

UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Marina Ž. Roksandić Milenković

**ODNOS SERUMSKIH PARAMETARA
SISTEMSKE INFLAMACIJE, OKSIDATIVNOG
STRESA I LIPIDNOG STATUSA KAO
ZAJEDNIČKIH BIOMARKERA ZA
IDIOPATSKU PLUĆNU FIBROZU I
NESITNOĆELIJSKI KARCINOM PLUĆA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Beograd, 2019

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF MEDICINE

Marina Ž. Roksandić Milenković

**CORRELATION BETWEEN SERUM
PARAMETERS OF SYSTEMIC
INFLAMMATION, OXIDATIVE STRESS
AND LIPID STATUS
AS COMMON BIOMARKERS FOR
IDIOPATHIC PULMONARY FIBROSIS AND
NON-SMALL CELL LUNG CANCER**

DOCTORAL DISSERTATION

Belgrade, 2019

Mentor:

Prof. dr Dragana Jovanović

Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet

Članovi komisije:

Prof. dr Violeta Mihailović-Vučinić

Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet

Prof. dr Vesna Škodrić-Trifunović

Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet

Prof. dr Ljudmila Nagorni-Obradović

Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet

Prof. dr Jelena Kotur-Stevuljević

Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet

Prof. dr Zorica Lazić

Univerzitet u Kragujevcu, Medicinski fakultet

Datum odbrane.....

Dvojici posebnih ...

Onom, koji je mene voleo više od života,

Onom, koga ja volim više od života

Zahvaljujem se...

Svom mentor, Prof. dr Dragani Jovanović, na ukazanom velikom poverenju i strpljenju, kao i na neizmernoj pomoći i podršci tokom izrade ove disertacije. Uvek ćete biti i ostati moj veliki uzor, a iznad svega prijatelj.

Prof. Jeleni Kotur Stevuljević na velikoj pomoći u eksperimentalnom delu ovog istraživanja, statističkoj analizi i svim konstruktivnim savetima.

Prof. dr Violeti Mihailović-Vučinić, Prof. dr Vesni Škodrić-Trifunović, Prof. dr Ljudmili Nagorni-Obradović i Prof. dr Zorici Lazić, na izvanrednoj saradnji i veoma korisnim sugestijama i savetima.

Svim kolegama sa Klinike za pulmologiju, Kliničkog centra Srbije, koje su mi pomogle tokom izrade ove disertacije, posebno dr Vesni Ćeriman Krstić, dr Mihailu Stjepanoviću, dr Miliji Gajić, dr Branislavu Iliću, kao i dr Damjanu Mirkovu. Takođe, zahvaljujem se kolektivima VI odeljenja i Odeljenja za funkcionalnu dijagnostiku, a naročito kolektivu Dnevne bolnice i glavnoj sestri, Tijani Arsić.

Posebno se zahvaljujem Prof. dr Mariji Mitić Milikić, koja me je uvela u svet interne medicine i nauke, i koja je uvek bila i ostala moj veliki uzor.

Najveću zahvalnost dugujem svojoj porodici...

...majci Radi i ocu Željku, bez čije bezgranične ljubavi sve ovo nikada ne bi bilo moguće,

...suprugu Vladislavu i sinu Urošu, bez kojih sve ovo ne bi imalo nikakav smisao

ODNOS SERUMSKIH PARAMETARA SISTEMSKE INFLAMACIJE, OKSIDATIVNOG STRESA I LIPIDNOG STATUSA KAO ZAJEDNIČKIH BIOMARKERA ZA IDIOPATSKU PLUĆNU FIBROZU I NESITNOĆELIJSKI KARCINOM PLUĆA

Rezime

Uvod: Idiopatska plućna fibroza (IPF) ima zajedničke faktore rizika sa karcinomom pluća, posebno nesitnoćelijskim, kao i značajne sličnosti u svom patofiziološkom procesu, pri čemu su oba oboljenja povezana sa lošim ishodom. Cilj ove studije bio je da se procene parametri inflamacije (C reaktivni protein - CRP, serum amiloid A1 - SAA1, ligand programirane ćelijske smrti 1 - PD-L1), oksidativnog stresa i lipidnog statusa, kao potencijalni dijagnostički i prognostički biomarkeri kod idiopatske plućne fibroze i karcinoma pluća, kao i da se uporede sličnosti i razlike između ove dve bolesti. **Metode:** Ovim istraživanjem obuhvaćeno je 30 pacijenata sa IPF i 115 pacijenata sa karcinomom pluća, lečenih na Klinici za pulmologiju, KCS. Pored kliničkih i parametara disajne funkcije (spirometrija, difuzija, telesna pletizmografija), određivani su serumski parametri inflamacije (CRP, SAA1, PD-L1), oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite, lipidnog statusa, vitamin D. **Rezultati:** Pacijenti sa IPF imali su značajno niže koncentracije prooksidativno-antioksidativni balans (PAB) ($P < 0,001$), O_2^- i totalni oksidativni status (TOS) ($P < 0,01$) u odnosu na obolele od karcinoma pluća. IPF imali su značajno višu koncentraciju CRP u odnosu na pacijente sa adenokarcinomom pluća, a značajno nižu u odnosu na skvamocelularni i mikrocelularni karcinom pluća. Koncentracija SAA1 je bila povišena pod obe ispitivane grupe pacijenata, ali bez značajne razlike između njih. Vrednosti sPD-L1 bile su značajno povišene i kod pacijenata sa IPF 297,5 ng/l (117,7-545,9 ng/l) i kod obolelih od karcinoma pluća 182,84 ng/L (100,7-303,4 ng/L), a koje su značajno veće u odnosu na zdravu kontrolnu grupu 89,9 ng/L (57,5–119,7ng/l), $P < 0,01$. Pacijenti sa IPF imali su značajno više koncentracije PD-L1 u odnosu na adenokarcinom, dok se koncentracije nisu značajno razlikovale u odnosu na skvamocelularni i mikrocelularni karcinom pluća. Oboleli od IPF imali su tešku deficijenciju vitamina D (11,0 ng/ml -ug/L,) uz značajno razliku ($P < 0,01$) u odnosu na

pacijente sa NSCLC, kod kojih je takođe postojala deficijencija (17,2 ng/ml -ug/L).

Zaključak: S obzirom da su kod pacijenata sa IPF značajno bili povišeni parametri inflamacije (CRP, SAA1, PD-L1) i oksidativnog stresa, potrebno ih je dalje evaluirati (na većem broju ispitanika) kao potencijalne prognostičke i/ili prediktivne biomarkere za IPF. Povišene vrednosti PD-L1 kod obolelih od IPF mogle bi da govore u prilog zajedničke biologije IPF i karcinoma pluća, što bi potencijalno moglo da otvori razmišljanja o novim terapijskim modalitetima kod ovih pacijenata.

Ključne reči: idiopatska pluća fibroza, karcinom pluća, oksidativni stres, CRP, SAA1, PD-L1, lipidni status, vitamin D

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Pulmologija

UDK BR:

CORRELATION BETWEEN SERUM PARAMETERS OF SYSTEMIC INFLAMMATION, OXIDATIVE STRESS AND LIPID STATUS AS COMMON BIOMARKERS FOR IDIOPATHIC PULMONARY FIBROSIS AND NON-SMALL CELL LUNG CANCER

Abstract

Introduction: Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) has common risk factors with lung cancer, in particular with non-small cell lung cancer (NSCLC), and significant similarities in its pathobiology process, both diseases associated having poor outcome. The aim of this study was to evaluate the parameters of inflammation (C reactive protein - CRP, serum amyloid A1 - SAA1, programmed death-ligand 1 - PD-L1), oxidative stress and lipid status, as potential diagnostic and prognostic biomarkers in idiopathic pulmonary fibrosis and lung cancer, along with evaluation of the relating similarities and differences between those two diseases. **Methods:** This study enrolled 30 patients with IPF and 115 patients with lung cancer, diagnosed and treated at the Pulmonology Clinic, Clinical Center of Serbia. In addition to clinical and respiratory function parameters (spirometry, diffusion, body plethysmography), serum parameters of inflammation (CRP, SAA1, PD-L1), oxidative stress and antioxidant protection, lipid status, vitamin D were determined. **Results:** IPF patients had significantly lower concentrations of pro-oxidant-antioxidant balance (PAB) ($P < 0.001$), O₂- and total oxidative status (TOS) ($P < 0.01$) compared with lung cancer patients. They had a significantly higher CRP concentration compared to patients with lung adenocarcinoma, and significantly lower than squamous cell and small cell lung cancer as well. The SAA1 concentration was elevated in both investigated patient groups (IPF, lung cancer), but without a significant difference between them. The sPD-L1 values were significantly increased in patients with IPF 297.5 ng/l (117.7-545.9 ng/l) and in patients with lung cancer 182.84 ng/L (100.7-303,4 ng/L), both significantly higher compared to a healthy control group of 89.9 ng/L (57.5-119.7ng/l), $P < 0.01$. Patients with IPF had significantly higher levels of PD-L1 than adenocarcinoma, while concentrations did not differ significantly from squamous cell- and small cell lung cancer patients. Patients with IPF had a severe deficiency of vitamin D (11.0 ng/m - ug/L) with

a significant difference ($P < 0.01$) compared to patients with NSCLC, in whom a deficiency (17.2 ng/ml - ug/L) was observed as well. **Conclusion:** Since the parameters of inflammation (CRP, SAA1, PD-L1) and oxidative stress were significantly increased in IPF patients, they should be further evaluated (in a larger number of subjects) as potential prognostic and/or predictive biomarkers for IPF. Increased PD-L1 levels in patients with IPF suggest some common points in biology of IPF and lung cancer, so potentially opening up new possible therapeutic modalities in these patients.

Key words: idiopathic pulmonary fibrosis, lung cancer, oxidative stress, inflammation, CRP, SAA1, PD-L1, lipid status, vitamin D

Scientific field: Medicine

Special topic: Pulmonology

UDK BR:

Sadržaj:

1. UVOD	1
1.1 IDIOPATSKA PLUĆNA FIBROZA	1
1.1.1 Epidemiologija	1
1.1.2 Etiopatogeneza	2
1.1.2.1 Oksidativni stres/antioksidativna zaštita	3
1.1.2.2 Genetika.....	5
1.1.2.3 Ostali etiopatogenetski faktori.....	5
1.1.3 Klinička slika.....	6
1.1.4 Dijagnostički pristup	7
1.1.5 Klinički tok.....	14
1.1.6 Evaluacija težine bolesti i prognoza - Skoring sistemi	16
1.1.7 Terapija.....	18
1.2 KARCINOM PLUĆA.....	19
1.2.1 Epidemiologija	19
1.2.2 Faktori rizika	20
1.2.3 Etiopatogeneza	21
1.2.3.1 Genetika.....	21
1.2.3.2 Oksidativni stres/antioksidativna zaštita	22
1.2.4 Klinička slika.....	24
1.2.5 Dijagnostika	24
1.2.6 Terapija.....	29
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	31
3. MATERIJAL I METOD	32
3.1. TIP STUDIJE:.....	32
3.2 MESTO I PERIOD ISTRAŽIVANJA:.....	32
3.3 SELEKCIJA ISPITANIKA:	32
3.4 INSTRUMENTI MERENJA	32
4. REZULTATI.....	35
4.1 IDIOPATSKA PLUĆNA FIBROZA	35

4.1.1. Osnovni socio-demografski i antropometrijski podaci	35
4.1.2 Kliničke i funkcionalne karakteristike	37
4.1.3 Biohemijski, inflamatorni i parametri oksidativnog stresa i lipidnog statusa	40
4.1.4 Korelacione analize	42
4.2 KARCINOM PLUĆA.....	45
4.2.1 Osnovni socio-demografski i antropometrijski podaci	45
4.2.2 Kliničke karakteristike	46
4.2.3 Biohemijski, inflamatorni i parametri oksidativnog stresa i lipidnog statusa	50
4.2.4 Korelacione analize	58
4.3 IPF VS. KARCINOM PLUĆA.....	59
5. DISKUSIJA	63
6. ZAKLJUČCI	91
7. LITERATURA:	93

1. UVOD

1.1 IDIOPATSKA PLUĆNA FIBROZA

Intersticijske bolesti pluća (ILD), predstavljaju heterogenu grupu difuznih parenhimskih bolesti pluća, sličnih kliničkih, radiografskih, fizioloških i/ili patoloških karakteristika, poznate i nepoznate etiologije. Termin "intersticijski" odražava da poremećaj počinje u intersticijumu, ali je većina ovih poremećaja povezana i sa velikim promenama arhitekture disajnih puteva, alveola i krvnih sudova. U grupu ILD spada preko hiljadu različitih oboljenja, među kojima je i idiopatska plućna fibroza (IPF). Prve slučajeve, koji bi danas odgovarali pojmu idiopatske plućne fibroze opisali su Hamman i Rich još davne 1935.godine, i to kao akutnu intersticijsku fibrozu pluća (1). U Evropi je, ranijih godina, bila poznata kao kriptogeni fibrozirajući alveolitis (CFA) (2).

Danas se, idiopatska plućna fibroza (IPF), definiše kao smrtonosna bolest, nepoznatog uzroka, koja se javlja kod genetski predodređenih pojedinaca i predstavlja specifičan kliničko-patološki sindrom, primarno kod osoba starijeg životnog doba (3). To je oblik hronične, progresivne, fibrozirajuće intersticijske pneumonije (4). Bolest je ograničena na pluća sa histopatološkim i/ili radiološkim nalazom uobičajene intersticijske pneumonije (UIP) (5). Da bi se postavila dijagnoza IPF, neophodno je da se prethodno isključe sve druge intersticijske bolesti pluća, idiopatske, vezane za ekspoziciju različitim štetnih agensima i lekovima, ali i one koje nastaju kao posledica sistemske bolesti.

IPF nastaje kompleksnom interakcijom faktora okoline, razvojnih, genetskih i epigenetskih uticaja, sa prosečnim preživljavanjem 3-6 godina od trenutka postavljanja dijagnoze (1,5).

1.1.1 Epidemiologija

IPF spada u retke bolesti. Tačna incidenca i prevalenca IPF nisu poznate i veoma se razlikuju u zavisnosti od kriterijuma korišćenih za definisanje. Procenjena globalna incidenca se kreće u širokom rasponu (u zavisnosti od autora) i iznosi 1.2-90.6/100 000 ljudi godišnje, dok se procenjena prevalenca IPF kreće se između 2 i 43 slučaja na 100000 u opštoj populaciji i raste sa starijim životnim dobom (1,4). Tipično se javlja u šestoj i sedmoj deceniji života, retka je u mlađih od 50 godina. IPF je značajno češća u

muškaraca, a većina obolelih su pušači. Nepoznato je da li su na incidencu i prevalencu od uticaja geografski, etnički, kulturni ili rasni faktori (5).

Prosečno preživljavanje kod pacijenata sa IPF iznosi 3-6 godina od momenta postavljanja dijagnoze (1,5). Smrtnost kod ovih pacijenata raste sa životnom dobi. Interesantni su podaci tri studije, koji su pokazali bolje preživljavanje kod aktivnih i bivših pušača, u odnosu na nepušače, a ovaj “protektivni efekat” pušenja je objašnjen mogućim inhibitorynim efektom duvanskog dima na proliferaciju i hemotaksu fibroblasta u plućima. S druge strane, Antoniou i saradnici u svojoj studiji sprovedenoj na 249 pacijenata sa IPF, pokazali su da pušenje nema efekat na dužinu preživljavanja (4).

1.1.2 Etiopatogeneza

Mehanizam progresivne fibroze u IPF još uvek je nedovoljno razjašnjen.

Pretpostavlja se da multiple mikropovrede alveolnih epitelnih ćelija indukuju fibrotsko okruženje, i da faktori rasta koje sekretuju povređene epitelne ćelije, aktiviraju i regrutuju fibroblaste. Povreda epitela dovodi do indukcije, aktivacije, proliferacije i diferencijacije fibroblasta, koji se potom, zajedno sa miofibroblastima organizuju se u fibroblastna ognjišta, tj. Fokuse, oko kojih se, u ekstracelularnom matriksu, taloži višak kolagena. Tip 3 kolagen je dominantan oblik kolagena u oblastima rane fibroze, dok tip 1 kolage dominira u oblastima zrele, uznapreodvale fibroze. Nije potpuno razjašnjeno da li je inflamacija, koja se povlači pre kliničkog ispoljavanja IPF, inicirajući stimulus za razvoj IPF, ili je aberantni odgovor epitelnih ćelija i fibroblasta na nespecifičnu povredu, tj. fibrotski odgovor u odsustvu inflamacije.

Pretpostavlja se da je u osnovi patogeneze IPF kompleksna interakcija različitih faktora rizika (pušenje, polutanti okoline, hronična mikroaspiracija), ćelijskog oksidativnog stresa, razvojnih, genetskih (oštećenja DNK) i epigenetskih alteracija (DNK metilacija, modifikacija histone – acetilacija i metilacija, neregularnosti mikroRNK, virusa (6,7).

1.1.2.1 Oksidativni stres/antioksidativna zaštita

Niz studija je pokazao da neravnoteža u sistemu oksidanasa i antioksidanasa ima značajnu uloga u patogenezi IPF. Oksidativni stres je jedan od ključnih mehanizama fibrogeneze u različitim tkivima, pa i u plućima. U bolesnika sa IPF beleže se povišene vrednosti oksidanasa uz deficit ekstracelularnog glutaciona. Beleže se povišene vrednosti 8-izoprostana, mijeloperoksidaza, kao i izdahnutog H₂O₂ i NO, što ukazuje na to da ovi pacijenti imaju pojačan i oksidativni i nitrozativni stres. Na postojanje disbalansa ukazuju i promenljive vrednosti antioksidanasa (snižen GSH, MnSOD, CAT, GCL, tioredoksin, glutaredoksin, hemoksigenaza1) (8,9).

Različiti mehanizmi razgradnje ekstracelularnog matriksa proteolitičkim procesima, mogu dovesti do fibroznog oštećenja pluća. Opisuje se disbalans proteaza/antiproteaza u korist proteaza, a posebno matriks metaloproteinaze 1, MMP-1 (poznata i kao kolagenaza 1), čija uloga u IPF još uvek nije dovoljno poznata i pretpostavlja se da dovodi do stvaranja cistica (honey combing”), kao i MMP-7 (matrilizin) koja dovodi do promena u alveolarnoj strukturi. Takođe, opisuju se i povišene vrednosti MMP-3 (stromelisin 1 - povećanje aktivnosti profibrotskih medijatora/sniženje aktivnosti antifibrotskih medijatora), MMP-8 (promoviše migraciju fibrocita), MMP-9 (abnormalna migracija epitelnih ćelija). U istraživanjima sprovedenim na miševima, dve MMP (MMP-13 i MMP-19) se opisuju da imaju antifibrotsko dejstvo, što se može smatrati potencijalno značajnim otkrićem u terapijskom smislu (10-12).

Oksidansi mogu da doprinesu razvoju plućne fibroze i svojim direktnim efektom na citokine i faktore rasta.

Transformišući faktor rasta beta (TGF β) je jedan od najviše proučavanih profibrotskih citokina. Smatra se “glavnim prekidačem” u fibrotskom procesu.

Kod idiopatske plućne fibroze, ekstenzivno TGF taloženje se može detektovati imunohistohemijskim bojanjem, prvenstveno u epitelnim ćelijama u oblastima regeneracije i remodeliranja pluća, što sugeriše da proces stvaranja plućne fibroze može biti aberantni process reparacije.

U plućima, TGF β proizvodi više različitih tipova ćelija, uključujući alveolarne makrofage, neutrofile, aktivirane alveolarne epitelne ćelije, endotelne ćelije, fibroblaste i miofibroblaste. Kada se aktivira, TGF β je plejotropni faktor rasta sa potentnim

hemotaktičkim i proliferativnim svojstvima, koji indukuje regrutovanje makrofaga i fibroblasta, kao i proliferaciju fibroblasta preko ekspresije faktora rasta izvedenog iz trombocita (PDGF). U ovim ćelijama, TGF β takođe stimuliše ekspresiju određenog broja proinflamatornih i fibrogenskih citokina, kao što su TNF α , PDGF, IL-1b ili IL-13, čime se dodatno pojačava i održava fibrotski odgovor (13). TGF β je ključni regulator, kako fiziološke reparacije, tako i aberantnih mehanizama oštećenja, karakterističnih za mnoga fibrozna oboljenja, uključujući i IPF. Oslobađa se ubrzo nakon oštećenja i deluje primarno kao proinflamatorni molekul. Kasnije se funkcija TGF β pomera ka rezoluciji inflamacije i inicijaciji reparacije, pa je tako, prisustvo hronične fibroze ustvari posledica održavanja neprekinutog procesa reparacije nakon rezolucije inflamacionog odgovora. Smatra se dakle, da TGF β može biti važan medijator hroničnog, ali abnormalnog odgovora reparacije. Na primer, za TGF β je glavni regulator regrutovanja, aktivacije i diferencijacije miofibroblasta u ranim stadijumima tkivnog oporavka. Održavanje miofibroblastnog fenotipa u oblastima aktivne fibroze je karakterističan nalaz kod plućne fibroze. Takođe, TGF β sam može da stimuliše akumulaciju ekstraćelijskog matriksa preko povećane transkripcije kolagene mRNK. Postoji nekoliko potencijalnih interakcija između TGF β i oksidansa/antioksidansa u plućima. TGF β diferencirani miofibroblasti mogu sami da služe kao izvor za stvaranje oksidansa. Takođe, *in vitro* studije su pokazale da ROS povećava oslobađanje TGF β iz plućnih epitelnih ćelija i da može direktno da aktivira TGF β , tako što prekida njegovu interakciju sa peptidom povezanim sa latencijom (48), a što sugerise mehanizam pozitivne povratne sprege u okviru miofibroblastnog mikrokruženja. TGF β 1 aktivira NADPH oksidazu u humanim fibroblastima, što dovodi do povećane intracelularne proizvodnje ROS (14,15). Osim toga, pokazano je da TGF β smanjuje sintezu mRNA glutamat cistein ligaze, enzima koji ograničava brzinu u proizvodnji molekula antioksidansa glutationa, za koji se zna da je smanjen u IPF-u. Prema tome, interakcija oksidansa i TGF β može pojačati fibrozni odgovor kod pacijenata sa IPF (15).

Prema podacima iz literature, takođe se navodi da su povišene vrednosti parametara oksidativnog stresa u negativnoj korelaciji sa parametrima disajne funkcije (FVC, DLCO), što takođe može imati velikog značaja u razvoju i toku ove bolesti (16).

1.1.2.2 Genetika

Istraživanja su ustanovila nekoliko genskih mutacija koje se dovode u vezu sa sporadičnom i familijarnom plućnom fibrozom.

Familijarna IPF (FPF) predstavlja manje od 5% svih slučajeva. Ona se klinički i patohistološki ne može bitno razlikovati od sporadične IPF, mada se može razvijati u mladjem starosnom dobu i izgleda da ima različitu osnovu genske transkripcije. Nekoliko mutacija je identifikovano u pacijenata sa familijalnom IPF, među kojima su mutacije gena za proteine surfaktanta A i C, gde je najčešća mutacija u genu za surfaktant protein C, zatim mucina i telomeraza (TERT i TERC). Sve češće se govori o skraćanju telomera kod pacijenata sa TERT i TERC mutacijama. Poznato je da se telomere fiziološki skraćuju sa godinama, prosečno za oko 20% između 20. i 80. godine života, naročito kod osoba izloženih duvanskom dimu, pesticidima i kod brojnih hroničnih bolesti. Međutim, kod oko 23% pacijenata sa sporadičnom IPF, primećeno je skraćenje telomeraza (bez TERT i TERC mutacija) (17).

Mutacija p53 otkrivena je u oko 50% obolelih od IPF. Oko 20-25% obolelih od IPF ima pozitivnu porodičnu anamnezu, a u 0,3-5% slučajeva, IPF je nasledna. Asocijativne studije ispitivanja celog genoma (GWAS) u IPF, pokazale su da homozigoti, nosioci mutacije gena za mucin MUC5B imaju 20 puta veći rizik za razvoj IPF, a heterozigoti 7 puta; dokazana je i mutacija udružena sa povećanom ekspresijom gena za mucine u plućima; minor varijanta gena za MUC5B prisutna je kod 34% pacijenata sa FPF i 38% sa IPF, a samo u 9% kontrola. Takođe, pokazano identifikovan je polimorfizam u TOLLIP genu i SPPL2C (18). Genetske varijante u okviru humane telomernazne reverzne transkriptaze (hTERT) su nađene u manje od 15% srodnika kod slučajeva FPF i u 3% slučajeva sporadične IPF. Takođe, Stuart i saradnici identifikovali su heterozigotnu mutaciju PARN kod 6% pacijaneta sa FPF (18).

1.1.2.3 Ostali etiopatogenetski faktori

Pušenje. U kontrolisanim studijama je utvrđeno da je pušenje cigareta potencijalni faktor rizika za nastajanje IPF, a mogućnost razvoja IPF raste sa brojem popušanih cigareta i dužinom pušačkog staža. Pušenje utiče na stopu preživljavanja (22).

Virusi. Različiti virusi se pominju kao mogući činioci patogeneze IPF (herpes virus 8, EBV, HCV, CMV), mada još uvek ne postoji jasan dokaz virusne etiologije bolesti (6).

Gastroezofagealni refluks. Hronična (mikro) aspiracija izazvana gastroezofagealnim refluksom dovodi do oštećenja alveolarnih epitelnih ćelija, te stimulacije ranog makrofagnog odgovora uz oslobađanje proinflamatornih i profibrotičkih citokina (TNF α , TGF β , IL-1 α , IL-1 β , IL-2), što se dovodi u vezu sa razvojem idiopatske plućne fibroze (6,7, 23).

Aerozagadenje. Ekspozicija različitim materijama iz okruženja u seoskim poljoprivrednim, kao i u gradskim industrijskim sredinama povećava rizik od razvoja plućne fibroze, ujedno i određene profesije poput farmera, frizera, kamenorezaca i druge kao odraz izlaganja metalnoj i drvnoj prašini i drugim noksama, nezavisno od pušenja.

Lekovi. Ekspozicija nekim često korišćenim lekovima kao što su antidepresivi može da dovede do razvoja IPF, ali koje je pravo mesto ovih lekova u etiopatogenezi IPF za sada nije utvrđeno (22,23).

1.1.3 Klinička slika

IPF karakteriše postepeno progredirajuća dispneja, koju često prati suv kašalj i osećaj stezanja u grudima. Kašalj može biti paroksizmalan i uglavnom je refrakteran na antitusike, ali i produktivan. Od opštih tegoba su često prisutni gubitak u telesnoj masi, slabost i malaksalost, zamaranje na minimalni napor. Vanplućne manifestacije bolesti nisu karakteristične za ovo oboljenje, što je od preudnog značaja za diferencijalnu dijagnozu (4).

U oko 80% pacijenata, auskultacijom nad bazama pluća, mogu se čuti kasno inspirijumski pukoti. Sa napredovanjem bolesti ovakav auskultatorni nalaz se proširuje i prema vrhovima pluća (1). Maljičasti prsti su prisutni u oko 30-50% obolelih od IPF. Centralna cijanoza, često udružena sa teškom tahipnejom i opterećenje desnog srca su neke od manifestacija uznapredovale bolesti. Bolesnici sa uznapredovalom IPF hiperventiliraju da bi kompenzovali hipoksiju (24).

Pothranjenost, koja se takođe viđa kod bolesnika u uznapredovaloj IPF je posledica potrošnje kalorija zbog povećanog disajnog rada, ali može biti i posledica smanjene resorpcije iz gastrointestinalnog trakta zbog venske kongestije, fenomena koji

se viđa kod bolesnika sa insuficijencijom desnog srca i koji se naziva “kardijalna kaheksija”.

Kako napreduje obliteracija plućnog krvotoka fibroznim procesima, povećava se plućna hipertenzija. U preterminalnoj fazi bolesti, teška hipoksija može dovesti do kardijalne dekompenzacije, uzrokujući kliničke manifestacije insuficijencije levog srca ili aritmije (25).

Bolesnici sa IPF, naročito oni sa dnevnom SaO₂ ispod 90% i sa anamnestičkim podacima o hrkanju, često razvijaju poremećaje disanja u spavanju tj. opstuktivni sleep apnea sindrom, (OSAS) (26).

Najčešći uzrok smrti kod bolesnika sa IPF je respiratorna insuficijencija i ona čini oko 40% uzroka smrti kod ovih bolesnika. Od drugih uzroka smrti česti su srčana insuficijencija, ishemijska srčana bolest, infekcija i plućna embolija. Učestalost bronhogenog karcinoma je povećana (10-15% bolesnika) kod bolesnika sa uznapredovalom IPF. Prognoza pacijenata sa udruženim prisustvom IPF i karcinoma bronha je veoma loša.

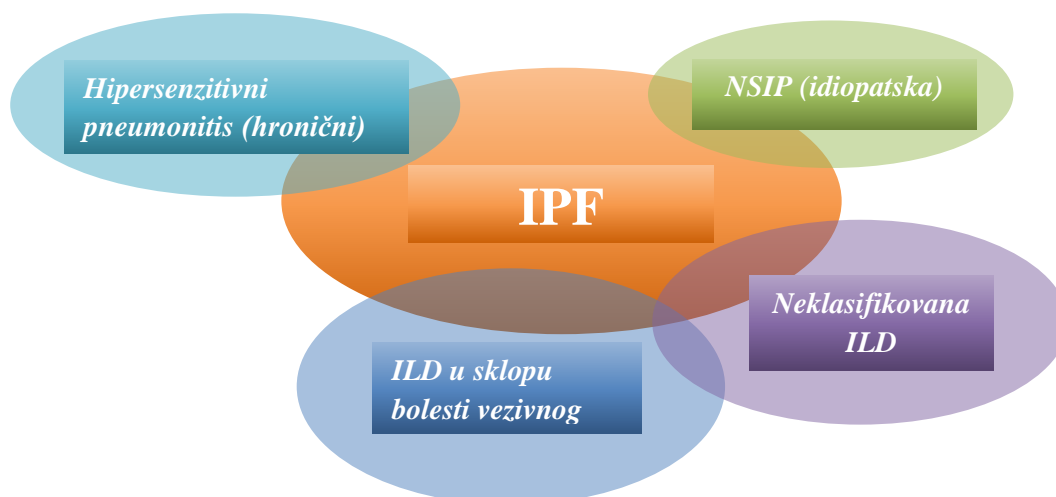
1.1.4 Dijagnostički pristup

Rano postavljanje dijagnoze IPF značajno poboljšava prognozu bolesti. Za sada, vremenski period koji protekne od pojave prvih simptoma bolesti do postavljanja definitivne dijagnoze je još uvek suviše dug i najčešće iznosi više od 24 meseca (1).

Dijagnostički pristup IPF podrazumeva veoma kompleksan, multidisciplinarni pristup i obuhvata sledeće postupke: anamnezu i fizički pregled kao prvi korak, laboratorijske testove krvi, testove ispitivanja plućne funkcije, radiološka ispitivanja (primena standardizovane radiografije i visokorezolutivne kompjuterizovane tomografije (HRCT)) i eventualno biopsiju plućnog tkiva sa histološkim pregledom bioptičkog materijala (4).

Dijagnozu IPF treba uzeti u obzir kod svih odraslih pacijenata sa neobjašnjenom hroničnom dispnejom u naporu, kašljem, bibazilarnim inspiratornim pukotima, i / ili maljičastim prstima, koji se javljaju bez konstitucionih ili drugih simptoma koji bi upućivali na multisistemsku bolest.

Dakle, suština dijagnostičkog algoritma IPF je da se isključe druga, slična intersticijska oboljenja, kako bi se postavila dijagnoza IPF i definisao terapijski pristup. Osnovne diferencijalne dijagnoze plućnih fibroza prikazane su na slici 1.



Slika 1. Osnovne diferencijalne dijagnoze plućnih fibroza

Osnovu dijagnostičkog pristupa IPF, pored kliničke prezentacije, predstavlja sekvencijalno CT skeniranje, čime se omogućava otkrivanje svih abnormalnosti, čak i onih suptilnih ili žarišnih. Takođe, time se obezbeđuje preciznost analize karakteristika lezija, kao i njihove distribucije.

Najnovije preporuke ATS/ERS/JRS/ALAT za dijagnostiku IPF, objavljene septembra 2018. godine, donose značajne izmene u odnosu na, do tada aktuelene, iz 2011. godine.

Naime, prethodno definisani pojam uobičajene intersticijalne pneumonije (UIP) je prerađen na pojmove:

- UIP - “sačasto pluće” (*honeycombing*) sa/bez perifernih trakcionih bronhiektazija; dominantno subpleuralne promene, bazalne distribucije
- verovatna UIP - dominantno subpleuralne i bazalne promene; distribucija je često heterogena; retikularne promene sa perifernim trakcionim bronhiektazijama ili bronhiektazijama; moguće promene po tipu mlečnog stakla
- neodređene za UIP - dominantno subpleuralne i bazalne promene; suptilne retikularne promene, moguće promene po tipu mlečnog stakla ili distorzije (“rana

UIP”); CT promene i/ili distribucija plućne fibroze koja ne upućuje na specifičnu etiologiju (“stvarno neodređene”)

- alternativna dijagnoza – promene sugerišu drugu dijagnozu - prisustvo mikronodula, cista, mozaicizma, konsolidacija, promena po tipu mlečnog stakla uz distribuciju dominantno peribronhovaskularno, perilimfatično i u gornjim i srednjim delovima pluća).

U skladu sa tim aktuelne preporuke za pacijente sa novootkrivenom intersticijskom bolešću pluća (ILD), kod kojih HRCT pokazuje nalaz verovatnog UIP-a, promene neodređene za UIP ili promene koje sugerišu alternativnu dijagnozu, date su uslovne preporuke za izvođenje bronhoalveolarne lavaže (BAL) i hirurške biopsije pluća, dok zbog nedostatka dokaza, nije ustanovljena preporuka za ili protiv sprovođenja transbronhijalne biopsija pluća ili kriobiopsije pluća. Nasuprot tome, za pacijente sa novonastalom ILD, kod kojih HRCT pokazuje nalaz UIP, date su jake preporuke protiv izvođenja hirurške biopsije pluća, transbronhijalne biopsije i kriobiopsije pluća, te uslovna preporuka protiv BAL. Dodatne preporuke uključuju uslovnu preporuku za multidisciplinarnu diskusiju i snažnu preporuku protiv merenja serumskih biomarkera (MMP7, surfaktant protein D (SPD), KL-6, CCL-18) u cilju razlikovanja IPF od drugih ILD. Detaljniji prikazi preporuka za dijagnozu IPF, dati su u tabelama 1. i 2. (27,28)

Tabela 1. Poređenje ATS/ERS/JRS/ALAT preporuka za dijagnozu IPF iz 2011 i 2018. godine

	Preporuke iz 2018.		Preporuke iz 2011: Nisu razlikovali različite HRCT nalaze
	HRCT: verovatna UIP, neodređena za UIP, i alternativna dijagnoza	HRCT UIP	
BAL citološka analiza	Sugeriše se da se uradi BAL citološka analiza (uslovna)	Sugeriše se da se NE radi BAL citološka analiza (uslovna)	“BAL citološka analiza ne treba da se radi u dijagnostičkoj evaluaciji IPF kod većine pacijenata, ali može biti odgovarajuća kod manjeg broja pacijenata”
Hiruška biopsija pluća	Sugeriše se da se uradi hiruška biopsija pluća (uslovna)	Sugeriše se da se NE radi hiruška biopsija pluća (jaka)	“Hiruška biopsija pluća nije potrebna za pacijente sa HRCT nalazom konzistentnim sa UIP.”
Transbronhijalna biopsija pluća	Nema preporuke niti za niti protiv transbronhijalne biopsije pluća	Preporuka je da se NE radi transbronhijalna biopsija pluća (jaka)	“Transbronhijalna biopsija pluća ne treba da se koristi u evaluaciji IPF kod većine pacijenata, ali može biti odgovarajuća za manji broj pacijenata”
Kriobiopsija	Nema preporuke niti za niti protiv kriobiopsije	Preporuka je da se NE radi kriobiopsija (jaka)	Nije analizirano
Korišćenje lekova i ekspozicija polutantima iz okoline	Preporuka je da se uzme detaljna istorija oba, i lekova i ekspozicije okolini kod kuće, na poslu, i drugim mestima gde pacijent često boravi sa ciljem da se isključe potencijalni uzroci ILD (<i>motherhood statement</i>)		“Dijagnoza IPF zahteva isključenje drugih poznatih uzroka ILD (tj. domaća i profesionalna i ekspozicija, bolesti vezivnog tkiva, toksičnost lekova).”
Serološki testovi za isključivanje bolesti vezivnog tkiva	Preporuka je da se urade serološki testovi sa ciljem isključenja bolesti vezivnog tkiva kao potencijalni uzroci ILD (<i>motherhood statement</i>)		“Dijagnoza IPF zahteva isključenje drugih poznatih uzroka ILD (tj. domaća i profesionalna ekspozicija, bolesti vezivnog tkiva, toksičnost lekova).”
Multidisciplinarna diskusija	Sugeriše se multidisciplinarna diskusija za donošenje odluka (uslovna)		“Preporuka je da se koristi multidisciplinarna diskusija u evaluaciji IPF.”
Serumski biomarkeri	Preporuka je da se NE određuju MMP-7, SPD, CCL-18, ili KL-6 u serumu, sa ciljem razlikovanja IPF od drugih ILD (jaka)		Nije analizirano

Preuzeto iz Raghu G, RemY-Jardin M, Myers J, et al. Diagnosis of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. An Official ATS/ERS/JRS/ALAT Clinical Practice Guideline. Am J Respir Crit Care Med 2018; 198 (5): e44-e68 (27)

Tabela 2. Preporuke za dijagnostike procedure kod sumnje na IPF

<i>HRCT UIP</i>	<i>HRCT: verovatna UIP, neodređena za UIP i alternativna dijagnoza</i>
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Sugeriše se da se NE radi BAL (uslovna)</i> • <i>Sugeriše se da se NE radi hiruška biopsija (jaka)</i> • <i>Preporuka je da se NE radi TBB* (jaka)</i> • <i>Preporuka je da se NE radi kriobiopsija (jaka)</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Sugeriše da se uradi BAL (uslovna)</i> • <i>Sugeriše da se uradi hiruška biopsija (uslovna)</i> • <i>Nema preporuke ni za ni protiv TBB</i> • <i>Nema preporuke niti za niti protiv kriobiopsije</i>
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Preporuka je da se uzme detaljna istorija oba, i korišćenja lekova i ekspozicije okolini kod kuće, na poslu, i drugim mestima gde pacijent često boravi sa ciljem da se isključe potencijalni uzroci ILD (motherhood statement)</i> • <i>Preporuka je da se urade serološki testovi sa ciljem da se isključe bolesti vezivnog tkiva kao potencijalni uzroci ILD (motherhood statement)</i> • <i>Sugeriše se multidisciplinarna diskusija za donošenje odluka (uslovna)</i> • <i>Preporuka je da se NE određuju serum MMP-7, SPD, CCL-18, ili KL-6 sa ciljem razlikovanja IPF od drugih ILD (jaka)</i> 	

*transbronhijalna biopsija

Laboratorijske analize krvi kod pacijenata sa IPF nisu specifične. Ubrzana sedimentacija eritrocita prisutna je kod 60-90% obolelih. Policitemija je retka uprkos čestom prisustvu hronične hipoksemije. U serumu se može registrovati hiper-gamaglobulinemija, porast CIC, prisustvo ANA i/ili RF u niskom titru (10-26% bolesnika), a izuzetno retko moguće je detektovati i diskretno povišene vrednosti ANCA. Međutim, ovi parametri nemaju ni dijagnostički, niti prognostički značaj za direktnu dijagnozu IPF, niti koreliraju sa aktivnošću niti proširenošću bolesti, ali je preporuka da se serološki imunološki testovi ipak urade radi isključenja fibroze u sklopu bolesti vezivnog tkiva (4,27).

