEA kod bolesnika sa mCRC koji su na određenom protokolu lečenja značajno za praćenje kliničke efikasnosti primenjene terapije. Za procenu terapijske efikasnosti neophodno je vršiti monitoring vrednosti markera tokom lečenja i poređenje dobijenih rezultata sa početnim vrednostima. Za pravilnu interpretaciju dobijenih nalaza potrebo je uzeti u obzir činjenicu da primena određenih citostatika (5-FU i levamizol, oksaliplatin) može dovesti do prolaznog povećanja vrednosti u početnim fazama

lečenja, a da pri tom ne postoji progresija bolesti. Imajući ovo u vidu, preporuke Nacionalne akademije kliničke laboratorijske medicine su da svako povećanje vrednosti CEA za 30% i više ne može biti posledica primenjenih citostatika već da može ukazivati na progresiju bolesti.

Od drugih serumskih tumor markera koji se mogu određivati kod obolelih od CRC u radu su opisani CA 19-9 i CA 242. Prema navedenim rezultatima početne koncentracije i jednog i drugog markera imaju prognostički značaj kod CRC bolesnika, ali se zbog manje senzitivnosti u odnosu na CEA ne preporučuje njihova rutinska analiza kod CRC bolesnika i interpretacija dobijenih rezultata kao individualnih prognostičkih i prediktivnih parametara.

U radu De Devitis i saradnika (2014) se sasvim suprotno stavovima istraživača iz prethodne studije navodi da uloga CEA kao prognostičkog faktora kod bolesnika sa mCRC nije dovoljno razjašnjena i da se o prognostičkom značaju ovog tumor markera može govoriti u adjuvantnom segmentu praćenja bolesnika kada bi svako povišenje vrednosti ukazivalo na recidiv bolesti. Autori navode da prema rezultatima nekih studija visoke početne vrednosti CEA koreliraju sa lošijim ishodom lečenja kao i kraćim periodom ukupnog preživljavanja. Takođe, navodi se da takvi rezultati nisu potvrđeni od strane drugih istraživačkih grupa što ide u prilog nedovoljnoj pouzdanosti CEA kao prediktivnog faktora.

Selcukbiricik i saradnici (2013) su po prvi put ispitivali korelaciju između početnih visokih vrednosti CEA i CA 19-9 i mutagenog KRAS statusa. Dobijeni rezultati su pokazali da inicijalne vrednosti ispitivanih tumor markera mogu biti potencijalni prediktivni parametri mutiranog KRAS statusa što bi moglo značajno da utiče na izbor terapijskih modaliteta lečenja obolelih.

Pregledom literature se može zaključiti da se vrednosti CEA mogu uz druge klinički relevantne nalaze koristiti kao parametri za dijagnostikovanje metastatske bolesti sa jedne i procene terapijske efikasnosti lečenja sa druge strane (Duffy, 2013). Takvi stavovi su u skladu sa rezultatima naše studije koji ukazuju da je kod najvećeg broja ispitivanih bolesnika sa potvrđenom metastatskom bolešću početni nivo CEA bio znatno iznad gornje granice referentnog opsega. Takođe, dobijeni rezultati su potvrdili da je povoljan klinički efekat u smislu regresije ili stabilizacije bolesti praćen i smanjenjem vrednosti CEA.

Pouzdanost CA 19-9 kao prognostičkog parametra metastaske bolesti nije pokazana u našem ispitivanju. Takvi nalazi su u skladu sa literaturnim rezultatima.

Ispitivanja povezanosti CEA i CA 19-9 i drugih molekularnih prognostičkih parametara CRC bi imala daleko veći značaj od dosadašnjih istraživanja čiji je cilj bio da pokažu pouzdanost i značaj određivanja navedenih tumor markera kao prognostičkih i prediktivnih

biomarkera kod CRC bolesnika. Rezultati predloženih ispitivanja bi trebalo da umesto jednog prediktivnog parametra ukažu na molekularni profil koji će imati klinički potvrđen prognostički značaj i koji će kao takav moći da unapredi lečenje obolelih.

5.4. Biohemijski parametri jetre kod lečenih bolesnika

Od biohemijskih parametara korišćenih za praćenje funkcije jetre određivani su AST, ALT, ALP, GGT, LDH, bilirubin i proteini.

Na početku lečenja je između grupe bolesnika na citostatskoj terapiji i one koja je dodatno primala bevacizumab ustanovljena granično značajna razlika vrednosti za AST i ALT kao biomarkera funkcije hepatocita. Pri tome je varijabilnost vrednosti navedenih parametara bila izraženija u grupi bolesnika bez bevacizumaba. Na kraju lečenja, vrednosti AST se nisu razlikovale među grupama, dok je nivo ALT i dalje ostao granično statistički različit (Tabela 6).

Kod bolesnika kod kojih nije bilo PB do kraja lečenja vrednosti AST se nisu razlikovale između dve grupe bolesnika ni na početku ni na kraju lečenja. Suprotno tome, vrednost ALT je bila granično značajno različita ($p=0,089$) (Tabela 18).

Broj bolesnika čije su početne i krajnje vrednosti AST i ALT bile u opsegu referentnih vrednosti je bio veći u grupi sa bevacizumabom u odnosu na grupu sa konvencionalnim citostaticima (AST: 75%:52,3%; ALT: 73,07%:65,90%). U grupi bolesnika koja je primala bevacizumab, broj bolesnika čije su početne i krajnje vrednosti AST i ALT bile iznad gornje granice referentnog opsega bio je manji u odnosu na grupu bez bevacizumaba (AST: 7,69%:20,45%; ALT: 7,69%:11,36%) (Tabela 9).

Mada nije bilo dovoljno bolesnika za statističku obradu, dobijene vrednosti za broj bolesnika sa promenjenim biohemijskim statusom za AST i ALT (Tabela 12) pokazuju da je broj bolesnika čije su krajnje vrednosti za AST bile niže u odnosu na početne (koje su bile iznad gornje granice referentnog opsega) bio veći u grupi sa bevacizumabom (3,85%:0%). Pored toga, broj bolesnika sa višim krajnjim vrednostima AST u odnosu na početne bio je manji u grupi koja je primala bevacizumab (13,46%:27,27%).

