

THE INFLUENCE OF GENETIC POLYMORPHISMS ON THE TOXICITY OF PLATINUM-BASED CHEMOTHERAPY IN THE TREATMENT OF NON-SMALL CELL LUNG CANCER

UTICAJ GENSKIH POLIMORFIZAMA NA TOKSIČNOST PLATINSKE HEMIOTERAPIJE U LEČENJU PACIJENATA SA METASTATSKIM NESITNOĆELIJSKIM KARCINOMOM PLUĆA

Jelena Spasić¹, Davorin Radosavljević¹, Ljudmila Nagorni-Obradović²

¹ Institut za onkologiju i radiologiju Srbije, Beograd, Srbija

² Klinika za pulmologiju, UKCS, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Beograd, Srbija

Correspondence: jelena.spasic@ncrc.ac.rs

Abstract

Lung cancer remains one of the most frequent and the deadliest of malignant diseases throughout the world. Target and immune therapy have revolutionized the treatment of this disease, but platinum-based chemotherapy still has a place in the treatment algorithm. The toxicity profile of cisplatin is well known and can be a limiting factor in the adequate treatment delivery of the drug. There are important inter-individual differences in the efficacy and the toxicity of all chemotherapy drugs, which cannot be explained solely by the characteristics of the tumor. In order to define predictive factors for the occurrence of toxic effects, numerous genetic alterations have been investigated - especially single nucleotide polymorphisms (SNPs). The investigated genes are those involved in DNA repair mechanisms, signal pathways of apoptosis, DNA synthesis, transport mechanisms, but often with inconclusive and opposing results. It is clear that the effect of SNPs on the occurrence of cisplatin toxicity cannot be explained by investigating just one or several genes alone, but epigenetic interactions must be investigated, as well as interactions with outside factors. The study of SNPs is, however, a relatively simple and inexpensive method and, as such, can be used as one of the prognostic tools for everyday practice.

Keywords:

single nucleotide polymorphisms, cisplatin, toxicity

Sažetak

Karcinom pluća je među najčešćim i najsmrtonosnijim malignim bolestima u svetu. I pored značajnih pomaka u lečenju uvođenjem ciljane i imunološke terapije, hemioterapija zasnovana na platinskim derivatima zadržava svoje mesto u terapijskom algoritmu. Toksična dejstva platinskih derivata, naročito cisplatina, dobro su poznata, javljaju se relativno često i mogu biti ograničavajući faktor za sprovođenje adekvatnog lečenja. Postoje značajne interindividualne razlike kako u efikasnosti, tako i u ispoljenoj toksičnosti hemioterapije, koje se ne mogu u potpunosti objasniti osobinama same bolesti. U cilju pronalaženja prediktivnih faktora za ispoljavanje toksičnosti, veliki značaj se daje genskim alteracijama, naročito polimorfizmima jednog nukleotida (SNPs). Ispitivan je uticaj polimorfizama velikog broja gena uključenih u sisteme popravke DNK, signalne puteve apoptoze, DNK sinteze, transportnih mehanizama, ali su rezultati nekonzistentni i često postoje značajne metodološke razlike među sprovedenim studijama. Jasno je da uticaj polimorfizama na ispoljenu toksičnost nije posledica promene samo jednog gena, pa čak ni nekoliko njih, već da odgovor treba tražiti u epigenetskim interakcijama, kao i interakcijama sa sredinskim faktorima. Ispitivanje polimorfizama je, međutim, relativno jednostavna i jeftina metoda, te se može koristiti kao jedan od prognostičkih alata u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

Ključne reči:

genski polimorfizmi,
cisplatin,
toksičnost

Uvod

Karcinom pluća je i dalje jedno od najčešćih i najsmrtonosnijih malignih oboljenja u svetu. Po podacima *Globocana* iz 2018. godine, godišnje se u svetu registruje oko 2,1 milion novoobolelih od karcinoma pluća, što predstavlja 11,6% od ukupnog broja novoobolelih od malignih bolesti (1). Dve trećine pacijenata se dijagnostikuje u odmaklom stadijumu, što izlečenje čini nemogućim, a samo lečenje zahtevnim. U uznapredovaloj bolesti osnov lečenja predstavlja sistemska terapija (2) i to ciljana, imunološka, a sve manje samo hemioterapija. Međutim, hemioterapija bazirana na platinskim derivatima i dalje ima svoje mesto kod pacijenata čiji tumori ne ekspimiraju neku od mutacija, kada postoje kontraindikacije za primenu imunoterapije, u drugoj i kasnijim linijama lečenja kada je u prvoj liniji primenjena imunoterapija i u prvoj liniji terapije u kombinaciji sa imunoterapijom (2). Takođe, imunološka terapija u mnogim delovima sveta još uvek nije odobrena od strane regulatornih i osiguravajućih agencija, te je primena hemioterapije i dalje osnova lečenja (3).

Efikasnost cisplatina i drugih citotoksičnih lekova ograničena je razvojem neželjenih efekata na zdrava tkiva i razvojem rezistencije tumorskih ćelija na njeno dejstvo. Prema definiciji Svetske zdravstvene organizacije (SZO), neželjeno dejstvo je svaka neželjena reakcija na lek/medicinsko sredstvo primenjeno u uobičajenoj dozi i indikaciji. Učestalost neželjenih dejstava lekova je obično oko 0,1%, dok kod citostatika iznosi oko 90%, što jasno ukazuje na značaj njihovog praćenja, prepoznavanja i primene odgovarajuće terapije (4). Postoje značajne interindividualne razlike u efikasnosti i toksičnosti hemioterapije koje se ne mogu u potpunosti objasniti karakteristikama tumora ili demografskim karakteristikama pacijenta. Stoga su ispitivanja uzroka ovih razlika uključila i genetske činioce, od kojih su najznačajniji mutacije određenih gena, genska ekspresija i genski polimorfizmi (4). U ovom radu će biti razmotren uticaj polimorfizama jednog nukleotida (engl.

single nucleotide polymorphisms, SNPs) na ispoljenu toksičnost platinske hemioterapije u lečenju odmaklog nesitnoćelijskog karcinoma pluća (NSCLC).