Ispitivanje plućne funkcije. Testovi plućne funkcije ukazuju na snižen difuzijski kapacitet (DLco) i druge parametre difuzije u samom početku bolesti, često čak kao jedini patološki nalaz. Sa daljim razvojem bolesti i fibroze, registruje se insuficijencija ventilacije restriktivnog tipa, sa hipoksemijom, a u odmaklim fazama bolesti i hiperkapnijom, odnosno respiracijskom insuficijencijom.

Restriktivni poremećaj ventilacije, definisan smanjenjem statičkog (totalni plućni kapacitet - TLC) i / ili operativnog (vitalni kapacitet - VC) volumena pluća, tipičan je kod pacijenata sa IPF, kao i kod drugih ILD (29).

Takođe, veoma rano kod ovih pacijenata javlja se i redukcija statičke plućne komplijanse, koja može tesno da korelira sa težinom oboljenja. Redukcija plućne

komplijanse je razlog za restrikciju, s obzirom da su komplijansa zida grudnog koša i snaga respiratornih mišića, procenjene merenjem transdijafragmalnog pritiska i maksimalnog inspiratornog pritiska na ustima uglavnom očuvane. S druge strane, s obzirom da je plućna komplijansa glavna odrednica opterećenja respiratornih mišića, a time i procesa disanja, smanjenje komplijanse povezano je sa stepenom dispneje kod pacijenata sa IPF. Kako je distribucija lezija u plućima sa IPF heterogena, očekuje se da je komplijansa pluća neujednačena, te da se konvektivna ventilacija pretežno javlja u manje pogođenim regionima pluća, što predstavlja jedan od problema za razvoj inhalacione terapije za IPF (30).

Postavljanje sumnje lekara na ovu bolest je od presudnog značaja za ranu dijagnostiku ovog oboljenja.

Testovi ispitivanja plućne funkcije se koriste i za praćenje toka bolesti (njene progresije, odgovora na terapiju). Gasne analize arterijske krvi pri opterećenju su senzitivni parametar za praćenje kliničkog toka bolesti.

Prognostičke parametre koji najvernije odlikavaju brzinu i stepen progresije bolesti predstavljaju promene FVC i DLco kao i 6-minutni test hodanja (6MWT). Sniženje FVC za $\geq 10\%$ od apsolutne vrednosti i DLco za $\geq 15\%$ od apsolutne vrednosti tokom 6 i 12 meseci, zatim sniženje parcijalnog pritiska O₂ u arterijskoj krvi za $> 5\text{mmHG}$ tokom 6 i 12 meseci, te pad saturacije kiseonikom na manje od 88%, kraća distanca hodanja i kasnija normalizacija srčane frekvence pri 6MWT predstavljaju loše prognostičke znake, tj. ukazuju na povećan rizik za letalni ishod bolesti. Shodno svemu navedenom savetuje se monitoring parametara plućne funkcije na 3-4 meseca (4).

Razvoj plućne hipertenzije se vezuje za povećan rizik od smrti, mada je još uvek nejasno da li IPF sa plućnom hipertenzijom ipak predstavlja poseban klinički fenotip (29).

Histološke karakteristike UIP su gusta fibroza koja dovodi do remodelovanja plućne arhitektonike, izgleda saća, sa pojavom fokusa tj. žarišta fibroblasta na ivicama gustih ožiljaka. Karakteristična je neravnomerna i mestimična zahvaćenost pluća, česta subpleuralna i paraseptalna distribucija, sa gotovo nimalo intersticijske inflamacije. Mikroskopski, saće se karakteriše cističnim fibroznim vazdušnim prostorima, koji su često obloženi bronhiolarnim epitelom i ispunjeni sluzi i inflamatornim ćelijama. Glatko-mišićna metaplazija u intersticijumu obično se javlja u područjima fibroze i saća. Definitivna patološka dijagnoza UIP može se postaviti kada su svi navedeni kriterijumi

ispunjeni, posebno kada postoji prisutno saće. Ovakav patohistološki nalaz UIP ne znači i definitivnu dijagnozu IPF, jer niz drugih intersticijskih entiteta mogu imati UIP za histopatološki supstrat (neke kolageno-vaskularne bolesti, hronični hipersenzitivni pneumonitis, intersticijska ILD kao posledica toksičnosti lekova, sarkoidoza, azbestoza, Hermansky-Pudlak sindrom...). S druge strane, kod bolesnika sa IPF sama biopsija često nije izvodljiva zbog već razvijene fibroze sa ozbiljnim posledicama po plućnu funkciju i vaskulaturu, kao i zbog drugih jasnih kontraindikacija za invazivnu dijagnostiku (27).

Prema aktuelnim smernicama, dijagnozu IPF postavlja multidisciplinarni tim sastavljen od pulmologa, radiologa i patologa, a na osnovu kompatibilne kliničke slike, specifičnog HRCT nalaza, i eventualnog patohistološkog nalaza hiruške biopsije, (ukoliko je učinjena). Preporuka je da se učini kategorizacije patohistološkog nalaza biopsije pluća (ukoliko je urađena) na UIP, verovatna UIP, neodređena za UIP, alternativna dijagnoza, što je prikazano u tabeli 3., (27,28).

Tabela 3. Histološke karakteristike, kategorizacija

UIP	Verovatna UIP	Neodređena za UIP	Alternativna dg
<ul style="list-style-type: none"> - Gusta fibroza sa narušavanjem arhitektonike (tj. destruktivno ožiljavanje i/ili "saće") -Dominantno subpleuralna ili paraseptalna distribucija -Neujednačeno zahvatanje parenhima fibrozom -Fibroblastni fokusi -Odsustvo nalaza koji bi upućivao na alternativnu dg 	<ul style="list-style-type: none"> -Neke histološke karakteristike iz kolone 1, ali u meri koja sprečava definitivnu dijagnozu UIP/IPF i -Odsustvo promena koje sugerišu alternativnu dg ili -Samo "saće" 	<ul style="list-style-type: none"> -Fibroza sa/bez narušavanja arhitektonike, uz promene koje ne govore u prilog UIP ili promene koje govore u prilog UIP, ali sa poznatim drugim uzrokom -Neke od karakteristika iz kolone 1, ali uz prisustvo dugih promena koje sugerišu alternativnu dg 	<ul style="list-style-type: none"> -Promene karakteristične za druge histološke tipove IIP* (npr. odsustvo fibroblastnih fokusa, gubitak fibroze u svim biopsijama) -Histološke promene indikativne za druge bolesti

Preuzeto iz Raghu G, RemY-Jardin M, Myers J, et al. Diagnosis of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. An Official ATS/ERS/JRS/ALAT Clinical Practice Guideline. Am J Respir Crit Care Med 2018; 198 (5): e44-e68 (27)

Dijagnoza IPF zahteva, eksplicitno sledeće: isključenje svih drugih poznatih uzroka ILD, prisustvo UIP promena na HRCT pluća kod pacijenata koji nisu podvrgnuti hirurškoj biopsiji, odnosno specifične kombinacije HRCT nalaza i ptohistološkog nalaza hirurškog biopsata pluća, kod onih koji su podvrgnuti hirurškoj biopsiji (tabela 4.) (27,28).

Tabela 4. IPF dijagnostika pomoću PH nalaza i nalaza HRCT

Sumnja na IPF*		Histopatološki nalaz			
		UIP	Verovatna UIP	Neodređeno	Moguća druga dijagnoza
Nalaz HRCT	UIP	IPF	IPF	IPF	Ne-IPF dg
	Verovatna UIP	IPF	IPF	IPF (verovatno)**	Ne-IPF dg
	Neodređeno	IPF	IPF (verovatno)**	Neodređeno***	Ne-IPF dg
	Moguća druga dijagnoza	IPF (verovatno)** /ne-IPF dg	Ne-IPF dg	Ne-IPF dg	Ne-IPF dg

Preuzeto iz Raghu G, RemY-Jardin M, Myers J, et al. Diagnosis of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. An Official ATS/ERS/JRS/ALAT Clinical Practice Guideline. Am J Respir Crit Care Med 2018; 198 (5): e44-e68 (27)

*-neobjašnjivi simptomatski ili asimptomatski nalaz praćen bilateralnom plućnom fibrozom (RTG ili CT grudnog koša), bibazilarni inspiratorni pukoti, i uzrast preko 60 godina (Pacijenti između 40 i 60 godina, posebno ukoliko postoji pozitivna porodična anamneza, retko kad imaju kliničku sliku kao pacijenti stariji od 60 godina)

** IPF je verovatna dijagnoza kada postoji neka od sledećih karakteristika:

-umerene do teške tracione bronhiektazije/bronhioloektazije (umerene do teške bronhiektazije/bronhioloektazije ukoliko su zahvaćena 2 ili više lobusa) kod muškaraca starijih od 50, odnosno žena starijih od 60 godina

-Značajna (>30%) retikulizacija na CT visoke rezolucije i starosna dob preko 70 godina

-Povišeni neutrofili i/ili odsustvo limfocita u BAL tečnosti

-Multidisciplinarnim pristupom se dođe do sigurne dijagnoze IPF

***Neodređeno

-Bez adekvatne biopsije

-Sa adekvatnom biopsijom može doći do reklasifikacije na specifičniju dijagnozu nakon multidisciplinarnog sagledavanja i/ili konsultacije

dg- dijagnoza, IPF- intersticijska plućna fibroza, UIP- obična intersticijska pneumonija

1.1.5 Klinički tok

IPF je progresivna intersticijska bolest pluća, koju odlikuje progresivna dispnoja i ireverzibilan gubitak plućne funkcije, ali stepen i brzina progresije značajno variraju. To je smrtonosna bolest, varijabilnog toka, sa prosečnim preživljavanjem 3-6 godina od trenutka postavljanja dijagnoze. IPF se dijagnostikuje u preko 50% slučajeva u uznapredovaloj fazi bolesti, sa jasnim znacima limitirajuće plućne funkcije, sniženim

FVC i DLco. Pacijenti sa IPF mogu imati širok spektar pridruženih bolesti, uključujući plućnu hipertenziju, gastroezofagealni refluks, opstruktivnu sleep apneju, emfizem. Bolesnici sa IPF najčešće umiru zbog respiratorne insuficijencije (oko 40%), srčane insuficijencije (oko 30%), u oko desetak procenata od pridruženog karcinoma pluća, a u oko 20% od svih ostalih uzroka. Veoma je važna adekvatna procena stanja pacijenta sa povećanim rizikom za letalni ishod unutar dve godine, jer su takvi pacijenti za hitno razmatranje transplantacije pluća.

Iako većina pacijenata sa IPF ima stabilnu bolest i sporo i postepeno razvija pogoršanje plućne funkcije (“spora progresija”), kod manjeg broja pacijenata bolest ostaje stabilna (“stabilna bolest”), ali ima i onih kod kojih se pogoršava rapidno, završavajući ubrzo smrtnim ishodom (“brza progresija”). Stoga se razlikuje nekoliko kliničkih varijanti prirodnog toka bolesti:

- stabilna bolest ili sporo progresivna bolest (spori progresori)
- brzi progresori (akcelerirana varijanta)
- “idiopatska” akutna pogoršanja (egzacerbacije) tj. AE-IPF
- kombinacija IPF i emfizema (CPFE)

Akutna egzacerbacija IPF (AE-IPF). Kriterijumi za akutnu egzacerbaciju IPF su neobjašnjivo pogoršanje dispnoje unutar mesec dana, a uzrok pogoršanja nije poznat niti može biti identifikovan (pneumonija, plućni embolizam, pneumotoraks, srčana slabost...), zatim pogoršanje hipoksemije ili teško oštećenje gasne razmene, pojava povišene telesne temperature, kao i pojava novih infiltrata na radiografiji pluća, odnosno HRCT. Histološki ovo pogoršanje se javlja kao akutno ili organizirajuće difuzno alveolarno oštećenje (DAD) ili kao organizirajuća pneumonija (ređe). Može ličiti na akutni respiratorni distress sindrom (ARDS). Akutne egzacerbacije se javljaju na svake dve godine u oko 10% slučajeva. Preživljavanje nakon epizode rapidne progresije je značajno lošije (4).

Kombinacija IPF i emfizema pluća (CPFE). Postoje kontroverze oko toga da li je kombinacija plućne fibroze i emfizema - CPFE poseban fenotip IPF ili ne. Svakako povlači značajno veći mortalitet od izolovane IPF, naročito ako je pacijent muškog pola, pušač sa teškom plućnom hipertenzijom (30).

1.1.6 Evaluacija težine bolesti i prognoza - Skoring sistemi

Za adekvatnu procenu prognoze i rizika za mortalitet kod pacijenata sa IPFsve češće se govori o korišćenju skoring sistema.

Ley i saradnici 2012. razvili su najčešće korišćeni, **GAP** index, koji je jednostavan za izračunavanje i danas najčešće u upotrebi. GAP index procenjuje rizik za letalni ishod kod pacijenata sa IPF. Računa se iz četiri varijable (svaka nosi odgovarajući broj bodova) koje se veoma lako mere na inicijalnom, ali i na kontrolnim pregledima: godine starosti, pol i procenat FVC i DLco. Ukupan skor može da iznosi 0-7, a na osnovu vrednosti skora vrši se klasifikacija pacijenata u tri stadijuma (svaki stadijum predviđa određeni rizik za letalni ishod – tabele 5 i 6) (31-35).

Tabela 5. GAP skor

	Kategorije	Bodovi
G (Gender)	POL	
	Ženski	0
	Muški	1
A (Age)	GODINE STAROSTI	
	≤60	0
	61-65	1
	>65	2
P (Physiology)	FVC (% predviđenog)	
	>75	0
	50-75	1
	<50	2
	DL_{co}, (% predviđenog)	0
	>55	1
	36-55	2
	≤35	3
	Ne može da izvede	
	Ukupno	8

Preuzeto i priređeno iz Ley B, et al. *Ann Intern Med.* 2012;156:684-91 (31).

Tabela 6. GAP stadijumi

Stadijum	I	II	III
Bodovi	0-3	4-5	6-8
Mortalitet (%)			
1 godina	5.6	16.2	39.2
2 godine	10.9	29.9	62.1
3 godine	16.3	42.1	76.8

Preuzeto i priređeno iz Ley B, et al. *Ann Intern Med.* 2012;156:684-91 (31).

Još davne 1986.godine Waters i saradnici razvili su kliničko, radiografsko, fiziološki scoring system - **CRP** za procenu kliničkog statusa pacijenata sa IPF. Ovaj scoring system bio je zasnovan na 7 varijabli: dispnoja, radiogram grudnog koša, spirometrijski nalaz, volume pluća, difuzijski kapacitet, alveolo-arterijski gradijent pritiska kiseonika u miru i arterijska saturacija kiseonikom u naporu. On je korelisao sa patološkim nalazom na otvorenoj biopsiji pluća, ali nije dobro predviđao preživljavanje kod pacijenata sa IPF (35).

Zato su, King i saradnici, publikovali novi CRP skor, koji je dobro korelirao sa preživljavanjem, u velikoj kohorti od 238 pacijenata sa IPF. Ovaj model je uključivao jednostavne fiziološke komponente, izvedene iz TLC i nivoa kiseonika u arterijskoj krvi pri maksimalnom naporu. Ovaj model je takođe bio prilagođen kolinearnosti između parametara disajne funkcije. Faktori koji su uticali na preživljavanje su bili: starije životno doba, pušački status, maljičasti prsti, stepen rasprostranjenosti intersticijskih promena, prisustvo znakova za plućnu hipertenziju na radiogramu pluća, procenat TLC (predviđenog) i parcijalni pritisak kiseonika u arterijskoj krvi na kraju maksimalnog napora. Svaka od ovih varijabli nosila je određeni broj bodova. Maksimalni mogući skor je iznosio 100. Drugi skor je bio modifikovan izbacivanjem varijable parcijalnog pritiska kiseonika u arterijskoj krvi i njegova maksimalna moguća vrednost je bila 89.5 poena. Ova studija je prikazivala krivulje predviđenog preživljavanja u intervalima od 10 poena, do 115 meseci. Preračunato petogodišnje preživljavanje prema CRP skorovima 20, 40, 60 i 80 iznosilo je 89%, 53%, 4% i 1% redom. Pokazano je da ova oba skora (CRP i skraćeni CRP) imaju značajnu prognostičku vrednost kod pacijenata sa IPF, kao i da su korisni prilikom procene kod koegzistirajućeg emfizema (34).

Wells A. i saradnici razvili su kompozitni fiziološki indeks - **CPI**, skor baziran na ekstenzivnosti promena na HRCT pluća. Označen je sa 15 bodova, a zasniva se na promeru promena "tipa mlečnog stakla" stakla, kao i promeru, ali i izraženosti retikularnih promena, na pet prethodno definisanih nivoa na HRCT pluća kod pacijenata sa IPF. Otkriveno je da >20% pacijenata sa IPF ima konkomitantni emfizem, koji otežava interpretaciju testova plućne funkcije kod ovih pacijenata. Autori su zaključili da ovaj model mnogo snažnije i bolje korelira sa mortalitetom kod pacijenata sa IPF, od bilo kog indeksa zasnovanog samo na plućnoj funkciji, ali ima i sposobnosti prepoznavanja

koegzistirajućeg emfizema pluća, iako kod pacijenata bez emfizema na HRCT, CPI ne reflektuje raširenost fibroze ništa bolje od nivoa DLco pojedinačno (35).

Pored ovih, u literaturi se još sreće i **ROSE** indeks, koji detremiše trogodišnje preživljavanje kod pacijenata sa IPF na osnovu kliničkih parametara procenjenih u trenutku postavljanja dijagnozem kao i nakon 6 meseci. U studiji Mura i saradnika, tri varijable prisutne u momentu dijagnoze su bile prediktivne za trogodišnji mortalitet, i to: MRCDS >3, 6MWT < 72% od predviđenog i CPI > 41. Jedini nezavisni prediktori AE IPF u trenutku dijagnoze su bili DLco i prisustvo pridruženog emfizema pluća. Ova studija je imala ograničenja zbog malog uzorka, kao i nedostatka procene za PH i specifikacije definisanja neželjenih efekata (36).

Svakako, scoring sistemi su uvek korisni i instruktivni, i treba ih primenjivati, ali ne smeju biti mandatorni u radu lekara kliničara, čije sveobuhvatno mišljenje o dijagnostici i terapijskom modalitetu ipak mora biti presudno.

1.1.7 Terapija

Vodiči i preporuke za terapiju IPF ATS/ERS/JRS/ALAT iz jula 2015.godine, donele su rezultate kliničkih ispitivanja novih lekova, ali i završenih studija sa do tada poznatim kombinacijama lekova. Pokazalo se da trojna kombinacija prednizona, azatioprina i N-acetil cisteina ne samo da nije opravdana, već i vodi povećanom riziku smrti, te je stroga preporuka protiv primene ovog terapijskog režima. Isto važi za antikoagulantnu terapiju.

Ne postoje dokazi da bilo koji lek nedvosmisleno poboljšava preživljavanje pacijenata sa IPF, ali su rezultati nekoliko završenih velikih kliničkih studija pokazali da dva leka, pirfendon i nintedanib, imaju antifibrotsko dejstvo i da značajno smanjuju i usporavaju opadanje plućne funkcije (FVC) kod ovih pacijenata, istovremeno utičući na poboljšanje kvaliteta života. Stoga su i pirfenidon i nintedanib zvanično odobreni od strane FDA i EMA za lečenje IPF. Transplantacija pluća svakako predstavlja poslednju opciju lečenja za ove pacijente, ali nažalost, vrlo mali broj pacijenata sa IPF kojima je to potrebno (3-5%), dočeka transplantaciju pluća (27).

Pored toga, kod pacijenata sa IPF, svakako se savetuje sprovođenje mera respiratorne fizikalne rehabilitacije. Kod onih koji imaju izraženu respiracijsku

insuficijenciju, preporučuje se primena dugotrajne oksigenoterapije u kućnim uslovima (DOT) (4).

Deo terapijskog pristupa obolelima od IPF predstavlja i obavezno lečenje komplikacija i komorbiditeta, kao i razvijanje uspešnih palijativnih intervencija i nege u terminalnoj fazi bolesti.

1.2 KARCINOM PLUĆA

1.2.1 Epidemiologija

Karcinom pluća je jedan od vodećih zdravstvenih problema u svetu.

Prema podacima Svetske zdravstvene organizacije, procenjuje se da je u 2018. godini, na svetskom nivou, bilo 2 093 876 novootkrivenih slučajeva karcinoma pluća (37). Oko 1.3 miliona pacijenata godišnje širom sveta umire od posledica ove bolesti (38). Ovo je drugi najčešće dijagnostikovani karcinom, i to, kod muškaraca nakon karcinoma prostate, a kod žena nakon karcinoma dojke (39). S druge strane, karcinom pluća predstavlja vodeći je uzrok smrti u oba pola (37). Tokom 2018. godine, u Evropi i Sjedinjenim Američkim Državama (SAD), činio je 14% svih dijagnostikovanih malignoma kod osoba muškog pola, odnosno 13% kod žena (39,40). Prema aktuelnim podacima iz literature, stopa oboljevanja od karcinoma pluća u svetu u 2018. godini, značajno se razlikuje. Evropa, Azija i Severna Amerika imaju najvišu, a Afrika i Južna Amerika najnižu stopu oboljevanja od ove bolesti (41), Mađarska se nalazi na prvom mestu, sa incidencom od 56.7/100 000, dok je Srbija na drugom, sa nešto nižom incidencom (49.8/100 000). Kod osoba muškog pola, najviša stopa oboljevanja je takođe u Mađarskoj (77.4/100 000) i Srbiji (71.6/100 000), dok najnižu stopu, s druge strane, imaju Šveđani i Finci. Među osobama ženskog pola, najčešće oboljevanje od karcinoma pluća je u Mađarskoj (41.4/100 000) i Danskoj (36.3/100 000), dok je najređe u Rusiji, Ukrajini i Belorusiji, gde ova stopa oboljevanja iznosi 9/100 000 (37,41).

Procenjuje se da je u SAD, u 2018. godini broj novoobolelih od karcinoma pluća iznosio 121 680 za muškarace, odnosno 112 350 za žene, tj. 641 osoba dnevno (39).

U skladu sa podacima za incidencu, najvišu stopu smrtnosti od karcinoma pluća u Evropi imaju Mađari (96 na 100 000), a najnižu Šveđani (26 na 100 000). Između 1970.

i 2007. mortalitet od karcinoma pluća kod žena dostigao je plato, a zatim je stopa smrtnosti u Severnoj i Istočnoj Evropi počela da opada, što korelira sa smanjenjem i prestankom pušenja u ovim oblastima poslednjih decenija (42). Takođe, prema podacima iz literature u Evropi, u 2017. godini smrtnost zbog karcinoma pluća kod žena, prvi put je učestalija nego zbog karcinoma dojke (14.6 vs. 14.0 na 100 000) (39,43) .

Prema zvaničnim podacima, od karcinoma pluća u 2012. godini umrlo je 1.59 miliona ljudi širom sveta što čini oko 19,4% svih smrti uzrokovanih malignim bolestima, a smarta se da je oko 71% istih izazvano pušenjem. Procenjuje se da je svaki peti smrtni ishod, kod pacijenata obolelih od različitih vrsta kancera, posledica maligne bolesti pluća (37,41).

U SAD smrtnost zbog karcinoma pluća kod osoba muškog pola smanjena je za 45% u periodu između 1990. i 2018., dok je kod žena ovo smanjenje iznosilo 19% u periodu između 2002. i 2015. godine, što se povezuje sa sprovedenom inicijativom za prestanak pušenja (44).

1.2.2 Faktori rizika

Jedan od glavnih faktor rizika za nastanak karcinoma pluća je pušenje. Rizik za nastanak ove bolesti raste sa brojem popušanih cigareta na dan i sa dužinom pušačkog staža, tj.postoji dozno-zavisna povezanost. Incidenca raste i 4-5 puta zavisno od dužine pušačkog staža. Sa prekidom pušenja, smanjenje se i rizik za pojavu karcinoma pluća, ali on i dalje ostaje viši nego kod osoba koje nikada nisu pušile. Deset godina nakon prestanka pušenja, rizik za pojavu karcinoma pluća iznosi oko 30-50% od onog za aktuelne pušače (9,39,45). Pasivno pušenje, takođe, može uticati na pojavu karcinoma pluća i, prema podacima iz literature, prisutno je u oko 10 % obolelih (46).

Takođe, pušenje marihuane može povećati rizik za pojavu karcinoma pluća. Naime, sagorevanje organskih materija tokom pušenja marihuane dovodi do stvaranja kancerogenih materija. Količina katrana prilikom konzumacije marihuane je znatno veća, nego prilikom pušenja cigareta. Takođe, postoje dokazi da marihuana dovodi do molekularnih histoloških promena bronhijalnog epitela, koje liče na promene koje nastaju kao posledica pušenja cigareta i za koje je dokazano da imaju premaligni karakter (39).

Interesantan je podatak da je karcinoma pluća i kod nepušača čest uzrok morbiditeta i mortaliteta, čak 25% obolelih su nepušači (47). Postoje podaci koji ukazuju da se kod osoba koje nikada nisu konzumirale cigarete ovaj karcinom nalazi na sedmom mestu uzroka smrti zbog karcinoma, uopšte (48). Karcinom pluća kod nepušača predominantno se javlja kod osoba ženskog pola, kao i kod osoba mlađeg životnog doba, dok je histološki tip najčešće adenokarcinom (49). Kod žena koje nikada nisu pušile postoji visoka incidenca, koja u Istočnoj i Južnoj Aziji iznosi 61% i 83%, što ukazuje na činjenicu da se radi o različitom entitetu, a to je predmet daljih ispitivanja (50).

Polutanti iz spoljašnje sredine predstavljaju česte kancerogene materije. Neke od ovih materija su radon na prvom mestu (smatra se da je odgovoran za pojavu 2-9% karcinoma pluća u Evropi), potom azbest, hrom, arsen, silicijum, zatim herbicidi, insekticidi, neki ugljovodonici (39). Meta analiza 13 studija iz 9 evropskih zemalja pokazala je da postoji povišen rizik za oboljevanje od karcinoma pluća kod osoba u čijem se okruženju nalazio radon. Ovaj rizik je naročito bio izražen kod pušača i bivših pušača. Rizik od nastanka karcinoma raste sa stepenom izloženosti aerozagađenju (51, 52).

Oštećenje pluća koje nastaje kao posledica inflamacije i infekcije doprinosi karcinogenezi. Karcinom pluća je najčešći malignitet i vodeći uzrok smrti kod pacijenata sa HIV infekcijom (53).

1.2.3 Etiopatogeneza

Patogeneza karcinoma pluća je složen proces u kojem usled genskih mutacija, dolazi do promena u strukturi i funkciji normalnih ćelija.

Porodični rizik za pojavu karcinoma pluća je prijavljen u nekoliko različitih studija zasnovanih na registrima (41, 54). Jedna skorašnja studija je procenila da je verovatnoća za nasleđivanje rizika za pojavu karcinoma pluća oko 18%, ali mnoge genetske komponente i dalje ostaju neidentifikovane (41, 55-57).

1.2.3.1 Genetika

Dobro su izučene mutacije Kirsten rat sarcoma viral (KRAS) onkogene i mutacije tumor supresorskih gena p16 i p53. Pojačano lučenje vaskularnog endotelnog faktora rasta (VEGF) i epidermalnog faktora rasta (EGFR) dovodi do pojačane vaskularizacije i

ubrzanog rasta ćelija tumora, a imunohistohemijskim putem dokazana je i povećana ekspresivnost receptora za epidermalni faktor rasta na tumorskim ćelijama. Takođe, danas se zna i za ALK gen, ROS1 gen, BRAF V600E mutaciju i mnoge druge mutacije, što je sve češće predstavlja osnovu personalizovanog lečenja obolelih od karcinoma pluća (58-61). Asocijativne studije za ispitivanje celog genoma (GWAS) su identifikovale lokuse osetljivosti za karcinom pluća uključujući CHRNA3, CHRNA5, TERT, BRCA2, CHECK2 i humani leukocitni antigen (HLA) region (55-57). Istraživanje, koje je urađeno na 29 266 slučajeva i 56 450 kontrola evropskog porekla, pronašlo je 18 lokusa osetljivosti, među kojima je 10 ranije bilo potpuno nepoznato. Zanimljivo je da su četiri bila povezana sa ukupnim rizikom od karcinoma pluća, dok je šest bilo povezano samo sa adenokarcinomom pluća (41,62).

1.2.3.2 Oksidativni stres/antioksidativna zaštita

Opsežna istraživanja tokom poslednjih 20 godina, otkrila su mehanizme kojima stalni oksidativni stres dovodi do hronične upale, a što može dovesti do većine hroničnih bolesti uključujući karcinom različitih lokalizacija, dijabetes i kardiovaskularne, neurološke i plućne bolesti. Tako se i u patogenezi karcinoma pluća, sve češće se opisuju uticaj oksidativnog stresa.

Karcinom pluća nastaje kao posledica fokalne transformacije hronično oštećenog epitela, usled dejstva različitih faktora, najčešće duvanskog dima. U duvanskom dimu se nalazi više od 7000 različitih hemijskih materija. Sastojci duvanskog dima mogu reagovati direktno i formirati slobodne radikale. S druge strane, prekarcinogeni prethodno moraju podleći bioaktivaciji učešćem jednog ili više enzima iz superfamilije citohroma P450. Jedan od najznačajnijih efekata slobodnih radikala je oštećenje DNK što može voditi pojavi karcinoma. Tako je dokazano da hidrohion- i semihion- radikali iz duvanskog dima stvaraju ROS, čime uzrokuju DNK mutacije, a koje dalje dovode do procesa karcinogeneze (9).

Oksidativni stres jasno učestvuje u pojavi karcinoma pluća i postoji više puteva/gena udruženih sa ćelijskim odgovorom na isti. Među njima su superoksid dismutaza (SOD), glutation peroksidaze (GPXs), glukokortikoidni receptori (GRs), heme oksigenaze (HOs) i hipoksijom inducibilni factor 1α (HIF- 1α) (63). Oksidativni stres može aktivirati i različite faktore transkripcije uključujući NF- κ B, AP-1, p53, HIF-1a,

PPAR-g, b-katenin/Vnt i Nrf2. Aktivacija ovih faktora transkripcije može dovesti do ekspresije preko 500 različitih gena, uključujući one za faktore rasta, inflamatorne citokine, hemokine, regulatorne molekule ćelijskog ciklusa i antiinflamatorne molekule (64).

Postoje dokazi da histonske deacetilaze (HDAC) i lizin acetiltransferaze (KAT) igraju značajnu ulogu u razvoju pluća. S druge strane, HDAC igraju odlučujuću ulogu u regulisanju važnih puteva oksidativnog stresa u ćeliji, uključujući one koji su uključeni u senzibilizaciju oksidativnog stresa i one koji su uključeni u regulisanje ćelijskog odgovora na oksidativni stres. Naročito je važno da aberantna regulacija ovih puteva od strane HDAC može igrati kritičnu ulogu u progresiji karcinoma. S tim u vezi, visok nivo HDAC1 mRNA, konstatovan je u višim stadijumima NSCLC (III i IV) (63).

Postoje dokazi koji ukazuju na formiranje oksiradikala i 8-hidroksideoksiguanozin (8-OhdG) u ćeliskoj DNK u humanoj karcinogenezi. Prisustvo 8-OhdG može dovesti do mutageneze i karcinogeneze *in vivo*. Opšte je prihvaćeno da se produkti reparacije 8-OhdG u ćeliskoj DNK izlučuju urinom bez daljeg metabolisanja. Nivoi 8-OhdG i 8-hidroksiguanina (8-OhG) u urinu mogu biti indikator oksidativnog DNK inzulta i opšti indeks OS u organizmu. S tim u vezi, Gackowski i saradnici su potvrdili značajno veće vrednosti 8-OhdG u leukocitnoj DNA aktivnih i bivših pušača sa karcinomom pluća, u odnosu na zdrave subjekte, nezavisno od pušačkog statusa (9, 65, 66). Njihov rezultat sugerise da visoka vrednost 8-OhdG u leukocitnoj DNK jesu prediktivni faktori za rizik od karcinoma pluća (9).

Srednja vrednost koncentracije 8-OhdG i 8-OhG u urinu, biomarkera oksidativnog oštećenja DNK, je signifikantno niža u grupi nepušača nego u grupi pušača (sa karcinomom pluća i zdravih pušača) (9,67). Paz-Elizur i sar. su ispitali aktivnost reparativnog enzima DNK, 8-oksoguanin DNK N-glukozilaze (OGG) koji repariraju oksidativne lezije DNK 8-oksoguanin nastale delovanjem sastojaka duvanskog dima (9,68). Oni su izmerili nisku aktivnost OGG u pacijenata sa karcinomom pluća. Zaključili su da je niska aktivnost OGG (genetski determinisana) povezana sa povećanim rizikom od karcinoma pluća. Autori su sugerisali da prestanak pušenja u osoba sa smanjenom aktivnošću OGG može biti efikasna strategija u prevenciji karcinoma pluća. Činjenica da svi pušači ne oboljevaju od karcinoma pluća se dakle objašnjava individualnom osetljivošću za karcinogene. Karcinogeni duvana mogu inicirati rast tumora samo ako ih

ima u dovoljnoj količini da nadvladaju mehanizme ćelijske detoksikacije, u kojima GSH ima fundamentalni značaj (9,69).

1.2.4 Klinička slika

Klinička slika kod obolelih od karcinoma pluća može biti različita, često nespecifična, i zavisi od lokalnog, odnosno metastatskog rasta tumora, kao i sistemskih efekata tumora. Često ova vrsta karcinoma dugo može ostati i asimptomatska. U momentu postavljanja dijagnoze, oko 20% pacijenata ima lokalizovanu bolest, 25% pacijenata regionalne metastaze, dok 55% pacijenata već ima udaljene metastaze. Prve tegobe su najčešće opšte: slabost, malaksalost, gubitak apetita i posledična kaheksija, dok su kašalj (suv ili produktivan), iskašljavanje krvi, otežano disanje i gušenje, bol u grudima i/ili u ramenu i promuklost najčešći simptomi i znaci kod obolelih. U zavisnosti od lokalizacije tumora i zahvatanja okolnih struktura, veoma često prva manifestacija bolesti može biti stridorozno disanje, Hornerov sindrom ili sindrom gornje šuplje vene. Ponavljane respiratorne infekcije takođe mogu biti prva i jedina manifestacija karcinoma. Maligni pleuralni izliv se javlja kod 15–20% obolelih od karcinoma pluća. Metastaze tumora manifestuju se simptomima od strane organa u kojima se nalaze. U trenutku dijagnostikovanja više od polovine pacijenata ima proširenu malignu bolest. Najčešće metastaze karcinoma pluća su u jetri, nadbubrežnim žlezdama, centralnom nervnom sistemu i kostima (70).

Ukoliko ispoljavanje simptoma nije uzrokovano metastatskim rastom tumora, već sistemskim delovanjem produkata tumorskog lučenja, reč je o paraneoplastičnom sindromu. Najčešći produkti tumorskog lučenja sa sistemskim delovanjem su polipeptidni hormoni, hormonima slični peptidi, antitela, prostaglandini i citokini (24-26). Jedna od najčešćih manifestacija paraneoplastičnih sindroma kod pacijenata sa karcinomom pluća su maljičasti prsti (71).

