

Principi imunoterapije u liječenju karcinoma pluća nemalih stanica

Šargač, Valentina

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:485124>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-18**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Valentina Šargač

**Principi imunoterapije u liječenju karcinoma pluća
nemalih stanica**

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2020.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Klinici za plućne bolesti „Jordanovac“ Kliničkog bolničkog centra Zagreb, pod vodstvom prof. dr. sc. Marka Jakopovića i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2019./2020.

POPIS ČESTO KORIŠTENIH KRATICA

NSCLC	karcinom pluća nemalih stanica
ADCC	stanična citotoksičnost ovisna o antitijelima
mAb	monoklonsko antitijelo
WHO	Svjetska zdravstvena organizacija
IASLC	Međunarodno udruženje za proučavanje raka pluća
CXR	rentgen prsišta
CT	kompjuterizirana tomografija
LDCT	niskodozna kompjuterizirana tomografija
OS	ukupno preživljenje
PFS	preživljenje bez progresije
EGFR	receptor za epidermalni faktor rasta
VEGFR	receptor za vaskularni endotelijalni faktor rasta
ALK	anaplastična limfom kinaza
PD-1	protein programirane smrti-1
PDL-1	ligand proteina programirane smrti-1
CLT-4	citotoksični T- limfocitni antigen
TCR- T	stanični receptor
CAR	kimerični antigenski receptor

SADRŽAJ

SAŽETAK

SUMMARY

1. KARCINOM PLUĆA NEMALIH STANICA (NSCLC)	1
1.1. EPIDEMIOLOGIJA	1
1.2. FAKTORI RIZKA	3
1.3. PORIJEKLO I PATOGENEZA	5
1.4. WHO/ IASLC KLASIFIKACIJA NSCLC-a	6
1.5. TNM- STUPNJEVANJE	10
1.6. KLINIČKA PREZENTACIJA	11
1.7. DIJAGNOSTIKA	12
1.8. PREVENCIJA I PROBIR	14
2. IMUNOTERAPIJA	16
2.1. MONOKLONSKA ANTITIJELA	16
2.1.1. KOMPETITIVNA INHIBICIJA	17
2.1.2. BLOKADA KONTROLNE TOČKE	18
2.1.3. IMUNOTOKSINSKA TERAPIJA	21
2.2. ANTITUMORSKO CJEPIVO	21
2.2.1. CJELOSTANIČNO CJEPIVO	21
2.2.2. CILJNO SPECIFIČNO CJEPIVO	22
2.4. ADOPTIVNA STANIČNA TERAPIJA	23
2.4.1. NK- STANIČNA TERAPIJA	24
2.4.2. TERAPIJA $\gamma\delta$ T-STANICAMA	24
2.4.3. CIK- STANIČNA TERAPIJA	24
2.4.4. KIMERIČNI ANTIGENSKI RECEPTOR	25
3. ZAKLJUČAK	25
4. LITERATURA	27
5. ZAHVALA	35
6. ŽIVOTOPIS	36

SAŽETAK

Principi imunoterapije u liječenju karcinoma pluća nemalih stanica

Valentina Šargač

Karcinom pluća jedna je od vodećih nezaraznih bolesti u svijetu. Glavni je uzrok mortaliteta od malignih bolesti i odgovoran za više od 1.5 milijuna smrti. Kasno postavljena dijagnoza predstavlja osnovni problem mogućem izlječenju. Klasična kemoterapija i radioterapija nisu davale željene rezultate za liječenje uznapredovale faze NSCLC-a. Relativno kratko produžuju život oboljelog i ne nude potencijalno zalječenje ili izlječenje. Saznanje da imunološki sutav igra veliku ulogu u karcinogenezi otvara nove opcije tretiranja karcinoma. Obzirom da tumori uspjevaju izbjeći nadzor imunološkog sustava te tako rasti i metastazirati, ideja nove terapije je poticanje protutumorskih mehanizama i direktno utjecanje na inhibiciju rasta. Principi imunoterapije temelje se pretežno na manipulaciji protutijelima, imunološkim stanicama te ključnim receptorima. Blokatori kontrolnih točaka pokazuju dobru učinkovitost u liječenju bolesnika s karcinomom pluća ranije liječenih klasičnom kemoterapijom. Bolesnicima s udjelom biomarkera PD-L1 višim od 50% pogodni su već u prvoj liniji liječenja. Adoptivna stanična terapija prikuplja imunološke stanice iz periferne krvi ili samog tumora i *ex vivo* vrši ekspanziju linija specifičnih za tumor. Novija istraživanja genetičkog inženjeringa usmjerena su stvaranju kimeričnih antigenskih receptora (CAR) na površini T- stanice. Prednost sintetički stvorenog CAR-a jest da njegova scFv domena premošćuje MHC molekulu suprimiranu od strane tumora. Takva i srodna saznanja iz područja imunoonkologije i novootkrivene molekularne značajke samog tumora podloga su za usavršavanje postojećih lijekova i traganje za novima.

Ključne riječi: karcinom pluća, imunoterapija, antitijelo, receptor, inhibitor kontrolne točke

SUMMARY

Principles of immunotherapy in treatment of non-small cell lung carcinoma

Valentina Šargač

Lung cancer is one of the leading non-communicable diseases in the world. It is the leading cause of death from malignancies with more than 1.5 million deaths. Late diagnosis is one of the basic obstacles for curing this disease. Classical chemotherapy and radiotherapy have not been successful in reaching the desired results in treatment of NSCLC. They prolong a patient's life for a relatively short amount of time and do not offer a cure. Knowing that the immune system plays a major role in carcinogenesis opens up new possibilities for cancer treatment. Considering that tumors have managed to avoid the control of the immune system and therefore grow and metastasize, the idea behind the new therapy is to stimulate the antitumor mechanisms and directly inhibit the growth. The principles of immunotherapy are mostly based on the manipulation of antibodies, immune cells and key receptors. Checkpoint blockers have shown good efficacy in the treatment of patients with lung cancer previously treated with classic chemotherapy. Patients with a high share of PD-L1 biomarkers (over 50%) are suitable for new therapy as a first line treatment. Adoptive cell therapy collects immune cells from peripheral blood or the tumor itself and expands the tumor specific cell line *ex-vivo*. Recent genetic engineering research has focused on the creation of chimeric antigen receptors (CARs) on the surface of T cells. The advantage of a synthetically created CARs is that its scFv domain bypasses the tumor-suppressed MHC molecule. Such and similar knowledge in the field of immunooncology and the newly discovered molecular properties of the tumor itself have set the groundwork for mastering the existing and seeking new treatment.

Key words: lung carcinoma, immunotherapy, antibody, receptor, checkpoint inhibitor

1. KARCINOM PLUĆA NEMALIH STANICA (NSCLC)

Karcinom pluća maligni je tumor pluća, a histološki se može prezentirati kao karcinom malih stanica- mikrocelularni ili karcinom nemalih stanica- nemikrocelularni. Karcinom pluća nemalih stanica (eng. *Non- Small Cell Lung Carcinoma*, NSCLC) tako označava bilo koji tip karcinoma pluća osim karcinoma pluća malih stanica (eng. *Small Cell Lung Carcinoma*, SCLC) (1, 2). NSCLC sa svojim podtipovima čini 85% od ukupnog, dok incidencija SCLC-a opada (3). Najčešći podtipovi NSCLC-a su adenokarcinom, karcinom skvamoznih stanica i karcinom velikih stanica. Postoji i nekolicina vrsta koje se javljaju rjeđe, a mogu se pojaviti u neobičnim histološkim varijantama (4). Iako su NSCLC pretežno povezani s cigaretnim dimom, adenokarcinomi se mogu naći u oboljelih koji nikada nisu pušili. NSCLC se u pravilu dijagnosticira dok je već uznapredovao pa bi pravodoban probir spašavao živote. Bolesnici s lokalno uznapredovalom neresektibilnom bolešću mogu dugoročno preživjeti liječeni zračenjem u kombinaciji s kemoterapijom. U oboljelih od uznapredovalog NSCLC-a s metastazama, održava se život i ublažavaju simptomi kemoterapijom- napose platinom (5), danas ciljanim lijekovima i potpornim mjerama. Heterogena skupina tumora nemalih stanica pluća relativno je neosjetljiva na kemoterapiju i terapiju zračenjem u usporedbi sa SCLC-om (4). Shodno navedenome, tehnološki napredak u biomedicini i nova otkrića na području imunoterapije od iznimne su važnosti u borbi protiv NSCLC-a.

1.1. EPIDEMIOLOGIJA

Unatoč raznovrsnim opcija liječenja, karcinom pluća i dalje je vodeći uzrok smrti od raka kod muškaraca, a drugi po redu u žena. Najčešće je dijagnosticirani karcinom širom svijeta s otprilike 1.6 milijuna novih slučajeva prijavljenih 2012. godine (6). Bolest se pretežno javlja iza četrdesete, a vrhunac incidencije je između 55 i 60 godina života (7). Najveća incidencija, kao i smrtnost u svijetu, zamijećena je u Sjevernoj Americi, Europi, Australiji / Novom Zelandu i Južnoj Americi. Učestalost se naglo povećava u regijama u razvoju, poput Kine i Istočne Europe (8). Incidencija i mortalitet u 20. stoljeću toliko su se dramatično povećali u većini europskih zemalja da se karcinom pluća može smatrati jednom od glavnih epidemija prošloga stoljeća. Pojavnost karcinoma drastično se promijenila od 1970-ih i mijenja se dinamikom trenda pušenja

cigareta. Standardizirana stopa incidencije karcinoma pluća prilagođena muškarcima u zemljama Zapadne i Centralne Europe povećavala se do početka 1980-ih i zatim počela opadati, dok je u većini država Južne i Istočne Europe učestalost karcinoma pluća kod muškaraca bilježila trend porasta do kraja 1990-ih. Krajem prošlog stoljeća, učestalost u žena počela je rasti i još uvijek raste u većini zemalja. Promatra li se Europa, najviše je zamijećena u Danskoj, Velikoj Britaniji, Islandu te nordijskim zemljama, dok se u muškoj populaciji zamjećuje pad incidencije. Razlog tome je vjerojatno sve veća konzumacija duhanskih proizvoda u žena u razvijenim dijelovima svijeta (9). U SAD-u je do sada u 2020. godini zabilježeno 228 820 novih slučajeva uključujući NSCLC i SCLC, a umrlo 135 720, stoga je karcinom pluća vodeći uzrok mortaliteta od onkoloških bolesti u toj zemlji (10). U Europi pak ima 213 663 muškaraca i 98 982 novooboljelih žena na godinu što rak pluća čini drugim, odnosno trećim najčešće dijagnosticiranim karcinomom (11).

Najnoviji podaci Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo i Hrvatskog statističkog ljetopisa svrstavaju rak traheje, bronha i pluća, sa 17%, na drugo mjesto u muškaraca u pet najčešćih sijela raka u Hrvatskoj 2017. godine. Najčešće sijelo karcinoma u Hrvata je prostata. U žena je također na drugom mjestu i čini 9% od ukupnih najčešćih lokalizacija tumora, dok je vodeći i dalje karcinom dojke (12). Karcinom pluća glavni je uzrok onkološkog mortaliteta u EU i čini oko 20% svih smrti od raka. Ishodi su liječenja bolji ako se bolest dijagnosticira u ranim fazama, a petogodišnja stopa preživljenja kod metastatske bolesti iznosi približno 5% (3). Statistički podaci pokazuju da žene širom svijeta imaju bolje stope preživljenja prema muškarcima u svim dobnim skupinama. Petogodišnja stopa preživljenja iznosi 11.2% za muškarce i 13.9% za žene (11).