Praćenjem biohemijskih parametara ekskretorne funkcije jetre ustanovljeno je da je nivo bilirubina bio u granicama referentnih vrednosti i bez značajne razlike između ispitivanih grupa i na početku i na kraju lečenja. Vrednosti ostalih parametara (ALP, LDH i GGT) nakon završenog lečenja se nisu značajno razlikovale između ispitivanih grupa bolesnika. Pri tome je varijabilnost vrednosti ispitivanih parametara koje su se ponekad kretale iznad normalnih vrednosti bila izraženija u grupi koja nije dobijala bevacizumab.

Iako se vrednosti ALP, GGT i LDH nakon završenog lečenja nisu značajno razlikovale između ispitivanih grupa bolesnika, veća varijabilnost vrednosti navedenih parametara u grupi bez bevacizumaba može biti pokazatelj izraženijeg oštećenje žučnih kanalića kod ovih

bolesnika. Međutim, za potvrđivanje ovakve hipoteze neophodno je sprovesti ispitivanje na većem broju bolesnika i korelisati dobijene rezultate sa patohistološkim nalazima tkiva jetre.

Isti se rezultati dobijaju i kod bolesnika kod kojih nije ostvarena progresija bolesti nakon lečenja (Tabela 19).

Posmatrano u odnosu na opseg referentnih vrednosti za sve parametre za funkciju žučnih kanalića karakteristično je da je u grupi sa bevacizumabom broj bolesnika čije su početne i krajnje vrednosti bile u opsegu bio veći u odnosu na kontrolnu grupu.

Istovremeno, broj bolesnika čije su početne i krajnje vrednosti bile iznad gornje granice referentnog opsega bio je manji u grupi sa bevacizumabom. Odnosno, to bi moglo ukazivati na manji hepatotoksični potencijal citostatika kada se primenjuju udruženo sa bevacizumabom.

Primena hemioterapijskih protokola za lečenje mCRC nosi sa sobom rizik od oštećenja jetre. Lečenje ovakvih bolesnika je dugotrajno i u najvećem broju slučajeva zahteva primenu visokih doza citostatika ordiniranih kroz veći broj ciklusa. Imajući to u vidu, jasno je da tkivo jetre u takvim uslovima biva oštećeno. Pregledom literature mogu se naći podaci o hepatotoksičnom efektu hemioterapijskih protokola primenjenih ne samo za lečenje mCRC već i drugih malignih oboljenja.

U zbirnom radu Ramodri i saradnika (2010) pokazano je da konvencionalni citostatici najčešće dovode do holestatskih promena koje se na biohemijskom nivou manifestuju u vidu povećanja vrednosti ALP, GGT i bilirubina, dok vrednosti transferaza mogu i ne moraju biti povišene. Autori ističu da oštećenje jetre tokom hemioterapije zavisi i od hepatotoksičnog potencijala primenjenog citostatika. Pokazano je da 5-FU i oksaliplatin, kao najčešće primenjivani neoadjuvantni protokoli prve linije za lečenje mCRC dovode do oštećenja tkiva jetre koje se manifestuje u vidu steatoze odnosno SOS. Pri tome je hepatotoksični potencijal oksaliplatina izraženiji u odnosu na 5-FU. To je i potvrđeno rezultatima brojnih studija koji ukazuju na učestaliju pojavu SOS uzrokovanu oksaliplatinom u odnosu na steatozu do koje dovodi 5-FU (Browning i Horton, 2004; Ribero i sar., 2007; Chun i sar., 2009; Klinger i sar. 2009). Hepatotoksičnom potencijalu primenjenih citostatika mogu da doprinesu i drugi faktori kao što su starosna dob, pol, genetski faktori bolesnika koji utiču na metabolizam citostatika kao i upotreba suportivne terapije koja može intereagovati sa citostaticima i pospešiti njihovu toksičnost. Za pravilnu interpretaciju biohemijskih nalaza jetre dobijenih tokom hemioterapije neophodno je osim uticaja citostatika uzeti u obzir i hepatotoksični potencijal samog tumora u smislu metastatskih promena na jetri, paraneoplastičkih efekata kao i portalne venske tromboze do koje može dovesti.

Podaci navedeni u pomenutom radu, a u pogledu hepatotoksičnog efekta bevacizumaba su u skladu sa rezultatima drugih sprovedenih istraživanja koji ukazuju da bevacizumab ne dovodi do oštećenja tkiva jetre i da umanjuje mogućnost razvoja SOS usled primene oksaliplatin (Klinger i sar., 2009). Međutim, podaci jedne studije (Brown-Glaberman i sar., 2008) pokazuju da iako retko, bevacizumab može dovesti do portalne hipertenzije koja je praćena povišenjem vrednosti transaminaza i bilirubina.

Imajući sve navedeno u vidu, jasno je da postoji veliki broj interferirajućih faktora koji utiču na nivo standardnih biohemijskih parametara funkcije jetre zbog čega se oni ne mogu koristiti kao pouzdani dijagnostički parametri hepatotoksičnog efekta hemioterapije.

Hemioterapijom uzrokovano oštećenje jetre bilo je predmet istraživanja Chuna i saradnika (2009) koji su pokazali da primenjeni terapijski protokoli lečenja mCRC ispoljavaju hepatotoksični efekat koji se osim na histološkom nivou mogao registrovati i povećanjem vrednosti određenih biohemijskih parametara, što je u skladu sa navedenim rezultatima prethodne grupe istraživača. Međutim, autori ističu da je za procenu hepatotoksičnog efekta hemioterapije zlatni standard histološka analiza tkiva, jer je praćenje putem standardnog seta biohemijskih parametara jetre nedovoljno pouzdano zbog mnogobrojnih faktora koji mogu uticati na njihove vrednosti.

U navedenim revijalnim prikazima je opisan uticaj konvencionalnih citostatika i bevacizumaba na tkivo jetre kao i uticaj standardne hemioterapije na vrednosti biohemijskih parametara jetre. Međutim, u dostupnoj literaturi nema podataka o uticaju bevacizumaba na biohemijske parametre kod bolesnika koji su lečeni udruženom upotrebom ovog biološkog leka i citostatika. Shodno tome, nije moguće porediti naše rezultate u odnosu na postojeće literaturne.