1.2.5 Dijagnostika

Različite dijagnostičke metode, koje se koriste prilikom sumnje na plućne neoplazme, obuhvataju neinvazivne i invazivne kliničke, laboratorijske i radiografske procedure

- **Laboratorijske analize krvi i urina**, uključuju rutinske hematološke i biohemijske analize sa parametrima jetrine i bubrežne funkcije, te parametre oštećenja, kosti su neophodne. S druge strane, rutinsko testiranje tumorskih markera iz seruma (kao CEA) se ne preporučuju (IV, B) (41,72). Odnos neutrofila i leukocita (NLR) je široko i lako dostupan podatak, validizovan kao prognostički marker, ali se rutinski ne koristi i za definitivno mišljenje neophodna su dodatna istraživanja (IV, C) (41,73,74).
- **Imidžing metode** - radiogram grudnog koša, CT grudnog koša, pozitronska emisiona tomografija (PET-CT), magnetna rezonanca (MR), MR ili CT endokranijuma, UZ toraksa ili drugih regija ako postoji sumnja na moguću diseminaciju bolesti, scintigrafija kostiju (75-77).
- **Neinvazivnu i invazivnu dijagnostiku sa biopsijom pluća (eventualno hiruršku dijagnostiku)**
- **Histološku/citološku dijagnostiku sa molekularnim/genetskim testovima**
- **Procenu opšteg stanja** (*Performance Status, PS*)
- **Multidisciplinarnu procenu slučaja u cilju odluke o terapijskom pristupu**

Dijagnoza karcinoma pluća postavlja se na osnovu histološkog nalaza biopsata pluća, koji se najčešće dobija fleksibilnom bronhoskopijom (> 90%) (78). Kombinovanjem bronhoskopije sa endoskopskim ultrazvukom (EBUS), uspešnost dijagnostike velikih centralno lokalizovanih lezija iznosi čak 75-85%, a veoma je korisno i za evaluaciju regionalnih limfnih nodusa (79,80). EBUS-om vođena transbronhijalna iglena aspiracija (TBNA) je manje invazivna, a jednako korisna i precizna kao medijastinoskopija. Takođe, nekoliko studija je pokazalo da su citološki uzorci dobijeni ovom metodom pogodni za različita molekularna testiranja (EGFR, KRAS, ALK status) (81-84). Rigidna bronhoskopija, perkutana iglena biopsija pluća, torakocenteza i biopsija pleure, kao i još invazivnije hiruške procedure (medijastinoskopija, mediastinotomija, torakoskopija, video-asistirana torakoskopska hirurgija – VATS, resekcija sekundarnih lezija...) izvode se kako u cilju dijagnostike, tako i procene proširenosti bolesti (41).

Citološki pregled sputuma je neinvazivna metoda, kojom se može postaviti dijagnoza karcinoma pluća (85).

Histologija. Karcinom pluća se najčešće deli u dva glavna histološka tipa, nesitnoćelijski (nemikrocelularni - NSCLC) i sitnoćelijski (mikrocelularni - SCLC). U

grupu NSCLC, koja čini oko 85% obolelih, spada nekoliko podtipova, među kojim dominiraju adenokarcinom i skvamocelularni karcinom. Ponekad karcinom pluća predstavlja histološki mešoviti, miksni tumorski tip, koji sadrži komponente i SCLC i NSCLC. Drugi tipovi karcinoma pluća su izuzetno retki (86-88).

Shodno novim saznanjima o genetici i molekularnoj biologiji tumora, IASLC/ATS/ERS 2011.godine, a potom i Svetska zdravstvena organizacija iz 2015. godine donele su nove klasifikacije karcinoma pluća, kao i dijagnostičke kriterijume (86).

U poslednje dve decenije dokazano je da NSCLC poseduje niz molekularno-patoloških karakteristika koje su presudne za karcinogenezu, kao i za odgovor na razvijenu molekularnu terapiju. Nekoliko molekularnih alteracija označene su kao onkogene *driver* („pokretačke”) mutacije, a nalaze se u osnovi procesa karcinogeneze NSCLC, između ostalih obuhvataju: mutacije u nivou gena za receptor epidermalnog faktora rasta (EGFR), gena za Kirsten-rous ptičji sarkom (KRAS), inverziju hromozoma 2p koja stvara fuzionisani EML4-ALK gen, poznatiji kao mutirani gen kinaze anaplastičnog limfoma (ALK), fuzije ROS1 gena, amplifikaciju gena kinaza mezenhimno-epitelne tranzicije (MET) i druge. Uporedo sa njihovim otkrićima, razvijani su odgovarajući molekularni lekovi, koji su doveli do značajno boljih ishoda kod obolelih od karcinoma pluća (41).

S druge strane, SCLC deli iste signalne puteve sa NSCLC, ali su interakcije tih signalnih sistema daleko komplikovanije, stoga je i efekat molekularnih lekova ko dove vrste karcinoma veoma ograničen.

Poznavanjem signalnih sistema, pokretačkih mutacija, ciljnih gena i njihovih produkata moguće je odabrati najadekvatniju terapijsku opciju za određenog pojedinačnog bolesnika. Ovo je osnova personalizovane terapije karcinoma pluća. U bliskoj budućnosti definitivna dijagnoza pojedinih tipova karcinoma pluća podrazumevaće i tačan genetski profil tumora. Na taj način, svaki bolesnik sa uznapredovalim NSCLC, imaće mogućnost da primi odgovarajuću terapiju ili kombinaciju hemioterapije, molekularne terapije i radioterapije. Nakon utvrđivanja histološkog tipa karcinoma pluća, u uznapredovalom stadijumu, dijagnostiku treba nastaviti primenom molekularno-bioloških tehnika, uz obavezno određivanje EGFR, ALK, ROS1, poželjno i MET statusa za adenokarcinom pluća, a takođe i PD-L1 testova (89).

Danas je poznata *driver* mutacija za preko 50% adenokarcinoma pluća, a oko 20% tih mutacija su biomarkeri koji su omogućili razvoj ciljane molekularne terapije poput tirozin kinaznih inhibitora (TKI) erlotiniba, gefitiniba, afatiniba i dr. Zahvaljujući upravo tom razvoju personalizovane/precizne terapije, vreme preživljavanja, za neke pacijente sa adenokarcinomom pluća, se danas meri u godinama, a ne više u nedeljama ili mesecima (89,90).

Stadijum bolesti. Određivanje stadijuma karcinoma pluća, od presudnog je značaja za odluku o modalitetu lečenja. Za procenu stadijuma bolesti koristi se Osmo internacionalna redigovana TNM klasifikaciji iz 2016. godine, prema kojoj se karcinomi pluća klasifikuju u četiri različita klinička stadijuma i to na osnovu veličine primarnog tumora (T), uvećanja okolnih limfnih nodusa (N) i prisustva/odsustva udaljenih metastaza (M) (41), tabele 7. i 8.

Tabela 7. TNM klasifikacija tumora pluća

T - DESKRIPTOR (T – primarni tumor)	
Tx	Primarni tumor se ne može utvrditi
T0	Nema evidentnog primarnog tumora
T1	Tumor 3 cm ili manje u svom najvećem dijametri okružen plućnim tkivom ili visceralnom pleurom, ne zahvatajući glavni bronh
T1a(mi)*	Minimalno invazivni adenokarcinom
T1a	Tumor 1 cm ili manje u svom najvećem dijametri
T1b	Tumor veći od 1 cm ali ne veći od 2 cm
T1c	Tumor veći od 2 cm ali ne veći od 3 cm
T2	Tumor veći od 3 cm ali ne veći od 5 cm; ili tumor sa nekom od navedenih osobina: zahvata glavni bronh (bez zahvatanja karine traheje), invazija visceralne pleure, postoji atelektaza ili opstruktivni pneumonitis koji se prostire do predela hilusa
T2a	Tumor veći od 3 cm ali ne veći od 4 cm
T2b	Tumor veći od 4 cm ali ne veći od 5 cm
T3	Tumor veći od 5 cm ali ne veći od 7 cm zid grudnog koša, frenični nerv, parijetalni list perikarda, ili je udružen sa separatnim tumorskim nodulom(ima) u istom lobusu gde je i primarni tumor
T4	Tumor veći od 7 cm ili tumor koji direktno zahvata, urasta u nešto od navedenih struktura: dijafragmu, medijastinum, srce, velike krvne sudove, traheju, rekurentni laringealni nerv, ezofagus, pršljensko telo, karinu; separati tumorski nodul(i) u različitom ipsilateralnom lobusu u odnosu na primarni tumor
N - DESKRIPTOR	
Nx	Limfni nodusi se ne mogu utvrditi
N0	Nisu zahvaćeni limfni nodusi
N1	Zahvaćeni ipsilateralni hilarni
N2	Zahvaćeni ipsilateralni medijastinalni i/ili subkarinalni
N3	Zahvaćeni kontralateralni medijastinalni / hilarni ili pak - supraklavikularni bilateralni - Skalenus limfni nodusi obostrano
M - DESKRIPTOR (M – udaljene metastaze)	
M0	Nema udaljene metastaze
M1	Ima udaljene metastaze
M1a	Separatni tumorski nodul(i) u kontralateralnom lobusu; tumor sa pleuralnim ili perikardnim nodulima ili malignim pleuralnim ili perikardnim izlivom
M1b	Solitarna ekstratoraksna metastaza u jednom organu
M1c	Multiple ekstratoraksne metastaze u jednom ili više organa

Preuzeto iz Planchard D, Popat S, Kerr K, et al. Metastatic non small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 2018; 29 (Suppl 4): iv192-iv237.(41); (Prevod: Jovanović D. i saradnici)

Tabela 8. Stadijumi bolesti u odnosu na TNM klasifikaciju

STADIJUM	T	N	M
Okultni	TX	N0	M0
0	Tis	N0	M0
IA1	T1a (mi) / T1a	N0	M0
IA2	T1b	N0	M0
IA3	T1c	N0	M0
IB	T2a	N0	M0
IIA	T2b	N0	M0
IIB	T1a - T2b	N1	M0
	T3	N0	M0
IIIA	T1a - T2b	N2	M0
	T3	N1	M0
	T4	N0 / N1	M0
IIIB	T1a-T2b	N3	M0
	T3 / T4	N2	M0
IIIC	T3 / T4	N3	M0
IVA	Any T	Any N	M1a / M1b
IVB	Any T	Any N	M1c

Preuzeto iz Planchard D, Popat S, Kerr K, et al. Metastatic non small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 2018; 29 (Suppl 4): iv192-iv237 (41) (Prevod: Jovanović D. i saradnici)

Procena opšteg stanja (performance status - PS) obolelog od karcinoma pluća, izuzetno je važna u donošenju odluke o modalitetu lečenja.

Skoring system, koji se najčešće koristi za procenu opšteg stanja bolesnika obolelog od maligne bolesti je ECOG/WHO/Zubrod skor (tabela 9).

Tabela 9. ECOG/WHO/Zubrod skor

0	Asimptomatski, potpuno aktivan, izvršava sve životne aktivnosti kao pre bolesti, bez ograničenja.
1	Ima simptome, ali je kompletno aktivan. Povremeno ograničen u teškoj fizičkoj aktivnosti. Sposoban za izvršenje lakog posla ili sedeće prirode, npr., lak posao u kući, kancelarijski posao.
2	Ima simptome. Pokretan i kompletno brine o sebi, ali je radno nesposoban. Van kreveta više od 50% dana.
3	Ima simptome i u krevetu više od 50% dana, ali nije vezan za postelju. Ograničeno sposoban za zbrinjavanje sopstvenih potreba.
4	Kompletno nesposoban. Ne može da brine o sebi. U potpunosti vezan za krevet ili stolicu.
5	Smrtni ishod

Preuzeto iz Planchard D, Popat S, Kerr K, et al. Metastatic non small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 2018; 29 (Suppl 4): iv192-iv237 (41)

1.2.6 Terapija

Terapijski modalitet koji će biti primenjen kod pacijenta sa karcinomom pluća zavisi od više faktora (histološki tip tumora, raširenost bolesti, performans status pacijenta, komorbiditeti, ali i pacijentova motivisanost za određeni vid lečenja).

Stope 5-godišnjeg preživljavanja zavise prevashodno od stadijuma bolesti, pa tako okvirno iznose 50-70% za obolele u stadijumu I, 40-50% za stadijum II, i 15-30% za stadijum IIIA, a do 5% za lokalno uznapredovali IIIB. Prosečno vreme preživljavanja za IV stadijum, godinama je bilo 8 do 10 meseci, a stopa petogodišnjeg preživljavanja nije prelazila 1%, ali poslednjih godina, sa prepoznavanjem i lečenjem posebnih bioloških entiteta ovog karcinoma, vreme preživljavanja se značajno produžava.

Prema preporukama Evropskog društva za medicinsku onkologiju (ESMO) (41) za lečenje i praćenje pacijenata sa NSCLC, hirurška resekcija, rezervisana je, pre svega, za rane stadijume NSCLC (I i II), kao jedini vid lečenja ili kao deo multimodalitetnog pristupa, s adjuvantnom (postoperativnom) terapijom. Kod kompletno reseciranog NSCLC, dokazano je da adjuvantna hemioterapija poboljšava preživljavanje kod pacijenata sa ranim stadijumom bolesti.

Za većinu pacijenata sa lokalno uznapredovali NSCLC (III stadijum) savetuje se kombinovani terapijski pristup (hemioterapija i radioterapija, ređe hirurgija). IIIA stadijum bolesti leči se hirurški u strogo biranim slučajevima. Češći pristup je primena neoadjuvantne hemo-/radioterapije, u cilju smanjenja stadijuma tumora (*downstaging*), a potom, ako je tumor postao resektabilan, razmatra se hirurško lečenje. Za odluku o terapijskom pristupu veoma je važan i status medijastinumskih limfnih žlezda. Prema preporukama, za III stadijum neresektabilnog NSCLC istovremena tj. konkurentna hemoradioterapija efikasnija u odnosu na sekvencijalnu (hemo- i radioterapija, jedna za drugom). Takođe, skorašnje studije ukazuju na benefit od imunoterapije nakon završene hemoradioterapije. Oko 40% obolelih od NSCLC, u momentu postavljanja dijagnoze, ima odmaklu bolest (IV stadijum), i bez terapije njihovo preživljavanje je veoma kratko (oko 4 meseca), dok stopa jednogodišnjeg preživljavanja ide do 10%. Standard lečenja za većinu ovih pacijenata predstavljaju hemoterapijski režimi, čija je osnova platinski derivat. U standardne platinske režime, dublete, ušli su brojni citostatici (pemetreksed, gemcitabin, docetaxel, paklitaxel i dr.) (41).

Poslednjih godina, sve bolje upoznavanje molekularne biologije karcinoma pluća, učinilo je da histološki podtip NSCLC dobija veliki značaj za odluku o modalitetu lečenja.

Kod pacijenata sa PS2 i lošijim, najčešće se preporučuje terapija jednim agansom, najčešće treće generacije, jer je kod njih platinski derivati uglavnom ne daju pozitivan efekat, a toksičnost citostatske terapije je mnogo više izražena. Slične preporuke važe i za starije pacijente (>70 godina), mada pojedini stariji pacijenti, dobrog PS-a i bez komorbiditeta mogu imati koristi od platinskog dubleta (41,91).

Pomak u lečenju uznapredovalog stadijuma karcinoma pluća čini upravo personalizovana molekularna terapija koja podrazumeva genetsku tipizaciju karcinoma pluća i potom odabir najboljeg leka za svakog pojedinačnog bolesnika.

Poseban napredak je postignut u lečenju adenokarcinoma pluća zahvaljujući otkriću različitih, već pomenutih onkogenih *driver* mutacija za više od 50% adenocarcinoma (92), koje su odgovorne za proliferaciju tumorskih ćelija i metastaziranje. Za oko 20% slučajeva adenokarcinoma su uspešno razvijeni tzv. molekularni, biološki lekovi (ciljana terapija). Tako su inhibitori tirozin kinaze za EGFR (*epidermal growth factor receptor*) aktivišuće mutacije promenili prognozu ovog posebnog biološkog entiteta, ranije kratko vreme preživljavanja za pacijente u metastatskom stadijumu adenokarcinoma između 8 i 10 meseci sada iznosi preko tri godine u proseku (93).

EGFR mutacije se često javljaju (10-40%) u pacijenata sa NSCLC. Otkriveno je nekoliko različitih tipova *driver* EGFR mutacija (ErbB1) koje su smeštene od 18-21 egzona, a najčešće su delecija u egzonu 19 (del 19) i tačkasta mutacija u egzonu 21 L858R (92, 94).

Danas je standard terapijskog pristupa u prvoj liniji uznapredovalog EGFRmut NSCLC neki od tri EGFR TKI lekova koji su postigli stopu odgovora od 56-85% (erlotinib, gefitinib, afatinib) (92,95).

Pacijenti sa NSCLC sa pozitivnim ALK rearanžmanom u prvoj liniji terapije treba da budu lečeni sa ALK TKI: krizotinib, ceritinib, alektinib ili brigatinib.

Pembrolizumab je standardna opcija prve linije terapije pacijenata sa odmaklim NSCLC, EGFR negativnih i ALK negativnih pacijenata, sa PD-L1 ekspresijom $\geq 50\%$, koji nemaju kontraindikacije za imunoterapiju (41)

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

1. Komparativna analiza idiopatske plućne fibroze i nesitnoćelijskog karcinoma pluća prema serumskim parametrima sistemske inflamacije, oksidativnog i lipidnog statusa.
2. Ispitati povezanost serumskih parametara sa pokazateljima plućne funkcije i kliničkim i demografskim karakteristikama pacijenata sa IPF.
3. Ispitati povezanost serumskih parametara sa određenim demografskim i kliničkim karakteristikama NSCLC.

3. MATERIJAL I METOD

3.1. TIP STUDIJE: Studija preseka

3.2 MESTO I PERIOD ISTRAŽIVANJA: Istraživanje je sprovedeno u Klinici za pulmologiju, KCS (Odeljenje za karcinome pluća i intersticijske bolesti pluća, Dnevna bolnica) u periodu od aprila 2017.godine do juna 2018.godine.

3.3 SELEKCIJA ISPITANIKA: Istraživanjem je obuhvaćeno 30 pacijenta sa dijagnozom idiopatske plućne fibroze i 115 pacijenata sa dijagnozom karcinoma pluća, i to 101 pacijent sa NSCLC i 14 SCLC, koji su lečeni na Odeljenju za karcinome pluća i intersticijske bolesti pluća i u Dnevnoj bolnici, Klinike za pulmologiju KCS, u navedenom periodu, a koji su ispunjavali kriterijume za uključanje u istraživanje. Kriterijumi za uključanje u studiju: konzilijarno postavljena dijagnoza idiopatske plućne fibroze u skladu sa zvaničnim stavovima i preporukama ATS/ERS/JRS/ALAT 2015. godine, odnosno patohistološki postavljena dijagnoza karcinoma pluća (NSCLC/SCLC) i potpisan informisani pristanak pacijenta. Kriterijumi za isključenje iz studije: druga ili pridružena plućna bolest (ostale intersticijske bolesti pluća, npr. fibroza pluća u sklopu sistemske bolesti vezivnog tkiva, sarkoidoza, profesionalne bolesti pluća, astma, tuberkuloza, pneumonija), imunosupresija (HIV, transplantiran organ), nesaglasnost pacijenta za učestvovanje u studiji ili nemogućnost adekvatne saradnje. Kontrolnu grupu činilo je 30 zdravih osoba, uparenih po godinama i polu sa pacijentima.

Istraživanje je sprovedeno u skladu sa međunarodnim etičkim standardima i pravilima Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta u Beogradu.

3.4 INSTRUMENTI MERENJA

Klinička analiza: demografski podaci, pušački status, respiratorne tegobe, podaci o komorbiditetima, dobijeni su iz anamneze i dostupne medicinske dokumentacije. Pacijenti su grupisani na osnovu dijagnoze na grupu sa IPF i grupu sa karcinomom pluća.

Biohemijska analiza: uzorkovanje krvi je sprovedeno u jutarnjim časovima iz prednje kubitalne vene vakutajner sistemima (ukupno 3 vakutajnera). Uzorci su čuvani

na -20°C do trenutka analiziranja. Od parametara inflamacije je merena koncentracija CRP u serumu pomoću imunoturbidimetrijske metode. Od serumskih parametara analizirani su: gvožđe, TIBC i to spektrofotometrijskom metodom, feritin, haptoglobin i alfa 1 antitripsin imunoturbidimetrijskom metodom. Vitamin B12 i vitamin D analizirani su elektrohemijsko-luminescentnim određivanjem (ECLIA). Analiza serumskog amiloid proteina A radjena je komercijalnim ELISA testom (engl. enzyme-linked immunosorbent essay), tj. korišćen je DuoSet ELISA sistem (R&D systems, Europe, Ltd. Abingdon, UK). Za određivanje sPD-L1 (B7-H1/CD274) u plazmi korišćen je DuoSet ELISA sistem (R&D systems, Europe, Ltd. Abingdon, UK). Određivanje parametara redoks statusa (totalni oksidativni status (TOS), totalni antioksidativni status (TAS), prooksidativno-antioksidativni balans (PAB), superoksidni-anjon ($\text{O}_2^{\cdot-}$), produkti uznapredovale oksidacije proteina (AOPP), lipidni hidroperoksidi (LOOH), ukupne sulfhidrilne grupe (SH-grupe), koncentracija i aktivnost enzima superoksid-dismutaze (SOD)), i lipidnog statusa (koncentracije ukupnog holesterola, HDL-holesterola, LDL-holesterola, triglicerida) su rađene iz periferne venske krvi (1 vakutejner sa heparinom od 10ml). Ovi uzorci su čuvani i transportovani na hladno na Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu gde su obrađeni i skladišteni na -80°C do momenta analiziranja.

Funkcionalna analiza: parametri plućne funkcije su mereni ispitivanjem spirometrije, difuzijskog kapaciteta za ugljen-monoksid (CO) i telesne pletizmografije u skladu sa smernicama Američkog Torakalnog Društva i Evropskog Respiratornog Društva (engl. American Thoracic Society/European Respiratory Society ATS/ERS). Za sve pacijente merene su bazalne vrednosti za forsirani ekspiratorni volumen u prvoj sekundi (FEV1), forsirani vitalni kapacitet (FVC) i odnos FEV1/FVC, dok je za pacijente sa IPF meren i totalni plućni kapacitet (TLC), na spirometru i telesnom pletizmografu (MasterScreen Body), zatim difuzijski kapacitet pluća (DLCO) i koeficijent difuzije (KCO) na aparatu za merenje transfer faktora pluća za ugljen monoksid (Master Screen Diff). Saturacija krvi kiseonikom (SAT %) je merena pulsним oksimetrom u skladu sa aktuelnim standardima. Kod pacijenata sa IPF urađen je šestominutni test hodanja.

Statistička analiza: za analizu primarnih podataka korišćene su deskriptivne statističke metode, metode za testiranje statističkih hipoteza i metode za ispitivanje zavisnosti. Raspodela je proveravana Kolmogorov-Smirnov i Shapiro-Wilk testom. Od deskriptivnih statističkih metoda korišćene su mere centralne tendencije (aritmetička

sredina, medijana), mere varijabiliteta (standardna devijacija, 25. i 75. percentil). Kategoričke varijable su prikazane kao broj i procenat. Od metoda za testiranje statističkih hipoteza korišćen je Studentov t-test, parametarska analiza varijanse (Kuskall-Wallisov test). Za poređenje kategoričkih varijabli korišćen je hi-kvadrat test. Od metoda za analizu zavisnosti korišćena je neparametarska korelacija – Spearmanova korelaciona analiza. Statističke hipoteze su testirane na nivou statističke značajnosti (alfa nivo) od 0,05. Rezultati su prikazani tabelarno i grafički.

4. REZULTATI

U ovo istraživanje bilo je uključeno 30 pacijenata sa idiopatskom plućnom fibrozom i 115 pacijenata sa karcinomom pluća, od kojih 101 sa NSCLC i 14 sa SCLC. Kontrolnu grupu činilo je 30 zdravih osoba, uparenih po godinama i polu sa pacijentima.

4.1 IDIOPATSKA PLUĆNA FIBROZA

4.1.1. Osnovni socio-demografski i antropometrijski podaci

Pacijente smo podelili prema polu, starosti i indeksu telesne mase (ITM) i izračunate su njihove prosečne vrednosti, medijane sa interkvartilnim rasponima i minimalne - maksimalne vrednosti. Rezultati su prikazani u tabelama od 10 do 12, i na slici 2.

Tabela 10. Raspodela ispitanika prema polu i osnovni statistički parametri vezani za starost i indeks telesne mase

Kategorija/statistički parameter	IPF N=30	KG N=30	P
POL	N (%)	N (%)	0,852 [#]
Muški	9 (30)	10 (33,3)	
Ženski	21 (70)	20 (66,7)	
STAROST			
Xsr±SD	66,4±9,2	62,2±5,6	0,123
Medijana (25. – 75. percentil)	67 (63-69)	60 (58-65)	
Minimum-maksimum	42-85	54-76	
Indeks telesne mase (ITM, kg/m²)			
Xsr±SD	26,71± 5,38	27,18±4,39	0,840
Medijana (25. – 75. percentil)	26,0 (23,9-31,0)	26,8 (25,3-28,2)	
Minimum-maksimum	16,4-35,1	15,7-36,6	

[#]-kategorička varijabla poređena Chi-kvadrat testom; ostale varijable kvantitativne poređene Studentovim t testom

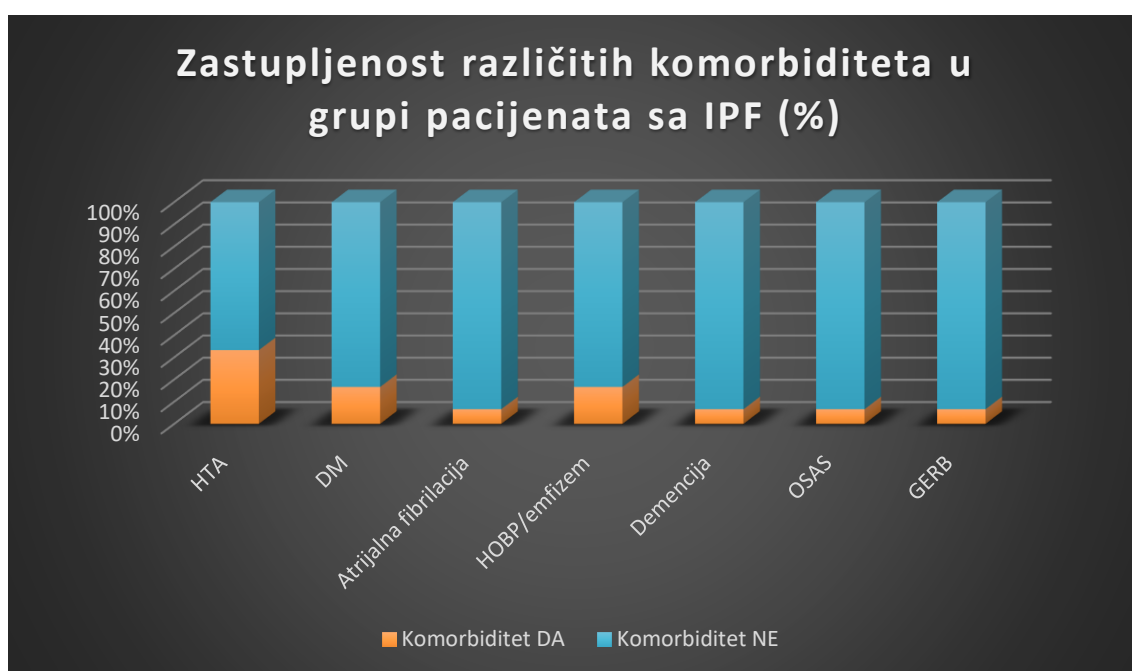
Raspodela ispitanika po polu je bila ujednačena. Nije bilo statistički značajne razlike u starosti i indeksu telesne mase između pacijenata sa IPF i kontrolne grupe.

Tabela 11. Poređenje zastupljenosti pušača kod IPF pacijenata i kontrolne grupe

Pušački status	KG	IPF	χ^2 , P
Bivši	2 (6,7)	12 (40)	9.67, 0.008
Aktivni	7 (23,3)	6 (20)	
Nepušač	21 (70)	12 (40)	

Chi-kvadrat test za kategoričke varijable

U grupi zdravih ispitanika bilo je značajno više nepušača u odnosu na IPF grupu i znatno manje bivših pušača, dok se procenti aktivnih pušača nisu značajno razlikovali.



Slika 2. Zastupljenost različitih komorbiditeta u grupi pacijenata sa IPF

U ispitivanoj grupi IPF pacijenata, najčešća pridružena bolest bila je arterijska hipertenzija, prisutna kod trećine pacijenata (33,3%). Tri pacijenta nisu imala ni jedan komorbiditet, a kod po jednog pacijenta je utvrđeno postojanje sledećih komorbiditeta ili njihove kombinacije: angina pektorisa, osteoporoza, glaukom, astma, karcinom pluća, karcinom uterusa, CVI, Hashimoto tireoiditis, hronična bubrežna insuficijencija, hronični

laringitis, pneumotoraks, polinodozna struma, psorijaza, plućna embolija, tranzitorni ishemijski atak (slika 2).

Tabela 12. Zastupljenost plućne hipertenzije kod pacijenata sa IPF i prosečne vrednosti u podgrupama sa i bez PH

PH	Broj (%)	Xsr±SD (mmHg)	P
Da	16 (53,3)	55,9±13,5	<0,001
Ne	14 (46,7)	32,8±2,6	

P-Studentov t test

Prosečna vrednost pritiska u plućnoj arteriji kod pacijenata sa plućnom hipertenzijom je bila 55,9 mmHg, a u grupi bez plućne hipertenzije 32,8 mmHg, razlika je statistički značajna ($P < 0,001$)

4.1.2 Kliničke i funkcionalne karakteristike

Izračunate su prosečne vrednosti, medijane sa interkvartilnim rasponima i minimalne - maksimalne vrednosti. Rezultati su prikazani u tabelama od 13 do 16 i na slici 3.

Tabela 13. Raspodela pacijenata po stadijumima bolesti (GAP skor)

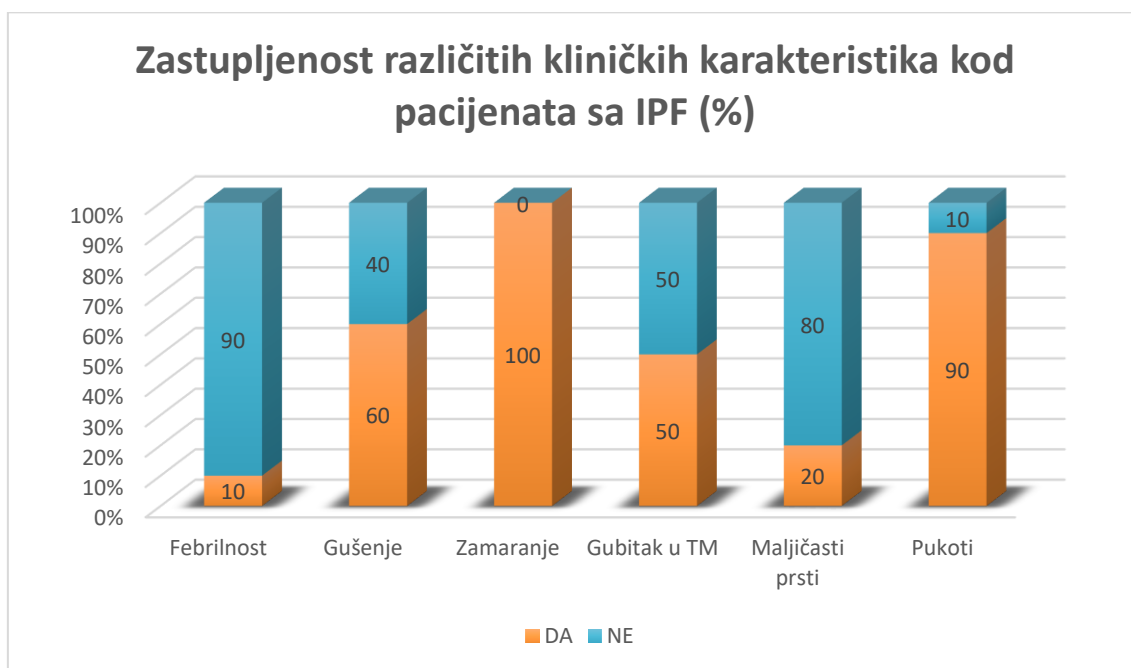
Stadijum (GAP)	N (%)
1	13 (43,3)
2	14(46,7)
3	3 (10)

U grupi IPF pacijenata, najviše pacijenata je bilo u prvom i drugom stadijumu bolesti (ukupno 90%), dok je samo 10 % ispitanika bilo u trećem stadijumu bolesti, prema GAP skoru.

Tabela 14. Zastupljenost određenih tipova kašlja kod IPF pacijenata

Kašalj	N (%)
Ne	7 (23,4)
Da – suv	14 (46,6)
Da – produktivan	9 (30,0)

Kod najvećeg broja pacijenata (46,6%) prisutan je bio suv kašalj, zatim produktivan (30%), a najmanji procenat pacijenata nije kašljao u trenutku ulaska u studiju (23,4%).



Slika 3. Zastupljenost različitih kliničkih karakteristika kod pacijenata sa IPF

Svi pacijenti sa IPF (30/100%) imali su anamnestički prisutno zamaranje, dok su pukoti bili najčešći nalaz u fizikalnom pregledu, prisutni kod čak 90% pacijenata.

Tabela 15. Prosečne vrednosti parametara plućne funkcije kod pacijenata sa IPF (spirometrija, difuzija, telesna pletizmografija)

Parametar	Srednja vrednost ± SD
FVC (l)	2,11±0,88
FVC (%)	74,3±22,3
FEV1 (l)	1,69±0,60
FEV1 (%)	74,5±19,5
FEV1/FVC	82,6±9,2
DLco	2,41±1,67
DLco (%)	34,27±18,95
Kco	0,79±0,37
Kco (%)	50,81±21,99
TLC (l)	3,71±1,16
TLC (%)	66,81±16,86

U ispitivanoj populaciji pacijenata sa IPF, prosečne vrednosti FVC su bile 74,3%, a prosečne vrednosti FEV1/FVC 82,6%. Takođe, konstatuju se značajno snižene vrednosti DLco, Kco, kao i snižene vrednosti TLC.

Među pacijentima sa IPF, u momentu započinjanja ove studije, 6 pacijenata (20%) koristilo je dugotrajnu oksigenoterapiju u kućnim uslovima zbog postojanja hronične respiracijske insuficijencije.

Tabela 16. 6MWT kod pacijenata sa IPF

Distanca (m)	303,1±97,6
SAT O ₂ početak (%)	93,62±4,05
SAT O ₂ kraj (%)	89,04±7,10
Srčana frekvenca početak (N/min)	82,00±13,82
Srčana frekvenca kraj (N/min)	98,62±17,78

Prosečna pređena distanca prilikom 6MWT iznosila je 303,1m. Ukupna prosečna saturacija O₂ na kraju testa iznosila je 89.04%. Kod većine pacijenata (n=24) nakon testa

došlo je do pada saturacije O₂, kod 11 (36,7%) od njih saturacija na kraju testa bila je ≤88%, dok kod dva pacijenta nije bilo promene saturacije, a kod 4 pacijenta se ona povećala za 2%.

4.1.3 Biohemijski, inflamatorni i parametri oksidativnog stresa i lipidnog statusa

Izračunate su prosečne vrednosti, medijane sa interkvartilnim rasponima i minimalne - maksimalne vrednosti. Rezultati su prikazani u tabelama od 17 do 22.

Tabela 17. Poređenje inflamatornih markera (CRP, SAA1) između pacijenata sa IPF i kontrolne grupe zdravih

Parametar	KG	IPF	P
CRP (mg/L)	0,5 (0,35-1,45)	10,8 (4,8-19,0)	<0,001
SAA1 (mg/L)	3,76 (2,69-7,91)	8,82 (5,99-30,52)	0,014

P-Mann-Whitney U test

Pacijenti sa IPF imali značajno više vrednosti oba ispitivana inflamatorna markera u odnosu na zdrave osobe, što je posebno evidentno u slučaju CRP (P< 0,001).

Tabela 18. Biohemijski parametri kod pacijenata sa IPF – status gvožđa, α1- AT, vitamin B12

Parametar	Xsr±SD/medijana (25.-75. percentil)	Referentne vrednosti
serumsko Fe (umol/L)	13,49 ± 3,99	11 – 30
TIBC (umol/L)	53,08 ± 10,39	44.8 – 80
Feritin* (ug/L)	193,5 (78,5 - 247)	20 – 250
Haptoglobin (g/L)	1,81 ± 0,94	0.3 – 2
α1- AT (g/L)	1,70 ± 0,32	0.9 – 2
vit B 12 (pg/ml)	593 ± 513	191 – 663

*parametri čija je raspodela odstupala od normalne raspodele prikazani medijanom i interkvartilnim rasponom

Ispitivani biohemijski parametri (Fe, TIBC, feritin, haptoglobin, α1- AT, vitamin B12) bili su u referentnom opsegu kod pacijenata sa IPF. Svi hematološki parametri (krvna slika, leukocitarna formula) kod pacijenata sa IPF, takođe su bili u referentnom opsegu.

Tabela 19. Poređenje markera oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite između pacijenata sa IPF i kontrolne grupe

Parametar	KG	IPF	P
AOPP (μmol/L)	34,2 (23,2-44,6)	55,5 (46,8-74,3)	<0,001
O ₂ ⁻ (μmol/L)	27 (18,6-44,0)	118 (82-250)	<0,01
PAB (U/L)	72 (56-121)	131 (93-162)	<0,01
TOS (μmol/L)	22,0 (12,4-31,7)	22,4 (14,1-26,1)	0,990
TAS (μmol/L)	1480 (1011-1661)	420 (297-651)	<0,001
TAS/TOS	71,8 (48,8-89,9)	19,7 (13,0-34,5)	<0,001
SHG (mmol/L)	0,556 (0,310-0,726)	0,309 (0,229-0,373)	<0,05

P-Mann-Whitney U test

Svi određivani parametri oksidativnog stresa (osim TOS) bili su statistički značajno viši, a svi antioksidansi značajno niži, kod pacijenata sa IPF u odnosu na zdrave osobe.