Prema dobno- spolno standardiziranoj incidenciji karcinoma pluća, Hrvatska zauzima 23. mjesto s 32.5/100 000 u svijetu, dok su susjedne Mađarska i Srbija prve na listi (13).

Rank	Country	Age-standardised rate per 100,000
1	Hungary	56.7
2	Serbia	49.8
3	New Caledonia (France)	42.3
4	Greece	40.5
5	French Polynesia	39.8
6	Montenegro	39.7
7	Belgium	39.0
8	Guam	37.9
9	Turkey	36.9
10	Denmark	36.6
11	Poland	36.5
12	North Korea	36.2
13=	Bosnia & Herzegovina	36.1
13=	France (metropolitan)	36.1
15	Samoa	35.4
16=	China	35.1
16=	US	35.1
18	Macedonia	34.1
19=	Germany	33.7
19=	Ireland	33.7
21	Netherlands	33.3
22	Slovenia	32.9
23	Croatia	32.5
24	UK	32.5
25	Slovakia	31.2

Slika 1. Pozicija Hrvatske prema dobno- spolno standardiziranoj incidenciji karcinoma pluća među zemljama svijeta. Preuzeto iz American Institute of Cancer Research- Lung cancer statistics; Lung cancer is the most common cancer worldwide (13).

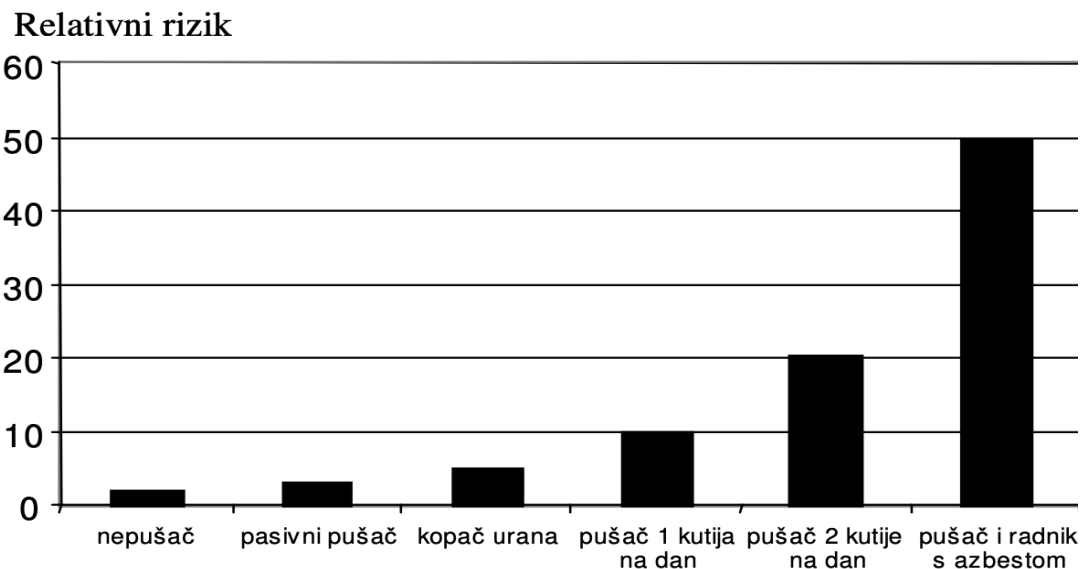
1.2. FAKTORI RIZIKA

Opće je prihvaćena činjenica da pušenje duhanskih proizvoda uvjetuje najviše novodijagnosticiranih karcinoma pluća. Čimbenici rizika za razvoj raka pluća uz izloženost duhanu uključuju stariju životnu dob, muški spol, kroničnu opstruktivnu bolest pluća (KOPB), profesionalnu izloženost plućnim karcinogenima, opterećenu obiteljsku anamnezu i zagađenje zraka (14).

Pušenje je i dalje najveći faktor rizika za nastanak raka pluća. Utvrđeno je da jedna trećina svjetske populacije odraslih konzumira duhanske proizvode, što je 1.1 milijarda ljudi. Taj podatak ukazuje na alarmantnu činjenicu da je gotovo svako sedmo ljudsko biće na Zemlji pušač (15). U zapadnoeuropskim zemljama, 71% smrtnih slučajeva od karcinoma pluća pripisuje se

direktnoj inhalaciji duhanskog dima, a dodatnih 1% dimu iz okoline, tj. pasivnom pušenju (16). Rizik od razvitka karcinoma pluća tijekom života za 17.2% veći je u muškaraca i 11.6% kod žena pušača, u usporedbi s 1.3% i 1.4% u nepušača. Rizik se povećava ukupnom količinom duhana kojem je pojedinac izložen- koliko dnevno puši u ukupnom vremenu od početka konzumiranja cigareta do sadašnjeg trenutka ili do prestanka pušenja (17). Tako se izračunavaju “kutije/godine” (engl. *pack years*, p/y). Broj kutija cigareta popušanih u danu (uzevši u obzir da u kutiji ima 20 cigareta) pomnožen s godinama konzumacije. Računanje p/y iznimno je korisno iz razloga jer pušači koji puše malo i rijetko imaju drugačije mutacije u stanicama pluća od osoba koje puše duhan dugo u velikim količinama (18). Relativni rizik mortaliteta od karcinoma pluća otprilike je 15 puta veći kod pušača u usporedbi s osobama koje nikada nisu pušile (19). U Hrvatskoj svaka treća osoba puši, što Hrvate po konzumaciji cigareta svrstava u sam svjetski vrh. Svaki drugi hrvatski pušač popuši prosječno 15-24 cigarete dnevno, a procjenjuje se da u Hrvatskoj od posljedica pušenja godišnje umire oko 14 000 ljudi, što znači da Hrvatska svake godine gubi jedan grad veličine Makarske (20).

Usprkos dokazanoj direktnoj korelaciji između pušenja i karcinoma pluća, značajan udio karcinoma pojavljuje se u onih koji nikada nisu pušili, točnije 10% do 15% (21). Radno je okruženje s 13% sljedeći najznačajniji faktor rizika. Udisanje aerosola azbesta u prošlom stoljeću čini najznačajniji udio karcinoma pluća nastalog prilikom profesionalne izloženosti. U kategoriju plućnih karcinogena spadaju i krom, nikal, berilij, aluminij, etc. Rad u proizvodnji željeza i čelika te podzemnim rudnicima uz izlaganje radonu pogoduje nastanku karcinoma pluća, jednako kao i izloženost silicijevom dioksidu u proizvodnji stakla i pjeskarenju. Opetovano udisanje smjese ispuštene iz motora s unutarnjim izgaranjem te poslovi poput zavarivanja i lakiranja također povećavaju rizik nastanka karcinoma pluća (22).



Slika 2. Relativni rizik za razvoj karcinoma pluća. Preuzeto iz Posljedice disfunkcije inzulinu sličnih čimbenika rasta i njihovih receptora u karcinomu pluća nemalih stanica, Jakopović M; 2007, uz dopuštenje (23).

Bolesnici koji pate od KOPB-a u dvostruko su većem relativnom riziku nastanka karcinoma pluća prema populaciji u kojoj nema opstrukcije dišnih putova. KOPB i rak pluća vjerojatno imaju zajedničke podležće patološke mehanizme (24).

Iako postoje dokazane povezanosti između životnih navika, okolišnih čimbenika i poodmakle životne dobi i pojavnosti karcinoma pluća, važno je prepoznati da se usprkos navedenim čimbenicima NSCLC pojavljuje i kod mlađih bolesnika nikada pušača. Ta činjenica dovodi do genetske predispozicije *per se* kao još jednog u nizu faktora rizika. U tih bolesnika postoji povećana učestalost mutacija receptora EGF-a (engl. *Epidermal Growth factor*, EGF) i anaplastične limfom-kinaze (ALK) (25).

1.3. PORIJEKLO I PATOGENEZA

NSCLC nastaje iz stanica stijenke središnjih bronha ili mukoznih žlijezda sve do terminalnih alveola. Histološki tip NSCLC korelira s mjestom nastanka, odražavajući varijaciju epitela u dišnom putu. Tako skvamozni karcinom obično nastaje u središnjem bronhu, dok adenokarcinom potječe iz perifernog plućnog tkiva. Kada se tumor pojavi u velikom bronhu i prominira u lumen,

simptomi se javljaju rano. Karcinomi koji potječu iz perifernih bronha često ostaju prikriveni te svojim rastom i ekspanzijom mogu doseći vrlo velike dimenzije bez popratne simptomatologije što rezultira kasnom dijagnozom (4).

Periferni skvamozni karcinomi mogu centralno nekrotizirati i sa stvorenim kavitacijama nalikovati apscesu pluća na rendgenu. Pleura može biti izravno zahvaćena tumorskim tkivom ili limfnim širenjem, a periferno lokalizirani karcinom ima tendenciju širenja u stijenku prsnog koša (1).

Karcinogeneza uvjetovana pušenjem proces je koji se odvija u nekoliko koraka. Prije nego što postane invazivan, plućni epitel prolazi kroz faze morfoloških promjena: hiperplazija, metaplazija, displazija i karcinom *in situ*. Displazija i karcinom *in situ* smatraju se glavnim premalignim lezijama jer je u tim stadijima veća vjerojatnost da će transformirani epitel prijeći u invazivni karcinom procesima proliferacije i eventualne diferencijacije, a manje je izgledno da će spontano regredirati. Pušenje cigareta stvara tzv. polje ozljede u svim epitelnim stanicama dišnih putova izloženim cigaretnom dimu. "Polje kancerizacije" odnosi se na područje histološki normalnog tkiva koje, međutim, sadrži neoplastične stanice s molekularnim abnormalnostima, od kojih su neke iste kao u tumorskom tkivu. U početnoj fazi, ozljeda dovodi do nepravilnog popravka matičnih, odnosno progenitornih stanica koje tvore klonalnu skupinu stanica- kćeri gdje se dotične nesputano samoobnavljaju. Dodatne genetske i epigenetske promjene rezultiraju proliferacijom ovih stanica i ekspanzijom polja koje postepeno nadomješta normalan epitel. Razvoj širećeg premalnog polja predstavlja kritični korak u karcinogenezi pluća koji može trajati i nakon prestanka pušenja (26).

1.4. WHO/ IASLC KLASIFIKACIJA NSCLC-a

Nesitnostanični karcinom pluća podijeljen je od strane Svjetske zdravstvene organizacije (engl. *World Health Organisation*, WHO), odnosno Međunarodnog udruženja za proučavanje raka pluća (engl. *International Association for Study of Lung Cancer*, IASLC). Tri glavne podvrste NSCLC-a jesu adenokarcinom s udjelom od 40%, skvamozni karcinom koji čini 25% nesitnostaničnih karcinoma pluća i karcinom velikih stanica s 10%. Postoje i brojni podtipovi koje se javljaju s manjom učestalošću (27).