Generalno, naši rezultati pokazuju da je bevacizumab značajno povećao terapijski efekat konvencionalnih citostatika, ali da nije imao značajnog efekta na poboljšanje analiziranih biohemijskih parametara jetre.

Kod mCRC, slično drugim malignim oboljenjima jetra trpi dve vrste oštećenja uzrokovanih metastazama na jetri sa jedne i primenjenih hemioterapijskih protokola sa druge strane. Metastatske promene na jetri vrše pritisak na okolno zdravo tkivo i krvne sudove što može dovesti do većih ili manjih funkcionalnih poremećaja jetre. Pri tome, hemioterapija, zbog primarnog cilja postizanja efikasnosti, mora da bude agresivna te stoga oštećuje okolno zdravo tkivo što može ozbiljno da naruši funkcionalnost ovog vitalnog organa. Boreći se sa ova dva faktora istovremeno, jetra prema navodima iz literature (Chun i sar., 2009) kao i prema rezultatima naših ispitivanja ipak uspeva da kompenzuje oba navedena faktora i da

uporkos oštećenjima na histološkom nivou očuva homeostazu biohemijskih parametara. S obzirom na to, standardni set biohemijskih parametara funkcije jetre nije dovoljno pouzdano oruđe kojim će moći da se prati hemioterapijom uzrokovano oštećenje jetre. Zbog toga bi dalji tok istraživanja trebao da ide u pravcu pronalaženja specifičnijeg i osetljivijeg parametra kao biomarkera hepatotoksičnosti citostatika. Time bi se komplikacije i ograničenja u lečenju bolesnika u smislu obustave ordiniranja hemioterapije i nemogućnosti sprovođenja kurativne resekcije meta promena zbog narušene funkcije jetre znatno umanjile što je od vitalnog značaja za uspešnost lečenja.

6. ZAKLJUČCI

Ispitivanjem kliničke efikasnosti i hepatotoksičnosti primenjenih terapijskih protokola kod dve grupe bolesnika sa mCRC na jetri od kojih je jedna lečena primenom konvencionalnog citostatskog protokola, a druga dodatnom primenom biološkog leka (bevacizumab) ustanovljeno je sledeće:

1. Klinička efikasnost bevacizumaba u kombinaciji sa konvencionalnim citostaticima bila je značajno veća u odnosu na konvencionalnu citostatsku terapiju. To se ogledalo u povećanju broja bolesnika sa regresijom i stabilizacijom bolesti, manjem broju bolesnika sa progresijom bolesti kao i skraćenju vremena trajanja terapije.
2. Praćenjem nivoa AST i ALT kao markera funkcije hepatocita ustanovljeno je da se krajnje vrednosti AST nisu značajno razlikovale između dve grupe bolesnika iako su vrednosti praćenog parametra bile više u grupi bolesnika sa konvencionalnim citostaticima. Suprotno tome, krajnje vrednosti ALT su se granično značajno razlikovale između ispitivanih grupa bolesnika. Na osnovu dobijenih rezultata se može zaključiti da nivo AST i ALT ne može biti pouzdan marker za praćenje hemioterapijom uzrokovanog oštećenja hepatocita.
3. Nakon završenog lečenja, vrednosti ispitivanih parametara funkcije žučnih kanalića (ALP, GGT i LDH) u grupi bolesnika na citostatskoj terapiji ostaju i dalje znatno više u odnosu na referentni opseg, ali bez statistički značajne razlike u odnosu na bolesnike koji su lečeni primenom bevacizumaba. Kada je u pitanju bilirubin, nije uočena značajna razlika početnih i krajnjih vrednosti između dve grupe bolesnika.

4. Analiziranjem početnih i krajnjih nivoa markera funkcije jetre kod bolesnika bez progresije bolesti, varijabilnost vrednosti analiziranih parametara u grupi bolesnika sa standardnom terapijom je sada manje izražena što se može objasniti eliminacijom hepatotoksičnog efekta same metastaske promene. Međutim, poređenjem krajnjih vrednosti analiziranih parametara između dve grupe bolesnika nije uočena statistički značajna razlika koja bi istovremeno mogla ukazivati i na klinički značaj u smislu praćenja hepatotoksičnog efekta primenjenog protokola lečenja.

5. Poređenjem vrednosti analiziranih parametara sa postignutim kliničkim ishodom za sve bolesnike ukupno, ustanovljeno je da je GGT jedini parametar funkcije jetre čiji post- terapijski nivoi koreliraju sa kliničkim odgovorom. Bolji klinički odgovor je praćen smanjenjem vrednosti GGT nakon završenog lečenja. Međutim, kada se za svaku grupu bolesnika ponaosob porede krajnje vrednosti parametra sa postignutim kliničkim odgovorom takva korelacija nije uočena. Razlog tome može biti mali broj ispitivanih bolesnika, te je za potvrdu prognostičkog značaja GGT potrebno sprovesti dodatna istraživanja.

6. Vrednosti CEA pre početka lečenja su kod najvećeg broja ispitivanih bolesnika bile iznad referentnog opsega. Pri tome, vrednosti za CA 19-9 su bez obzira na postojanje metastatskog oboljenja bile u opsegu referentnih vrednosti. Rezultati istraživanja takođe ukazuju da nivo CEA korelira sa postignutim kliničkim ishodom lečenja što nije slučaj sa CA 19-9. Shodno dobijenim nalazima, vrednosti CEA se kod obolelih od mCRC mogu koristiti kao pouzdan prognostički i prediktivni marker, dok se rezultati za CA 19-9 ne mogu interpretirati kao takvi.

