

Университетска многопрофилна болница за активно лечение „Царица Йоанна – ИСУЛ“  
Катедра „Нуклеарна медицина, лъчелечение и медицинска онкология“  
Медицински Университет - София

## **ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД**

**На тема:** Съвременни прогностични фактори при болни с белодробен карцином

*за придобиване на образователна и научна степен*

**“ДОКТОР”**

*по научна специалност „Онкология” - шифър 03.01.46*

на д-р Вера Георгиева Мегданова-Чипева

Отделение по Медицинска Онкология,

УМБАЛ „Царица Йоанна –ИСУЛ“, София

**Научен Ръководител:**

Проф. Петранка Петрова Троянова, дм

Проф. Иван Щерев Донеv, дм

Съдържание:

Съдържание	2 - 4 стр.
Използвани съкращения	5 – 7 стр.
I. Въведение	8 стр.
II. Литературен Обзор	
1. Епидемиология на недребноклетъчния белодробен карцином (НДКБК)	8 - 11 стр.
2. Лечение на недребноклетъчния белодробен карцином	11 – 15 стр.
3. Имунотерапия при НДКБК	15 – 19 стр.
4. Съвременни прогностични и предиктивни биомаркери при НДКБК	19 – 33 стр.
5. Саркопения като нов съвременен биомаркер	
5.1 История и терминология	33 – 34 стр.
5.2 Механизми на развитие на саркопенията	34 – 39 стр.
5.3 Видове саркопения	39 – 41 стр.
5.4 Диференциална диагноза на саркопенията, малнутриция и кахексия	41 – 45 стр.
6. Диагностика на саркопенията	45 – 50 стр.
7. Саркопенично затлъстяване	50 – 51 стр.
III. Цел и задачи на дисертационния труд	51 – 52 стр.
IV. Материали и методи	
1. Клиничен материал	52 стр.
2. Методи	
2.1 Включващи и изключващи критерии	52 – 53 стр.

2.2	<i>Медицинска история на пациентите</i>	53 – 61 стр.
2.3	<i>Образна диагностика</i>	61 – 66 стр.
3.	<i>Статистически методи</i>	66 – 67 стр.
<b>V. Резултати</b>		
1.	<i>Разпределение на пациентите спрямо базисните им характеристики</i>	68 – 78 стр.
2.	<i>Разпределение на пациентите спрямо хематологичните биомаркери и наличието на саркопения</i>	78- 81 стр.
3.	<i>Връзка между базисни характеристики на пациентите и наличието на саркопения (<math>\Delta PMMA \geq 10\%</math>)</i>	82 – 87 стр.
4.	<i>Корелация между хематологичните показатели и саркопенията (<math>\Delta PMMA \geq 10\%</math>)</i>	87 – 91 стр.
5.	<i>Връзка между саркопенията (<math>\Delta PMMA \geq 10</math>), хематологичните характеристики и резултатът от първия контролен КТ на фона на ИТ при пациенти, неотговарящи на първа линия ХТ</i>	91 – 92 стр.
6.	<i>Разпределение на пациентите спрямо типа на прогресия на първа линия ХТ</i>	93 стр.
7.	<i>Разпределение на пациентите спрямо отговора на лечение с Pembrolizumab при първата преоценка.</i>	93 – 94 стр.
8.	<i>Връзка между саркопенията (<math>\Delta PMMA \geq 10</math>), хематологичните характеристики и резултатът от първия контролен КТ на фона на втора линия терапия с Pembrolizumab</i>	94 – 97 стр.
9.	<i>Връзка между саркопенията (<math>PMMA &lt; 10\%</math>) и наличието на клинична полза (CBR)</i>	97 – 99 стр.
10.	<i>Връзка между саркопенията (<math>\Delta PMMA \geq 10\%</math>) и свободната от прогресия преживяемост (PFS)</i>	99 – 101 стр.
11.	<i>Връзка между саркопенията (<math>\Delta PMMA \leq 10\%</math>) и общата преживяемост (OS)</i>	101 - 103 стр.

<b>VI. Обсъждане</b>	<i>103 – 130стр</i>
<b>VII. Изводи</b>	<i>130- 131 стр.</i>
<b>VIII. Приноси</b>	<i>131 – 132 стр.</i>
<b>IX. Библиография</b>	<i>132 – 153 стр.</i>

Използвани съкращения

ALAT - аланинаминотрансфераза

Alb - серумен албумин

ALC - Absolute lymphocyte count

ALI - Advanced lung cancer inflammation index

ALI - Advanced lung cancer inflammation index

ALK - Anaplastic Lymphoma Kinase

ALP - алкална фосфатаза

ANC - Absolute neutrophil count

APC - Absolute platelet count

ASAT - аспаратаминотрансфераза

ASCO - American Society of Clinical Oncology

ASM - Appendicular skeletal mass

ASR - age- standardized incidence rate

AUC - Area under the curve

BIA - Bioelectrical impedance analysis

Bmal - Brain and muscle Arnt-like protein 1

BMI - Body mass index

BRAF - B-Raf Proto-Oncogene

BSA - Body surface area

CA 125 - Carbohydrate antigen 125

CEA - Carcinoembryonic antigen

cfDNA - Cell-free deoxyribonucleic acid

CI - Confidential interval

CR - Complete response

CRP - C-reactive protein

CSA - Cross-sectional area

CTC - Circulating tumour cells

CTLA - Cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4

CYFRA 21-1 - Cytokeratin 19 fragment

DAXA - Dual x-ray absorptiometry

DFS - Disease-free survival

DHEA - Dehydroepiandrosteron

ECOG PS - Eastern Cooperative Oncology Group  
Performance Status

EGFR - Epidermal Growth Factor Receptor

EML4 - Echinoderm microtubule-associated protein-  
like 4

ERCC1 - 5'endonuclease of the nucleotide excision  
repair gene complex

ESMO - European Society of Medical Oncology

ESPEN - European Society of Clinical Nutrition and  
Metabolism

FDG - Fluorodeoxyglucose

FGFR - Fibroblastic Growth Factor Receptor

FISH - Fluorescence in situ hybridisation

FISH - Fluorescence In Situ hybridisation

FoxO - Forkhead box

GLIM - Global Leadership Initiative on Malnutrition

GLR - Glucose-to-lymphocyte ratio

HER2 - Human Epidermal Growth Factor Receptor 2

Hgb - хемоглобин

HPs - Hyperprogresors

HR - Hazard ratios

HU - Hounsfield Units

IASLC - International Association for the Study of Lung Cancer

IC - Immune cells

IDO - Indoleamin-2,3-dioxygenase

IGF-1 - Insulin growth factor

IL - Interleukin

Ki-67 - Antigen Kiel 67

K-Ras - Kirsten-Rous sarcoma virus oncogene

КТ - компютърна томография

LAG-3 - Lymphocyte-Activation Gene 3

LCR - Lymphocyte-to-CRP ratio

LDH - лактатдехидрогеназа

LMR - Lymphocyte-monocyte ratio

MDM - Mouse double minute

MEK - Mitogen-activated protein kinase

MET - Mesenchymal Epithelial Transition

MHC - Major histocompatibility complex

MKI- 67 - Marker of proliferation Kiel 67

NCCN - National Comprehensive Cancer Network

NGS - Next-generation sequencing

NHI - National Health Institute

NLR - Neutrophil to Lymphocyte Ratio

NOS - Non-other specified

NPs - Non-progress

NRG1 - Neuregulin 1

NTRK1 - Neurotrophic Tyrosine Receptor Kinase

OR - Odds ratio

ORR - Overall response rate

OS - Overall survival

PCR - Polymerase Chain Reaction

PD - Progressive disease

PD-L1 - Programmed Death Ligand 1

PET- Positron emission tomography

PFS - Progression-free survival

PGC-1 $\alpha$  - Peroxisome proliferator-activated receptor coactivator 1  $\alpha$

PLR - Platelet to Lymphocyte Ratio

Plt - тромбоцити

PMMA - Psoas major muscle area

PNI - Prognostic nutritional index

PPs - Pseudoprogresors

PR - Partial response

Ps - Progressors

PTEN - Phosphatase and tensin homolog

RECIST - Response evaluation criteria in solid tumours

RET - The RET proto-oncogene

Rho - Spearman's rank correlation coefficient

ROS 1 - c-Ros oncogene 1

RR - Risk ratio

SCCA - Squamous cell carcinoma antigen

SD - Stable disease

SEER - Surveillance, Epidemiology, and End Results program

SIR - Systemic inflammatory response

SMA - Skeletal muscle area

SMAD - "small" worm phenotype and "mothers against decapentaplegic"

SMD – skeletal muscle density

SMI - Skeletal muscle index

SMM - Skeletal muscle mass

SUV max - Maximum standardised uptake value

TC - Tumor cells

TGF-b - Transforming growth factor beta

TGF-β - трансформирация растежен фактор бета

TIL - Tumour-infiltrating lymphocytes

TMB - Tumor mutational burden

TME - Tumour microenvironment

TNF-α - Tumour necrosis factor alfa

TUG - Timed-Up and Go

VEGF - Vascular Endothelial Growth Factor

АОПЕХ - Американското общество за парентерални и ентерално хранене

ГИТ - гастроинтестинален тракт

ДКБК - дребноклетъчен белодробен карцином

ДНК - дезоксирибонуклеинова киселина

ИТ - имунотерапия

ИХХ - имунохистохимия

КТ - компютърната томография

ЛВ - лимфен възел

НДКБК - недребноклетъчен белодробен карцином

НЛР - нежелана лекарствена реакция

ПЕТ - позитрон емисионна томография

РНК - рибонуклеинова киселина

СЗ - саркопеничното затлъстяване

ТКИ - тирозин-киназен инхибитор

ХОББ - хронична обструктивна белодробна болест

ХП - хиперпрогресия

ХТ – химиотерапия

ЯМР - ядрено-магнитен резонанс

## I. Въведение

Карциномът на белия дроб продължава да бъде социално значимо заболяване, свързано с висока честота и въпреки напредъка в лечението му през последното десетилетие, е водеща причина за смъртност от злокачествени новообразувания в световен мащаб. Включването на имунотерапията в последните години като част от терапевтичния план на карцинома на белия дроб донесе големи промени по отношение на преживяемостта на пациентите с локално авансирало и метастатично заболяване и заедно с това подобри качеството им на живот. Не всички болни отговарят еднакво добре на лечението с имунни checkpoint инхибитори, което налага търсене на нови предиктивни фактори за възможната ефективност на имуносвързаните терапевтични режими. Част от пациентите дори реагират патологично и развиват бурна, клинично значима прогресия още в първите месеци от терапията с имунотерапевтици. Кой от заболяването няма да отговорят според очакванията от клиничните проучвания, кои ще развият хиперпрогресия или при кои ще се наблюдават по-изразени странични ефекти от лечението са въпроси, на които медицинската научна общност търси отговори.

## II. Литературен Обзор

### *1. Епидемиология на недребноклетъчния белодробен карцином (НДКБК)*

Според данните от GLOBOCAN 2020 за България карциномът на белия дроб се нарежда на 2-ро място по честота сред мъжете (3 357 нови случая) и 5-то място по честота при жените (943 нови случая), на 3-то място и за двата пола, на фона на 36 451 нови случая с онкологични заболявания в нашата страна за 2020 год. (1) (Фиг.1, Табл.1).



Фиг.1 Брой на новите случаи за 2020 (N=36 451) за двата пола, всички възрасти, GLOBOCAN 2020

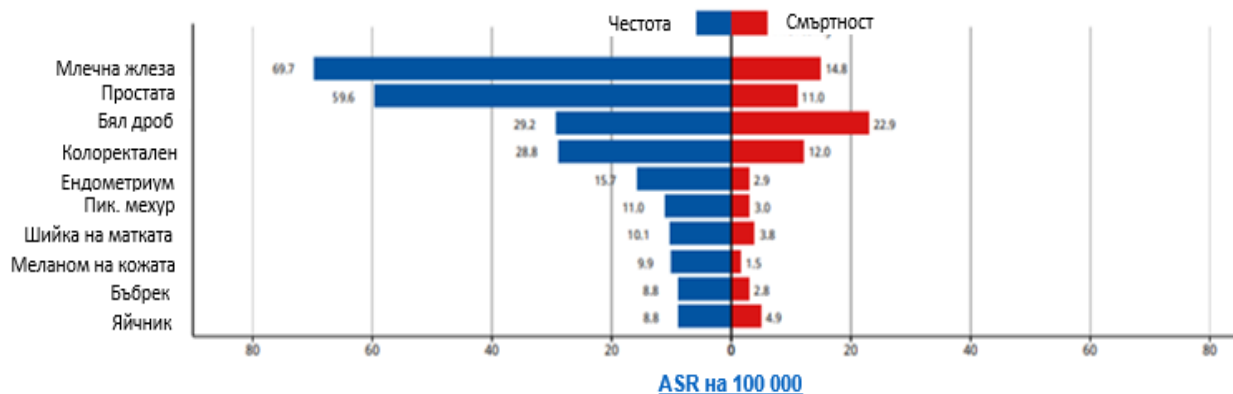
Статистика за 2020 г., GLOBOCAN			
	Мъже	Жени	Двата пола
Популация	3 374 121	3 574 324	6 248 445
Брой нови случаи	20 502	15 949	36 451
Стандартизиран по възраст процент на заболяемост (глобално ниво)	298.0	213.8	247.1
Риск за развитие на онкологично заболяване преди 75 годишна възраст (%)	30.9	21.4	25.6
Брой смъртни случаи, свързани с	11 170	8 290	19 460

онкологичното заболяване			
Стандартизиран по възраст процент на смъртност (глобално ниво)	156.6	91.8	119.7
Риск за смърт от онкологично заболяване преди 75 годишна възраст ( %)	16.8	9.8	13.0
Превалиращите случаи за последните 5 години	52 803	46 519	99 322
5-те най-чести онкологични заболявания, изкл. немеланомните тумори на кожата	Простатен карцином Белодробен карцином Колоректален карцином Карцином на пик.мехур Стомашен карцином	Карцином на мл.жлеза Колоректален карцином Карцином на ендометриума Карцином на шийката на матката Белодробен карцином	Простатен карцином Колоректален карцином Карцином на белия дроб Карцином на мл.жлеза Карцином на пик. мехур

Табл.1 Статистиката за 2020 г. на честота и смъртност от онкологичните заболявания за България, GLOBOCAN 2020 (2)

Данните корелират и с общата картина за Европа, където карциномът на белия дроб е на второ място по честота с 11.2% от всички новодиагностицирани злокачествени заболявания (3). Възрастово стандартизираните нива на честота/смъртност представляват предизвикателствата пред онкологичната общност, илюстрирайки почти изравнените нива на смъртност спрямо честотата, които се наблюдават единствено при белодробния карцином в сравнение с останалите чести локализации от една страна, а от друга страна и са водеща причина за смърт от онкологични заболявания в света. Така при честота 29.2/100 000 души на заболяемост от белодробен карцином се наблюдава смъртност 22.9/100 000 души или 1 796 144 души за 2020 год. (фиг. 2)(3).