Karcinomi pluća donedavno su se razvrstavali samo prema morfološkim značajkama vizualiziranim mikroskopom. Najznačajnije promjene WHO-a u izdanju Klasifikacije tumora pluća, pleure, timusa i srca 2015. uključuju upotrebu imunohistokemije tijekom klasifikacije. Uz integraciju molekularnog testiranja točnije se određuje o kojem je tipu karcinoma riječ, tj. kakva su obilježja pojedine nakupine tumorskih stanica na molekularnoj razini. Drugačije je podijeljen karcinom velikih stanica 2015. nego 2004. godine. Preklasificirani su i podtipovi karcinoma skvamoznih stanica u keratinizirajuće, nekeratinizirajuće i bazaloidne, također na temelju imunohistokemijskog dokaza skvamozne diferencijacije (28). Mutacije epidermalnog faktora rasta (EGFR) i anaplastične limfom-kinaze (ALK) kao učinkovita meta za tirozin-kinazne inhibitore u bolesnika s uznapredovalim plućnim adenokarcinomom nisu samo revolucionarna otkrića za terapijske strategije, već su transformirale kliničku praksu za patologe. Novi imperativ razlikovanja karcinoma skvamoznih stanica od adenokarcinoma nametnut je činjenicom da se mutacije EGFR-a i ALK-a nalaze prvenstveno u adenokarcinomu nepušača, a mutacije KRAS i BRAF češće su kod pušača ili bivših pušača (29).

Tablica 1. WHO/IASLC klasifikacija NSCLC-a. Napravljeno prema The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances Since the 2004 Classification (27).

1. Adenokarcinom

- a) Lepidični**
- b) Acinarni**
- c) Papilarni**
- d) Bronhoalveolarni**
 - 1) Nemucinozni
 - 2) Mucinozni
 - 3) Miješani
- e) Solidni mucinozni**
- f) Adenokarcinom s miješanim tipovima**

g) Varijabilni

- 1) Dobro diferencirani fetalni adenokarcinom
- 2) Mucinozni (koloidni)
- 3) Mucinozni cistadenokarcinom
- 4) Adenokarcinom sa stanicama poput prstena pečatnjaka
- 5) Svijetlih stanica

2. Karcinom skvamoznih stanica

- a) Keratinizirajući
- b) Nekeratinizirajući
- c) Bazaloidni

3. Karcinom velikih stanica

- a) Velikostanični neuroendokrini karcinom (LCNEC)
- b) Kombinirani LCNEC
- c) Bazaloid
- d) Karcinom poput limfoepitelioma
- e) Svijetlih stanica
- f) Karcinom s rabdoidnim fenotipom

4. Adenoskvamozni karcinom

5. Karcinom s pleomorfnim ili sarkomatoidnim obilježjima

- a) Karcinom s vretenastim i/ili gigantskim stanicama
- b) karcinom vretenastih stanica
- c) karcinom gigantskih stanica
- d) Karcinosarkom
- e) Pulmonarni blastom

6. karcinoid

- a) Tipični
- b) Atipični

**7. Karcinomi bronhalnih
žlijezda**

- a) Mukoepidermoidni karcinom
- b) Adenoidni cistični karcinom
- c) ostali

8. Neklasificirani karcinomi

Adenokarcinom najčešće je dijagnosticirana podvrsta NSCLC-a. Čini glavninu karcinoma pluća u bolesnika koji nisu nikada pušili, u žena te u mlađim dobnim skupinama (< 45 godina) i uglavnom se javlja kao periferna tvorba (23). Mješavine podtipova adenokarcinoma češće su od tumora koji se sastoje isključivo od jednog uzorka pa je histološka heterogenost jedan od najvećih izazova za pronalaženje najučinkovitije strategije liječenja (29).

Karcinom skvamoznih stanica pluća pokazuje visoku povezanost s pušenjem, a obično nastaje centralo tako da se nerijetko manifestira simptomima bronhoopstrukcije. U posljednjih desetaka godina, shodno rastu svjesnosti o štetnom utjecaju cigaretnog dima, incidencija te podvrste u svjetskoj populaciji opada, a adenokarcinom dolazi na prvo mjesto kao najčešći histološki tip karcinoma bronha i pluća (27).

1.5. TNM- STUPNJEVANJE

Tumour stage	Lymph node spread			
	N0 (None)	N1 (Ipsilateral hilar)	N2 (Ipsilateral mediastinal or subcarinal)	N3 (Contralateral or supraclavicular)
T1a (≤ 1 cm)	IA1 (92%)	IIB (53%)	IIIA (36%)	IIIB (26%)
T1b (>1 to ≤ 2 cm)	IA2 (83%)			
T1c (>2 to ≤ 3 cm)	IA3 (77%)			
T2a (>3 to ≤ 4 cm)	IB (68%)			
T2b (>4 cm to ≤ 5 cm)	IIA (60%)			
T3 (>5 cm)	IIB (53%)	IIIA (36%)	IIIB (26%)	IIIC (13%)
T4 (>7 cm or invading heart, vessels, oesophagus, carina etc.)				
M1a Lung metastasis/effusion	IVA (10%)			
M1b Single extrathoracic metastasis				
M1c Multiple extrathoracic metastases	IVB (0%)			

Slika 3. Tumorski stadiji i 5-ogodišnje preživljenje u NSCLC. Slika pokazuje vezu između tumorske ekspanzije (veličina, status čvorova i metastaze) i prognoze (% preživljenja u 5 godina za svaku kliničku fazu). Preuzeto iz Davidson's Principles and Practice of Medicine (1).

Prije početka liječenja bolesti, osim određivanja histološkog tipa karcinoma, potrebno je odrediti stadij (engl. *stage*) tumora. Nužno je definirati anatomsku proširenost karcinoma, jesu li zahvaćeni limfni čvorovi i prisutne udaljene metastaze. O stupnju proširenosti karcinoma pluća te o histološkom tipu ovisi vrsta terapije. Za određivanje stadija tumora koristi se TNM klasifikacija prema Međunarodnom *staging* sustavu (eng. *International Staging System, ISS*). Oznaka T odnosi se na primarni tumor, N na regionalne limfne čvorove, a M na udaljene metastaze. TNM klasifikacija NSCLC-a prikazana je u na slici 3. Izrazito je važno prije početka liječenja pretragama utvrditi prisutnost udaljenih metastaza te točno odrediti status regionalnih limfnih čvorova (30). Klasifikacija regionalnih limfnih čvorova korisna je za kliničko, kirurško i patološko stupnjevanje. Mapirano je ukupno 14 regionalnih limfnih čvorova podijeljenih prema lokaciji na hilarne, intrapulmonalne i mediastinalne limfne čvorove. Limfni čvorovi od 1 – 9

pripadaju u N2 skupini, dok limfni čvorovi od 10 – 14 pripadaju u skupinu N1. Karcinomske stanice mogu metastazirati hematogeno i limfogeno, a metastaze mogu zahvatiti bilo koji organ ili organski sustav. Najčešće su zahvaćeni jetra, nadbubrežne žlijezde, kosti, mozak, udaljeni limfni čvorovi te koštana srž (23).

1.6. KLINIČKA PREZENTACIJA

Karcinom pluća manifestira se na više različitih načina, a klinička prezentacija ovisna je o mjestu nastanka, metastazama ili paraneoplastičnim učincima tumora. Simptomi i znakovi variraju s obzirom na morfologiju i lokalizaciju. Kašalj, dispneja, bol u prsištu, umor, hemoptiza i nagli gubitak na težini najčešći su simptomi, a tumor može biti i slučajno nađen slikovnim pretragama u fazama razvoja gdje ne izaziva tegobe u oboljelog.

Prilikom fizikalnog pregleda može se čuti muklina na perkusiju uz reducirani šum disanja, a potpuna opstrukcija uzrokuje kolaps plućnog reznja ili pluća. Djelomična bronhalna opstrukcija može prouzrokovati monofoni unilateralni wheezing koji ne prolazi prilikom nakašljavanja (1). Kada su grkljan, traheja ili glavni bronh suženi primarnim tumorom ili je posrijedi lokalna kompresija subkarinalnih i paratrahealnih limfnih čvorova- čuje se stridor. Neprohodan dišni put također narušava drenažu sekreta i može uzrokovati upalu pluća. Pneumonija koja se ponavlja na istom mjestu ili neobično sporo reagira na liječenje, osobito kod pušača, trebala bi pobuđivati sumnju na podležeći karcinom pluća (31). Spomenuti kašalj najčešći je rani simptom. Uobičajeno je prolongiran i suh, no sekundarna infekcija može izazvati gnojni ispljuvak. Promjena u karakteru pušačkog kašlja, posebno ako je povezan s drugim novonastalim simptomima, pobuđuje sumnju (14). Hemoptiza može nastati i kao posljedica plućne infekcije, no pojavi li se u pušača uz kronični bronhitis, iznimno je suspektan nalaz. Karakterističan je simptom samo za otprilike petinu karcinoma pluća pa izostanak hemoptize ne isključuje postojanje istog. Povremeno, centralno lokalizirani tumori invadiraju velike žile uzrokujući iznenadno masivno krvarenje- hemoptou, što može za posljedicu imati fatalan ishod (32). Invadirajući interkostalne živce ili brahijalni pleksus, karcinom uzrokuje nespecifičnu bol u predjelu toraksa ili ruku (1). Nešto rjeđi, ali uz lokalizaciju vezani specifični simptomi uzrokovani su invazijom u prsnoj šupljini i posljedica su kompresije susjednih torakalnih struktura. Tumorska masa pritišćući jednjak uzrokuje disfagiju, kompresija laringealnih živaca

stvara promuklost, dok tvorba koja komprimira gornju šuplju venu uzrokuje edem lica i distenziju površnih vena glave i vrata. Širenje tumorskih stanica limfom u medijastinalne i supraklavikularne limfne čvorove često se događa prije dijagnoze (31). Udaljene metastaze najčešće se javljaju u jetri, kostima, mozgu, nadbubrežnoj žlijezdi i koži, a simptomatologija metastatske bolesti korelira s lokalizacijom (23, 33). U oboljelih se mogu javiti simptomi i znakovi paraneoplastične bolesti. Prijavljeni su u otprilike 10% slučajeva što čini karcinom pluća najčešćim uzrokom paraneoplastičnog sindroma. Najčešće se ispoljavaju oni endokrinog porijekla, posebno sindrom neprikladnog lučenja ADH-a (SIADH) i humoralna hiperkalcemija u malignitetu (HHM). Drugi karakterističan paraneoplastični učinak karcinoma jest hipertrofična osteoartropatija s digitalnim zadebljanjima, tzv. batićasti prsti. Dolazi do prerastanja mekog tkiva terminalne falange što dovodi do povećane zakrivljenosti nokta i pomaka baze (34). U Hamiltonovoj case- control studiji iz 2005. godine određene su pozitivne prediktivne vrijednosti (PPV) za različite simptome raka pluća, samostalno i u kombinaciji. Kašalj, umor i malaksalost (fran. *fatigue*), dispneja, bolovi u prsištu, hemoptiza, gubitak na težini i gubitak apetita, trombocitoza te abnormalan spirometrijski nalaz promatrani su kao relevantni simptomi i znakovi koji sugeriraju na karcinom pluća. Utvrđeno je da je PPV za svaki simptom veća kod pušača i osoba starijih od 70 godina, a s najvišom PPV od 2.4–7.5%, neobjašnjiva hemoptiza uvijek zahtijeva daljnju istragu (32). Najranija faza raka pluća često nije povezana s ikakvim simptomima, a oni uobičajeni povezani s karcinomom pluća poput kašlja i bolova u prsima uobičajeni su i u zajednici, osobito među populacijom pušača. Izolirano prezentirani simptomi stoga imaju nisku diskriminatornu vrijednost u diferencijalnoj dijagnostici.