7. LITERATURA

1. Abrams TA, Meyer G, Schrag D, Meyerhardt JA, Moloney J, Fuchs CS. Chemotherapy usage patterns in a US-wide cohort of patients with metastatic colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2014; 106(2): djt371.
2. Adrienne VD, Joseph S, Ellen F, Molly DS. The Dorsophila Netrin receptor frazzled/DCC functions as an invasive tumor suppressor. *BMC Dev Biol* 2011; 11: 41.
3. American Joint Committee on Cancer. Colon and rectum in: *AJCC Cancer Staging Manual*, 7th edition. New York, NY: Springer; 2010. p. 143-164.
4. American Cancer Society. *Colorectal Cancer Facts & Figures 2014-2016*. Atlanta: American Cancer Society, 2014.
5. American Cancer Society. *Colorectal Cancer Facts & Figures 2014-2016*. Atlanta: American Cancer Society; 2016.
6. Ando Y, Fujita K, Sasaki Y, Hasegawa Y. UGT1A1*6 and UGT1A1*27 for individualized irinotecan chemotherapy. *Curr Opin Mol Ther* 2007; 9(3): 258-62.
7. Antić V. Varijacije incidence kolorektalnog karcinoma u okruzima u Srbiji. *Med J (Krag)* 2014; 48(1): 48-53.
8. Aune D, Chan DS, Lau R, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, Norat T. Dietary fibre, whole grains, and risk of colorectal cancer: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *BMJ* 2011; 343: d6617.
9. Ausprunk DH, Knighton DR, Folkman J. Differentiation of vascular endothelium in the chick chorioallantois: A structural and autoradiographic study. *Dev Biol* 1974; 38: 237-48.
10. Balducci L, Goetz-Parten D, Steinman MA. Polypharmacy and the management of the older cancer patient. *Ann Oncol* 2013; 24(Suppl7): vii36-40.
11. Begriche K, Igoudjil A, Pessayre D, Fromenty B. Mitochondrial dysfunction in NASH: causes, consequences and possible means to prevent it. *Mitochondrion* 2006; 6:1-28.
12. Benowitz NL. Cigarette Smoking and the Personalization of Irinotecan Therapy. *J Clin Oncol* 2007; 25(19): 2646-7.
13. Bresalier RS. Malignant neoplasms of the large intestine. In: Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ, editors. *Sleisenger and Fortran's Gastrointestinal and Liver Disease*, 7th edition. Philadelphia: Saunders 2002; pp. 2215-61.

14. Brockton NT. UGT1A1 polymorphisms and colorectal cancer susceptibility. *Gut* 2002; 50(6): 748-9.
15. Brown-Glaberman U, Swart R, Dragovich T, Bracamonte E, Kurtin S, Stopeck A. Hepatic injury associated with bevacizumab use in metastatic breast and colon cancers: A review of two cases. *Community Oncology* 2008; 5(10): 539-42.
16. Browning JD, Horton JD. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *J Clin Invest* 2004; 114: 147-52.
17. Bruce MB, Daniel LS, Luz R, Matthew JK, Helen S, Nicholas JP, Garth RA. Allelic losses at genomic instability-associated loci in villous adenomas and adjacent colorectal cancers. *Cancer Genet Cytogenet* 2007; 174: 9-15.
18. Cai Z, Yang J, Shu X, Xiong X. Chemotherapy-associated hepatotoxicity in colorectal cancer. *JBUON* 2014; 19(2): 350-6.
19. Cao Y, Langer R. A review of Judah Folkman's remarkable achievements in biomedicine. *PNAS* 2008; 105(36): 13203-5.
20. Carmeliet P. Angiogenesis in life, disease, and medicine. *Nature* 2005; 438: 932-6.
21. Cavallo T, Sade R, Folkman J, Cotran RS. Tumor angiogenesis: Rapid induction of endothelial mitoses demonstrated by autoradiography. *J Cell Biol* 1972; 54: 408-20.
22. Charles KA, Rivory LP, Brown SL, Liddle C, Clarke SJ, Robertson GR. Transcriptional repression of hepatic cytochrome P450 3A4 gene in the presence of cancer. *Clin Cancer Res* 2006; 12(24): 7492-7.
23. Chibaudel B, Tournigand C, André T, de Gramont A. Therapeutic strategy in unresectable metastatic colorectal cancer. *Ther Adv Med Oncol* 2012; 4(2): 75-89.
24. Chun S Yun, Laurent A, Maru D, Vauthey JN. Management of chemotherapy-associated hepatotoxicity in colorectal liver metastases. *Lancet Oncol* 2009; 10: 278-86.
25. Cook R. *Dr Folkman's War. Angiogenesis and the struggle to defeat Cancer*. New York: Random House; 2001.
26. Cornett P, Dea T. Cancer. In: Papadakis M, McPhee S, editors. *Current medical diagnosis and treatment*, 55th edition. New York, Chicago, San Francisco, Athens, London: Mc Graw Hill; 2016. p. 1615-23.
27. Cotton SC, Sharp L, Little J, Brockton N. Glutathione S-transferase polymorphisms and colorectal cancer: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 2000; 151(1): 7-32.
28. Cross AJ, Boca S, Freedman ND, Caporaso NE, Huang WY, Sinha R, et al. Metabolites of tobacco smoking and colorectal cancer risk. *Carcinogenesis* 2014; 35(7): 1516-22.
29. Cunningham D, Atkin W, Lenz HJ, Lynch HT, Minsky B, Nordlinger B, et al. Colorectal cancer. *Lancet* 2010; 375(9719): 1030-47.