## Стандартизирана по възраст честота и смъртност, 10 най-чести локализации



Фиг.2 Възрастово стандартизирани нива на честота/смъртност на 100 000 в света при десетте най-чести злокачествени заболявания (3). ASR – age-standardized incidence rate

Традиционно карциномът на белия дроб се разделя на две основни групи – дребноклетъчен (ДКБК) и недробноклетъчен карцином (НДКБК). Това групиране се уточнява постепенно с използването на хистопатологични характеристики и имунохистохимични маркери. Недробноклетъчния карцином на белия дроб, съставляващ около 84% от всички карциноми на белия дроб, се разделя основно на аденокарцином и плоскоклетъчен карцином (3). Аденокарциномът е най-честият хистологичен подтип НДКБК и при двата пола. Това съотношение е изменено през годините, като една от причините е и увеличаване на НДКБК сред женско население, където превалира тази хистология (4).

### 2. Лечение на недробноклетъчния белодробен карцином

Лечението на недробноклетъчния карцином на белия дроб (НДКБК) се промени значително през последните години, като се започне с откриването на онкогенните мутации като молекулярен път, отговорен за някои белодробни тумори, главно несвързани с тютюнопушенето, за които се създадоха таргетните терапии с отлична противотуморна ефикасност. Тези терапии са помогнали за значително увеличаване на преживяемостта и качеството на живот при пациентите, чиито тумори носят тези мутации, започвайки с откриването на рецепторът на епидермалния разтежен фактор (EGFR) през 2004 г.(4) . Другият основен крайъгълен камък, който подпомогна драстичния и бързо променящ се сценарий на НДКБК със значително подобрене на общата преживяемост (OS) на пациентите и подобряване на качеството им на живот, е имунотерапията, която също променя пейзажа и на дребноклетъчен белодробен карцином (5).

Според световните препоръки в зависимост от стадия, хистологията, генетичните промени и състоянието на пациента, подходите за лечение на НДКБК обикновено включват самостоятелно или в комбинирана

модалност хирургия, лъчетерапия, химиотерапия, имунотерапия, таргетна терапия. Хирургична резекция с лечебна цел се препоръчва при пациенти в добро общо състояние в ранен стадий ( I стадий, II стадий и стадий IIIA) (6). Адювантна химиотерапия може да бъде препоръчана на пациентите във II и III стадий, както и при някои високорискови пациенти в I-ви стадий. Обичайно се използва платин-базиран дублет за 3-4 курса. Таргетната терапия вече намира място при пациентите с EGFR активиращи мутации в адювантен аспект, а ползата на имунотерапията периперативно в по-ранните стадии на болестта все още широко се проучва(6). По отношение на лъчетерапията – тя е възможен дефинитивен подход при I-ви стадий, а в II-ри и III-ти се препоръчва адювантното ѝ приложение предимно в случаите с R1 резекция или постоперативно хистологични данни за N2 заболяване (6). За съжаление около 30% от пациентите с новодиагностициран НДКБК са с локално авансирало заболяване, което ги прави неподходящи за хирургично лечение и настоящият стандарт за поведението при тях е едновременна химиолъчетерапия, последвана от имунотерапия (7).

При локално авансирала и метастатичен НДКБК, молекулярно-генетичния профил на заболяването е от съществено значение за изграждането на терапевтичната стратегия. Вече се говори за нова класификация на базата на наличие или липса на специфични онкогенни драйвери – онкогенно зависими и неонкогенно независими НДКБК с различни насоки за поведение (8,9). Няколко молекулярни драйвера на онкогенна зависимост представляват силни предиктивни биомаркери и отлични терапевтични цели, които обичайно се изключват взаимно (10). Тези тумори са много по-чести при пациенти, които никога не са пушили или са пушили под 100 цигари през живота си, дългогодишни бивши (>10 години) или слаби пушачи (< 15 пакета години). Все пак обаче такъв тип молекулярно-генетични промени могат да бъдат открити и при пациенти, които пушат. По-голямата част от онкогенно зависимите белодробни злокачествени заболявания са аденокарциноми, срещат се при по-млади пациенти, предимно жени с източноазиатската етническа принадлежност (11). Въпреки това насоките показват, че при всички пациенти с аденокарцином на белия дроб трябва да бъде проведено генетично тестване, докато при плоскоклетъчната хистология това трябва да се случва единствено в случаите на пациенти, които никога не са пушили или са дългогодишни бивши или слаби пушачи (< 15 пакета години) (11).

Соматичните алтерации при НДКБК могат да доведат до онкогенно активиране чрез няколко механизма, включително точкови мутации, инсерции/делеции и пренареждания. Като цяло, активиращите мутации, ръководещи таргетната терапия, могат да бъдат класифицирани според вида на промените - генни пренареждания (например ALK, ROS1, RET, NTRK, FGFR1/2/3, NRG1) или варианти, включващи точкови мутации, инсерции/делеции и амплификации (например EGFR, BRAF, MEK, KRAS, MET, ERBB2/HER2) (табл. 2). В крайна сметка резултатите по отношение на свободната от прогресия и общата преживяемост

за пациенти с активиращи мутации при получаване на съответната таргетна терапия са склонни да бъдат подобрени в сравнение с тези без такива мутации (12). Следователно, молекулярното тестване за откриване на тези мутации, още към момента на поставяне на диагнозата на пациента, играе ключова роля в диагностичния процес и избора на най-подходящата терапевтична стратегия.

<b>Настоящи предиктивни биомаркери</b>	<b>Очаквана честота при аденокарцином на белия дроб</b>	<b>Насоки за препоръчително тестване от специализираните международни общности</b>	<b>Одобрени от ЕМА специфични таргетни терапии ( 1-ва линия)</b>
EGFR мутации	15%	ESMO, NCCN, IASLC, ASCO, Pan-Asian guidelines	Afatinib, Dacomitinib, Erlotinib, Gefitinib, Osimertinib
ALK пренареждания	5%	ESMO, NCCN, IASLC, ASCO, Pan-Asian guidelines	Alectinib, Brigatinib, ceritinib, Crizotinib, Lorlatinib
ROS1 пренареждания	2%	ESMO, NCCN, IASLC, ASCO, Pan-Asian guidelines	Crizotinib, Entrectinib
NTRK пренареждания	<1%	ESMO	Entrectinib, Larotrectinib
BRAF мутации	2%	ESMO, NCCN, ASCO, Pan-Asian guidelines	Dabrafenib/Trametinib

МЕТ мутации	3%	Cabozantinib, Capmatinib, Crizotinib, MGCD265, Tepotinib
RET пренареждания	2%	Alectinib, Cabozantinib, Lenvatinib, Nintedanib, Ponatinib, Pralsetinib, Regorafenib, Selpercatinib, Sorafenib, Sunitinib, Vandetanib
ERBB2/HER2 мутации	2%	Ado-trastuzumab emtansine, Afatinib, Dacomitinib, Fan-trastuzumab deruxecan-nxki, Trastuzumab
KRAS мутации	25-30 %	Директни KRAS G12C инхибитори –Adagrasib, Sotorasib, GDC-6036
NRG1 пренареждания	<1%	Afatinib
FGFR1	Няма данни	BGJ398, Rogaratinib

Табл. 1 Преглед на настоящите и нововъзникващите биомаркери за НДКБК в Европа, тяхната честота и свързаните одобрени таргетни терапии (12)

Пациентите с налични активиращи мутации са кандидати за лечение със съответна таргетна терапия, като при отсъствието на таргетируеми активиращи мутации лечението на напредналия НДКБК се формира около данните от определянето на PD-L1 статуса на пациента. Според обновените европейски правила за лечение на авансирал онкогенно-независим НДКБК от 2023 при пациентите с плоскоклетъчна хистология е показана първа линия моноИТ с Pembrolizumab, Atezolizumab или Cemiplimab при PD-L1 >50% и ECOG PS 0-2, а при PD-L1 >1% и ECOG PS 0-1 е възможно да се подбере и комбинация Ipilimumab/Nivolumab. За всички пациенти с ECOG PS 0-1 независимо от PD-L1 експресията обаче са одобрени и комбинация от ХТ и ИТ с последваща поддържаща терапия с

имунотерапевтичния агент или комбинация ( Pembrolizumab + 4 курса Carboplatin/(nab)Paclitaxel; Cemiplimab + 4 курса платин-базарина ХТ; Nivolumab/Ipilimumab + 2 курса платин - базиран ХТ; Durvalumab/Tremelimumab + 4 курса платин-базирана ХТ). За пациентите с малко по-нарушено общо състояние ECOG PS 2 и ниска експресия на PD-L1 ( $\leq 50\%$ ) все още се предпочита моноХТ или платин-базирани дублети като първа линия, а имунотерапията влиза в съображение на 2-ра линия като монотерапия (7).

В групата на туморите с неплоскоклетъчна хистология опциите са същите с допълнение при пациентите с ECOG PS 0-1 независимо от PD-L1 експресията от възможности за следните комбинирани режими: Pembrolizumab + 4 курса платина/Pemetrexete с последващо поддържащо лечение с Pembrolizumab/Pemetrexete; Atezolizumab + Bevacizumab + 4-6 курса Carboplatin/Paclitaxel с последващо поддържащо лечение с Atezolizumab/Bevacizumab; Ipilimumab/Nivolumab + 2 курса платина/Paclitaxel и поддържащо с Ipilimumab/Nivolumab (7).

При наличие на контраиндикации за провеждане на лечение с имунотерапия възможността за ХТ остава като опция при пациенти с ECOG PS 0-1, като се залага основно на платин-базираните дублети в комбинация с таксани, Gemcitabine, Vinorelbine при сквамозните хистологии и Pemetrexete, таксани, Gemcitabine, Vinorelbine при аденокарциномите (11). При последните данните показват и полза от добавяне на анти-VEGF терапия с Bevacizumab по отношение на общата преживяемост, свободната от прогресия преживяемост и обективния отговор (13,14).

### ***3. Имунотерапия при НДКБК***

През 2013 г. списание Science смята имунотерапията за научния пробив на годината, като несъмнено НДКБК е областта, в която приложението на имунотерапия в частност на имунните чекпойнт инхибитори е напреднало най-много. Daniel S Chen е първият, който описва цикъла тумор-имунитет в публикацията си „Онкологията среща имунологията: цикълът тумор-имунитет“. Този процес започва с освобождаване на туморни антигени от туморни клетки, които могат да бъдат разпознати като чужди от клетките на имунната система на гостоприемника и завършва с унищожаването на тези клетки (15). Имуният отговор срещу злокачествените заболявания следва „псевдомилитарна“ стратегия със седем диференцирани стъпки: (1) Освобождаване и представяне на туморни неоантигени от туморни клетки, с поемане на тези антигени от антиген-представящи дендритни клетки, които ги обработват и редуцират до пептиди. Тези пептиди се свързват с основния комплекс на тъканна съвместимост (МНС); (2) набиране на Т-лимфоцити в периферните лимфоидни органи и представянето на пептидите, свързани с МНС-I и МНС-II към Т-клетки, с последващо разпознаване на пептиди, свързани с МНС-II от рецептори

на CD4+ Т-лимфоцити; (3) обучение: подготовка и активиране на ефекторни Т-клетки, за да отговорят на представените туморни антигени; и (4) атака с изместване на активирани Т-клетки към региона, съдържащ тумора. След специфичното активиране на Т-клетките в периферните лимфоидни органи, те трябва да бъдат насочени към тумора през ендотела и да инфилтрират стромалната тъкан в тумора, което изисква определени фенотипни характеристики в Т-клетката, като експресията на хемокинови рецептори или експресията на клетъчно-адхезионни молекули в съдовия ендотел, което би позволило ендотелната бариера да бъде преодоляна и туморът да бъде инвазиран; (5) туморна инфилтрация; (6) разпознаване на туморни клетки от цитотоксични Т-лимфоцити (Т-клетъчните рецептори трябва да влязат в контакт с МНС пептидите на повърхността на туморната клетка, където, в случай на CD8 лимфоцити, те ще освободят гранулите, съдържащи цитолитични вещества, като перфорин и гранзим, в туморни клетки, за да ги унищожи); и (7) окончателно унищожаване на туморни клетки и освобождаване на нови туморни неоантигени. Въпреки че е възможно да се действа на всяко терапевтично ниво по време на тези фази, стратегиите, които досега са достигнали до клиниката и са дали първоначално успешни резултати, са моноклонални антитела, които блокират имунните контролни точки CTLA-4 и PD-1. Те контролират активирането на имунната система, отговор на периферните лимфоидни органи и съответно на ниво тумор (16). Чрез блокиране на тези имунни контролни точки се избягва отрицателният авто регулаторен сигнал, който блокира активирането на имунния отговор. Това в крайна сметка води до по-силен имуен отговор с по-голям брой активни Т-лимфоцити, готови да атакуват туморни клетки. Въпреки че най-големите успехи досега са постигнати с моноклонални антитела, които са насочени към тези места, други стратегии или комбинации от няколко такива, фокусиращи се върху различни фази на активиране на имунния отговор, са в процес на разработка (17,18).