1.7. DIJAGNOSTIKA

National Institute for Health and Care Excellence (NICE) smjernice- „Sumnja na karcinom: prepoznavanje i upućivanje” preporučuju sljedeći postupak liječnicima obiteljske medicine (u daljnjem tekstu: LOM) ne bi li se pravodobno dijagnosticirao karcinom pluća u određenog bolesnika: Potrebno je uputiti pacijenta na pregled u specijaliziranu ustanovu u roku od 2 tjedna radi suspektnog karcinoma ako oboljeli ima RTG- nalaz koji pobuđuje sumnju na rak ili ima 40 i više godina i javlja se s neobjašnjivom hemoptizom. Bolesnik, zbog sumnje na karcinom pluća, treba biti upućen na hitni rentgenogram koji mora biti obavljen u roku od 2 tjedna ako ima 40 i više godina i 2 ili više od sljedećih simptoma, a koji su neobjašnjivi ili ako je ikada pušio i ima 1

ili više od navedenih simptoma: kašalj, umor, kratkoća daha, bol u prsima, gubitak na težini ili gubitak apetita. Razmotrite hitnu RTG- snimku prsnog koša koja mora biti napravljena u roku od 2 tjedna kako biste procijenili boluje li osoba od 40 i više godina od karcinoma pluća ako ima bilo što od navedenog: fizikalni nalaz prsišta koji upućuje na karcinom, trajna ili ponavljajuća infekcija pluća, batićasti prsti, supraklavikularna limfadenopatija/ trajna cervikalna limfadenopatija ili trombocitoza (35).

Prva linija dijagnostike kod sumnje na karcinom pluća nakon anamneze, kliničkog statusa te osnovne laboratorijske analize i dalje je RTG- snimka prsnog koša (u daljnjem tekstu: CXR- *chest x-ray*). Prednost CXR-a jest u tome što je jeftin i dostupan sve od razine domova zdravlja. Isporuči relativno nisku dozu zračenja od 0.02 mSv, ekvivalentno prirodnom pozadinskom zračenju od 3 dana, međutim ima značajnu vrijednost lažno negativne stope s osjetljivošću od otprilike 75–80% (36). Prijašnje British Thoracic Society (BTS) smjernice preporučuju svim bolesnicima s radiološki dokazanom pneumonijom stečenom u zajednici ponoviti CXR nakon 6 tjedana. Modificirane su tako da uključuju samo one koji su pod najvećim rizikom od razvitka maligne bolesti, poput pušača i bolesnika starijih od 50 godina (37). Iako je CXR podosta ograničena pretraga, pravodobnije i promišljeno upućivanje bolesnika s potencijalnim karcinomom na RTG- snimci prsišta mogu povećati broj detektiranih slučajeva i poduprijeti rano otkrivanje raka pluća.

Kompjuterska tomografija (engl. *Computed Tomography*, CT) prsnog koša puno je osjetljivija pretraga od CXR-a. U američkom nacionalnom probiru za rak pluća (engl. *National Lung Screening Trial*, NLST), niskodozni CT (engl. *Low dose CT*, LDCT) pokazao je osjetljivost od 93.8% u usporedbi sa 73.5% kod CXR-a. Međutim, konvencionalni CT i dalje se koristi za simptomatska testiranja iako LDCT ima procijenjenu dozu zračenja od 2 mSv, u usporedbi sa 7 mSv koju isporučuje uobičajena CT pretraga. Povećana dostupnost LDCT-a u budućnosti mogla bi smanjiti ukupnu razinu izloženosti zračenju prilikom dijagnostike i praćenja oboljelih (38). NICE smjernice preporučuju CT prsnog koša uz dodatak kontrasta, uključujući i jetru i nadbubrežne žlijezde kao česta sjela metastatskog širenja (36). CT pretraga uobičajeno se izvodi u zdravstvenim ustanovama sekundarne razine nakon hitne uputnice LOM-a pod sumnjom na karcinom pluća. U UK-u je utvrđena manja učestalost CT pretraga naspram ostalim zapadnoeuropskim zemljama, dok SAD bilježi iznadprosječnu uporabu. Razlog britanskog

opadanja učestalosti ozračivanja CT-om jesu izdate smjernice National Optimal Lung Pathway (39) koje utvrđuju standardne protokole ne bi li se poboljšala kvaliteta i učinkovitost. Glavni je cilj skratiti vrijeme od posjeta LOM-u i njegovog upućivanja do CT pretrage i pregleda specijalista pulmološke onkologije, tj. vrijeme od sumnje do definitivno postavljene dijagnoze.

Definitivna dijagnostika maligne bolesti je histološka ili citološka, a uzorak tkiva uzima se prilikom bronkoskopije. Potrebno je vizualizirati cijelo bronhalno stablo, obratiti pažnju na tvorbe koje prominiraju u lumen ili ga komprimiraju izvana te na promjene na sluznici duž traheobronhalnog stabla (23).

1.8. PREVENCIJA I PROBIR

Nakon prestanka pušenja, relativni rizik od razvoja karcinoma pluća opada. Međutim, bivši pušači su i dalje pod povišenim rizikom u odnosu na one koji nikad nisu pušili (18). Neobično je važno stoga utjecati na rizične skupine koje eksperimentiraju s cigaretama- populaciju osnovnoškolske i srednjoškolske djece, kao i njihove roditelje s ciljem ne stjecanja navike pušenja. Kroz medije, javnozdravstvene akcije i različita savjetovanja također je od iznimne važnosti podsjećati opću populaciju na štetan utjecaj konzumiranja duhanskih proizvoda, kao i aktivno poticati prestanak pušenja.

Otkriveno je kako se NSCLC nastao u bivših pušača bitno razlikuje od karcinoma pluća nemalih stanica u onih koji aktivno puše ili pak nepušača. U usporedbi sa skupinom aktualnih konzumenata duhanskih proizvoda, bivše pušače karakterizira starija dob prilikom postavljanja dijagnoze- 64.3 godine u odnosu na 59.9 godina; $P < 0.001$. Nadalje, u bivših je pušača malignitet otkriven u ranijim fazama bolesti prema TNM- sustavu. U stadiju I otkriveno je 47.9%, dok u pušača taj udio iznosi 39.5%. U promatranoj skupini koja je prestala pušiti našlo se manje solidne predominacije u adenokarcinomu- 16.2%, naspram 29.5% u pušača; $P = 0.005$. Što se tiče mutacija, više je promjena na EGFR-u zabilježeno u karcinomima bivših pušača, čak 12.5%, ali manje KRAS mutacija. Nisu zabilježene statistički značajne razlike u preživljenju između bivših pušača i promatrane populacije trenutno aktivnih konzumenata cigareta. Dokazi, dakle, upućuju da bivši pušači u nastalom NSCLC-u imaju karakteristična kliničko- patološka obilježja, onkogene pokretače i povećan udio određenih mutacija (40). Nepobitna je pozitivna korelacija prestanka konzumiranja duhanskih proizvoda i posljedične bolje prognoze u odnosu na aktualne pušače.

Najveće i najpotpunije dokaze da probir asimptomatske populacije CXR-om ne smanjuje smrtnost od karcinoma pluća pružilo je Američko probirno ispitivanje prostate, pluća, kolorektuma i jajnika (PLCO). Nacionalni probir za karcinom pluća (engl. *National Lung Cancer Screening Trial*, NLST) pokazao je 20% smanjenje smrtnosti od raka pluća provedenom godišnjom pretragom LDCT-om kod asimptomatske visoko rizične populacije. The US Preventative Task Force (USPSTF) od tada preporučuje godišnji probir LDCT-om za one u dobi od 55 do 80 godina koji imaju 30 p/y i koji su sada pušači ili puše u posljednjih 15 godina. Provedba probira u SAD-u, međutim, nije na očekivanoj razini, vjerojatno radi neadekvatne koordinacije vlasti i zdravstvenog sustava (14). Europska unija i UK oslanjaju se objavu konačnih rezultata iz nizozemsko-belgijskog testiranja NELSON. Ti su rezultati predstavljeni na Svjetskoj konferenciji Međunarodnog udruženja za proučavanje raka pluća (IASLC) o raku pluća (WCLC) 2018. u Torontu, a pokazali su značajno smanjenje smrtnosti u pregledavanoj muškoj populaciji. Došlo je i do većeg smanjenja smrtnosti u promatranoj skupini ženskog spola, ali ta je populacija bila manja i razlika nije dosegla statistički značaj (41).

Prilikom LDCT probira moraju se odmjeriti potencijalne štetnosti s korisnostima pretrage. Negativna strana uključuje pojačanu izloženost ionizirajućem zračenju, činjenicu da je pretraga relativno invazivna i otkrivanje benignih promjena koje, i da nisu bile otkrivene, ne bi utjecale na zdravlje pregledanog, dok ovakovo saznanje izaziva nelagodu i stres. Navedene se štetnosti umanjuju programima probira ciljanim na populaciju koja je pod najvećim rizikom od razvijenog maligniteta na plućima (42).

Analiza američke baze podataka Nadzor, epidemiologija i krajnji rezultati (engl. *Surveillance, Epidemiology and End Results*, SEER) pokazala je da bi tek nešto manje od 30% bolesnika s karcinomom pluća u SAD-u imalo pravo na LDCT probir po NLST kriterijima. Značajan udio pacijenata koji boluju od karcinoma pluća neće imati pravo na probir LDCT-om. Isto će tako, među onima koji ispunjavaju uvjete, pojedinci odlučiti ne podvrgnuti se pregledu. Postoji i mogućnost razvoja karcinoma pluća između godišnjeg LDCT probira, tzv. intervalni karcinom (43). Prema potonjim činjenicama, izgledno je da će većina karcinoma pluća i dalje biti dijagnosticirana temeljem odgovarajuće simptomatologije u bolesnika, anamneze i kliničkog statusa dobivenih iz ordinacije LOM-a te daljnjim ordiniranjem pretraga i upućivanja.