Po definiciji, SNPs predstavljaju mesta u genomskoj DNK na kojima normalno postoje sekvence koje se razlikuju u jednom nukleotidu dajući dve moguće varijante alela, pri čemu ređi alel ima frekvenciju bar 1%. Posledica su tačkastih mutacija, odnosno izmene pojedinačne baze i javljaju se na svakih 300 nukleotida, a ima ih oko 10 miliona u humanom genomu. Najveći broj SNPs nema uticaj na normalan razvoj i zdravlje jedinke, dok neki mogu biti značajni u predviđanju rizika za razvoj pojedinih bolesti, osetljivosti na razne faktore kao što su toksini i jonizujuće zračenje ili predviđanju odgovora osobe na određeni lek (5–9).

Principi citotoksične hemioterapije

Po definiciji, hemioterapija predstavlja primenu hemijskih supstanci za terapiju određenog oboljenja. U onkologiji, hemioterapija je primena jedne ili više supstanci koje sprečavaju rast tumora tako što ubijaju tumorske ćelije ili sprečavaju njihovu deobu. Najčešći hemioterapijski režimi u prvoj liniji lečenja uznapredovalog karcinoma pluća zasnivaju se na primeni platinskih dubleta (6). Platinski derivati, prema mehanizmu dejstva, spadaju u grupu interkalirajućih agensa jer stvaraju DNK adukte putem kovalentnih veza, što remeti sekundarnu strukturu DNK (10).

Mehanizam dejstva cisplatina

Cisplatin u ćeliji reaguje sa DNK, stvarajući inter- ili intralančane DNK adukte putem kovalentnih veza, oštećujući njenu sekundarnu strukturu. Kao posledica ovog dejstva cisplatina ćelijski ciklus se zaustavlja u određenim tačkama (kontrolne tačke), kako bi ćelija imala dovoljno vremena da, aktivacijom kompleksne kaskade signalnih

puteva, odnosno sistema popravke DNK, popravi nastalo oštećenje. Ukoliko su sistemi popravke DNK oštećeni ili ne funkcionišu u dovoljnoj meri, ili je oštećenje preveliko da bi se popravilo, aktivira se kaskada apoptoze (11, 12). Međutim, mehanizam dejstva cisplatina mnogo je kompleksniji (slika 1).

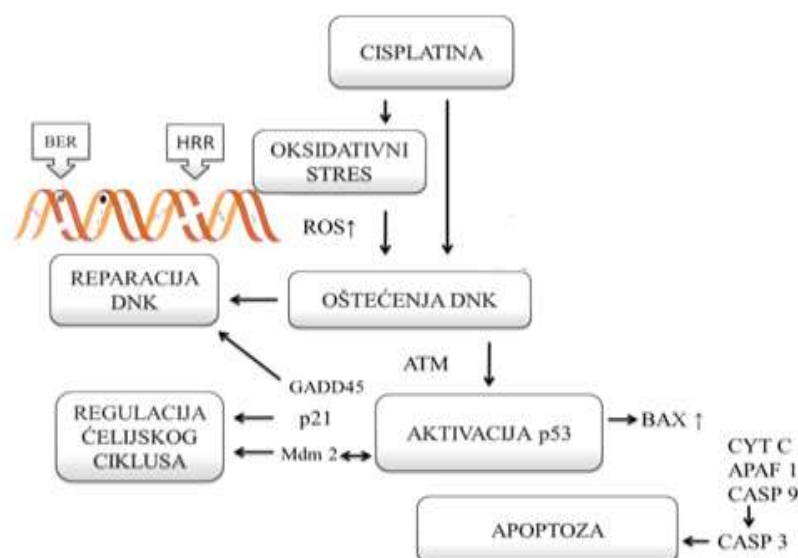
Neželjena dejstva hemioterapije

Efikasnost cisplatina je ograničena razvojem neželjenih efekata na zdrava tkiva i razvojem rezistencije tumorskih ćelija na njegovo dejstvo. Prema vremenu nastanka, neželjeni efekti mogu biti akutni, koji se javljaju par sati do par dana od primene leka, zatim rani, unutar par dana do par nedelja, odloženi (par nedelja do par meseci) ili kasni, koji se mogu javiti i nekoliko godina po primeni leka. Prema sistemu organa koji je oštećen mogu biti hematološki, gastrointestinalni, renalni, neurološki, kožni, kardiološki i mnogi drugi, jer praktično svaki sistem organa može biti oštećen dejstvom citostatika (13). Pojava neželjenih dejstava citotoksičnih agensa na normalne ćelije i tkiva je, uz razvoj rezistencije ćelija tumora, jedan od glavnih razloga nedovoljne efikasnosti hemioterapije. Uopšteno govoreći, razlozi za pojavu neželjenih efekata bilo kog leka su višestruki i potiču kako od bolesnika (starost, pol, ECOG PS, alergije, komorbiditeti...), tako i od samog leka. Za razumevanje pojave specifičnih neželjenih efekata citostatika bitno je imati u vidu kinetiku ćelija, kako tumorskih tako i normalnih, specifične mehanizme dejstva citostatika i njihovu neselektivnost (13–15).

Kinetika maligne i normalne ćelije je u osnovi ista. Svaka ćelija prolazi kroz fazu deobe, odnosno mitoze (M), zatim kroz G1, S i G2 faze u kojima se dešava niz biohemijskih reakcija koje pripremaju ćeliju za deobu i, na kraju, kroz G0 fazu, ili fazu mirovanja. Velika većina citotoksičnih lekova deluje na ćeliju u fazi deobe. Što je veći broj ćelija koje se dele, veći će broj ćelija biti i oštećen. U nekim tkivima se ćelije dele brzo, odnosno ćelijski ciklus

je kratak, i ta tkiva su najosetljivija na dejstvo citostatika. Dužina ćelijskog ciklusa zavisi od dužine trajanja G1 faze, dok su S, G2 i M faza konstantne u različitim tkivima, te trajanje G1 faze određuje trajanje ćelijskog ciklusa, brzinu deobe i samim tim osetljivost na dejstvo citostatika. Postoje, međutim, neka tkiva u čijim ćelijama je G1 faza konstantna (srce, mišići, nervi), te toksičnost citostatika na ova tkiva nastaje nekim drugim mehanizmom. Na osnovu svega navedenog, jasno je da se najveća toksičnost citostatika ispoljava na tkivima čije se ćelije brzo dele, kao što su hematopoezni sistem, sluzokoža digestivnog trakta, folikul dlake i germinativni epitel (16, 17).