Както става ясно имунната система играе ключова роля за откриването и разрушаването на туморните клетки. Въпреки това злокачествените клетки могат да заобиколят наличните регулаторни механизми и да се развие толеранс чрез подсистемна регулация на ключови имунни контролни процеси. Обичайно тези контролни процеси защитават здравите тъкани от инфекциозно-тригериран цитотоксичен имуен отговор, но туморните клетки могат да се възползват от тях, за да се предпазят от имунно-медирана деструкция. Например, разпознаването на туморни антигени от Т-лимфоцитите води до отделяне на  $\gamma$ -интерферон (INF- $\gamma$ ), който не само привлича други цитотоксични имунни клетки, но и може да индуцира експресия на рецептори (така наречени checkpoints), които промотират имунна резистентност, като лигандът на програмираната клетъчна смърт (programmed death ligand 1-PD-L1) върху туморните клетки и индоламин-2, 3-диоксигеназа (IDO) върху дендритните клетки или макрофаги.

Цитотоксичният Т-лимфоцит асоцииран антиген-4 (cytotoxic T-lymphocyte associated antigen 4 (CTLA-4)) е друг важен инхибитор на имунния отговор и служи за регулацията на ранната активация на Т-клетките. Имунотерапевтичните лечения осъществяват своя механизъм на действие чрез блокиране на връзката между PD-L1 с неговия рецептор (PD-1), което води до по-добра активация на ефекторните и цитотоксичните Т-клетки, осъществяващи имунния отговор срещу туморните клетки.

### Недостатъци на имунотерапията

#### ➤ Липса на отговор към ИТ

Имунотерапията доведе до сериозен напредък и ползи за пациентите с метастатичен НДКБК, но все още голям процент пациенти не отговарят на този вид лечение. Разглеждайки по-детайлно резултатите от проведените проучвания с различните checkpoint инхибитори, става ясно, че процентът на обективния отговор към имунотерапията е едва 20-30%, което демонстрира липсата на ефективност при по-голямата част от пациентите (19). Все още няма отговор, защо пациенти със сходен профил и протичане на заболяването проявяват различен отговор към ИТ. Една от проучваните възможности е липсата на достатъчно активирани имунни клетки в туморната среда (TME – tumor microenvironment) (19).

#### ➤ Хиперпрогресия

Друг проблем при лечението с имунотерапия се явява появата на хиперпрогресия (ХП) – състояние, характеризиращо се с неочаквано бърза прогресия на болестта, съпътствано с клинично влошаване. Дефинициите на хиперпрогресия са разнородни за момента и обхващат параметри като съотношение на скоростта на растеж на тумора, кинетиката на туморния растеж, нарастване на туморния обем или комбинации от тях (20,21). Едни от предложените критерии за дефиниция на ХП, обединяващи времеви и количествени компоненти на нарастване на туморния обем, както и лабораторни показатели и клинични прояви са представени на табл.3 (22). Като участници в механизма на хиперпрогресия се сочат генетични промени и изменения в микротуморната среда, както и повишен имунен отговор. Въпреки липса на еднородно определение феноменът е факт и неговата честота варира според данните от голям метаанализ от 2021 г. между 5.9% и 43.1% (21), като при НДКБК честотата е 5 - 37% съгласно данни от 2022 г. (22). Сред възможните рисковите фактори за ХП се определят MDM2 или MDM4 амплификациите, EGFR мутацията, както и напредналата възраст, женският пол и наличието на повече от 2 делечени места на метастазиране, включително влошеното общо състояние при започване на лечението (20,22).

Табл. 3 Критерии за поставяне на диагноза хиперпрогресия

<p><b>Критерии за поставяне на диагноза хиперпрогресия</b></p>
<p><b>Критерии, свързани с тумора</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Увеличаване на туморния обем съгласно RECIST 1.1 два пъти ИЛИ <math>\geq 50\%</math> увеличаване на туморния обем спрямо изходните образни изследвания преди започване на ИТ.</li> <li>2. Време до прогресия <math>\leq 3</math> цикъла на лечение (<math>&lt; 3</math> месеца)</li> <li>3. 2 пъти или повече увеличение на стъпката на нарастване</li> <li>4. Прогресия на новите лезии</li> </ol>
<p><b>Критерии, свързани с пациента</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Бързо нарушаване на общото състояние или влошаване на симптомите, свързани с прогресията на болестта.</li> <li>2. Нови усложнения, свързани с прогресия на болестта например увеличение на плеврален излив, синдром на вена кава и т.н.</li> </ol>
<p><b>Лабораторни промени</b></p> <p>&gt;LDH</p>

➤ Имуномедиирани странични ефекти

Профилът на безопасност на ИТ доста се различава от този на ХТ и таргетната терапия. Като цяло почти всички органи и системи в организма могат да бъдат засегнати от имуно-медирана токсичност при лечението с чекпойнт инхибитори. Едни от най-честите са тези засягащи кожата, ГИТ, ендокринните органи, черния дроб, ставите и белия дроб. Кардиологичните, бъбречните, неврологични и хематологични имуно-медиирани странични ефекти са редки, но също могат да се наблюдават при тази терапия и да са тежки. Независимо че повечето странични ефекти при имунотерапията са леки до

умерени, има случаи, макар и рядко, при които се наблюдават тежки дори фатални реакции, особено когато не са разпознати навреме и лекувани адекватно. При преглед на наличната литература може да се обобщи, че общата честота на тежките НЛР е 33% при лечение с PD1 инхибитори, 37% при PD-L1 , 43% при комбинирана ИТ, 47% при ИТ-ХТ и 48% при ИТ-таргетна терапия, като за всеки един вид НЛР обаче не надвишава 4% (23).

Поради липсата на ефективност при голям процент от пациентите, рискът от развитие на хипер прогресия или поява на сериозни животозастрашаващи странични ефекти, обособяването на предиктивни биомаркери за оценка отговора от терапия е важна стъпка в по-адекватното и ефективно използване на тази нова група медикаменти.

#### **4. Съвременни прогностични и предиктивни биомаркери при НДКБК**

##### Прогностични биомаркери

В съвременната онкология, мястото на прогностичните фактори е основно като те оформят целите и избора на лечение. Това са онези показатели от страна на пациента и злокачественото заболяване, които демонстрират директна връзка с преживяемостта без заболяване (disease free survival –DFS), преживяемостта без прогресия (progression free survival – PFS) и обща преживяемост (overall survival – OS) и често могат да се използват за прогнозиране на хода на болестта.

##### Предиктивни биомаркери

Предиктивните биомаркери обичайно се изследват преди началото на лечението и дават информация за възможния ефект от едно или друго лечение. По отношение на лечението с таргетни медикаменти, НДКБД служи като пример за използване на генетични фактори за оценка на възможния ефект от определените лечение.

Някои маркери служат за получаване на информация относно прогнозата на заболяването, както и да дадат насоки за вероятната ефективност на един или друг вид терапия.

Най-информативните характеристики на биомаркерите са сензитивността и специфичността им. Сензитивността на биомаркерите представлява процентът реално позитивни случаи в анализираната популация, а специфичността – процентът реално негативни случаи в изследваната група (24). Различните биомаркери се характеризират с различно изразени специфичност и сензитивност. Тези с най-добра клинична стойност са с висока специфичност и сензитивност, лесно достъпни, времеемки и на достъпна цена.

#### 4.1 Клинични маркери

Прогностичните показатели, широко използвани в практиката все още са предимно клинични - TNM стадий, възраст, пол и състояние на пациента (24). В случаите на авансирало заболяване за точното прогнозиране на хода на болестта се използват и много други фактори, не само стадия, който е от основно значение при по-ранните тумори (25,26).

Литературният обзор на Управителния комитет на Европейската асоциация за палиативни грижи от 2005 г. води до изграждане на научно обосновани клинични препоръки във връзка с използването на прогностични фактори при лечението на солидни тумори. Според данните събрани от специално обособена работна група, разглеждаща ефективността на използването на прогностичните фактори, при пациентите с авансирало заболяване има такива с основно значение върху преживяемостта като общото състояние. То най-често е определяно според Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) или скалата на Karnofsky (табл. 4).

Табл. 4 Скали за определяне на общо състояние на пациента – скала на Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) или скалата на Karnofsky.

Karnofsky Status	Karnofsky Grade	ECOG Grade	ECOG Status
Normal, no complaints	100	0	Fully active, able to carry on all pre-disease performance without restriction
Able to carry on normal activities. Minor signs or symptoms of disease	90	1	Restricted in physically strenuous activity but ambulatory and able to carry out work of a light or sedentary nature, e.g., light house work, office work
Normal activity with effort	80	1	Restricted in physically strenuous activity but ambulatory and able to carry out work of a light or sedentary nature, e.g., light house work, office work
Care for self. Unable to carry on normal activity or to do active work	70	2	Ambulatory and capable of all selfcare but unable to carry out any work activities. Up and about more than 50% of waking hours
Requires occasional assistance, but able to care for most of his needs	60	2	Ambulatory and capable of all selfcare but unable to carry out any work activities. Up and about more than 50% of waking hours
Requires considerable assistance and frequent medical care	50	3	Capable of only limited selfcare, confined to bed or chair more than 50% of waking hours
Disabled. Requires special care and assistance	40	3	Capable of only limited selfcare, confined to bed or chair more than 50% of waking hours
Severely disabled. Hospitalization indicated though death no imminent	30	4	Completely disabled. Cannot carry on any selfcare. Totally confined to bed or chair
Very sick. Hospitalization necessary. Active supportive treatment necessary	20	4	Completely disabled. Cannot carry on any selfcare. Totally confined to bed or chair
Moribund	10	4	Completely disabled. Cannot carry on any selfcare. Totally confined to bed or chair
Dead	0	5	Dead

В допълнение, влошеният нутриционен статус, наличието на анорексия, кахексия, дисфагия, диспнея или нарушения на съзнанието, силно корелират с негативното влияние върху прогнозата. От друга страна симптоми като гадене, повръщане, констипация, диария, болка, тревожност, кървене, нарушения на сърдечната честота и кръвното налягане, както и полиморбидността, лечението с опиати, различни терапевтични и диагностични процедури в мултивариантен анализ, не се доказва да указват значително влияние върху преживяемостта, а най-вече техния спорадичен прогностичен ефект се наблюдава в по-ранните стадии на онкологичните заболявания (27).

## 4.2 Ki-67

Ki-67 е протеин кодиран от гена MKI67. Тъй като се експресира в активно делящи се клетки през целия клетъчен цикъл, достигайки своите пикове на експресия във фазата М, Ki-67 служи като добър маркер за пролиферация [193]. Високата експресия на Ki-67 е свързана с висока пролиферация и съответно с лоша прогноза при повечето онкологични заболявания, включително НДКБК [194,195,196].

## 4.3 Циркулиращи туморни протеини в кръв/серум

Така наречените туморни маркери, представляващи протеини отделяни от тумора в кръвта, са изследвани отдавна и широко се използват при някои туморни локализации. При НДКБД данни за ефективност и най-вече в диагностично отношение намират Cytokeratin 19 fragment (CYFRA 21-1), carcinoembryonic antigen (CEA), squamous cell carcinoma antigen (SCCA) и carbohydrate antigen 125 (CA125) (28). Въпреки че Cyfra 21-1 и CEA намират известно приложение в клиничната практика, тяхната ниска специфичност и чувствителност не може напълно да послужи в диагностично и прогностично отношение (24).

## 4.4 Молекулярни и генетични фактори

Молекулярните и генетични фактори могат да имат и предиктивно и прогностично значение и могат да включват гени, информационна РНК, протеини или микро-РНК. Благодарение на напредъка на изследванията и интерпретацията на резултатите - възможностите са големи, но огромното количество натрупани данни са трудно възпроизводими и трудно се имплементират в ежедневната клинична практика. Затова много молекулярни прогностични маркери до този момент не са успели да се наложат в рутинната употреба.

### TP53

**Генът TP53** кодира тумор-супресорния протеин p53, важен играч в регулирането на клетъчния цикъл, стареенето, автофагията, апоптозата и възстановяването на ДНК в отговор на увреждащи агенти (24). Мутациите в p53 водят до загуба на тумор-супресорни функции на p53, което води до прекомерна клетъчна пролиферация и насърчаване на туморния растеж (29). При НДКБК е налична диспропорционалност на честотата на мутациите на p53 при плоскоклетъчните карциноми и аденокарциномите (съответно 77% срещу 47%) за сметка на плоскоклетъчните (30). Към днешна дата няколко проучвания съобщават, че мутациите в гена за p53 при NSCLC са свързани с по-лоша преживяемост и повишена резистентност към терапия в сравнение с TP53 “дивия тип” (24,30,31). Въпреки това, някои проучвания не потвърждават p53 като прогностичен фактор при НДКБК (32).

