

# Imunoterapija karcinoma pluća

---

Dželalija, Lucija

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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:105:132307>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-13**



Repository / Repozitorij:

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Lucija Dželalija**

# **Imunoterapija karcinoma pluća**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2021.**

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 2020./2021.

## POPIS ČESTO KORIŠTENIH KRATICA

NSCLC	karcinom pluća nemalih stanica
SCLC	karcinom pluća malih 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.....	2
1.1. UVOD.....	2
1.2. FAKTORI RIZIKA.....	5
1.2.1. PUŠENJE.....	5
1.2.2. GORIVA KOJA SE KORISTE U DOMAĆINSTVU.....	6
1.2.3. KRONIČNE PLUĆNE BOLESTI.....	6
1.2.4. IZLOŽENOST AGENSIMA NA RADNOM MJESTU.....	7
1.2.5. ZAGAĐENJE ZRAKA.....	8
1.2.6. PREHANA.....	8
1.2.7. GENETIČKA PREDISPOZICIJA.....	8
1.3. ETIOLOGIJA I PATOGENEZA.....	10
1.3.1. NE-SITNOSTANIČNI KARCINOM PLUĆA.....	10
1.3.2. SITNOSTANIČNI KARCINOM PLUĆA.....	11
1.3.3. GLAVNI PATOGENETSKI MEHANIZMI.....	11
1.4. KLINIČKA PREZENTACIJA.....	13
1.5. DIJAGNOSTIKA.....	15
1.6. TNM KLSIFIKACIJA.....	16
1.7. PREVENCIJA I PROBIR.....	18
1.8. BIOMARKERI KARCINOMA PLUĆA.....	20
1.8.1. GENOMSKI MARKERI.....	20
1.8.2. IMUNOTERAPIJSKI MARKERI.....	23
2. IMUNOTERAPIJA.....	25
2.1. ANTITUMORSKO CJEPIVO.....	25
2.1.1. CJELOSTANIČNO CJEPIVO.....	26
2.1.2. ANTIGEN SPECIFIČNO CJEPIVO.....	26

2.2.	MONOKLONSKA PROTUTIJELA.....	28
2.2.1.	KOMPETITIVNA INHIBICIJA.....	28
2.2.2.	BLOKADA KONTORLNE TOČKE.....	30
2.2.3.	IMUNOTOKSINSKA TERAPIJA.....	33
2.3.	ADOPTIVNA STANIČNA TERAPIJA .....	34
2.3.1.	NK- STANIČNA TERAPIJA.....	34
2.3.2.	TERAPIJA $\gamma\delta$ -T-STANICAMA.....	34
2.3.3.	CIK- STANIČNA TERAPIJA.....	35
2.3.4.	KIMERIČNI ANTIGENSKI RECEPTOR .....	35
2.4.	IZAZOVI IMUNOTERAPIJE .....	36
3.	ZAKLJUČAK .....	38
4.	REFERENCE.....	40
5.	ZAHVALA .....	50
6.	ŽIVOTOPIS.....	51

# SAŽETAK

## Imunoterapija karcinoma pluća

**Lucija Dželalija**

Karcinom pluća jedna je od vodećih nezaraznih bolesti u svijetu. Glavni je uzrok smrti od karcinoma i procjenjuje se da od nje godišnje umre oko 1 500 000 ljudi. Nastanak karcinoma je uglavnom povezan s pušenjem. Glavni problem ove bolesti je kasno postavljena dijagnoza. Klasična kemoterapija i radioterapija nisu davale željene rezultate u liječenju uznapredovale faze bolesti. One relativno kratko produžuju život oboljelog i ne nude potencijalno zaliječenje i izlječenje. Saznanje da imunološki sustav igra veliku ulogu u kancerogenezi otvara nove opcije u liječenju karcinoma. Ideja ove terapije je poticanje protutumorskih mehanizama i direktno utjecanje na inhibiciju rasta. Imunoterapija se temelji na manipulaciji protutijelima, imunološkim stanicama i ključnim receptorima. Razvijena su i cjepiva koja nisu pokazala zadovoljavajuću učinkovitost. Blokatori kontrolnih točaka pokazuju dobru učinkovitost u liječenju bolesnika s karcinomom pluća koji su ranije liječeni klasičnom kemoterapijom. Adoptivna stanična terapija prikuplja imunološke stanice iz perifrne krvi ili samoga tumora i ex vivo vrši ekspanziju linija specifičnih za tumor. Novija istraživanja genetičkog inženjeringa usmjerena su stvaranju kimeričkih antigenskih receptora (CAR) na površini T-stanica. Prednost sintetički stvorenog CAR-a je u tome jest sposobnost premošćivanja MHC molekule suprimirane od strane tumora. Provode se istraživanja s ciljem razvoja tumorskih biomarkera koji bi se mogli koristiti u procjeni učinkovitosti terapije i kao prediktivni čimbenici. Imunoterapija ima i neka ograničenja kao što su adekvatan odabir pacijenata, autoimuna toksičnost i visoka cijena. Nova 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, inhibitor kontrolne točke, biomarker

# SUMMARY

## Lung Cancer Immunotherapy

Lucija Dželalija

Lung cancer is one of the leading non-infectious diseases in the world. It is the leading cause of death from malignancies with more than 1 500 000 deaths. The onset of lung cancer is mainly related to smoking. The main problem of this disease is its late diagnosis. Classical chemotherapy and radiotherapy didn't give expected results in treatment of progressive disease. They prolong a patient's life for a relatively short amount of time and do not offer complete healing. The knowledge that the immune system plays a major role in cancerogenesis opens up new possibilities for cancer treatment. The idea behind this therapy is to stimulate the antitumor mechanisms and direct inhibition of tumor's growth. The principles of immunotherapy are mostly based on the manipulation of antibodies, immune cells and key receptors. The anti-tumor vaccines have been developed, but they didn't show effective results. Checkpoint blockers have shown good efficiency in the treatment of patients with lung cancer previously treated with classic chemotherapy. Adoptive cell therapy collects immune cells from peripheral blood or the tumor itself and expand 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 its ability to bypass the tumor-suppressed MHC molecule. The main goal of research is development of tumor biomarkers that could be used in evaluation of therapy efficiency and as predictive factors. Immunotherapy has some limitations such as adequate selection of patients, autoimmune toxicity and high price. New insights in field of immunooncology and newly discovered molecular features of the tumor have set the groundwork for perfecting the existing and seeking for the new treatment.

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



# 1. KARCINOM PLUĆA

## 1.1. UVOD

Karcinom pluća maligni je tumor pluća koji se histološki može prezentirati kao karcinom malih stanica-sitnostanični ili karcinom nemalih stanica ne-sitnostanični karcinom. [1], [2]. Karcinom nemalih stanica (engl. *Non-Small Cell Lung Carcinoma*, NSCLC) označava bilo koji tip karcinoma pluća osim karcinoma pluća malih stanica. On čini 85% svih karcinoma pluća. Može se javiti u nekoliko oblika, a najčešći podtipovi su adenokarcinom, karcinom skvamoznih stanica i karcinom nemalih stanica. Postoji još nekoliko vrsta koje se javljaju iznimno rijetko [3]. NSCLC je uglavnom povezan s konzumacijom duhana i duhanskim dimom, ali postoje i drugi uzroci poput onečišćenja zraka, izloženost agensima na radnom mjestu i genetska predispozicija [4]. U pravilu se dijagnosticira kada je već u uznapređovalom stadiju, tako da je pravodoban probir iznimno važan za uspješnost liječenja i povoljan ishod bolesti. Resektabilni tumori se operiraju, dok se neresektabilni liječe kombinacijom kemoterapije i radioterapije. Kod uznapređovale metastatske bolesti terapija izbora za održavanje života i ublažavanje simptoma je kemoterapija te ciljani lijekovi i potporne mjere [5].

Karcinom pluća malih stanica (engl. *Small Cell Lung Carcinoma*, SCLC) čini 15% svih tumora pluća te je njegova incidencija u opadanju [5]. Ovaj tumor karakterizira velik broj genetskih mutacija, što predstavlja problem pri odabiru optimalnog terapijskog odgovora. Dobro odgovara na liječenje kemoterapijom i radioterapijom [5]. Uz SCLC veže se i pojava paraneoplastičnog sindroma [6].

Tehnološki napredak u biomedicini i nova otkrića na području imunoterapije od iznimne su važnosti u borbi protiv ove bolesti.

## 1.2. EPIDEMIOLOGIJA

Usprkos napretku u terapijskim postupcima te postojanju raznovrsnih metoda liječenja, karcinom pluća i dalje je vodeći uzrok smrti od karcinoma. Predstavlja vodeći uzrok smrti od karcinoma u muškaraca, te je drugi po redu uzrok smrti od karcinoma u žena. Najčešće je dijagnosticirani karcinom širom svijeta s otprilike 1.6 milijuna novih slučajeva prijavljenih 2012. godine [7]. Vodeći je uzrok smrti od karcinoma u razvijenim zemljama, a u zemljama u razvoju zauzima drugo mjesto. Incidencija je uglavnom povezana s dobi, te bolest zahvaća uglavnom stanovništvo srednje i starije dobi. Bolest se najčešće javlja oko četrdesete godine, a vrhunac incidencije se bilježi između 55. i 60. godine života [8]. Prema podacima iz 2012. godine najveća incidencija i smrtnost se bilježe u razvijenim zemljama svijeta. To uključuje Sjevernu Ameriku, Europu, Australiju i Novi Zeland te Južnu Ameriku. Što se Europske Unije tiče, zabilježeno je smanjene mortaliteta od karcinoma pluća u muškaraca, dok je stopa mortaliteta uzrokovanog karcinomom pluća kod žena u porastu [9], [10].

Zemlje i regije u razvoju, poput Kine i zemlje Istočne Europe, bilježe naglo povećanje učestalosti [11].

Incidencija i mortalitet povezani s karcinomom pluća pokazuju dramatično povećanje u 20. stoljeću. Budući da se to povećanje bilježi u većini europskih zemalja, neki karcinom pluća smatraju jednom od glavnih epidemija prošloga stoljeća. Od 1970-ih godina bilježi se povećana pojavnost karcinoma. To se dovodi u vezu s promjenom dinamike i popularizacije pušenja, ponajviše cigareta. Također, ova bolest pokazuje specifičnu raspodjelu i dinamiku kretanja unutar pripanika pojedinog spola. Stopa incidencije karcinoma pluća kod pripadnika muškog spola u razvijenim zemljama Zapadne i Centralne Europe povećavala se do početka 1980-ih godina, a zatim je počela opadati. U većini država Južne i Istočne Europe učestalost karcinoma kod pripadnika muškog spola povećavala se do kraja 1990-ih. Ako promatramo incidenciju karcinoma pluća kod ženskog spola, uočavamo porast broja oboljelih. Taj trend započeo je krajem prošlog stoljeća, a bilježi se i danas. Razlog tome je najvjerojatnije porast konzumacije duhanskih proizvoda među ženskom populacijom diljem svijeta [12].

U SAD-u je karcinom pluća vodeći uzrok mortaliteta od onkoloških bolesti u toj zemlji [10]. U Europi ima 213 663 muškaraca i 98 982 novooboljelih žena na godinu što rak pluća čini drugim, odnosno trećim najčešće dijagnosticiranim karcinomom [9]. 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, iza karcinoma prostate. U žena je također na drugom mjestu i čini 9% od ukupnih najčešćih lokalizacija tumora, dok je vodeći i dalje karcinom dojke [13]. 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 u odnosu na muškarce u svim dobnim skupinama. Petogodišnja stopa preživljenja iznosi 11.2% za muškarce i 13.9% za žene [9]. Prema dobno-spolno standardiziranoj incidenciji karcinoma pluća, Hrvatska zauzima 23. mjesto u svijetu s 32.5 oboljelih na 100 000 stanovnika.

### 1.3. FAKTORI RIZIKA

Faktori rizika za razvoj karcinoma pluća uglavnom uključuju životni stil, izloženost agensima iz okoliša i na radnom mjestu. Njihov učinak također ovisi i o geografskom položaju, spolu, rasnim karakteristikama, genetskoj predispoziciji te o njihovoj sinergističkoj interakciji.

#### 1.3.1. PUŠENJE

Pušenje cigareta je glavni prepoznati rizik za razvoj karcinoma pluća. Glavni problem kod pušenja cigareta je upravo sastav samog duhanskog dima. Iako nikotin sam po sebi nije kancerogen, čak 55 drugih supstanci koje nalazimo u duhanskom dimu su prepoznate i klasificirane kao kancerogene od strane Agencije za Istraživanje karcinoma (Agency for Research on Cancer). Neke od tih tvari su policiklički aromatski ugljikovodici (PAH) i 4-metilnitrosamino-1-(1-piridil)-1- butanon (NNK). Njihova aktivacija dovodi do promjena u DNA, koje uključuju poremećaj u samoj sintezi, metilaciji gena, promjene u sekvencijama, amplifikaciji pojedinih segmenata i delecije pojedinih gena. Također, njihovo djelovanje može utjecati na promjene broja kromosoma, što uključuje gubitak broja kromosoma ili pojavu prekobrojnih kromosoma [14]. Relativni rizik za razvoj karcinoma pluća ovisi i o broju cigareta koje osoba konzumira u jednom danu te o prosjeku poznatom kao „*pack-years*“ odnosno „*kutije/godine*“. Taj se koeficijent izračunava tako da se broj popušanih cigareta u danu pomnoži s godinama konzumacije. Računanje p/y je korisno zbog toga što pušači koji puše malo i rijetko imaju drugačije mutacije u stanicama pluća od osoba koje puše dugo i u velikim količinama. [4], [15], [16].

Pušenje cigara i lule je također povezano sa povećanim rizikom za razvoj karcinoma pluća. [17].

Pasivno pušenje također predstavlja rizik za razvoj karcinoma pluća. Učinak ovog načina pušenja ovisi o dozi. Studije provedene na 192 zemlje na 6 kontinenta pokazale su da je čak 40% djece i oko 35% nepušača izloženo sekundarnom dimu, kao pasivni pušači. Najviše stope zabilježene su u Europi, području Sjeverne Amerike te djelovima Jugoistočne Azije. Najniže stope zabilježene su Africi. Neke studije pokazale su i povećanje rizika za razvoj karcinoma pluća kod pasivnih pušača i to za čak 20-30%. [18], [19]. Ipak, najveći broj smrti kod odraslih pasivnih pušača ipak se pripisuje ishemijskoj bolesti srca i astmi, a ne karcinomu pluća [20].

Elektroničke cigarete u zadnje vrijeme izazivaju mnogo kontroverzi, budući da se često propagiraju kao zdravija i manje štetna varijanta. Međutim, postoje mnogi potencijalni rizici vezani uz dugotrajnu upotrebu, kao i poticanje na pušenje [21]. Iako je konzumacija

konvencionalnih cigareta mnogo veća, incidencija pušenja e-cigareta rapidno raste te je povezana sa većom šansom za prelazak na klasične cigarete, kao i smanjenu šansu za prestanak pušenja i apstinenciju [22]. Zabrinjavajući su i rezultati istraživanja koji pokazuju kako para koja se proizvodi pušenjem e-cigareta sadrži medije i tvari koje induciraju promjene u genomu epitelnih stanica bronha koje su sukladne onima koje nastaju u stanicama koje su izložene duhanskom dimu [4].

U Hrvatskoj svaka treća osoba puši, što Hrvate svrstava u sam svjetski vrh po konzumaciji cigareta. Procjenjuje se da u Hrvatskoj od posljedica pušenja godišnje umre oko 14 000 ljudi [23].