2. IMUNOTERAPIJA

Strategija liječenja uznapredovalog karcinoma pluća nemalih stanica razvila se od upotrebe empirijske kemoterapije ka personaliziranom pristupu zasnovanom na histologiji i molekularnim specifičnostima. Genske mutacije u receptorima, odnosno protein-kinazama koje rezultiraju nekontroliranim rastom, proliferacijom i preživljavanjem tumora nazivaju se onkogene *driver*-mutacije (iz engl. *driver*-pokretač). Nađene su u 60% plućnih adenokarcinoma i čak do 80% karcinoma skvamoznih stanica. Imunoterapija cilja na produkte tih genskih mutacija (44). Imunološki sustav domaćina prepoznaje stanice karcinoma kao organizmu strane, a imunoterapija potiče inhibiciju koja onemogućava rast i širenje bolesti. Dolazi u obliku receptorskih monoklonalnih protutijela (engl. *monoclonal Antibody*, mAb) ili tirozin-kinaznih inhibitora (TKI). Najčešće su mete mutacije receptora za epidermalni faktor rasta (EGFR) i anaplastične limfom-kinaze (ALK), a pokazale su se iznimno korisnim u liječenju i obuzdavanju viših stadija NSCLC-a. Imunomodulatorna mAb- nivolumab i pembrolizumab, u 2015. g. bili su prva imunoterapijska sredstva koja je američka Uprava za hranu i lijekove (*Food and Drug Administration*, FDA) odobrila za terapiju uznapredovalog NSCLC-a (45).

2.1. MONOKLONSKA ANTITIJELA

Koncept terapije monoklonskim antitijelima uveden je nakon identifikacije mutacija specifičnih za tumorske stanice u NSCLC. Antitijela se sastoje od potpuno humanih ili kimeričnih miš/čovjek fragmenata. Djeluju ili neizravno, vežući se na specifične tumorske antigene pa pokreću o antitijelima ovisnu staničnu citotoksičnost (engl. *Antibody Dependent Cell Cytotoxicity*, ADCC) ili direktno, vežući se za ciljani receptor pa blokiraju njegovu funkciju (46, 47). Princip temeljen na regulaciji imunološke kontrolne točke (engl. *checkpoint blockade*) tj. blokiranju inhibitornih kostimulacijskih molekula u kliničkoj se praksi pokazao najdjelotvornijim (48). Imunotoksična terapija, treći oblik liječenja koji se temelji na antitijelima, koristi antitijela za vezanje jakih toksina u citosol stanice raka što rezultira staničnom smrću (49).

2.1.1. KOMPETITIVNA INHIBICIJA

2.1.1.1. EGFR- ANTITIJELO

Nekoliko mAb koja se kompetitivno natječu za receptor epidermalnog faktora rasta (EGFR) koriste se u kliničkoj praksi. Blokiraju njegovo mjesto interakcije s epidermalnim faktorom rasta (EGF). Receptor je zatim internaliziran i učinkovito je inhibiran aberantni signal za rast tumora. Cetuksimab (Erbix), anti-EGFR antitijelo, pokazao je neznatne koristi kada se koristi u kombinaciji s kemoterapijom kao tretman prve linije za uznapredovali NSCLC (50). Necitumumab (IMC-11 F8) antitijelo je slično strukturi cetuksimaba, ali bez mišjih komponenata. Procjenjivano je u 2 klinička ispitivanja faze III za NSCLC. Rezultati iz prvog pokusa, tj. kombinacije s kemoterapijom kao tretman prvog reda za skvamozni NSCLC u stadiju IV, pokazali su značajno poboljšanje ukupnog preživljenja (eng. *overall survival*, OS) u usporedbi s kemoterapijom zasebno. Primjena na neskvamozni karcinom nije bila obećavajuća (51).

2.1.1.2. VEGFR- ANTITIJELO

Drugi mehanizam koji je uključen u rast, preživljavanje i ekspanziju tumora je vaskularni endotelni faktor rasta (engl. *Vascular Endothelial Growth Factor*, VEGF). Zajedno sa svojim receptorom (VEGFR), VEGF održava tumorsku masu živom stvaranjem novih krvnih žila. Tom neoangiogenezom potiče invaziju tumora i metastaziranje čineći VEGFR potencijalnom metom za mAb terapiju (52).

Najviše proučavani mAb koji se trenutno koristi je bevacizumab (Avastin) (52). Ispitivanje Eastern Cooperative Oncology Group 4599 pokazalo je značajnu korist u preživljenju kombinacijom paklitaksel- karboplatin- bevacizumab u odnosu na paklitaksel- karboplatin u bolesnika s rekurentnim ili uznapredovalim NSCLC (53). Temeljem tih rezultata, bevacizumab je odobren za prvu liniju liječenja odabranih pacijenata. Drugo ispitivanje faze III nazvanom AVAiL (engl. *AVAstin in Lung study*), gdje je dodavan bevacizumab u malim i visokim dozama kemoterapiji cisplatin- gemcitabin, rezultiralo je značajnim poboljšanjem preživljenja bez progresije (engl. *progression-free survival*, PFS)- 6.5 kombiniranom terapijom u odnosu na 6.1 mjesec liječenja isključivo kemoterapeuticima (54). Iako je zabilježen povećan rizik od plućne hemoragije u bolesnika sa skvamoznim NSCLC, donesen je zaključak kako je potrebno izraditi

neovisnu procjenu rizika i koristi jer nisu potvrđeni jasni biološki razlozi za pojačano krvarenje povezano s liječenjem (45).

Ramucirumab (IMC-1121B, CYRAMZA) potpuno je humano mAb koje veže izvanstanični dio VEGFR, blokirajući tako njegovu interakciju s VEGF-om. Studija koja je ispitivala ramucirumab s docetakselom naspram placeba i docetaksela za drugu liniju liječenja progresivnog stadija IV NSCLC-a pokazala je porast medijana OS- 10.5 naspram 9.1 mjesec; $P = 0.023$, kao i PFS- 4.5 prema 3.0 mjeseca; $P < 0.0001$ (55).

2.1.1.3. MET- ANTITIJELO

Prekomjerna ekspresija MET receptora (c-MET), tirozin kinaze koja je uključena u staničnu proliferaciju, preživljavanje i invaziju, dokazana je u čak 40% NSCLC-a (56). Monoklonska antitijela koja ciljaju ovaj signalni put, onartuzumab (MetMab) i fikatuzumab u fazi su razvitka. Dok onartuzumab vezanjem inhibira MET receptor, fikatuzumab, cilja cMET ligand da spriječi vezivanje i blokira signalni put (57).

2.1.2. BLOKADA KONTROLNE TOČKE

Za razliku od direktnog učinka kompetitivne inhibicije, blokada imunoloških kontrolnih točaka (engl. *checkpoint blockade*) koristi antitijela za blokiranje inhibicijskih signalnih puteva, poput CTLA-4 i PD/ PD- L1 (58).

2.1.2.1. CTLA- 4 INHIBICIJA

CTLA- 4 (engl. *Cytotoxic T-lymphocyte antigen- 4*) homodimerni je glikoproteinski receptor eksprimiran na aktiviranim T- limfocitima i regulatornim T- stanicama (Treg) i spada u kostimulacijske molekule. Veže se uz CD28 molekulu za B7 (CD80 / CD86) izraženu na predočnim stanicama (engl. *Antigen Presenting Cell, APC*) i pokreće direktan inhibitorni signal. U APC spadaju B- limfociti, dendritičke stanice i makrofagi (47). Antitijena na CTLA- 4 blokiraju inhibiciju izazvanu CD 28-B7 vezom i promoviraju antitumorsku aktivnost. Blokada CTLA-4 povećava i subpopulaciju CD4 + T- limfocita koje infiltriraju tumor. Antitijela protiv

CTLA-4 bila su među prvim sredstvima za blokadu kontrolnih točaka koja su klinički testirana (59).

Tremelimumab i ipilimumab trenutno se ispituju na karcinomu pluća i mezoteliomu.

Tremelimumab (CP-675 206) je humani IgG2 mAb, a ipilimumab (MDX-010, YERVOY) je humani IgG. Druga faza kliničkog ispitivanja paklitaksela i karboplatina s ili bez ipilimumaba u fazi IV NSCLC-a pokazala je poboljšanje PFS i OS s ipilimumabom, kada je ipilimumab davan nakon kemoterapije. Tremelimumab nije pokazao značajnije poboljšanje PFS-a. Preživljenje bez progresije i ukupno preživljenje bolje je kod karcinoma skvamoznih stanica pa su brojne kliničke studije ispitivale dalje kombinaciju ipilimumaba s EGFR ili ALK tirozin- kinaznim inhibitorima u bolesnika s NSCLC (60).

Međutim, velika negativna strana CTLA-4 inhibicije je pojava tzv. autoimune toksičnosti zbog prekomjerne aktivacije T- limfocita. Među najučestalijim odgovorima na pojačanu dezinhibiciju T- limfocita su anemija, kolitis, poremećaj transaminaza, hipofizitis i umor, a najčešće su se pojavljivale kod bolesnika koji su primali ipilimumab (58).

2.1.2.2. PD-1INHIBICIJA

Receptor programirane stanične smrti- 1 (engl. *Programmed cell Death protein 1*, PD-1), isto kao CTLA-4, član je B7-CD28 superobitelji membranskih bjelančevina. Ekspimiran je na NK-stanicama (engl. *Natural Killer*, NK) i aktiviranim T i B stanicama, a veže se ili na PD-L1 (B7-H1) ili na PD-L2 (B7-DC). Vezanje PD-1 sa njegovim ligandom inhibira transkripciju NF- κ B i staničnu proliferaciju (47).

Nivolumab je humano IgG4 PD-1 receptorsko blokirajuće antitijelo bez ADCC aktivnosti. FDA ga je odobrilo za drugu liniju liječenja rezistentnog skvamoznog NSCLC. Nuspojave povezane s liječenjem uključuju umor, pneumonitis i proljev, a pojavile su se u 3–4% bolesnika. 17% (22 od 129) liječenih pacijenata pokazalo je srednje trajanje odgovora na terapiju od 17 mjeseci, a slično su odreagirali pacijenti sa skvamoznom i neskvamoznom NSCLC (61).

Pembrolizumab je mAb koje je, osim što ima značajno antitumorsko djelovanje u melanomu, pokazalo i objektivnu stopu odgovora od 19.4% u skupini od 495 bolesnika s uznapredovalim

NSCLC, dakle bolji odgovor od nivolumaba. Prijavljene nuspojave uključuju povišenje transaminaze, anemiju, kolitis i osip. Klinička ispitivanja koja su u tijeku procjenjuju pembrolizumab u kombinaciji s kemoterapeuticima kao obećavajuću strategiju liječenja uznapredovalih stadija NSCLC (62).

2.1.2.3. PD-L1 INHIBICIJA

PD-L1 (B7-H1) molekula eksprimira je na APC, T i B- stanicama. To je ligand za PD-1 uključen u inhibicijsku signalizaciju T-stanica koji smanjuje proizvodnju citokina i koči staničnu proliferaciju. Ekspresija PD- L1 u korelaciji je s lošom prognozom za nekoliko malignih oboljenja, uključujući NSCLC, no to znači i da ima više veznih mjesta za lijek. Učinkovitost nekoliko anti-PD-L1 antitijela (MPDL3280A, MEDI4736 i BMS-936559) trenutno se ispituje u oboljelih od karcinomu pluća (63).

MPDL3280A je ljudsko anti-PD-L1 mAb koji sadrži moduliranu Fc- domenu dizajniranu za minimiziranje ADCC učinka. Studija koja je uspoređivala MPDL3280A s docetakselom stratificirala je ispitanike prema razinama ekspresije PD-L 1 te dala dobre rezultate iz faze II- porast PFS-a (9.7 naspram 3.9 mjeseci) za bolesnike s visokom razinom PD-L1 ekspresije (64).