30. Cutsem E, Hoff PM, Harper P, Bukowski RM, Cunningham D, Dufour P, et al. Oral capecitabine vs intravenous 5-fluorouracil and leucovorin: integrated efficacy data and novel analyses from two large, randomised, phase III trials. *Br J Cancer* 2004; 90: 1190-7.
31. Cutsem E, Rivera F, Berry S, Kretschmar A, Michael M, DiBartolomeo M, et al. Safety and efficacy of first-line with FOLFOX, XELOX, FOLFIRI, and fluoropyrimidines in metastatic colorectal cancer: the BEAT study. *Ann Oncol* 2009; 20(11): 1842-7.
32. Daly J, Levy B, Moss C, Bay C. System strategies for colorectal cancer screening at federally qualified health centers. *Am J Public Health* 2015; 105(1): 212-9.
33. De Devitiis C, Nasti G, Montano M, Fisichella R, Iaffiaoli RV, Beretta M. Prognostic and predictive response factors in colorectal cancer patients: Between hope and reality. *World J Gastroenterol* 2014; 20(41): 15049-59.
34. de Gramont A, Bosset JF, Milan C, Rougier P, Bouchè O, Etienne PL, et al. Randomized trial comparing monthly low-dose leucovorin and fluorouracil bolus with bimonthly high-dose leucovorin and fluorouracil bolus plus continuous infusion for advanced colorectal cancer: a French intergroup study. *JCO* 1997; 15(2): 808-15.
35. de Gramont A, Figer A, Seymour M, Homerin M, Hmissi A, Cassidy J, et al. Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2000; 18: 2938-47.
36. de Gramont A. Rapid evolution in colorectal cancer: therapy now and over the next five years. *Oncologist* 2005; 10(Suppl 2): 4-8.
37. Davies J, Miller R, Coleman N. Colorectal cancer screening: prospects for molecular stool analysis. *Nature Rev Cancer* 2005; 5(3): 199-209.
38. Diaz-Rubio E, Gómez-España A, Massutí B, Sastre J, Abad A, Valladares M, et al. First-line XELOX plus bevacizumab followed by XELOX plus bevacizumab or single-agent bevacizumab as maintenance therapy in patients with metastatic colorectal cancer: The Phase III MACRO TTD Study. *The Oncologist* 2012; 17: 15-25.
39. Douillard JY, Hoff PM, Skillings JR, Eisenberg P, Davidson N, Harper P, et al. Multicenter phase III study of uracil/tegafur and oral leucovorin versus fluorouracil and leucovorin in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2002; 20: 3605-16.
40. Duffy M. Tumor Markers in Clinical Practice: A Review Focusing on Common Solid Cancers. *Med Princ Pract* 2013; 22: 4-11.
41. Eisenhauser EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumors: Revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* 2009; 45(2): 228-47.
42. Ellis LM. Mechanisms of action of bevacizumab as a component of therapy for metastatic colorectal cancer. *Semin Oncol* 2006; 33(5 Suppl 10): S1-7.

43. Falcone A, Ricci S, Bruneti I, Pfanner E, Allegrini G, Barbara C, et al. Phase III of Infusional Fluorouracil, Leucovorin, Oxaliplatin, and Irinotecan (FOLFOXIRI) compared with infusional Fluorouracil, Leucovorin, and Irinotecan (FOLFIRI) as first line treatment for metastatic colorectal cancer: The Gruppo Oncologico Nord Ovest. *JCO* 2007; 25(13): 1670-6.
44. Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh J, Comber H, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer* 2013; 49(6): 1374-403.
45. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015; 136(5): E359-86.
46. Ferrara N, Hillan KJ, Gerber HP, Novotny W. Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer. *Nature Reviews Drug Discovery* 2004; 3: 391-400.
47. Field K, Lipton L. Metastatic colorectal cancer-past, progress and future. *World J Gastroenterol* 2007; 13(28): 3806-15.
48. Field MK, Dow C, Michael M. Part I: Liver function in oncology: biochemistry and beyond. *Lancet Oncol* 2008; 9: 1092-101.
49. Field MK, Michael M. Part II: Liver function in oncology: towards safer chemotherapy use. *Lancet Oncol* 2008; 9: 1181-90.
50. Folkman J. Tumor angiogenesis: Therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971; 285: 1182-6.
51. Folkman J, Haudenschild CC, Zetter BR. Longterm culture of capillary endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76: 5217-21.
52. Folkman J, Kalluri R. Cancer without disease. *Nature* 2004; 427: 787.
53. Fuchs C, Marshall J, Mitchell E, Wierzbicki R, Ganju V, Jeffery M, et al. A randomized trial of first-line irinotecan/fluoropyrimidine combinations with or without celecoxib in metastatic colorectal cancer (BICC-C). *J Clin Oncol* 2006; 24(suppl 18): S3506.
54. Goldberg RM, Sargent DJ, Morton RF, Fuchs CS, Ramanathan RK, Williamson SK, et al. A randomized controlled trial of fluorouracil plus leucovorin, irinotecan and oxaliplatin combinations in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2004; 22: 23-30.
55. Gotink KJ, Verheul HM. Anti-angiogenic tyrosine kinase inhibitors: what is their mechanism of action?. *Angiogenesis* 2010; 13(1): 1-14.
56. Green LL. Antibody engineering via genetic engineering of the mouse: XenoMouse strains are a vehicle for the facile generation of therapeutic human monoclonal antibodies. *J Immunol Methods* 1999; 231: 11-23.

57. Gressett S, Shah S. Intricacies of bevacizumab-induced toxicities and their management. *The Annals of Pharmacotherapy* 2009; 43(3): 490-500.
58. Grothey A, Sugrue M, Purdie D, Dong W, Sargent D, Hedric E, et al. Bevacizumab beyond first progression is associated with prolonged overall survival in metastatic colorectal cancer: Results from a large observational cohort study (BRiTe). *J Clin Oncol* 2008; 26: 5326-34.
59. Grothey A, Van Cutsem E, Sobrero A, Siena S, Falcone A, Ychou M, et al. Regorafenib monotherapy for previously treated metastatic colorectal cancer (CORRECT): an international, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2013; 381(9863): 303-12.
60. Gustavsson B, Carisson B, Machover D, Petrelli N, Roth A, Schmoll HJ, et al. A review of the evolution of systemic chemotherapy in the management of colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2015; 14(1): 1-10.
61. He WZ, Guo GF, Yin CX, Jiang C, Wang F, Qiu HJ, Chen XX, et al. Gamma-glutamyl transpeptidase level is a novel adverse prognostic indicator in human metastatic colorectal cancer. *Colorectal Dis* 2013; 15(8): e443-52.
62. Hoff PM, Cassidy J, Schmoll HJ. The evolution of fluoropyrimidine therapy: from intravenous to oral. *Oncologist* 2001; 6(Suppl 4): 3-11.
63. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, Cartwright T, Hainsworth J, Heim W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 350: 2335-42.
64. Hurwitz HI, Fehrenbacher L, Hainsworth JD, Heim W, Berlin J, Holmgren E, et al. Bevacizumab in combination with fluorouracil and leucovorin: an active regimen for first-line metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 3502-8.
65. Italiano JE, Richardson JL, Patel-Hett S, Batinelli E, Zaslavsky A, Short S, et al. Angiogenesis is regulated by a novel mechanism: pro- and antiangiogenic proteins are organized into separate platelet alpha granules and differentially released. *Blood* 2008; 111(3): 1227-33.
66. Jelić S. Impact of new drugs and individualization of treatment approaches in metastatic colorectal cancer. In: Baltić V, editor. 46th Annual Meeting of Oncology Section-Serbian Medical Association; 2009 Nov 12-13; Beograd: Archive of Oncology; 2009. p. 9-11.
67. Jefferis R, Lund J. Interaction sites on human IgG-Fc for FcγR: current models. *Immunol Lett* 2002; 82(1-2): 67-65.
68. Jurjus A, Eid A, Al Kattar S, Zeenny MN, Gerges-Geagea A, Haydar A, et al. Inflammatory bowel disease, colorectal cancer and type 2 diabetes mellitus: The links. *BBA Clin* 2016; 5: 16-24.