### 1.3.2. GORIVA KOJA SE KORISTE U DOMAĆINSTVU

Neprerađena kruta goriva koja se koriste u domaćinstvu također predstavljaju određeni rizik za razvoj karcinoma pluća. To uključuje goriva poput drva za ogrijev, gnojivo i ugljen. Ta goriva upotrebljava gotovo polovina svjetske populacije, bilo za ogrijev, kuhanje ili u industriji. Njihova primjena najrasprostranjenija je u području Istočne i Južne Azije [24]. Plinovi koji nastaju sagorijevanjem takvih goriva u kućanstvima sadrže visoke koncentracije policikličkih aromatskih ugljikovodila (PAH), benzena i drugih kancerogenih spojeva [25]. Rezultati metaanalitičkih istraživanja koja su uključivala subjekte iz Europe i Amerike te Azije, pokazuju sličan trend pojavnosti karcinoma pluća kod ljudi koji su izloženi ugljenu, biološkim gorivima te mješovitim gorivima, kao i kod pušača [24].

### 1.3.3. KRONIČNE PLUĆNE BOLESTI

Epidemiološke studije pokazuju da otprilike 20-30% pušača razvije KOPB, a 10-15% pušača razvije karcinom pluća. KOPB se smatra najčešćim komorbiditetom kod pacijenata s karcinomom pluća. Prevalencija KOPB-a među pacijentima koji imaju karcinom pluća varira između 30 i 70% [26]. Neki od mehanizama koji povezuju nastanak karcinoma pluća i KOPB uključuju remodeliranje matriksa, proces obnavljanja pluća, koji dovode do maligne alteracije epitelnih i mezenhimalnih stanica i kancerogeneze. Neke studije su identificirale povezanost između karcinoma pluća i genske predispozicije za KOPB [27].

Dodatne studije su pokazale da i drugi faktori rizika, poput povećane opstrukcije dišnih puteva, starije životne dobi, smanjenog BMI-a i difuzijskog kapaciteta pluća za ugljikov monoksid manjeg od 80% povezani sa dijagnozom karcinoma pluća [28].

Emfizem pluća se također navodi kao bitan čimbenik rizika. Opsežan emfizem pluća vidljiv na CT-u se smatra nezavisnim faktorom rizika za razvoj karcinoma pluća, ali isto tako i prediktorom za smrtnost povezanu s karcinomom [29], [30]. Analiza provedena na 25 000 kliničkih slučajeva pokazuje značajnu povezanost između incidencije i smrtnosti od karcinoma pluća i samog plućnog emfizema [31].

Velika metaanaliza koja je uključivala nepušače koji su preboljeli ili oboljeli od kroničnog bronhitisa, tuberkuloze ili pneumonije, pokazala je postojanje povećanog rizika za razvoj karcinoma pluća u tim skupinama [26], [32].

#### 1.3.4. IZLOŽENOST AGENSIMA NA RADNOM MJESTU

##### 1.3.4.1. AZBEST

Izloženost azbestu jedan je od najbolje proučenih uzroka karcinoma pluća povezanih s radnim mjestom. Najveći rizik nalazimo kod radnika koji rade u rudnicima azbesta, njegovoj preradi, u brodogradnji, građevinarstvu, tekstilnoj industriji i autoindustriji. Brojni su mehanizmi njegovog kancerogenog djelovanja, uključujući oksidativni stres, delecije DNA, genske alteracije i povećan odgovor respiracijskog epitela na kancerogeni učinak duhanskog dima [33].

##### 1.3.4.2. ISPUŠNI PLINOVI

Ispušni plinovi koji nastaju sagorijevanjem dizelskih goriva postali su predmet proučavanja kod profesionalnih vozača, radnika u industriji te rudara. SYNERGY projekt, koji je obuhvatio 11 studija slučaj-kontrola provedenih u Europi i Kanadi, pokazao je kako izloženost dizelskim parama ima kumulativni učinak te je povezana sa povećanim rizikom za razvoj karcinoma [34]. Slične rezultate pokazale su i studije provedene u SAD-u, a koje su obuhvaćale radnike u prijevoznicijskoj industriji te rudarskoj nemetalnoj industriji [35].

Druga zanimanja kod kojih je uočen povećani rizik od razvoja karcinoma pluća uključuju iskapanje ugljena, asfaltiranje cesta i rad s katranom, dimnjačarska industrija, soboslikarstvo i rad s bojama. Rizik kod ovih zanimanja je manji nego kod izloženosti azbestu ili derivatima dizela. Drugi organski i metalni spojevi koji su povezani s povećanim rizikom za razvoj karcinoma pluća jesu berilij, kadmij, krom, silika, formaldehid, benzpiren, nikal, metalna prašina, vinilklorid. Ovi spojevi često djeluju sinergistički s duhanskim dimom [4].

### 1.3.5. ZAGAĐENJE ZRAKA

Europske i američke studije provele su procjenu razine povezanosti između zagađenosti okoliša i rizika za razvoj karcinoma. ESCAPE studija je pokazala kako postoji značajna povezanost između koncentracije sitnih čestica prašine u zraku te rizika za razvoj karcinoma, posebice adenokarcinoma [4], [36]. Studije provedene u drugim zemljama pokazuju kako, osim čestica prašine, prisutnost drugih spojeva u zraku, poput, dušikovog oksida (NO) i dušikovog dioksida (NO<sub>2</sub>) povećava rizik za oboljenje od karcinoma pluća [4].

Prisutnost arsena u pitkoj vodi i hrani povezano je s većim rizikom za razvoj karcinoma pluća [37]. Izloženost radonu u kućanstvima je također jedan od poznatih rizika za razvoj karcinoma pluća. Trajanje izloženosti linearno je povezano s povećanjem rizika [4].

### 1.3.6. PREHANA

Konzumacija voća i povrća je povezana sa smanjenim rizikom od pojave karcinoma pluća kod aktivnih pušača. Konzumacija povrća iz roda krstašica smanjuje rizik za razvoj karcinoma pluća [38]. Mnoge studije pokušale su procijeniti kakav učinak konzumacija vitamina i njihova količina u tijelu imaju na rizik za razvoj karcinoma. Povećana konzumacija kalcija, putem hrane ili suplemenata, smanjuje rizik za razvoj karcinoma, posebice adenokarcinoma kod žena, nepušača, te aktivnih pušača. Adekvatan unos željeza u organizam, također smanjuje rizik za razvoj karcinoma pluća kod žena, dok unos magnezija povećava rizik za razvoj karcinoma pluća kod muškaraca. Istraživanje provedeno u Europi pokazalo je da su povišene razine vitamina B i metionina u serumu povezane sa smanjenim rizikom za razvoj karcinoma pluća kod nepušača, bivših te aktivnih pušača. Dvije studije su pokazale da uzimanje vitamina D u dozi  $\geq 400$  IU/dan ima protektivno djelovanje kod žena. Međutim, nema još dovoljno dokaza koji bi potvrdili kako uzimanje vitaminskih, mineralnih i multivitaminskih suplemenata može imati učinak u prevenciji karcinoma pluća [4].

### 1.3.7. GENETIČKA PREDISPOZICIJA

Utjecaj nasljednih faktora na povećanu podložnost za razvoj karcinoma pluća nije dovoljno proučen. Smatra se da osobe koje su u bliskoj rodbinskoj vezi s oboljelim od karcinoma pluća imaju veći rizik za razvoj bolesti bez obzira na pušačke navike [39]. Nekoliko studija koje se bave proučavanjem genoma navode da postoje neki sumnjivi genski lokusi i enzimi koji se mogu dovesti u svezu s povećanim rizikom za razvoj karcinoma pluća. To uključuje genske lokuse 5p15.33 i 3q28 te polimorfizam enzima poput citokrom P-450 enzima, enzima

odgovornih za popravak DNA. Neke studije navode povezanost mutacije EGRF-a sa povećanim rizikom za razvoj karcinoma [4].



## 1.4. ETIOLOGIJA I PATOGENEZA

Općenito tumore pluća, ovisno o veličini stanica, možemo podijeliti na ne-sitnostanične karcinome pluća (engl. *Non Small Cell Lung Cancer*, NSCLC) i sitnostanične karcinome pluća (engl. *Small Cell Lung Cancer*, SCLC). Ovi se tumori razlikuju po svom porijeklu, patogenezi, histološkim i imunohistokemijskim obilježjima, te biološkom ponašanju [6]. Svjestka zdravstvena organizacija (engl. *World Health Organisation*, WHO) odnosno Međunarodno udruženje za proučavanje raka pluća (engl. *International Association for Study of Lung Cancer*, IASLC) izradili su klasifikaciju karcinoma pluća na temelju histoloških obilježja tumora. 2015. godine ta je klasifikacija dopunjena te se tumori osim na temelju histoloških obilježja, klasificiraju i na temelju imunohistokemijskih obilježja. Ta je klasifikacija u uporabi i danas [40].

### 1.4.1. NE-SITNOSTANIČNI KARCINOM PLUĆA

NSCLC nastaje iz stanica stijenke središnjih bronha ili mukoznih žlijezda sve do terminalnih alveola. Histološki tip korelira s mjestom nastanka, odražavajući vrstu epitela u dišnom putu. Najzastupljeniji histološki tipovi NSCLC su adenokarcinom, planocelularni karcinom i krupnostanični karcinom. Ostali tipovi tumora kao što je sarkomatoidni karcinom čine jako mali dio karcinoma pluća [6].

Adenokarcinom (engl. *Adenocarcinoma*, ADC) je najzastupljeniji tip NSCLC, sa oko 38,5 % svih tumora pluća. Definiran je kao maligni tumor epitelnog porijekla sa žljezdanom diferencijacijom. Uglavnom je smješten u perifernim djelovima pluća [41]. Češće se javlja kod žena, mlađih osoba (< 45 godina) i u nepušača [6]. Budući da su ovi tumori uglavnom smješteni u perifernim djelovima pluća, često kasno daju simptome. Često ostaju prikriveni, te se šire i ekspaniraju bez popratne simptomatologije što uglavnom rezultira kasnim postavljanjem dijagnoze.

Planocelularni karcinom pluća, odnosno karcinom skvamoznih stanica (engl. *Squamous Cell Carcinoma*, SqCC) drugi je najučestaliji tip karcinoma i na njega otpada 20% svih tumora pluća. Obično je smješten u centralnim djelovima pluća, a potječe iz središnjeg ili lobarnog bronha. To je maligni epiteln tumor koji uglavnom nastaje displazijom cilindričnog epitela. Za ovaj tumor je karakteristično stvaranje roževine odnosno keratinizacija i prisutnost intracelularnih mostića. Kod velikih tumora skvamoznih stanica moguća je pojava centralne nekroze i stvaranje kavitacija. Obično se javlja kod starijih muškaraca i pušača [6], [41].

Krupnostanični karcinom pluća (engl. *Large-Cell Lung Carcinoma*, LCLC) je najrjeđe zastupljen oblik ne-sitnostaničnog karcinoma pluća i čini 2,9 % svih karcinoma pluća [42].

Definiran je kao nediferencirani oblik NSCLC, kod kojeg histološki i imunohistokemijski nije moguće dokazati pločaste stanice, glandularnu ili neuroendokrinu diferencijaciju [6], [41].

#### 1.4.2. SITNOSTANIČNI KARCINOM PLUĆA

Sitnostanični karcinom pluća (engl. *Small-cell lung cancer*, SCLC) je tumor neuroendokrinog porijekla koji nastaje u stijenci bronha. On čini 10% do 15% svih tumora pluća. Histološki se može podijeliti u dva subtipa, sitnostanični karcinom (SCLC) i kombinirani sitnostanični karcinom (SCLC sa komponentama NSCLC). Ovaj tumor je iznimno lokalno agresivan, a njegove tumorske stanice karakterizira visoka mitotska aktivnost te brza proliferacija. Jako se brzo širi te dosta rano daje udaljene metastaze. Ovaj se tumor dosta često povezuje sa paraneoplastičnim sindromima, poput neadekvatnog lučenja antidiuretskog hormona, Lambert-Eatonovog sindroma i humoralne hiperkalcemije u malignitetu (HHM). Za ovaj tip tumora su karakteristične i brojne genske alteracije i mutacije. Najčešće mutacije su na genima RB1, TP53, MYC, FGFR i PTEN i upravo su one odgovorne za invazivnu prirodu tumora te loš odgovor na terapiju. Uz mutacije, kod ovih tumora često nailazimo i na promjene specijalnih signalnih puteva. S obzirom na njegovu izrazitu agresivnost, većina tumora se otkrije u trenutku kada već postoje udaljene metastaze. Ovaj tumor se češće javlja kod muškaraca i pripadnika bijele rase i jako je usko vezan uz konzumaciju duhana pa tako pušači čine čak 98% oboljelih od SCLC [6], [43].

#### 1.4.3. GLAVNI PATOGENETSKI MEHANIZMI

Pušenje je najveći faktor rizika za razvoj bilo kojeg oblika karcinoma pluća, pa je kancerogeneza uvjetovana pušenjem i najbolje proučena. To je proces koji se odvija u nekoliko koraka. Na početku, pod utjecajem sastavnica duhanskog dima, plućni epitel prolazi kroz nekoliko faza morfoloških promjena: hiperplazija, metaplazija, displazija, karcinom *in situ*. Displazija i karcinom *in situ* smatraju se glavnim premalignim lezijama jer u tim stadijima postoji najveća vjerojatnost za prelazak u invazivni karcinom. Pušenje cigareta stvara tzv. „polje ozljede“ u svim epitelnim stanicama dišnih puteva izloženih duhanskom dimu. Drugo polje, „polje kancerizacije“ odnosi se na područje histološki normalnog tkiva koje, međutim, sadrži neoplastične stanice s molekularnim abnormalnostima. U početnoj fazi, u polju ozljede stanice pokušavaju reparirati oštećeni epitel. Međutim, dolazi do nepravilnog popravka matičnih, odnosno progenitornih stanica koje se potom dalje dijele. Tako nastaje klonalna skupina stanica-kćeri koje su genetički izmjenjene i imaju sposobnost nesputane diobe i samoobnavljanja. U jezgri takvih stanica može doći do dodatnih genetskih i epigenetskih promjena koje potom rezultiraju njihovom proliferacijom i ekspanzijom polja. Takve stanice

postupno nadomještaju normalan epitel. Ovakve promjene su uglavnom ireverzibilne prirode i predstavljaju kritični korak u karcinogenezi pluća te mogu perzistirati i nakon prestanka pušenja [16], [44].

## 1.5. KLINIČKA PREZENTACIJA

Karcinom pluća se može manifestirati na više različitih načina. Klinička manifestacija ovisi o mnogo faktora, ali simptome u pravilu možemo podijeliti u tri velike skupine: simptomi koji se javljaju zbog lokalnog djelovanja, simptomi koji nastaju zbog širenja tumora i oni koji nastaju zbog sustavnog djelovanja tumora. Uz te tri skupine, postoji i četvrta skupina koju čine tzv. paraneoplastični simptomi [6]. Simptomi i znakovi variraju s obzirom na morfologiju tumora, lokalizaciju te zahvaćenost okolnih struktura. Najčešći simptomi koji se javljaju kod oboljelih su kašalj (javlja se u oko 80% oboljelih), hemoptiza (prisutna u oko 70% oboljelih), dispneja (60% oboljelih), bol u prsištu (40% oboljelih), umor i gubitak težine [45].

Kašalj je najčešći rani simptom karcinoma pluća te se javlja u oko 80% oboljelih. Obično je prolongiran i suh. Često može doći i do sekundarne infekcije, što rezultira pojavom gnojnog sputuma. Budući da su pušači glavna rizična skupina za razvoj karcinoma pluća, kod njih treba obratiti pozornost na promjene karaktera pušačkog kašlja. Promjena u karakteru pušačkog kašlja zajedno sa drugim novonastalim simptomima trebala bi pobuditi sumnju na razvoj karcinoma pluća [46].