Američki Nacionalni institut za rak izdaje vodiče sa standardizovanim definicijama neželjenih reakcija koje se javljaju kod pacijenata obolelih od malignih bolesti i njihovom težinom, tj. gradusom. Ovi vodiči, koji se nazivaju Uobičajeni terminološki kriterijumi za neželjene događaje (engl. *Common Terminology Criteria for Adverse Events, CTCAE*), definišu neželjenu reakciju kao bilo koji neočekivani simptom ili znak koji se javi kod osobe koja prima antineoplastičnu terapiju, pri čemu se uzročno-posledična veza između leka i reakcije ne mora dokazati. U njima je takođe učinjena i gradacija težine ispoljenog neželjenog dejstva, od gradusa 1, tj. blagog neželjenog dejstva, do gradusa 5, što predstavlja smrtni ishod izazvan neželjenim dejstvom citostatika (13, 18). U odnosu na tip neželjenog dejstva i ispoljenog gradusa donosi se odluka o eventualnoj terapiji, kao i daljoj primeni leka koji je to neželjeno dejstvo ispoljio. Pojedine preporuke su iste bez obzira na vrstu toksičnosti: kada je neželjeno dejstvo gradusa 1, uglavnom nema potrebe za njegovim lečenjem i hemioterapeutik se može ponovo ordinirati u istoj dozi i u adekvatnom intervalu. S druge strane, neželjena dejstva gradusa 3 i 4 uvek zahtevaju intenzivno lečenje; pojava toksičnosti gradusa 3 gotovo uvek, a neželjena dejstva gradusa 4 uvek onemogućavaju ponovnu primenu citostatika koji ga je izazvao. Terapija toksičnosti gradusa 2 i ponovna primena citostatika



Slika 1. Mehanizam delovanja cisplatina (Modifikovano iz Dasari S & Tchounwou PB. 2014) (11)

mogu se donekle razlikovati, u zavisnosti od vrste toksičnosti (13, 14).

Toksičnost cisplatina

Cisplatin ima specifičan i dobro poznat profil toksičnosti, koji je u vezi sa njegovim mehanizmom dejstva (19–21). Najčešća neželjena dejstva su gastrointestinalna, u vidu mučnine i povraćanja, oštećenje funkcije bubrega, neurotoksičnost u vidu senzorne neuropatije, mijelotoksičnost, ototoksičnost, hepatotoksičnost i, retko, kardiotoksičnost. Učestalost pojave toksičnosti cisplatina je od 20% do čak 90%, kada je u pitanju mučnina nižeg gradusa (11, 20, 22–24). Pojava toksičnosti može rezultirati smanjenjem doze, odlaganjem lečenja ili prekidom hemioterapije ukoliko dođe do komplikacija opasnih po život. Primećeno je da među pacijentima postoje razlike u pogledu težine toksičnosti izazvane platinskim agensima, pa stoga farmakogenomska analiza genetičkih varijacija, tj. personalizovana medicina ima za cilj da unapred identifikuje pacijente koji imaju veću verovatnoću da razviju neželjene događaje (25).

SNPs kao prediktori toksičnosti platinskih agenasa u karcinomu pluća

Više studija je analiziralo genetičke biomarkere toksičnosti platinske hemioterapije korišćenjem genomskih studija asocijacije i studija sekvenciranja celih egzona (26, 27). Utvrđeno je da su to najčešće molekuli koji učestvuju u metabolizmu i detoksikaciji, popravci oštećenja DNK, influksu i efluksu lekova, sintezi DNK, kontroli ćelijskog ciklusa, apoptozi i slično (28–30). Takođe su ispitivane i interakcije između različitih genetičkih promena u cilju konstruisanja modela koji uzimaju u obzir više faktora toksičnosti u isto vreme (31, 32).

Geni uključeni u popravku DNK

Održavanje stabilnosti genoma zahteva ne samo precizno odigravanje replikacije i rekombinacije molekula DNK već i postojanje procesa čijim delovanjem će se ispravljati spontano nastala oštećenja na genetičkom materijalu. O važnosti sistema za popravku DNK svedoči i visoka evolucionarna konzerviranost njihovih komponenti (33). Platinski agensi dovode do oštećenja na molekulu DNK, a kao najznačajniji mehanizmi koji su uključeni u ispravljanje ovih oštećenja navode se nukleotidna ekscizionna reparacija (engl. *Nucleotide Excision Repair*, NER), reparacija homologom rekombinacijom (engl. *Homologous Recombinational Repair*, HRR) i sistem popravke pogrešno sparenih baza (engl. *mismatch repair*, MMR). Najviše izučavani geni u svojstvu prediktivnih bioloških markera senzitivnosti tumorskih ćelija na cisplatin su geni *ERCC1* (engl. *Excision Repair Cross Complementing-1*, ERCC1), *BRCA1* (engl. *Breast Cancer Type-I Susceptibility protein*, BRCA1), *RAD51* i *XRCC1*. Ukoliko osoba ima polimorfizam nekih od pomenutih, ali i mnogih drugih gena koji dovode do smanjenja aktivnosti

ili efikasnosti sistema za popravku DNK, to se može odraziti na sposobnost ćelije da odreaguje na platinske agense i dovesti do toksičnosti (34).

Geni uključeni u NER sistem popravke DNK

Najispitivaniji polimorfizmi gena *ERCC1* su rs3212986 (C8092A) i rs11615 (C118T). U tri studije je pokazano da rs3212986 utiče na ređu pojavu hematološke toksičnosti gradusa 3 i 4, odnosno toksičnosti visokog gradusa ($p = 0,024$). Polimorfizam rs11615 može imati uticaj na češću pojavu anemije visokog gradusa (OR = 2,23, 95% CI: 1,041–4,775, $p = 0,039$) (30, 35, 36). U analizi španskih autora pokazano je da nosioci T alela polimorfizma C118T ERCC1 gena imaju veći rizik od pojave toksičnosti cisplatina bilo koje vrste ($p = 0,00345$) (37). S druge strane, Ludovini i saradnici nisu pronašli uticaj polimorfizama *ERCC1* C118T i *XPD* Lys751Gln na toksičnost cisplatina (38).