MEDI4736 je ljudsko IgG1 mAb također osmišljeno da spriječi ADCC. Blokira vezanje PD-L1 za PD-1 i CD-80, a trenutno se procjenjuje u kliničkim ispitivanjima za uporabu protiv lokalno uznapredovalog i metastatskog NSCLC te u kombiniranoj terapiji s tremelimumabom. Primjenjujući ovu terapiju blokade kontrolnih točaka, endokrine nuspojave prijavljivane su s incidencijom od 22% za tiroiditis / hipotireozu i 9% za hipofizitis (65).

2.1.2.4. IDO- INHIBICIJA

Indoksimid je metilirani triptofan s inhibicijskim djelovanjem na imunološku kontrolnu točku IDO- enzim indoleamin 2,3-dioksigenazu. Taj enzim razgrađuje esencijalnu aminokiselinu triptofan. Može povećati ili održati razinu triptofana važnu za funkciju T stanica. Deplecija triptofana povezana je s anergijom T- stanica. Indoksimid je u fazi ispitivanja (58, 66).

2.1.3. IMUNOTOKSINSKA TERAPIJA

Antitumorska imunotoksinska terapija koristi antitijelo ili mutirani receptor faktora rasta povezan s moćnim toksinima poput pseudomonasnog egzotoksina A ili biljnog otrova ricina.

Imunotoksinski kompleks vezuje se za površinu i endocitozom ulazi u tumorsku stanicu. Kada se nađe u citosolu, toksin može inhibirati sintezu proteina i zaustaviti stanični ciklus, što rezultira staničnom smrću čak i u stanicama koje su u fazi mirovanja (49).

Imunotoksinska terapija koja se pokazala obećavajuća u liječenju solidnih tumora je SS1P-rekombinantni imunotoksin usmjeren protiv mezotelina, dok su ostale varijante bolje djelovale protiv hematoloških malignih oboljenja. Mezotelin je antigen stanične površine koji je prekomjerno eksprimiran u adenokarcinomu pluća i veže kompleks pseudomonasnog egzotoksina A. Ova terapija pokazala je za sad obećavajuće rezultate za zloćudni pleuralni mezoteliom (80% prekomjerno izražava mezotelin na površini), ali ne i za NSCLC (67).

2.2. ANTITUMORSKO CJEPIVO

Imunoterapija koja uključuje cjepiva protiv raka ima za cilj povećanje ili stvaranje prirodnog ili adoptivnog antitumorskog imunološkog odgovora. Rabi biološki aktivne pripravke cijelih stanica ili specifičnog proteinskog antigena. Antitumorska se cjepiva, dakle, daju pacijentima u kombinaciji s neaktivnim patogenom ili nespecifičnim imunološkim stimulansom za povećanje imunološke reaktivnosti. Dani supstrat zatim obradi APC, predstavi na svojoj površini te se aktiviraju B i T-limfocitni efektori (58).

2.2.1. CJELOSTANIČNO CJEPIVO

Belagenpumatucel-L (Lucanix) cjepivo sačinjeno je od cjelovitih stanica i proizvedeno iz ozračenih alogenskih staničnih linija NSCLC-a transfektiranih TGF- β 2 (engl. *Transforming Growth Factor- β 2*) plazmidom. TGF- β 2 djeluje imunosupresivno i korelira s lošom prognozom

u bolesnika s NSCLC. Ovo cjepivo nije pokazalo napredak u OS- u i više nije u kliničkom razvoju (58, 68).

Tergenpumatucel-L je još jedno cjelostanično cjepivo koje je u fazi ispitivanja. Razvijeno je iz tri alogenske linije tumorskih stanica pluća. Stanice su genetski su modificirane da eksprimiraju ugljikohidratnu α -galaktoziltransferazu, snažni imunogeni enzim koji je odgovoran za hiperakutno odbacivanje. Ispitivanja u kombinaciji s indoksimodom su u tijeku (58).

Viagenpumatucel- L cjepivo u kliničkom je ispitivanju, dok je novo DPV-001 u fazi pretkliničkog ispitivanja (58).

2.2.2. CILJNO SPECIFIČNO CJEPIVO

Imunoterapijsko cjepivo MAGE-A3 cilja antigen povezan s melanomom (engl. *melanoma-associated antigen-A3*, MAGE-A3), a izražen je u 35–50% NSCLC-a. Rezultati kliničke studije faze II ne pokazuju statistički značajno poboljšanje (69).

Tecemotid (Stimuvax, L-BLP25) je antigen specifično cjepivo koje cilja glikoprotein mucin-1 (MUC-1). Pokazalo se da izaziva jak imunološki odgovor protiv karcinoma pluća u pretkliničkim studijama, međutim u kliničkom ispitivanju produžilo je životni vijek za svega 3 mjeseca naspram placebo (70).

TG4010 cjepivo nastalo je iz modificiranog Vaccinia virusa, a sadrži sekvencu koja kodira za MUC-1 i IL-2. Rezultati ispitivanja iz faze IIB pokazali su porast PFS-a od 6 mjeseci u 148 bolesnika s uznapredovalim NSCLC-om i ekspresijom MUC-1 koji su primali kombinaciju TG4010 i cisplatina- gemcitabina u usporedbi sa samom kemoterapijom (43.2 prema 35.1%) (71).

Clinical Setting	Drug vs Control Target (STUDY NAME)	Total Accrual	Trial Accrual Period	Primary Endpoint in Months (vs Control)	Vaccine Route of Administration/ Schedule
STAGE IB-III A					
ADJUVANT	GSK1572932A vs placebo MAGE-A3 (MAGRIT)	Phase 3 N=2272	2007–2012	DFS: 60.5 vs 57.9 (p=0.74)	IM (q3 weeks x 5, q 12 weeks x 8)
UNRESECTABLE STAGE III					
POST-CHEMORT	Tecemotide (L-BLP25) vs placebo MUC1 (START)	Phase 3 N=1239	2007–2011	OS: 25.6 vs 22.3 (p=0.123)	Subcutaneous (Cyclophosphamide -3, then q week x 8, q 6 weeks until progression)
POST-CONCURRENT CHEMORT	Tecemotide (L-BLP25) vs placebo MUC1 (START2)	Phase 3 N=32 (~ 1000)	April to September 2014	Early termination due to fertility	Subcutaneous (Cyclophosphamide -3, then q week x 8, q 6 weeks until progression)
STAGE IV					
FIRST-LINE COMBINATION WITH CHEMO	TG4010 vs placebo MUC1-IL12 (TIME)	Phase 2b N=222	2012–2014	PFS: 5.9 vs 5.1 (1- sided α p=0.019) Exploratory OS: (nonsquamous): 14.6 vs 10.8 (p=0.03) (Low TrPAL): 13 vs 10.4 (p=0.018)	Subcutaneous q week x 6, q 3 weeks until progression
MAINTENANCE AFTER FIRST-LINE CHEMO	Belagenpumatucel vs placebo Shared tumor antigens (STOP)	Phase 3 N=532	2008–2012	OS: 20.3 vs 17.8 (p=0.594)	Intradermal monthly x 18 + two quarterly doses
	CIMAvax-EGF vs best supportive care EGF	Phase 3 N=405	2006–2012	OS (safety population): 10.8 vs 8.9 (p=0.1) OS (per-protocol): 12.4 vs 9.4 (p=0.036)	IM (Cyclophosphamide -3, Q 2 weeks x 4, monthly until progression)
	Racotumomab* vs placebo NeuGcGM3	176 1082	2006–2010 2010–2016	OS: 8.23 vs 6.8 (p=0.004)	Intradermal q 2 weeks x 5, q 4 weeks x 10 doses

Slika 4. Objedinjeni rezultati randomiziranih studija- primjena antitumorskih cjepiva u NSCLC. Preuzeto iz Immune Checkpoint Inhibitors in Cancer, 2019 (58).

2.4. ADOPTIVNA STANIČNA TERAPIJA

Adoptivna stanična terapija (engl. *Adoptive Cell Therapy*, ACT) uključuje: prikupljanje imunoloških stanica iz periferne krvi ili samog tumora; izolaciju, modifikaciju i *ex vivo* ekspanziju imunoloških stanica specifičnih za tumor; vraćanje obrađenih imunoloških stanica autolognom domaćinu. Takva stanična terapija definira imunološke stanice specifične za tumorske antigene i nudi posebnu prednost u odnosu na ostalu imunoterapiju jer ima sposobnost infiltracije u tumor. Progresivna *ex vivo* ekspanzija specifičnih linija T-stanica može se postići primjenom visokih doza interleukina- 2 (IL-2). Stvorena antitumorska populacija dovodi do

izravnog citotoksičnog učinka. Novija istraživanja genetičkog inženjeringa usmjerena su kimeričnim antigenskim receptorima (engl. *Chimeric Antigen Receptor, CAR*) na površini T-stanice (45, 58).

2.4.1. NK- STANIČNA TERAPIJA

Prirodne NK stanice su limfociti CD3-CD56 + koji mogu ubiti određene ciljane stanice izlučivanjem citoplazmatskih granula koje sadrže perforin i granzime te aktiviranjem apoptoze (47). Terapija koja se temelji na stanicama ubojicama koristi ekspanzirane autologne ili alogene NK stanice za liječenje raka. U bolesnika s uznapredovalim NSCLC-om, ispitana je moguća klinička učinkovitost NK stanica kombinirana s kemoterapijom- 15 pacijenata primilo je 2- 4 doze NK-stanica koje aktiviraju alogene. Nisu primijećene lokalne ili sistemske nuspojave. Značajnih 56% bolesnika imalo je stopu preživljenja od jedne godine, dok je 19% imalo dvogodišnju stopu preživljenja (72). NK i citotoksični T- imfocitni miješani efektori (NKTm) produljili su OS pacijenata u usporedbi s kontrolnom skupinom na 31.1 prema 18.1 mjesec; P = 0.008 i povećali dvogodišnju stopa preživljenja (73).

2.4.2. TERAPIJA $\gamma\delta$ T-STANICAMA

$\gamma\delta$ T- stanice razlikuju se od većine T stanica ($\alpha\beta$) po tome što nisu ograničene MHC (engl. *Major Histocompatibility Complex*) molekulama i prepoznaju strukturno različite ligande. Mogu obilno lučiti citokine, napraviti tzv. citokinsku oluju i usmjeriti snažnu citotoksičnost prema stanicama raka (47).

2.4.3. CIK- STANIČNA TERAPIJA

Citokin-inducirane ubojice (engl. *Cytokine Induced Killer, CIK*) heterogena su populacija efektorskih CD8+ T-stanica s varijantnim T-staničnim receptorima. CIK- stanice nastaju *in vitro* ekspanzijom limfocita periferne krvi inducirane anti-CD3 antitijelima i IL-2. Prednosti CIK stanica su u tome što se one brzo razmnožavaju i pokazuju visoku citotoksičnost. Studija koja je istraživala ulogu liječenja dendritičkim CIK- stanicama u bolesnika s uznapredovalim NSCLC-om pokazala je produljenje PFS-a u usporedbi s kontrolnom skupinom (3.2 prema 2.6 mjeseci; P<0.05) i nije pronađena očigledna toksičnost (74). Drugo kliničko ispitivanje istraživalo je djelotvornost CIK stanične terapije nakon kemoterapije u bolesnika s NSCLC postoperativno.