Hemoptiza odnosno iskašljavanje krvi drugi je najučestaliji klinički simptom karcinoma pluća. Ona se, osim kod karcinoma, može javiti i kod plućne infekcije. Ako se hemoptiza javi kod pušača ili uz kronični bronhitis, iznimno je suspektan nalaz. Izostanak hemoptize uz prisutnost nekih drugih suspektnih simptoma ne isključuje postojanje karcinoma. Osim hemoptize, kod karcinoma pluća može se javiti još jedan oblik krvarenja. Riječ je o hemoptoi, iznenadnom masivnom krvarenju do kojeg dolazi zbog invazije tumora kroz stijenku velikih krvnih žila. Prodomom tumora dolazi do prekida kontinuiteta stijenke krvne žile što rezultira pojavom masivnog krvarenja koje može imati fatalan ishod [45].

Bol je jedan od karakterističnih znakova karcinoma pluća. Obično se radi o nespecifičnoj boli lokaliziranoj u predjelu toraksa i ruku. Ona se javlja zbog invazivnog djelovanja tumora na interkostalne živce i brahijalni pleksus [1].

Ostali simptomi javljaju se nešto rjeđe i uglavnom su specifično povezani uz lokalizaciju tumora. Uzrokovani su invazivnim širenjem tumora u prsnoj šupljini i posljedica su kompresije susjednih torakalnih struktura. Pritiskom na jednjak tumorska masa uzrokuje disfagiju. Promuklost se kao simptom javlja kada dođe do kompresije laringealnih živaca. Osim toga, tumor može uzrokovati i kompresiju gornje šuplje vene što za posljedicu ima edem lica, distenziju površinskih vena glave i vrata te cijanozu. Kod tumora koji su lokalizirani u gornjem, apikalnom dijelu pluća (tzv. Pancoastov tumor) dolazi do pojave Hornerovog sindroma. Hornerov sindrom obuhvaća enoftalmus, ptozu, miozu i anhidrozu, a nastaje kao posljedica zahvaćanja živčanih struktura oko dušnika [6], [47].

Tumori pluća se šire limfogeno i hematogeno. Njihovo širenje u medijastinalne i supraklavikularne limfne čvorove često se događa prije postavljanja dijagnoze [6], [47]. Udaljene metastaze se najčešće javljaju u jetri, kostima, mozgu, koži i nadbubrežnoj žlijezdi. Simptomatologija metastatske bolesti je u izravnoj korelaciji sa lokalizacijom [8], [47]. Najčešće su prisutni bolovi u kostima kod koštanih metastaza, hepatomegalija, konfuzija i promjena mentalnog statusa kod metastaza u mozgu, cerebelarni sindrom, proksimalna miopatija i periferna neuropatija [45].

Kod oboljelih od karcinoma pluća mogu se javiti i simptomi i znakovi paraneoplastičnog sindroma. Karcinom pluća se smatra glavnim uzrokom paraneoplastičnog sindroma. Najčešće se ispoljavaju oni endokrinog porijekla, poput sindroma neprikladnog lučenja ADH-a (SIADH) i humoralne hiperkalcemije u malignitetu (HHM). Još jedan karakterističan paraneoplastični učinak karcinoma jest hipertrofična osteoartropatija s digitalnim zadebljanjima poznata još i kao batičasti prsti. Meko tkivo prerasta terminalnu falangu, što dovodi do povećane zakrivljenosti nokta i pomaka baze [48]. Paraneoplastični sindrom češće se javlja kod sitnostaničnog karcinoma pluća, SCLC [6].

Prilikom fizikalnog pregleda bolesnika s karcinomom pluća mogu se uočiti neke osobitosti u fizikalnom nalazu. Kod perkusije se u području tumora može čuti muklina uz reducirani šum disanja. Kod djelomične bronhalne opstrukcije može se pri auskultaciji čuti monofoni unilateralni wheezing koji ne prolazi na nakašljavanje [1]. Ako dođe do potpune opstrukcije bronha tumorom, može nastupiti kolaps plućnog režnja ili cijelog pluća. Kada su grkljan, traheja ili glavni bronh suženi primarnim tumorom ili je prisutna lokalna kompresija subkarinalnih i paratrahealnih limfnih čvorova tada se pri auskultaciji čuje stridor [1].

Kod karcinoma pluća česta klinička pojava su i rekurentne pneumonije. One nastaju kao posljedica narušene drenaže bronhalnog sekreta. Pneumonije koje se ponavljaju na istom mjestu ili pneumonije koje neobično sporo reagiraju na liječenje, posebice ako se javljaju kod pušača, trebale bi pobuditi sumnju na podležeci karcinom pluća [47].

## 1.6. DIJAGNOSTIKA

Kao i kod svake zloćudne bolesti, dovoljno rano otkrivanje i pravovremeno postavljanje dijagnoze od iznimne je važnosti. Stoga je National Institute for Health and Care Excellence (NICE) donio smjernice-„Sumnja na karcinom: prepoznavanje i upućivanje“ koje liječnicima obiteljske medicine preporučuju postupke kojima bi se pravodobno dijagnosticirao karcinom pluća u određenih bolesnika. Prema tim smjernicama oboljelog čiji RTG-nalaz pobuđuje sumnju na karcinom te pacijenta koji ima 40 i više godina, a koji se javlja s neobjašnjivom hemoptizom potrebno je uputiti na pregled u specijaliziranu ustanovu u roku od 2 tjedna. Kod bolesnika koji je nepušač, ima 40 i više godina te 2 ili više do sljedećih simptoma koji su neobjašnjivi, ili ako se radi o pušaču koji ima jedan ili više od navedenih simptoma: kašalj, umor, kratkoća daha, bol u prsima, gubitak na težini, gubitak apetita treba postaviti sumnju na karcinom pluća. Takvog pacijenta je potrebno uputiti na hitni rentgenogram, koji je potrebno napraviti unutar 2 tjedna. Kod osoba koje imaju 40 i više godina te bilo što od navedenog: fizikalni nalaz prsišta koji upućuje na karcinom, trajnu ili ponavljajuću infekciju pluća, supraklavikularnu limfadenopatiju, trajnu cervikalnu limfadenopatiju, trombocitozu ili batičaste prste, uputno je napraviti hitnu RTG-simku prsnog koša kako bi se otkrilo boluje li osoba od karcinoma pluća [49].

Kod svakog pacijenta kod kojeg postavimo sumnju na karcinom pluća potrebno je uzeti detaljnu anamnezu, klinički status te učiniti osnovne laboratorijske nalaze.

Prva linija dijagnostike kod sumnje na karcinom pluća je RTG-snimka prsnog koša. Prednost RTG-a je u tome što je jeftin te dostupan već na sekundarnoj razini zdravstvene zaštite. Isporučuje relativno nisku dozu zračenja, ali ima značajnu vrijednost lažno negativne stope s osjetljivošću od otprilike 75-80% [50]. Usprkos određenim ograničenjima, pravodobnije i promišljeno upućivanje bolesnika s potencijalnim karcinomom na RTG prsišta može povećati broj detektiranih slučajeva te poduprijeti rano otkrivanje karcinoma pluća.

Kompjuterska tomografija (engl. *Computed Tomography*, CT) je druga linija dijagnostike u otkrivanju karcinoma pluća. CT je puno osjetljiviji u odnosu na RTG snimku prsnoga koša. Konvencionalni CT se i dalje koristi za simptomatska testiranja, odnosno potvrdu dijagnoze. U novije vrijeme, Američki nacionalni probir za rak pluća (engl. *National Lung Screening Trial*, NLST) zagovara primjenu niskodoznog CT-a (engl. *Low dose CT*, LDCT) kao prve dijagnostičke linije, zbog njegove više osjetljivosti u odnosu na RTG te manje štetnosti [51]. NICE smjernice preporučuju CT prsnog koša uz dodatak kontrasta, te proširenu snimku koja uključuje i jetru i nadbubrežne žlijezde, kao česta sjela metastatskog širenja [50].

Definitivna dijagnoza maligne bolesti postavlja se citološkom ili histološkom obradom. Uzorak tkiva za analizu uzima se tijekom bronhoskopije.

## 1.7. TNM KLSIFIKACIJA

Prije početka liječenja bolesti, osim određivanja histološkog tipa karcinoma, potrebno je odrediti i stadij (engl. *stage*) tumora, budući da se na tim dvjema stavkama zasniva odabir terapije. Nužno je odrediti anatomske proširenosti karcinoma, zahvaćenost limfnih čvorova i prisutnost udaljenih metastaza. Za određivanje stadija tumora koristi se TNM klasifikacija. Ona se zasniva na Međunarodnom *staging* sustavu (engl. *International Staging System, ISS*). Oznaka T odnosi se na primarni tumor, N na regionalne limfne čvorove, a M na udaljene metastaze. Izrazito je važno prije početka liječenja pretragama utvrditi prisutnost udaljenih metastaza te točno odrediti status regionalnih limfnih čvorova [52]. Klasifikacija limfnih čvorova korisna je za kliničko, kirurško i patološko stupnjevanje. Mapirano je ukupno 14 regionalnih limfnih čvorova podijeljenih prema lokaciji na hilarne, intrapulmonalne i medijastinalne limfne čvorove. Čvorovi od 1-9 pripadaju N2 skupini, a limfni čvorovi od 10-14 pripadaju u skupinu N1. Što se udaljenih metastaza tiče, one mogu nastati limfogenim i hematogenim putem, a mogu zahvatiti bilo koji organ ili organski sustav. Najčešće su zahvaćeni jetra, nadbubrežne žlijezde, kosti, mozak, udaljeni limfni čvorovi te koštana srž [8].

Za klasifikaciju SCLC osim TNM klasifikacije još se koristi i VALSG klasifikacija (Veterans Administration Lung Group). Prema ovoj klasifikaciji sitnostanični karcinom pluća se može javiti u ograničenom ili proširenom obliku [41].

Tablica 1. Tumorski stadij i 5-godišnje preživljenje SCLC. Tablica pokazuje vezu između tumorske ekspanzije (veličina, status čvorova i metastaze) i prognoze (% preživljenja u 5 godina za svaku kliničku fazu). Napravljeno prema Lung Cancer Treatment and Research [41]

Stadij tumora		Zahvaćenost limfnih čvorova				Metastaze		
		N0 (nema zahvaćenih limfnih čvorova)	N1 (Ipsilateralni hilarni)	N2 (Ipsilateralni medijastinalni ili subcrinalni)	N3 (Kontralateralni ili supraklavikularni)	M1 (Pleuralna invazija)	M1 (Kontralateralni čvorovi)	M1 (Udaljene metastaze)
T1a (≤1cm)	53%	42%	29%	16%	7%	2%	3%	1%
T1b (> 1 do ≤ 2 cm)	47%							
T2a (>3 do ≤ 4 cm)	43%							
T2b (>4 do ≤ 5 cm)	36%							
T3 (> 5 cm)	26%							
T3 - invazivni	27%							
T3 - satelitski čvorovi	29%							
T4 - invazivni	14%							
T4 - ipsilateralni čvorovi	25%							
M1a Višestruka diseminacija	2%							

Tablica 2. Tumorski stadij i 5-godišnje preživljenje NSCLC. Tablica pokazuje vezu između tumorske ekspanzije (veličina, status čvorova i metastaze) i prognoze (% preživljenja u 5 godina za svaku kliničku fazu). Napravljeno prema Davidson's Principles and Practice of Medicine [1]

Stadij tumora	Zahvaćenost limfnih čvorova			
	N0 (nema zahvaćenih limfnih čvorova)	N1 (Ipsilateralni hilarni)	N2 (Ipsilateralni medijastinalni ili subcrinalni)	N3 (Kontralateralni ili supraklavikularni)
T1a (≤1cm)	IA1 (92%)	IIB (53%)	IIIA (36%)	IIIB (26%)
T1b (> 1 do ≤ 2 cm)	IA2 (83%)			
T1c (>2 do ≤ 3 cm)	IA3 (77%)			
T2a (>3 do ≤ 4 cm)	IB (68%)			
T2b (>4 do ≤ 5 cm)	IIA (60%)			
T3 (> 5 cm)	IIB (53%)		IIIB (26%)	IIIC (13%)
T4 (> 7cm ili invadira srce, krvne žile, jednjak, carina itd.)		IIA (36%)		
M1a Metastaza na plućima/plućna infiltracija	IVA (10%)			
M1b Jedna ekstratorakalna metastaza				
M1c Višestruke ekstratorakalne metastaze	IVB (0%)			



## 1.8. PREVENCIJA I PROBIR

Karcinom pluća najčešći je uzrok smrti od raka na razini cijelog svijeta te kao takav predstavlja zdravstveni problem svjetskih razmjera. Petogodišnje preživljenje oboljelih od karcinoma pluća iznosi 17,4%, a više od polovice pacijenata u trenutku pojave simptoma i postavljanja dijagnoze ima uznapredovalu bolest s udaljenim metastazama. Budući da je ishod bolesti usko vezan uz stadij u kojem je bolest otkrivena, veoma je važno dijagnosticirati bolest u što ranijem stadiju. Veliku prediktivnu vrijenost ima i veličina tumora te zahvaćenost limfnih čvorova [41]. Osim visokog pobola i smrtnosti te duge asimptomatske faze, poboljšane stope preživljenja u slučaju ranog otkrivanja karcinom pluća karakterizira i mogućnost identifikacije faktora rizika. Najveći rizik za razvoj karcinoma pluća predstavljaju starija dob i pušenje, te se ti kriteriji mogu iskoristiti kao kriteriji za preventivne programe probira i ranog otkrivanja. Sve navedene karakteristike sugeriraju kako bi metode screeninga i ranog otkrivanja bile uspješne u poboljšanju preživljenja oboljelih od karcinoma pluća. Da bi se metoda probira smatrala korisnom, njeno provođenje bi trebalo dovesti do smanjenja specifične i ukupne smrtnosti. Osim toga, uspješna metoda probira trebala bi uključivati jeftini test čije provođenje predstavlja mali rizik za pacijeta te treba biti široko dostupna. Osim toga test koji se koristi trebao biti visoko osjetljiv i visoko specifičan za otkrivanje bolesti u ranim fazama, prije nego dođe do razvoja simptoma uznapredovale bolesti. Kao metode probira za karcinom pluća moguće je koristiti RTG snimku prsnog koša (CXR) sa ili bez citološke obrade sputuma te niskodozni CT (engl. *Low Dose CT*, LDCT) [41].

S obzirom na to da je pušenje glavni i najpoznatiji rizik za razvoj karcinom pluća ciljna skupina za provedbu preventivnih programa trebala bi biti upravo populacija koja je pod najvećim rizikom. To uključuje same pušače te rizične skupine koje eksperimentiraju s cigaretama. Nakon prestanka pušenja rizik od razvoja karcinoma pluća opada te je stoga jako važno motivirati pušače na prestanak pušenja. Također, važno je utjecati i na mlađu populaciju poput osnovnoškolske i srednjoškolske djece te njihovih roditelja, kako bi se spriječio razvoj navike pušenja. Najčešće metode preventivnog djelovanja jesu djelovanje putem medija, kroz javnozdravstvene akcije i različita savjetovanja [16].

Američko probirno ispitivanje prostate, pluća, kolorektuma i jajnika (PLCO) pružilo je najveće i najpotpunije dokaze da probir asimptomatske populacije CXR-om ne smanjuje smrtnost od karcinoma pluća. Nacionalni probir za karcinom pluća (engl. *National Lung Cancer Screening Trial*, NLST) pokazao je smanjenje smrtnosti od karcinoma pluća za 20% nakon provedene godišnje pretrage LDCT-om kod asimptomatske visokorizične populacije. The US Preventive Task Force (USPSTF) od tada preporučuje godišnji probir LDCT-om za one u dobi od 55 do 80 godina kojih imaju 30 p/y i koji su aktivni pušači ili puše u posljednjih 15 godina [46].

Na Svjetskoj konferenciji Međunarodnog udruženja za proučavanje raka pluća (IASLC) održanoj 2018. godine u Torontu predstavljeni su rezultati nizozemsko-belgijskog testiranja NELSON. Studija je proučavala utjecaj primjene pregleda LDCT-om kod rizične skupine te je pokazala statistički značajno smanjenje smrtnosti u pregledavanoj muškoj populaciji te smanjenje smrtnosti u promatranoj skupini ženskog spola koja međutim zbog svoje veličine nije dosegla statistički značaj. Ti su rezultati postali temelj za razvoj programa ranog otkrivanja karcinoma pluća u Europskoj uniji i Ujedinjenom Kraljevstvu [53].