Zang (Zhang) i saradnici su pokazali uticaj polimorfizama *MMS19L* gena na ukupnu pojavu toksičnosti visokog gradusa ($p = 0,024$) i trombocitopeniju visokog gradusa ($p = 0,035$); polimorfizmi *RRM11* gena su takođe povezani sa ukupnom pojavom toksičnosti visokog gradusa ($p = 0,047$) i emeze visokog gradusa ($p = 0,046$); polimorfizmi *ERCC5* su povezani sa češćom pojavom infekcija ($p = 0,017$). Nije bilo uticaja polimorfizama gena *ERCC6* i *XPC* na pojavu toksičnosti (39).

Nekoliko studija i meta analiza je ispitivalo asocijaciju dva polimorfizma *ERCC2* (*XPD*) gena. Utvrđeno je da se kod nosilaca A alela Lys751Gln (rs13181) češće javlja neutropenija gradusa 3 i 4 ($p = 0,04$), dok se kod nosilaca G alela Asp312Asn (rs1799793) ređe javlja hematološka toksičnost visokog gradusa ($p = 0,0005$). Nasuprot ovom nalazu, u studiji sprovedenoj u Španiji, nosioci G alela Asp312Asn gena *ERCC1* imali su veći rizik za pojavu više različitih toksičnosti. Nosioci AA genotipa Lys751Gln imaju povećan rizik od nefrotoksičnosti visokog gradusa ($p = 0,02$) (30, 37, 40). Ovi rezultati nisu potvrđeni u nekoliko drugih studija sa dalekog istoka (35). U analizi španskih autora nosioci CC genotipa polimorfizma rs50872 *ERCC2* gena imali su veću verovatnoću pojave toksičnosti uopšte (37).

Geni uključeni u BER sistem popravke DNK

U kompleksnom BER (engl. *Base Excision Repair*) sistemu popravke DNK najčešće su ispitivani polimorfizmi *XRCC1* gena, sa oprečnim i nekonkluzivnim rezultatima (41–45). Najveći potencijalni uticaj na pojavu toksičnosti pripisuje se polimorfizmu Arg399Gln (46). U studiji kineskih autora nije viđen uticaj polimorfizama Arg399Gln i Arg194Trp na pojavu bilo koje toksičnosti visokog gradusa. Nosioci bar jednog varijantnog alela (Arg/Gln ili Gln/Gln), međutim, imali su povišen rizik za razvoj toksičnosti gradusa 3 ili 4 bilo kog tipa ($p = 0,004$) i gastrointestinalne toksičnosti gradusa 3 i 4 ($p = 0,03$) (41). Peng i saradnici su ispitivali uticaj polimorfizama tri gena uključenih u BER put, Ser326Cys *OGG1* gena, Asp148Glu *APE1-141* gena i Arg399Gln *XRCC1* gena. U njihovoj

seriji, nosioci GA+AA genotipova Arg399Gln *XRCC1* gena imali su povišen rizik za pojavu hematološke toksičnosti ($p = 0,009$), a nosioci GG genotipa Ser326Cys *OGG1* gena i GG genotipa *APE1-141* niži rizik za pojavu gastrointestinalne toksičnosti ($p = 0,015$ i $p = 0,023$) (47). Autori iz Španije su takođe pokazali uticaj A alela Arg399Gln *XRCC1* gena na pojavu toksičnosti visokog gradusa, ali ne i povezanost polimorfizma Arg194Trp *XRCC1* gena i ispoljene toksičnosti platinskih derivata (37).

Geni MMR sistema popravke DNK

MMR sistem popravke DNK naročito je značajan u korekciji grešaka nastalih tokom replikacije DNK, ali je pokazan njegov značaj i pri uklanjanju interlančanih platina/DNK adukata. Ispitan je uticaj alteracija nekoliko gena koji kodiraju proteine učesnike i ovog sistema, kao što su *MLH1*, *MSH2*, *MSH3*, *MSH4*, *MSH5*, *SAPCD1* i *MSH6* (34, 48, 49).

Čen (*Chen*) i saradnici su 2017. godine objavili rezultate uticaja 44 polimorfizma u 6 gena uključenih u MMR sistem popravke DNK. U ovoj analizi, nosioci G alela rs6151627, G alela rs6151670 i T alela rs7709909 gena *MSH3* imali su značajno češću pojavu hematološke toksičnosti. Nosioci C alela rs6544991 *MSH2* gena imali su češću pojavu bilo koje toksičnosti visokog gradusa, dok su nosioci T alela rs707939 gena *MSH5* imali značajno ređu pojavu ukupne i gastrointestinalne toksičnosti. U okviru ove grupe stratifikaciona analiza je pokazala da pacijenti muškog pola, mlađi od 55 godina, pušači i pacijenti sa skvamoznim karcinomom imaju značajno ređu pojavu toksičnosti terapije (50). Zaključak je da postoji jasno protektivno dejstvo pojedinih alela ispitivanih polimorfizama, što bi se moglo iskoristiti u planiranju lečenja pojedinih pacijenata.

Geni uključeni u signalni put apoptoze

Ukoliko sistemi popravke DNK nisu uspeli da uklone nastale platina DNK adukate dolazi do aktivacije signalnog puta apoptoze. U ovom sistemu jednu od najznačajnijih uloga igra *TP53*, koji predstavlja tumor supresorski gen i mutiran je u oko 50% malignih bolesti kod čoveka. Aktivacija *TP53* se dešava pod dejstvom mnogih stresora, uključujući aktivaciju protoonkogeni i oštećenje DNK koje može biti izazvano i antitumorskim lekovima. Po aktivaciji, on, kao značajan transkripcioni faktor, reguliše ekspresiju, lokaciju u ćeliji i aktivnost oko 500 ključnih komponenti ćelijskih procesa, uključujući zaustavljanje ćelijskog ciklusa, popravku DNK i izazivanje apoptoze kao odgovor na stresore. U slučaju inhibicije *TP53* može se razviti hemio rezistencija i preživljavanje maligne ćelije (51–53). Prilikom odgovora na stresor, uključujući i platinske citostatike, za adekvatnu aktivaciju *TP53* puta apoptoze neophodna je komunikacija i koordinacija i sa drugim proteinima, od kojih su se najznačajnijim pokazali *TP73* i *MDM2*. Pojačana ekspresija *MDM2* dovodi do sniženja funkcije *TP53*, što dovodi do inaktivacije puta apoptoze maligne ćelije pod dejstvom platinskih lekova (51). Pretpostavljeno je da polimorfizmi *TP53* i *MDM2* gena

moгу uticati na ispoljenu toksičnost platine zbog uticaja na apoptozu ćelija i zdravih tkiva koja su pod stresom primene platine (54).