Trogodišnja stopa OS-a pokazala je 82% prema 66%; $P = 0.049$ u skupini koja je liječena kombiniranom terapijom CIK-om u usporedbi sa samom kemoterapijom. Značajno višim pokazao se i medijan vremena OS-a, 73 prema 53 mjeseci; $P = 0.006$. Liječenje kemoterapijom i CIK- stanicama produžilo je trogodišnji PFS u usporedbi s kontrolnom skupinom s 3 na značajnih 6%; $P < 0.001$ (75).

2.4.4. KIMERIČNI ANTIGENSKI RECEPTOR

Iako se genskim preusmjerenjem T- staničnih receptora mogu otkriti i površinski i intracelularni antigeni, TCR (engl. *T- Cell Receptor*) su ograničeni specifičnošću MHC- a, stoga su novi kimerični receptori u fokusu proučavanja. CAR se receptori sastoje od ekstracelularne jednolančane domene koja veže antigen (scFv domena), transmembranskog dijela pravljelog od CD8+ ili IgG4 fragmenta i citoplazmatske domene koja je odgovorna za preživljavanje i proliferaciju. Iako receptor podsjeća na TCR, bitna sintetički stvorena prednost CAR-a jest da scFv domena premošćuje MHC molekulu suprimiranu od strane tumora. CAR-modificirane T- stanice pokazale su kliničku učinkovitost u bolesnika s hematološkim malignitetima, a intenzivno se radi na postojanosti CAR T- stanica u solidnom tumoru. Nove strateške modifikacije uključuju tandemske CAR koji veže dva odvojena antigena, poticanje kaskadne stimulacije vezanih receptora i inkluziju inducibilnih „samoubilačkih“ gena u T- stanice (58).

3. ZAKLJUČAK

Očekuje se značajno produljenje života u bolesnika liječenih imunoterapijom. Tek se nagađa hoće li učinak u bliskoj budućnosti biti statistički značajan i nakon pet godina. Prema kliničkim ispitivanjima, očekuje se veća efektivnost nego kod tradicionalnih oblika terapija (76).

Principi imunoterapije još se susreću sa značajnim ograničenjima.

Izazov je, za terapiju inhibitorima kontrolne točke, definiranje povoljnog terapijskog indeksa koji optimalno balansira između efektivnog antitumorskog učinka i autoimunosne reakcije organizma (48).

Prilikom budućeg liječenja imunotoksinima, toksičnost izvan cilja treba biti svedena na minimum, efikasnim se imunosupresivnim režimima pospješiti tolerancija na imunotoksin te istovremeno spriječiti neterapeutski imunološki odgovor (49).

Ograničenja terapije antitumorskim cjepivima su nedostatak snažne ekspresije ciljnih antigena i oslanjanje na urođenu imunost u borbi protiv imunosupresivnog dominantnog mikrookoliša NSCLC-a (68).

Odabir adekvatnih kandidata, tj. bolesnika koji će imati najviše koristi od imunoterapije pravi se na osnovi postojećih kliničkih parametara, stupnja proširenosti bolesti i učinka dosadašnje terapije. Imunološko je liječenje optimalna druga linija liječenja u bolesnika koji nemaju brojivu kontraindikaciju. U slučaju bolesnika koji imaju visok udio specifičnog biomarkera- zastupljeniji u više od 50% tumorskih stanica- imunoterapija je opravdana u prvoj liniji liječenja. Iznimno je važno za ciljanu terapiju i imunoterapiju krenuti s učinkovitijim liječenjem od početka, nego čekati kasniju liniju liječenja jer u pravilu 50% bolesnika izgubi život između faza liječenja (76). Operativna, radio i kemoterapija neznatno su pridonijele liječenju uznapredovalih stadija NSCLC-a, stoga budućnost izlječenja i zalječenja leži u strjelovitom napretku u molekularnoj medicini i uvođenju sve više ciljanih bioloških lijekova (46).

Svaki tumor ima drugačiju genetsku građu i drugačije biološko ponašanje pa se, zaključno, ne mogu tretirati na jednak način. Personalizirana medicina temeljena na genetici i molekularnoj dijagnostici danas je, u liječenju NSCLC-a, stvarnost (76).

4. LITERATURA

1. Ralston SH. Tumors of the bronchus and lung. U: Davidson's Principles and Practice of Medicine. 23.izdanje. St.Louis: Elsevier; 2018.
2. Vrdoljak E, Belac Lovasić I, Kusić Z. Klinička onkologija. 3.izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2018.
3. InOncology. [Internet] 2020.;<https://www.inoncology.com/> [Citirano 28. travanj 2020.] Dostupno na: <https://www.inoncology.com/tumour-types/nsclc>
4. National cancer institute. [Internet] Non-Small Cell Lung Cancer Treatment (PDQ®)–Health Professional Version 2020.;<https://www.cancer.gov/> [Citirano 2. svibanj 2020.] Dostupno na: https://www.cancer.gov/types/lung/hp/non-small-cell-lung-treatment-pdq#_359
5. Schiller JH, Harrington D, Belani CP, Langer C, Sandler A, Krook J, et al. Eastern cooperative oncology group. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer. N Engl J Med. 2002;346(2):92-8.
6. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013. <http://globocan.iarc.fr>. [Citirano 2. svibanj 2020.]
7. Copeman PW, Cowell TK, Dallas NL. Lung cancer and smoking. Lancet 1964; 18: 1374-5.
8. Beasley MB, Brambilla E, Travis WD. The 2004 World Health Organization classification of lung tumors. Semin Roentgenol. 2005;40(2):90-97
9. Heijnen ML, Coebergh JW. The changing epidemiology of lung cancer in Europe. Lung Cancer. 2003;41(3):245-258
10. American Cancer Society. [Internet] Cancer Facts & Figures 2020. Atlanta: American Cancer Society; 2020. <https://www.cancer.org/> [Citirano 8. svibanj 2020.] Dostupno na: <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/annual-cancer-facts-and-figures/2020/cancer-facts-and-figures-2020.pdf>

11. Lung cancer Europe. [Internet] Challenges in lung cancer in Europe 2016.
<https://www.lungcancereurope.eu/> [Citirano 10. svibanj 2020.] Dostupno na: <https://www.lungcancereurope.eu/wp-content/uploads/2017/10/LuCE-Report-final.pdf>
12. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. [Internet] *Registar za rak Republike Hrvatske 2020*.
<https://www.hzjz.hr/> [Citirano 14. svibanj 2020.] Dostupno na: <https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2017/01/Bilten-2017-final.pdf>
13. American Institute of Cancer Research. [Internet] Lung cancer statistics; Lung cancer is the most common cancer worldwide.
<https://www.wcrf.org/> [Citirano 25. svibanj 2020.] Dostupno na: <https://www.wcrf.org/dietandcancer/cancer-trends/lung-cancer-statistics>
14. Bradley SH, Kennedy MPT, Neal RD. Recognising Lung Cancer in Primary Care [published correction appears in *Adv Ther.* 2020 Apr;37(4):1701]. *Adv Ther.* 2019;36(1):19-30.
15. World Health Organization. [Internet] WHO Report on the global tobacco epidemic 2008. <https://www.who.int/> [Citirano 1. lipanj 2020.] Dostupno na: https://www.who.int/tobacco/mpower/mpower_report_full_2008.pdf
16. Brown KF, Rungay H, Dunlop C, Ryan M, Quartly F, Cox Ai sur. The fraction of cancer attributable to modifiable risk factors in England, Wales, Scotland, Northern Ireland, and the United Kingdom in 2015. *Br J Cancer.* 2018 Apr; 118(8):1130-1141.
17. Villeneuve PJ, Mao Y. Lifetime probability of developing lung cancer, by smoking status, Canada. *Can J Public Health.* 1994 Nov-Dec;85(6):385-8.
18. Peto J. That the effects of smoking should be measured in pack-years: misconceptions 4. *Br J Cancer.* 2012;107(3):406-407.
19. Doll R, Peto R, Boreham J, Sutherland I. Mortality from cancer in relation to smoking: 50 years observations on British doctors. *Br J Cancer.* 2005 Feb 14; 92(3):426-9.

20. Zavod za javno zdravstvo Dubrovačko-neretvanske županije. [Internet] Pušenje u brojka. <https://www.zzjzdnz.hr/> [Citirano 4. lipanj 2020.] Dostupno na: <https://www.zzjzdnz.hr/hr/zdravlje/pusenje-i-zdravlje/446>
21. Pelosof L, Ahn C, Gao A, Horn L, Madrigales A, Cox J i sur. Proportion of Never-Smoker Non-Small Cell Lung Cancer Patients at Three Diverse Institutions. *J Natl Cancer Inst.* 2017 Jan; 109(7)
22. Mustajbegović J, Milošević M, Brborović B. *Medicina rada i sporta*. Zagreb: Medicinska Naklada; 2018
23. Jakopović M Posljedice disfunkcije inzulinu sličnih čimbenika rasta i njihovih receptora u karcinomu pluća nemalih stanica [disertacija]. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet; 2007
24. Durham AL, Adcock IM. The relationship between COPD and lung cancer. *Lung Cancer.* 2015; 90(2):121-7.
25. Solomon BJ, Mok T, Kim DW, Wu YL, Nakagawa K, Mekhail T i sur. First-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med.* 2014; 371(23):2167-77.
26. Gomperts BN, Spira A, Massion PP i sur. Evolving concepts in lung carcinogenesis. *Semin Respir Crit Care Med.* 2011;32(1):32-43.
27. Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG i sur. The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances Since the 2004 Classification. *J Thorac Oncol.* 2015;10(9):1243-1260.
28. Zugazagoita J, Enguita A B, Nuñez J A, 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(5):526–S536.
29. World health organization. [Internet] Classification of Tumours. Tumors of the lung, pleura, tymus and heart 2003. IARC Press. [Citirano 7. lipanj 2020.] Dostupno na: <https://patologi.com/who%20lunge.pdf>

- 30.** Mountain CF. Revisions in the International System for Staging Lung Cancer. *Chest*. 1997;111(6):1710-1717.
- 31.** Shim J, Brindle L, Simon M, George S. A systematic review of symptomatic diagnosis of lung cancer. *Fam Pract*. 2014; 31(2):137-48.
- 32.** Hamilton W, Peters TJ, Round A, Sharp D. What are the clinical features of lung cancer before the diagnosis is made? A population based case-control study. *Thorax*. 2005; 60(12):1059-65.
- 33.** Hammerschmidt S, Wirtz H. Lung cancer: current diagnosis and treatment. *Dtsch Arztebl Int*. 2009;106(49):809-820.
- 34.** Anwar A, Jafri F, Ashraf S, Jafri MAS, Fanucchi M. Paraneoplastic syndromes in lung cancer and their management. *Ann Transl Med*. 2019;7(15):359.
- 35.** National Institute for Health and Care Excellence. NICE guideline [NG12]. Suspected cancer: recognition and referral 2015. [Citirano 10. lipanj 2020.]
<https://www.nice.org.uk/guidance/ng12>.
- 36.** Stapley S, Sharp D, Hamilton W. Negative chest X-rays in primary care patients with lung cancer. *Br J Gen Pract*. 2006; 56(529):570-3.
- 37.** Lim WS, Baudouin SV, George RC, et al. BTS guidelines for the management of community acquired pneumonia in adults: update 2009. *Thorax*. 2009;64(Suppl 3):1–55. doi: 10.1136/thx.2009.121434.
- 38.** Larke FJ, Kruger RL, Cagnon CH i sur. Estimated radiation dose associated with low-dose chest CT of average-size participants in the national lung screening trial. *Am J Roentgenol*. 2011;197(5):1165–1169.
- 39.** Lung Clinical Expert Group. National optimal lung cancer pathway. 2017. https://www.cancerresearchuk.org/sites/default/files/national_optimal_lung_pathway_aug_2017.pdf.