Prilikom LDCT probira moraju se odmjeriti potencijalne štetnosti i korisnosti pretrage. Negativna strana uključuje lažno pozitivne i lažno negativne nalaze, pojačanu izloženost štetnim učincima ionizirajućeg zračenja, invazivnost pretrage te psihološki učinak koji nastaje otkrivanjem benignih promjena koje, i da nisu bile otkrivene, ne bi utjecale na ishod liječenja. Stoga se programi probira uglavnom provode na ciljnoj populaciji koja ima naveći rizik od razvijenog maligniteta na plućima [54]. Dio pacijenata koji ispunjavaju uvjete će odbiti podvrgavanje pregledu. Također postoji mogućnost razvoja tzv. Intervalnog karcinoma pluća između dvaju godišnjih pregleda [55]. Izgledno je, dakle, da će većina karcinoma pluća i dalje biti dijagnosticirana temeljem odgovarajuće simptomatologije, anamneze i kliničkog statusa iz ordinacije LOM-a te daljnjim ordiniranjem pretraga i upućivanja.

U siječnju 2020. godine Ministarstvo zdravstva Republike Hrvatske donijelo je Nacionalni program za probir i rano otkrivanje karcinoma pluća 2020.-2024. godine. Cilj ovog programa jest postizanje odaziva na preventivne preglede od 50% rizične populacije pušača unutar 5 godina provedbe programa te smanjenje ukupne smrtnosti od karcinoma pluća od 20%. Ciljna skupina su osobe koje imaju 50 do 75 godina, koje su aktivni pušači ili su prestali pušiti unutar 15 godina prije probira uz pušački staž od minimalno 30 godina (30 p/y) bez obzira na komorbiditete i druge anamnestičke ili demografske osobitosti. Test za probir obuhvaćati će identifikaciju i oportunistički probir osoba od strane LOM i LDCT u populaciji s visokim rizikom. Osobe koje sudjeluju u Nacionalnom programu a u kojih se ustanovi pozitivan nalaz biti će upućeni na daljnju obradu u jedan od centara za specijalističku pulmološku obradu i liječenje [56].

## 1.9. BIOMARKERI KARCINOMA PLUĆA

Posljednjih godina identifikacija molekularnih abnormalnosti koje se javljaju u karcinomu pluća omogućila je razvoj personalizirane medicine i ciljne terapije. Uporaba prediktivnih biomarkera u određivanju terapije te odabiru tumora, a time i pacijenata, koji bi dobro odgovorili na tu vrstu terapije ostaje područje koje tek treba istražiti [57], [58].

### 1.9.1. GENOMSKI MARKERI

#### 1.9.1.1. RECEPTOR ZA EPIDERMALNI FAKTOR RASTA, EGFR

To je tirozin kinazni receptor kodiran genom koji se nalazi na kratkom kraku kromosoma 7. Kada se na njega veže ekstracelularni ligand dolazi do homo- ili heterodimerizacije receptora. Time dolazi do fosforilacije citoplazmatske tirozin kinaze i aktivacije različitih intracelularnih signalnih puteva. Jedna od najznačajnijih puteva jesu oni koji uključuju fosfatidilinozitol-3-kinazu (PI3K), a koji dovode do stanične proliferacije, metastaziranja i prevencije apoptoze [58], [59]. Ekspresija ovog receptora česta je kod adenokarcinoma i povezana je s lošom prognozom [59].

#### 1.9.1.2. KINAZA ANAPLASTIČNOG LIMFOMA, ALK

Kinaza anaplastičnog limfoma (engl. *Anaplastic Lymphoma Kinase*, ALK) je tirozin kinazni receptor, član superporice inzulinskih receptora. Kodiran je genom koji se nalazi na kratkom kraku kromosoma 2. Kod karcinoma pluća često dolazi do fuzije gena koji kodiraju za ALK sa genom koji kodira za EML4-ehinodermalni protein povezan sa mikrotubulima. Na taj način nastaju geni koji kodiraju za kimerični protein, koji pak ima konstitutivnu kinaznu aktivnost, koja potiče rast i proliferaciju tumorskih stanica [60]. Ovu mutaciju često nalazimo kod NSCLC kod mlađih nepušača [58].

#### 1.9.1.3. KRAS MUTACIJA

KRAS (engl. *Kirsten Rat Sarcoma viral oncogene homolog*) je onkogen smješten na dugom kraku kromosoma 12. To je član RAS obitelji membranskih G proteina i kodira za protein s intrinzičnom GTP-aznom aktivnošću. Na taj je način posredno uključen u regulaciju stanične proliferacije, reorganizacije citoskeleta i staničnog preživljenja. Uglavnom se javlja kod adenokarcinoma. Ova mutacija je povezana s nepovoljnim ishodom i negativan je prediktor odgovora na kemoterapiju [58].

#### 1.9.1.4. ROS1 MUTACIJA

ROS protoonkogen 1 je tirozin-kinazni receptor, član obitelji inzulinskih receptora. Lociran je na dugom kraku kromosoma 6. Glavnu ulogu ima u diferencijaciji epitelnih stanica tokom razvoja organa. Međutim, ligand koji se veže na ovaj receptor još nije identificiran. Uglavnom je udružen s drugim mutacijama i najčešće se javlja kod adenokarcinoma, u žena nepušača [58], [61].

#### 1.9.1.5. HER2 MUTACIJA

Receptor za humani epidermalni faktor rasta 2 (engl. *Human Epidermal growth factor Receptor 2*, HER2) je protoonkogen koji se nalazi na kromosomu 17. HER2 nema specifičnog liganda. Može se kombinirati i sa drugim receptorima tvoreći heterodimere. To omogućuje aktivaciju signalnih puteva uključenih u staničnu proliferaciju, diferencijaciju i migraciju [62]. Prekomjerna ekspresija je zabilježena kod NSCLC, posebice adenokarcinoma te je povezana s lošom prognozom [58]. Ova mutacija uglavnom je udružena s drugim mutacijama te može biti osnova za odabir pacijenata za ciljanu terapiju [58].

#### 1.9.1.6. RET MUTACIJA

RET protoonkogen je lociran na dugom kraku kromosoma 10. Kodira za tirozin kinazni receptor koji je uključen u staničnu proliferaciju, migraciju i diferencijaciju. Ova mutacija je najčešće prisutna kod slabije diferenciranih adenokarcinoma u mlađih nepušača te je najčešće udružena s drugim mutacijama [63].

#### 1.9.1.7. MET MUTACIJA

MET je protoonkogen lociran na dugom kraku kromosoma 7. Kodira za tirozin-kinazni receptor koji aktivira multiple signalne puteve koji imaju fundamentalnu ulogu u staničnoj proliferaciji, preživljenju, pokretljivosti i invazivnosti. Ovu mutaciju nalazimo u karcinomu skvamoznih stanica i u adenokarcinomu, a može se javiti u obliku mutacije, genske amplifikacije i prekomjerne ekspresije proteina. Prisutnost ove mutacije povezana je sa lošijom prognozom [58].

#### 1.9.1.8. B-RAF MUTACIJA

B-RAF protoonkogen kodira za serin-treonin kinazu, a lociran je na dugom kraku kromosoma 7. Enzim kojeg kodira je uključen u signalne puteve koji kontroliraju stanični rast. Kada dođe do njegove aktivacije onkogenom mutacijom, on fosforilacijom ciljnih enzima promovira stanični rast, proliferaciju i preživljenje. Najveća incidencija ove mutacije zabilježena je kod malignog melanoma, potom kod papilarnog karcinoma štitnjače, kolorektalnog karcinoma i seroznog karcinoma jajnika. Što se tiče pluća, uglavnom je vezan uz NSCLC. Nalazimo ga kod adenokarcinoma u aktivnih ili bivših pušača [58].

#### 1.9.1.9. PIK3CA MUTACIJA

PIK3CA su heterodimerne lipidne kinaze sastavljene od katalitičke i regulatorne podjedinice i sudjeluju u signalnim putevima povezanim sa staničnim rastom, transformacijom, adhezijom, apoptozom, preživljenjem i pokretljivošću. Gen koji ih kodira je smješten na dugom kraku kromosoma 3. PIK3CA amplifikacije, delecije i besmislene mutacije su zabilježene u mnogih tumorima, pa tako i kod karcinoma pluća. To su jedni od najčešće mutiranih onkogeni. Ove su mutacije najčešće prisutne kod karcinoma skvamoznih stanica, ali mogu biti prisutne i kod adenokarcinoma. PIK3CA su, zajedno sa ostalim efektorima njihovih signalnih puteva predmet proučavanja kao potencijalne mete novijih vrsta terapije [58].

#### 1.9.1.10. NTRK1 MUTACIJA

Neurotropni receptor tirozin-kinaze, NTRK1 je protoonkogen smješten na dugom kraku kromosoma 1 i kodira tirozin-kinazni receptor koji sudjeluje u regulaciji staničnog rasta i diferencijacije. Prisutan je kod različitih vrsta karcinoma, uključujući kolorektalni karcinom, karcinom štitnjače i multiformni glioblastom. Što se karcinoma pluća tiče, ova je mutacija prisutna u oko 3% adenokarcinoma [64], [58]. Provedene kliničke studije su pokazale kako inhibitori NTRK1 daju obećavajuće rezultate u liječenju solidnih adenokarcinoma [65].

#### 1.9.1.11. FGFR MUTACIJA

Receptor za faktor rasta fibroblasta (engl. *Fibroblast Growth Factor Receptor*, FGFR) kodiran je genom koji se nalazi na kromosomu 8. To je tirozin-kinazni receptor koji se dimerizira i fosforilira FGFR supstrat 2 $\alpha$  (FRS2 $\alpha$ ) i na taj način aktivira signalne puteve koji promoviraju stanično preživljenje, pokretljivost, invazivnost i proliferaciju [66]. Kod karcinoma najčešće prisutni mehanizmi aktivacije jesu amplifikacije, besmislene mutacije i kromosomske translokacije [67]. Osim u karcinomu pluća, ova mutacija je prisutna i kod karcinoma dojke,

želuca, endometrija, i mozga. Što se karcinoma pluća tiče, ova se mutacija najčešće javlja kod karcinoma skvamoznih stanica (20%), a može se javiti i kod adenokarcinoma, iako rijetko. Amplifikacije i mutacije FGFR gena se češće javljaju kod pušača i smatraju se negativnim prognostičkim faktorom [58].

#### 1.9.1.12. DDR2 MUTACIJA

Gen za DDR2 se nalazi na dugom kraku kromosoma 1 i kodira za tirozin-kinazni receptor. DDR2 je eksprimiran na mezenhimalnim stanicama i veže fibrilarni kolagen. Aktivira važne signalne puteve i na taj način potiče stanične migracije, proliferaciju i preživljenje stanica. Mutacije ovog gena prisutne su kod melanoma te karcinoma uterusa, želuca, mokraćnog mjehura i kolorektalnog karcinoma. Što se karcinoma pluća tiče, mutacije gena za DDR2 prisutne su kod karcinoma skvamoznih stanica i to isključivo kod pušača [58].

#### 1.9.2. IMUNOTERAPIJSKI MARKERI

Karcinom pluća se ranije nije smatrao veoma imunogenim zbog nekoliko neuspjelih pokušaja terapijske primjene citokina i cjepiva. Međutim, u posljednjem desetljeću došlo je do značajnijeg razvoja imunoterapije razvojem inhibitora kontrolnih točaka i njihovom primjenom u liječenju NSCLC. Imunološke kontrolne točke su signalni putevi čija je glavna funkcija modulacija i održavanje tolerancije na vlastite antigene te modulacija i aktivacija imunološkog odgovora [68]. Najviše proučavani inhibitori kontrolnih točaka jesu antigen povezan s citotoksičnim T-limfocitima-4 (engl. *Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated antigen 4*, CTLA4), receptor programirane smrti-1 (engl. *Programmed death-ligand 1 receptor*, PD-1) koji su eksprimirani uglavnom na T limfocitima te ligand receptora programirane smrti-1 (engl. *Programmed death-ligand 1*, PD-L1) koji je eksprimiran na tumorskim stanicama, tumor-infiltrirajućim makrofagima, dendritičkim stanicama i T-limfocitima [69]. Mnoge druge molekule uključene u regulaciju kontrolnih točaka, poput TIM3, BTLA, VISTA, LAG3 su identificirani kao potencijalna ciljna mjesta imunoterapijskog djelovanja te su trenutno u fazi proučavanja [58].

#### 1.9.2.1. CTLA-4

Monoklonska protutijela koja inhibiraju djelovanje CTLA-4 sprječavaju njegovo vezivanje sa ligandima CD80/CD86 te na taj način dovode do reaktivacije antitumorskog imunog odgovora koji je posredovan T-limfocitima. Međutim, nema dokaza kako CTLA-4 ima značajnu funkciju kao biomarker, te još nisu otkrivene druge molekule koje bi imali prediktivnu vrijednost u procjeni uspješnosti terapije CTLA-4 inhibitorima [68], [69].

#### 1.9.2.2. PD-1

Postoji nekoliko protutijela koja ciljaju interakciju između PD-1 receptora i njegovih liganada PD-L1 i PD-L2. Postoji nekoliko različitih mehanizama djelovanja. Jedan je upotreba protutijela koja djeluju direktno na PD-1, a drugi mehanizam podrazumijeva upotrebu protutijela koja se vežu na ligand, PD-L1 i na taj način blokiraju djelovanje. Ova se terapija koristi uglavnom u liječenju NSCLC, i pokazuje zadovoljavajuće rezultate [70], [71].

Imunohistokemijski dokazana pozitivnost na PD-L1 u NSCLC smatra se prediktivnim čimbenikom odgovora na imunoterapiju anti-PD-1 i anti-PD-L1 monoklonskim protutijelima te potencijalnim biomarkerom [72]. Neke pak studije tvrde kako se prekomjerna ekspresija PD-L1 ne može smatrati značajnim prediktivnim biomarkerom za odgovor na imunoterapiju, kao niti prognostičkim biomarkerom. Ova razlika u stavovima se temelji na velikoj varijabilnosti i subjektivnim razlikama u evaluaciji PD-L1 ekspresije, razlikama u metodama detekcije, referentnim granicama za PD-L1 pozitivnost, heterogenosti u PD-L1 ekspresiji kao i razlikama u mjestu PD-L1 ekspresije. Nužno je provesti dodatna istraživanja te standardizirati protokole testiranja kako bi se potvrdila prikladnost ekspresije PD-L1 u svrhu predikcije i biomarkera [58].

## 2. IMUNOTERAPIJA

Povećano zanimanje za razvoj imunoterapije proizlazi iz činjenice da većina suvremenih načina liječenja uključuje primjenu lijekova koji uništavaju stanice koje se brzo dijele, što uključuje i normalne stanice. To rezultira povećanjem pobolijevanja od drugih bolesti, te povećanom smrtnosti od samog karcinoma. Imunosni odgovor na tumor je specifičan za tumorske antigene i ne uzrokuje oštećenje vlastitih stanica. Cilj imunoterapije tumora jest jačanje imunološkog odgovora domaćina ili primjena pasivne imunosti s ciljem uništavanja tumorskih stanica. Postoji veliki izazov za razvoj imunoterapije koja bi se primjenjivala u liječenju SCLC-a, budući da se tu radi o tumorima koji su genetički jako heterogeni. Što se NSCLC-a tiče većina kliničkih istraživanja i razvijenih terapijskih linija provedena je upravo s ciljem liječenja ovog karcinoma [1].