Tabela 20. Poređenje parametara lipidnog statusa između pacijenata sa IPF i kontrolne grupe zdravih

Parametar	KG	IPF	P
Holesterol (mmol/L)	5,70 (5,00-6,36)	5,25 (4,00-5,90)	0,156
LDL (mmol/L)	3,53 (3,01-4,10)	2,96 (2,19-3,39)	0,026
Trigliceridi (mmol/L)	1,24 (0,77-1,45)	1,32 (1,13-1,73)	0,015
HDL (mmol/L)	1,50 (1,41-1,65)	1,61 (1,26-1,93)	0,888

P-Mann-Whitney U test

Pacijenti sa IPF imali su značajno niže koncentracije LDL holesterola (P=0,026) i značajno više koncentracije triglicerida (P=0,015) u odnosu na zdrave osobe, dok se prosečne vrednosti ukupnog holesterola i HDL holesterola nisu značajno razlikovale između ove dve grupe.

Tabela 21. Koncentracija 25-OH vitamina D u krvi pacijenata sa IPF, poređenje sa referentnim vrednostima

Parametar	Pacijenti	Referentna vrednost
Vitamin D (ng/mL - ug/L)	11,0 (9,6-15,1)	>32*

*<30 deficijencija, <12 jaka deficijencija

Kod pacijenata sa IPF postojala je teška deficijencija vitamina D, u odnosu na referentne vrednosti.

Tabela 22. Poređenje koncentracije sPD-L1 između pacijenata sa IPF i kontrolne grupe

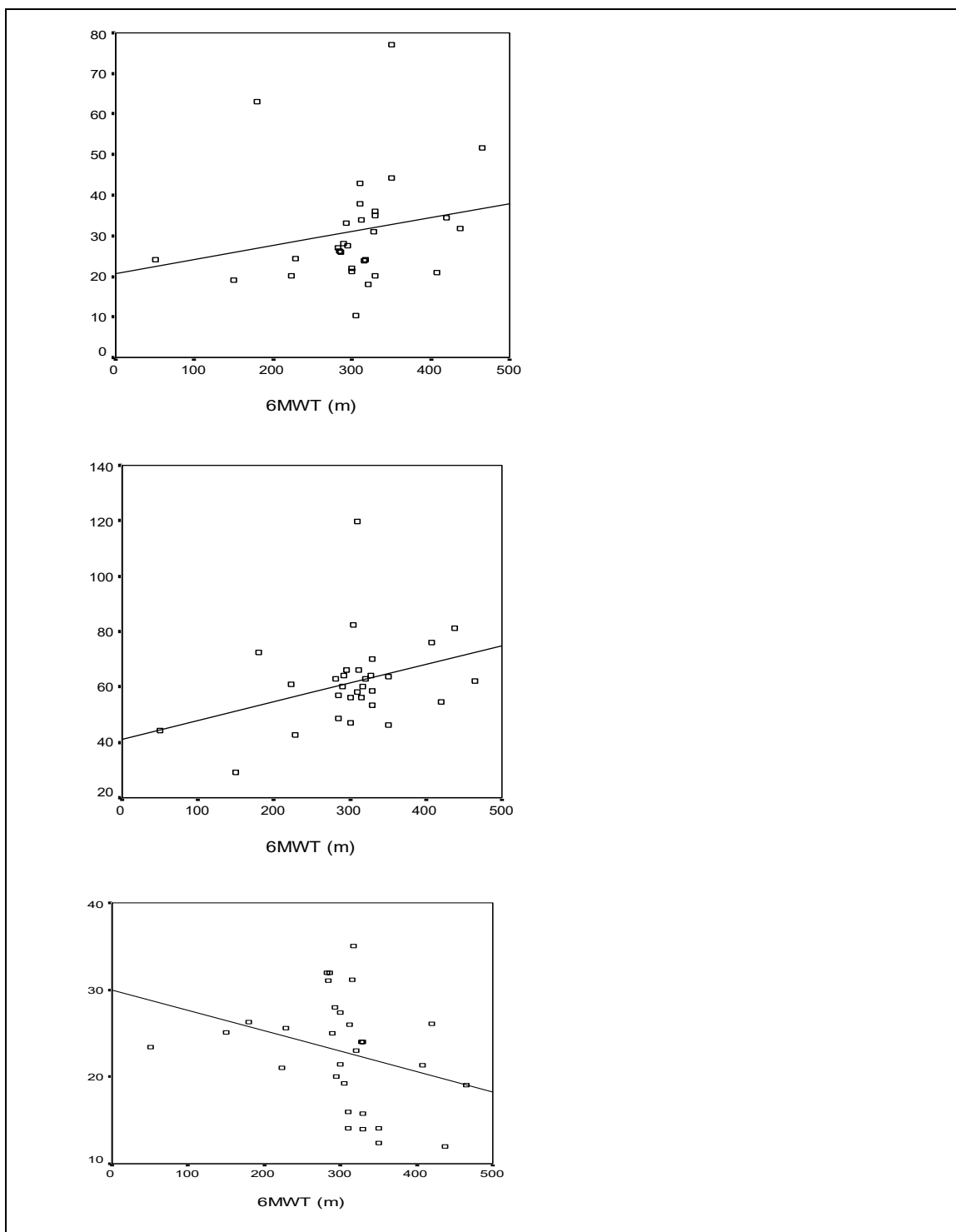
Parametar	KG	IPF	P
sPD-L1 (ng/L)	89,9 (51,8-107,1)	297,5 (117,7-545,9)	<0,01

P-Mann-Whitney U test

Pacijenti sa IPF su imali značajno više koncentracije sPD-L1 u poređenju sa zdravim osobama, $P < 0,01$.

4.1.4 Korelacione analize

Proverili smo korelaciju između vrednosti parametara 6MWT, odnosno nivoa desaturacije, i parametara inflamacije, oksidativnog stresa, koncentracije vitamina D i PD-L1 kod pacijenata sa IPF, primenom Spearmanove neparametarske korelacije. Dobijene značajne korelacije prikazane su grafički na slici 4.



Slika 4. Korelacija parametara oksidativnog stresa i vitamina D sa dužinom distance pređene tokom 6MWT (vitamin D $\rho=+0,855$, $p<0,01$; AOPP $\rho=+0,570$, $p<0,05$; TOS $\rho=-0,560$, $p<0,05$)

Na slici 4. su prikazane značajne korelacije parametara oksidativnog stresa i vitamina D sa pređenom distancom u metrima tokom 6MWT. Nivo desaturacije nije pokazao značajne korelacije ni sa jednim od parametara oksidativnog stresa, inflamacije

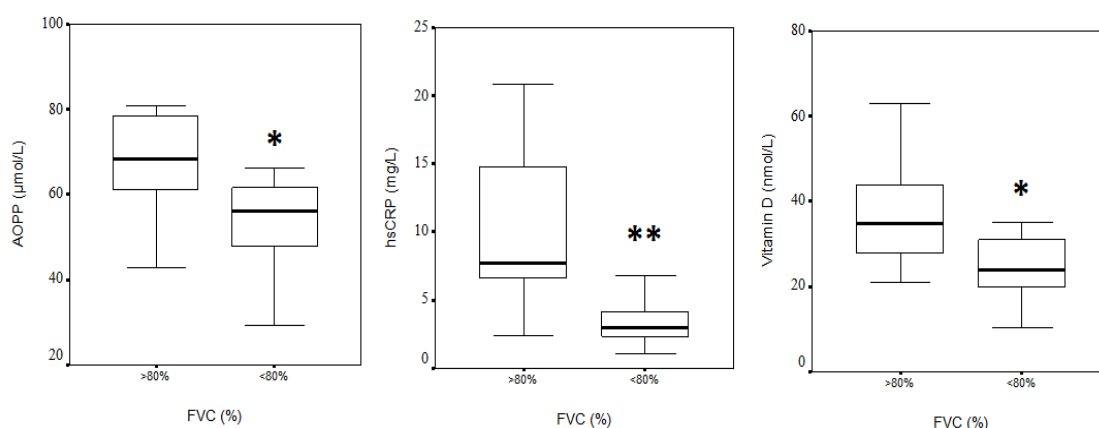
ili koncentracijom vitamina D. Korelacije sa vitaminom D i AOPP bile su pozitivne, dok je korelacija sa TOS bila negativna.

Uticaj pola, pušačkog statusa i stadijuma bolesti određenog GAP skorom, na parametre oksidativnog stresa i inflamacije, PD-L1 i vitamin D, kod pacijenata sa IPF

Određivani parametri se nisu razlikovali u podgrupama po polu, pušačkom statusu i stadijumu bolesti (prema GAP skorom).

Uticaj parametara disajne funkcije na parametre oksidativnog stresa i vitamin D

Ispitivan je uticaj parametara plućne funkcije predstavljene smanjenim FVC (%) na parametre inflamacije, oksidativnog stresa, koncentraciju vitamina D i PD-L1, tako što su pacijenti podeljeni u dve podgrupe sa FVC% >80% i FVC<80%. Grafički su prikazani parametri kod kojih je uočena statistički značajna razlika u podgrupama po FVC (%) vrednostima (Slika 5.) Kako su svi pacijenti sa IPF imali snižene vrednosti DLco i Kco, korelacionu analizu ovih parametara sa parametrima oksidativnog stresa, inflamacije i vitaminom D nije bilo moguće uraditi.



Slika 5. Uticaj parametara disajne funkcije na parametre inflamacije, OS i vit D

Pacijenti sa FVC manjim od 80% su imali značajno niže koncentracije AOPP i CRP, kao i vitamina D.

4.2 KARCINOM PLUĆA

4.2.1 Osnovni socio-demografski i antropometrijski podaci

Pacijenti su podeljeni prema polu, starosti i indeksu telesne mase (ITM), izračunate su prosečne vrednosti, medijane sa interkvartilnim rasponima i minimalne i maksimalne vrednosti. Rezultati su prikazani u tabelama 23 do 25.

Tabela 23. Raspodela ispitanika prema polu i osnovni statistički parametri vezani za starost i indeks telesne mase

POL		
Broj, %	N	%
Muški	81	70,4
Ženski	34	29,6
STAROST		
Xsr±SD	64,8 ± 7,5	
Medijana (25. – 75. percentil)	65,0 (60,5-69,0)	
Minimum-maksimum	30-86	
Indeks telesne mase (ITM, kg/m ²)		
Xsr±SD	26,8 ± 5,12	
Medijana (25. – 75. percentil)	26,4 (23,7-29,1)	
Minimum-maksimum	17,0 - 39,0	

Prosečna starost pacijenata sa karcinomom pluća, uključenih u našu studiju iznosila je 65 godina, dok je ITM iznosio 26,4 kg/m².

Tabela 24. Starost i indeks telesne mase pacijenata sa karcinomom pluća po polu

Parametar	Muškarci	Žene	P
STAROST	65,3±6,2	63,7±9,8	0,341
ITM (kg/m ²)	26,5±4,0	27,5±7,1	0,496

Studentov t test

Ispitanici sa karcinomom pluća, podeljeni na podgrupe po polu, bili su iste prosečne starosti i indeksa telesne mase.

Tabela 25. Pušački status ispitanika sa karcinomom pluća

Status pušenja	Broj	%
Nepušači	10	8,7
Pušači	71	61,7
Bivši pušač	34	29,6
Ukupno	115	100

Među pacijentima sa karcinomom pluća dominirali su aktivni i bivši pušači, dok je nepušača bilo samo deset (8,7%).

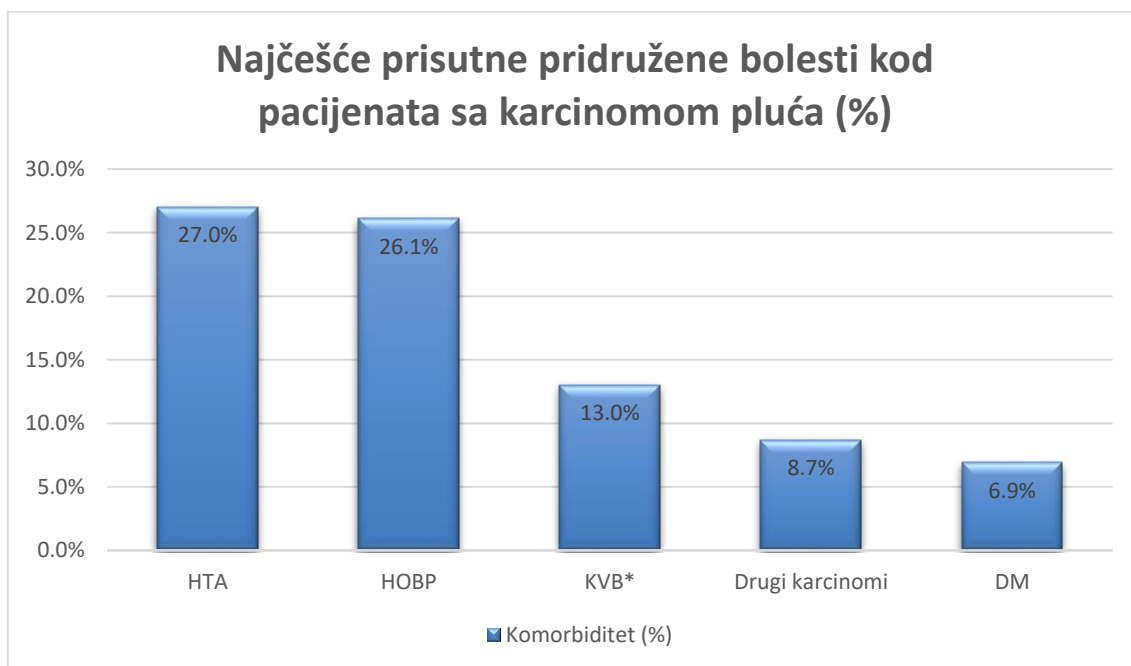
4.2.2 Kliničke karakteristike

Izračunate su prosečne vrednosti, medijane sa interkvartilnim rasponima i minimalne i maksimalne vrednosti. Rezultati su prikazani u tabelama 26 do 29 i na slikama od 6 do 8.

Najveći broj ispitanika u našoj studiji imao je po jednu pridruženu bolest (33,9%), dok gotovo trećina ispitanika nije imala ni jedan komorbiditet (29,6%), Tabela 26.

Tabela 26. Raspodela ispitanika po prisustvu i broju komorbiditeta

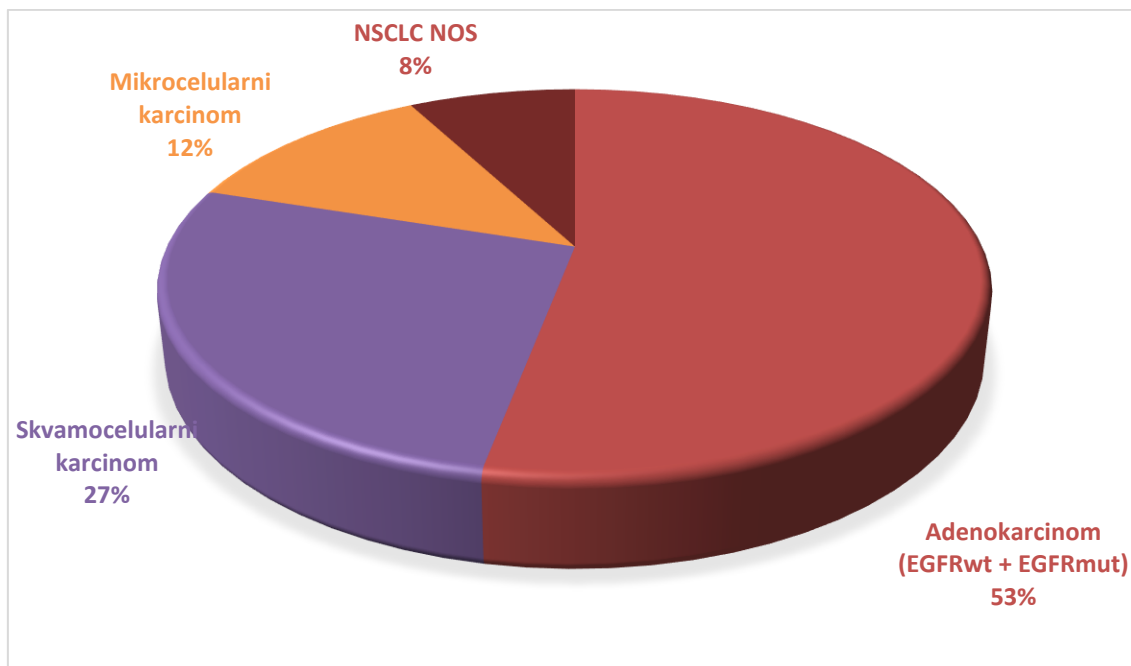
Broj komorbiditeta	Broj	%
0	34	29,6
1	39	33,9
2	25	21,7
3	10	8,7
4	6	5,2
5	1	0,9
Ukupno	115	100,0



*KVB (AA, AP, CMP, IV) – kardiovaskularne bolesti; AA – apsolutna aritmija, AP- angina pektoris, CMP – hronična kardiomiopatija, IV – insuficijencija valvula

Slika 6. Najčešće prisutne pridružene bolesti kod pacijenata sa karcinomom pluća

Najčešći komorbiditet u ispitivanoj populaciji pacijenata sa karcinomom pluća bila je arterijska hipertenzija (HTA), prisutna kod 31 pacijenta (27%), a samo diskretno manji broj ispitanika, tj. 30 (26,1%) pacijenata imalo je kao pridruženu bolest hroničnu opstruktivnu bolest pluća (HOBP).



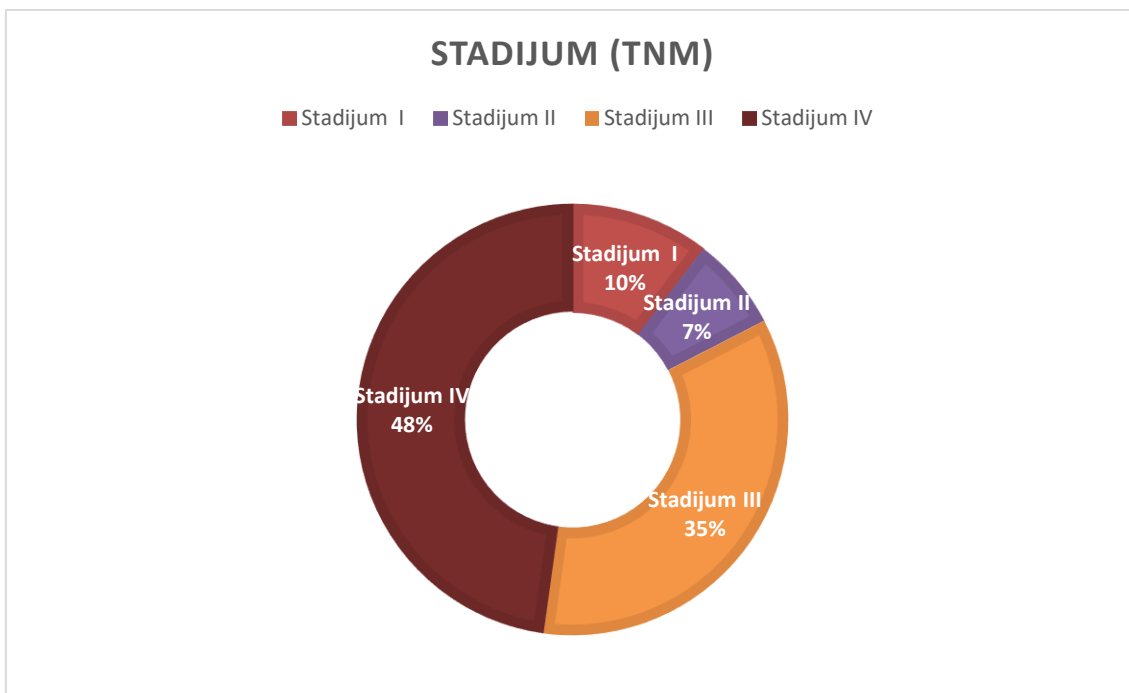
Slika 7. Zastupljenost različitih patohistoloških tipova karcinoma pluća u ispitivanoj populaciji

Analizom zastupljenosti pojedinih patohistoloških tipova karcinoma u ovoj studiji, pokazano je da je više od polovine naših ispitanika imalo verifikovan adenokarcinom (53%), dok je skvamocelularni karcinom imalo 27%, a mikrocelularni karcinom 14,6% ispitanika.

Tabela 27. Poređenje starosti i ITM ispitanika sa karcinomom pluća prema histološkom tipu tumora

Parametar	Adenokarcinom	Skvamocelularni karcinom	Mikrocelularni karcinom	P
STAROST (godine)	63,5±7,8	67,0±6,7	64,0±7,7	0,242
ITM (kg/m ²)	26,8±5,0	25,7±3,9	30,3±6,2	0,273

Nije bilo statistički značajne razlike u starosti i ITM kod pacijenata sa različitim histološkim tipovima karcinoma pluća.



Slika 8. Raspodela ispitanika prema stadijumu bolesti (TNM)

Gotovo polovina ispitanika bila je u četvrtom stadijumu bolesti (47,8%), dok je u III i IV stadijumu bolesti bilo ukupno 82,6 %.

Tabela 28. Poređenje starosti ispitanika i ITM u podgrupama u odnosu na stadijum bolesti (TNM)

Parametar	I	II	III	IV	P
STAROST (godine)	65,0±6,5	68,2±7,8	64,0±7,0	64,9±8,0	0,654
ITM, kg/m ²	28,2±4,0	26,2±7,6	25,4±3,7	27,6±6,0	0,476

ANOVA

Među ispitanicima podeljenim u grupe prema stadijumu bolesti procenjenom prema TNM klasifikaciji, nije bilo statistički značajne razlike u starosnoj strukturi, niti u indeksu telesna mase.

Tabela 29. Parametri plućne funkcije kod pacijenata sa karcinomom pluća i pridruženom HOBP

Parametar	HOBP–	HOBP+	P
FEV1 (L)	2,65±0,84	2,04±0,73	<0,01
FEV1 (%)	94,09±18,52	73,29±20,84	<0,01
FVC (%)	99,00±19,35	93,07±18,37	>0,05
FVC (L)	3,48±1,13	3,29±0,99	>0,05
FEV1/FVC	76,72±6,23	59,51±11,64	<0,001

Studentov t test

Pacijenti sa karcinomom pluća, koji su imali i pridruženu HOBP, imali su i značajno niži FEV1 (L, %), $p < 0,01$ kao i značajno niži odnos FEV1/FVC, $p < 0,001$. Ovakav nalaz je očekivan s obzirom na prisutan komorbiditet tj. HOBP.

4.2.3 Biohemijski, inflamatorni i parametri oksidativnog stresa i lipidnog statusa

Izračunate su prosečne vrednosti, medijane sa interkvartilnim rasponima i minimalne i maksimalne vrednosti. Rezultati su prikazani u tabelama od 30 do 34.

Tabela 30. Poređenje inflamatornih markera između pacijenata sa karcinomom pluća i kontrolne grupe

Parametar	Kontrolna grupa	Pacijenti	P
CRP (mg/L)	0,4 (0,3-0,7)	15,8 (3,4-21,3)	<0,001
SAA1 (mg/L)	3,39 (0,32-8,40)	21,4 (2,9-38,1)	<0,001

Mann-Whitney U test

Pacijenti sa karcinomom pluća imali su značajno više koncentracije oba inflamatorna markera, i CRP i SAA1 u odnosu na zdrave ispitanike ($P < 0,001$).

Tabela 31. Poređenje markera oksidativno-stresnog statusa između pacijenata sa karcinomom pluća i kontrolne grupe

Parametar	Kontrolna grupa	Karcinom pluća	P
AOPP (μmol/L)	34,3 (31,1-38,99)	62,5 (49,6-75,7)	<0,001
O ₂ ^{·-}	37,5 (27,0-44,4)	514,5 (395,0-588,0)	<0,001
PAB (U/L)	66 (56 – 97)	178 (165 -197)	<0,001
TOS umol/L)	12,9 (11,8-21,4)	36,5 (23,9-53,0)	<0,001
TAS (μmol/L)	1187 (1017-1717)	797 (592-963)	<0,01
TAS/TOS	87,8 (71,8-105,9)	20,0 (15,7-32,7)	<0,001
SHG (mmol/L)	0,694 (0,526-0,821)	0,318 (0,260-0,396)	<0,01

Mann-Whitney U test

Pacijenti sa karcinomom pluća su bili u stanju oksidativnog stresa odnosno, imali su značajno više koncentracije parametara oksidativnog stresa (AOPP, O₂^{·-}, PAB i TOS), u odnosu na zdrave osobe i, u isto vreme, značajno niže koncentracije parametara antioksidativne zaštite (TAS i SHG). O veličini oksidativnog stresa svedoči i odnos TAS/TOS – antioksidativni indeks, koji je značajno niži kod ovih pacijenata u odnosu na kontrolnu grupu zdravih.

Tabela 32. Poređenje parametara lipidnog statusa između pacijenata sa karcinomom pluća i kontrolne grupe

Parametar	Kontrolna grupa	Pacijenti	P
Holesterol (mmol/L)	5,00 (4,72-6,05)	5,40 (4,40-6,00)	0,358
LDL-H	3,28 (2,98-4,00)	3,16 (2,49-3,76)	0,154
HDL-H (mmol/L)	1,60 (1,50-1,64)	1,38 (1,13-1,58)	<0,01
Trigliceridi (mmol/L)	0,80 (0,61-1,24)	1,26 (0,90-1,75)	<0,01

Mann-Whitney U test

Poređenjem parametara lipidnog statusa između pacijenata sa karcinomom pluća i zdravih osoba uočava se da pacijenti sa karcinomom pluća imaju statistički značajno niže koncentracije HDL holesterola u odnosu na zdrave osobe i, u isto vreme, značajno višu koncentraciju triglicerida. Koncentracija ukupnog holesterola i LDL holesterola nisu se značajno razlikovale među poređenim grupama.

Tabela 33. Koncentracija 25-OH vitamina D u krvi pacijenata sa karcinomom pluća, poređenje sa referentnim vrednostima

Parametar	Pacijenti	Referentna vrednost
Vitamin D (ng/mL -ug/L)	17,2 (11,4-21,8)	>32 (<30 deficijencija, <12 jaka deficijencija)

Pacijenti sa karcinomom pluća imali su deficijenciju vitamina D, s obzirom na to da su vrednosti izmerene u uzorcima ovih pacijenata bile prosečno 17,2 µg/L. Polovina pacijenata (50%) imalo je koncentraciju vitamina D nižu od 17,2 µg/L, dok je drugih 50% pacijenata imalo vrednosti između 17,2 i 20,8 µg/L, tj. daleko niže od referentnih vrednosti (deficijencija je definisana prema referentnim vrednostima koje je dao proizvođač kao koncentracija niža od 30 µg/L).

Tabela 34. Poređenje koncentracije PD-L1 u serumu pacijenata sa karcinomom pluća i kontrolne grupe zdravih

Parametar	Kontrolna grupa	Pacijenti	P
PD-L1 (ng/L)	89,9 (57,5-119,7)	182,84 (100,7-303,4)	<0,001

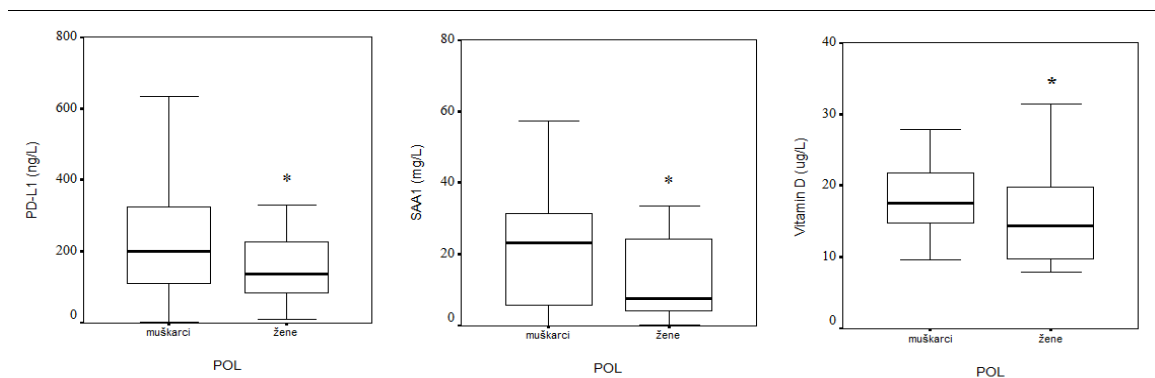
Mann-Whitney U test

Koncentracija PD-L1 je bila značajno povišena u grupi pacijenata sa karcinomom pluća u odnosu na kontrolnu grupu zdravih osoba.

U našoj ispitivanoj grupi pacijenata sa karcinomom pluća bilo je i 9 pacijenata sa NSCLC PD-L1 +, koji reaguju na imunoterapiju, a kod kojih su vrednosti sPD-L1 (830.3 ng/L (413.0–1185.0)) i SAA1 (48.0mg/L (14.5–77.0)) bile značajno više u odnosu na sve ostale pacijente sa karcinomom pluća.

Uticaoj pola na parametre inflamacije, oksidativno-stresnog i lipidnog statusa kod pacijenata sa karcinomom pluća

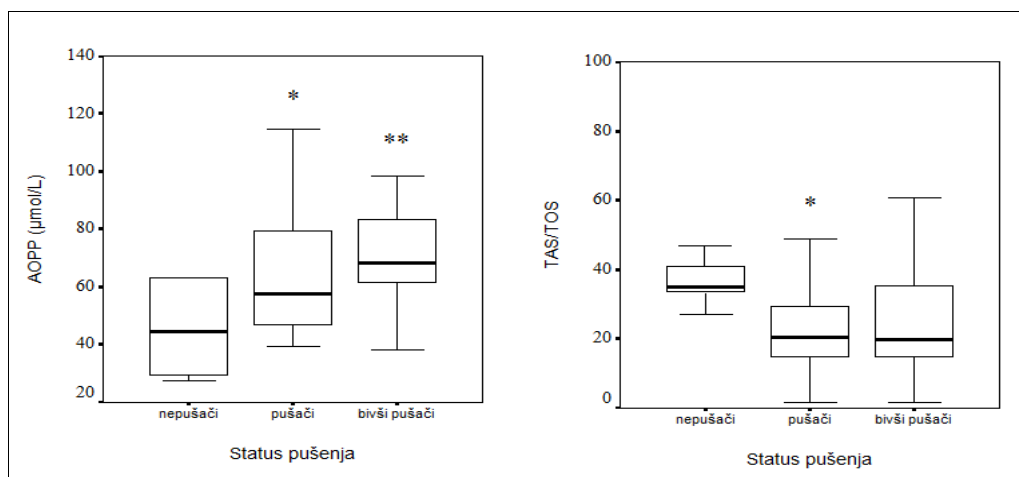
U grupi pacijenata sa karcinomom pluća, žene su imale značajno nižu koncentraciju oba inflamatornih markera SAA1 ($P < 0,05$) i PD-L1 ($P < 0,01$), kao i značajno nižu koncentraciju vitamina D ($P < 0,05$) (slika 9).



* $P < 0,05$, vs. muškarci

Slika 9. Uticaoj pola na PD-L1, SAA1 i vitamin D

Uticaoj pušenja na parametre inflamacije, oksidativno-stresnog statusa i lipidnog statusa kod pacijenata sa karcinomom pluća



Slika 10. Uticaoj pušenja na AOPP i TAS/TOS odnos *,** $P < 0,05$, 0,001 vs. nepušači

Od svih parametara oksidativno-stresnog statusa koji su određivani u ovoj studiji, uticaoj statusa pušenja je bio značajan samo za AOPP, značajno su bile više koncentracije AOPP kod pušača ($P < 0,05$) i kod bivših pušača ($P < 0,001$) u odnosu na na zdrave

osobe. Koncentracije ovog markera oksidativnog oštećenja proteina nisu se razlikovale između pušača i bivših pušača. Antioksidativni indeks je bio značajno niži kod pušača, obolelih od karcinoma pluća, u odnosu na zdrave osobe ($P < 0,05$), dok se nije razlikovao između bivših pušača i aktivnih pušača, kao ni između bivših pušača i kontrolne grupe zdravih (slika 10).

Uticaj patohistološkog tipa tumora na parametre inflamacije, oksidativno-stresnog statusa i lipidnog statusa kod pacijenata sa karcinomom pluća

Inflamacija merena vrednostima CRP, bila je značajno više izražena kod pacijenata sa skvamocelularnim karcinomom, u odnosu na adenokarcinom i mikrocelularni karcinom. Pacijenti sa različitim histološkim tipovima karcinoma imali su različite aspekte oksidativnog stresa, više ili manje izražene. Tako su, pacijenti sa skvamocelularnim karcinomom, imali značajno više koncentracije AOPP, TOS i O2 u odnosu na pacijente sa adenokarcinomom, dok se ovi parametri nisu razlikovali kod pacijenata sa mikrocelularnim karcinomom u odnosu na ostale dve podgrupe. Od parametara lipidnog statusa trigliceridi su bili značajno niži kod pacijenata sa mikrocelularnim karcinomom u odnosu na pacijente sa adenokarcinomom i skvamocelularnim karcinomom pluća. Ovi rezultati su prikazani na slici 11.

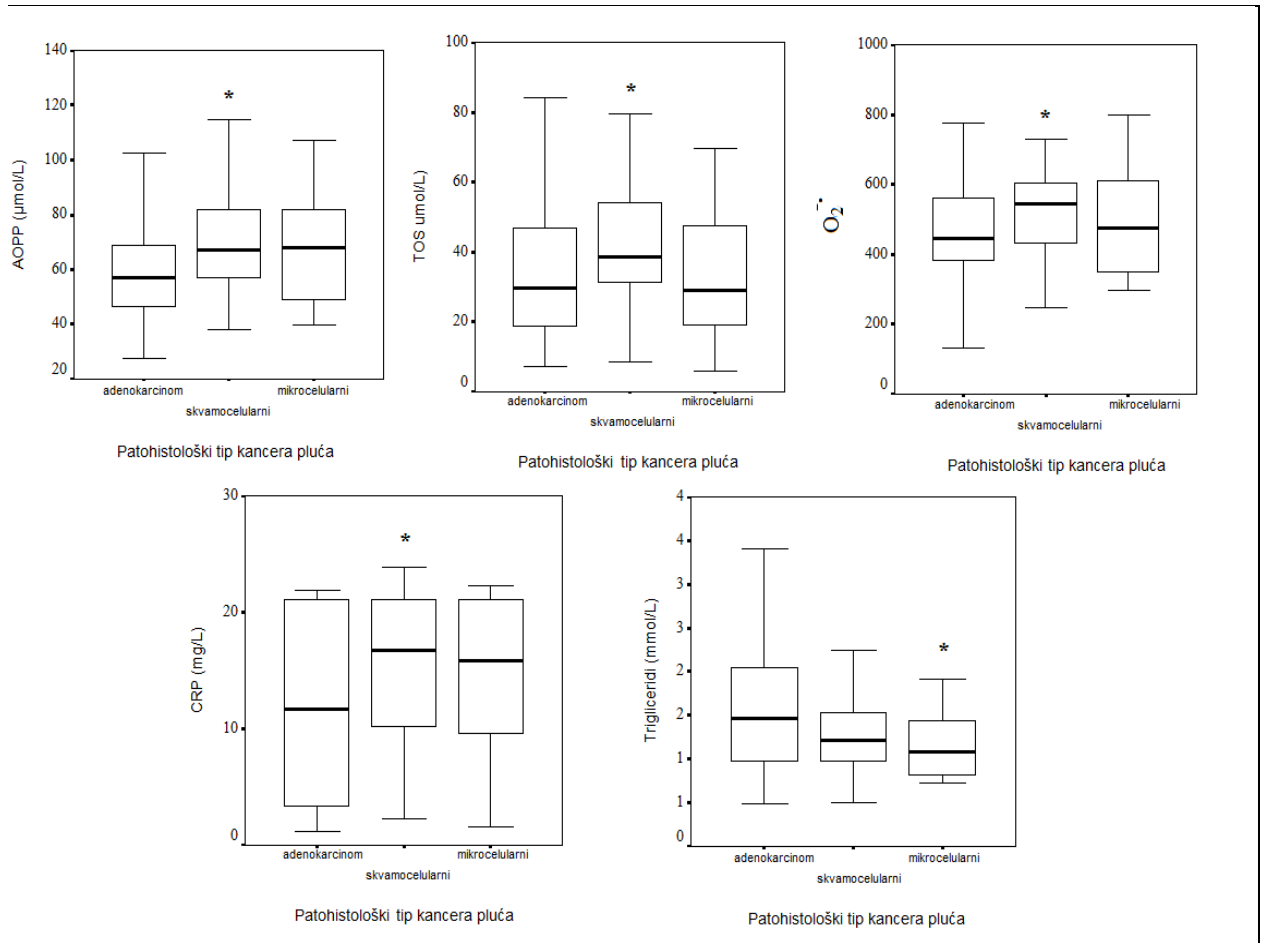
S druge strane, posmatrano u okviru grupe obolelih od adenocarcinoma pluća, statistički značajna razlika je utvrđena u koncentraciji ukupnog holesterola i HDL holesterola, između grupa EGFRwt i EGFR+ pacijenata (tabela 35).

Na slici 12. prikazana je raspodela vrednosti sPD-L1 i SAA1 po podgrupama pacijenata sa karcinomom pluća. Isprekidane linije pokazuju gornje referentne vrednosti za sPD-L1 i SAA1 u populaciji kontrolne grupe zdravih.