Zeng i saradnici su ispitali uticaj tri polimorfizma gena *TP53* i *MDM2* na pojavu toksičnosti, rs104522 (Pro72Arg) gena *TP53*, rs2279744 (309T > G) i rs937282 (461C > G) gena *MDM2*. Utvrdili su da je polimorfizam rs2279744 gena *MDM2* povezan sa pojavom hematološke toksičnosti visokog gradusa, naročito u grupi pacijenata mladih od 55 godina. Nosioci heterozigotnog genotipa rs937282 gena *MDM2* imali su značajno češću pojavu ozbiljne gastrointestinalne toksičnosti. Pacijenti koji su istovremeno nosioci genotipova CG rs937282 i CT rs2279744 gena *MDM2* imali su značajno češću pojavu ozbiljne toksičnosti. Nosioci C alela polimorfizma rs104522 *TP53* gena stariji od 55 godina pod većim su rizikom za nastanak gastrointestinalne toksičnosti gradusa 3 i 4 (54). U kineskoj analizi 640 pacijenata sa NSCLC GG genotip Arg72Pro gena *TP53* bio je povezan sa češćom pojavom gastrointestinalne toksičnosti (40).

U studiji iz Kine na 663 pacijenta sa NSCLC tretirana platinskom hemioterapijom (55) ispitan je uticaj 5 polimorfizama *MDM2* gena i dobijeni su sledeći rezultati: nosioci GG genotipa (recesivnog) polimorfizma rs1470383 imali su povišen rizik od ukupne toksičnosti ($p = 0,009$) i hematološke toksičnosti ($p = 0,001$) u poređenju sa AA genotipom (*wild-type*); nosioci AG genotipa polimorfizma rs1690924 imali su veći rizik za pojavu gastrointestinalne toksičnosti od nosilaca GG (*wild-type*) genotipa ($p = 0,004$).

Liu i saradnici su u već pomenutoj metaanalizi iz 2017. godine (56) saželi podatke iz 4 studije koje su ispitivale uticaj polimorfizama ova dva gena. Na osnovu zbirnih podataka iz tih studija nije dokazana značajna povezanost polimorfizma Arg72Pro gena *TP53*, niti ispitivanih polimorfizama gena *MDM2* na pojavu toksičnosti platinskih režima visokog gradusa.

Geni povezani sa transportom platinskih lekova

Za efikasnost i toksičnost svakog leka, pa i cisplatina, bitna je koncentracija u ćeliji i dužina prisustva leka u ćeliji. Ulazak i izlazak cisplatina iz ćelije regulisan je kompleksnim mehanizmom transmembranskih transportera, kao i putem pasivne difuzije. Uloga genskih polimorfizama gena uključenih u ove procese ispitivana je u pogledu efikasnosti cisplatina i ispoljene toksičnosti (30, 37, 57–59). U velikoj studiji Kristine Perez-Ramirez i saradnika pokazano je da genotip *ABCB1* C1236T-TT nosi visok rizik za pojavu više neželjenih efekata visokog gradusa kod nosioca (37). U drugoj studiji kod nosioca heterozigotnog genotipa CT polimorfizma *ABCB1* c.3435 ređe se javlja hematološka toksičnost u odnosu na homozigote CC, što je potvrđeno i u dominantnom modelu ispitivanja, odnosno prisustvo T alela ima uticaj na manju hematološku toksičnost cisplatina (57).

Ekskrecija cisplatina se uglavnom odvija putem

proksimalnih tubula bubrega, te alteracije u genima koji kodiraju transportere u ćelijama proksimalnih tubula mogu uticati na različitu koncentraciju cisplatina u ćelijama i, samim tim, na njegovu efikasnost i neželjena dejstva. *Qiao* i saradnici su utvrdili da je polimorfizam rs316019 *OCT2* gena povezan sa pojavom hepato- i hematološke toksičnosti, a da polimorfizam rs2289669 *MATE1* gena ima uticaj na pojavu hematološke toksičnosti (58). Metaanaliza *Liua* i saradnika, objavljena 2020. godine, na osnovu analize 20 studija koje su ispitivale 16 polimorfizama u 11 gena, međutim, nije pokazala značajan uticaj polimorfizama transportnih gena na pojavu toksičnosti cisplatina (30). U metaanalizi *Zazulija* i kolega, koja je obuhvalita 28 studija, sa ukupno 300 polimorfizama u 135 gena, utvrđeno je da je u 4 studije polimorfizam rs316019 (p.270Ala > Ser; G > T) *OCT2* gena pokazao značajan uticaj na nižu nefrotoksičnost cisplatina (59).

Geni uključeni u metaboličke procese i detoksikaciju

Kada molekul cisplatina uđe u ćeliju reaguje sa molekulom vode, stvarajući visokoreaktivne komplekse koji su odgovorni za sva dejstva ovog leka. Ovaj kompleks se lako inaktivira konjugovanjem sa glutationom uz pomoć enzima glutation S-trasferaze (GST), čime se smanjuje efikasnost, a potencijalno i toksičnost (60). U studiji *Butona* (*Booton*) i saradnika ispitivan je uticaj polimorfizama Ile105Val, Thr110Ser, Ala114Val, i Asp 147Tyr gena *GSTP1* i pokazana značajno ređa pojava hematološke toksičnosti, naročito neutropenije kod pacijenata koji su nosioci 105Val alela (p = 0,02), ali je registrovana značajno češća pojava neurotoksičnosti (p = 0,01) (61). Metaanaliza *Feja* (*Fei*) i saradnika obuhvatila je 12 studija koje su ispitivale uticaj polimorfizma rs1695 gena *GSTP1* na pojavu hematološke toksičnosti. Pokazala je statistički značajnu korelaciju ovog polimorfizma sa pojavom neutropenije, ali ne i sa pojavom trombocitopenije (62). Druge studije nisu pokazale značajnu povezanost ovih polimorfizama i toksičnosti cisplatina, mada je nekoliko studija sprovedeno da bi se ispitaio njihov uticaj isključivo na pojavu ototoksičnosti.