Strategija liječenja uznapredovalog karcinoma pluća razvila se iz personaliziranog pristupa koji se zasniva na histologiji i molekularnim specifičnostima. Genske mutacije na receptorima, odnosno protein-kinazama koje rezultiraju nekontroliranim rastom, proliferacijom i preživljavanjem tumora nazivaju se *driver-mutacije* (iz eng. *Driver*-pokretač). Takve su mutacije pronađene u većini karcinoma, u 60% adenokarcinoma i čak 80% karcinoma skvamoznih stanica. Ciljno mjesto djelovanja imunoterapije su upravo produkti tih mutacija [16].

Imunološki sustav prepoznaje tumorske stanice kao strane, a sama imunoterapija potiče inhibiciju koja onemogućava rast tumora i širenje bolesti [73].

Imunoterapija karcinoma pluća dolazi u nekoliko oblika, a uključuje monoklonska protutijela, antitumorska cjepiva i adoptivnu staničnu terapiju [73].

### 2.1. ANTITUMORSKO CJEPIVO

Cilj imunoterapije karcinoma pluća koja uključuje cjepiva jest povećanje ili stvaranje prirodnog ili adoptivnog antitumorskog imunološkog odgovora. Koristi biološki aktivne pripravke cijelih stanica ili pripravke specifičnog proteinskog antigena. Antitumorska cjepiva se daju pacijentima u kombinaciji s neaktivnim patogenom ili nespecifičnim imunološkim stimulansom s ciljem povećanja imunološke reaktivnosti. Supstrat koji se aplicira potom obrade antigen predočničke stanice, koje ih predstavljaju na svojoj površini te na taj način aktiviraju B i T-limfocitne efektore [74]. Dvije su skupine antitumorskog cjepiva, a to su cjelostanično cjepivo i ciljno specifično cjepivo.



### 2.1.1. CJELOSTANIČNO CJEPIVO

Cjelostanično cjepivo se dobiva iz autolognih ili alogenih tumorskih stanica. Ova cjepiva izlažu imunološki sustav domaćina raznim tumorskim antigenima.

Belagenpumatucel-L (Lucanix) je cjepivo sačinjeno od cjelovitih stanica. Proizvedeno je iz ozračenih alogenskih staničnih linija NSCLC-a transfektiranih TGF- $\beta$ 2 (engl. *Transforming Growth Factor- $\beta$ 2*) plazmidom. TGF- $\beta$ 2 ima imunosupresivno djelovanje te je povezan sa lošom prognozom u bolesnika s nesitnostaničnim karcinomom pluća. Ovo cjepivo se nije pokazalo učinkovitim te više nije u kliničkom razvoju [74], [68], [75].

Tergenpumatucel-L je cjelostanično cjepivo koje se trenutno nalazi u fazi ispitivanja. Ono je razvijeno iz tri alogenske linije tumorskih stanica pluća. Te su stanice genetski modificirane da eksprimiraju ugljikohidratnu  $\alpha$ -galaktoziltransferazu. Taj enzim ima snažno imunogeno djelovanje te je odgovoran za pojavu hiperakutnog odbacivanja. Trenutno je u fazi ispitivanja u kombinaciji s indoksimodom [74].

Vigaenpumatucel-L je cjelostanično cjepivo za koje se trenutno provode klinička ispitivanja [74].

DPV-001 je novo cjelostanično cjepivo koje je trenutno u fazi pretkliničkih ispitivanja [74].

### 2.1.2. ANTIGEN SPECIFIČNO CJEPIVO

Ova vrsta imunoterapije podrazumijeva poticanje specifičnog protutumorskog odgovora na određene antigene koji su eksprimirani na površini tumora. Budući da ova cjepiva napadaju specifični antigen, ne smiju se primjenjivati kod svih pacijenata.

Cjepivo MAGE-A3 cilja antigen povezan sa melanomom (engl. *melanoma-associated antigen A3*) koji je eksprimiran samo na tumorskim stanicama. Ovaj antigen eksprimiran je u 35-55% slučajeva NSCLC-a. Rezultati kliničkih studija faze II ne pokazuju značajno poboljšanje [76]. Kliničko ispitivanje faze III MAGE-A3 pozitivnih IB/IIA NSCLC pacijenata zaustavljeno je 2014. godine zbog neostvarenja primarnog cilja, a to je preživljenje bez progresije tumora.

Tecemotid (Stimuvax, L-BLP25) je antigen specifično cjepivo koje cilja glikoprotein mucin-1 (MUC-1) i potiče T stanični imunosni odgovor na ovaj glikoprotein. Prekomjerna ekspresija MUC-1 i njegova abnormalna glikozilacija povezani su sa 60% karcinoma pluća. Testiranja u pretkliničkim stadijima pokazala su da ovo cjepivo izaziva jak imunološki odgovor protiv karcinoma pluća. U kliničkim ispitivanjima su rezultati znatno skromniji. U usporedbi s placebo, ovo je cjepivo produžilo životni vijek za svega 3 mjeseca naspram placebo [77].

TG4010 cjepivo je nastalo iz modificiranog Vaccina virusa. Ovo cjepivo sadrži sekvencu koja kodira za MUC-1 i IL-2. rezultati ispitivanja iz faze IIB u 148 bolesnika s uznapredovalim NSCLC-om i ekspresijom MUC-1 pokazali su porast preživljenja bez progresije od 6 mjeseci [78].

## 2.2. MONOKLONSKA PROTUTIJELA

Koncept terapije monoklonskim protutijelima uveden je nakon identifikacije mutacija koje su specifične za tumorske stanice u nesitnostaničnom karcinomu pluća. Antitijela koja se koriste se sastoje od potpuno humanih fragmenata ili kimeričnih miš/čovjek fragmenata. Mehanizam djelovanja im je dvojak. Mogu djelovati neizravno, vežući se na specifične tumorske antigene čime se pokreće o antigenima ovisna stanična citotoksičnost (engl. *Antibody Dependent Cell Cytotoxicity*, ADCC). Drugi mehanizam djelovanja jest direktni učinak kada, vežući se za ciljani receptor blokiraju njegovu funkciju [79], [80]. Najučinkovitije djelovanje pokazao je princip temeljen na regulaciji kontrolne točke (engl. *checkpoint blockade*). Regulacija imunoloških kontrolnih točaka zasniva se na blokiranju inhibitornih kostimulacijskih molekula i u kliničkoj se praksi pokazala najdjelotvornijom [81]. Treći oblik liječenja koji se temelji na protutjelima je imunotoksična terapija. Ona koristi antitijela za vezanje jakih toksina u citosol stanice karcinoma, što na kraju rezultira staničnom smrću [82].

### 2.2.1. KOMPETITIVNA INHIBICIJA

Ovakva vrsta inhibicije podrazumjeva natjecanje monoklonskih protutijela sa normalno prisutnim supstratima u organizmu za vezno mjesto na receptoru ili enzimu. Protutijela iz ove skupine svoj učinak ostvarju direktnim putem [83].

#### 2.2.1.1. EGFR ANTITIJELO

Ova antitijela se natječu za vezno mjesto na receptoru epidermalnog faktora rasta (EGFR). Djeluju tako da blokiraju mjesto interakcije receptora i epidermalnog faktora rasta (EGF). Nakon njegove blokade, dolazi do internalizacije receptora, čime se inhibira prijenos aberantnog signala i prekida se rast tumora. Nekoliko ovakvih antitijela je u uporabi u kliničkoj praksi.

Cetuksimab (Erbix) je anti-EGFR antitijelo koje sadrži mišje komponentne. Međutim, ovo antitijelo nije pokazalo znatnu učinkovitost u svojoj dosadašnjoj uporabi. Primjenjivalo se u kombinaciji s kemoterapijom kao prva linija liječenja uznapredovalog NSCLC-a [84].

Necitumumab (IMC-11 F8) je antitijelo slično cetuksimabu, ali ne sadrži mišje komponente. Za ovo cjepivo su su provedena dva klinička ispitivanja faze III za liječenje nesitnostaničnog karcinoma pluća. Jedno istraživanje provedeno je za pločasti NSCLC u stadiju IV. U tom je pokusu necitumumab primjenjivan zajedno s kemoterapijom kao prva terapijska linija. Takvo

kombinirano liječenje pokazalo je značajno poboljšanje ukupnog preživljenja. Drugi pokus proveden je za liječenje neskvamoznog NSCLC-a, no terapijski učinci u tom slučaju nisu bili obećavajući [85].

#### 2.2.1.2. VEGFR- ANTITIJELO

Ovo je protutijelo razvijeno za blokadu vaskularnog endotelnog faktora rasta (engl. *Vascular Endothelial Growth Factor*, VEGF). Djeluje na mehanizam koji je uključen u rast, preživljavanje i ekspanziju tumora. VEGF zajedno sa svojim receptorom (VEGFR) potiče stvaranje novih krvnih žila što omogućuje opskrbu tumora nutrijentima te njegovo preživljenje i rast. Osim toga, neoangiogeneza potiče invaziju tumora i njegovo metastaziranje. Zbog toga je VEGFR receptor dobra potencijalna meta za terapijsko djelovanje monoklonskim protutijelima [86].

Bevacizumab (Avastin) je najproučavanije monoklonsko protutijelo koje se trenutno koristi [86]. Istraživanje koje je provedeno od strane Eastern Cooperative Oncology Group pokazalo je da kombinacija paklitaksel-karboplatin-bevacizumab primjenjivana kod bolesnika s rekurentnim ili uznapredovalim NSCLC ima značajno bolji utjecaj na preživljenje nego dvojna terapija paklitaksel-karboplatin [87]. Na temelju ovih rezultata, bevacizumab je odobren kao prva linija u liječenju pacijenata sa rekurentnim ili uznapredovalim NSCLC. Drugo ispitivanje faze III, nazvano AVAiL (engl. *AVAstin in Lung study*) kombiniralo je bevacizumab u malim i visokim dozama u kemoterapiji cisplatin-gemcitabin. Ovo ispitivanje rezultiralo je značajnim poboljšanjem preživljenja bez progresije (engl. *progression-free survival*, PFS). Preživljenje kod kombinirane terapije iznosilo je 6.5 mjeseci u odnosu na 6.1 mjesec kod liječenja samo kemoterapijom [88]. Kod uporabe Bevacizumaba je zabilježen povećan rizik za pojavu plućne hemoragije kod pacijenata sa skvamoznim NSCLC. Međutim, donesen je zaključak kako je potrebno izraditi neovisnu procjenu rizika i koristi budući da nisu potvrđeni jasni biološki razlozi za pojačano krvarenje povezano s liječenjem [89].

Ramucirumab (IMC-1121B, CYRAMZA) je potpuno humano IgG1 protutijelo proizvedeno u mišjim stanicama (NS0) metodom rekombinantne DNA. Ovo protutijelo veže se na izvanstanični dio VEGFR i na taj način blokira njegovu interakciju s VEGF-om. Indicirana je za liječenje metastatskog ili uznapredovalog karcinoma pluća ne-malih stanica NSCLC, u kombinaciji s kemoterapijom [90]. Studija koja je ispitala ramucirumab u kombinaciji s docetakselom i docetaksel s placebom u liječenju progresivnog stadij IV NSCLC-a pokazala je porast medijana ukupnog preživljenja- 10.5 mjeseci naspram 9.1 mjesec;  $P=0,023$ . Također, studija je pokazala i poboljšanje preživljenja bez progresije - 4.5 mjeseci naspram 3.0 mjeseca;  $P<0.0001$  [91].

### 2.2.1.3. MET- ANTITIJELO

Ovo monoklonsko protutijelo za ciljno mjesto djelovanja ima receptor c-MET. To je tirozin kinaza koja je uključena u staničnu proliferaciju, preživljavanje i invaziju tumora. Prekomjerna ekspresija MET receptora dokazana je u 40% NSCLC-a [92]. Dva su poznata monoklonsta protutijela koja ciljaju ovaj receptor i njegov signalni put. To su onartuzumab (MetMAb) i fiklatuzumab. Ornatuzumab svojim vezanjem postiže inhibiciju MET receptora. Fiklatuzumab cilja cMET ligand kako bi spriječio njegovo vezivanje na receptor i blokirao signalni put. Oba su protutijela trenutno u fazi razvitka [93].

### 2.2.2. BLOKADA KONTORLNE TOČKE

Kod blokade imunoloških kontrolnih točaka (engl. checkpoint blockade) antitijela se koriste za blokiranje inhibičijskih signalnih puteva. Cilj djelovanja ovih protutijela su PD-1 (receptor programirane smrti stanica), PD-L1 (ligand-1 programiranog receptora smrti stanice) i CTLA-4 (citotoksični T-limfocitni antigen 4) [74].

#### 2.2.2.1. PD-1 INHIBICIJA

Receptor programirane stanične smrti -1 (engl. *Programmed cell Death protein 1*, PD-1) član je B7-CD28 superobitelji membranskih proteina. Ovaj receptor nalazimo eksprimiran na aktiviranim T i B limfocitima i NK stanicama (engl. *Natural Killer*, NK). On se veže ili na PD-L1 (B7-H1) ili na PD-L2 (B7-DC) te tim vezanjem inhibira transkripciju NF- $\kappa$ B. To za rezultat ima inhibiciju stanične proliferacije [80].

U ovoj skupini su razvijena dva protutijela- Nivolumab i Pembrolizumab.

Nivolumab je humano IgG4 PD-1 protutijelo koje uzrokuje blokadu receptora, ali bez ADCC aktivnosti. Odobreno je od strane FDA kao druga linija liječenja rezistentnog skvamoznog NSCLC-a. Uz njegovo korištenje vezane su i brojne nuspojave koje uključuju umor, pneumonitis i proljev, a pojavljuju se u 3-4% bolesnika. 22 od 129 liječenih pacijenata pokazalo je srednje trajanje odgovora na terapiju od 17 mjeseci. Slično su reagirali i pacijenti sa skvamoznim i neskvamoznim NSCLC-om [94].

Pembrolizumab je monoklonsko protutijelo koje ima značajno antitumorsko djelovanje kod melanoma, ali pokazuje i određenu stopu učinkovitosti kod liječenja karcinoma pluća. U skupini od 495 bolesnika s uznapredovalim NSCLC-om koji su primili ovaj oblik terapije, 19.4% ispitanika je dobro odgovorilo na terapiju. Međutim, i ovo protutijelo ima određene nuspojave, među kojima su povišenje transaminaze, anemija, kolitis i osip. Klinička ispitivanja koja su trenutno u tijeku procjenjuju kako bi pembrolizumab u kombinaciji s kemoterapeutima mogao biti obećavajuća terapijska strategija za liječenje uznapredovalih stadija ne-sitnostaničnog karcinoma pluća [71].

#### 2.2.2.2. PD-L1 INHIBICIJA

PD-L1 (B7-H1) molekula je receptor eksprimiran na T i B limfocitima i APC (antigen predočnim stanicama). Služi kao ligand za PD-1 i uključen je u inhibicijsku signalizaciju T- stanica. Svojim djelovanjem smanjuje proizvodnju citokina i koči staničnu proliferaciju. Njegova ekspresija je u korelaciji s lošom prognozom. Povećana ekspresija PD-L1 povezana je s lošijom prognozom kod oboljelih od NSCLC-a i nekih drugih malignih bolesti. Razvijeno je nekoliko anti-PD-L1 antitijela-MPDL3280A, MEDI4736 i BMS-936559). Njihova se učinkovitost trenutno ispituje kod oboljelih od karcinoma pluća [95].

MPDL3280A je humano anti-PDL1 monoklonsko protutijelo koje sadrži moduliranu Fc domenu dizajniranu za minimiziranje ADCC učinka. U svezi s ovim monoklonskim protutijelom provedena je studija koja je proučavala učinak MPDL3280A s docetakselom. Ova je studija stratificirala ispitanike prema razinama ekspresije PD-L1 te je dala dobre rezultate. U fazi II uočen je porast PFS-a na 9.7 naspram 3.9 mjeseci za bolesnike s visokom razinom ekspresije PD-L1 [96].