Всъщност TP53 е най-честият мутирал ген с 30% честота при НДКБК и съответно широко изследван в областта на връзката си с приложението на ИТ (33). Във времето е установена връзка между TP53 мутацията и повишените PD-L1 експресия и TMB, още повече TP53 фасилитира CD8+ Т клетъчната инфилтрация – основната ефекторна популация при лечението с чекпойнт инхибитори (33,34). Определено TP53 мутациите играят роля при провеждането на ИТ, но все още не е съвсем изяснена. От друга страна наличието на мутации в гена пък е свързано с по-лоша прогноза, както е видимо от проучванията до момента (33,35).

### **EGFR**

При пациентите с НДКБК и **EGFR** мутации, лечението с имунотерапия не допринася за общата преживяемост спрямо ХТ на втора и последваща линия съгласно данните от Lee et al. (36). В подгруповия анализ на проучванията CheckMate 057, KEYNOTE 010 и POPLAR trials, които доказват удължаване на OS при лечение с PD-1 инхибитори спрямо Docetaxel, в групата с налични EGFR мутации липсва съществена полза за пациентите (37–39). При други ретроспективни анализи се наблюдава статистически значимо по-нисък PFS и обективен отговор при пациенти с EGFR мутации, провеждащи лечение с anti-PD-1/PD-L1 имунотерапия в сравнение с останалата популация. Възможните причини за намалената ефективност на ИТ при EGFR мутиралите пациенти се крият вероятно във факта, че при тези пациенти количеството на CD8 + TILs е по-малко. Като цяло наличието на EGFR мутации е негативен предиктивен фактор за лечение с ИТ (33).

### **KRAS**

Обратното на EGFR, мутациите в **KRAS** са свързани с по-добър терапевтичен ефект от приложението на ИТ, по-продължителен PFS и OS. По-високите нива на KRAS мутации също имат значение за потентността на имунотерапията при тези пациенти. За причини се обсъждат по-високите нива на PD-L1 експресия, по-честото наличие на ко-мутации в тумор-супресорни гени, като комутациите на KRAS и PT53 са определяни като по-чувствителни на ИТ (33,40).

### **EML4-ALK**

При пациентите с **EML4-ALK** мутации също се наблюдават скъсен PFS и ORR - отново поради недостатъчно количество на ефекторни Т-лимфоцити в тумора, въпреки че при пациентите с EML4-ALK мутации се наблюдава по-изразена експресия на PD-L1. Има обаче спорадични данни за случай на продължителна и изразена ефективност при пациенти с подобна мутация, което налага по-задълбочено проучване (41,42).

## **PTEN**

Мутациите в **PTEN** са асоциирани с резистентност към имунотерапията чрез увеличаване отделянето на имunosупресивни цитокини и инхибиране на автофагията, въпреки наличието на PD-L1  $\geq 1\%$  и висок TMB при тези пациенти (43,44). Така мутациите в **PTEN** се оформят като негативен предиктивен биомаркер за лечение с чекпойнт инхибитори. Мутацията в **MET** екзон 14 е свързана също с по-кратък PFS и OS, като в международното мултицентрично ретроспективно проучване Immuno Target честотата на обективен отговор е 16%, PFS 3.4м и OS едва 18.4м (45).

## **ERBB2**

**ERBB2** мутациите и най-вече тези с **ERBB2-ex20ins** имат неясна връзка с ефекта от имунотерапията. Въпреки наличието на висок TMB, PD-L1 експресията е ниска и ретроспективните проучвания демонстрират незадоволителен ефект на лечението с anti-PD-1/PD-L1 медикаменти. Комбинациите с ХТ обаче създават възможност за подобряване на ефективността на ИТ (46).

## **BRAF**

**BRAF** мутациите са свързани с по-висока експресия на PD-L1, нисък TMB и ниско ниво на микросателитна стабилност. Добър ефект от ИТ се наблюдава и при **BRAF V600E** и при останалите **BRAF** мутирани тумори (46).

## **PIK3CA**

Пациентите с **PIK3CA** мутациите нямат или имат минимална PD-L1 експресия и също недостатъчно добър ефект от ИТ (33).

## **ROS1**

**ROS1** пренарежданията също са свързани с по-кратък PFS на фона на ИТ, въпреки че при тези тумори се наблюдава повишена PD-L1 експресия (47).

## **RET**

**RET** фузиите при НДКБК са редки и са свързани с много кратък PFS (2.9м) и ORR (7.7%) към имунотерапия за разлика от по-добрия ефект, който се наблюдава от ХТ при тези болни в частност **remetrexed**-базирана ХТ (ORR 63% и PFS 9м) (36).

## **LAG-3**

Генът за активиране на лимфоцити 3 (LAG-3) се експресира върху Tregs и участва в медирането на тяхната функция [202]. Доказано е, че пациентите с НДКБК, чиито тумор-инфилтриращи лимфоцити (TIL) са LAG-3 отрицателни. Те имат по-дълга преживяемост без рецидив и обща преживяемост като цяло в сравнение с пациенти с НДКБК, чиито тумор-инфилтриращи лимфоцити (TIL) са положителни за LAG-3. Освен това, висока експресия на LAG-3 е свързана и с по-висока експресия на PD-1 върху TIL. Когато се вземе предвид експресията както на LAG-3, така и на PD-L1, пациентите, чиито туморни клетки са PD-L1- и LAG-3- TIL, имат по-дълга освободена от прогресия преживяемост спрямо пациентите, които са PD-L1+ и/или LAG-3+ [203]. Въпреки това има и конфронтиращи се данни за обратна зависимост, поради което мястото на LAG-3 като прогностичен маркер е необходимо да се валидира.

### **VEGF**

Туморните клетки си доставят хранителни вещества необходими за растеж и метастазирание чрез съществуващи кръвоносни съдове или ангиогенеза. Васкуларният ендотелен растежен фактор (VEGF) засяга микроваскуларната пропускливост, стимулира растежа на ендотелните клетки и е водещ при образуването на нови кръвоносни съдове при ангиогенезата. Свърхекспресията на VEGF е свързана с рецидив на тумора и метастази и е често срещана при много видове онкологични заболявания, включително карциномите на белия дроб [182]. Няколко проучвания съобщават, че свърхекспресията на VEGF е негативен прогностичен маркер при НДКБК [183,184,185].

Във връзка с предиктивната стойност и лечението с имунотерапия при НДКБД, по-известните до момента генетични алтерации могат да бъдат разделени в три групи – представляващи позитивен предиктор за лечение с ИТ, представляващи негативен предиктивен фактор и такива с неясен все още ефект по отношение на лечението с ИТ (табл. 5)

Табл.5 Разпределение на генетичните предиктивни фактори спрямо влиянието им върху лечението с ИТ.

Негативен предиктивен фактор за лечението с ИТ	Позитивен предиктивен фактор за лечението с ИТ	Неясен ефект по отношение на ИТ
✓ EGFR	✓ BRAF	✓ TP53
✓ EML4-ALK	✓ KRAS	✓ ROS1
✓ MET exon 14 skip mut	✓ NOTCH	✓ PTEN
✓ RET	✓ ERHA5	✓ SMARCA4

✓ PIK3CA	✓ ZFHX3	✓ FBXW7
✓ ERBB2	✓ KRAS + TP53	✓ LRP1B
✓ KEAP1	✓ ZFHX3 + TP53	✓ FAT3
✓ STK11/LKB1	✓ FAT3 + LRP1B	
✓ PBRM1		

### Изследване на периферна кръв

Способността за откриване в периферната кръв на онкогенни активиращи генетични алтерации или други фактори, свързани с резистентността на заболяването към определено лечение, всъщност създава възможността за мониториране на заболяването по нов начин, който не би бил възможен само чрез изследване на туморната тъкан. За момента по-надеждна се очертава употребата на свободна ДНК (cfDNA) в сравнение с циркулиращите туморни клетки (CTCs)(31). Най-голяма част от наличните данни са във връзка с EGFR мутациите и T790M (10). С увеличаване на предиктивните биомаркери, методите за геномно секвениране от типа на NGS стават все по-адекватен метод за всекидневна употреба към момента на диагнозата на НДКБК.

### **4.5 PD-L1 експресия**

В момента единственият валидиран биомаркер за отговор от имунотерапията в клиничната практика е изследването на PD-L1 експресията. Определянето на PD-L1 експресията чрез имунохистохимия (ИХХ) е настоящият стандарт за определяне на пациенти с авансирал НДКБКД, имащи по-голям шанс за отговор на лечение с имунотерапия както при новодиагностицирани пациенти, така и при такива прогресиращи на предшестваща стандартна терапия (48). Множество проспективни проучвания илюстрират връзката между нивото на тъканна експресия на PD-L1 и клиничната ефективност на имунотерапията. В частност изпитванието KEYNOTE-024 демонстрира подобрене в общата преживяемост при пациенти с висока PD-L1 експресия, дефинирана като експресия върху половината и повече туморни клетки на PD-L1, т.е PD-L1 $\geq$ 50% (49). Тези нива в момента са стандарт, определящ подходящите за първа линия монотерапия с Pembrolizumab, Atezolizumab, Cemiplimab и Ipilimumab/Nivolumab при новодиагностицирани пациенти с авансирал НДКБК.

При проучванията за втора линия терапия, където пациентите са лекувани или с Nivolumab или с Atezolizumab спрямо Docetaxel, във всички групи се наблюдава увеличаване на преживяемостта, но за

тези с високи стойности на PD-L1 е най-значимо (37,39,50). В проучването PACIFIC, което проследява пациенти с нерезектабилно III стадий заболяване, завършили дефинитивна лъчехимиотерапия, провеждащи консолидираща поддържаща терапия с Durvalumab, показва подобряване на преживяемостта най-вече при пациенти с PD-L1 $\geq$ 25%. Освен това ретроспективния анализ изключва ползата за пациенти с PD-L1 $<$ 1% (51).

Въпреки значителните доказателства от наличните проучвания, свързващи нивата на експресия на PD-L1 с отговора на имунотерапия и клиничната ефикасност имунотерапевтиците, PD-L1 остава противоречив биомаркер за имунотерапевтичен отговор и няколко въпроса ограничават неговата полезна използваемост. Разликите в платформите за тестване, разликите в нормите на PD-L1 експресия за различните чекпойнт инхибитори, хетерогността на PD-L1 експресията в самите тумори са сред основните фактори, които затрудняват използването и интерпретацията на PD-L1 като прогностичен биомаркер за отговор на имунотерапията (48–50,52–55).

Цяла палитра тестови платформи за изследване на PD-L1 съществуват и различните чекпойнт инхибитори имат различни антитела, одобрени за изследване на PD-L1 статуса. Например при лечение с nivolumab се ползва тестване с 28–8 антитяло, при pembrolizumab - 22C3 антитяло, atezolizumab - SP142 антитяло, durvalumab - SP263 антитяло. Отделно различни граници и системи за точкуване са налични сред различните проучвания за всяко едно от чекпойнт инхибиторите за определяне нивата на PD-L1 експресия. Още повече антителата 22C3, 28–8 и SP263 определят експресията на PD-L1 само върху мембраната на туморните клетки, а SP142 антитялото, използващо се при терапия с atezolizumab, измерва нивата на PD-L1 експресия върху туморните клетки (ТС) и върху инфилтриращите имунни клетки (IC). Така системата за оценка на PD-L1 експресия при Atezolizumab, води до четири категории от най-ниската до най-високата експресия на PD-L1 въз основа на нивото на експресия върху туморни клетки (ТС) и имунни клетки (IC). Най-ниската категория, дефинирана като TC0 и IC0, има PD-L1  $<$  1% както за ТС, така и за IC, докато най-високата категория има PD-L1  $\geq$  50% за ТС или  $\geq$  10% за IC (48).

Интра tumorната хетерогност на PD-L1 експресията, също е съществен проблем при отчитането на резултатите в хода на ИХХ тестване и за определянето на най-подходящото лечение. Хетерогността на резултатите е свързана и с качеството и количеството на тъканната биопсия, и както е доказано в проучванията, често води до фалшиво позитивни или фалшиво негативни резултати (56). Има данни, че колкото по-близки са резултатите до граничните стойности, толкова е по-голям рискът за неправилно интерпретиране на резултатите в едната или другата посока.

Израелско проучване от 2020 г. показва, че при стойности на PD-L1 между 40-60%, процентът за грешка е около 33.33%, докато при стойности  $\leq 20\%$  и  $\geq 80\%$  - грешката е съответно 0.45% и 0.74% ( $p=0.0001$ ) (56). Различни групи са изследвали интратуморната хетерогенност, като повечето включват данни от оперативни протоколи. Обобщението на резултатите не е лесно поради различните платформи за тестване на PD-L1, използваните гранични стойности, качеството и количеството на биопсичния материал, броят пациенти и т.н. Въпреки това, може да се направят следните заключения – хетерогенна PD-L1 експресия между първичното огнище и регионалните ЛВ съществува и е с честота 15-40% (57). Може да се наблюдава позитивна промяна, т.е. първичното огнище да е PD-L1 негативно, а ЛВ позитивни или да има негативно изменение първичното огнище да е PD-L1 позитивно, а ЛВ негативни. Има проучвания и по посока разлики в PD-L1 експресията в ЛВ от различни нива (N1, N2 и т.н), но тук се наблюдават по-изразени сходства между експресията в различните ЛВ спрямо първичното огнище (58). От друга страна, хистологията също оказва значение – плоскоклетъчните тумори са склони към по-голяма конкордантност на PD-L1 експресията между първичния тумор и ЛВ за разлика от аденокарциномите, където има по-съществена интертуморна хетерогенност (57). Дали тази хетерогенност има клинично значение се демонстрира от някои проучвания, които показват, че лечението с чекпойнт инхибитори в случаите на висока PD-L1 експресия, установена от първичния тумор или далечните метастази, има добри резултати. Използвайки обаче резултатите от тестване на регионални ЛВ, отговорът от провежданата ИТ не е толкова добър (57,59). От друга страна може да се наблюдават различна експресия и в различните места на метастазиране. Например, най-висока експресия PD-L1 се наблюдава в чернодробни и плеврални метастази, но ретроспективни проучвания демонстрират, че пациентите с такова разпространение на болестта показват и по-лош ефект при провеждане на ИТ(57,60,61).