Tabela 35. Lipidni status u odnosu na EGFR status.

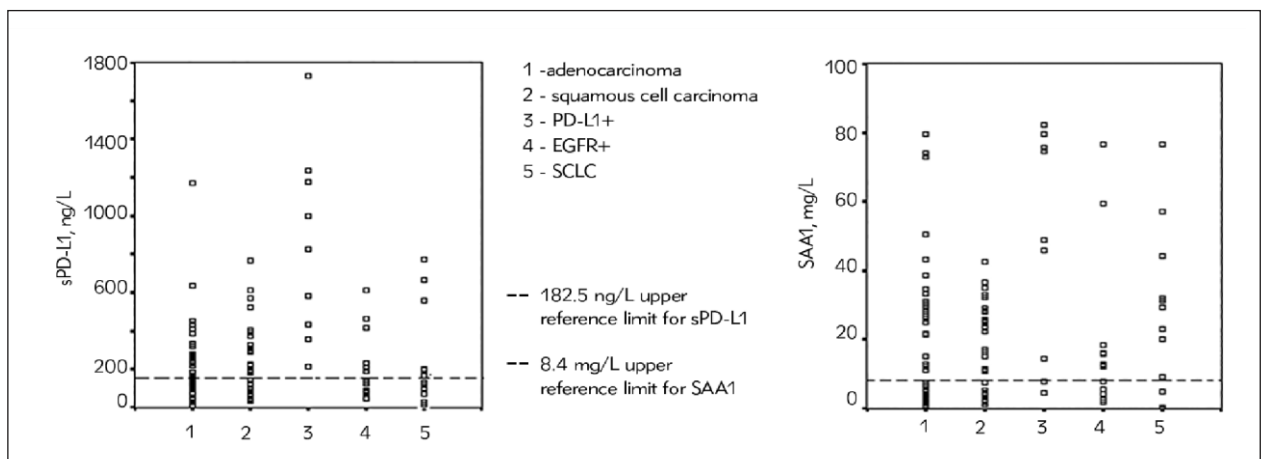
Parametar	EGFR–	EGFR+	P
Holesterol (mmol/L)	5,40 (4,53-6,20)	5,00 (4,20-5,40) ^a	0,032
HDL (mmol/L)	1,53 (1,26-1,74)	0,560 (0,431-0,790) ^{aaa}	<0,001
Trigliceridi (mmol/L)	1,31 (0,95-1,77)	1,40 (1,20-1,84)	0,921
LDL (mmol/L)	3,22 (2,53-3,91)	3,50 (2,87-4,10)	0,792

P- Kruskal-Wallis-ova neparametarska ANOVA, praćena post-hoc Mann-Whitney U testom



Slika 11. Uticaj patohistološkog tipa tumora na AOPP, TOS, O₂⁻, CRP, triglicerida kod pacijenata sa karcinomom pluća

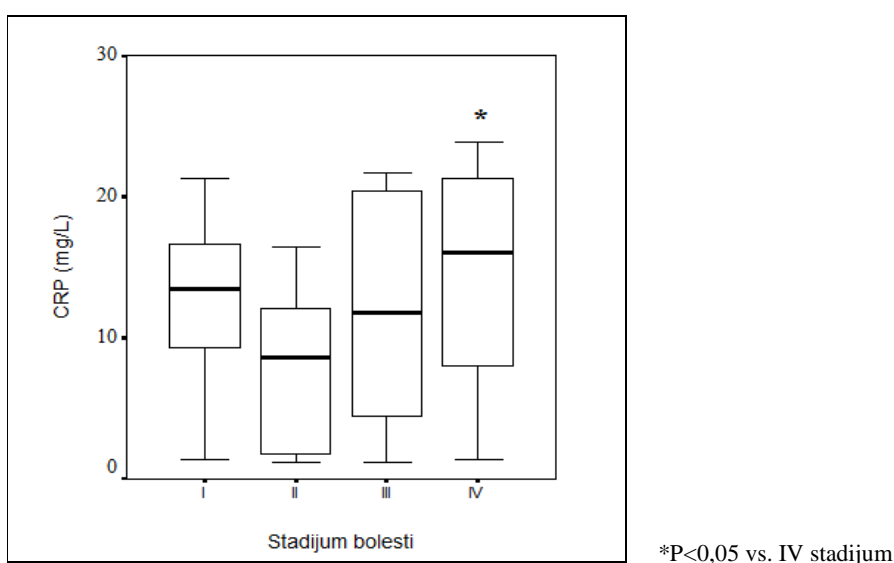
*P<0,05, vs. adenokarcinom



Slika 12. Raspodela sPD-L1 i SAA1 vrednosti u podgrupama pacijenata sa karcinomom pluća.

Uticaj stadijuma bolesti na parametre inflamacije, oksidativno-stresnog statusa i lipidnog statusa kod pacijenata sa karcinomom pluća

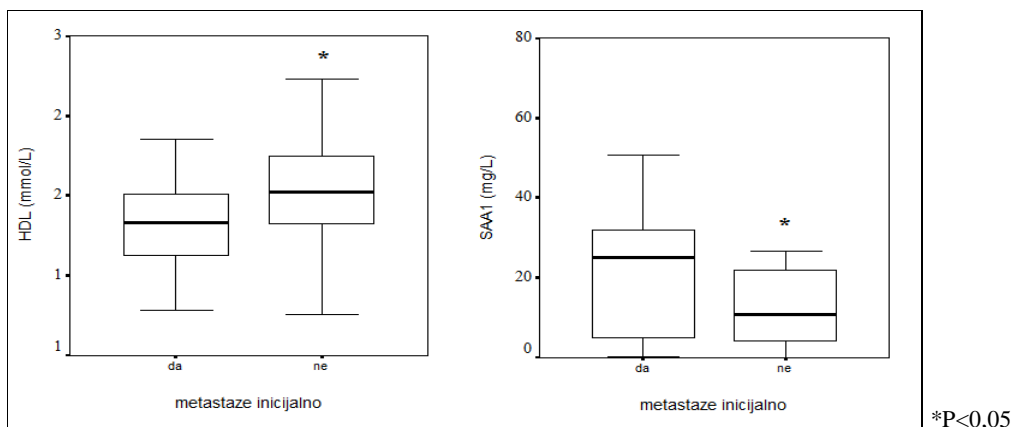
Pacijenti u IV stadijumu bolesti (TNM), imali su značajno višu koncentraciju inflamatornog markera, CRP ($P < 0,05$), u odnosu na pacijente u II stadijumu koji su imali najnižu prosečnu koncentraciju ovog inflamatornog markera (slika 13). S obzirom da je u broj pacijenata u II stadijumu daleko najniži, ovi rezultati se ne mogu smatrati apsolutno referentnim.



Slika 13. Uticaj stadijuma bolesti (TNM) kod pacijenata sa karcinomom pluća, na vrednosti CRP

Uticaj inicijalnog prisustva metastaza, na parametre inflamacije, oksidativno-stresnog statusa i lipidnog statusa kod pacijenata sa karcinomom pluća

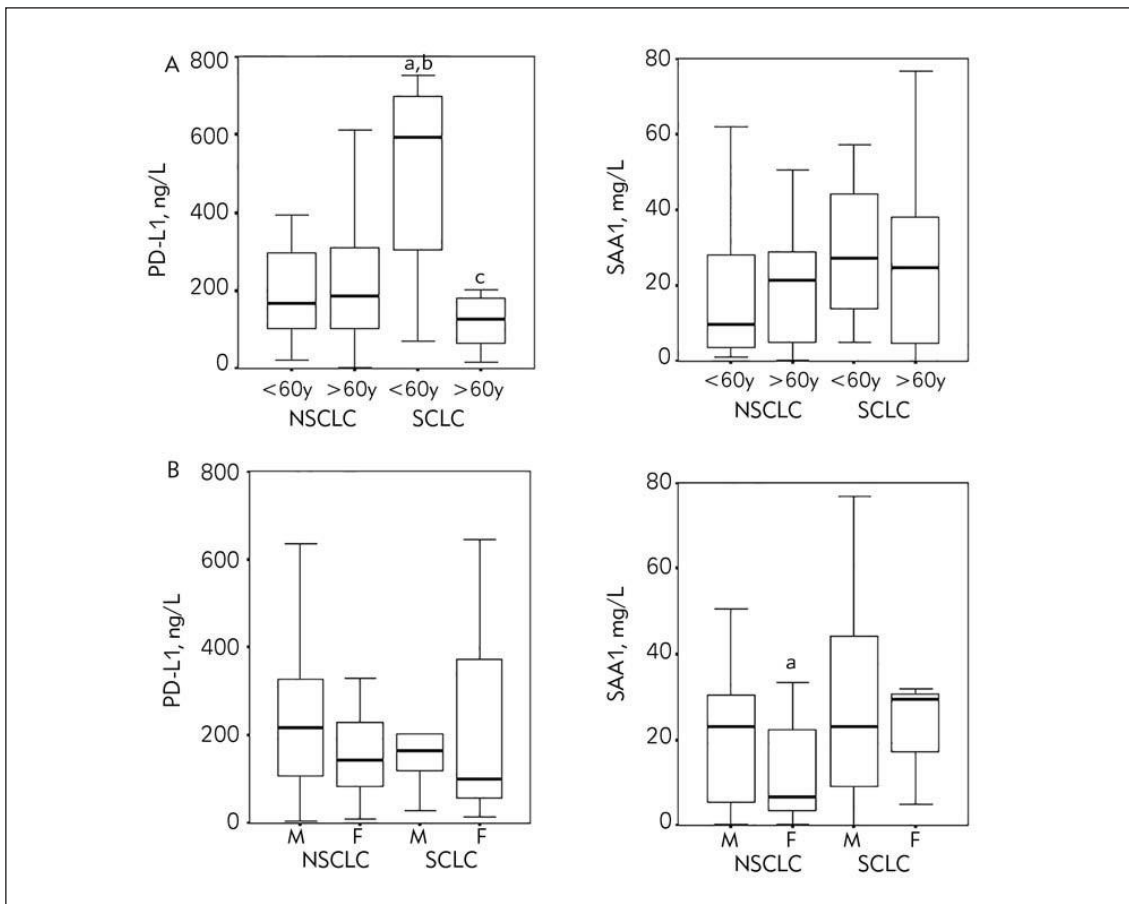
Pacijenti koji su inicijalno imali proširenu bolest (metastaze), imali su značajno nižu koncentraciju HDL holesterola u odnosu na pacijente bez metastaza ($P < 0,05$), kao i značajno višu koncentraciju inflamatornog markera SAA1 ($P < 0,05$), slika 14.



Slika 14. Uticaj inicijalnog prisustva metastaza kod pacijenata sa karcinomom pluća na koncentraciju HDL holesterola i SAA1u krvi.

Uticaj starosne strukture i pola na vrednosti koncentracija PD-L1 i SAA1 kod pacijenata sa NSCLC i SCLC

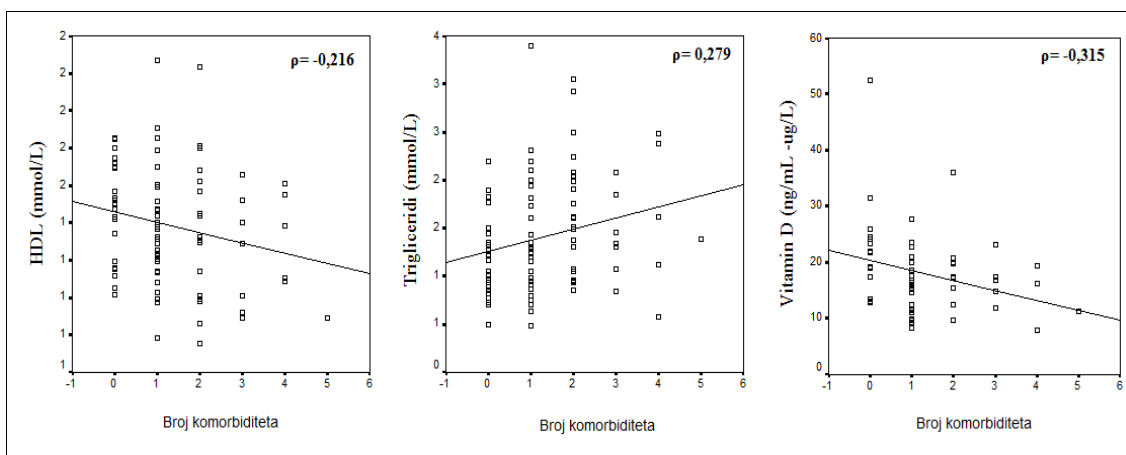
Pacijenati sa SCLC koji su mlađi od 60 godina, imali su značajno veće koncentracije sPD-L1 u poređenju sa svim ostalim podgrupama pacijenata (<60 godina NSCLC, >60 godina NSCLC i >60 godina SCLC). S druge strane, žene sa NSCLC imale su značajno niže vrednosti SAA1, od muškaraca sa NSCLC i SCLC, ali i žena sa SCLC. Rezultati su prikazani na slici 15.



A. Starost (<60 g. and >60 g.), ^{a,b,c}P<0,05 vs <60g NSCLC, >60g NSCLC, <60g SCLC, redom
 B. Pol (M-muškarci, F-žene), ^a-P<0,05 vs muškarcu u NSCLC grupi

Slika 15. PD-L1 i SAA1 koncentracije u NSCLC i SCLC podgrupama u odnosu na starost i pol pacijenata.

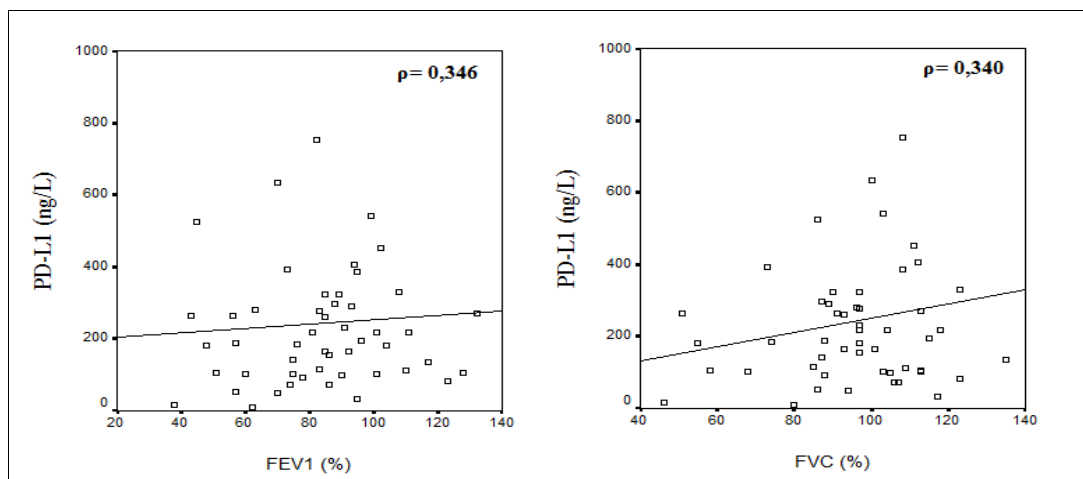
4.2.4 Korelacione analize



Slika 16. Korelacija između broja komorbiditeta i koncentracije HDL holesterola, triglicerida i vitamina D (P<0,05, Spearmanova neparametarska korelacija)

Primenjena korelaciona analiza (slika 16.) je pokazala da pacijenti sa većim brojem komorbiditeta imaju značajno nižu koncentraciju HDL holesterola ($P < 0,05$) i višu koncentraciju triglicerida ($P < 0,05$).

Pacijenti sa većim brojem komorbiditeta imali su značajno nižu koncentraciju vitamina D ($P < 0,05$) u odnosu na pacijente sa manjim brojem komorbiditeta.



Slika 17. Korelacija između parametara plućne funkcije i koncentracije sPD-L1 ($P < 0,05$, Spearmanova neparametarska korelacija)

PD-L1 je pokazao značajnu pozitivnu korelaciju sa pokazateljima plućne funkcije FEV1(%) i FVC (%). Pacijenti sa boljom plućnom funkcijom merenom preko ova dva pokazatelja imali su više koncentracije PD-L1 (slika 17).

4.3 IPF VS. KARCINOM PLUĆA

Grupa pacijenata sa IPF i grupa pacijenata sa karcinomom pluća, podeljena po pojedinačnim histološkim tipovima, poređene su u odnosu na starosnu dob, ITM, kao i vrednosti ispitivanih parametara inflamacije (CRP, SAA1), oksidativnog stresa, lipidnog statusa, vitamina D i PD-L1. Rezultati su prikazani u tabelama 36 do 39.

Tabela 36. Poređenje starosti i indeksa telesne mase kod pacijenata sa IPF i pacijenata sa različitim histološkim tipovima karcinoma

Parametar	IPF	Adenokarcinom	Skvamocelularni i karcinom	Mikrocelularni karcinom	P
STAROS T (god.)	67 (60-73)	64 (60-68)	67 (63-71)	64 (57-67)	0,238
ITM (kg/m ²)	25,7 (23,5-31,3)	26,3 (24,7-28,4)	26,2 (22,5-28,7)	30,6 (27,4-33,5)	0,376

P- Kruskal-Wallisov test (neparametarska ANOVA), >0,05-nije statistički značajno; */**/**P<0,05/0,01/0,001 vs. IPF grupa post hoc Mann-Whitney U test

Pacijenti sa IPF nisu se značajno razlikovali po starsnoj strukturi, niti po ITM, od pacijenata sa različitim histološkim tipovima karcinoma pluća.

Tabela 37. Poređenje parametara oksidativnog stresa kod pacijenata sa IPF i pacijenata sa različitim histološkim tipovima karcinoma

Parametar	IPF	Adenokarcinom	Skvamocelularni karcinom	Mikrocelularni karcinom	P
AOPP (µmol/L)	55,5 (46,8-74,3)	57,2 (46,6-66,6)	63,6(55,1-80,4) *	59,5 (48,6-77,5)	0,061
PAB (U/L)	131 (93-162) ***	174 (162-193)	174 (164-196)	187 (171-207) ***	<0,001
O ₂ ⁻ (µmol/L)	118 (82-250) **	445 (383-562)	543 (433-605) **	476 (349-612) **	<0,01
TOS (µmol/L)	22,4(14,1-26,1) *	30,6 (20,9-50,0)	38,8(27,0-55,0) *	32,6 (26,4-51,5) **	<0,01
TAS (µmol/L)	420 (297-651) *	703 (614-964)	860 (604-957) *	642 (522-944) *	<0,05
TAS/TOS	19,7 (13,0-34,5)	22,5 (16,4-34,7)	20,6 (15,8-25,6)	20,4 (14,8-24,4)	0,815
SHG (mmol/L)	0,309(0,229-0,373)	0,301(0,260-0,367)	0,343(0,291-0,424)	0,301(0,238-0,396)	0,537

P- Kruskal-Wallisov test (neparametarska ANOVA), >0,05-nije statistički značajno; */**/**P<0,05/0,01/0,001 vs. IPF

IPF pacijenti su imali značajno niže koncentracije PAB, O₂⁻ i TOS u odnosu na pacijente sa adenokarcinomom, odnosno skvamocelularnim i mikrocelularnim karcinomom. Sa druge strane antioksidativna zaštita je pokazala da su pacijenti sa IPF imali značajno nižu koncentraciju TAS od pacijenata sa adenokarcinomom i skvamocelularnim karcinomom pluća, dok razlika sa mikrocelularnim karcinomom pluća

nije bila statistički značajna. Odnos TAS/TOS i sadržaj ukupnih sulfhidrilnih grupa nisu se značajno razlikovali između podgrupa.

Tabela 38. Poređenje parametara inflamacije, vitamina D i PD-L1 kod pacijenata sa IPF i pacijenata sa različitim patohistološkim tipovima karcinoma

Parametar	IPF	Adenokarcinom	Skvamocelularni karcinom	Mikrocelularni karcinom	P
CRP (mg/L)	10,8 (4,8-19,0)**	7,07 (3,4-21,0)*	16,8 (11,5-20,9) ***	15,9 (7,2-21,3)**	< 0,01
SAA1 (mg/L)	8,82 (5,99-30,52)	11,1 (2,9-28,9)	23,5 (9,2-28,30)	26,3 (7,0-38,1)	0,474
Vitamin D (ng/ml - ug/L)	11,0 (9,6-15,1)	16,3 (11,6-20,0)*	17,7 (14,9-21,8)**	14,0 (11,4-19,9)	<0,01
PD-L1 (ng/L)	297,5 (117,7-545,9)	156,0 (86,0-322,5)*	196,1 (98,0-317,2)	147,3 (84,4-371,7)	<0,05

P- Kruskal-Wallisov test (neparametarska ANOVA), >0,05-nije statistički značajno; **/**/**P<0,05/0,01/0,001 vs. IPF

Pacijenti sa IPF imali su značajno višu koncentraciju inflamatornog markera CRP u odnosu na pacijente sa adenokarcinomom pluća, a značajno nižu u odnosu na skvamocelularni i mikrocelularni karcinom pluća. Koncentracija SAA1 se nije značajno razlikovala između pacijenata sa IPF i pacijenata sa karcinomom pluća. Pacijenti sa IPF imali su značajno nižu koncentraciju vitamina D u odnosu na pacijente sa adenokarcinomom i skvamocelularnim karcinomom ($p<0,05$, $p<0,01$, redom), a takođe i nižu koncentraciju od mikrocelularnog karcinoma, ali bez statistički značajne razlike.

Pacijenti sa IPF su imali više koncentracije PD-L1 u odnosu na adenokarcinom, dok se koncentracije nisu značajno razlikovale u odnosu na ostale dve grupe pacijenata sa karcinomom.

Poređenjem parametara lipidnog statusa kod pacijenata sa IPF i karcinomom pluća (svi histološki tipovi), nije bilo značajne razlike.

Tabela 39. Poređenje hematoloških parametara kod pacijenata sa IPF i pacijenata sa različitim patohistološkim tipovima karcinoma

Parametar	IPF	Adenokarcinom	Skvamocelularni karcinom	Mikrokarcinom	P
LE (10 ⁹ /L)	8,9 (8,2- 1,3)	5,6 (4,5-7,6)	6,32 (4,65-8,00)	7,3 (5,70-10,20)	>0,05
NE (%)	65,3 (55,8-76,0)	56,3 (53,9-62,4)	59,4 (38,3-66,6)	64 (52,1-69,4)	>0,05
ER (10 ¹² /L)	4,62 (4,06-4,95)	4,34 (3,77-4,77)	4,07 (3,77-4,45)	4,49 (3,94-4,81)	>0,05
HGB (g/L)	139 (133-152)	122 (109-135)*	121 (108-134)	131 (121-134)	0,025
HCT (L/L)	0,414 (0,392-0,451)	0,383 (0,342-0,407)*	0,351 (0,324-0,403)	0,394 (0,373-0,420)	0,045
TR (10 ⁹ /L)	229 (167-311)	336 (266-379)	266 (214-353)	233 (213-316)	>0,05
RDW (%)	13,8 (13,6-15,3)	14,8 (13,7-16,8)	16,6 (13,7-18,5)	16,9 (15,6-17,4)	>0,05
MPV (fL)	9,0 (8,4-9,3)	7,6 (7,5-8,0)**	7,8 (7,2-8,4)	8,4 (7,8-8,8)	<0,01

P- Kruskal-Wallisov test (neparametarska ANOVA), >0,05-nije statistički značajno; */**/**P<0,05/0,01/0,001 vs. IPF grupa LE - leukociti, NE-neutrofil, ER-eritrociti, HGB hemoglobin, HCT-hematokrit, TR-trombociti, RDW-raspodela eritrocita po volumenu, MPV-prosečni volume trombocita

Pacijenti sa IPF su imali značajno višu koncentraciju hemoglobina i viši hematokrit u odnosu na pacijente sa adenokarcinomom (P<0,05). Isti pacijenti su imali značajno veći MPV u odnosu na pacijente sa adenokarcinomom (P<0,01). Drugi hematološki parametri se nisu razlikovali između pacijenata sa IPF i ostalih podgrupa pacijenata sa karcinomom pluća.

5. DISKUSIJA

Oksidativni stres predstavlja sve češće proučavani mehanizam u patogenezi mnogih bolesti.

U našem istraživanju, svi određivani parametri oksidativnog stresa, osim TOS, bili su statistički značajno viši, a svi antioksidansi statistički značajno niži u grupi pacijenata sa IPF u odnosu na kontrolnu grupu zdravih. Takođe, parametri oksidativnog stresa/antioksidativne zaštite, kod obolelih od IPF, nisu se razlikovali u podgrupama po polu, pušačkom statusu, niti stadijumima bolesti određenih GAP skorom. Ispitivanjem povezanosti ovih parametara sa parametrima disajne funkcije, dobili smo da su pacijenti sa sniženim FVC (<80% predviđenih vrednosti) imali značajno niže koncentracije AOPP u serumu.

U svom istraživanju, Daniil i saradnici (96) su procenjivali oksidativni stres u plazmi pacijenata sa IPF, merenjem ukupnih hidroperoksida uz pomoć spektrofotometrijske metode pod nazivom D-ROM. Koncentracije hidroperoksida u serumu pacijenata sa IPF su bile značajno veće u poređenju sa kontrolnom grupom. Nije zabeležena značajna razlika između bivših pušača i osoba koje nikada nisu pušile. U grupi pacijenata sa IPF zabeležena je značajna pozitivna korelacija između koncentracije hidroperoksida u serumu i težine dispneje. Štaviše, zabeležena je negativna korelacija između koncentracija hidroperoksida u serumu, forsiranog vitalnog kapaciteta (FVC) i difuzijskog kapaciteta za ugljen-monoksid (DLco). Ipak, nisu pronađene značajne korelacije između parametara oksidativnog stresa i forsiranog ekspiratornog volumena u prvoj sekundi (FEV₁), FEV₁/FVC odnosa, PaO₂ i PaCO₂. Autori ovog rada smatraju da merenje koncentracija hidroperoksida može da bude korisno pri kliničkoj proceni pacijenata sa IPF.

Nemoto K. (97) i saradnici u svojoj studiji sprovedenoj kod 15 nelečenih pacijenata sa IPF pokazali su da su serumski nivoi D-ROM značajno bili povećani, a serumski nivoi BAP značajno sniženi kod pacijenata sa IPF-om u poređenju sa zdravim kontrolama. Međutim, u ovoj studiji nije uočena značajna veza između markera OS i kliničkog stanja IPF.

U svom istraživanju, Rahman i saradnici (98) su na 12 pacijenata sa IPF (7 nepušača i 5 pušača) i 31 zdravoj osobi (23 nepušača i 8 pušača) izmerili parametre balansa između oksidanta i antioksidanta u plazmi. U poređenju sa zdravim nepušačima,

TEAC (antioksidativni kapacitet ekvivalentan Trolox-u) u plazmi je bio značajno niži i kod zdravih pušača i pacijenata sa IPF, nezavisno od njihovog pušačkog statusa. Nasuprot tome, koncentracija proteina tiola u plazmi se nije značajno razlikovala između pacijenata sa IPF i zdravih osoba. Takođe se pokazalo da su koncentracije malondialdehida (MDA) u plazmi bile veće kod zdravih pušača nego kod nepušača, ali su bile slične kod pacijenata s IPF koji su pušili i zdravih pušača. Koncentracije proizvoda peroksidacije lipida bile su veće kod pacijenata sa IPF, nezavisno od njihovog pušačkog statusa, u poređenju sa zdravim nepušačima. Ovakvi nalazi po prvi put ukazuju na to da je kod IPF lokalni oksidativni stres udružen sa značajnim disbalansom sistemskog redoks statusa.

Jackson i saradnici (99) sproveli su istraživanje u koje je bilo uključeno 29 pacijenata sa IPF i 6 zdravih osoba, kojima su se merili izoprostane, ukupan antioksidantni kapacitet (TAC) i H_2O_2 u plazmi i urinu. U cilju kvantitativne ocene dispneje, pacijenti sa IPF su takođe bili podvrgnuti standardnom protokolu za vežbanje na biciklu. Prikupljeni rezultati ukazali su na to da se kod pacijenata sa IPF nakon vežbe, vrednosti izoprostana u plazmi nisu značajno promenile, ali da su ipak prekoračile normalne kontrolne opsege za ovaj test. Nasuprot tome, u urinu prikupljenom od pacijenata sa IPF, koncentracija izoprostana bila je značajno povećana nakon vežbe. Štaviše, TAC plazme značajno se smanjio nakon vežbe, praćeno povećanjem koncentracija laktata i hipoksemije, što ukazuje da je došlo do povećanog sistemskog oksidativnog stresa. Nije pronađena statistički značajna razlika u koncentraciji H_2O_2 u urinu između zdravih osoba i pacijenata sa IPF, kako u stanju mirovanja tako i nakon vežbanja. Na osnovu prikupljenih podataka, autori su zaključili da kod pacijenata sa IPF postoje dokazi sistemskog oksidativnog stresa u fazi mirovanja, a da je umereno vežbanje kod ove grupe pacijenata dovela do nastanka reaktivnih kiseoničnih vrsta.

Slično tome, Malli i saradnici (100) su u svom istraživanju zabeležili veće koncentracije 8-izoprostana u serumu kod 16 pacijenata sa IPF u poređenju sa kontrolnom grupom od 17 zdravih osoba.

U jednoj od nekoliko objavljenih studija sprovedenih u cilju da se procene biomarkeri oksidativnog stresa u terapiji antioksidansima, Muramatsu i saradnici (101) su obavili retrospektivnu procenu efekta monoterapije inhalacionim N-acetilcisteinom (NAC) na redoks balans i funkciju pluća kod 22 pacijenta sa ranom netretiranom IPF i u kontrolnoj grupi od 29 osoba. FVC, koncentracija ukupnog glutaciona (tGSH) i

oksidisanog glutationa (GSSG) u krvi, kao i odnos tGSH/GSSG i koncentracije 8-hidroksi-2'-deoksiguanozina (8OHdG) u urinu merene su na početku studije, kao i 6 i 12 meseci nakon početka terapije. Pacijenti su bili podeljeni u dve grupe na osnovu odgovora na terapiju nakon šest meseci: pacijenti sa progresijom oboljenja (FVC je smanjen za $\geq 5\%$) i pacijenti sa stabilnim oboljenjem (FVC je smanjen za $< 5\%$). Početne koncentracije tGSH i odnos tGSH/GSSG bili su značajno niži kod pacijenata sa IPF nego kod zdravih osoba u kontrolnoj grupi, dok su početne koncentracije GSSG bile značajno veće kod pacijenata sa IPF nego kod osoba u kontrolnoj grupi. Zabeležene srednje prosečne promene tGSH sa vremenom kod pacijenata sa stabilnim oboljenjem bile su slične kao kod pacijenata sa progresijom oboljenja. Međutim, kod pacijenata sa stabilnom bolešću, koncentracije GSSG na početku i prilikom kontrolnih pregleda, bile su značajno veće nego kod pacijenata sa progresijom oboljenja. U poređenju sa pacijentima sa progresivnim oboljenjem, početni odnos tGSH/GSSG je bio značajno niži kod pacijenata sa stabilnim oboljenjem, a srednja vrednost promena nastalih u toku praćenja bila je varijabilna. Dodatno, rezultati ukazuju na to da je postojala značajna negativna korelacija između promena u GSSG i promena u FVC, kao i značajna pozitivna korelacija između promena u odnosu tGSH/GSSG i promena u FVC. Konačno, analiza ROC krive pokazala je da su najbolja osetljivost (69%) i specifičnost (100%) pri razlikovanju između stabilnog i progresivnog oboljenja postignute kada su početne koncentracije GSSG $\geq 1,579 \mu\text{mol/l}$. Autori su zaključili da se kod pacijenata sa IPF na osnovu početnih koncentracija GSSG može predvideti efikasnost inhaliranog NAC, a da blagovremeno ordiniran prekursor GSH može da odloži progresiju IPF, posebno kod pacijenata koji su pre uvođenja terapije imali veće ukupne koncentracije GSSG u punoj krvi.

U svom istraživanju, Matsuzawa i saradnici (102) su uz pomoć „D-ROM” merili koncentraciju hidroperoksida u serumu kod 43 nelečena pacijenta sa IPF i 30 zdravih osoba (kontrolna grupa). U periodu od šest meseci praćeno je 27 od 43 pacijenta sa IPF, a koncentracija hidroperoksida je izmerena pre primene terapije kod 13 pacijenata sa akutnom egzacerbacijom. Koncentracija hidroperoksida kod pacijenata sa IPF bila je značajno veća od koncentracija u kontrolnoj grupi. Kod 22 od 27 osoba koje su praćene u periodu od šest meseci značajno su porasle koncentracije hidroperoksida. Nije bilo značajne razlike u početnim parametrima oksidativnog stresa između pacijenata sa rapidnom progresijom i pacijenata sa sporom progresijom, ali je, nakon 6 meseci, obim

povećanja bio veći kod pacijenata s rapidnom progresijom. Pored toga, koncentracije hidroperoksida kod 13 pacijenata sa akutnom egzacerbacijom bile su značajno veće nego kod pacijenata sa stabilnim oboljenjem. Imajući u vidu da su kod osoba sa IPF hidroperoksidi značajno korelirali sa nižim FVC i akutnom egzacerbacijom, autori su zaključili da oksidativni stres može da bude uključen ne samo u razvoj IPF, već i u njegovu progresiju.

U svom istraživanju sprovedenom na 31 pacijentu sa idiopatskom intersticijalnom pneumonijom (IIP), uključujući 9 pacijenata sa IPF i 33 zdrave osobe, Ugurlu i saradnici (103) su izmerili ukupni oksidativni status (TOS), ukupni antioksidativni status (TAS) i indeks oksidativnog stresa (OSI). Pacijenti sa IIP imali su veće vrednosti TOS i OSI, ali slične vrednosti TAS u poređenju s kontrolnom grupom. Kod pacijenata sa IIP, zabeležena je negativna korelacija između TOS i deformabilnosti eritrocita izmerene na 1,69 Pa, kao i pozitivna korelacija između TAS i deformabilnosti eritrocita izmerene na 5,33 Pa. Prema mišljenju autora, ovi nalazi ukazali su na to da kod pacijenata sa IIP, povećana agregacija eritrocita posredovana oksidativnim stresom može dodatno da naruši oksigenaciju tkiva.

U svojoj studiji, Veith i saradnici (104) su kod 11 nepušača sa IPF-om i 9 zdravih nepušača (kontrolna grupa) merili koncentracije GSH, GSSG, TEAC, vitamina C i mokraćne kiseline u krvi. Zabeležene su koncentracije GSH koje su bile približno 50% niže kod pacijenata sa IPF u poređenju sa kontrolnom grupom. Između ove dve grupe nije zabeležena statistički značajna razlika u koncentraciji GSSG. TAC u plazmi pacijenata sa IPF bio je značajno niži u poređenju sa kontrolnom grupom. Koncentracije mokraćne kiseline i vitamina C, dva endogena antioksidanta za koje se zna da značajno doprinose ukupnom antioksidativnom statusu u plazmi, bile su neznatno, ali ne značajno niže kod pacijenata sa IPF nego kod kontrolne grupe.

Anathi i saradnici (105) su u svom istraživanju pokazali potencijalno novi tretman za IPF smanjenjem oksidacije proteina u plućima. Ova istraživačka grupa je pokazala da fibrozna pluća imaju smanjenu enzimsku aktivnost GLRX (glutaredoksin-1) i povećanu aktivnost PSSG (protein S-glutationilacije). Protein S-glutationilacija (PSSG) je post-translacijska modifikacija proteina koja doprinosi apoptotskom putu. PSSG se može preokrenuti glutaredoksinom-1. Direktno administracija GLRX proteina u disajnim putevima miševa sa TGF β 1- ili bleomicinom indukovanom fibrozom, preokrenula je

povećano stvaranje kolagena, pokazujući tako da GLRX i PSSG igraju ulogu u fibrozi pluća, čime su zaključili da bi se egzogeni GLRX potencijalno mogao koristiti za lečenje fibroze pluća.

Uprkos varijabilnosti primenjenih metoda i razlikama u rezultatima, ova istraživanja ukazala su da kod pacijenata sa IPF postoji povećan OS koji je u korelaciji sa kliničkim i funkcionalnim parametrima. Osim toga, u težim i rapidno progresivnim oblicima, biomarkeri OS bili su značajno izmenjeni. I rezultati našeg istraživanja su u skladu sa gore navedenim podacima iz literature, a sve zajedno moglo bi značajno doprineti daljim istraživanjima na polju otkrivanja novih dijagnostičkih, prognostičkih i prediktivnih biomarkera, kao i novih terapijskih modaliteta za IPF.

Nedavno su istraživanja pokazala da vitamin D može igrati značajnu ulogu u višestrukim hroničnim bolestima kao što su karcinomi, autoimune bolesti, infekcije i kardiovaskularni i respiratorni poremećaji. U velikoj studiji NHANES III, koja je rađena na američkoj populaciji, uočeno je da su više koncentracije vitamina D bile povezane sa boljom funkcijom pluća, koja je procenjivana merenjem vrednosti FEV1. Iako je precizna veza između statusa vitamina D i funkcije pluća u ovom trenutku nejasna, mehanizam kojim vitamin D poboljšava funkciju pluća može biti kroz njegovo antiinflamatorno dejstvo, antimikrobne peptide, i / ili njegovo delovanje na mišić.

Postoje brojne studije koje se bave statusom vitamina D u različitim plućnim bolestima, neke od njih se fokusiraju na astmu, hroničnu opstruktivnu plućnu bolest (COPD), cističnu fibrozu (CF) i respiratorne infekcije. Ove studije su pokazale visoku prevalencu nedostatka vitamina D kod njihovih učesnika. Nedostatak vitamina D povezan je sa lošijom funkcijom pluća kod pacijenata sa HOBP i CF. Takođe, studije su pokazale povezanost između nedostatka vitamina D i infekcija izazvanih *Micobacterium tuberculosis* (TB), kao i infekcija gornjeg respiratornog trakta. Podaci u literaturi o statusu vitamina D kod pacijenata sa IPF su veoma oskudni (106).