40. Zheng S, Wang R, Zhang Y i sur. Former smokers with non-small-cell lung cancers: a comprehensive investigation of clinicopathologic characteristics, oncogenic drivers, and prognosis. *Cancer Med.* 2016;5(8):[2117-2125](#)
41. Xu DM, Gietema H, de Koning H i sur. Nodule management protocol of the NELSON randomised lung cancer screening trial. *Lung Cancer.* 2006;54(2):177–184.
42. Bach PB, Mirkin JN, Oliver TK, et al. Benefits and harms of CT screening for lung cancer: a systematic review. *JAMA.* 2012;307(22):2418–2429
43. Pinsky PF, Berg CD. Applying the National Lung Screening Trial eligibility criteria to the US population: what percent of the population and of incident lung cancers would be covered? *J Med Screen.* 2012;19(3):154–156.
44. Shroff GS, de Groot PM, Papadimitrakopoulou VA, Truong MT, Carter BW. Targeted therapy and Immunotherapy in the Treatment of Non-Small Cell Lung Cancer. *Radiologic Clinics.* 2018;56(3):485-495
45. Mayor M, Yang N, Sterman D, Jones DR, Adusumilli PS. Immunotherapy for non-small cell lung cancer: current concepts and clinical trials. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2016;49(5):1324-1333.
46. Carbone DP, Gandara DR, Antonia SJ, Zielinski C, Paz-Ares L. Non-Small-Cell Lung Cancer: Role of the Immune System and Potential for Immunotherapy. *J Thorac Oncol.* 2015;10(7):974-984.
47. Igor Andreis, Drago Batinić, Filip Čulo, Danka Grčević, Vesna Lukinović-Škudar, Milan Taradi DV. *IMUNOLOGIJA.* 7. izd. Milan Taradi, urednik. Zagreb: Medicinska naklada; 2010. 491; 156-171.
48. Jakopović M i sur. Immunotherapy in the treatment of non-small cell lung cancer. *Libri Oncologici.* 2017;45(2):60-64. Dostupno na:<https://hrcak.srce.hr/192142>.
49. Lynch TJ Jr, Lambert JM, Coral F, Shefner J, Wen P, Blattler WA i sur. Immunotoxin therapy of small-cell lung cancer: a phase I study of N901-blocked ricin. *J Clin Oncol* 1997;15:723–34.

- 50.** Yang ZY, Liu L, Mao C, Wu XY, Huang YF, Hu XF i sur. Chemotherapy with cetuximab versus chemotherapy alone for chemotherapy-naive advanced non-small cell lung cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2014;11: CD009948
- 51.** Thatcher N, Hirsch FR, Luft AV i sur. Necitumumab plus gemcitabine and cisplatin versus gemcitabine and cisplatin alone as first-line therapy in patients with stage IV squamous non-small-cell lung cancer (SQUIRE): an open-label, randomised, controlled phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2015;16(7):763-774.
- 52.** Chaft JE, Rusch V, Ginsberg MS i sur. Phase II trial of neoadjuvant bevacizumab plus chemotherapy and adjuvant bevacizumab in patients with resectable nonsquamous non-small-cell lung cancers. *J Thorac Oncol.* 2013;8(8):1084-1090.
- 53.** Sandler A, Gray R, Perry MC, Brahmer J, Schiller JH, Dowlati A i sur. Paclitaxel-carboplatin alone or with bevacizumab for non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2006;355:2542–50.
- 54.** Reck M, von Pawel J, Zatloukal P, Ramlau R, Gorbounova V, Hirsh V i sur. Phase III trial of cisplatin plus gemcitabine with either placebo or bevacizumab as first-line therapy for nonsquamous non-small-cell lung cancer: AVAIL. *J Clin Oncol* 2009;27:1227–34.
- 55.** Garon EB, Ciuleanu T-E, Arrieta O, Prabhaskar K, Syrigos KN, Goksel T i sur. Ramucirumab plus docetaxel versus placebo plus docetaxel for second-line treatment of stage IV non-small-cell lung cancer after disease progression on platinum-based therapy (REVEL): a multicentre, double-blind, randomised phase 3 trial. *Lancet* 2014;384:665–73.
- 56.** Inami K, Kajino K, Abe M, Hagiwara Y, Maeda M, Suyama M et al. Secretion of N-ERC/mesothelin and expression of C-ERC/mesothelin in human pancreatic ductal carcinoma. *Oncol Rep* 2008;20:1375–80.
- 57.** Gozdzik-Spychalska J, Szyszka-Barth K, Szychalski L, Ramlau K, Wojtowicz J, Batura-Gabryel H i sur. C-MET inhibitors in the treatment of lung cancer. *Curr Treat Options Oncol* 2014;15:670–82.
- 58.** Ito F, Ernstoff M. *Immune Checkpoint Inhibitors in Cancer.* (izdanje?) St.Louis: Elsevier;2019

- 59.** Chen H, Liakou CI, Kamat A, Pettaway C, Ward JF, Tang DN i sur. Anti-CTLA-4 therapy results in higher CD4+ICOS^{hi} T cell frequency and IFN-gamma levels in both nonmalignant and malignant prostate tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:2729–34.
- 60.** Lynch TJ, Bondarenko I, Luft A, Serwatowski P, Barlesi F, Chacko R i sur. Ipilimumab in combination with paclitaxel and carboplatin as first-line treatment in stage IIIB/IV non-small-cell lung cancer: results from a randomized, double-blind, multicenter phase II study. *J Clin Oncol*. 2012;30(17):2046-54.
- 61.** Rizvi NA, Mazières J, Planchard D, Stinchcombe TE, Dy GK, Antonia SJ i sur. Activity and safety of nivolumab, an anti-PD-1 immune checkpoint inhibitor, for patients with advanced, refractory squamous non-small-cell lung cancer (CheckMate 063): a phase 2, single-arm trial. *Lancet Oncol* 2015;16:257–65.
- 62.** Garon EB, Rizvi NA, Hui R, Leighl N, Balmanoukian AS, Eder JP i sur. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2015;372:2018–28.
- 63.** Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC, McDermott DF i sur. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med* 2012;366:2443–54.
- 64.** Spira A, Park K, Mazières J. Efficacy. Safety and predictive biomarker results from a randomized phase II study comparing MPDL3280A vs docetaxel in 2L/3L NSCLC (POPLAR). *J Clin Oncol* 2015;33(15)
- 65.** Rizvi NA, Brahmer JR, Ou SI, Segal NH, Khleif S, Hwu W et al. Safety and clinical activity of MEDI4736, an anti-programmed cell death-ligand 1 (PD-L1) antibody, in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Clin Oncol* 2015;33:abstr 8032.
- 66.** Fox E, Oliver T, Rowe M, et al. Indoximod: An Immunometabolic Adjuvant That Empowers T Cell Activity in Cancer. *Front Oncol*. 2018;8:370.
- 67.** Fan D, Yano S, Shinohara H, Solorzano C, Van Arsdall M, Bucana CD i sur. Targeted therapy against human lung cancer in nude mice by high-affinity recombinant antimesothelin single-chain Fv immunotoxin. *Mol Cancer Ther* 2002;1:595–600.

68. Morgensztern D, Campo MJ, Dahlberg SE, Doebele RC, Garon E, Gerber DE i sur. Molecularly targeted therapies in non-small-cell lung cancer annual update 2014. *J Thorac Oncol* 2015;10:1–63.
69. Vansteenkiste J, Zielinski M, Linder A, Dahabreh J, Gonzalez EE, Malinowski W i sur. Adjuvant MAGE-A3 immunotherapy in resected non-small-cell lung cancer: phase II randomized study results. *J Clin Oncol* 2013;31:2396–403.
70. Butts C, Socinski MA, Mitchell PL, Thatcher N, Havel L, Krzakowski M i sur. Tecemotide (L-BLP25) versus placebo after chemoradiotherapy for stage III non-small-cell lung cancer (START): a randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2014;15:59–68.
71. Quoix E, Ramlau R, Westeel V, Papai Z, Madroszyk A, Riviere A i sur. Therapeutic vaccination with TG4010 and first-line chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer: a controlled phase 2B trial. *Lancet Oncol* 2011;12:1125–33.
72. Iliopoulou EG, Kountourakis P, Karamouzis MV, Doufexis D, Ardavanis A, Baxevanis CN i sur. A phase I trial of adoptive transfer of allogeneic natural killer cells in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2010;59:1781–9.
73. Zhang G, Zhao H, Wu J, Li J, Xiang Y, Wang G i sur. Adoptive immunotherapy for non-small cell lung cancer by NK and cytotoxic T lymphocytes mixed effector cells: retrospective clinical observation. *Int Immunopharmacol* 2014;21:396–405.
74. Shi SB, Ma TH, Li CH, Tang XY. Effect of maintenance therapy with dendritic cells: cytokine-induced killer cells in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Tumori* 2012;98:314–9.
75. Li R, Wang C, Liu L, Du C, Cao S, Yu J i sur. Autologous cytokine-induced killer cell immunotherapy in lung cancer: a phase II clinical study. *Cancer Immunol Immunother* 2012;61:2125–33
76. Bralić D. Prof. dr. sc. Miroslav Samaržija: Borba s rakom pluća – jesmo li pobijedili? Medix [Internet] <https://www.medix.hr/> [Citirano 16. lipanj 2020.] Dostupno na: <https://www.medix.hr/prof-dr-sc-miroslav-samarzija-borba-s-rakom-pluca--jesmo-li-pobijedili>

5. ZAHVALA

Ovaj diplomski rad posvećujem velikim ženama i prijateljicama u svome životu.

Majci Mirici Šargač koja me učila temeljnim životnim vrijednostima i koja je svakoga dana bezuvjetna podrška.

Glumici Ljiljani Bogojević, koja me učila da je život film koji sama režiram, a cijeli svijet pozornica.

Književnici Božici Pažur, koja me učila kako se valjano izraziti i jasno i glasno reći odakle sam.

Kolegici Silvi Šiftar koja me učila beskompromisnom partnerstvu i istinskom prijateljstvu.

Od srca hvala, zbog vas sam to što jesam.

6. ŽIVOTOPIS

Ja sam Valentina Šargač, rođena u Varaždinu 1995. godine. Dolazim iz Breznice, divnog mjesta na sjecištu Varaždinske, Krapinsko- zagorske i Zagrebačke županije. Pohađala sam OŠ Breznički Hum i Drugu gimnaziju Varaždin. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisala sam akademske 2014./2015. godine, a završila 2019./2020.