#### **4.6 ТМВ**

Туморният мутационен товар (Tumor mutation burden - ТМВ) представлява броят мутации, съдържащи се в туморните клетки. ТМВ също се е обособил като потенциален биомаркер, като пациентите с висок мутационен туморен товар показват по-добър отговор в сравнение с тези с нисък ТМВ. Високият ТМВ е свързан с повече имуногенни неантигенни и съответно потенциално по-добър ефект от ИТ. В проучванията на комбинацията ipilimumab-nivolumab такава зависимост се наблюдава сред всички подгрупи, независимо от PD-L1 експресията, включително и при тези с PD-L1<1%, като честота на обективния отговор (objective response rate –ORR) при двойната блокада е 45% срещу 27% в рамките с химиотерапия (ХТ).

При НДКБК ТМВ и PD-L1 се оформят като два независими прогностични фактора. Стойности на ТМВ  $\geq 10$  mut/Mb (mutations/megabase) определяни върху тъканна проба или  $\geq 16$  mut/Mb в кръвна проба, демонстрират подобряване на обективния отговор, дългосрочен ефект и подобрен PFS на фона на имунната блокада (62). Експлораторен анализ на данните от KEYNOTE-010 и KEYNOTE-042 проучвания, в които се изследва ефикаса от монотерапия с Pembrolizumab спрямо Docetaxel на втора линия или спрямо комбинирана ХТ на първа линия - високия ТМВ е потенциален предиктор на отговор към Pembrolizumab (63,64).

От друга страна, при изследването на ефективността на маркера при комбинирани чекпойнт режими, корелация между маркера и ефективността на ИТ не се открива. Например, при CheckMate 227 комбинацията ipilimumab-nivolumab подобрява общата преживяемост като първа линия независимо от стойностите на мутационния товар (65).

Ето защо въпреки окуражаващите резултати при монотерапиите, липсата на зависимост между ТМВ и OS и липсата на доказателства за прогностична ефективност при ИТ комбинации, ТМВ не може да намери категорично приложение във всекидневната практика. Освен това и тук има нужда от стандартизиране на изчислителните методи и докладването на тъканния ТМВ, за да се осигури възпроизводимост.

#### 4.7 Тумор-инфилтриращи лимфоцити (TILs – tumor infiltrating lymphocytes)

Оценката на туморната имунна микросреда (tumor microenvironment - TME) се превърна в интересен биологичен и клиничен биомаркер в резултат на много данни, подкрепящи прогностичната и потенциално предсказваща значимост на туморно-инфилтриращите лимфоцити (tumor infiltrating lymphocyte -TILs), не само в НДКБК, а и при много различни видове тумори(66).

Установява се, че наличието и количеството на TILs е свързано с по-добра прогноза при много различни онкологични заболявания. Туморната микросреда се състои от лимфоцити (Т и В клетки), отговорни за адаптивния имунитет, и миелоидни клетки, които участват както във вродения, така и в адаптивния имунитет. Всички тези елементи комуникират помежду си със стромата и с туморните клетки чрез получени от тумор цитокини и неоантигени (67).

В TME различните TILs имат различни функции и различни клинични въздействия. ИХХ е основният метод за оценка на видовете TILs, но общата им бройка може да бъде достатъчна за предиктивна и прогностична оценка, според някои изследователи. При НДКБК TILs са широко изследвани и за момента CD8+ TILs се оформя като надежден прогностичен маркер свързан с подобрена преживяемост, докато повишената инфилтрация на Tregs имат обратно негативно влияние върху прогнозата (64).

Ретроспективно е анализирана прогностичната значимост на експресията на PD-L1 в комбинация с CD8+ TIL плътност при 74 пациенти с НДКБК в стадий III, получаващи едновременно химиолъчетерапия. Пациентите са разделени в четири групи: високи стойности CD8+ /PD-L1 отрицателен; ниски стойности CD8+ /PD-L1 позитивен; високи стойности CD8+ високо/PD-L1 позитивен; ниски стойности CD8+ /PD-L1 отрицателен. При средно проследяване от 53 месеца, най-добрият резултат по отношение на PFS и OS е показан в групата с високи стойности на CD8+ TILs и отрицателен PD-L1, като дори медианата не е достигната, следвана от групата с високи ст-сти CD8+ /PD-L1 позитивен група с PFS от 17,6 месеца и OS от 35,3 месеца. От друга страна, групата с най-лоши резултати е със ниски нива на CD8+ и позитивен PD-L1 с PFS от 8,6 месеца и OS от 13,9 месеца. Тези резултати подвърждават отрицателната прогностична стойност на PD-L1 и подчертават значението на взаимодействието лимфоцит-тумор. Освен това се знае, че лъчетерапията повишава експресията на PD-L1 и насърчава антитуморния имунитет (68), следователно е разумно да се смята, че в ерата на имунотерапията, комбинацията от проследяване на експресия на PD-L1 и CD8 може да има важна прогностична стойност (69).

При част от проучванията с чекпойнт инхибитори, като например Nivolumab и Pembrolizumab, изследователите се фокусират предимно върху експресията на PD-L1 като предиктивен маркер (64), но изследванията на PD-L1 инхибитора Atezolizumab потвърждават прогностичната роля на PD-L1 върху

туморните клетки, но и разглеждат експресията на PD-L1 върху TILs, което затвърждава прогностичната им роля (50).

В заключение можем да потвърдим прогностичната и предиктивна роля на TILs при НДКБК и по-специално, комбинацията от експресия на CD8+ и PD-L1, която изглежда е по-стабилен биомаркер от единствено PD-L1. Въпреки това, директната оценка на TILs остава трудна поради малкия хистологичен материал, получен при биопсиране и поради неспособността на единичната биопсична проба да отразява микросредата на всяка метастаза. Въвеждането на радиологични методи и програми за оценка на имунната инфилтрация може да бъде валиден, неинвазивен метод за оценка на TILs и за определяне на тяхната роля като биомаркер (64)

#### **4.8 Неутрофил-лимфоцитно съотношение (NLR), тромбоцит-лимфоцитно съотношение (PLR)**

Както обяснихме по-горе, туморната микросреда е от особено значение за развитието на злокачественото заболяване, но от друга страна фактори на системно възпаление (SIR – systemic inflammation response) могат също да се използват като лесен и достъпен метод за оценка на прогнозата на пациентите, както с напреднало заболяване, така и в по-ранен стадий (70). Стойностите на С-реактивния протеин, албумин, общия брой левкоцити, неутрофили-лимфоцитно съотношение (NLR), тромбоцит-лимфоцитно съотношение (PLR) и лимфоцит-моноцитното съотношение (LMR) са маркери изследване в доста проучвания и доказали своята връзка с прогнозата на пациентите с НДКБК (70–72).

NLR не е нов показател, а е съотношение чиято връзка със злокачествените заболявания се споменава и изследва още от 90-те години на миналия век. В последните две десетилетия обаче все по-широко се проучва влиянието на NLR върху прогнозата на пациентите с различни първични локализации. Актуалните изследвания показват, че неутрофилите в кръвта репрезентирани чрез NLR са пряко свързани с броя интратуморни неутрофилни популации, които е възможно да имат потенциал за компрометиране на противотуморния имуен отговор (73,74). Установено е, че неутрофилите и тромбоцитите играят важна роля в развитието и прогресията на злокачествените заболявания или чрез упражняване на директен ефект върху тумора или чрез индиректно въздействие върху други компоненти на туморната микросреда. Този ефект се постига чрез секрецията и освобождаването на различни хемокини и цитокини, включително трансформиращ растежен фактор бета (TGF- $\beta$ ), съдовият ендотелен растежен фактор (VEGF), IL-6, IL-8 и матрични металопроотеинази (75,76). По-високия брой на неутрофилите и намалено съдържание на CD8+ в туморни клетки на НДКБК показват известна връзка помежду си в част от съвременните проучвания (77), определяйки високите стойности на неутрофилите като възпалителен отговор, подтискащ противотуморния имуен отговор чрез

инхибиране на цитотоксични клетки, като активираните CD8+T клетки. От това следва възможно намаляване на отговора на имунотерапията.

Множество изследвания от Япония, Китай и Великобритания събрани в метаанализ от 2013 г. показват, че пациентите с високи стойности на NLR имат по-лоша прогноза и тенденцията да се диагностицират с по-авансирало заболяване – по-високи стойности на T-статус, повече ангажирани ЛВ, по-голям брой метастатични лезии (78). Значението на маркерите е търсено в различни посоки, дори и в предиктивната им полза по отношение на риска от окултни метастази в регионални ЛВ при ранни карциноми на белия дроб, където обаче NLR и PLR не показват категорично ясна връзка (79). В метаанализ от 2015 г. на проучвания разглеждащи прогностичната стойност на NLR се доказва статистическата връзка на NLR и OS и определянето на 5 като гранична стойност за разграничаване на групите с увеличена OS при  $NLR < 5$  и влошаване на общата преживяемост при  $NLR \geq 5$  (72).

Проучванията продължават в търсене на отговор дали показателите на системно възпаление може да са предиктори за по-добър ефект при разширяващото се прилагане на имунотерапията. Американско проучване от 2017 г. на пациенти с авансирал меланом, провеждащи поредна линия терапия с Nivolumab, проследява пациентите като ги разделя в две групи с  $NLR < 5$  и  $\geq 5$ . При пациентите с по-високи стойности на NLR се наблюдава скъсен PFS и влошаване на OS, но не може да се определи дали NLR се явява предиктивен и прогностичен фактор в случая (80). Друго проучване от същия период, разглеждащо пациенти с НДКБК провеждащи втора линия Nivolumab и проследяващо NLR и PLR, доказват статистически значима връзка на високите стойности на NLR с по-ниска обща преживяемост (OS,  $p < 0.001$ ) и степен на обективен отговор (ORR,  $p = 0.013$ ), на фона на липса на влияние върху свободната от прогресия преживяемост (PFS,  $p = 0.114$ ) (81). Резултатите за PLR в проучването са сходни. При ретроспективно наблюдение на пациенти с авансирал не-сквамозен НДКБК на първа линия лечение с Pembrolizumab + ХТ ( платина + Pemetrexed), отново потвърждава значението на NLR. Пациентите с ниски стойности на  $NLR < 5$  демонстрират статистически значим по-добър ефект от провежданото лечение, изразяващо се в по-дълъг PFS и OS в сравнение с високото  $NLR \geq 5$  (PFS: 12.8 vs. 5.3 months,  $p = 0.0002$ ; OS: 29.4 vs. 12.0 months,  $p < 0.0001$ ) (82).

Като цяло може да се заключи, че редица функционални *in vitro* и *in vivo* проучвания показват, че туморите стимулират неутрофилите за насърчаване на ангиогенезата и имunosупресията, както и миграцията, инвазията и метастазите на туморните клетки. Следователно е необходимо да се разберат подробно механизмите, модулиращи промените в биологията и функциите на неутрофилите и последващите изменения, които оказват те в контекста на туморната микросреда, събирането им в

тумора (хемотаксис), удълженото оцеляване и повишено освобождаване на протуморални медиатори (74).

#### **4.9 Белодробен възпалителен индекс (ALI – advanced lung cancer inflammation index)**

Белодробният възпалителен индекс е маркер, с който също се търси връзка между системното възпаление и прогнозата на пациентите с метастатичен карцином на белия дроб. ALI е оформен като съотношение между BMI, албумина и NLR (фиг.3)

$$(ALI) = (BMI) \times (Alb) / NLR$$

Фиг.3 Белодробен възпалителен индекс (ALI)

Комбинирането на фактори отразяващи нутриционния статус и тези представляващи степента на системното възпаление, както е при ALI се оказва функционално. В проучване от 2022 г. отразяващо ефективността на 16 фактори на SIR и нутриционния статус, ALI демонстрира най-добра предиктивна стойност по отношение на OS спрямо time-AUC и C-index анализите. В подгруповия анализ ALI има най-добра предиктивна стойност и независимо от полът, тютюнопушенето и при пациенти <65 г. Сред останалите проследявани фактори са Glasgow prognostic score, включващ отношението на CRP и albumin, glucose-to-lymphocyte ratio (GLR), prognostic nutritional index (PNI), lymphocyte-to-CRP ratio (LCR) и други (83)

Поставянето на точна прогноза и преценката за възможния ефект на определена лечебна модалност обаче, все още не е напълно възможно, въпреки дългогодишната задълбочена работа в тази посока и все още е предизвикателство пред научната общност. Това е важна част от лечебната стратегия на пациентите с онкологични заболявания, за да се избегне вреда, излишен дискомфорт и неподходящо лечение за определени групи уязвими пациенти, както и да се изготвят специфични терапевтични стратегии за всеки индивидуален пациент (27).