U našem istraživanju u grupi pacijenata sa IPF, svi pacijenti su imali snižene koncentracije vitamina D u serumu. Prosečna vrednosti iznosila je 11,0 ng/ml (9,6-15,1 ng/ml), tj. postojala je jaka deficijencija u odnosu na referentne vrednosti (>32 ng/ml). Pušački status, pol i stadijum bolesti (GAP skor) nisu uticali na vrednosti vitamina D kod pacijenta sa IPF, dok je postojala pozitivna korelacija sa pređenom distancom tokom 6MWT. Takođe, pacijenti koji su imali snižene vrednosti FVC (<80% predviđenog) imali

su i značajno niže vrednosti vitamina D u serumu (u poređenju sa grupom pacijenata kod kojih je FVC > 80%). S druge strane, vrednosti DLco (< 40% predviđenog vs. > 40% predviđenog) nisu uticale na vrednosti vitamina D, kao ni vrednosti Kco (< 80%), niti TLC (< 80%).

Hagman i saradnici (107) u svojoj studiji pokazali su da postoji velika prevalencija nedostatka vitamina D kod pacijenata sa intersticijskim bolestima pluća (posebno kod kod kojih je ILD bila u sklopu bolesti vezivnog tkiva), i povezana je sa smanjenom funkcijom pluća. Takođe, pokazali su da su sniženi FVC i DLCO bili značajno povezani sa nižim nivoima 25-hidroksivitamina D3.

Tzilas i saradnici (108) su objavili rezultate svog istraživanja sprovedenog kod 133 pacijenta sa različitim vrstama intersticijskih bolesti pluća (uključujući I IPF) i pokazali su da nije bilo značajne razlike u nivou vitamina D između uzoraka IPF i ne-IPF. Nivo vitamina D je bio povezan sa težinom bolesti, koja je procenjena preko procenta predviđenih vrednosti za FVC i DLCO, a takođe je bio i prediktivan za smrtnost.

Zhang Z. i saradnici (109) u svom istraživanju naveli su da je rano dodavanje vitamina D (u 14., 21. i 28. danu) značajno smanjilo težinu plućne fibroze i akumulaciju inflamatornih ćelija kod plućne fibroze izazvane bleomicinom kod miševa, ($P < 0,001$). Dodatak vitamina D takođe je sprečio neke ultrastrukturne promene u odgovoru na primenu bleomicina, uključujući zadebljanje bazalne membrane, taloženje intersticijskog fibrina i zaravnjivanje ili nestanak mikrovila. Na kraju, autori su zaključili da tretman vitaminom D može da spreči plućnu fibrozu izazvanu bleomicinom odlaganjem ili supresijom ultrastrukturnih promena, kao i ublažavanjem akumulacije hidrosiprolina i inhibiranjem miofibroblastične proliferacije.

U svojoj studiji, Shi Y i saradnici (110) objasnili su da hronični nedostatak vitamina D može izazvati preteranu aktivaciju renin-angiotenzinskog sistema (RAS) i prekomernog taloženja ekstracelularnog matriksa (ECM) i posledičnog pogoršanja fibroze pluća. Naime, ova studija imala je za cilj da istraži efekat hroničnog nedostatka vitamina D na fibrozu pluća u inače zdravih miševa i da istraži ulogu RAS u ovom procesu. Hronični nedostatak vitamina D doveo je do strukturnih promena u plućima miševa. Takođe je utvrđeno da se komponente RAS-a povećavaju usled nedostatka vitamina D, a da se davanjem blokatora RAS-a, ove promene mogu u velikoj meri suprimirati. S druge strane, davanje relaksansa glatkih mišića, čiji je regulatorni uticaj na

krvni pritisak nezavisan od RAS nije pokazao slične efekte. Dakle, ova studija je pokazala da hronični nedostatak vitamina D može indukovati RAS aktivaciju, koja kasnije stimuliše ekspresiju profibrotičkih faktora i aktivira fibroznu kaskadu, ako i da je ovaj profibrotički efekat RAS je nezavisan od povišenog krvnog pritiska.

Na osnovu naših rezultata, kao i pregleda literature, može se definitivno zaključiti da kod pacijenata sa IPF postoji značajna deficijencija vitamina D, te da je njegova uloga u patogenezi ove bolesti izvesna, ali su svakako neophodna dopunska istraživanja koja će dodatno razjasniti mehanizme koji su u osnovi ovoga. Takođe, smatramo i da suplementacija vitaminom D može imati značajan benefit kod ovih pacijenata.

C-reaktivni protein (CRP) i serumski amiloid A (SAA) se danas široko koriste kao biomarkeri akutne faze u mnogim bolestima, među kojima su različite vrste infekcija, inflamacija, maligne bolesti, bolesti vezivnog tkiva (111). CRP je najčešće korišćeni, senzitivni inflamatorni biomarker koji se koristi u rutinskom kliničkom radu. U poslednjih nekoliko godina, sve je češće određivanje visokog osetljivosti CRP (hs-CRP) zbog široko rasprostranjene primene testova čiji opseg merenja obuhvata i veoma niske koncentracije.

U našem istraživanju, grupa pacijenata sa IPF imala je značajno više vrednosti oba inflamatorna markera (SAA1 i CRP) u odnosu na kontrolnu grupu zdravih, a što je posebno bilo evidentno u slučaju CRP. Vrednost SAA1 bila je značajno povišena u odnosu na kontrolnu grupu zdravih (8.82 mg/L, $P=0.014$). Ispitivanjem uticaja parametara disajne funkcije ovih pacijenata na vrednost CRP dobili smo značajno niže vrednosti CRP kod pacijenata koji su imali lošiju disajnu funkciju (procenjenu na osnovu $FVC < 80\%$ predviđenih vrednosti), dok nije bilo razlike u vrednostima u odnosu na ostale procenjivane parametre disajne funkcije (DLco, Kco, TLC). SAA1 se nije razlikovao u odnosu na parametre disajne funkcije (FVC, DLco, Kco, TLC). Vrednosti ni jednog ni drugog inflamatornog markera nisu se razlikovale u odnosu na pol, pušački status, stadijum bolesti procenjen GAP skorom, niti je bilo korelacije sa 6MWT.

Pregledom literature, podaci koji se odnose na ispitivanje nivoa CRP i SAA kod pacijenata sa IPF su veoma oskudni ili gotovo i da ne postoje, ali smo pronašli podatke koji se odnose na ove inflamatorne markere u sklopu drugih respiratornih oboljenja, kao i drugih intersticijskih bolesti pluća.

Liu X i saradnici (112) su u svojoj studiji sprovedenoj na 266 pacijenata sa sistemskom (SSc) i 97 zdravih kontrola, potvrdili da su bazalno merene vrednosti CRP bile povezane sa kraćim preživljavanjem ($P < 0,001$) i predviđali su dugoročni pad FVC nezavisno od potencijalnih uticaja drugih faktora (starost na početku studije, pol, etnička pripadnost, tip bolesti, aktuelni pušački status, indeks telesne mase, topoizomeraza i tretman imunosupresivnim agensima) u multivarijabilnom modelu ($P = 0,006$), te su zaključili da CRP može biti prediktivni biomarker dugoročne progresije za ILD.

Zhang L i saradnici (113) su sproveli sistematski pregled literature i veliku meta analizu koja se odnosila na faktore udružene sa ILD, kod pacijenata sa idiopatskim inflamatornim miozitisima (IIM), poliomiozitisom i dermatomiozitisom, i pronašli su da su, pored ostalih faktora, povišene vrednosti CRP značajno povećavale rizik za pojavu ILD kod pacijenata sa IIM.

Serumski amiloid A (SAA) predstavlja porodicu od tri različita proteina. Najviše proučavani proteini iz ove porodice su serumski amiloidi akutne faze - SAA1 i SAA2 (114). Istraživanja pokazuju da je jetra glavno mesto za proizvodnju SAA proteina. SAA može stimulisati proizvodnju različitih citokina i igra važnu ulogu u akutnom imunskom odgovoru (115).

Jedna od novijih hipoteza pretpostavlja da SAA unutar granuloma promovise inflamaciju sarkoidoze. Tako su, Salobir B i saradnici (116), u svom istraživanju testirali povezanost SAA i markera inflamacije i sarkoidoze, u zavisnosti od tretmana glukokortikoidima. Zaključili su da je SAA, u grupi pacijenata tretiranih glikokortikosteroidnom terapijom, SAA korelirao sa CRP, PCT, stepenom medijastinalne limfadenopatije, granulomskim infiltratima pluća, ali i plućnom fibrozom i vrednostima DLCO, ali i da nije bio u korelaciji sa markerima aktivnosti sarkoidoze (ACE i hitotriozidaza).

Lakota K i saradnici (117) su svojim istraživanjem SAA kod 129 pacijenata sa sistemskom sklerozom (SSc) pokazali da su povišeni nivoi SAA nađeni u 25% pacijenata sa SSc, sa najvišim nivoima kod onih u ranom stadijumu bolesti i difuznim kožnim promenama. Utvrđene su značajne negativne korelacije SAA sa FVC i DLco. Pacijenti sa povišenim SAA imali su više izraženu dispneju i češću intersticijalnu bolest pluća, kao i lošiji rezultat pri ispitivanju kvaliteta života. Inkubacija sa rekombinantnim SAA izazvala je dozno-zavisnu stimulaciju IL-6 i IL-8 u normalnim plućnim fibroblastima u

kulturi, odnosno u fibroblastima pluća, SAA deluje kao direktni stimulans za povećanje produkcije citokina. Autori ove studije su zaključili da ovi nalazi ukazuju na to da sistemska upala u SSc može biti povezana sa zahvatanjem pluća i da SAA može poslužiti kao potencijalni biomarker za ovu komplikaciju.

Jedno od interesantnih istraživanja Anthony D i saradnika (118) pokazalo je direktnu vezu između broja neutrofila i SAA u disajnim putevima pacijenata sa HOBP i da neutralizacija IL-17A sprečava neutrofilnu inflamaciju izazvanu SAA in vivo. Pored toga, SAA povećava ekspresiju TH17 regulišućih citokina IL-6 i IL-17A, ALX-FPR2 zavisnim mehanizmima. Autori su zaključili da osa SAA-IL-17A može predstavljati važan urođeni odbrambeni mehanizam, koji može biti u osnovi perzistentne neutrofilne inflamacije disajnih puteva kod bolesnika sa HOBP i moduliranje ALKS-FPR2 receptora može predstavljati novi pristup u lečenju ove bolesti.

Na osnovu rezultata naše studije možemo zaključiti da SAA1 potencijalno može predstavljati značajan serumski biomarker kod pacijenata sa IPF, ali su svakako potrebna dodatna istraživanja, na većem broju pacijenata koja bi definisala mesto i značaj ovog biomarkera u dijagnostičkom, prediktivnom i prognostičkom smislu.

U našem istraživanju, pacijenti sa IPF su imali značajno niže koncentracije LDL holesterola i značajno više koncentracije triglicerida (1.32mmol/L, P=0.015) u odnosu na zdrave osobe, dok se prosečne vrednosti ukupnog holesterola i HDL holesterola nisu značajno razlikovale.

Dislipidemija, stanje povišenih serumskih triglicerida, povišen lipoproteinski holesterol niske gustine (LDL), i/ili lipoproteinski holesterol visoke gustine (HDL), je javno zdravstveni problem koji je sve više rasprostranjen u savremenom društvu, kao i klasteri sa gojaznošću i drugim poremećajima metaboličkog sindroma, u čijoj osnovi je inflamacija. Iako je najbolje prepoznat kao faktor rizika za aterosklerotičnu kardiovaskularnu bolest, nedavno je pokazano da je poremećaj lipida uticao na različite procese i pojavu bolesti u nekoliko sistema organa, između ostalih i pluća. Interventne studije koje su koristile miševе pokazale su da promet holesterola igra iznenađujuće važnu i možda jedinstvenu ulogu u fiziologiji i imunskoj homeostazi pluća. Ova veza verovatno proizilazi iz specifičnih zahteva biologije i potrebe pluća za holesterolom. U svom radu, Godway i Fessler (119), podržavaju novu hipotezu da HDL holesterol može uticati na subkliničko oštećenje pluća i remodeliranje ekstracelularnog matriksa. Takođe

je nedavno pokazano da dislipidemija izazvana ishranom menja promet imunskih ćelija do pluća na način koji može imati važne implikacije na patogenezu akutnog oštećenja pluća, astme, pneumonije i drugih plućnih poremećaja. Nasuprot tome, farmakološka sredstva za snižavanje holesterola, kao što su statini, mimetički peptidi apolipoproteina i agonisti X receptora jetre, pružili su rana obećanja u lečenju nekoliko plućnih bolesti (između ostalih i IPF), ali su svakako neophodna dodatna obimna istraživanja.

Sve češće se prepoznaje uloga apolipoproteina u patogenezi i lečenju različitih bolesti pluća, na osnovu njihove sposobnosti da suzbijaju inflamaciju, oksidativni stres i remodeliranje tkiva, i da promovišu adaptivni imunitet i odbranu domaćina. Apolipoproteini, kao što su apolipoprotein E (apoE) i apolipoprotein A-I (apoA-I), su važne komponente čestica lipoproteina koje olakšavaju transport holesterola, triglicerida i fosfolipida između plazme i ćelija. Delovi lipoproteina koji sadrže ApoE su internalizovani u ćelije sa lipoproteinskim receptorima niske gustine (LDLR), dok apoA-I stupa u interakciju sa ATP-vezujućom podfamilijom A člana 1 (ABCA1) transportera da izbací holesterol i fosfolipide iz ćelija. ApoE i apoA-I takođe, posreduju efekte koji su nezavisni od receptora, kao što su vezivanje i neutralisanje lipopolisaharida (LPS). I apoE i apoA-I se eksprimiraju u ćelijama pluća, što omogućava da apoE / LDLR- i apoA-I / ABCA1-zavisni putevi moduliraju normalna zdrava pluća i patogenezu respiratornih bolesti, uključujući astmu, akutno oštećenje pluća, karcinom, emfizem, plućnu fibrozu i plućnu hipertenziju. Podaci iz istraživanja na ljudima i istraživanja na eksperimentalnim sistemima (miševima), pokazali su da i apoE i apoA-I putevi igraju prvenstveno zaštitne uloge u biologiji pluća i respiratornim bolestima. Osim toga, apolipoproteinski mimetički peptidi, koji odgovaraju LDLR-vezujućem domenu apoE ili amfipatskoj a-helijalnoj strukturi klase A apoA-I, imaju antiinflamatorne i antioksidativne efekte koji ublažavaju ozbiljnost plućne bolesti u modelima na miševima (120).

Pluća imaju jedinstven odnos prema holesterolu, koji je glavni neutralni lipid plućnog surfaktanta. S jedne strane, pluća dobijaju pun kardiološki učinak i njihova snabdevenost holesterolom dominantno zavisi od količine lipoproteina u plazmi. S druge strane, površinski aktivni lipidi, uključujući i holesterol, su stalno podložni oksidaciji zbog direktne izloženosti okolini i moraju biti očišćeni ili reciklirani zbog veoma uskih biofizičkih mandata postavljenih na lipidnu kompoziciju surfaktanta. Interesantno je da su povećani, lipidno opterećeni, makrofagi - "ćelije pene" zabeležene u velikom broju

patoloških stanja pluća kod ljudi. Ovo sugerira da disregulacija lipida može biti jedinstveni, možda doprinoseći događaj u patogenezi nekih hroničnih bolesti pluća. Nedavne studije su pokazale da ove smetnje u intracelularnom prometu holesterola kritički menjaju imuni odgovor makrofaga i drugih ćelija, što bi moglo doprineti boljem razumevanju patogeneze kao i razvoju novih terapijskih modaliteta hroničnih plućnih bolesti (121).

Iannello S i saradnici (122) su u svojoj studiji, koju su sprovedi kod 44 pacijenta sa hroničnom intersticijalnom ili plućnom fibrozom (FP), pokazali su da je FP bila povezana sa niskim vrednostima triglicerida (TG) i visokim nivoima slobodnih masnih kiselina (FFA) u serumu. Autori su objasnili da bi ulogu u mehanizmu, koji je doveo do ovih promena, mogla da ima pojačana produkcija insulinu-sličnog faktora rasta-I (IGF-I), koji snižava TG i povećava FFA, a za koji se navodi da se javlja u plućnoj fibrozi.

U literaturi, prijavljena prevalencija dislipidemije kod pacijenata sa IPF-om kreće se između 11 i 21,7% (123,124). Interesantan je podatak da su u svojoj studiji Enolo T i saradnici (125) prijavili prevalencu dislipidemije od 19,2% kod pacijenata sa IPF, a značajno više u kontrolnoj grupi zdravih, čak 46%. Swapnendu i saradnici (126) su u svojoj observacionoj studiji objavili učestalost dislipidemije od 25%, kod pacijenata sa difuznim parenhimskim bolestima pluća.

IPF ima zajedničke faktore rizika sa karcinomom pluća i značajne sličnosti u svom patofiziološkom procesu, u odnosu na genetske, epigenetske, ćelijske i molekularne aspekte. Obe bolesti imaju loš ishod (127,128).

Imunski „checkpoint“ protein je jedan od ključnih inhibitornih molekula u regulaciji inflamatornog odgovora, koji nastaje nakon oštećenja normalnog tkiva pluća i smatra se relevantnim u patogenezi IPF i karcinoma pluća. Kao što je poznato, faktori rizika kao što su pušenje i izloženost različitim polutantima u radnoj i životnoj sredini, dovode do stimulacije repetativnog oštećenja epitela pluća, a koje vodi ka abnormalnom zarastanju rana, što predisponira genetske mutacije i na kraju nastanak IPF i karcinoma pluća. Pacijenti sa IPF imaju povećan rizik od karcinoma pluća (128). S druge strane, toksičnost pluća, fibrozirajući pneumonitis, kao i neželjeni efekat imunološke terapije sa anti-PD-1/PD-L1 agensima, češći je kod pacijenata sa NSCLC nego kod pacijenata sa drugim tipovima tumora, a iz kliničkih ispitivanja sa anti-PD-1 i anti-PD-L1 agensima isključeni su pacijenti sa osnovnom intersticijskom bolešću pluća (ILD) (129).

U fiziološkim uslovima, alveolarni makrofazi su veoma značajni u homeostazi i funkcionisanju pluća, ne samo za klirens surfaktanta u alveolarnom prostoru (130), već i za usmeravanje pulmonalnih imunoloških odgovora na patogene i regulisanje oštećenja tkiva potiskivanjem imunskih odgovora (131). AM kolonizuju pluća u prvih nekoliko dana života i imaju impresivna samoobnavljajuća svojstva; ekspanzija *in situ* je dominantan mehanizam za obnovu makrofagi (132,133).

Iako postoje očigledne razlike između M2 makrofaga, regulatornih makrofaga, makrofaga povezanih sa tumorom (TAM) i podgrupa supresorskih ćelija mijeloidnog porekla (MDSC), sve one imaju immunosupresivne efekte (130,134). Shodno tome, kada se stimulišu, makrofagi usvajaju "kontekst zavisni fenotip", koji promovise ili inhibira antimikrobnu odbranu domaćina, antitumorski imunitet i inflamatorne odgovore. Postoje novi dokazi da makrofagi predstavljaju spektar aktiviranih fenotipova, a ne diskretne stabilne subpopulacije (134). Njihova plastičnost je dokumentovana u brojnim studijama, pri čemu su, kao odgovor na različite signale iz mikrookoline, makrofagi prelazili iz jednog funkcionalnog fenotipa u drugi (134).

Od kada se pokazalo da je IPF povezana sa procesom starenja, zbog mogućih velikih uticaja na klinički tok i ishode IPF, posvećena je velika pažnja AM, kao dugoživećim ćelijama. Vrsta i funkcija proizvedenih citokina mogu značajno da variraju između rezidualnih i regrutovanih makrofaga, te se stoga smatra da je diferencijacija između regrutovanih i rezidentnih makrofaga važna u fibrogenezi (132). Za razliku od većine drugih tkivnih makrofaga, pokazalo se, da AM zavise od signalizacije receptora za transformišući faktor rasta- β (TGF- β). TGF- β je presudan za diferencijaciju fetalnih monocita u preAM u toku embrionalnog razvoja, za njihovo sazrevanje nakon rođenja, kao i za homeostazu zrelih AM (16,18). TGF- β potiču iz AM, što ukazuje na autokrinu petlju koja promovise samoodržavanje AM, a s druge strane, TGF- β aktiviraju AM (131).

Makrofagi su ključni regulatori fibroze koji proizvode brojne pro-fibrotične solubilne medijatore, hemokine i matriks-metaloproteaze. Pri normalnom oporavku, kao odgovoru koji nastaje nakon oštećenja, makrofagi stiču fenotip koji promovise fibroproliferaciju, te stoga „pro-fibrotični“ makrofagi (takođe zvani i M2) proizvode različite medijatore, pro-fibrotične citokine i hemokine, uključujući TGF- β 1, koji direktno aktiviraju fibroblaste i regulišu proliferaciju i preživljavanje miofibroblasta i na taj način, takođe, kontrolišu i taloženje u ekstracelularni matriks (ECM) (132,135). Pro-

fibrotični makrofagi takođe direktno proizvode matriks metaloproteinaze (MMP) i tkivne inhibitore metaloproteinaza (TIMP), koji regulišu inflamatornu regrutaciju ćelija i promet kroz ECM (132). Iako su makrofagi neophodni za inicijaciju i održavanje fibroze, rezultati pojedinih studija sugerišu da su oni takođe potrebni i pri supresiji i rezoluciji fibroze, te su stoga, zbog njihove sposobnosti da iniciraju i inhibiraju fibrozu, makrofagi veoma relevantni za sve stadijume fibrotičnih procesa. Na osnovu brojnih otkrića, smatra se da makrofagi dobijaju jasne uloge pokazujući dominantan fenotip zavistan od specifičnog stadijuma fibrotskog procesa (132,135).

Dobro je poznato da monociti i makrofagi takođe funkcionišu i kao antigen prezentujuće ćelije, koje T ćelijama šalju ko-stimulatorne i ko-inhibitorne signale (136), te stoga mogu da promovišu Th2 odgovore (137), a koji u makrofagima indukuju i aktiviraju TGF- β 1, IL-13- i MMP 9- zavisnim mehanizmom (136). Ekspresijom imunoinhibitornih liganda, kao što je PD-L1, makrofagi mogu da suprimiraju T ćelijski imunitet.

Vezivanjem PD-L1 za PD-1 koje ekspimiraju T ćelije, stvara se inhibitorni signal koji blokira T ćelijsku aktivnost, a ova PD-L1/PD-1 osa je važna negativna povratna sprega koja obezbeđuje imunološku homeostazu, ali je i način na koji tumori efikasno izbegavaju detekciju i suzbijaju imunske odgovore. Makrofagi povezani sa tumorom, koji sadrže velike količine PD-L1, blokiraju aktivnost infiltrirajućih tumor citotoksičnih T ćelija, antitumorskih T ćelija. Saznanje o ulozi koju PD-1/PD-L1 metabolički put ima u nishodnoj regulaciji aktivnosti efektorskih T ćelija unutar tumora i perifernih tkiva, omogućilo je razvoj imunološke terapije karcinoma - „checkpoint“ inhibitorna terapija, koja ciljno utiče na ekspresiju PD-L1 na ćelijama karcinoma i ćelijama koje su povezane sa tumorima, oslobađajući antitumorske T ćelije, omogućujući im proliferaciju i uništavanje ćelija karcinoma (138).

Supresija citotoksičnog T ćelijskog odgovora može da bude vođena makrofagima unutar tumorskog mikrokruženja kroz ekspresiju B7 familije liganda (PD-L1, B7-H4), ili indirektno kroz oslobađanje IL-10 ili regrutovanje regulatornih T-ćelija koje ekspimiraju IL-10 (T_{Reg}). U poslednjem slučaju, IL-10 suprimira sposobnost dendritičnih ćelija da proizvode IL-12 i promovišu Th1/citotoksično T-ćelijsko antitumorsko imunsko dejstvo. U kliničkim ispitivanjima, stope odgovora na „checkpoint“ inhibitornu terapiju se delimično odnose na ekspresiju PD-L1 u stromi tumora u skladu sa funkcijom

makrofaga i/ili drugih stromalnih ćelija u blokiranju odgovora antitumorskih T-ćelija (138,139).

Potrebno je napomenuti da se PD-1 eksprimira, ne samo na T ćelijama, već i na TAM, koji postaju inaktivni nakon vezivanja za PD-L1 ekspimiranim na tumorskim ćelijama. TAM koji imaju fenotip M2 (M2 TAM) ekspimiraju PD-L1 kao i ligand za receptor ćelijske smrti, FAS, koji inaktivira T ćelije i dovodi do njihove smrti. Lečenje „checkpoint“ inhibitorima omogućava aktivaciju citotoksičnih T ćelija, ali i povećava fagocitnu sposobnost TAM protiv tumorskih ćelija. PD-1-pozitivni TAM imaju smanjenu fagocitnu sposobnost u poređenju sa PD-1 negativnim TAM, koja je dodatno umanjena ukoliko istovremeno postoje tumorske ćelije koje ekspimiraju PD-L1 (140,141).

Originalna, nova otkrića vezana za M2 TAM koji ekspimiraju PD-1 i PD-L1 i njihov uticaj (140) mogu da doprinesu saznanjima o ulozi PD-1/PD-L1 metaboličkog puta, ne samo kod tumora, već i u drugim imunološkim mikrookruženjima u kojima učestvuju različite imunske ćelije. Uz pomoć ovog saznanja mogli bismo da zamislimo sličnu situaciju i kod IPF, spekulisujući kako imunske ćelije, posebno monociti i makrofagi, podstiču fibrozu kroz posebne molekularne procese, pored onih koji su poznati kao „proinflamatorni“ putevi.

Slično kao i TAM, makrofagi kod IPF mogu da prikažu dva fenotipa, inflamatorni M1 i predominantno alternativno aktivirani, M2 fenotip. Ovaj M2 fenotip ima izraženu ekspresiju arginaze, kao i hitinazi- i rezistinu sličnih molekula (141) i sposobnost da promoviše sekreciju faktora rasta fibroblasta (uključujući PDGF i FGF2), profibrotične citokine, uključujući TGF- β i interleukin 13 (IL-13) (142) i inhibitor aktivatora plazminogena (PAI)-1 i MMP (141). Štaviše, u istraživanjima fibroze pluća na miševima nedavno je prikazano da fibrociti ne učestvuju u taloženju kolagena (143), što ukazuje na to da su makrofagi (ili njihovi monocitni prekursori) od ključnog značaja za IPF (144).

Makrofagi koji se nalaze u plućima mogu da pokažu značajnu fenotipsku plastičnost koja može da zavisi od različitih stimulusa ili mikrookruženja, pa se stoga M1/M2 fenotipovi više smatraju za dinamični spektar aktivacije koji potencijalno objašnjava pojedine heterogenosti IPF (145).

Kada su tkiva oštećena, oslobađaju se medijatori inflamacije, makrofagi često pokazuju fenotip nalik na inflamatorni M1, između ostalog sekretuju MMP kao što su MMP2 i MMP9 koji pomažu da se degradira ECM i omogućavaju influks inflamatornih

ćelija na mesto oštećenog tkiva (144,145). Ukoliko faktor koji je doveo do oštećenja tkiva perzistira, aktivirane M1 ćelije mogu, različitim mehanizmima, dodatno da pogoršaju inflamatorni odgovor i dovedu do ogromnog oštećenja tkiva. Kada se inflamatorni stimulus prekine, smanjuje se aktivacija M1 ćelija, dolazi do sledstvene konverzije imunskog odgovora u reakciju zaceljivanja rana, sa akumuliranjem M2 makrofaga koji podstiču oporavak i fibrozu, kroz sekreciju MMP (MMP12), TIMP1, faktora rasta i citokina kao što je TGF- β 1. U završnoj fazi, makrofagi preuzimaju regulatorni/supresivni fenotip, koji se odlikuje ekspresijom PD-L2, IL-10 i drugih, za koje se pokazalo da vraćaju homeostazu dok suzbijaju fibrotični proces, delimično blokirajući proliferaciju T ćelija i sintezu kolagena aktiviranim miofibroblastima (145).

Rezultati najnovijeg, originalnog istraživanja Jovanović D i saradnika (146), a čiji je veliki deo i ovo naše istraživanje, pokazuju da se, u uzorcima tkiva prikupljenog biopsijom pluća pacijenata sa IPF, PD-L1 prekomerno nakupljao na AM. Pronađeno je da je, u tri slučaja ekspresija PD-L1 na AM bila negativna, dok je u devet slučajeva IPF bila prisutna. Veoma mali broj ćelija u intersticijumu je pokazao diskretnu ekspresiju nemembranskog tipa PD-L1. Ekspresija PD-L1 na membrane fibroblasta i miofibroblasta bila je negativna u svih dvanaest slučajeva IPF.

Na osnovu ovih rezultata dobijenih tokom ovog istraživanja, moglo bi da se pretpostavi da PD-L1 pozitivni AM imaju regulatorni/supresivni fenotip sa smanjenim stepenom fagocitoze (kao što je slučaj sa PD-L1-pozitivnim TAM) i da mogu da reflektuju da specifičan fenotip IPF ne ograničava razvoj fibroze i ponovno uspostavljanje homeostaze.

Heterogenost u podsticajnim stimulansima, genetska predispozicija i signalni mehanizmi koji promovišu profibrotične fenotipove ćelija mogu, kao i kod karcinoma, da doprinesu različitim kliničkim tokovima koji se zapažaju kod pacijenata sa IPF, a koji odražavaju različite fenotipove IPF. Stoga, IPF sa prekomernom ekspresijom PD-L1 na AM može da bude specifičan fenotip IPF, ili barem određena razvojna faza IPF. Ukoliko je tako, onda, to može biti značajno za precizan medicinski pristup, kako IPF, tako i svim fibroznim bolestima.

Ovi, novi nalazi koji se odnose na PD-1/PD-L1 osu i njene implikacije (140), doveli su do istraživanja potencijalnih uloga PD-1/PD-L1 puta, kako kod tumora, tako i u drugim imunološkim mikrokruženjima. Ko-inhibitorni i ko-stimulatorni imunski

„checkpoint“ proteini su neophodni za potpunu aktivaciju T-ćelija, a oštećena tolerancija uzrokuje nastanak većeg broja autoimunih bolesti. Već su postojali dokazi da PD-1 ima ključnu ulogu tj. da je „prva linija“ inhibicije kod većine autoimunih oboljenja. Međutim, genetski obrazac ima relativni uticaj na njihove ligande B7.1, B7.2 kao i PD-L1 i PD-L2. Faktori koji takođe mogu da utiču su vreme ekspresije liganada, kao i interakcije, tipovi ćelija koje prezentuju jedne ili druge, kao i specifični ćelijski mehanizmi koji su u osnovi svake bolesti (147,148).

Novi podaci ukazuju na to da su i kod hronične opstruktivne bolesti pluća (HOBP) takođe poremećene ose imunskih „checkpoint“ proteina. Unutar obolelih pluća, T-ćelije ekspimiraju ključni receptor PD-1 i gube svoje citotoksične funkcije, ali takođe postoje i dokazi koji ukazuju na nishodnu regulaciju da je pridruženi ligand PD-L1 na AM nishodno regulisan. Pretpostavlja se da bi ishod svega ovoga mogao da bude prekomerna T-ćelijska inflamacija usled akutne infekcije, koja može da doprinese pogoršanju HOBP i oštećenju pluća (149).

Plućna toksičnost nakon primene anti-PD-1 agensa je češća kod pacijenata sa NSCLC nego kod pacijenata sa drugim tipovima tumora i verovatno nastaje zbog smanjene imunološke tolerancije, koja je posledica promena u plućima izazvanih pušenjem. Postulira se da uklanjanje kontrolnih „checkpoint“ proteina dovodi do prekomerne T-ćelijske aktivacije, inflamacije i oštećenja, ali još uvek nisu poznati svi važni faktori koji utiču na ovo (129).

Danas, u literaturi, postoji sve veći broj prikaza slučajeva koji se odnose na pacijenate sa karcinomom pluća i istovremenom blagom IPF ili drugim intersticijskim bolestima pluća (ILD), koji su tretirani anti-PD-1/PD-L1 agensima i kod kojih je postignuta dobra kontrola bolesti bez pogoršanja IPF/ILD, te su stoga u budućnosti potrebna dodatna objašnjenja vezana za individualnu podložnost za razvijanje imunološki uzrokovanog toksičnog pneumonitisa (150).

Nedavno sprovedene studije su ukazale na to da mPD-1 i mPD-L1 takođe imaju i solubilne oblike. Solubilni oblici PD-1 i PD-L1 (sPD-1 i sPD-L1) procenjeni u krvi pacijenata obolelih od karcinoma mogu da nastaju iz proteolitičkog cepanja membranski vezanog oblika ili od translacije alternativno spojenog mRNA. Izvor sPD-L1 mogu da budu imunske i tumorske ćelije, ali kako je to karakteristično za ćelije dobijene iz mijeloida, smatra se da postoji još jedan regulatorni mehanizam koji kontroliše

oslobađanje sPD-L1, a koji se razlikuje od mPD-L1. Pošto nije zabeležena korelacija između tumorske ekspresije PD-L1 i koncentracija sPD-L1, smatra se da bi mikrookruženje tumora, uključujući i nemaligne ćelije, takođe moglo da proizvodi sPD-L1 (142).

Precizne uloge ovih molekuli još uvek nisu razjašnjene. Aktuelne studije pokušavaju da procene njihov značaj kod maligniteta, kao i da procene njihovi potencijalni dijagnostički i prognostički i prediktivni značaj kao biomarkera. Rezultati nedavno sprovedenih studija ukazuju na to da bi se na osnovu koncentracija sPD-1/PD-L1 u krvi mogle da predvide kako reakcije na terapije tako i terapijski ishodi kod pacijenata obolelih od karcinoma (151).

Podaci pokazuju da se kod ljudi, sPD-L1 normalno detektuje u serumu, a da se njegove koncentracije povećavaju sa starenjem (26). Pokazano je da proizvodnja sPD-L1 može da se suprimira inhibitorima MMP. Ovim nalazima bi, kod pacijenata sa IPF, mogle da se objasne visoke koncentracije solubilnih oblika PD-L1 u serumu (142). Mi smo pronašli značajno veće koncentracije sPD-L1 u serumu pacijenata sa IPF u poređenju sa zdravom kontrolnom grupom, 297,5 naspram 91,0 ng/l ($P < 0,01$). Takođe je primećeno da su koncentracije sPD-L1 kod pacijenata sa IPF bile značajno veće u poređenju sa koncentracijama sPD-L1 kod novodijagnostikovanih pacijenata sa NSCLC. Moramo da se zapitamo koje su precizne funkcije sPD-L1 kod IPF, kao i kod karcinoma i drugih autoimunih bolesti. Izgleda da je sPD-1/PD-L1 neprepoznat faktor koji takođe učestvuje u imunološkom odgovoru, ali nam još uvek nije jasno da li sPD-L1 može da se veže za PD-1, slično mPD-L1 i da deluje kao inhibitorski signal. Nalazi *in vitro* eksperimenata u kojima su se dodavali PD-1 ili PD-L1 fuzioni proteini dovode do značajno povećane T-ćelijske proliferacije sa ekspresijom mPD-1 ili mPD-L1. Ovo podrazumeva da njihovi solubilni oblici ushodno regulišu sposobnosti mPD-1 i mPD-L1. Postoje pojedini kontroverzni rezultati koji se odnose na prognostički uticaj visokih serumskih koncentracija PD-L1 kod različitih tumora (151).

Nalazi našeg istraživanja ukazuju na to da su povišene koncentracije sPD-L1 u serumu pacijenata sa IPF značajno veće u odnosu na zdravu kontrolnu grupu i da su koncentracije sPD-L1 kod pacijenata sa IPF značajno veće od, takođe, značajno povišenih koncentracija sPD-L1 kod pacijenata sa novodijagnostikovanim NSCLC. Gore pomenuti rezultati zahtevaju dodatna istraživanja, na većoj populaciji pacijenata. Akumulirani

podaci trenutno ukazuju da sPD-1 i sPD-L1, koji u kliničkoj praksi mogu lako da se procene, mogu da imaju veoma važnu ulogu u imunopatogenezi, kao i potencijal da ukažu na terapijske odgovore, ne samo kod tumora, već i kod IPF i drugih autoimunih oboljenja. Može se spekulirati da sPD-1/PD-L1 mogu da budu novi biomarkeri, koji značajno utiču na potencijalne terapijske strategije, uključujući i imunološku terapiju koja se danas primenjuje kod mnogih oboljenja.

U našem istraživanju pacijenti sa karcinomom pluća bili su u stanju oksidativnog stresa, odnosno imali su značajno više koncentracije markera oksidativnog stresa (AOPP, O₂, PAB i TOS) u odnosu na kontrolnu grupu zdravih. U isto vreme, imali su i značajno niže vrednosti parametara antioksidativne zaštite (TAS i SHG). O veličini oksidativnog stresa svedoči i odnos TAS/TOS – antioksidativni indeks, koji je značajno niži kod ovih pacijenata u odnosu na zdrave osobe. S druge strane, ako pogledamo, pacijenti sa različitim patohistološkim tipovima karcinoma imali su različite aspekte oksidativnog stresa, manje ili više izražene. Tako su pacijenti sa skvamocelularnim karcinomom pluća imali značajno više koncentracije AOPP, TOS i O₂ u odnosu na pacijente sa adenokarcinomom.