MEDI4736 je humano IgG1 monoklonsko protutijelo koje je osmišljeno s ciljem da spriječi ADCC. Ono blokira vezanje PD-L1 za PD-1 i CD-80. trenutno je u tijeku kliničko ispitivanje kojim se procjenjuje uporaba ovog protutijela u liječenju lokalno uznapredovalog i metastatskog NSCLC-a u kombiniranoj terapiji sa tremelimumabom. Primjena ove terapije povezana je s nekoliko endokrinih nuspojava, uključujući tiroiditis/hipotireozu i hipofizitis [97].

#### 2.2.2.3. CTLA-4 INHIBICIJA

CTLA-4 (engl. *Cytotoxic T-lymphocyte antigen-4*) homodimerni je glikoproteinski receptor koji je eksprimiran na aktiviranim T- limfocitima i regulatornim T stanicama (T<sub>reg</sub>). Spada u

kostimulacijske molekule. Ovaj se receptor veže uz CD28 molekulu za B7(CD80/CD86) koja je izražena na predočnim stanicama (engl. Antigen Presenting Cell, APC) čime pokreće direktan inhibitorni signal. APC stanice uključuju makrofage, dendritičke stanice i B-limfocite [80]. Djelovanje ovih antitijela sastoji se u tome da blokiraju inhibiciju izazvanu CD 28-B7 vezom te promoviraju antitumorsku aktivnost. Osim toga, blokada CTLA-4 povećava i subpopulaciju CD4+ limfocita T koji infiltriraju tumor. Antitijela protiv ovih receptora su bila među prvim blokatorima kontrolnih točaka koja su klinički testirana [75].

Tremelimumab i ipilimumab su glavni predstavnici ove skupine. Njihov učinak se trenutno ispituje na karcinomu pluća i mezoteliomu [98].

Tremelimumab (poznat još i kao CP-675 206) je humano IgG2 protutijelo. Njegova primjena u liječenju nije pokazala značajnije poboljšanje preživljenja bez progresije [98].

Ipilimumab (MDX-010, YERVOY) je humani IgG. Ovo je protutijelo predmet kliničkih studija koje proučavaju njegovu primjenu sa paklitakselom i karboplatinom. Druga faza kliničkog ispitivanja kombinacije paklitaksel-karboplatina-ipilimumab u usporedbi sa paklitaksel-karboplatina kombinacijom, pokazala je poboljšanje preživljenja bez progresije i ukupnog preživljenja kod primjene ipilimumaba. Bolji odgovor na terapiju uočen je kod karcinoma skvamoznih stanica pa su se brojne kliničke studije usmjerile ispitivanju kombinacije ipilimumaba sa EGFR inhibitorima ili ALK tirozin kinaznim inhibitorima u oboljelih od NSCLC-a [98].

Velika negativna strana ovih inhibitora je pojava tzv. autoimune toksičnosti. Do ove pojave dolazi zbog prekomjerne aktivacije T- limfocita. Među najčešće manifestacije pojačane dezinhibicije spadaju kolitis, anemija, poremećaj transaminaza, hipofizitis i umor. Većina ovih nuspojava povezana je s primjenom ipilimumaba [74].

#### 2.2.2.4. INHIBICIJA INDOKSIMODOM

Indoksimid (IDO) je metilirani triptofan koji ima inhibitorno djelovanje na imunološku kontrolnu točku. Ciljno mjesto djelovanja mu je IDO-enzim indoleamin 2,3-dioksigenaza, enzim koji razgrađuje aminokiselinu triptofan. Njegovim djelovanjem razina esencijalne aminokiseline triptofana se može povećati ili održati na razini važnoj za funkciju T-limfocita. Pad razine triptofana dovodi i do smanjenja aktivnosti T-limfocita što pogoduje rastu tumora. Indoksimid je trenutno u fazi ispitivanja [74], [99].

### 2.2.3. IMUNOTOKSINSKA TERAPIJA

Ova vrsta antitumorske terapije zasniva se na kombinaciji antitijela ili mutiranog receptora faktora rasta s potentnim toksinima. Kao toksini se najčešće primjenjuju pseudomonasni toksin A ili biljni otrov ricin. Tako stvoren imunotoksični kompleks veže se na površinske molekule membrane tumorske stanice i potom procesom endocitoze ulazi u tumorsku stanicu. Kada se ovaj kompleks nađe u citosolu, dolazi do oslobađanja toksina koji potom inhibira sintezu proteina i zaustavlja stanični ciklus. To rezultira smrću stanice. Ovakva vrsta terapije djeluje čak i na stanice koje nisu mitotski aktivne [82].

SS1P je terapija koja je pokazala obećavajuće učinke u liječenju solidnih tumora. To je rekombinantni imunotoksin usmjeren protiv mezotelina, a na sebi ima vezan pseudomonasni egzotoksin A. Mezotelin je antigen koji nalazimo na staničnim površinama, a prekomjerno je ekspimiran u adenokarcinomu pluća. Ova terapija se pokazala uspješnom u liječenju zloćudnog pleuralnog mezotelioma [16].



## 2.3. ADOPTIVNA STANIČNA TERAPIJA

Adoptivna stanična terapija (eng. *Adoptive Cell Therapy*, ACT) je nova vrsta imunoterapije koja uključuje nekoliko procesa. Prvi korak se sastoji u prikupljanju imunoloških stanica (T limfocita) iz periferne krvi ili samog tumora. Nakon toga slijedi izolacija, modifikacija i *ex vivo* ekspanzija imunoloških stanica specifičnih za tumor. Obradene imunološke stanice se potom vraćaju u autolognog domaćina. Na ovakav način definiraju se imunološke stanice koje su karakteristične za tumorske antigene. ACT ima sposobnost infiltracije tumora, što joj daje svojevrsnu prednost u odnosu na ostale vrste imunoterapije. Progresivna ekspanzija odabranih T-limfocitnih staničnih linija može se postići primjenom visokih doza interleukina 2 (IL-2). Tako stvorena antitumorska populacija dovodi do izravnog citotoksičnog učinka [74], [89]. Novija istraživanja usmjerena su stvaranju kimeričnih antigenskih receptora (eng. *Chimeric Antigen Receptor*, CAR), na površini T limfocita. Trenutno se provode istraživanja koja promatraju učinkovitost ovakve vrste terapije u liječenju NSCLC i mezotelioma, no još nema značajnijih rezultata [100].

### 2.3.1. NK- STANIČNA TERAPIJA

Prirodne NK- stanice su stanice iz reda limfocita koji na svojoj površini ekspimiraju CD3-CD56+ biljege. Ove stanice imaju sposobnost izlučivanja citoplazmatskih granula koje sadrže enzime granzime te perforin. Na taj način NK-stanice mogu ubiti određene ciljne stanice. Osim toga, ove stanice mogu izazvati programiranu apoptozu vezivanjem sa ciljnim stanicama, te ih na taj način uništiti [80].

Terapija koja se temelji na stanicama ubojicama koristi ekspanzirane autologne ili alogene NK stanice za liječenje karcinoma. Provedeno je nekoliko kliničkih ispitivanja o učinkovitosti ove vrste terapije u liječenju uznapredovalog NSCLC-a. U istraživanjima, NK stanična terapija primjenjivana je u kombinaciji sa kemoterapijom. Istraživanje je obuhvatilo 15 pacijenata koji su primili 2-4 doze NK-stanica koje aktiviraju alogene. Rezultati su pokazali značajnu učinkovitost. Čak 56% bolesnika je imalo stopu preživljenja od jedne godine, a 19% njih je imalo dvogodišnju stopu preživljenja. Kod primjene terapije nisu zabilježene značajne nuspojave [101].

### 2.3.2. TERAPIJA $\gamma\delta$ -T-STANICAMA

Ova vrsta T-limfocita specifična je po tome što nije ograničena MHC (engl. *Major Histocompatibility Complex*) molekulama te mogu prepoznati strukturno različite ligande.

Specifičnost ovih stanica je i to što imaju sposobnost obilnog lučenja citokina. Na taj način mogu izazvati tzv. citokinsku oluju i na taj način izazvati uništavanje karcinomskih stanica [80].

### 2.3.3. CIK- STANIČNA TERAPIJA

Citokin inducirane ubojice (engl. *Cytokine Induced Killer*, CIK) heterogena su populacija efektorskih CD8+ limfocita T. Ove stanice nastaju *in vitro* ekspanzijom limfocita periferne krvi. Do ekspanzije dolazi kada limfociti u perifernoj cirkulaciji budu inducirani anti-CD3-antitjelima i IL-2. Prednost ovih stanica je u tome što se brzo razmnožavaju te pokazuju izrazitu citotoksičnu aktivnost. Provedeno je nekoliko studija o učinkovitosti ovakve vrste terapije naspram kemoterapije. Rezultati su pokazali produljenje preživljenja bez progresije kod pacijenata kod kojih je CIK-stanična terapija kombinirana sa kemoterapijom [102], [103].

### 2.3.4. KIMERIČNI ANTIGENSKI RECEPTOR

T-stanični receptori su ograničeni specifičnošću MHC molekule, ali je njihovim genskim preusmjeravanjem moguće otkriti i površinske i intracelularne antigene. Ta je spoznaja u fokus proučavanja stavila nove kimerične receptore [74].

Kimerični se antigenski receptori (CAR) sastoje od tri komponente: izvanstanične jednolnčane domene koja veže antigen (scFv domena); transmembranskog dijela načinjenog od CD8+ ili IgG4 fragmenta te citoplazmatske domene koja omogućuje preživljavanje i proliferaciju. Prednost ovog sintetički stvorenog receptora jest da scFv domena premošćuje MHC molekulu koja je suprimirana od strane tumora. Na ovaj način modificirane T-stanice pokazale su kliničku učinkovitost u liječenju hematoloških malignih oboljenja, te su se zbog toga intenzivirala proučavanja učinka CAR-T stanica u solidnim tumorima. Neke od strategija koje se razvijaju jesu: tandemski CAR koji ima sposobnost vezanja dvaju odvojenih antigena; poticanje kaskadne stimulacije vezanih receptora te inkluzija „samoubilačkih“ gena u T-limfocite [16].

## 2.4. IZAZOVI IMUNOTERAPIJE

Iako imunoterapija predstavlja novi pristup u liječenju karcinoma, ona, kao i između ostalog druge vrste terapije, ima određena ograničenja. Jedan od glavnih izazova koje pred struku stavlja imunoterapijsko liječenje jesu toksični učinci terapije na organizam. Većina toksičnih nuspojava kod primjene imunoterapije vezana je uz primjenu inhibitora kontrolnih točaka. Ti su štetni učinci po svojoj naravi autoimuni i mogu biti životno ugrožavajući. Jedan od glavnih izazova je smanjene štetnih učinaka terapije na organizam, uz zadržavanje njene adekvatne učinkovitosti na tumorske stanice [41].

Dokazana učinkovitost imunoterapije u liječenju karcinoma pluća otvara novo poglavlje u razvoju novih lijekova s još većom antitumorskom učinkovitošću. Istraživanja koja su provedena u liječenju NSCLC i SCLC sa kombiniranom terapijom dala su obećavajuće rezultate. Odgovori na liječenje su bili dobri te se učinak održao i nakon prekida terapije [41].

Međutim, na ovom području ostalo je mnogo neodgovorenih pitanja. Jedan od glavnih problema s kojim se susrećemo jest optimalan odabir pacijenata kod kojih bi primjena ovakvog oblika terapije dala zadovoljavajuće rezultate. Struka se tu nastoji osloniti na molekularni probir, identificirajući molekule koje se mogu dovesti u korelaciju s uspješnošću terapije. Osim toga, ostaje otvoreno pitanje trajanja terapije, odnosno određivanje adekvatne duljine njene primjene. Velik je izazov i odrediti adekvatno vrijeme u kojem bi se postigli maksimalni pozitivni učinci uz istovremeno izbjegavanje toksičnih učinaka. Redoslijed i kombinacija s drugim vrstama terapije također je jedan od problema koje je potrebno proučiti i riješiti, kako bi se našla najoptimalnija kombinacija liječenja. Provedene su brojne studije koje su proučavale učinak imunoterapije u kombinaciji s kemoterapijom, te su njihovi rezultati postavili smjerokaz za daljnja klinička istraživanja [41].

Identifikacija biomarkera koji bi služili kao prediktori uspješnosti terapije još je jedan od izazova koje pred nas stavlja primjena ovog načina liječenja. Identifikacija ovih molekula kao i određivanje razine njihove ekspresije na tumorskim stanicama, omogućila bi razvoj učinkovitijih kombiniranih režima [41], [58].

Jedan od glavnih problema imunoterapije je svakako njeno toksično djelovanje na organizam. Iako je njen toksični učinak na stanice tumora iznimno poželjan, toksične nuspojave povezane s imunološkim reakcijama predstavljaju veliki izazov prilikom zbrinjavanja takvih pacijenata. Te su nuspojave poprilično specifične te se različito manifestiraju u pojedinim pacijenata. Osim toga, njihova klinička manifestacija poprilično odstupa u odnosu na nuspojave prouzročene kemoterapijom. Stoga je potrebno proučiti najbolje metode za zbrinjavanje ovakvih pacijenata [41].

I jedan od najvećih izazova koje pred struku i zdravstveni sustav stavljaju lijekovi iz ove skupine je svakako njihova cijena. Iako je u kliničkom pogledu imunoterapija polučila odličan uspjeh u liječenju karcinoma pluća, posebice NSCLC, ekonomski gledano predstavlja velik zalogaj za zdravstveni sustav. Primjena imunoterapije poprilično povećava trošak liječenja te zahtjeva velike financijske izdatke. Jedan od glavnih izazova s kojim se medicinska struka treba suočiti je upravo „financijska toksičnost“ ovih lijekova. Iako pružaju odlične kliničke rezultate, njihova cijena predstavlja snažan fiskalni udarac na zdravstveni sustav i njegova ograničena sredstva. Postizanje razumne cijene ovih lijekova od velike je važnosti jer će se time omogućiti njihova šira primjena. Prevladavanje pozitivnog učinka imunoterapije na liječenje karcinoma nad negativnim ekonomskim učinkom na resurse zdravstvenog sustava svakako je najveći izazov koji je potrebno prevladati [41].

### 3. ZAKLJUČAK

Razvoj imunoterapije proteklog desetljeća značajno je doprinjeo poboljšanju liječenja karcinoma pluća. Primjenom imunoterapije u liječenju karcinoma pluća očekuje se značajno poboljšanje i produljenje života pacijenata. O tome da li će postignuti učinak u bliskoj budućnosti biti statistički značajan i nakon pet godina može se tek nagađati. Prema do sada provedenim kliničkim istraživanjima očekuje se veća efikasnost kod liječenja imunoterapijom u odnosu na ostale tradicionalne terapijske oblike [16]. Principi imunoterapije još se susreću s mnogim ograničenjima, kao što je adekvatni odabir pacijenata, nuspojave te visoka cijena [41].

Terapija antitumorskim cjepivima ima nekoliko ograničenja. Dva najvažnija su nedostatak snažne ekspresije ciljnih antigena te oslanjanje na urođenu imunost u borbi protiv immunosupresivnog dominantnog mikrookoliša s kakvim se susrećemo kod karcinoma pluća [104].

Što se liječenja imunotoksinima tiče, potrebno je poduzeti nekoliko koraka kako bi se poboljšala efikasnost te umanjila štetnost njihova učinka. Toksični učinak nevezan za cilj (odnosno tumor) treba svesti na minimum, primjenom efikasnih immunosupresivnih režima pospješiti toleranciju na imunotoksin, te spriječiti nastajanje neterapeutskog imunološkog odgovora [82].

Terapija inhibitorima kontrolne točke najviše obećava, no izazov je definiranje povoljnog terapijskog indeksa kojim bi se postigao balans između efektivnog antitumorskog učinka i autoimune reakcije organizma koja se, kao nuspojava, javlja kod primjene ovog oblika terapije [81].