69. Kabbinavar FF, Hambleton J, Mass RD, Hurwitz HI, Bergsland E, Sarkar S. Combined analysis of efficacy: the addition of bevacizumab to fluorouracil/leucovorin improves survival for patients with metastatic colorectal. *J Clin Oncol* 2005; 23(16): 3706-12.
70. Kandutsch S, Klinger M, Hacker S, Wrba F, Gruenberger B, Gruenberger T. Patterns of hepatotoxicity after chemotherapy for colorectal cancer liver metastases. *Eur J Surg Oncol* 2008; 34(11): 1231-6.
71. Kanekiyo S, Hazama S, Kondo H, Nagashima A, Eto R, Yoshida S, et al. UDP-glucuronosyltransferase (UGT) 1A1*28 polymorphism-directed phase II study of irinotecan with 5'-deoxy-5-fluorouridine (5'-DFUR) for metastatic colorectal cancer. *Anticancer Res* 2013; 33(8): 3423-30.
72. Kap EJ, Richter S, Rudolph A, Jansen L, Ulrich A, Hoffmeister M, et al. Genetic variants in the glutathione S-transferase genes and survival in colorectal cancer patients after chemotherapy and differences according to treatment with oxaliplatin. *Pharmacogenet Genomics* 2014; 24(7): 340-7.
73. Khan N, Pandith A, Hussain M, Yousuf A, Khan M, Siddiqi M, et al. Loss of heterozygosity (LOS) of deleted in colorectal cancer (DCC) gene and predisposition to colorectal cancer: Significant association in colorectal cancer patients of Kashmir. *JCREO* 2011; 3(8): 88-94.
74. King DP, Perry CM. Hepatotoxicity of chemotherapy. *The Oncologist* 2001; 6: 162-76.
75. Klarich DS, Brassler SM, Hong MY. Moderate alcohol consumption and colorectal cancer risk. *Alcohol Clin Exp Res* 2015; 39(8): 1280-91.
76. Klinger M, Eipeldauer S, Hacker S, Herberger B, Tamandl D, Dorfmeister M, et al. Bevacizumab protects against sinusoidal obstruction syndrome and does not increase response rate in neoadjuvant XELOX/FOLFOX therapy of colorectal cancer liver metastases. *Eur J Surg Onc* 2009; 35(5): 515-20.
77. Kosmider S, Lipton L. Adjuvant therapies for colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2007; 13(28): 3799-3805.
78. Kufe DW, Major PP. 5-Fluorouracil incorporation into human breast carcinoma RNA correlates with cytotoxicity. *J Biol Chem* 1981; 256: 9802-5.
79. Labbe G, Pessayre D, Fromenty B. Drug-induced liver injury through mitochondrial dysfunction: mechanisms and detection during preclinical safety studies. *Fundam Clin Pharmacol* 2008; 22: 335-53.
80. Liefers GJ, Tollenaar RA. Cancer genetics and their application to individualized medicine. *Eur J Cancer* 2002; 38: 872-9.
81. Lim KH, Ancrile BB, Kashatus DF, Counter CM. Tumor maintenance is mediated by eNOS. *Nature* 2008; 452: 646-9.

82. Mafhud M, Breitenstein S, El-Badry AM, Puhan M, Rickenbacher A, Samaras P, et al. Impact of preoperative bevacizumab on complications after resection of colorectal liver metastases: case-matched control study. *World J Surg* 2010; 34(1): 92-100.
83. Mayer R. Lower Gastrointestinal Cancers. In: Kasper D, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson L, Loscalzo J, editors. *Harrison's principles of internal medicine*, 30th edition. New York, Chicago, San Francisco, Athens, London: Mc Graw Hill Education; 2016. p. 537-44.
84. Mehlen P, Fearon E. Role of the dependence receptor DCC in colorectal cancer pathogenesis. *JCO* 2004; 22(16): 3420-8.
85. Miyake K, Hayakawa K, Nishino M, Morimoto T, Mukaihara S. Effects of oral 5-fluorouracil drugs on hepatic fat content in patients with colon cancer. *Acad Radiol* 2005; 12: 722-27.
86. Nagorni A, Katić V, Živković V, Stanojević G. Advanced colorectal adenoma. *Arch Oncol* 2004; 12(Suppl1).
87. National Comprehensive Cancer Network. *Clinical Practice Guidelines in Oncology, Colon Cancer v2.0 2013*. Available at http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/PDF/colon.pdf. accessed on February 11 2012.
88. NCI-Common Toxicity Criteria, Version 2.0. National Cancer Institute, Division of Cancer Treatment; 1999.
89. Noordhuis P, Holwerda U, Van der Wilt CL, Van Groenigen CJ, Smid K, Meijer S, et al. 5-Fluorouracil incorporation into RNA and DNA in relation to thymidylate synthase inhibition of human colorectal cancers. *Annals of Oncol* 2004; 15: 1025-32.
90. Norat T, Bingham S, Ferrari P, Slimani N, Jenab M, Mazuir M, et al. Meat, fish and colorectal cancer risk: The European prospective investigation into cancer and nutrition. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97(12): 906-16.
91. Ortega AL, Mena S, Estrela JM. Oxidative and nitrosative stress in the metastatic microenvironment. *Cancers* 2010; 2: 274-304.
92. Oukarim DA, Pizot C, Boniol M, Malvezzi M, Boniol M, Negri E, et al. Trends in colorectal cancer mortality in Europe: retrospective analysis of the WHO mortality database. *BMJ* 2015; 351: h4970.
93. Papamichael D. The use of thymidylate synthase inhibitors in the treatment of advanced colorectal cancer: current status. *Oncologist* 1999; 4: 478-87.
94. Pawlik TM, Schulick RD, Choti MA. Expanding criteria for resectability of colorectal liver metastases. *Oncologist* 2008; 13(1): 51-64.
95. Pelicano H, Carney D, Huang P. ROS stress in cancer cells and therapeutic implications. *Drug Resist Updat* 2004; 7: 97-110.