Esme H i saradnici (152) prikazali su rezultate svog istraživanja, sprovedenog kod 49 pacijenta sa karcinomom pluća, a koji su ukazivali na to da se uz napredovanje stadijuma karcinoma pluća povećavaju nivoi parametara oksidativnog stresa, dok se koncentracije parametara antioksidativne zaštite smanjuju. Pacijenti sa skvamocelularnim karcinomom imali su više izražen oksidativni stres koji se odražavao višim nivoima malondialdehida (MDA) i nitrita.

Gupta A i saradnici (153) ispitali su nivo oksidativnog stresa kod pacijenata sa NSCLC posle primene 6 ciklusa hemiterapije (HT) cisplatin+etopozid. U studiju je bilo uključeno 203 pacijenta, od kojih je 51 umrlo do kraja studije, bilo je 70 osoba kod kojih je postignut odgovor na HT i 82 onih kod kojih nije bilo odgovora. Kod pacijenata sa karcinomom pluća, bio je povećan oksidativni stres, a nivoi antioksidanasa su se smanjivali kako je bolest napredovala. Autori su zaključili da hemoterapija može suzbiti oksidativni stres i smanjiti aktivnost antioksidanasa kod ispitanika koji su reagovali na HT u odnosu na one koji ne reaguju. Ovakvi efekti mogu imati pozitivan uticaj na preživljavanje kod pacijenata koji imaju odgovor na terapiju.

Antosova M sa svojim saradnicima (66) ispitivala je specifične markere oksidativnog stresa i oštećenja DNK i RNK, 8-hidroksiguanozin (8OHG) i 8-hidroksi-2deoksiguanozin (8OHdG), kod 40 pacijenata sa karcinomom pluća. Pokazali su da je marker oštećenja DNK (8OHdG) značajno veći kod pacijenata sa karcinomom pluća nego kod zdravih ispitanika. Marker oštećenja RNK (8OHG) je bio povećan samo kod jednog pacijenta. Primetili su i promene faktora tumorske nekroze alfa ($TNF\alpha$). Poznato je, da NO senzitivije tumorske ćelije na citotoksičnost posredovanu $TNF\alpha$, preko inhibicije aktivacije NF-kB. Ustanovili su da je ovaj marker značajno veći kod pacijenata sa karcinomom pluća nego kod zdravih ispitanika. Autori su zaključili da njihovi rezultati pokazuju mogućnost učešća azot oksida i ROS u patogenezi karcinoma pluća.

Diehn i sadnici (154) pokazali su da su niži nivoi ROS u kancerskim stem ćelijama (CSC), povezani sa povećanom ekspresijom sistema za uklanjanje slobodnih radikala. Farmakološko osiromašenje ROS-a u CSC-ima značajno smanjuje njihovu klonogenost i rezultira radiosenzitizacijom. Ovi rezultati ukazuju da, slično matičnim ćelijama normalnog tkiva, podskupovi CSC-a, u nekim tumorima, sadrže niže nivoe ROS-a i pojačanu ROS odbranu u poređenju sa njihovim ne-tumorigenim potomstvom, što može doprineti tumorskoj radiorezistenciji.

Naši rezultati su koji su pokazali izražen oksidativni stres i sniženu antioksidativnu zaštitu kod novodijagnostikovanih pacijenata sa karcinomom pluća su u skladu sa podacima iz literature i potvrđuju hipotezu da je oksidativni stres u osnovi patogeneze karcinoma pluća. U našoj ispitivanoj populaciji, podelili smo pacijente sa karcinomom pluća u dve podgrupe, sa pridruženom HOBP i bez HOBP. I pored poznate činjenice da pacijenti sa HOBP imaju takođe, povišen nivo oksidativnog stresa (155), u našem istraživanju, ove dve grupe nisu se statistički značajno razlikovale u odnosu na parametre oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite.

Tumori efikasno suprimiraju imunski odgovor kroz aktivaciju negativnih regulatornih puteva, kontrolnih tačaka koje su neophodne za imunološku homeostazu, ili kroz usvajanje karakteristika koje im omogućavaju da aktivno izbegnu detekciju (156). Pri aktivaciji, a u prisustvu tumorskih ćelija, uz pomoć T ćelija eksprimira se receptor za programiranu ćelijsku smrt - 1 na površini ćelije (membranski, mPD-1) za koji se vezuje za jedan od dva liganda, PD-L1 i PD-L2. Različiti tipovi ćelija mogu da ekspimiraju membranski PD-L1, uključujući tumorske i imunske ćelije. Vezivanje PD-L1 ili PD-L2

za PD-1 predstavlja inhibitorni signal koji sprečava aktivaciju efektorskih anti-tumorskih T ćelija, te stoga PD-L1/PD-1 osa postaje veoma važna u restrikciji tumorske imunosti.

Nedavno je otkriveno da PD-1 i PD-L1 koji su vezani za membranu takođe imaju rastvorljive oblike, (sPD-1/sPD-L1), detektovane u krvi pacijenata sa različitim vrstama tumora (157).

Pretpostavljalo se da sPD-L1 može da se oslobodi ili odbaci iz mPD-L1-pozitivnih tumorskih ili imunskih ćelija (158,159). Međutim, tačan izvor rastvorljivog oblika PD-L1 nije potvrđen. sPD-L1 se detektuje u supernatantima pozitivnih ćelijskih linija koje eksprimira mPD-L1, pre nego u onim iz negativnih ćelijskih linija(160). Ovaj nalaz ukazuje na to da mPD-L1 tumorske ćelije mogu da budu izvor sPD-L1, ali da istovremeno ne mogu da budu isključeni i drugi izvori sPD-L1, kao npr. imunske ćelije (160-163).

Cilj mnogobrojnih studija sprovedenih na ljudima je da se razjasni biološki značaj sPD-1/PD-L1 kod karcinoma i da se proceni da li su potencijalni dijagnostički, prediktivni ili prognostički biomarkeri. Sve veći broj dokaza ukazuje na to da nivoi sPD-1/PD-L1 u krvi mogu da pomognu pri predviđanju ponašanja koje je karakteristično za tumor, odgovoru na terapiju i preživljavanju pacijenata koji su oboleli od karcinoma (157).

U ovoj studiji prikazano je da postoje značajno veće koncentracije sPD-L1 u serumu pacijenata sa karcinomom pluća u poređenju sa zdravom kontrolnom grupom. Ukupna prosečna vrednost vrednosti koje su se nalazile iznad gornje referentne granice je kod zdravih osoba bila 53,0% (61/115), što je slično rezultatima koji su prikazani i u drugim objavljenim studijama (151).

Kod pacijenata sa karcinomom pluća, pronađen je interesantan odnos između starosti i koncentracije sPD-L1. Naši nalazi vezani za starost ukazuju na to da su pacijenti sa SCLC koji su mlađi od 60 godina imali značajno veće koncentracije sPD-L1 u poređenju sa svim podgrupama pacijenata sa NSCLC. Stoga se između pacijenata sa NSCLC i SCLC nisu mogle zabeležiti slične promene u ovom parametru koje nastaju sa starenjem: kod pacijenata sa NSCLC sa starenjem nije došlo do značajnih promena u vrednosti sPD-L1, dok su nasuprot prethodno objavljenim podacima koji ukazuje na to da su kod zdrave populacije sa starenjem povećane vrednosti sPD-L1 (164), stariji pacijenti sa SCLC imali smanjene vrednosti sPD-L1 u poređenju sa mlađim osobama u istoj grupi.

Tačna uloga i precizne funkcije sPD-L1 kod karcinoma još uvek nisu utvrđene. Dokazano je da sPD-L1 i dalje zadržava svoju biološku aktivnost i sposobnost da se u perifernoj krvi specifično veže za PD-1 receptor, aktivirajući put PD-1/PD-L1 i dovodeći do mogućeg posledičnog sistemskog imunosupresivnog efekta (157).

Tačna uloga sPD-L1 se istražuje u sve većem broju studija koje, međutim, ukazuju na donekle suprotne rezultate (165-170).

U našoj studiji prikazan je trend u korelaciji između veće koncentracije sPD-L1 u krvi i uznapredovalog stadijuma bolesti, ali bez konzistentne korelacije sa brojem početno prisutnih metastaza ili sa lokalizacijom specifičnih metastaza.

U pojedinim studijama je objavljeno da povišeni nivoi sPD-L1 mogu da impliciraju lošu prognozu ili rezistenciju na terapiju (165), a da pacijenti sa karcinomom i niskim koncentracijama sPD-L1 mogu da imaju duže preživljavanje (168,169), nasuprot nalazu da su pacijenti sa višim koncentracijama sPD-L1 imali bolju prognozu od pacijenata sa niskim nivoom (167).

U svojoj studiji Zhang i saradnici (168) su ukazali na značajno različite prosečne koncentracije sPD-L1 u krvi kod pacijenata sa uznapredovalom NSCLC naspram zdrave kontrole ($P < 0,001$), dok je srednje sveukupno preživljavanje, u grupi niske naspram visoke koncentracije sPD-L1, bilo značajno veće (26,8 meseci naspram 18,7 meseci). Ekspresija PD-L1 u studiji je značajno korelirala sa prisustvom metastaza na abdominalnim organima.

Prognostički značaj cirkulišućeg rastvorljivog PD-L1 kod pacijenata sa malignitetima je nedavno analiziran u dve meta-analize (158,169). Osam studija i 1.102 osobe obolele od karcinoma uključeno je u završnu analizu Dinga i saradnika (158) čiji rezultati su pokazali da je viši nivo sPD-L1 povezan sa lošijim sveukupnim preživljavanjem. Analiza podgrupa je ukazala na to da postoje značajne razlike u tipu karcinoma (hematološke neoplazme ili nehematološke neoplazme), veličini uzorka (više ili manje od 100), presečnoj graničnoj vrednosti sPD-L1 (više ili manje od 6,51 ng/ml) i etničkoj pripadnosti (azijska ili evropska). U drugu meta-analizu iz 8 prihvatljivih studija uključeno je ukupno 1.040 pacijenata sa solidnim tumorima i udruženi HR je sugerisao da je visoka koncentracija rastvorljivog sPD-L1 u krvi značajno korelirala sa lošijim sveukupnim preživljavanjem.

Kada je reč o karcinomu pluća, pronađeno je da je kod hirurški resektiranog NSCLC, velika ekspresija sPD-L1 bila povezana sa prisustvom mutacija u receptoru epidermalnog faktora rasta (EGFR), što predstavlja nezavisni negativni prognostički faktor (170).

Nasuprot gore navedenim podacima, naši rezultati, iako zasnovani na maloj seriji adenokarcinoma pozitivnih na mutacije EGFR, su ukazali na to da kod pacijenata sa NSCLC koji su pozitivni na mutacije EGFR postoje niže koncentracije sPD-L1 u krvi nego kod pacijenata sa NSCLC koji imaju EGFRwt, 134,4 ng/l naspram 161,4 ng/l. Ova razlika nije bila statistički značajna.

U svojoj studiji Zhao i saradnici (170) su, kod 126 inoperabilnih pacijenata sa lokalno uznapredovalim NSCLC, sagledali koncentracije sPD-L1 pri uspostavljanju dijagnoze i u toku torakalne radioterapije i primetili da je niža početna koncentracija sPD-L1 značajno korelirala sa dužim sveukupnim preživljavanjem, koji je za ovu grupu pacijenata sa NSCLC prikazan kao nezavisan prognostički biomarker.

U našem istraživanju dobili smo zanimljive rezultate vezane za 9 pacijenata sa mPD-L1 ekspresijom $\geq 50\%$. Iako je studija sprovedena na veoma malom broju pacijenata, to je bio upečatljiv nalaz kod svih 9 pacijenata koji su reagovali na imunološku terapiju sa mnogo većim koncentracijama sPD-L1 u krvi u odnosu na pacijente sa NSCLC koji imaju EGFRwt ili adenokarcinom pozitivan na mutacije EGFR. Moglo bi se pretpostaviti da takvi rezultati ukazuju na potencijalnu efikasnost imunološke terapije sa posledičnim proteolitičkim cepanjem membranski vezanog oblika PD-L1 u cirkulaciju. Nažalost, nismo imali priliku da odredimo sPD-L1 pre inicijalne primene imunološke terapije, koju nameravamo da istražimo u budućnosti. Prilagodićemo studiju u kojoj će pacijenti sa IHH PD-L1+ tumorom biti podvrgnuti sPD-L1 analizi pre primene imunološke terapije.

Što se tiče određivanja koncentracija sPD-L1 u krvi, mora se naglasiti da su u svim pomenutim studijama primenjene različite metode sa različitim graničnim vrednostima. Nedavno je pokazano da cirkulišući imunosupresivni egzozomi nastali iz tumora igraju ključnu ulogu u imunskoj supresiji i progresiji bolesti, a da povišene koncentracije PD-L1 i ekspresija PD-L1 mRNA na egzozomima koreliraju sa odgovorom na anti-PD-1/PD-L1 imunološku terapiju kod pacijenata koji imaju melanom i NSCLC, opravdavajući primenu egzozomalnog PD-L1 kao prediktora za anti-PD-1 terapiju (171,172).

Pored toga što su u svim ovim studijama primenjene različite metode sa različitim graničnim vrednostima, u njih su takođe uključene, kako različite važne etničke grupe, tako i različite populacije pacijenata, što je barem delimično, uticalo na rezultate i njihovu interpretaciju.

Na osnovu zapažanja da je hronična inflamacija povezana sa progresijom tumora, pretpostavlja se da brojni inflamatorni parametri mogu da posluže kao prognostički biomarkeri za pojedine tumore (173), među kojima je i karcinom pluća (174).

U nekolicini istraživanja pronađeno je da bi na osnovu SAA mogli da se razlikuju pacijenti sa karcinomom pluća od zdravih kontrola i da se predvidi prognoza, te se stoga smatra da su potencijalni dijagnostički i prognostički biomarker za karcinom pluća (175,176).

U našoj studiji koncentracije SAA1 i CRP su bile statistički značajno više kod pacijenata sa karcinomom pluća u odnosu na zdravu populaciju. Takođe, vrednosti SAA1 i PD-L1 su bile značajno veće u podgrupi sačinjenoj od muškaraca nego u podgrupi sačinjenoj od žena, ali samo kod pacijenata sa NSCLC. Vrednosti ovih parametara nisu se razlikovale u podgrupama u odnosu na pridruženu HOBP.

Međutim, utvrđena je značajno veća koncentracija sPD-L1 kod PD-L1+ pacijenata koji reaguju na imunološku terapiju u poređenju sa bilo kojom drugom grupom pacijenata sa karcinomom pluća. Istovremeno, PD-L1+ grupa je takođe imala i najveće prosečne vrednosti SAA1 u odnosu na druge tri grupe (tj. adenokarcinom, skvamocelularni karcinom i EGFR+ grupe). Ovo bi moglo da znači da, kod IHH mPD-L1 tumor pozitivnih pacijenata koji reaguju na imunološku terapiju, povišene koncentracije SAA1 očitito reflektuju hiperaktivaciju imunog sistema. Ovo jasno ukazuje na fenotipsku imunsu inflamaciju tumora koji obično korelira sa bržim odgovorom na anti-PD-L1/PD-1 terapiju (177-181). Iako možemo da razlikujemo tri osnovna imunološka fenotipa (imunsu inflamaciju tumora, prekidanje imunske reakcije i imunološki isključene tumore), postoji veliki broj citokina, hemokina i tipova ćelija povezanih sa tumorima koji utiču na to da li postoji adekvatna inflamacija koja je nakon primene imunološke terapije mogla da podstakne željeni anti-tumorski imunski odgovor. Vremenom, nivo inflamacije može dosta da varira (177).

U objedinjenim serumima pacijenata sa karcinomom pluća, Sung i saradnici (182) su identifikovali SAA1 i SAA2 i pronašli, otprilike 14 puta veće koncentracije SAA, u uzorcima krvi prikupljenih od pacijenata sa karcinomom pluća, nego od zdravih kontrola. Postoje dokazi da bi makrofagi mogli da stimulišu kancerogene ćelije da proizvode IL-1 i IL-6, koji zauzvrat stimulišu kancerogene ćelije pluća da indukuju SAA1/2.

Sistematska evaluacija i meta-analiza koju su uradili Biaoxue R i saradnici, pokazale su da je povišena koncentracija SAA u serumu, u korelaciji sa dijagnozom karcinoma pluća, a posebno sa svamocelularnim karcinomom (115). Kod pacijenata sa skvamocelularnim karcinomom registrovane su više koncentracije SAA nego kod adenokarcinoma i SCLC, što ukazuje na potencijalnu primenu SAA za razlikovanje skvamocelularnog karcinoma i drugih tipova karcinoma pluća.

Ovo je u suprotnosti sa našim nalazima koji ukazuju na to da, kod pacijenata sa skvamocelularnim karcinomom pluća i SCLC postoje slične koncentracije SAA1, koje su veće nego kod adenokarcinoma, ali značajno manje nego kod IHH mPD-L1 pozitivnog tumora.

Kanoh i saradnici u svojem istraživanju pokazali su da su, koncentracije MMP-2, CRP i SAA u serumu bile značajno veće kod pacijenata sa metastatskim NSCLC nego kod pacijenata sa lokalizovanim NSCLC (111). Dai SW i saradnici su utvrdili da se sa kliničkim stadijumima karcinoma pluća progresivno povećavala i koncentracija SAA (174).

Naši rezultati, koji su pokazali, da su pacijenti koji su inicijalno imali metastaski NSCLC, imali značajno veće koncentracije SAA1 u serumu, u odnosu na pacijente koji su imali lokalizovanu bolest ($P < 0.05$), su u skladu sa gore pomenutim navodima iz literature.

Aref i Refaat (183), u svom istraživanju, pokazali su da su koncentracije CRP bile statistički značajno više kod pacijenata sa NSCLC u poređenju sa kontrolnom grupom zdravih, kao i da je postojala pozitivna korelacija između vrednosti CRP i, veličine tumora i stadijuma bolesti, a što su autori povezali sa lošijom prognozom i ishodom kod ovih pacijenata.

Rezultati našeg istraživanja su, takođe, pokazali da su pacijenti koji su bili u IV stadijumu bolesti (TNM), imali značajno više koncentracije CRP u odnosu na pacijente koji su bili u II stadijumu bolesti, koji su imali najnižu prosečnu koncentraciju ovog

inflamatornog markera. S obzirom da je broj pacijenata u II stadijumu bio daleko najmanji, ovi rezultati se ne mogu smatrati apsolutno referentnim.

S druge strane, jedno veoma interesantno istraživanje sprovedeno je na 592 pacijenta sa karcinomom pluća i 670 zdravih kontrola, sa dostupnim predijagnostičkim serumom, i 378 pacijenata i 447 zdravih kontrola sa DNK skrining testiranjem na karcinome ovarijuma, prostate, pluća i kolorektalni karcinom. Autori su merili vrednosti CRP u osnovnim uzorcima seruma i genotipizovali pet uobičajenih CRP polimorfizama jednog nukleotida (SNP- single nucleotide polymorphisms). Povišeni nivoi CRP bili su povezani sa naknadno povećanim rizikom od karcinoma pluća, što ukazuje na etiološku ulogu hronične upale pluća u karcinogenezi pluća. Takođe, povišeni nivo CRP bio je značajno povezan sa rizikom za pojavu skvamocelularnog karcinoma pluća, ali ne i adenocarcinoma, iako ta razlika između podtipova nije bila statistički značajna (184).

Slično tome, u našoj studiji inflamacija merena vrednostima CRP, bila je značajno više izražena kod pacijenata sa skvamocelularnim karcinomom u odnosu na mikrocelularni, a posebno adenokarcinom pluća.

S obzirom na navedene rezultate našeg istraživanja, moglo bi se zaključiti da su parametri oksidativnog stresa i sistemske inflamacije značajno više izraženi kod pacijenata sa skvamocelularnim karcinomom pluća, u odnosu na druge histološke tipove.

Iako postoje podaci o promenama lipidnog statusa kod obolelih od različitih vrsta karcinoma (185,186), podaci o metabolizmu lipida kod pacijenata sa karcinomom pluća su prilično ograničeni.

U studiji, koja je prospektivno ispitivala povezanost bazičnih nivoa HDL holesterola u plazmi, sa učestalošću karcinoma pluća, kod 14 547 članova Kohorte za rizik za aterosklerozu u zajednicama, bilo je 259 slučajeva incidentnog karcinoma pluća. Rezultati ove studije ukazali su na relativno slabu inverznu povezanost HDL-holesterola sa karcinomom pluća, koja je zavisila od pušačkog statusa. Ova povezanost je uočena kod bivših pušača, ali ne i kod aktivnih pušača (187).

U našem istraživanju, ispitivanjem parametara lipidnog statusa, uočili smo da su pacijenti sa karcinomom pluća imali statistički značajno niže koncentracije HDL holesterola u odnosu na zdrave osobe i, u isto vreme, značajno više koncentracije triglicerida, dok se koncentracija ukupnog i LDL holesterola, nisu značajno razlikovale među ispitivanim grupama, što je u skladu sa prikazanim podacima iz literature. Takođe,

interesantan je podatak da je u okviru grupe obolelih od adenokarcinoma, između grupa EGFRwt i EGFR+ postojala statistički značajna razlika u koncentraciji ukupnog holesterola i HDL holesterola (EGFRwt imali su značajno niže vrednosti ukupnog i HDL holesterola u odnosu na EGFR+).

U studiji Li JR i saradnika (188) procenjavani su nivoi holesterola u serumu 259 reseciranih pacijenata sa NSCLC, i pokazano je da je preoperativni nivo serumskog holesterola bio značajno povezan sa polom ($P=0.001$), pušačkim statusom ($P=0.016$), diferencijacijom tumora ($P=0.027$), pT stadijumom ($P<0.001$) i pN stadijumom ($P=0.009$), a multivarijantne analize su pokazale da je sniženi nivo holesterola u serumu bio nezavisni prognostički faktor za lošiji ishod.

U našoj studiji, pacijenti koji su inicijalno imali metastasku bolest, imali su značajno niže vrednosti HDL holesterola u odnosu na one sa lokalizovanom bolešću, dok su pacijenti sa mikrocelularnim karcinomom imali značajno više vrednosti triglicerida u odnosu na pacijente sa adeno i skvamocelularnim karcinomom pluća. Značajno niže vrednosti HDL holesterola i više vrednosti triglicerida primećene su i kod pacijenata sa većim brojem komorbiditeta, dok se vrednosti parametara lipidnog statusa nisu razlikovale u odnosu na pol i pušački status pacijenata.

U skorašnjoj studiji Chen Q i saradnika (189), pokazano je da je nivo holesterola u gefitinib rezistentnim NSCLC ćelijama, značajno bio veći nego u ćelijskim linijama osetljivim na gefitinib, kao i da snižavanje holesterola, povećava senzitivnost ćelija na gefitinib. Prema tome, autori su predložili ciljano snižavanje holesterola u kombinaciji sa EGFR-TKI, kao potencijalno novu terapijsku strategiju za lečenje gefitinib rezistentnih NSCLC.

U našem istraživanju, pacijenti sa karcinomom pluća imali su deficijenciju vitamina D. Prosečna vrednost bila je $17.2 \mu\text{g/L}$. Polovina pacijenata imala je vrednosti ispod $17.2 \mu\text{g/L}$, dok je drugih 50% pacijenata imalo vrednosti između 17.2 i $20.8 \mu\text{g/L}$, tj. Daleko niže od referentnih ($30 \mu\text{g/L}$). Poređenjem prema polu, žene su imale značajno niže vrednosti u odnosu na muškarce. Takođe, pacijenti sa većim brojem komorbiditeta imali su značajno nižu koncentraciju vitamina D, u odnosu na pacijente sa manjim brojem komorbiditeta.

Meta analiza Fenga i saradnika (190), koja je za cilj imala da ispita povezanost koncentracije vitamina D u serumu i rizika za pojavu karcinoma pluća, kao i

preživljavanje, obuhvatila je 17 studija, odnosno ukupno 138.858 učesnika, sa 4368 slučajeva incidenata. Autori su PubMed i Embase baze podataka su pretraživali do avgusta 2017. godine. Rezultati su pokazali statistički značajnu povezanost između 25-hidroksivitamina D i rizika od karcinoma pluća i mortaliteta. Međutim, cirkulišući 25-hidroksivitamin D nije bio povezan sa ukupnim preživljavanjem karcinoma pluća. Štaviše, poređenjem sa najnižim 25-hidroksivitaminom D u cirkulaciji, najviši cirkulišući 25-hidroksivitamin D je značajno smanjivao rizik za karcinom pluća i kod muškaraca i kod žena. Pored toga, najviši cirkulišući 25-hidroksivitamin D je značajno bio povezan sa nižim rizikom za karcinom pluća kod pacijenata bel erase, ali i Azijaca.

Akiba T i saradnici (191) su u svojoj studiji ispitivali da li supstitucija vitamina D može poboljšati prognozu pacijenata sa NSCLC. U ukupnoj populaciji ispitanika, nije uočena značajna razlika ni u preživljavanju bez pojave relapse (RFS), niti u ukupnom preživljavanju (OS), u poređenju sa placebo grupom. Međutim, ograničavajući analizu na podgrupu pacijenata sa adenokarcinomom ranog stadijuma sa niskim 25 (OH) D, grupa koja je dobijala vitamin D je pokazala značajno bolji 5-godišnji RFS i OS, u odnosu na placebo grupu. Takođe, autori su ispitivali i polimorfizmima receptora za vitamin D (VDR) i vitamin D vezujućeg proteina (DBP) i pokazali da su DBP1 (rs7041) TT i CDKS2 (rs11568820) genotipovi AA/AG bili markeri bolje prognoze, čak i uz multivarijantno prilagođavanje.

Rezultati našeg istraživanja su u saglasnosti sa prethodno navedenim istraživanjima.

S druge strane, nova, velika studija Međunarodne agencije za istraživanje karcinoma (IARC), pokazala je da nema povezanosti između nivoa vitamina D i rizika za karcinom pluća. Izveštaj predstavlja analizu više od 5300 parova kontrolnih slučajeva obrađenih u 20 međunarodnih prospektivnih kohortnih studija. Ovo je najveća dosadašnja studija o odnosu vitamina D i karcinoma pluća (192).

Poređenjem ispitivanih parametara oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite između grupe pacijenata sa IPF i grupe sa karcinomom pluća, uočili smo da su obe grupe pacijenata imale povećan oksidativni stres, kao sniženu antioksidativnu zaštitu. Tako su, pacijenti sa IPF imali značajno niže koncentracije PAB, $O_2^{\cdot-}$ i TOS ($P<0,001$; $P<0,01$; $P<0,01$, redom) u odnosu na pacijente sa adenokarcinomom, odnosno skvamocelularnim i mikrocelularnim karcinomom.

S druge strane, antioksidativna zaštita je pokazala da su pacijenti sa IPF imali značajno nižu koncentraciju TAS od pacijenata sa adenokarcinomom i skvamocelularnim karcinomom pluća, dok razlika sa mikrocelularnim karcinomom pluća nije bila statistički značajna. Odnos TAS/TOS i sadržaj ukupnih sulfhidrilnih grupa nisu se značajno razlikovali između podgrupa.

Obe ispitivane grupe pacijenata (sa IPF i sa karcinomom pluća) imale su povišene vrednosti inflamatornih markera, CRP i SAA1. Pacijenti sa IPF imali su značajno višu koncentraciju inflamatornog markera CRP u odnosu na pacijente sa adenokarcinomom pluća, a značajno nižu u odnosu na skvamocelularni i mikrocelularni karcinom pluća. Koncentracija SAA1 nije se značajno razlikovala između pacijenata sa IPF i pacijenata sa karcinomom pluća. Pacijenti sa IPF imali su značajno nižu koncentraciju vitamina D u odnosu na pacijente sa adenokarcinomom i skvamocelularnim karcinomom ($p < 0,05$, $p < 0,01$, redom), a takođe i nižu koncentraciju od mikrocelularnog karcinoma, ali bez statistički značajne razlike.

Pacijenti sa IPF su imali značajno više koncentracije PD-L1 u odnosu na pacijente sa adenokarcinomom, dok se koncentracije PD-L1 u serumu ovih pacijenata nisu značajno razlikovale u odnosu na ostale dve grupe pacijenata sa karcinomom (skvamocelularni i mikrocelularni karcinom).

Poređenjem parametara lipidnog statusa kod pacijenata sa IPF i karcinomom pluća (svi histološki tipovi), nije bilo značajne razlike.

Sve navedeno navodi na zaključak da su patofiziološki mehanizmi koji su u osnovi IPF, veoma slični patofiziološkim mehanizmima kod karcinoma pluća, posebno NSCLC, što implicira da bi novi terapijski modaliteti za lečenje IPF mogli da budu veoma slični onima koji se koriste za lečenje karcinoma pluća. Naravno, neophodna su dopunska istraživanja na ovu temu, na mnogo većem broju pacijenata, različitih etničkih i rasnih struktura.

6. ZAKLJUČCI

- Oboleli od IPF, kao i oboleli od karcinoma pluća imaju značajno više vrednosti inflamatornih markera, CRP i SAA1, u odnosu na zdrave osobe; podgrupa NSCLC PD-L1+ ima značajno više vrednosti SAA1 u odnosu na ostale obolele.
- Vrednost inflamatornog markera CRP, značajno je viša kod pacijenata sa skvamocelularnim karcinomom, u odnosu na adenokarcinom i mikrocelularni karcinom pluća.
- Parametri oksidativnog stresa značajno su viši kod obolelih od IPF, kao i kod obolelih od karcinoma pluća u odnosu na zdrave osobe; koncentracije parametara antioksidativne zaštite su značajno snižene kod obe ispitivane grupe pacijenata.
- Zavisno od histoloških tipova karcinoma, pacijenti sa skvamocelularnim karcinomom, imaju značajno više koncentracije AOPP, TOS i O2 u odnosu na pacijente sa adenokarcinomom.
- Kod obe grupe pacijenata (IPF, karcinom pluća) postoji značajna deficijencija vitamina D, u odnosu na referentne vrednosti.
- Oboleli od IPF imaju značajno niže koncentracije LDL holesterola i značajno više koncentracije triglicerida u odnosu na zdrave osobe. Oboleli od karcinoma pluća imaju značajno niže koncentracije HDL holesterola u odnosu na zdrave osobe, kao i značajno višu koncentraciju triglicerida (značajno niži kod pacijenata sa mikrocelularnim karcinomom u odnosu na adenokarcinom i skvamocelularni karcinomom).
- Oboleli od IPF imaju značajno više koncentracije sPD-L1 u poređenju sa zdravim osobama. Takođe, koncentracija PD-L1 je značajno viša u grupi pacijenata sa karcinomom pluća, u odnosu na kontrolnu grupu zdravih osoba.
- Kod obolelih od IPF postoji pozitivna korelacije AOPP i vitamina D sa dužinom distance pređene tokom 6MWT, dok je korelacija sa TOS negativna.
- Žene sa karcinoma pluća, imaju značajno nižu koncentraciju inflamatornih markera, SAA1 i PD-L1, ali i značajno nižu koncentraciju vitamina D.
- Pacijenti koji su bili u IV stadijumu karcinoma pluća, imali su značajno višu koncentraciju CRP, u odnosu na pacijente u II stadijumu bolesti.

- Kod pacijenata sa proširenom bolešću (metastaze) značajno je viša koncentracija SAA1 i niža koncentraciju HDL holesterola u odnosu na pacijente bez metastaza.
- SAA1 je dobar biomarker uznapredovale bolesti, sa mogućim dobrim potencijalom da predvidi tok bolesti ako se meri u različitim vremenskim intervalima.
- Pacijenti sa SCLC, mlađi od 60 godina, imaju značajno veće koncentracije sPD-L1 u poređenju sa svim ostalim podgrupama pacijenata (<60 godina NSCLC, >60 godina NSCLC i >60 godina SCLC).
- Žene sa NSCLC imaju značajno niže vrednosti SAA1 od žena sa SCLC i muškaraca sa NSCLC i SCLC.
- Oboleli od karcinoma pluća, koji imaju veći broj komorbiditeta, imaju značajno nižu koncentraciju vitamina D i HDL holesterola i višu koncentraciju triglicerida, u odnosu na pacijente sa manjim brojem komorbiditeta.
- Oboleli od IPF imaju značajno niže koncentracije PAB, O₂⁻ i TOS u odnosu na obolele od karcinoma pluća (svi histološki tipovi) i značajno nižu koncentraciju TAS od pacijenata sa adenokarcinomom i skvamocelularnim karcinomom pluća.
- Oboleli od IPF imaju značajno višu koncentraciju CRP u odnosu na pacijente sa adenokarcinomom pluća, a značajno nižu u odnosu na skvamocelularni i mikrocelularni karcinom pluća.
- Koncentracija SAA1 se ne razlikuje značajno između obolelih od IPF i obolelih od karcinoma pluća.
- Oboleli od IPF imaju značajno nižu koncentraciju vitamina D u odnosu na pacijente sa adenokarcinomom i skvamocelularnim karcinomom.
- Oboleli od IPF imaju značajno više koncentracije PD-L1 u odnosu na adenokarcinom.
- S obzirom da su kod pacijenata sa IPF značajno bili povišeni svi parametri inflamacije (CRP, SAA1, PD-L1) i oksidativnog stresa, potrebno ih je dalje evaluirati (na većem broju ispitanika) kao potencijalne prognostičke i/ili prediktivne biomarkere za IPF.
- Povišene vrednosti PD-L1 kod obolelih od IPF mogle bi da govore u prilog zajedničke biologije IPF i karcinoma pluća, što bi potencijalno moglo da otvori razmišljanja o novim terapijskim modalitetima kod ovih pacijenata.

7. LITERATURA:

1. Navaratnam V, Forrester D, Hubbard R. Epidemiology in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. U Costabel U, Crestani B and Wells A (eds), ERS Monogr 2016; 71:1-15.
2. Raghu G, Collard HR, Egan JJ, et al. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: idiopathic pulmonary fibrosis: evidence-based guidelines for diagnosis and management. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 183:788.
3. Fois A, Paliogiannis P, Sotgia S, et al. Evaluation of oxidative stress biomarkers in idiopathic pulmonary fibrosis and therapeutic applications: a systematic review. *Respiratory Research* 2018; 19:51
4. Lynch III J, Belperio J. Idiopathic Pulmonary Fibrosis. U: Baughman RP, du Bois MM (eds). *Diffuse Lung Disease: A Practical Approach Second Edition*. New York, Springer 2012; 171-94.
5. Puglisi S, Torrisi SE, Giuliano R. What we know about the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. *Semin Respir Crit Care Med*. 2016,37(3):358-67
6. Sgalla G, Iovene B, Calvello M, Ori M, Varone F, Richeldi L. Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Pathogenesis and Management. *Respiratory Research* 2018;19 (32): 1-18.
7. Loeh B, Korfei M, Mahavadi P, Wasnick R, Von der Beck D, Gunther A. Pathogenesis. U: Costabel U, Crestani B and Wells A (eds), ERS Monogr 2016; 71:35-49.
8. Bargagli E, Olivieri C, Bennett D, Prasse A, Muller-Quernheim J, Rottoli P. Oxidative stress in pathogenesis of diffuse lung diseases: A review. *Respir Med*. 2009;103(9):1245-56.
9. Jovanović D, Nagorni Lj, Popević S, Velinović M, Škodrić V. Oksidativni stres i bolesti pluća. U: Đukić M, urednik. *Oksidativni stress*. Beograd: Mono i Manjana; 2008; 147-76
10. Pardo A, Selman M. Role of matrix metalloproteases in IPF. *Fibrogenesis Tissue Repair*. 2012;5(Suppl 1): S9

11. Nkyimbeng T, Ruppert C, Shiomi T, et al. Pivotal Role of Matrix Metalloproteinase 13 in Extracellular Matrix Turnover in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *PLOS ONE* 2013; 8(9): e73279.
12. Craig V., Zhang L, Hagood J, Owen C. Matrix Metalloproteinases as therapeutic Targets for IPF. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2015;53(5):585-600
13. Fernandez I, Eickelberg O: Impact of TGF- β on Lung Fibrosis. From Targeting to Biomarker. *Proc Am Thorac Soc* 2012; 9(3):111–6.
14. Kinnula V , Fattman C , Tan R , Oury T. Oxidative Stress in Pulmonary Fibrosis. A Possible Role for Redox Modulatory Therapy. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172:417-22.
15. Yue X, Shan B, Lasky J. TGF- β : Titan of Lung Fibrogenesis. *Curr Enzym Inhib* 2010; 6(2):1-20
16. Yasuo Y, Kawashima T, Kuwabara R, et al. Changes in serum marker of oxidative stress in progression of IPF. *Pulm Pharmacol Ther.* 2015 Jun;32:1-6.
17. Borie R, Kannengiesser, Nathan N, Crestani B. Genetics. U Costabel U, Crestani B and Wells A (eds), *ERS Monogr* 2016; 71:16-34.
18. Oldham JM, Ma SF, Martinez FJ, et al. TOLLIP, MUC5B and the response to N-acetylcysteine among individuals with idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2015;192:1475–82.
19. Suart BD, Choi J, Zaidi S, et al. Exome sequencing links mutations in PARN and RTEL1 with familial pulmonary fibrosis and telomere shortening. *Nat Genet* 2015; 47:512-17
20. Helling B., Yang I. Epigenetics in lung fibrosis: from pathobiology to treatment perspective. *Curr Opin Pulm Med* 2015;21(5):454-62
21. Antoniou K, Samara K, et al. Differential telomerase expression in idiopathic pulmonary fibrosis and NSCLC. *Oncol Rep.* 2013 Dec; 30(6): 2617–24.
22. Chad K. Oh, Lynne A. Murray, Nestor A. Molfino. Smoking and Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Pulmonary Medicine* 2012; 1-13
23. Coward W, Saini G, Jenkins G. The pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. *Ther Adv Respir Dis* 2010; 4(6):367-88.