Protein *WISP1* je uključen u mnoge metaboličke procese u ćeliji, uključujući proliferaciju, diferencijaciju i opstanak ćelija. Izmenjen je u mnogim patološkim procesima, naročito u plućima. U ranijim studijama je pokazano da polimorfizmi ovog gena mogu imati uticaj na osetljivost maligne ćelije na dejstvo cisplatina, te su *Čen* i saradnici ispitivali uticaj 28 različitih polimorfizama *WISP1* gena na pojavu toksičnosti platinske hemioterapije. Pokazali su da su polimorfizmi rs2929965, rs2929969, rs2929970, rs2929973, rs754958 povezani sa ukupnom pojavom toksičnosti, polimorfizmi rs16904853, rs2929970, rs2977549, rs2977551 sa pojavom hematološke toksičnosti, a polimorfizmi rs2929946, rs2929970, rs2977519, rs2977536, rs3739262 i rs754958 sa pojavom gastrointestinalne toksičnosti (63).

Geni uključeni u sintezu DNK

Najviše podataka postoji o uticaju polimorfizama *MTHFR* gena. Metiletetrahidrofolat reduktaza (*MTHFR*) je enzim uključen u metabolizam folata i neophodan je u procesu DNK sinteze i metilacije. Nekoliko polimorfizama ovog gena dovodi do sinteze enzima sa sniženom aktivnošću i povezani su sa hipometilacijom DNK, što posredno utiče na efikasnost cisplatina i ispoljenu toksičnost (40). U kineskoj studiji na 1004 pacijenta sa NSCLC ispitan je uticaj 10 polimorfizama *MTHFR* gena na toksičnost platinske hemioterapije. Utvrđeno je da nosioci mutant homozigotnog AA genotipa polimorfizma rs1537514 imaju značajno veći rizik od pojave gastrointestinalne toksičnosti (p = 0,031) i trombocitopenije (p = 0,009) visokog gradusa. Nosioci heterozigotnih genotipova polimorfizama, rs1801131 (A1298C) i rs1801133 (C677T), imali su ređu pojavu gastrointestinalne toksičnosti visokog gradusa i trombocitopenije visokog gradusa (64). U opsežnom istraživanju španskih autora, međutim, nije dokazan uticaj polimorfizama rs1801131 (S1298C) i rs1801133 (C677T) na ispoljenu toksičnost platinske hemioterapije (37).

Metaanaliza *Liuja* i saradnika iz 2017. godine pronašla je ukupno tri studije koje su ispitivale uticaj polimorfizama rs1801131 (A1298C) i rs1801133 (C677T) *MTHFR* gena na ispoljenu toksičnost. Njihova analiza je pokazala da postoji protektivni efekat C alela rs1801131, tj. da nosioci ovog alela imaju statistički značajno ređu pojavu gastrointestinalne toksičnosti od homozigota AA. Što se tiče polimorfizma rs1801133, utvrdili su da nosioci CC genotipa imaju veći rizik za pojavu hematološke toksičnosti visokog gradusa (30).

Zaključak

Razlike između pojedinaca koje su indukovane pojavom genskih polimorfizama imaju veliki značaj u razvoju toksičnosti na platinske agense u karcinomu pluća. Neophodna su dalja farmakogenomska istraživanja kako bi se otkrilo što više genetičkih faktora koji imaju klinički značaj i potencijalnu primenu u predviđanju rizika od pojave toksičnosti pre primene svakog agensa i otkrivanju njihove međusobne interakcije. Njihov se efekat mora evaluirati i kroz analize povezanosti sa faktorima sredine u prospektivnim, multicentričnim kliničkim studijama.

Literatura

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018; 68(6):394–424.
2. Bironzo P, Di Maio M. A review of guidelines for lung cancer. *J Thorac Dis.* 2018; 10(Suppl 13):S1556–63.
3. Planchard D, Popat S, Kerr K, Novello S, Smit EF, Faivre-Finn C, et al. Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2018; 29:iv192–237.
4. Walshe K. Adverse events in health care: issues in measurement.