## **5 Саркопения като нов съвременен биомаркер**

### **5.1 История и терминология:**

Терминът *саркопения* е въведен за първи път от Ървин Розенберг през 1988 г. в Ню Мексико, за да охарактеризира загубата на мускулна маса при възрастни хора (84). Баумгартнер и сътрудници предлагат работна дефиниция на саркопенията през 1998 г. използвайки данните от двуенергийна рентгенова абсорбциометрия, т.е костна денситометрия (DAXA) (85). Баумгартнер дефинира саркопенията като намаление с повече от две стандартни отклонения на апендикуларна мускулна маса

(ASM, кг) на височина на квадрат ( $m^2$ ) спрямо средната за референтната група от млади индивиди и открива връзка между увеличаването и влошаване на саркопенията с напредване на възрастта, както и корелацията ѝ с физическо увреждане (86). Същият екип установява, че при възрастни хора със затлъстяване, тези които са загубили мускулна маса имат по-ниска преживяемост от тези, които са запазили мускулната си маса (87). Въведен е терминът „саркопенично затлъстяване“ за това състояние.

## 5.2 Механизми на развитие на саркопенията

Саркопенията е многофакторно заболяване (88), като някои от идентифицираните до момента фактори са ниски нива на физическа активност, което подпомага намаляването на мускулната маса, намаления калориен прием, прогресивно увеличаване на фиброзата, промени в мускулния метаболизъм, хроничното възпаление, наличие на оксидативен стрес и дегенерация на невромускулното предаване (89).

Клетъчните и молекулярните механизми в основата на саркопенията са добре описани от Riuuzzi et al. (90).

Ниските нива на физическа активност са сред основните рискови фактори за саркопения, заедно с намаляването на мускулните влакна (91). Постепенната загуба на мускулни влакна започва от 50 години и приблизително 50% от влакната се губят до 80-годишна възраст, но от друга страна загубата на мускулни влакна се наблюдава и при спортисти (91).

В допълнение към това, хормоналните промени наблюдаващи се с възрастта, засягащи хормона на растежа, тестостерона, щитовидните хормони и инсулиноподобния растежен фактор, водят до загуба на мускулна маса и мускулна сила. Причината е дисбаланс между анаболните сигнали и катаболните сигнали от тумор некротизисфактор- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) и интерлевкин-6 (IL-6)(92). Хормоналният спад свързан със стареенето, също е вероятно да повлияе на загубата на мускулна маса чрез намаление количества тестостерон и естроген съответно при мъжете и жените (93,94).

Освен това, неадекватният прием на хранителни вещества и ниският протеинов синтез са често срещани при по-възрастните хора, докато натрупването на липофусцин и cross-linked протеини в скелетните мускули се смята за причина за ниска мускулна сила при хора със саркопения. Отделно затрудненото активиране на вид стволни клетки в мускулите, наречени миосателитни клетки, се смята за допълнителна причина за развитие на саркопения (95).

От хистологична гледна точка е установено, че саркопеничното състояние засяга мускулните влакна тип II като намалява тяхното количество, техния размер и броя на техните митохондрии (96). По-

специално сред по-възрастните хора се установява намалена консумацията на храна с до 25% (97), като качеството на приеманата храна е значително компрометирано (98).

Хроничното възпаление е фактор за почти всяко известно заболяване (99,100). Стареенето се характеризира с увеличаване на възпалителните маркери и свързаните с тях фактори. Свързаното със стареенето възпаление при липса на други заболявания, включително инфекции, се характеризира като нискостепенно, хронично и системно. Това води до реакции, които допринасят за дегенерация на тъканите. Приема се, че възпалението свързано със стареенето, е резултат от намален имунен отговор или излагане през целия живот на антигенни стимули (101), което води до увреждане на тъканите чрез освобождаване на цитокини, медирано от вродения и придобит имунитет(102). Свързаното с възрастта възпаление е последвано от свързано с възрастта намаляване на броя на Т и В лимфоцитите, заедно с повишаване на Т killers и различни цитокини като TNF- $\alpha$ , интерлевкин-6 (IL-6), интерлевкин-1 (IL-1) и С-реактивен протеин (CRP) (89). Известно е, че това променено активиране на клетъчния сигнален път насърчава възпалителното състояние, независимо от тъканно увреждане или антигенна експозиция, което допълнително води до една от патогенетичните основи, които са в основата на саркопенията (103,104). Това състояние също води до анаболна резистентност, която е един от основните детерминанти на саркопенията и предполага, че протеиновият синтез на скелетните мускули в отговор на физиологични стимули в по-възрастната популация е под нивото на мускулна поддръжка (105).

Освен това миостатинът - протеин, произведен и освобождаващ се от миоцити, засяга функцията на мускулните клетки, за да инхибира миогенезата чрез индуциране на образуването на SMAD - протеиновия комплекс, променящ транскрипцията. SMAD представлява комплекс от основните сигнални преобразуватели за рецепторите на TGF- $\beta$  (трансформиращия растежен фактор бета), които са от фундаментално значение за регулиране на клетъчното развитие и растеж (106). Миостатинът потиска и ефектите на PGC-1 $\alpha$  (коактиватор 1  $\alpha$  на пероксизомно пролифератор-активиран рецептор- $\gamma$ , представляващ транскрипционен коактиватор. Той подобрява митохондриалната биогенеза и инхибира транскрипционната активност на FoxO (семейство протеини, които са от решаващо значение за регулирането на експресията на гени, играещи роля в клетъчния растеж, пролиферация, диференциация, както и дълголетие)(106). Съществува връзка между повишеният миостатин и намалената мускулна маса както в проучвания върху животни, така и при хора. Това го прави потенциален медиатор на саркопения, както и възможна терапевтична цел (107,108).

В изследвания се доказва, че саркопенията може да има и генетична предиспозиция. Доказателствата показват, че саркопенията може да бъде повлияна и от генетично предразположение. Машабни

проучвания върху целия геном, оценяващи влиянието на генетичните вариации върху скоростта на походката, чистата телесна маса и силата на захващане, откриват връзката на единични нуклеотидни полиморфизми (SNPs) със синаптичната функция и невронната поддръжка, структурата и функцията на скелетните мускулни влакна и мускулния метаболизъм (109).

Има и доказателства, свързващи молекулярните циркадни ритми с поддържането на скелетните мускули. Циркадният часовник играе критична роля в много физиологични функции на скелетните мускули и е важно да се разберат по-добре основните биофизиологични процеси, които са в основата на тези сложни взаимодействия. Значението на циркадната експресия за структурата, функцията и метаболизма на скелетните мускули става очевидно при изучаване на мускулния фенотип в модели на нарушаване на молекулярния часовник. Загубата на Bmal1 (мозъчен и мускулен Arnt-подобен протеин 1) ген, водещ до саркопения и множество патологични мускулни нарушения, е наблюдавана като и намалена митохондриална плътност и променено митохондриално дишане, промени във вида на влакната, нарушена саркомерна структура, и ограничена функция (110).

След гореизброените факти относно патофизиологията на саркопенията, фокусирайки се върху пациентите с онкологични заболявания, може да се направят изводи, че при тях има значително по-висок риск от развитие на саркопения и задълбочаване на вече наличното заболяване. Като цяло честотата на злокачествените заболявания се увеличава с възрастта. Съгласно SEER данните на NHI (National health institute) очакваната честотата на диагностицираните пациенти под 20 години е 25 на 100 000 за 2023 година, което представлява под 1 %. В групата между 45-49 години честотата на новодиагностицираните пациенти се увеличава на 350 на 100 000, а мнозинството са пациентите над 60 год. с честота над 1 000 нови случая на 100 000. Според статистиката от 2021 г. средната възраст за поставяне на онкологична диагноза е 66 години (111). При тази група пациентите с онкологични заболявания, освен свързаните с възрастта причини, попадат и намалената физическа активност в следствие на разпространението на заболяването. То се увеличава с увеличаване на стадия, осъществяването на оперативни интервенции, провеждането на лъчетерапия и системно лечение с наличието на токсичности, водещи до влошаване на общото състояние и намаляване възможността за по-активна физическа дейност (112). Друга съществена причина е и наличието на системно възпаление, което е характерно за злокачествените заболявания, свързано с множеството споменати механизми на въздействие върху процесите на развитие на саркопенията. Локорегионално увреждане, причинено от проведеното хирургично или лъчелечение, съпътстващите заболявания имат и системно отражение оказващо влияние върху процесите на развитие на саркопения (112). Недохранването и изобщо компрометирания хранителен прием, който се наблюдава особено при определени злокачествени

заболявания, също трябва да се вземе предвид в многопластовия механизъм на въздействие на онкологичното заболяване върху саркопенията (112, 261).

През последната декада разпространението на саркопенията е изследвано при пациенти с различни първични тумори и в повечето случаи е определено чрез компютърна томография (Табл. 6) (86). Сред цитираните проучвания прави впечатление, че повечето автори съобщават за процент на саркопения над 40% от наблюдаваните пациенти. Първичните тумори, които показват най-висок среден процент на саркопения, са рак на панкреаса, белия дроб и пикочния мехур. При някои тумори (на панкреас или на гърдата) саркопенията изглежда по-честа в напредналите стадии, отколкото в по-ранните стадии.

Табл.6 Разпространение на саркопенията сред пациенти с различни първични онкологични заболявания. (86)

Автор (година)	Първичен тумор	Честота на разпространение в съответната популация %
Prado [32] (2008), Lieffers [39] (2012), Huang [40] (2015), Jung [41] (2015), Reisinger [42] (2015), Broughman [43] (2015), Miyamoto [44] (2015), van Veddler [45] (2012), Thoresen [46, 47] (2012, 2013), Borret [48] (2014), Van Vugt [49] (2015)	Колоректален карцином (локорегинално заболяване)	39 (25–60)
	(метастатично)	30 (19–71)
Mir [50, 51] (2012, 2012), Dhooge [52] (2013), Harimoto [53] (2013), Meza-Junco [54] (2013), Voron [55] (2015), Fujiwara [56] (2015), Imai [57] (2015), Iritani [58] (2015), Levolger [59] (2015), Nault [60] (2015), Kamachi [61] (2016)	Черен дроб	45 (11–76)
Dalal [62] (2102), Peng [63] (2012), Di Sebastiano [64] (2013), Amini [65] (2015), Cooper [66] (2015), Joglekar [67]	Панкреас (ограничено заболяване)	44 (25–52)

Автор (година)	Първичен тумор	Честота на разпространение в съответната популация %
(2015), Tan [68] (2009), Wesseltoft-Rao [69] (2015), Choi [70] (2015), Rollins [71] (2015)	(авансирало заболяване)	61 (21–89)
Awad [72] (2012), Yip [73] (2014), Anandavadivelan [74] (2015), Tan [75] (2015), Harada [76] (2015), Tamandl [77] (2016)	Хранопровод	44 (26–65)
Prado [32] (2008), Baracos [78] (2010), Stene [79] (2015), Kim [80] (2015), Kimura [81] (2015)	Бял Дроб	61 (5–87)
Antoun [82] (2010), Peyton [83] (2015), Psutka [84] (2015), Huillard [85] (2013), Cushen [86] (2014), Fukushima [87] (2015), Sharma [88] (2015)	Бъбрек (локорегионално заболяване)	47 (25–55)
	(метастатично заболяване)	43 (29–68)
Smith [89] (2014), Fukushima [90] (2015), Psutka [91] (2015),	Пикочен мехур	60 (38–70)
Del Fabbro [92] (2012)	Гърда (локорегионално заболяване)	14
Prado [93] (2009)	(метастатично заболяване)	27
Camus [94] (2014), Nakamura [95] (2015)	Нехочкинов лимфом	55–56

Автор (година)	Първичен тумор	Честота на разпространение в съответната популация %
Tegels [96] (2015), Wang [97] (2016)	Стомах	13–58
Daly [98] (2017)	Меланом	24
Sharma [99] (2014)	Пенис	51
Parsons [100, 101] (2012), Morishita [102] (2012), Veasey [103] (2013), Kilgour [104] (2013)	Смесени	47 42–51)

### 5.3 Видове саркопения

Съществуват много причини за свързаната с възрастта саркопения, включително загуба на моторни неврони инервиращи мускулите, системно възпаление, оксидативен стрес, спад на анаболните хормони и т. нар. „анорексия на стареенето“, съчетана с намаляване на физическа активност ( фиг.4) (113,114). По този начин се обособяват два вида саркопения - първична саркопения (свързана с възрастта) и вторична саркопения (свързана със заболявания като захарен диабет, онкологични заболявания, хронична обструктивна белодробна болест или сърдечна недостатъчност) (115).

#### **Първична саркопения (саркопения на стареенето, саркопения свързана с възрастта)**

През 2010 г. Европейската работна група върху саркопения при възрастни хора препоръчва нова дефиниция за саркопения на стареенето, а именно наличието на ниска мускулна маса, заедно с ниска мускулна функция (сила или производителност). През последното десетилетие много други консенсусни групи одобряват тази ревизия на значението на саркопенията на стареенето (116–120). Въпреки това, всички тези групи използват различни гранични стойности, за да дефинират саркопенията, подчертавайки факта, че са необходими различни ограничения за различните етнически групи (115,120).



Фиг.4 Фактори, участващи в патогенезата на първичната саркопения

### **Вторична саркопения**

Злокачествените заболявания са най-изучаваната причина за вторична саркопения, а международните консенсусни дефиниции, специфични за саркопения, свързана с онкологични заболявания, се основават на специфични показатели като смъртност, усложнения от оперативно лечение и токсичност при системна терапия (121). Дали в случая вторичната саркопения трябва да се счита за ранна кахексия или саркопения остава спорно, но става все по-ясно, че саркопенията е само една от различните характеристики на мускулните промени свързани с кахексията при онкологично болните пациенти (122). Поради преобладаващото използване на компютърна томография при диагностициране и проследяване на злокачествените заболявания, вторичният анализ на изображенията на площта или обема на напречното сечение на скелетните мускули, е настоящият стандарт за количествено определяне на мускулната маса при тези пациенти (115).