Jedan od najvećih izazova imunoterapije je odabir adekvatnih kandidata tj. pacijenata koji će od takvog liječenja imati najviše koristi. Odabir kandidata vrši se na osnovi proširenosti bolesti, postojećih kliničkih parametara i učinka dosadašnje terapije. Imunoterapija je optimalna druga linija liječenja u oboljelih koji nemaju kontraindikacije za liječenje. Imunoterapija je kao prva linija liječenja opravdana u slučaju bolesnika koji imaju visok udio specifičnog biomarkera zastupljenog u više od 50% tumorskih stanica [79]. Veliki problem primjene imunoterapije u liječenju SCLC-a predstavlja i velika genska varijabilnost tih tumora te brojne mutacije koje su prisutne u tumorima. Zbog toga je jako teško odabrati najpovoljniji i najučinkovitiji terapijski režim. Iznimno je važno za ciljanu terapiju i imunoterapiju krenuti s učinkovitim liječenjem od početka. Kirurško liječenje, radioterapija i kemoterapija neznatno su doprinjele liječenju

uznapredovalih stadija bolesti, stoga budućnost izlječenja leži u brzom napretku na području molekularne medicine te uvođenju ciljanih bioloških lijekova u terapijske protokole [79], [16].

Svaki tumor ima drugačiju genetsku građu, a sukladno tome i drugačije biološko ponašanje. Stoga nije moguće sve karcinome pluća tretirati na isti način. Međutim, napredak na područjima medicinske genetike i molekularne dijagnostike omogućuje razvoj personalizirane medicine i njenu implementaciju u liječenju karcinoma pluća [105].

## 4. REFERENCE

- [1]: Stuart Ralston Ian Penman Mark Strachan Richard Hobson, *Davidson's Principles and Practice of Medicine*, 23rd ed. Elsevier, 2018.
- [2] J. A. Vrdoljak Eduard, Belac Lovasić Ingrid, Kusić Zvonko, Gugić Damir, *Klinička onkologija*, 3. Zagreb: Medicinska naklada, 2018.
- [3] "National cancer institute." <https://www.cancer.gov/>.
- [4] J. A. Barta, C. A. Powell, and J. P. Wisnivesky, "Global Epidemiology of Lung Cancer.," *Ann. Glob. Heal.*, vol. 85, no. 1, Jan. 2019, doi: 10.5334/aogh.2419.
- [5] "In oncology." <https://www.inoncology.com/>.
- [6] N. M. Damjanov Ivan, Seiwert Sven, Jukić Stanko, *Patologija*, 5. preured. Zagreb: Medicinska naklada, 2017.
- [7] Ferlay J, Ervik M, Lam F, Colombet M, Mery L, Piñeros M, Znaor A, Soerjomataram I, Bray F, "Cancer Today (powered by GLOBOCAN 2018) IARC CancerBase No. 15." <https://publications.iarc.fr/>.
- [8] M. Jakopovic, "Posljedice disfunkcije inzulinu sličnih čimbenika rasta i njihovih receptora u karcinomu pluća nemalih stanica [The consequences of Insulin-like growth factors/receptors dysfunction in non-small cell lung cancer]," Apr. 2007.
- [9] "Lung Cancer Europe." <https://www.lungcancereurope.eu/>.
- [10] A. C. Society, "American Cancer Society. Cancer Facts & Figures 2020," *American Cancer Society*. pp. 1–52, 2020, [Online]. Available: <http://www.cancer.org/acs/groups/content/@nho/documents/document/caff2007pwse-curedpdf.pdf>.
- [11] M. B. Beasley, E. Brambilla, and W. D. Travis, "The 2004 World Health Organization classification of lung tumors.," *Semin. Roentgenol.*, vol. 40, no. 2, pp. 90–97, Apr. 2005, doi: 10.1053/j.ro.2005.01.001.
- [12] M. L. G. Janssen-Heijnen and J.-W. W. Coebergh, "The changing epidemiology of lung cancer in Europe.," *Lung Cancer*, vol. 41, no. 3, pp. 245–258, Sep. 2003, doi: 10.1016/s0169-5002(03)00230-7.
- [13] Hrvatski zavod za javno zdravstvo, "Registar za rak Republike Hrvatske. Incidencija raka u Hrvatskoj 2017.," *Bilt. 42, Zagreb*, no. 42, 2020.
- [14] S. S. Hecht, "Tobacco Smoke Carcinogens and Lung Cancer," *JNCI J. Natl. Cancer*

- Inst.*, vol. 91, no. 14, pp. 1194–1210, Jul. 1999, doi: 10.1093/jnci/91.14.1194.
- [15] J. Peto, "That the effects of smoking should be measured in pack-years: misconceptions 4.," *British journal of cancer*, vol. 107, no. 3. pp. 406–407, Jul. 2012, doi: 10.1038/bjc.2012.97.
- [16] Šargač Valentina: "Principi imunoterapije u liječenju karcinoma pluća nemalih stanica"; dostupno na <https://repositorij.mef.unizg.hr/islandora/object/mef:2982>
- [17] P. Boffetta *et al.*, "Cigar and pipe smoking and lung cancer risk: a multicenter study from Europe.," *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 91, no. 8, pp. 697–701, Apr. 1999, doi: 10.1093/jnci/91.8.697.
- [18] IARC, "WORLD HEALTH ORGANIZATION INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans VOLUME 83 Tobacco Smoke and Involuntary Smoking," *Tob. Smoke Involuntary Smok.*, vol. 83, p. Volume 83, 2004.
- [19] C. H. Kim *et al.*, "Secondhand Tobacco Smoke Exposure and Lung Adenocarcinoma In Situ/Minimally Invasive Adenocarcinoma (AIS/MIA)," *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, vol. 24, no. 12, pp. 1902–1906, Dec. 2015, doi: 10.1158/1055-9965.EPI-15-0436.
- [20] M. Oberg, M. S. Jaakkola, A. Woodward, A. Peruga, and A. Prüss-Ustün, "Worldwide burden of disease from exposure to second-hand smoke: a retrospective analysis of data from 192 countries.," *Lancet (London, England)*, vol. 377, no. 9760, pp. 139–146, Jan. 2011, doi: 10.1016/S0140-6736(10)61388-8.
- [21] D. B. Abrams, "Promise and peril of e-cigarettes: can disruptive technology make cigarettes obsolete?," *JAMA*, vol. 311, no. 2, pp. 135–136, Jan. 2014, doi: 10.1001/jama.2013.285347.
- [22] L. M. Dutra and S. A. Glantz, "Electronic cigarettes and conventional cigarette use among U.S. adolescents: a cross-sectional study.," *JAMA Pediatr.*, vol. 168, no. 7, pp. 610–617, Jul. 2014, doi: 10.1001/jamapediatrics.2013.5488.
- [23] "ZZJZ; Pušenje i zdravlje." <https://www.zzjzdnz.hr/>.
- [24] O. P. Kurmi, P. H. Arya, K.-B. H. Lam, T. Sorahan, and J. G. Ayres, "Lung cancer risk and solid fuel smoke exposure: a systematic review and meta-analysis.," *Eur. Respir. J.*, vol. 40, no. 5, pp. 1228–1237, Nov. 2012, doi: 10.1183/09031936.00099511.
- [25] F. Barone-Adesi *et al.*, "Risk of lung cancer associated with domestic use of coal in



- Xuanwei, China: retrospective cohort study,” *BMJ Br. Med. J.*, vol. 345, p. e5414, Aug. 2012, doi: 10.1136/bmj.e5414.
- [26] R. P. Young, R. J. Hopkins, T. Christmas, P. N. Black, P. Metcalf, and G. D. Gamble, “COPD prevalence is increased in lung cancer, independent of age, sex and smoking history,” *Eur. Respir. J.*, vol. 34, no. 2, pp. 380 LP – 386, Aug. 2009, doi: 10.1183/09031936.00144208.
- [27] R. P. Young *et al.*, “Chromosome 4q31 locus in COPD is also associated with lung cancer,” *Eur. Respir. J.*, vol. 36, no. 6, pp. 1375 LP – 1382, Dec. 2010, doi: 10.1183/09031936.00033310.
- [28] J. P. de Torres *et al.*, “Lung cancer in patients with chronic obstructive pulmonary disease-- incidence and predicting factors.,” *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 184, no. 8, pp. 913–919, Oct. 2011, doi: 10.1164/rccm.201103-0430OC.
- [29] D. O. Wilson *et al.*, “Association of radiographic emphysema and airflow obstruction with lung cancer.,” *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 178, no. 7, pp. 738–744, Oct. 2008, doi: 10.1164/rccm.200803-435OC.
- [30] J. J. Zulueta *et al.*, “Emphysema scores predict death from COPD and lung cancer.,” *Chest*, vol. 141, no. 5, pp. 1216–1223, May 2012, doi: 10.1378/chest.11-0101.
- [31] D. R. Brenner *et al.*, “Previous lung diseases and lung cancer risk: a pooled analysis from the International Lung Cancer Consortium.,” *Am. J. Epidemiol.*, vol. 176, no. 7, pp. 573–585, Oct. 2012, doi: 10.1093/aje/kws151.
- [32] D. R. Brenner, J. R. McLaughlin, and R. J. Hung, “Previous lung diseases and lung cancer risk: a systematic review and meta-analysis.,” *PLoS One*, vol. 6, no. 3, p. e17479, Mar. 2011, doi: 10.1371/journal.pone.0017479.
- [33] H. H. Nelson and K. T. Kelsey, “The molecular epidemiology of asbestos and tobacco in lung cancer.,” *Oncogene*, vol. 21, no. 48, pp. 7284–7288, Oct. 2002, doi: 10.1038/sj.onc.1205804.
- [34] A. C. Olsson *et al.*, “Exposure to diesel motor exhaust and lung cancer risk in a pooled analysis from case-control studies in Europe and Canada.,” *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 183, no. 7, pp. 941–948, Apr. 2011, doi: 10.1164/rccm.201006-0940OC.
- [35] E. Garshick, F. Laden, J. E. Hart, M. E. Davis, E. A. Eisen, and T. J. Smith, “Lung cancer and elemental carbon exposure in trucking industry workers.,” *Environ. Health*

- Perspect.*, vol. 120, no. 9, pp. 1301–1306, Sep. 2012, doi: 10.1289/ehp.1204989.
- [36] P. Hystad, P. A. Demers, K. C. Johnson, R. M. Carpiano, and M. Brauer, “Long-term residential exposure to air pollution and lung cancer risk.,” *Epidemiology*, vol. 24, no. 5, pp. 762–772, Sep. 2013, doi: 10.1097/EDE.0b013e3182949ae7.
- [37] S. Oberoi, A. Barchowsky, and F. Wu, “The global burden of disease for skin, lung, and bladder cancer caused by arsenic in food.,” *Cancer Epidemiol. biomarkers Prev. a Publ. Am. Assoc. Cancer Res. cosponsored by Am. Soc. Prev. Oncol.*, vol. 23, no. 7, pp. 1187–1194, Jul. 2014, doi: 10.1158/1055-9965.EPI-13-1317.
- [38] F. L. Büchner *et al.*, “Variety in fruit and vegetable consumption and the risk of lung cancer in the European prospective investigation into cancer and nutrition.,” *Cancer Epidemiol. biomarkers Prev. a Publ. Am. Assoc. Cancer Res. cosponsored by Am. Soc. Prev. Oncol.*, vol. 19, no. 9, pp. 2278–2286, Sep. 2010, doi: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0489.
- [39] A. Matakidou, T. Eisen, and R. S. Houlston, “Systematic review of the relationship between family history and lung cancer risk.,” *Br. J. Cancer*, vol. 93, no. 7, pp. 825–833, Oct. 2005, doi: 10.1038/sj.bjc.6602769.
- [40] J. Zugazagoitia, A. B. Enguita, J. A. Nuñez, L. Iglesias, and S. Ponce, “The new IASLC/ATS/ERS lung adenocarcinoma classification from a clinical perspective: current concepts and future prospects.,” *J. Thorac. Dis.*, vol. 6, no. Suppl 5, pp. S526-36, Oct. 2014, doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.01.27.
- [41] Reckamp Karen L, *Lung Cancer, Treatment and Research*. Springer, 2016.
- [42] C. S. Dela Cruz, L. T. Tanoue, and R. A. Matthay, “Lung cancer: epidemiology, etiology, and prevention.,” *Clin. Chest Med.*, vol. 32, no. 4, pp. 605–644, Dec. 2011, doi: 10.1016/j.ccm.2011.09.001.
- [43] I. Tsiouprou, A. Zaharias, and D. Spyrtos, “The Role of Immunotherapy in Extensive Stage Small-Cell Lung Cancer: A Review of the Literature,” *Can. Respir. J.*, vol. 2019, p. 6860432, 2019, doi: 10.1155/2019/6860432.
- [44] B. N. Gomperts *et al.*, “Evolving concepts in lung carcinogenesis.,” *Semin. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 32, no. 1, pp. 32–43, Feb. 2011, doi: 10.1055/s-0031-1272867.
- [45] Wilkinson Ian B., Raine Tim, Wiles Kate, Goodhart Anna, Hall Catriona, O’Neill Harriet, *Oxford Handbook of Clinical Medicine*, 10th ed. Oxford University Press, 2017.

- [46] S. H. Bradley, M. P. T. Kennedy, and R. D. Neal, "Recognising Lung Cancer in Primary Care.," *Adv. Ther.*, vol. 36, no. 1, pp. 19–30, Jan. 2019, doi: 10.1007/s12325-018-0843-5.
- [47] J. Shim, L. Brindle, M. Simon, and S. George, "A systematic review of symptomatic diagnosis of lung cancer.," *Fam. Pract.*, vol. 31, no. 2, pp. 137–148, Apr. 2014, doi: 10.1093/fampra/cmt076.
- [48] A. Anwar, F. Jafri, S. Ashraf, M. A. S. Jafri, and M. Fanucchi, "Paraneoplastic syndromes in lung cancer and their management.," *Ann. Transl. Med.*, vol. 7, no. 15, p. 359, Aug. 2019, doi: 10.21037/atm.2019.04.86.
- [49] NICE, "Suspected Cancer: Recognition and Referral - PubMed - NCBI," *NICE Guidel.*, no. July 2017, pp. 1–378, 2015, [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26180880%5Cnhttps://www.nice.org.uk/guidance/ng12/evidence/full-guidance-74333341>.
- [50] S. Stapley, D. Sharp, and W. Hamilton, "Negative chest X-rays in primary care patients with lung cancer," *Br. J. Gen. Pract.*, vol. 56, no. 529, pp. 570–573, Aug. 2006, [Online]. Available: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16882373>.
- [51] F. J. Larke *et al.*, "Estimated radiation dose associated with low-dose chest CT of average-size participants in the National Lung Screening Trial.," *AJR. Am. J. Roentgenol.*, vol. 197, no. 5, pp. 1165–1169, Nov. 2011, doi: 10.2214/AJR.11.6533.
- [52] C. F. Mountain, "Revisions in the International System for Staging Lung Cancer.," *Chest*, vol. 111, no. 6, pp. 1710–1717, Jun. 1997, doi: 10.1378/chest.111.6.1710.
- [53] D. M. Xu *et al.*, "Nodule management protocol of the NELSON randomised lung cancer screening trial.," *Lung Cancer*, vol. 54, no. 2, pp. 177–184, Nov. 2006, doi: 10.1016/j.lungcan.2006.08.006.
- [54] P. B. Bach *et al.*, "Benefits and harms of CT screening for lung cancer: a systematic review.," *JAMA*, vol. 307, no. 22, pp. 2418–2429, Jun. 2012, doi: 10.1001/jama.2012.5521.
- [55] P. F. Pinsky and C. D. Berg, "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.*, vol. 19, no. 3, pp. 154–156, Sep. 2012, doi: 10.1258/jms.2012.012010.
- [56] Government of the Republic of Croatia, "Nacionalni program za probir i rano