- Qual Health Care. 2000; 9(1):47–52.
- Syvänen AC. Accessing genetic variation: genotyping single nucleotide polymorphisms. *Nat Rev Genet*. 2001; 2(12):930–42.
 - JS C. DNA Damage & Repair: Mechanisms for Maintaining DNA Integrity. *Nat Educ*. 2008; 1(1):103.
 - Chistiakov DA, Voronova N V, Chistiakov PA. Genetic variations in DNA repair genes, radiosensitivity to cancer and susceptibility to acute tissue reactions in radiotherapy-treated cancer patients. *Acta Oncol (Madr)*. 2008; 47(5):809–24.
 - Jurišić V, Obradovic J, Pavlović S, Djordjevic N. Epidermal Growth Factor Receptor Gene in Non-Small-Cell Lung Cancer: The Importance of Promoter Polymorphism Investigation. *Anal Cell Pathol (Amst)*. 2018; 2018:6192187.
 - Obradović J, Djordjević N, Tošić N, Mrdjanović J, Stanković B, Stanić J, et al. Frequencies of EGFR single nucleotide polymorphisms in non-small cell lung cancer patients and healthy individuals in the Republic of Serbia: a preliminary study. *Tumour Biol J Int Soc Oncodevelopmental Biol Med*. 2016; 37(8):10479–86.
 - Reiss KA, Hilary Calvert A, O'Dwyer P. Platinum Analogs. In: Jr DV, Lawrence T, Rosenberg S, editors. *DeVita, Hellman and Rosenbergs Cancer, Principles and Practice of Oncology*. 11th ed. Philadelphia: Walters Kluwer; 2019; 431–45.
 - Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol*. 2014; 740:364–78.
 - Siddik ZH. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. *Oncogene*. 2003; 22(47):7265–79.
 - Shewach DS, Kuchta RD. Introduction to cancer chemotherapeutics. *Chem Rev*. 2009; 109(7):2859–61.
 - A S, Baker S. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of anticancer drugs. In: DeVita Jr V, Lawrence T, Raosenberg S, editors. *DeVita, Hellman and Rosenbergs Cancer, Principles and Practice of Oncology*. 11th ed. Philadelphia: Walters Kluwer; 2019; 414–577.
 - Neal A, Hoskin P. Principles of systemic treatment. In: Neal A, Hoskin P, editors. *Clinical Oncology Basic Principles and Practice*. 4th ed. Boca Raton, FL: CRC Press; 2009; 52–66.
 - Mendelson J, Howley P, Israel M, Gray J TC. *The Molecular basis of Cancer*. 4th ed. Saunders; 2014.
 - Roila F, 2015 on behalf of the participants of the MCCC, Molassiotis A, 2015 on behalf of the participants of the MCCC, Herrstedt J, 2015 on behalf of the participants of the MCCC, et al. 2016 MASCC and ESMO guideline update for the prevention of chemotherapy- and radiotherapy-induced nausea and vomiting and of nausea and vomiting in advanced cancer patients. *Ann Oncol*. 2016; 27:v119–33.
 - Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) (Internet). Available from: https://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/ctc.htm#ctc_50
 - Adel N. Overview of chemotherapy-induced nausea and vomiting and evidence-based therapies. *The American journal of managed care*. 2017; 23:S259–65.
 - Amptoulach S, Tsavaris N. Neurotoxicity Caused by the Treatment with Platinum Analogues. *Chemother Res Pract*. 2011; 2011:1–5.
 - Cisplatin Summary of Product Characteristics.
 - Miller RP, Tadagavadi RK, Ramesh G, Reeves WB. Mechanisms of Cisplatin nephrotoxicity. *Toxins (Basel)*. 2010; 2(11):2490–518.
 - Sheth S, Mukherjea D, Rybak LP, Ramkumar V. Mechanisms of Cisplatin-Induced Ototoxicity and Otoprotection. *Front Cell Neurosci*. 2017; 11:338.
 - Adel N. Overview of chemotherapy-induced nausea and vomiting and evidence-based therapies. *Am J Manag Care*. 2017; 23(14 Suppl):S259–65.
 - Hildebrandt MAT, Gu J, Wu X. Pharmacogenomics of platinum-based chemotherapy in NSCLC. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2009; 5(7):745–55.
 - Cao S, Wang S, Ma H, Tang S, Sun C, Dai J, et al. Genome-wide association study of myelosuppression in non-small-cell lung cancer patients with platinum-based chemotherapy. *Pharmacogenomics J*. 2016; 16(1):41–6.
 - Gréen H, Hasmats J, Kupersmidt I, Edsgård D, de Petris L, Lewensohn R, et al. Using Whole-Exome Sequencing to Identify Genetic Markers for Carboplatin and Gemcitabine-Induced Toxicities. *Clin cancer Res an Off J Am Assoc Cancer Res*. 2016; 22(2):366–73.
 - Liu C, Cui H, Gu D, Zhang M, Fang Y, Chen S, et al. Genetic polymorphisms and lung cancer risk: Evidence from meta-analysis and genome-wide association studies. *Lung Cancer*. 2017; 113:18–29.
 - Xiong Y, Huang B-Y, Yin J-Y. Pharmacogenomics of platinum-based chemotherapy in non-small cell lung cancer: focusing on DNA repair systems. *Med Oncol*. 2017; 34(4):48.
 - Liu W, Wang Y, Luo J, Yuan H, Luo Z. Genetic Polymorphisms and Platinum-Based Chemotherapy-Induced Toxicities in Patients With Lung Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Oncol*. 2020; 9:1573.
 - Cui J-J, Wang L-Y, Zhu T, Gong W-J, Zhou H-H, Liu Z-Q, et al. Gene-gene and gene-environment interactions influence platinum-based chemotherapy response and toxicity in non-small cell lung cancer patients. *Sci Rep*. 2017; 7(1):5082.
 - Wang L-Y, Cui J-J, Liu J-Y, Guo A-X, Zhao Z-Y, Liu Y-Z, et al. Gene-gene and gene-environment interaction data for platinum-based chemotherapy in non-small cell lung cancer. Vol. 5, Scientific data. 2018; 180284.
 - Taylor EM, Lehmann AR. Conservation of eukaryotic DNA repair mechanisms. *Int J Radiat Biol*. 1998; 74(3):277–86.
 - Chatterjee N, Walker GC. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. *Environ Mol Mutagen*. 2017; 58(5):235–63.
 - Zheng Y, Deng Z, Yin J, Wang S, Lu D, Wen X, et al. The association of genetic variations in DNA repair pathways with severe toxicities in NSCLC patients undergoing platinum-based chemotherapy. *Int J Cancer*. 2017; 141(11):2336–47.
 - Powrózek T, Mlak R, Krawczyk P, Homa I, Ciesielka M, Kozioł P, et al. The relationship between polymorphisms of genes regulating DNA repair or cell division and the toxicity of platinum and vinorelbine chemotherapy in advanced NSCLC patients. *Clin Transl Oncol*. 2016; 18(2):125–31.
 - Pérez-Ramírez C, Cañadas-Garre M, Alnasha A, Villar E, Delgado JR, Faus-Dáder MJ, et al. Pharmacogenetic predictors of toxicity to platinum based chemotherapy in non-small cell lung cancer patients. *Pharmacol Res*. 2016; 111:877–84.
 - Ludovini V, Floriani I, Pistola L, Minotti V, Meacci M, Chiari R, et al. Association of Cytidine Deaminase and Xeroderma Pigmentosum Group D Polymorphisms with Response, Toxicity, and Survival in Cisplatin/Gemcitabine-Treated Advanced Non-small Cell Lung Cancer Patients. *J Thorac Oncol*. 2011; 6(12):2018–26.
 - Zhang L, Gao G, Li X, Ren S, Li A, Xu J, et al. Association between single nucleotide polymorphisms (SNPs) and toxicity of advanced non-small-cell lung cancer patients treated with chemotherapy. *PLoS One*. 2012; 7(10):e48350–e48350.
 - Pérez-Ramírez C, Cañadas-Garre M, Molina MÁ, Robles AI, Faus-Dáder MJ, Calleja-Hernández MÁ. Contribution of genetic factors to platinum-based chemotherapy sensitivity and prognosis of non-small cell lung cancer. *Mutat Res Mutat Res*. 2017; 771:32–58.
 - Wang Z, Xu B, Lin D, Tan W, Leaw S, Hong X, et al. XRCC1 polymorphisms and severe toxicity in lung cancer patients treated with cisplatin-based chemotherapy in Chinese population. *Lung Cancer*. 2008; 62(1):99–104.
 - Gu A-Q, Wang W-M, Chen W-Y, Shi C-L, Lu J-H, Han J-Q. XRCC1 genetic polymorphisms and sensitivity to platinum-based drugs in non-small cell lung cancer: an update meta-analysis based on 4708 subjects. *Int J Clin Exp Med*. 2015 Jan 15;8(1):145–54.
 - Palmirotta R, Carella C, Silvestris E, Gives M, Stucci SL, Tucci M, et al. SNPs in predicting clinical efficacy and toxicity of chemotherapy: walking through the quicksand. *Oncotarget*. 2018; 9(38):25355–82.
 - Liu HF, Liu JSDeng JH WR. Role of XRCC1 gene polymorphisms in non-small cell lung cancer cisplatin-based chemotherapy, and their effect on clinical and pathological characteristics. *Genet Mol Res*. 2016; 15(4).