Има няколко важни нюанса по отношение на свързаната с възрастта и вторичната загуба на мускулна маса. Загубата на мускулна маса с възрастта започва да се случва непрекъснато след достигане на пикова мускулна маса в млада възраст (на около 30-годишна възраст). Разнообразие от изследвания предоставят информация за скоростта на загуба на мускулна маса за определен интервал. Процентът загуба на ASM за 10 години е от порядъка на ~5% при мъжете и обикновено се съобщава, че е малко по-нисък при жените (115). Свързаната с хронично заболяване загуба на мускулна маса също е прогресивна, но зависимостта не е линейна и настъпва със значително по-висока скорост, в сравнение

с наблюдаваната при стареенето. Например, онкологичните заболявания в по-напредналите стадии предизвикват загуба на мускулна маса с времето, която има експоненциален ход с нарастваща интензивност в зависимост от прогресията на заболяването, варираща от 2% на 100 дни до 15% на 100 дни (123,124). Общата кумулативна загуба за 12 месеца при пациенти с карцином на дебелото черво е 15.6%, която се равнява на около 30 години остаряване (124). Това отчасти е свързано с болестта, но и отчасти се влияе от извършеното оперативно лечение и провеждането на системна противотуморна терапия, които предизвикват краткосрочни пикове в загубата на мускулна маса. Острите заболявания, изискващи хоспитализация понякога са свързани с дори по-висока интензивност на мускулна загуба, отколкото онкологичните такива. При планова операция за смяна на тазобедрената става например, по време на средно  $5.6 \pm 0,3$  дни хоспитализация, се наблюдава значително намаляване размера на четириглавия мускул ( $-3,4 \pm 1,0\%$ ) и площта на напречното сечение на бедрения мускул (CSA) ( $-4,2 \pm 1,1\%$ ) при неопериран крак ( $P < 0.05$ ) (125,126). Саркопенията от друга страна в резултат на хоспитализация по повод на остро заболяване или обостряне на хронично заболяване може да бъде частично възстановима или може да доведе до повишен риск от развитие на саркопения в млада възраст (127).

#### **5.4 Диференциална диагноза на саркопенията, малнутриция и кахексия:**

Малнутрицията, кахексията и саркопенията не са едно и също състояние, но възможността тяхната диагноза да се сбърка е голямз, защото имат някои общи характеристики и се припокриват в някои от критериите си. Тяхната физиопатология, етиология и прогноза обаче се различават значително, както и диагностичните и терапевтичните подходи. Уеднаквяването на международните терминологии, дефиниции и диагностични критерии за саркопения, малнутриция (недохранване) и кахексия, както и ранното прилагане на терапевтичните подходи, като част от стандарта за грижата на онкологичните пациенти в клиничната практика, изисква съвместни усилия и не трябва да се отлага.

Първоначалният въпрос е дали саркопенията, недохранването и кахексията трябва да се дефинират като заболявания, нарушения, синдроми или състояния – термини, които често се използват взаимозаменяемо, но имат различни значения (128). *Болест* е всяко отклонение или прекъсване на нормалната структура, функция на орган или система на тялото, което се проявява с характерни симптоми и признаци. *Нарушението* се определя като разстройство или промяна на функцията, болезнено физическо или психическо състояние. *Синдромът* е комплекс от признаци и симптоми, произтичащи от обща причина или проявяващи се в комбинация, като оформят обща клинична картина на заболяване или наследствена аномалия. И накрая, *състоянието* показва форма на физическо и психическо здраве или благополучие (128). Независимо от използвания термин обаче, тези състояния

може да имат разнообразни патогенетични основи и разлики във въздействието им върху специфични популации, например, онкологичните пациенти. Категорично може да се твърди, че тези припокриващи и преминаващи едно в друго състояния оказват влияние върху преживяемостта и качеството на живот на онкологичните пациенти. Те нарушават следването на терапевтичния алгоритъм и увеличат риска от странични ефекти от проведеното лечение. Ето защо е важно насоченото внимание за търсене и разграничаването на тези състояния.

### **Малнутриция:**

Малнутрицията (недохранването) е състояние, което се характеризира с намален прием или усвояване на хранителни вещества, което води до намаляване на теглото и промяна композицията на тялото, свързано с нарушена физическа и умствена активност (128–130). Европейската асоциация за клинично хранене и метаболизъм (European Society of Clinical Nutrition and Metabolism (ESPEN) е оформила ръководства, които разграничават свързаната със заболяване малнутриция с наличие на възпаление, свързана със заболяване малнутриция без наличие на възпаление и малнутриция без подлежащо заболяване (128,130,131). Американското общество за парентерални и ентерално хранене (АОПЕХ) и ESPEN препоръчват ранното използване на скринингови тестове за ранна диагностика на хранителните разстройства, каквото е малнутрицията като например Mini Nutritional Assessment Short Form (MNA-SF)(128,132). Въпреки значението на загубата на тегло за поставяне на диагнозата, малнутрицията трябва да се разглежда и като състояние свързано със загуба на скелетна мускулатура, както и да се отчита влиянието на налично заболяване и възпаление съгласно данните, събрани последните години. Ето защо Глобалната инициатива за лидерство при Малнутриция (Global Leadership Initiative on Malnutrition (GLIM) е създала критерии за поставяне на диагнозата малнутриция основаващи се на наличието на поне един фенотипен критерий (неволево намаление на теглото, нисък BMI или намалена мускулна маса) в комбинация с поне един етиологичен критерий (намален прием или усвояване на хранителни вещества или налично заболяване/възпаление) (фиг.5).



Фиг.5. Критерий за диагностициране на недोхранване от Глобалната инициатива за лидерство при Малнутриция (Global Leadership Initiative on Malnutrition (GLIM))(133)

### **Кахексия:**

Кахексията е често срещана проява на някои сериозни заболявания, като хронична сърдечна недостатъчност, синдроми свързани с имуен дефицит и онкологични заболявания (134). Кахексията и по-конкретно кахексия, свързана със злокачествени заболявания, е вид свързано с болестта недохранване, асоцииращо се с хронично възпаление, което не трябва да се възприема като недохранване в краен стадий (130). Оформянето на единна дефиниция със специфични диагностични критерии все още е предизвикателство за научната общност (128,135,136). Един от първите успешни опити е осъществен на Консусусната конференция за кахексия, проведена във Вашингтон през декември 2006 г. (135). Кахексията е определена като „сложен метаболитен синдром, свързан с подлежащо заболяване и характеризира се със загуба на мускулна маса със или без загуба на мастна тъкан“, където загубата на тегло е посочена като най-важната характеристика на кахексията при възрастни. Диагностичните критерии включват загуба на тегло като основен критерий плюс три от пет други критерия (Фиг.6). При липса на данни за динамиката на теглото, този консенсус препоръчва използването на  $BMI < 20 \text{ kg/m}^2$  като основен критерий (135). Споменатите критерии изискват специално оборудване за оценка на мускулната сила и оценка на телесния състав, както и кръвни изследвания, което ограничава използването им в клиничната практика. През 2012 г. с международен консенсус кахексия, свързана с онкологични заболявания е определена като мултифакторен синдром, характеризира се с продължаваща загуба на скелетна мускулна маса (със или без загуба на мастна

тъкан), който не може да бъде напълно обратим чрез определен хранителен режим и води до прогресивно функционално увреждане (136). Кахексията е класифицирана в три подгрупи с различни възможности за терапевтично повлияване: **пре-кахексията** - състояние с най-голямата възможност за превенция; **кахексията** - включва мултимодален процес на повлияване, фокусиран върху обратими взаимосвързани фактори; **рефрактерната кахексия** - краен етап на това състояние, при който не се наблюдава отговор на специфичното противотуморно лечение, характеризира се с активен катаболизъм и очаквана продължителност на живота по-малко от три месеца. Не всички пациенти преминават през трите етапа: прогресията на състоянието зависи от тежестта на онкологичния процес, нивото на системно възпаление, приема на храна и отговора от провежданото специфично лечение (136).



Фиг.6 Диагностични критерии за кахексия (135)

Саркопенията и кахексията могат да възникнат едновременно при един и същ пациент, като това е свързано с по-лоша прогноза, особено при по-възрастните онкологично болни пациенти (137–139). Етиологичната основа, свързана с намаляване на мускулната маса, налична и при двете състояния, има обаче различни механизми на възникване (140). Диференциалната диагноза между двете състояния е предизвикателство за клиничната практика, тъй като няма ясна демаркационна линия между двете или скринингови методи за разграничаването им (141,142). Поради това припокриване на състоянията е възможно (141,143). Нецеленасочената загуба на тегло и намаленият прием на храна (анорексия) в контекста на хронично системно възпаление и метаболитни промени са важни характеристики на кахексията (135,136,144). От друга страна саркопенията е заболяване, свързано с възрастта или

наблюдавано при хронични заболявания, при което загубата на тегло не е диагностичен критерий (92). Докато недोхранването е в основата на дисбаланса между енергийния прием, разхода на енергия и качеството на приема на хранителни вещества и, както при кахексията, то може да бъде свързано със заболяване с възпалителна активност, саркопенията е прогресивно и генерализирано нарушение на скелетната мускулатура, което може да бъде свързано с друго заболяване или възпалителен процес или да протича самостоятелно (92,128,130). В допълнение, недохранването е силен предиктор за саркопения и тежка саркопения (145).

## **6. Диагностика на саркопенията**

Съществуват разнообразни методи за диагностика и оценка на саркопенията в клиничната практика и в клиничните проучвания (263).

### **Измерване на мускулната сила**

Измерването на силата на захващане е просто и евтино. Ниската сила на захващане е мощен предиктор за лоши резултати за пациентите, като по-дълъг болничен престой, повишени функционални ограничения, лошо качество на живот (146,147). Точното измерване на силата на захващане изисква използване на калибриран ръчен динамометър при добре дефинирани тестови условия с интерпретативни данни от подходящи референтни популации (148). Силата на хватката корелира умерено със силата в други отделения на тялото, така че служи като надежден заместител за по-сложни мерки за сила на ръцете и краката. Поради лекотата на използване, силата на захващане се препоръчва за рутинна употреба в болничната практика, в специални клинични условия и в общественото здравеопазване (92,146,147,149,150). Динамометърът Jamar е валидиран и широко използван за измерване на силата на захващане, въпреки че се проучва използването на други марки (151). Когато измерването на сцеплението не е възможно поради увреждане на ръката (например с напреднал артрит или инсулт), могат да се използват методи за изометричен въртящ момент за измерване на силата на долните крайници (152).

Тестът за стойка на стола (наричан още тест за изправяне на стол) може да се използва за оценка силата на мускулите на краката (мускулна група на четириглавия мускул). Тестът за стойка на стол измерва времето, необходимо на пациента да се изправи пет пъти от седнало положение, без да използва ръцете си; тестът за изправяне на стол с времеви интервал е вариация, която отчита колко пъти пациентът може да се изправи и да седне на стола за 30-секунден интервал (92,150). Тъй като тестът за стойка за стол изисква както сила, така и издръжливост, този тест е квалифицирана, но удобна мярка за сила.

## **Изследване на мускулната маса**

Мускулната маса може да бъде оценена чрез различни техники и има множество методи за коригиране на резултата спрямо височина или съответно на BMI (92,153). Количеството мускулна маса може да бъде отчетено като обща телесна скелетна мускулна маса (SMM), като апендикуларна скелетна мускулна маса (ASM) или като площ на мускулното напречно сечение на специфични мускулни групи или места на тялото.

Магнитният резонанс (MRI) и компютърната томография (CT) се считат за златни стандарти за неинвазивна оценка на мускулното количество/маса (150).

Двуенергийната рентгенова абсорбциометрия (DXA) е по-широко достъпен инструмент за неинвазивно определяне на количеството мускулна маса (обща телесна телесна маса или апендикуларна скелетна мускулна маса), но различните марки инструменти DXA не дават последователни резултати (92,154). Понастоящем DXA е предпочитан от някои клиницисти и изследователи за измерване на мускулна маса (92). Мускулната маса е свързана с размера на тялото; т.е. хората с по-голям размер на тялото обикновено имат по-голяма мускулна маса. По този начин, когато се определя количествено мускулната маса, абсолютното ниво на SMM или ASM може да се коригира за размера на тялото по различни начини, а именно като се използва височина на квадрат ( $ASM/height^2$ ), тегло ( $ASM/тегло$ ) или индекс на телесна маса ( $ASM/BMI$ ) (155,262). Има дискусия относно предпочитаната корекция и дали един и същ метод може да се използва за всички популации.

Предимство на DXA е, че може да осигури възпроизводима оценка на ASM за няколко минути при използване на същия инструмент и гранични точки. Недостатък е, че инструментът DXA все още не е преносим за широко използване в общността, а измерванията на DXA могат също да бъдат повлияни от състоянието на хидратацията на пациента.

Биоелектрически импеданс (BIA) се използва за оценка на общата мускулна маса или ASM. Чрез BIA не измерва директно мускулната маса, а вместо това извлича оценка на мускулната маса въз основа на електропроводимостта на цялото тяло. Оборудването на BIA е достъпно и лесно приложимо. Трябва да се има предвид, че оценките на мускулната маса се различават, когато се използват различни марки инструменти и референтни популации. Възрастта, етническата принадлежност, хидратацията на пациента могат да повлияят резултатите от BIA (92).