96. Perea J, Cano J, Rueda D, Garcia J, Inglada L, Osorio I, et al. Classifying early-onset colorectal cancer according to tumor location: new potential subcategories to explore. *Am J Cancer Res* 2015; 5(7): 2308-13.
97. Popov I, Tarabar D, Jovanović D, Kovčín V, Micev M, Petrović Z, et al. Efficacy and safety of bevacizumab in combination with oxaliplatin, irinotecan and fluoropyrimidine-based therapy in advanced colorectal cancer. *Arch Oncol* 2007; 15(1-2): 10-4.
98. Porebska I, Harlozinska A, Bojarowski T. Expression of the tyrosine kinase activity growth factor receptors (EGFR, ERB B2, ERB B3) in colorectal adenocarcinomas and adenomas. *Tumour Biol* 2000; 21: 105-115.
99. Presta LG, Chen H, O'Connor SJ, Chisholm V, Meng G, Krummen L, et al. Humanization of an Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Monoclonal Antibody for therapy of solid tumors and other disorders. *Cancer Res* 1997; 57 (20): 4593-9.
100. Ramodri G, Cameron S. Effects of systemic chemotherapy on the liver. *Annals of Hepatology* 2010; 9(2): 133-43.
101. Reynolds JM, Chamberland-Tremblay A, Song J, Herington JD, Wong L. High- versus low-dose leucovorin in the FOLFOX regimen for metastatic colorectal cancer (mCRC). *J Clin Oncol* 2014; 32: e14583.
102. Ribero D, Wang H, Donadon M, Zorzi D, Thomas M, Eng C, et al. Bevacizumab improves pathologic response and protects against hepatic injury in patients treated with Oxaliplatin-based chemotherapy for colorectal liver metastases. *Cancer* 2007; 110: 2761-7.
103. Rivory LP, Slaviero KA, Clarke SJ. Hepatic cytochrome P450 3A drug metabolism is reduced in cancer patients who have an acute-phase response. *Br J Cancer* 2002; 87(3): 277-80.
104. Rothenberg ML, Oza AM, Bigelow RH, Berlin JD, Marshall JL, Ramanathan RK, et al. Superiority of oxaliplatin and fluorouracil-leucovorin compared with either therapy alone in patients with progressive colorectal cancer after irinotecan and fluorouracil-leucovorin: interim results of a phase III trial. *J Clin Oncol* 2003; 21: 2059-69.
105. Saif MW, Alexander D, Wicox CM. Serum Alkaline Phosphatase Level as a Prognostic Tool in Colorectal Cancer: A Study of 105 patients. *J Appl Res* 2005; 5(1): 88-95.
106. Saltz LB, Cox JV, Blanke C, Rosen LS, Fehrenbacher L, Moore MJ, et al. Irinotecan plus fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. Irinotecan Study Group. *N Engl J Med* 2000; 343: 905-14.
107. Saltz BL, Clarke S, Diaz-Rubio E, Scheithauer W, Figer A, Wong R, et al. Bevacizumab in combination with oxaliplatin-based chemotherapy as first line therapy in metastatic colorectal cancer: A randomized phase III study. *J Clin Oncol* 2008; 26: 2013-9.

108. Sampson JR, Dolwani S, Jones S, Eccles D, Ellis A, Evans DG, et al. Autosomal recessive colorectal adenomatous polyposis due to inherited mutations of MYH. *Lancet* 2003; 362(9377) : 39-41.
109. Schima W, Kulinna C, Langenberger H, Ba-Salamah A. Liver metastases of colorectal cancer: US, CT or MR. *Canc Imag* 2005; 5: S149-55.
110. Selcukbiricik F, Bilici A, Tural D, Erdamar S, Soyuk O, Buyukunal E, et al. Are high initial CEA and CA 19-9 levels associated with the presence of K-ras mutation in patients with metastatic colorectal cancer? *Tumour Biol* 2013; 34: 2233-9.
111. Siegel R, Miller K, Jemal A. Cancer statistics 2015. *CA Cancer J Clin* 2015; 65: 5-29.
112. Simmonds PC, Primrose JN, Colquitt JL, Garden OJ, Poston GJ, Rees M. Surgical resection of hepatic metastases from colorectal cancer: a systematic review of published studies. *Br J Cancer* 2006; 94(7): 982-99.
113. Singh-Majkić N. Klinička enzimologija. Beograd: AID Praktikum; 1993.
114. Stewart SL, Wike JM, Kato I, Lewis DR, Michaud F. A population-based study of colorectal cancer histology in the United States, 1998-2001. *Cancer* 2006; 107(5Suppl): 1128-41.
115. Stigliano V, Sanchez- Mete L, Martayan A, Anti M. Early-onset colorectal cancer: A sporadic or inherited disease? *World J Gastroenterol* 2014; 20(35): 12420-30.
116. Strickler J, Hurwitz H. Bevacizumab-based therapies in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *The Oncologist* 2012; 17: 513-24.
117. Strul H, Arber N. Screening Techniques for prevention and early detection of colorectal cancer in the average-risk population. *Gastrointest Cancer Res* 2007; 1(3): 98-106.
118. Sturgeon C, Duffy M, Stenman U, Lilja H, Brünner N, Chan D, et al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines for Use of Tumor Markers in Testicular, Prostate, Colorectal, Breast, and Ovarian Cancers. *Clin Chem* 2008; 54(12): e11-79.
119. Sunwoo JB, Chen Z, Dong G, Yeh N, Bancroft C, Sausville E, et al. Novel proteasome inhibitor PS-341 inhibits activation of nuclear factor- κ B, cell survival, tumor growth, and angiogenesis in squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 1419-28.
120. Tamandl D, Klinger M, Eipeldauer S, Herberg B, Kaczirek K, Grunberger B, et al. Sinusoidal obstruction syndrome impairs long-term outcome of colorectal liver metastases treated with resection after neoadjuvant chemotherapy. *Ann Surg Onc* 2011; 18: 421-30.
121. Tarabar D. Uvod u inflamatorne bolesti creva. Beograd: Bit inžinjering; 2011.