45. Chen J, Zhao Q, Shi G, Wang L. XRCC1 Arg399Gln and clinical outcome of platinum-based treatment for advanced non-small cell lung cancer: a meta-analysis in 17 studies. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2012; 13(11):875–83.
46. Horgan AM, Yang B, Azad AK, Amir E, John T, Cescon DW, et al. Pharmacogenetic and Germline Prognostic Markers of Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2011; 6(2):296–304.
47. Peng Y, Li Z, Zhang S, Xiong Y, Cun Y, Qian C, et al. Association of DNA base excision repair genes (OGG1, APE1 and XRCC1) polymorphisms with outcome to platinum-based chemotherapy in advanced nonsmall-cell lung cancer patients. *Int J Cancer*. 2014; 135(11):2687–96.
48. Tan L-M, Qiu C-F, Zhu T, Jin Y-X, Li X, Yin J-Y, et al. Genetic Polymorphisms and Platinum-based Chemotherapy Treatment Outcomes in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer: A Genetic Epidemiology Study Based Meta-analysis. *Sci Rep*. 2017; 7(1):5593.
49. Cheng H, Sun N, Sun X, Chen B, Li F FJ et al. Polymorphisms in hMSH2 and hMLH1 and response to platinum-based chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer patients. *Acta Biochim Biophys Sin*. 2010; 42(5):310–7.
50. Liu J-Y, Qian C-Y, Gao Y-F, Chen J, Zhou H-H, Yin J-Y. Association between DNA mismatch repair gene polymorphisms and platinum-based chemotherapy toxicity in non-small cell lung cancer patients. *Chin J Cancer*. 2017; 36(1):12.
51. Liu L, Wu C, Wang Y, Zhong R, Duan S, Wei S, et al. Combined Effect of Genetic Polymorphisms in *p53*, *P73*, and *MDM2* on Non-small Cell Lung Cancer Survival. *J Thorac Oncol*. 2011; 6(11):1793–800.
52. Aubrey BJ, Kelly GL, Janic A, Herold MJ, Strasser A. How does p53 induce apoptosis and how does this relate to p53-mediated tumour suppression? *Cell Death Differ*. 2018; 25(1):104–13.
53. Ahmad S. Platinum–DNA Interactions and Subsequent Cellular Processes Controlling Sensitivity to Anticancer Platinum Complexes. *Chem Biodivers*. 2010; 7(3):543–66.
54. Zheng D, Chen Y, Gao C, Wei Y, Cao G, Lu N, et al. Polymorphisms of p53 and MDM2 genes are associated with severe toxicities in patients with non-small cell lung cancer. *Cancer Biol Ther*. 2014; 15(11):1542–51.
55. Qian J, Liu H, Gu S, Wu Q, Zhao X, Wu W, et al. Genetic Variants of the MDM2 Gene Are Predictive of Treatment-Related Toxicities and Overall Survival in Patients With Advanced NSCLC. *Clin Lung Cancer*. 2015; 16(5):e37–53.
56. Huang D, Zhou Y. Nucleotide excision repair gene polymorphisms and prognosis of non-small cell lung cancer patients receiving platinum-based chemotherapy: A meta-analysis based on 44 studies. *Biomed Rep*. 2014; 2(4):452–62.
57. De Troia B, Dalu D, Filipazzi V, Isabella L, Tosca N, Ferrario S, et al. ABCB1 c.3435C>T polymorphism is associated with platinum toxicity: a preliminary study. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2019; 83(4):803–8.
58. Qian C-Y, Zheng Y, Wang Y, Chen J, Liu J-Y, Zhou H-H, et al. Associations of genetic polymorphisms of the transporters organic cation transporter 2 (OCT2), multidrug and toxin extrusion 1 (MATE1), and ATP-binding cassette subfamily C member 2 (ABCC2) with platinum-based chemotherapy response and toxicity in non-sma. *Chin J Cancer*. 2016; 35(1):85.
59. Zazuli Z, Vijverberg S, Slob E, Liu G, Carleton B, Veltman J, et al. Genetic Variations and Cisplatin Nephrotoxicity: A Systematic Review. *Front Pharmacol*. 2018; 9:1111.
60. Lai SL, Hwang J, Perng RP, Whang-Peng J. Modulation of cisplatin resistance in acquired-resistant nonsmall cell lung cancer cells. *Oncol Res*. 1995; 7(1):31–8.
61. Booton R, Ward T, Heighway J, Ashcroft L, Morris J, Thatcher N. Glutathione-S-transferase P1 isoenzyme polymorphisms, platinum-based chemotherapy, and non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer*. 2006; 1(7):679–83.
62. Lv F, Ma Y, Zhang Y, Li Z. Relationship between GSTP1 rs1695 gene polymorphism and myelosuppression induced by platinum-based drugs: a meta-analysis. *Int J Biol Markers*. 2018; 33:364–71.
63. Chen J, Yin J, Li X, Wang Y, Zheng Y, Qian C, et al. WISP1 polymorphisms contribute to platinum-based chemotherapy toxicity in lung cancer patients. *Int J Mol Sci*. 2014; 15(11):21011–27.
64. Li X, Shao M, Wang S, Zhao X, Chen H, Qian J, et al. Heterozygote advantage of methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms on clinical outcomes in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) patients treated with platinum-based chemotherapy. *Tumour Biol*. 2014; 35(11):11159–70.