24. Nakamura Y, Suda T. Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Diagnosis and Clinical Manifestations. *Clin Med Insights Circ Respir Pulm Med*. 2015; 9(Suppl 1): 163–71
25. Collum S, Amione-Guerra J, Cruz-Solbes A. Pulmonary Hipertension Associated With Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Current and Future Perspectives. *Canadian Respiratory Journal* 2017(12):1-12
26. Schiza S, Mermigkis C, Margaritopoulos G, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis and sleep disorders: no longer strangers in the night. *Eur Respir Rev* 2015; 24: 327-39
27. Raghu G, RemY-Jardin M, Myers J, et al. Diagnosis of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. An Official ATS/ERS/JRS/ALAT Clinical Practice Guideline. *Am J Respir Crit Care Med* 2018; 198 (5): e44-e68
28. Lynch D, Sverzellati N, Travis W, et al. Diagnostic criteria for idiopathic pulmonary fibrosis: a Fleischer Society White Paper. *Lancet Respir Med* 2018; 6:138-53
29. Martinez FJ, Flaherty K. Pulmonary function testing in idiopathic interstitial pneumonias. *Proc Am Thorac Soc* 2006; 3: 315–321.
30. Plantier L, Cazes A, Dinh-Xuan A. Physiology of the lung in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir Rev* 2018; 27: 170062
31. Ley B, Ryerson CJ, Vittinghoff E, et al. A multidimensional index and staging system for idiopathic pulmonary fibrosis. *Ann Intern Med* 2012; 156:684-91
32. Lee SH et al. Predicting survival of patients with idiopathic pulmonary fibrosis using GAP score: a nationwide cohort study *Respiratory Research* 2016 17:131.
33. Kondoh Y et al. Disease severity staging system for idiopathic pulmonary fibrosis in Japan. *Respirology* 2017; 22: 1609–14.
34. King TE Jr, Tooze JA, Schwartz MI, et al. Predicting survival in idiopathic pulmonary fibrosis: scoring system and survival model. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164:1171-81.
35. O’Connell O, Egan J. The evaluation of disease severity/staging for prognosis in ERS Monogr 2016;71:97-105.

36. Mura M, Porretta M, Bargagli E, et al. Predicting survival in new in newly diagnosed idiopathic pulmonary fibrosis: a 3-year prospective study. *Eur Respir J* 2012; 40: 101-9.
37. IARC. Cancer incidence, Mortality and Prevalence Worldwide. GLOBOCAN 2018. <http://gco.iarc.fr>.
38. Boloker G, Wang C, Zhang J. Updated statistics of lung and bronchus cancer in United States (2018). *J Thorac Dis.* 2018 Mar; 10(3): 1158–61
39. De Groot P, Wu C, Carter B, Munden R. The epidemiology of lung cancer, *Transl Lung Cancer Res* 2018; 7(3): 220–33.
40. Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer.* 2013;49(6):1374-403.
41. Planchard D, Popat S, Kerr K, et al. Metastatic non small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2018; 29 (Suppl 4): iv192-iv237.
42. Bray FI, Weiderpass E. Lung cancer mortality trends in 36 European countries: secular trends and birth cohort patterns by sex and region 1970-2007. *Int J Cancer.* 2010;126(6):1454-66.
43. Malvezzi M, Carioli G, Bertuccio P, et al. European cancer mortality predictions for the year 2017, with focus on lung cancer. *Ann Oncol* 2017;28:1117-23
44. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018. *CA Cancer J Clin* 2018;68:7-30.
45. Pineros M, Sierra MS, Forman D. Descriptive epidemiology of lung cancer and current status of tobacco control measures in Central and South America. *Cancer Epidemiol.* 2016;44 (1): S90-S99.
46. Services UDoHaH. The health consequences of involuntary exposure to tobacco smoke: a report of the Surgeon General. Atlanta, US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. 2006.

47. Okazaki I, Ishikawa S, Ando W, et al. Lung Adenocarcinoma in Never Smokers: Problems of Primary Prevention from Aspects of Susceptible Genes and Carcinogens. *Anticancer Res* 2016;36:6207-24
48. Pelosof L, Ahn C, Gao A, et al. Proportion of NeverSmoker Non-Small Cell Lung Cancer Patients at Three Diverse Institutions. *J Natl Cancer Inst* 2017;109(7)
49. Wakelee HA, Chang ET, Gomez SL, et al. Lung cancer incidence in never smokers. *J Clin Oncol* 2007;25:472-8
50. Sun S, Schiller JH, Gazdar AF. Lung cancer in never smokers--a different disease. *Nat Rev Cancer*. 2007;7(10):778-90.
51. Darby S, Hill D, Auvinen A, Barros-Dios JM, Baysson H, Bochicchio F, et al. Radon in homes and risk of lung cancer: collaborative analysis of individual data from 13 European case-control studies. *BMJ*. 2005;330(7485):223.
52. Raaschou-Nielsen O, Andersen ZJ, Beelen R, et al. Air pollution and lung cancer incidence in 17 European cohorts: prospective analyses from the European Study of Cohorts for Air Pollution Effects (ESCAPE). *Lancet Oncol*. 2013;14(9):813-22.
53. Winstone TA, Man SFP, Hull M, et al. Epidemic of lung cancer in patients with HIV infection. *Chest* 2013;143:305-14
54. Lorenzo Bermejo J, Hemminki K. Familial lung cancer and aggregation of smoking habits: a simulation of the effect of shared environmental factors on the familial risk of cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 1738–40.
55. Mucci LA, Hjelmborg JB, Harris JR et al. Familial risk and heritability of cancer among twins in Nordic Countries. *JAMA* 2016; 315: 68–76.
56. Timofeeva MN, Hung RJ, Rafnar T et al. Influence of common genetic variation on lung cancer risk: meta-analysis of 14 900 cases and 29 485 controls. *Hum Mol Genet* 2012; 21: 4980–95.
57. Wang Y, McKay JD, Rafnar T et al. Rare variants of large effect in BRCA2 and CHEK2 affect risk of lung cancer. *Nat Genet* 2014; 46:
58. Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB et al. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase

- inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol* 2013; 8: 823–59.
59. Kerr KM, Bubendorf L, Edelman MJ et al. Second ESMO consensus conference on lung cancer: pathology and molecular biomarkers for non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 2014; 25: 1681–90.
60. Lindeman N, Cagle P, Aisner D et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *Arch Pathol Lab Med* 2018; 142: 321–46.
61. Kalemkerian GP, Narula N, Kennedy EB et al. Molecular testing guideline for the selection of patients with lung cancer for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: American Society of Clinical Oncology Endorsement of the College of American Pathologists/International Association for the Study of Lung Cancer/Association for Molecular Pathology Clinical Practice Guideline Update. *J Clin Oncol* 2018; 36: 911–9
62. McKay JD, Hung RJ, Han Y et al. Large-scale association analysis identifies new lung cancer susceptibility loci and heterogeneity in genetic susceptibility across histological subtypes. *Nat Genet* 2017; 49: 1126–32.
63. Lawless M, O’Byrne K, Gray S. Oxidative stress induced lung cancer and COPD: opportunities for epigenetic therapy. *J Cell Mol Med.* 2009 Sep; 13(9a): 2800–21
64. Reuter S, Gupta S, Chaturvedi M, Aggarwal B. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radical Biology and Medicine* 2010; 14(11): 1603-16.
65. Rozalski R, Gackowski D, Roszkowski K, Foksinski M, Olinski R. The Level of 8-Hydroxyguanine, a Possible Repair Product of Oxidative DNA Damage, Is Higher in Urine of Cancer Patients than in Control Subjects. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2002; 11:1072-5.

66. Antosova M, Benkova A, Mikolka P, Kosutova P, Mokra D, Rozborilova E. The markers of oxidative stress in patient with lung cancer. *Eur Respir J* 2015 46: PA4267
67. Grackowski D, Kowalewski J, Siomek A, Olinski R. Oxidative DNA damage and antioxidant vitamin level: comparison among lung cancer patients, smokers and nonsmokers. *Int J Cancer* 2005; 114(1):153-6.
68. Paz-Elizur, Krupsky M, Elinger D, Schechtman E, Livneh Z. Repair of oxidative DNA damage and 8-oxoguanine as a biomarker for lung cancer risk. *Cancer Biomark* 2005; 1(2-30):201-5.
69. Loft S, Muller P. Oxidative DNA damage and lung cancer: need for cohort studies. *Antioxid Redox Signal* 2006; 8(5-6):1021-31.
70. Ganie FA, wani ML, Lone H, Wani SN, Hussain SA. Carcinoma lung: Clinical presentation, diagnosis, and its surgical management. *The Journal of Association of Chest Physicians* 2013; 1:38-43
71. Latimer KM. Lung Cancer: Clinical Presentation and Diagnosis. *FP Essent.* 2018; 464:23-6.
72. Grunnet M, Sorensen JB. Carcinoembryonic antigen (CEA) as tumor marker in lung cancer. *Lung Cancer* 2012; 76: 138–43.
73. Ferrucci PF, Ascierto PA, Pigozzo J et al. Baseline neutrophils and derived neutrophil-to-lymphocyte ratio: prognostic relevance in metastatic melanoma patients receiving ipilimumab. *Ann Oncol* 2016; 27: 732–8
74. Mezquita L, Auclin E, Ferrara R et al. Association of the lung immune prognostic index with immune checkpoint inhibitor outcomes in patients with advanced non-small cell lung cancer. *JAMA Oncol* 2018;4: 351–7.
75. Doms C, Muylle I, Yserbyt J, Ninane V. Endobronchial ultrasound in the management of non-small cell lung cancer. *Eur Respir Rev.* 2013;22(128):169-77.
76. Doms C, Tournoy KG, Schuurbiens O, Decaluwe H, De Ryck F, Verhagen A, et al. Endosonography for mediastinal nodal staging of clinical N1 non-small cell lung cancer: a prospective multicenter study. *Chest.* 2015;147(1):209-15.

77. Wang J, Welch K, Wang L, Kong FM. Negative predictive value of positron emission tomography and computed tomography for stage T1-2N0 non-small-cell lung cancer: a meta-analysis. *Clin Lung Cancer*. 2012;13(2):81-9.
78. Zaric B, Stojsic V, Sarcev T, Stojanovic G, Carapic V, Perin B, et al. Advanced bronchoscopic techniques in diagnosis and staging of lung cancer. *J Thorac Dis*. 2013;5 (Suppl 4):S359-70.
79. Herth F, Becker HD, Ernst A. Conventional vs endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration: a randomized trial. *Chest* 2004; 125: 322–5.
80. Paone G, Nicastrì E, Lucantoni G et al. Endobronchial ultrasound driven biopsy in the diagnosis of peripheral lung lesions. *Chest* 2005; 128: 3551–7.
81. Nakajima T, Kimura H, Takeuchi K et al. Treatment of lung cancer with an ALK inhibitor after EML4-ALK fusion gene detection using endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration. *J Thorac Oncol* 2010; 5: 2041–3.
82. Nakajima T, Yasufuku K, Nakagawara A et al. Multigene mutation analysis of metastatic lymph nodes in non-small cell lung cancer diagnosed by endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration. *Chest* 2011; 140: 1319–24
83. Rekhtman N, Brandt SM, Sigel CS et al. Suitability of thoracic cytology for new therapeutic paradigms in non-small cell lung carcinoma: high accuracy of tumor subtyping and feasibility of EGFR and KRAS molecular testing. *J Thorac Oncol* 2011; 6: 451–8
84. Sakairi Y, Nakajima T, Yasufuku K et al. EML4-ALK fusion gene assessment using metastatic lymph node samples obtained by endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 4938–45.
85. Jiang Y, Jin P, Chang RS, Yao SX, Zhou QH, Fan YG, Qiao YL. Analysis of sensitivity and specificity of sputum cytology screening for lung cancer with different positive criteria. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*. 2011;45(7):605-8.
86. Zugazagoitia J, Enguita A, Nunez JA, Iglesias L, Ponce S. The new IASLC/ATS/ERS lung adenocarcinoma classification from a clinical

- perspective: current concepts and future prospects. *J Thorac Dis.* 2014 Oct; 6(Suppl 5): S526–S536.
87. Vishal Boolell, Muhammad Alamgeer, David N. Watkins, Vinod Ganju. The Evolution of Therapies in Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancers (Basel)* 2015; 7(3): 1815–46.
88. Liangqing Ge, Ruizheng Shi. Progress of EGFR TKI and ALK/ROS1 inhibitors in advanced non-small cell lung cancer. *Int J Clin Exp Med.* 2015; 8(7): 10330–9.
89. Zhu Q, Zhang S, Ding X, He B, Zhang H. Driver genes in non-small cell lung cancer: Characteristics, detection methods, and targeted therapies. *Oncotarget.* 2017; 8(34): 57680–92
90. Cihan S, Odabas H, Ozdemir NY, Yazilitas D, Babacan NA. Treatment Approaches in 102 Elderly Patients With Non-Small Cell Lung Cancer. *World J Oncol.* 2015 Feb; 6(1): 276–282.
91. Cardia J, Calcada C, Pereira H. Treatment of lung cancer in the elderly: Influence of comorbidity on toxicity and survival *Rep Pract Oncol Radiother.* 2011 Mar; 16(2): 45–8
92. Chan B, Hughes B. Targeted therapy for non-small cell lung cancer: current standards and the promise of the future. *Transl Lung Cancer Res* 2015; 4(1): 36–54.
93. Zhao D, Chen X, Qin N, et al. The prognostic role of EGFR-TKIs for patients with advanced non-small cell lung cancer. *Sci Rep.* 2017;7:40374.
94. Yang JC, Sequist LV, Geater SL, et al. Clinical activity of afatinib in patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring uncommon EGFR mutations: a combined post-hoc analysis of LUX-Lung 2, LUX-Lung 3, and LUX-Lung 6. *Lancet Oncol.* 2015 Jul;16(7):830-8
95. Wang X, Goldstein D, Crowe PJ, Yang JL. Next-generation EGFR/HER tyrosine kinase inhibitors for the treatment of patients with non-small-cell lung cancer harboring EGFR mutations: a review of the evidence. *Onco Targets Ther* 2016 6;9:5461-73.

96. Daniil ZD, Papageorgiou E, Koutsokera A, et al. Serum levels of oxidative stress as a marker of disease severity in idiopathic pulmonary fibrosis. *Pulm Pharmacol Ther.* 2008;21:26–31.
97. Nemoto K, Oh-ishi S, Taguchi M, et al. Increased levels of oxidative stress markers in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *European Respiratory Journal* 2016;48: PA4038
98. Rahman I, Skwarska E, Henry M, Davis M, O'Connor CM, FitzGerald MX, Greening A, MacNee W. Systemic and pulmonary oxidative stress in idiopathic pulmonary fibrosis. *Free Radic Biol Med.* 1999;27:60–8.
99. Jackson R, Ramos C, Gupta C, Gomez-Marin O. Exercise decreases plasma antioxidant capacity and increases urinary isoprostanes of IPF patients. *Respir Med.* 2010;104:1919–28
100. Malli F, Bardaka F, Tsilioni I, Karetsi E, Gourgoulisanis KI, Daniil Z. 8isoprostane levels in serum and bronchoalveolar lavage in idiopathic pulmonary fibrosis and sarcoidosis. *Food Chem Toxicol.* 2013; 61:160–3.
101. Muramatsu Y, Sugino K, Ishida F, Tatebe J, Morita T, Homma S. Effect of inhaled N-acetylcysteine monotherapy on lung function and redox balance in idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir Investig.* 2016;54:170–8.
102. Matsuzawa Y, Kawashima T, Kuwabara R, Hayakawa S, Irie T, Yoshida T, Rikitake H, Wakabayashi T, Okada N, Kawashima K, Suzuki Y, Shirai K. Change in serum marker of oxidative stress in the progression of idiopathic pulmonary fibrosis. *Pulm Pharmacol Ther.* 2015;32:1–6.
103. Ugurlu E, Kilic-Toprak E, Altinisik G, Kilic-Erkek O, Cengiz B, Kucukatay V, Senol H, Akbudak IH, Ekbic Y, Bor-Kucukatay M. Increased erythrocyte aggregation and oxidative stress in patients with idiopathic interstitial pneumonia. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis.* 2016;33:308–16.
104. Veith C, Drent M, Bast A, van Schooten FJ, Boots AW. The disturbed redoxbalance in pulmonary fibrosis is modulated by the plant flavonoid quercetin. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2017;336:40–8.
105. Anathy, V., Lahue, K.G. et al., (2018) Reducing protein oxidation reverses lung fibrosis. *Nature Medicine* 24, 1128 – 35.

106. Finklea J, Grossmann R, Tangprich V. Vitamin D and Chronic Lung Disease: A Review of Molecular Mechanisms and Clinical Studies, *Adv Nutr.* 2011;2(3):244-53
107. Hagman J, Panos R, McCormack F, et al. Vitamin D Deficiency and Reduced Lung Function in Connective Tissue-associated Interstitial Lung Diseases. *CHEST.* 2011;139(2):353-60
108. Tzilas V, Tzouvelekis A, Eouros E, et al. Vitamin D predicts disease progression in patients with pulmonary fibrosis and blunts in-vitro fibrotic responses. *Eur Respir J* 2018; 52: PA2902
109. Zhang, Z., Yu X, Fang X, et al. Preventive effects of vitamin D treatment on bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Sci Rep* 2015; 5: 17638.
110. Shi Y, Liu T, Yao L, et al. Chronic vitamin D deficiency induces lung fibrosis through activation of the renin-angiotensin system. *Sci Rep* 2017; 7: 3312
111. Kanoh Y, Abe T, Masuda N, Akahoshi T. Progression of non-small cell lung cancer: Diagnostic and prognostic utility of matrix metalloproteinase-2, C-reactive protein and serum amyloid A. *Oncology Reports* 2013; 29:469-73
112. Liu X, Mayes MD, Pedroza C, Draeger HT, Gonzalez EB, Harper BE, Reveille JD, Assassi S. Does C-reactive protein predict the long-term progression of interstitial lung disease and survival in patients with early systemic sclerosis? *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2013;65(8):1375-80.
113. Zhang L, Wu G, Gao D, Liu G, Pan L, Ni L, et al. Factors Associated with Interstitial Lung Disease in Patients with Polymyositis and Dermatomyositis: A Systematic Review and Meta Analysis. *PLoS ONE* 2016; 11(5): e0155381. doi:10.1371/ journal.pone.0155381
114. Moshkovskii SA. Why do cancer cells produce serum amyloid A acute-phase protein? *Biochemistry (Mosc).* 2012;77(4):339–41.
115. Biaoxue R, Hua L, Wenlong G, Shuanying Y. Increased serum amyloid A as potential diagnostic marker for lung cancer: a meta analysis based on nine studies. *BMC Cancer* 2016;16:836
116. Salobir B. et al. Serum Amyloid a in Patients With Sarcoidosis. *Chest* 2016;150(4):789A

117. Lakota K, Carns M, Podluský S, Mrak Poljsak K, Hinchcliff M, Lee J, et al. Serum Amyloid A Is a Marker for Pulmonary Involvement in Systemic Sclerosis. *PLoS ONE* 2015; 10(1): e0110820. doi:10.1371/journal.pone.0110820
118. Anthony D, Seow HJ, Uddin M, et al. Serum Amyloid A Promotes Lung Neutrophilia by increasing IL-17A by Lung Mucosa Levels in Mucosa and $\gamma\delta$ T Cells. *Am J Respir Crit Care Med* 2013;188 (2):179–86
119. Godway K et Fessler M. Emerging Roles for Cholesterol and Lipoproteins in Lung Disease. *Pulm Pharmacol Ther.* 2013; 26(4): 430–7.
120. Yao X, Gordon E, Figueroa DM et al. Emerging Roles of Apolipoprotein E and Apolipoprotein A-I in the Pathogenesis and Treatment of Lung Disease. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2016 Aug; 55(2): 159–69.
121. Fessler M. A New Frontier in Immunometabolism. Cholesterol in Lung Health and Disease. *Ann Am Thorac Soc.* 2017 Nov; 14(Suppl 5): S399–S405
122. Iannello S, Cavaleri A, Camuto M, Pisano MG, Milazzo P, Belfiore F. Low fasting serum triglyceride and high free fatty acid levels in pulmonary fibrosis: a previously unreported finding. *Med Gen Med* 2002;14;4(2):5
123. Kaddah S, Ahmed S. Lifestyle associated diseases and risk of pulmonary hypertension in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Egypt J Chest Dis Tuberc* (2016) 65(1):127–33.
124. Sherbini N, Feteih MN, Wali SO, Alamoudi OS, Al-Faifi SM, Khalid I. Idiopathic pulmonary fibrosis in Saudi Arabia: demographic, clinical, and survival data from two tertiary care hospitals. *Ann Thorac Med* 2014; 9(3):168–72.
125. Enomoto T, Usuki J, Azuma A, Nakagawa T, Kudoh S. Diabetes mellitus may increase risk for idiopathic pulmonary fibrosis. *Chest* (2003) 123(6):2007–11.
126. Swapnendu M, Ira D, Pulak Kumar J, Arundhati D. A cross sectional observational study on evaluation of cardiovascular involvement in diffuse parenchymal lung disease and their impact on morbidity. *International Journal of Scientific Research* 2017; 6(4): 630-5.

127. Vancheri C. Idiopathic pulmonary fibrosis and cancer: do they really look similar? *BMC Medicine* 2015;13:220.
128. Antoniou KM, Tomassetti S, Tsitoura E, et al. Idiopathic Pulmonary Fibrosis and Lung Cancer: A Clinical and Pathogenesis Update. *Curr Opin Pulm Med* 2015;21:626-33.
129. Naidoo J, Wang X, Woo KM, et al. Pneumonitis in Patients Treated With Anti-Programmed Death-1/ Programmed Death Ligand 1 Therapy. *J Clin Oncol* 2017;35:709-17.
130. Hussell T, Bell TJ. Alveolar macrophages: plasticity in a tissue specific context. *Nat Rev Immunol* 2014;14:81-93.
131. Kopf M, Schneider C, Nobs SP. The development and function of lung-resident macrophages and dendritic cells. *Nat Immunol* 2015;16:36-44.
132. Byrne AJ, Maher TM, Lloyd CM. Pulmonary Macrophages: A New Therapeutic Pathway in Fibrosing Lung Disease? *Trends Mol Med* 2016;22:303-16.
133. Yu X, Buttgerit A, Lelios I, et al. The Cytokine TGF- β Promotes the Development and Homeostasis of Alveolar Macrophages. *Immunity* 2017;47:903-912.e4.
134. Stout RD, Jiang C, Matta B, et al. Macrophages sequentially change their functional phenotype in response to changes in microenvironmental influences. *J Immunol* 2005;175:342-9.
135. Broekelmann TJ, Limper AH, Colby TV, et al. Transforming growth factor beta 1 is present at sites of extracellular matrix gene expression in human pulmonary fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88:6642-6.
136. Chen L, Flies DB. Molecular mechanisms of T cell co-stimulation and co-inhibition. *Nat Rev Immunol* 2013;13:227-42.
137. Martinez FO, Sica A, Mantovani A, et al. Macrophage activation and polarization. *Front Biosci* 2008;13:453-61.
138. Chen DS, Mellman I. Elements of cancer immunity and cancer-immune set point. *Nature* 2017; 541:321-30
139. Ruffell B, Coussens LM. Macrophages and therapeutic resistance in cancer. *Cancer Cell* 2015;27:462-72. Mantovani A, Biswas SK, Galdiero MR,

- et al. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling. *J Pathol* 2013;229:176-85.
140. Gordon SR, Maute RL, Dulken BW, et al. PD-1 expression by tumour-associated macrophages inhibits phagocytosis and tumour immunity. *Nature* 2017;545:495-9.
141. Suda K. Tumor-associated macrophages—additional effectors at anti-PD-1/PD-L1 therapy? *J Thorac Dis* 2017; 9: 4197-200
142. Chen Y, Wang Q, Shi B, et al. Development of a sandwich ELISA for evaluating soluble PD-L1 (CD274) in human sera of different ages as well as supernatants of PD-L1+ cell lines. *Cytokine* 2011;56:231-8.
143. Horowitz JC, Osterholzer JJ, Marazioti A, et al. “Scarcinoma”: viewing the fibrotic lung mesenchymal cell in the context of cancer biology. *Eur Respir J* 2016;47:1842-54.
144. O'Dwyer DN, Ashley SL, Moore BB. Influences of innate immunity, autophagy, and fibroblast activation in the pathogenesis of lung fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2016;311:L590-601.
145. Wynn TA, Vannella KM. Macrophages in tissue repair, regeneration, and fibrosis. *Immunity* 2016; 44:450-62.
146. Jovanovic D, Roksandic Milenkovic M, Kotur Stevuljevic J et al. membrane PD-L1 expression and soluble PD-L1 plasma level in idiopathic pulmonary fibrosis-a pilot study. *J Thorac Dis* 2018; 10(12):6660-9.
147. Zhang Q, Vignali DA. Co-stimulatory and Co-inhibitory Pathways in Autoimmunity. *Immunity* 2016;44:1034-51.
148. Dai S, Jia R, Zhang X, et al. The PD-1/PD-Ls pathway and autoimmune diseases. *Cell Immunol* 2014; 290:72-9.
149. Wilkinson TMA. Immune checkpoint in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir Rev* 2017;26.
150. Khunger M, Velcheti V. A case of a Patient with Idiopathic pulmonary Fibrosis with Lung Carcinoma Treated Nivolumab. *J Thorac Oncol* 2017;12:e96-7
151. Zhu X, Lang J. Soluble PD-1 and PD-L1: predictive and prognostic significance in cancer. *Oncotarget* 2017; 8:97671-82.

152. Esme H, Cemek M, Sezer M, Saglam H, Demir A, Melek H, Unlu M. High levels of oxidative stress in patients with advanced lung cancer. *Respirology*. 2008 Jan;13(1):112-6. doi: 10.1111/j.1440-1843.2007.01212.x.
153. Gupta A, Srivastava S, Prasad R, Natu SM, Mittal B, Negi MP, Srivastava AN. Oxidative stress in non-small cell lung cancer patients after chemotherapy: association with treatment response. *Respirology*. 2010; 15(2):349-56.
154. Diehn M, Cho R, Lobo N et al. Association of reactive oxygen species levels and radioresistance in cancer stem cells. *Nature* 2009; 453: 780-83.
155. McGuinness A., Sapey E. Oxidative Stress in COPD: Sources, Markers, and Potential Mechanisms. *J Clin Med* 2017;6:21doi:10.3390/jcm6020021
156. Collinson P. Laboratory medicine is faced with the evolution of medical practice. *J Med Biochem* 2017; 36: 211–5.
157. Nagato T, Ohkuri T, Ohara K, et al. Programmed deathligand 1 and its soluble form are highly expressed in nasal natural killer/T-cell lymphoma: a potential rationale for immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 2017; 66: 877–90.
158. Ding Y, Sun C, Li J, et al. The Prognostic Significance of Soluble Programmed Death Ligand 1 Expression in Cancers: A Systematic Review and Meta-analysis. *Scandinavian J Immunol* 2017; 86: 361–7.
159. Wang C, Yu X, Wang W. A meta-analysis of efficacy and safety of antibodies targeting PD-1/PD-L1 in treatment of advanced nonsmall cell lung cancer. *Medicine* 2016; 95: e5539.
160. He XH, Xu LH, Liu Y. Identification of a novel splice variant of human PD-L1 mRNA encoding an isoform lacking IgV-like domain. *Acta Pharmacol Sin* 2005; 26: 462–8.
161. Frigola X, Inman BA, Krco CJ, et al. Soluble B7-H1: differences in production between dendritic cells and T cells. *Immunol Lett* 2012; 142: 78–82.
162. Frigola X, Inman BA, Lohse CM, et al. Identification of a soluble form of B7-H1 that retains immunosuppressive activity and is associated with aggressive renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 1915–23.

163. Takahashi N, Iwasa S, Sasaki Y, et al. Serum levels of soluble programmed cell death ligand 1 as a prognostic factor on the first-line treatment of metastatic or recurrent gastric cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2016; 142: 1727–38.
164. Chen Y, Wang Q, Shi B, et al. Development of a sandwich ELISA for evaluating soluble PD-L1 (CD274) in human sera of different ages as well as supernatants of PD-L1+cell line. *Cytokine* 2011;56:231-8.
165. Rossille D, Gressier M, Damotte D, et al. High level of soluble programmed cell death ligand 1 in blood impacts overall survival in aggressive diffuse large B-Cell lymphoma: results from a French multicenter clinical trial. *Leukemia* 2014; 28 (12): 2367–75.
166. Ruf M, Moch H, Schraml P. PD-L1 expression is regulated by hypoxia inducible factor in clear cell renal cell carcinoma. *Int J Cancer* 2016; 139: 396–403.
167. Zheng Z, Bu Z, Liu X, et al. Level of circulating PD-L1 expression in patients with advanced gastric cancer and its clinical implications. *Chin J Cancer Res* 2014; 26:104–11.
168. Zhang J, Gao J, Li Y, et al. Circulating PD-L1 in NSCLC patients and the correlation between the level of PD-L1 expression and the clinical characteristics. *Thorac Cancer* 2015; 6: 534–8.
169. Wei W, Xu B, Wang Y, et al. Prognostic significance of circulating soluble programmed death ligand-1 in patients with solid tumours. A meta-analysis. *Medicine* 2018; 97(3): e9617.
170. Zhao J, Zhang P, Wang J, et al. Plasma levels of soluble programmed death ligand-1 may be associated with overall survival in nonsmall cell lung cancer patients receiving thoracic radiotherapy. *Medicine* 2017; 96(7): e6102.
171. Del Re M, Marconcini R, Pasquini G, et al. PD-L1 mRNA expression in plasma-derived exosomes is associated with response to anti-PD-1 antibodies in melanoma and NSCLC. *British Journal of Cancer* 2018; 118: 820–4.
172. Chen G, Huang AC, Zhang W, et al. Exosomal PD-L1 contributes to immunosuppression and is associated with anti-PD-1 response. *Nature* 2018 Aug; 560 (7718): 382–6.

173. Mantovani A, Allavena P, Sica A, et al. Cancer-related inflammation. *Nature* 2008; 454(7203):436-44.
174. Dai SW, Wang XM, Liu LY, et al. Discovery and identification of Serum Amyloid A protein elevated in lung cancer serum. *Sci China Ser C-Life Sci* 2007; 50 (3): 305–11.
175. Planque C, Kulasingam V, Smith CR, et al. Identification of five candidate lung cancer biomarkers by proteomics analysis of conditioned media of four lung cancer cell lines. *Mol Cell Proteomics* 2009; 8(12): 2746–58.
176. Cremona M, Calabro E, Randi G, et al. Elevated levels of the acute-phase serum amyloid are associated with heightened lung cancer risk. *Cancer* 2010; 116(5): 1326–35.
177. Chen DS, Mellman I. Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point. *Nature* 2017; 541 (7637): 321–30.
178. Hegde PS, Karanikas V, Evers S. The where, the when, and the how of immune monitoring for cancer immuno-therapies in the era of checkpoint inhibition. *Clin Cancer Res* 2016; 22: 1865–74.
179. Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M, et al. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated nonsmall-cell lung cancer (POPLAR): a multicenter, openlabel, phase 2 randomised controlled trial. *Lancet* 2016; 387(10030): 1837–46.
180. Richter I, Jirasek T, Dvorak J, et al. The prognostic effects of neoadjuvant chemoradiotherapy on the change of PDL1 expression in patients with locally advanced rectal adenocarcinoma. *J Buon* 2017; 22: 875–81.
181. McDermott DF, Sosman JA, Sznol M, et al. Atezolizumab, an anti-programmed death-ligand 1 antibody, in meta - static renal cell carcinoma: long-term safety, clinical activity, and immune correlates from a phase Ia study. *J Clin Oncol* 2016; 34(8): 833–42.
182. Sung HJ, Ahn JM, Yoon YH, et al. Identification and validation of SAA as a potential lung cancer biomarker and its involvement in metastatic pathogenesis of lung cancer. *J Proteome Res* 2011; 10(3): 1383–95.
183. Aref H, Refaat S. CRP evaluation in non-small cell lung cancer. *Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis* 2014; 63(3):717-22

184. Chaturvedi A , Caporaso N, Katki H, et al. C-Reactive Protein and Risk of Lung Cancer. *Journal of Clinical Oncology* 2016; 28 (16): 2719-26.
185. Taylor LA, Arends J, Hodina AK, Unger C, Massing U. Plasma lysophosphatidylcholine concentration is decreased in cancer patients with weight loss and activated inflammatory status. *Lipids Health Dis.* 2007;6:17.,
186. Cvetkovic Z, Cvetkovic B, Petrovic M, Ranic M, Debeljak-Martarcic J, Vucic V, et al. Lipid profile as a prognostic factor in cancer patients. *J BUON.* 2009;14(3):501-6
187. Kucharska-Newton A, Rosamond W, Schroeder J, McNeill AM, Coresh J, Folsom A. HDL-cholesterol and the incidence of lung cancer in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Lung Cancer.* 2008 Sep; 61(3): 292–300.
188. Li JR, Zhang Y, Zheng JL. Decreased pretreatment serum cholesterol level is related with poor prognosis in resectable non-small cell lung cancer. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015; 8(9): 11877–83
189. Chen Q, Pan Z, Zhao M, Wang Q, Qiao C, Miao L, Ding X. High cholesterol in lipid rafts reduces the sensitivity to EGFR-TKI therapy in non-small cell lung cancer. *J Cell Physiol.* 2018;233(9):6722-32.
190. Feng Q, Zhang H, Dong Z et al. Circulating 25-hydroxyvitamin D and lung cancer risk and survival. A dose–response meta-analysis of prospective cohort studies. *Medicine (Baltimore).* 2017 Nov; 96(45): e8613.
191. Akiba T, Morikawa T, Odaka M, Nakada T, Kamiya N, Yamashita M, Yabe M, Inagaki T, Asano H, Mori S, Tsukamoto Y, Urashima M. Vitamin D Supplementation and Survival of Patients with Non-small Cell Lung Cancer: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Clin Cancer Res.* 2018 Sep 1;24(17):4089-97.
192. Muller DC, Hodge AM, Fanidi A, Albanes D, Mai XM, Shu XO, et al. (2018). No association between circulating concentrations of vitamin D and risk of lung cancer: an analysis in 20 prospective studies in the Lung Cancer Cohort Consortium (LC3). *Ann Oncol.* Published online 2 April 2018.

BIOGRAFIJA

Marina Roksandić Milenković, rođena je 31.07.1979. godine, u Beogradu.

Medicinski fakultet u Beogradu završila je 2004. godine.

Specijalističke akademske studije iz pulmologije završila je 2010. godine, odbranom završnog specijalističkog akademskog rada pod nazivom „Savremeni terapijski pristupi u lečenju vanbolnički stečene pneumonije“, pod mentorstvom Prof. Dr Marije Mitić Milikić.

Specijalizaciju iz interne medicine, na Medicinskom fakultetu u Beogradu, započela je aprila 2009. godine, a specijalistički ispit položila jula 2013. godine sa odličnim uspehom. Doktorske studije iz pulmologije upisala je 2011.godine, a užu specijalizaciju iz pulmologije 2016.godine.

Zaposlena je na Klinici za pulmologiju, Kliničkog centra Srbije u Beogradu od maja 2007. godine. Jula 2014. izabrana je u zvanje kliničkog asistenta na Katedri interne medicine, uža oblast pulmologija, Medicinskog fakulteta u Beogradu.

Od januara 2014. i dalje je predstavnik Klinike za pulmologiju u SLD, podružnica KCS.

Od septembra 2015. i dalje je sekretar Pneumoftiziološke/pulmološke sekcije, SLD.

Od oktobra 2015. do februara 2018. sekretar katedre za poslediplomsku nastavu iz pulmologije.

Autor je i ko-autor u više poglavlja udžbenika, knjiga, monografija, preko 50 stručnih radova i publikacija, od kojih je 9 radova štampano in extenso, u časopisima indeksiranim u CC/SCI bazi.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a: Marina Ž. Roksandić Milenković

broj upisa PL-01/11

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

ODNOS SERUMSKIH PARAMETARA SISTEMSKE INFLAMACIJE, OKSIDATIVNOG STRESA I LIPIDNOG STATUSA KAO ZAJEDNIČKIH BIOMARKERA ZA IDIOPATSKU PLUĆNU FIBROZU I NESITNOĆELIJSKI KARCINOM PLUĆA

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 01.03.2019.



Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora: Marina Ž. Roksandić Milenković

Broj upisa PL-01/11

Studijski program: Doktorska disertacija

Naslov rada: ODNOS SERUMSKIH PARAMETARA SISTEMSKE INFLAMACIJE, OKSIDATIVNOG STRESA I LIPIDNOG STATUSA KAO ZAJEDNIČKIH BIOMARKERA ZA IDIOPATSKU PLUĆNU FIBROZU I NESITNOĆELIJSKI KARCINOM PLUĆA

Mentor : Prof. dr Dragana Jovanović

Potpisana: Marina Ž. Roksandić Milenković


izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu.**

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

U Beogradu, 01.03.2019.

Potpis doktoranda



Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

ODNOS SERUMSKIH PARAMETARA SISTEMSKJE INFLAMACIJE, OKSIDATIVNOG STRESA I LIPIDNOG STATUSA KAO ZAJEDNIČKIH BIOMARKERA ZA IDIOPATSKU PLUĆNU FIBROZU I NESITNOĆELIJSKI KARCINOM PLUĆA

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poledini lista).

U Beogradu, 01.03.2019.

Potpis doktoranda

Dr. Praskovica Stankovic

1. Autorstvo - Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.

2. Autorstvo – nekomercijalno. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.

3. Autorstvo - nekomercijalno – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.

4. Autorstvo - nekomercijalno – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.

5. Autorstvo – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.

6. Autorstvo - deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.