122. Tascilar M, de Jong F, Verweij J, Mathijssen R. Complementary and alternative medicine during cancer treatment: Beyond innocence. *The Oncologist* 2006; 11:732-41.
123. Tuğba G, Halit D, Çetin KM. Tumor markers and biochemical parameters in colon cancer patients before and after chemotherapy. *Asian Pacific J Cancer Prev* 2011; 12: 3147-50.
124. Weinerman B, Shah A, Fields A, Cripps IC, Wilson K, McCormick R, Temple W, Maroun J, Bogues W, Pater J. Systemic infusion versus bolus chemotherapy with 5-fluorouracil in measurable metastatic colorectal cancer. *Am J Clin Oncol* 1992; 15: 518-523.
125. Willett CG, Boucher Y, di Tomaso E, Duda DG, Munn LL, Tong RT, et al. Direct evidence that the VEGF-specific antibody bevacizumab has antivascular effects in human rectal cancer. *Nat Med* 2004; 10(2): 145-7.
126. World Health Organization, Cancer Country Profiles, 2014.
127. Worthley D, Whitehall V, Spring K, Leggett B. Colorectal carcinogenesis: Road maps to cancers. *World J Gastroenterol* 2007; 13(28): 3784-91.
128. Worthley D, Leggett B. Colorectal cancer: molecular features and clinical opportunities. *Clin Biochem Rev* 2010; 31(2): 31-8.
129. van der Bol JM, Mathijssen RH, Loos WJ, Friberg LE, van Schaik RH, de Jonge MJ. Cigarette Smoking and Irinotecan Treatment: Pharmacokinetic Interaction and Effects on Neutropenia. *J Clin Oncol* 2007; 25(19): 2719-26.
130. Van Cutsem E, Peeters M, Siena S, Humblet Y, Hendlisz A, Neyns B, et al. Open-label phase III trial of panitumumab plus best supportive care compared with best supportive care alone in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25(13): 1658-64.
131. Vauthey JN, Pawlik TM, Ribero D, Wu TT, Zorzi D, Xiong HQ, et al. Chemotherapy regimen predicts steatohepatitis and an increase in 90-day mortality after surgery for hepatic colorectal metastases. *J Clin Oncol* 2006; 24(13): 2065–72.
132. Volk AM, Fritzmann J, Reissfelder C, Weber GF, Weitz J, Rahbari NN. Impact of Bevacizumab on parenchymal damage and functional recovery of the liver in patients with colorectal liver metastases. *BMC Cancer* 2016; 16(1): 84.
133. Zhang H, Barceló JM, Lee B, Kohlhagen G, Zimonjic D, Popescu N, Pommier Y. Human mitochondrial topoisomerase I. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98(19): 10608-13.
134. Zorzi D, Laurent A, Pawlik TM. Chemotherapy-associated hepatotoxicity and surgery for colorectal liver metastases. *Br J Surg* 2007; 94: 274–86.

BIOGRAFIJA

Kristina Denić je rođena 01.08.1985. godine u Strumici, BJR Makedonija. Osnovnu i srednju medicinsku školu, smer farmaceutski tehničar je završila u Leskovcu. Studije na Farmaceutskom fakultetu Univerziteta u Beogradu upisala je školske 2004/05. i diplomirala kao prva u generaciji 2009. sa prosečnom ocenom 8,58. Diplomski rad iz Botanike „Zaštita samoniklog lekovitog bilja“ položila je sa ocenom 10.

Po diplomiranju upisala je doktorske studije školske 2010/11. godine iz Farmakologije na Farmaceutskom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

Od 1. februara 2012. godine radi kao analitičar u Odeljenju za toksikološku hemiju Nacionalnog centra za kontrolu trovanja, Vojnomedicinske akademije u Beogradu. Od oktobra iste godine, odlukom Nastavno-naučnog veća Medicinskog fakulteta, Univerziteta Ministarstva Odbrane (MO), angažovana je kao saradnik u nastavi na predmetu Medicinska hemija.

Do sada je objavila 2 naučna rada u časopisima međunarodnog značaja, 17 radova iz oblasti farmakologije i toksikologije u domaćem časopisu od nacionalnog značaja kategorije M52. Učestvovala je na međunarodnim kongresima u inostranstvu i zemlji, iz oblasti Toksikologije. Na VI kongresu Farmaceuta Srbije sa međunarodnim učešćem autor je nagrađenog apstrakta. Učestvovala je kao predavač kontinuiranih edukacija iz oblasti Toksikologije organizovanih od strane Srpskog lekarskog društva. Koautor je udžbenika za praktičnu nastavu predmeta Medicinska hemija.

Tokom 2010. godine bila je na stručnom stažu (Centralna Apoteka – Apoteka Leskovac, Bolnička apoteka – Leskovac, Zdravlje Actavis Group, Leskovac), nakon čega je položila državni ispit januara 2011. godine.

Član je Farmaceutske komore Srbije od 2011. godine.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Кристина Денић

број уписа 9/10

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Хепатотоксичност цитотоксичне комбиноване хемиотерапије са биолошком терапијом

или без ње код болесника са метастатским колоректалним карциномом

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

Потпис докторанда

У Београду, 18.10.2016.

Denić

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Кристина Денић

Број уписа 9/10

Студијски програм докторске академске студије из фармакологије

Наслов рада Хепатотоксичност цитотоксичне комбиноване хемиотерапије са биолошком терапијом или без ње код болесника са метастатским колоректалним карциномом

Ментор проф. др Ненад Угрешић, проф. др Дино Тарабар

Потписани Кристина Денић

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања 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 докторанда

У Београду, 18.10.2016.

Denic

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

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

Хепатотоксичност цитотоксичне комбиноване хемиотерапије са биолошком терапијом

или без ње код болесника са метастатским колоректалним карциномом

која је моје ауторско дело.

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

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

1. Ауторство

2. Ауторство - некомерцијално

3. Ауторство – некомерцијално – без прераде

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима

5. Ауторство – без прераде

6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 18.10.2016.

Denić