- otkrivanje raka pluća 2020.-2024.," p. 26, 2020, [Online]. Available: [https://zdravlje.gov.hr/UserDocImages/2019 Programi i projekti/NACIONALNI PROGRAM PREVENCIJE RAKA PLUĆA.pdf](https://zdravlje.gov.hr/UserDocImages/2019%20Programi%20i%20projekti/NACIONALNI%20PROGRAM%20PREVENCIJE%20RAKA%20PLUĆA.pdf).
- [57] T. S. K. Mok, "Personalized medicine in lung cancer: what we need to know.," *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, vol. 8, no. 11, pp. 661–668, Aug. 2011, doi: 10.1038/nrclinonc.2011.126.
- [58] P. Villalobos and I. I. Wistuba, "Lung Cancer Biomarkers.," *Hematol. Oncol. Clin. North Am.*, vol. 31, no. 1, pp. 13–29, Feb. 2017, doi: 10.1016/j.hoc.2016.08.006.
- [59] L. M. Sholl, "Biomarkers in lung adenocarcinoma: a decade of progress.," *Arch. Pathol. Lab. Med.*, vol. 139, no. 4, pp. 469–480, Apr. 2015, doi: 10.5858/arpa.2014-0128-RA.
- [60] I. Chatziandreou *et al.*, "Comprehensive Molecular Analysis of NSCLC; Clinicopathological Associations," *PLoS One*, vol. 10, no. 7, p. e0133859, Jul. 2015, [Online]. Available: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133859>.
- [61] K. Bergethon *et al.*, "ROS1 rearrangements define a unique molecular class of lung cancers.," *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, vol. 30, no. 8, pp. 863–870, Mar. 2012, doi: 10.1200/JCO.2011.35.6345.
- [62] G. R. R. Ricciardi *et al.*, "NSCLC and HER2: between lights and shadows.," *J. Thorac. Oncol. Off. Publ. Int. Assoc. Study Lung Cancer*, vol. 9, no. 12, pp. 1750–1762, Dec. 2014, doi: 10.1097/JTO.0000000000000379.
- [63] R. Wang *et al.*, "RET fusions define a unique molecular and clinicopathologic subtype of non-small-cell lung cancer.," *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, vol. 30, no. 35, pp. 4352–4359, Dec. 2012, doi: 10.1200/JCO.2012.44.1477.
- [64] A. Vaishnavi *et al.*, "Oncogenic and drug-sensitive NTRK1 rearrangements in lung cancer.," *Nat. Med.*, vol. 19, no. 11, pp. 1469–1472, Nov. 2013, doi: 10.1038/nm.3352.
- [65] F. Passiglia *et al.*, "The potential of neurotrophic tyrosine kinase (NTRK) inhibitors for treating lung cancer.," *Expert Opin. Investig. Drugs*, vol. 25, no. 4, pp. 385–392, 2016, doi: 10.1517/13543784.2016.1152261.
- [66] T. Jiang, G. Gao, G. Fan, M. Li, and C. Zhou, "FGFR1 amplification in lung squamous cell carcinoma: a systematic review with meta-analysis.," *Lung Cancer*, vol. 87, no. 1, pp. 1–7, Jan. 2015, doi: 10.1016/j.lungcan.2014.11.009.

- [67] R. Dienstmann *et al.*, “Genomic aberrations in the FGFR pathway: opportunities for targeted therapies in solid tumors.,” *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.*, vol. 25, no. 3, pp. 552–563, Mar. 2014, doi: 10.1093/annonc/mdt419.
- [68] D. M. Pardoll, “The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy,” *Nat. Rev. Cancer*, vol. 12, no. 4, pp. 252–264, 2012, doi: 10.1038/nrc3239.
- [69] N. Seetharamu, D. R. Budman, and K. M. Sullivan, “Immune checkpoint inhibitors in lung cancer: past, present and future.,” *Future Oncol.*, vol. 12, no. 9, pp. 1151–1163, May 2016, doi: 10.2217/fon.16.20.
- [70] J. R. Brahmer, “Immune checkpoint blockade: the hope for immunotherapy as a treatment of lung cancer?,” *Semin. Oncol.*, vol. 41, no. 1, pp. 126–132, Feb. 2014, doi: 10.1053/j.seminoncol.2013.12.014.
- [71] E. B. Garon *et al.*, “Pembrolizumab for the Treatment of Non–Small-Cell Lung Cancer,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 372, no. 21, pp. 2018–2028, Apr. 2015, doi: 10.1056/NEJMoa1501824.
- [72] H. Borghaei *et al.*, “Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non–Small-Cell Lung Cancer,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 373, no. 17, pp. 1627–1639, Sep. 2015, doi: 10.1056/NEJMoa1507643.
- [73] G. Zhang *et al.*, “Adoptive immunotherapy for non-small cell lung cancer by NK and cytotoxic T lymphocytes mixed effector cells: retrospective clinical observation.,” *Int. Immunopharmacol.*, vol. 21, no. 2, pp. 396–405, Aug. 2014, doi: 10.1016/j.intimp.2014.04.026.
- [74] E. M. Fumito Ito, *Immune Checkpoint Inhibitors in Cancer*, 1st ed. Elsevier, 2018.
- [75] H. Chen *et al.*, “Anti-CTLA-4 therapy results in higher CD4+ICOS<sup>hi</sup> T cell frequency and IFN-gamma levels in both nonmalignant and malignant prostate tissues.,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 106, no. 8, pp. 2729–2734, Feb. 2009, doi: 10.1073/pnas.0813175106.
- [76] J. Vansteenkiste *et al.*, “Adjuvant MAGE-A3 immunotherapy in resected non-small-cell lung cancer: phase II randomized study results.,” *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, vol. 31, no. 19, pp. 2396–2403, Jul. 2013, doi: 10.1200/JCO.2012.43.7103.
- [77] C. Butts *et al.*, “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.*, vol. 15, no. 1, pp. 59–68, Jan. 2014, doi: 10.1016/S1470-2045(13)70510-2.
- [78] E. Quoix *et al.*, "Therapeutic vaccination with TG4010 and first-line chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer: a controlled phase 2B trial.," *Lancet. Oncol.*, vol. 12, no. 12, pp. 1125–1133, Nov. 2011, doi: 10.1016/S1470-2045(11)70259-5.
- [79] D. P. Carbone, D. R. Gandara, S. J. Antonia, C. Zielinski, and L. Paz-Ares, "Non-Small-Cell Lung Cancer: Role of the Immune System and Potential for Immunotherapy.," *J. Thorac. Oncol. Off. Publ. Int. Assoc. Study Lung Cancer*, vol. 10, no. 7, pp. 974–984, Jul. 2015, doi: 10.1097/JTO.0000000000000551.
- [80] P. S. Abbas Abul K., Lichtman Andrew H., *Stanična i molekularna imunologija*, 8. izdanje. Zagreb: Medicinska naklada, 2018.
- [81] M. Jakopović *et al.*, "Immunotherapy in the treatment of non-small cell lung cancer," *Libr. Oncol.*, vol. 45, no. 2–3, pp. 60–64, 2017, doi: 10.1016/j.lungcan.2012.05.020.
- [82] T. J. J. Lynch *et al.*, "Immunotoxin therapy of small-cell lung cancer: a phase I study of N901-blocked ricin.," *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, vol. 15, no. 2, pp. 723–734, Feb. 1997, doi: 10.1200/JCO.1997.15.2.723.
- [83] Leksikografski zavod, "Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje," 2021. .
- [84] Z. Y. Yang *et al.*, "Chemotherapy with cetuximab versus chemotherapy alone for chemotherapy-naive advanced non-small cell lung cancer," *Cochrane Database Syst. Rev.*, no. 11, 2014, doi: 10.1002/14651858.CD009948.pub2.
- [85] N. Thatcher *et al.*, "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.*, vol. 16, no. 7, pp. 763–774, Jul. 2015, doi: 10.1016/S1470-2045(15)00021-2.
- [86] J. E. Chaft *et al.*, "Phase II trial of neoadjuvant bevacizumab plus chemotherapy and adjuvant bevacizumab in patients with resectable nonsquamous non-small-cell lung cancers.," *J. Thorac. Oncol. Off. Publ. Int. Assoc. Study Lung Cancer*, vol. 8, no. 8, pp. 1084–1090, Aug. 2013, doi: 10.1097/JTO.0b013e31829923ec.
- [87] A. Sandler *et al.*, "Paclitaxel-carboplatin alone or with bevacizumab for non-small-cell lung cancer.," *N. Engl. J. Med.*, vol. 355, no. 24, pp. 2542–2550, Dec. 2006, doi: 10.1056/NEJMoa061884.

- [88] M. Reck *et al.*, “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. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, vol. 27, no. 8, pp. 1227–1234, Mar. 2009, doi: 10.1200/JCO.2007.14.5466.
- [89] M. Mayor, N. Yang, D. Sterman, D. R. Jones, and P. S. Adusumilli, “Immunotherapy for non-small cell lung cancer: current concepts and clinical trials.,” *Eur. J. cardiothoracic Surg. Off. J. Eur. Assoc. Cardio-thoracic Surg.*, vol. 49, no. 5, pp. 1324–1333, May 2016, doi: 10.1093/ejcts/ezv371.
- [90] N. E. Blocks, “Non-Small Cell,” 2020.
- [91] E. B. Garon *et al.*, “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 (London, England)*, vol. 384, no. 9944, pp. 665–673, Aug. 2014, doi: 10.1016/S0140-6736(14)60845-X.
- [92] K. Inami *et al.*, “Secretion of N-ERC/mesothelin and expression of C-ERC/mesothelin in human pancreatic ductal carcinoma.,” *Oncol. Rep.*, vol. 20, no. 6, pp. 1375–1380, Dec. 2008.
- [93] J. Goździk-Spychalska *et al.*, “c-MET Inhibitors in the Treatment of Lung Cancer,” *Curr. Treat. Options Oncol.*, vol. 15, no. 4, pp. 670–682, 2014, doi: 10.1007/s11864-014-0313-5.
- [94] N. A. Rizvi *et al.*, “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.*, vol. 16, no. 3, pp. 257–265, Mar. 2015, doi: 10.1016/S1470-2045(15)70054-9.
- [95] S. L. Topalian *et al.*, “Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer.,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 366, no. 26, pp. 2443–2454, Jun. 2012, doi: 10.1056/NEJMoa1200690.
- [96] A. I. Spira *et al.*, “Efficacy, safety and predictive biomarker results from a randomized phase II study comparing MPDL3280A vs docetaxel in 2L/3L NSCLC (POPLAR).,” *J. Clin. Oncol.*, vol. 33, no. 15\_suppl, p. 8010, May 2015, doi: 10.1200/jco.2015.33.15\_suppl.8010.
- [97] N. A. Rizvi *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.*, vol. 33, no. 15\_suppl, p. 8032, May 2015, doi: 10.1200/jco.2015.33.15\_suppl.8032.
- [98] T. J. Lynch *et al.*, “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. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.*, vol. 30, no. 17, pp. 2046–2054, Jun. 2012, doi: 10.1200/JCO.2011.38.4032.
- [99] E. Fox *et al.*, “Indoximod: An Immunometabolic Adjuvant That Empowers T Cell Activity in Cancer.” *Front. Oncol.*, vol. 8, p. 370, 2018, doi: 10.3389/fonc.2018.00370.
- [100] O. Yeku, X. Li, and R. J. Brentjens, “Adoptive T-Cell Therapy for Solid Tumors.” *Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. book. Am. Soc. Clin. Oncol. Annu. Meet.*, vol. 37, pp. 193–204, 2017, doi: 10.1200/EDBK\_180328.
- [101] E. G. Iliopoulou *et al.*, “A phase I trial of adoptive transfer of allogeneic natural killer cells in patients with advanced non-small cell lung cancer.” *Cancer Immunol. Immunother.*, vol. 59, no. 12, pp. 1781–1789, Dec. 2010, doi: 10.1007/s00262-010-0904-3.
- [102] S. Bin Shi, T. H. Ma, C. H. Li, and X. Y. Tang, “Effect of maintenance therapy with dendritic cells: cytokine-induced killer cells in patients with advanced non-small cell lung cancer.” *Tumori*, vol. 98, no. 3, pp. 314–319, 2012, doi: 10.1700/1125.12398.
- [103] R. Li *et al.*, “Autologous cytokine-induced killer cell immunotherapy in lung cancer: a phase II clinical study.” *Cancer Immunol. Immunother.*, vol. 61, no. 11, pp. 2125–2133, Nov. 2012, doi: 10.1007/s00262-012-1260-2.
- [104] D. Morgensztern *et al.*, “Molecularly targeted therapies in non-small-cell lung cancer annual update 2014.” *J. Thorac. Oncol. Off. Publ. Int. Assoc. Study Lung Cancer*, vol. 10, no. 1 Suppl 1, pp. S1-63, Jan. 2015, doi: 10.1097/JTO.0000000000000405.
- [105] B. Dragan, “Prof. dr. sc. Miroslav Samaržija: Borba s rakom pluća – jesmo li pobijedili?,” *Medix*. <https://www.medix.hr/> .



## 5. ZAHVALA

Zahvaljujem se svom mentoru, prof.dr.sc. Marku Jakopoviću, na uloženom trudu, vremenu, potpori, prijedlozima i savjetima prilikom izrade ovog diplomskog rada.

Veliko hvala mom bratu i dugogodišnjem cimeru Toniju na sveukupnoj podršci, mentalnoj i financijskoj, koju mi je pružao tokom studija. Hvala ti za svaku lijepu riječ, utjehu, kritiku i pohvalu, vesele trenutke i izazove koje si pred mene postavljao. Bio si vjerni navijač, ali i žestoki kritičar te si me naučio strpljenju i upornosti.

Zahvaljujem se svojim kolegicama i prijateljicama dr. Mariji Čagalj, dr. Tei Galić, dr. Ivani Fumiš, dr. Petri Rodić i dr. Tei Runje na svojoj pomoći i savjetima koje su mi pružile i lijepim trenucima koje su sa mnom proživjele. Drago mi je da ste obogatile moj život i uljepšale moj put do diplome.

Dragom dečku Danielu želim zahvaliti na svemu što je učinio za mene. Bio si moj najveći oslonac, navjerniji navijač i najbolji prijatelj. Hvala ti na strpljenju i razumijevanju koje si imao za mene i moj studij, na odricanju i trudu koji si i sam uložio kako bi mi pomogao da dođem do cilja.

Najveće hvala želim uputiti svojim roditeljima, Marku i Mariji, koji su mi svojim trudom, žrtvom i odricanjem sve ovo omogućili. Hvala vam na svemu što ste mi pružili, što ste vjerovali u mene čak i onda kada ni sama nisam i što ste mi bili bezuvjetna potpora kroz cijeli studij. Bez vas ništa od ovog ne bi bilo moguće.

## 6. ŽIVOTOPIS

Rođena sam u Šibeniku gdje sam završila Osnovnu školu Petra Krešimira IV te nakon 4 godine maturirala u Gimnaziji Antuna Vrančića. Tijekom školovanja sam pokazala izniman interes za prirodne znanosti te sam sudjelovala na županijskim i državnim natjecanjima iz matematike, biologije i kemije. Tijekom svog osnovnoškolskog i srednjoškolskog obrazovanja bavila sam se atletikom, rukometom, astronomijom i pjevanjem. Tečno govorim engleski i talijanski te poznajem osnove njemačkog jezika.

Nakon završene gimnazije upisala sam Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. 2016. godine, uz studij, počinjem raditi u tvrtci Bayer d.o.o. kao niži stručni suradnik za prijevod medicinskih i znanstvenih tekstova, što mi je omogućilo razvoj i poboljšanje komuniacijskih vještina, sudjelovanje na brojnim radionicama i kongresima iz područja interne medicine te stjecanje novih znanja iz područja biomedicine i zdravstva. 2018. godine, kao student, počinjem raditi u diviziji Dijagnostike tvrtke Roche d.o.o. gdje radim i danas.

Područja mog interesa su imunologija, pulmologija, onkologija i patologija.