### **Оценка на физическата производителност**

Физическата производителност се определя като обективно измерима функция на цялото тяло, свързана с движението. Това е многоизмерна концепция, която включва не само мускулите, но и активността на централната и периферната нервна система, включително баланса (156). Тази величина може да бъде определена по различни начини чрез скоростта на походка, тестовете SPPB и Timed-Up and Go (TUG), наред с други тестове, но не винаги може да бъде измерена поради нарушаване ефективността на тестовете в случаи на деменция, нарушение на походката или нарушение на равновесието.

Скоростта на походката се счита за бърз, безопасен и високо надежден тест за саркопения и се използва широко в практиката (157). Често използваният тест за скорост на походка се нарича 4-метров тест за обичайна скорост на ходене, като скоростта се измерва ръчно с хронометър или инструментално с електронно устройство за измерване на времето на походка. За улеснение, единична скорост на прекъсване  $\leq 0,8$  m/s се определя като индикатор за тежка саркопения (92). SPPB е композитен тест, който включва оценка на скоростта на походка, тест за баланс и тест за стойка на стол. Максималният резултат е 12 точки, а резултат  $\leq 8$  точки показва лошо физическо представяне (92,150). Тестът TUG оценява физическата функция – при него хората трябва да станат от стандартен стол, да отидат до маркер на 3 м разстояние, да се обърнат, да се върнат и да седнат отново (158). Тестът за ходене на 400 м оценява способността и издръжливостта при ходене. За този тест участниците трябва да извършат 20 обиколки по 20 м, като всяка обиколка е възможно най-бързо, и им се разрешават до две спирания за почивка по време на теста.

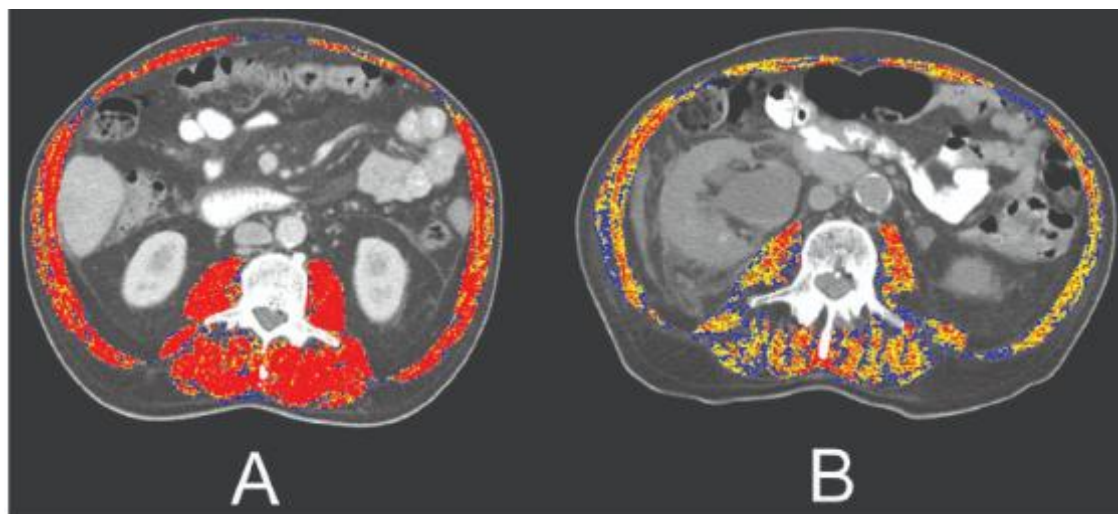
Всеки от тези тестове за физическа ефективност (скорост на походка, SPPB, TUG, 400 м ходене) може да се извърши в повечето клинични условия. По отношение на удобството му за използване и способността за прогнозиране на свързаните със саркопения събития, скоростта на походка е с предимство за оценка на физическото представяне (92,159).

### **Оценка на мускулите на ниво L3 на СТ**

При пациентите с онкологични заболявания това е удобен метод, поради задължителното провеждане на КТ в хода на тяхната диагностика и лечение. По-специално, КТ изображенията на скелетните мускули на ниво определено от специфичен ориентир като лумбалния прешлен (L3) корелират

значително с мускулите на цялото тяло (160,161). В резултат на това този метод на изобразяване се използва за откриване на ниска мускулна маса, дори при пациенти с нормално или високо телесно тегло, и може също да има прогностично значение (162,163). Количественото определяне на площта на напречното сечение на мускулите в лумбалния отдел ниво L3 също е направено чрез ЯМР(164). С постоянно нарастващите нужди от количествено определяне на мускулите и откриване на саркопения в ранните етапи, се очаква изображенията с висока разделителна способност да се използват по-широко в бъдеще – първоначално в изследователски проучвания и в крайна сметка в клиничната практика. КТ-базираното измерване на m.psoas major също се съобщава като лесен и предсказващ заболяемост метод при определени състояния (цироза, колоректална хирургия) (164).

Въпреки че КТ изображенията обикновено разчитат на единичен срез на прешлените L3 за оценка на състава на тялото, той има много предимства, тъй като не само позволява количествено определяне на мускулната маса, но и предоставя допълнителна информация за плътността и отслабването на скелетните мускули. Атенюацията на скелетните мускули е обратно пропорционална на съдържанието на мускулна мазнина и е косвена мярка за мускулното съдържание (165). Фигура 7 илюстрира визуалните разлики в състава на тялото при двама пациенти от изследваната от нас популация, мъже на 60 и 61 години, в областта на напречното сечение L3 с еднакъв BMI=24, но с различен количествен (SMI 47,3 vs 35,3 cm<sup>2</sup>/m<sup>2</sup>) и качествен състав на скелетните мускули (средна плътност на скелетните мускули, 36,2 vs 11,6 HU (Hounsfield Units)).



Фиг.7 КТ на абдомен – срез на ниво L3. А. 60 годишен мъж с BMI= 24, SMI=47,3, средна плътност на скелетните мускули=36,2 HU. В. 61 годишен мъж с BMI= 24, SMI=35,3 cm<sup>2</sup>/m<sup>2</sup>, средна плътност на скелетните мускули=11,6 HU.

### **Измерване на мускулите в средата на бедрото**

Изобразяване на средата на бедрото (чрез ЯМР или КТ) също се използва в изследователски проучвания, тъй като е добър предиктор за скелетната мускулна маса на цялото тяло и е много чувствително към промени (92,160,162). Площта на мускулите в средата на бедрото е по-силно свързана с общия мускулен обем на тялото, отколкото мускулите в лумбалните отдели L1-L5 (164).

### **Измерване на качеството на мускулите**

Качеството на мускулите е сравнително нов термин, отнасящ се както до микро-, така и до макроскопските промени в мускулната архитектура и състав, както и до мускулната функция, съотнесена до единица мускулна маса [33]. Високочувствителни методи като ЯМР и КТ се използват за оценка на качеството на мускулите, напр. чрез определяне на инфилтрацията на мазнини в мускула или атенюирането му [54, 93, 105]. Като алтернатива, терминът мускулно качество се прилага при съотношенията на мускулната сила към апендикуларната скелетна мускулна маса [106, 107] или мускулния обем [108]. В допълнение, качеството на мускулите може да се оценява чрез измерване на фазовия ъгъл, получено от ВІА [93].

### **Тест за разреждане на креатина**

Креатинът се произвежда от черния дроб и бъбреците и също се приема чрез диета, богата на месо. Креатинът се използва от мускулните клетки, като част от него се превръща необратимо всеки ден във фосфокреатин, високоенергиен метаболит. Излишният циркулиращ креатин се променя в креатинин и се екскретира с урината. Скоростта на екскреция на креатинина е обещаваща прокси мярка за оценка на мускулната маса на цялото тяло.

За тест за разреждане на креатина, перорална доза от белязан с деутерий креатин (D3-креатин) се приема от пациент на гладно; белязан и небелязан креатин и креатинин в урината по-късно се измерват с помощта на течна хроматография и тандемна масспектрометрия [109]. Общото количество на креатин в плазмата и мускулната маса се изчисляват на база отделянето на D3-креатинин в урината. Резултатите

от теста за разреждане на креатин корелират добре с измерванията на мускулна маса, базирани на ЯМР и умерено с измерванията от ВІА и DХА [110, 111]. Необходимо е обаче допълнително усъвършенстване на методологията, за да я направи практична за използване в клинични условия.

### **Ехографска оценка на мускулите**

Ехографията е широко използвана за измерване количество на мускулите, за идентифициране на загуба на мускулна тъкан, а също и като мярка за качеството на мускулите. Тя е надежден и валиден. Ехографски може да се оценяват на мускулите, включително чрез измерване на дебелината на мускула, площта на напречното сечение, дължината на пучката, ъгъла на пennaция и ехогенността [114]. Ехогенността може да отразява и определени качества на мускулите, например неконтрактилната тъкан, свързана с миостеатоза, показва хиперехогенност [115, 116].

Систематичен преглед на използването на ехографска оценка демонстрира ползата на метода и при възрастни хора, включително при наличие на коморбидности като артериална коронарна болест, инсулт, ХОББ и все пак са необходими повече изследвания за валидиране на уравненията за прогнозиране за тези с различни здравословни състояния и функционален статус [117] [116–119]. Доказано е, че ултразвукът има добра валидност за оценка на мускулната маса в сравнение с DХА, ЯМР и КТ.

### **7. Саркопенично затлъстяване**

Саркопеничното затлъстяване (СЗ) е клинично и функционално състояние, характеризиращо се със съвместното съществуване на затлъстяване, характеризиращо се с излишък на мастна тъкан и саркопения (166,167) Загубата на маса и функция на скелетната мускулатура освен, че е се увеличава с напредването на възрастта, се развива успоредно с относително или абсолютно натрупване на телесни мазнини. Въпреки това, саркопения може да възникне при индивиди със затлъстяване на всяка възраст. Затлъстяването може независимо да доведе до загуба на мускулна маса и функция, поради отрицателното въздействие на зависимите от мастната тъкан метаболитни смущения, като оксидативен стрес, възпаление и инсулинова резистентност, всички от които влияят негативно на мускулната маса (168). В допълнение, хората със затлъстяване имат високо разпространение на хронични заболявания, които влияят отрицателно върху мускулния метаболизъм (както анаболизъм, така и катаболизъм). Заседналият начин на живот също може да играе важна роля, като е основна причина и следствие както от саркопенията, така и от затлъстяването, което може да се влоши от съпътстващи заболявания. Терапевтичната загуба на тегло, насочена към излишните мазнини, неизбежно води до загуба на

различни количества скелетна мускулна маса, която може да бъде по-изразена при индивиди с предразполагащи катаболни състояния (хронични заболявания, стареене), след бариатрична хирургия (особено при липса на хранителен надзор и проследяване) или при наличие на дълготрайни неподходящи или небалансирани диетични режими (особено нисък прием на протеини) и промяна на телото (166). Саркопенията може директно да улесни натрупването на мазнини чрез намален общ разход на енергия и следователно затлъстяването и саркопенията могат синергично да се усилят взаимно в порочен цикъл на натрупване на мазнини и загуба на мускули чрез намалена мобилност, зависимост и увреждане. От клинична гледна точка, СЗ потенциално води до кумулативен риск, произтичащ от двете отделни клинични ситуации (169,170). Освен това, кръстосаното взаимодействие между мастната тъкан, скелетните мускули и костите подкрепя доказателствата за все по-сложна картина, в която патофизиологичните и клиничните промени в костната структура и остеопорозата също могат да играят роля (171).

Негативните клинични последици от СЗ са от първостепенно значение, като СЗ представлява силен и независим рисков фактор за влошаване статуса на съпътстващите заболявания, увеличаване на смъртността при различни широко разпространени заболявания в общата популация, особено при по-възрастното население(172,173).

### III. Цел и задачи на дисертационния труд

Целта на настоящия дисертационен труд е да се проучат съвременни прогностични фактори като саркопения, NLR и PLR при болни с белодробен карцином. За целта анализирахме пациенти с метастатичен карцином на белия дроб, прогресирали на първа линия системно лечение и провеждащи лечение с втора линия имунотерапия с checkpoint инхибитора Pembrolizumab.

За изпълнение на така формулираната цел на дисертационния труд е необходимо да се изпълнят следните задачи:

1. Да се селектират болни с метастатичен НДКБК, прогресирали на първа линия лекарствено лечение.
2. Да се измери площта на m.psoas major (PMMA) преди започване на първа линия ХТ и след прогресия на първата линия преди началото на втора линия с Pembrolizumab и да се разпределят пациентите в две групи – такива със саркопения преди започване на имунотерапията и такива без саркопения.

3. Да се анализира корелацията между наличието на саркопения с клиничко-патологичните характеристики на пациентите с авансирал НДКБК – възраст, пол, ECOG PS, брой метастатични сайтове, хистология, тютюнопушене, BMI, BSA.
4. Да се анализира корелацията между наличието на саркопения със специфични показатели (PD-L1 експресия, NLR, PLR), за които има налични литературни и клинични данни за предиктивна и прогностична стойност при лечение с имунотерапия.
5. Да се анализира прогностичната стойност на саркопенията в зависимост от развитието на болестта на фона на втора линия ИТ с Pembrolizumab..
6. Да се анализира предиктивната стойност на саркопенията за провеждане на втора линия ИТ с Pembrolizumab при пациентите с метастатичен НДКБК

#### IV. Материали и методи

##### 1.Клиничен материал:

За периода Април 2017 – Февруари 2020 г са проследени ретроспективно 112 пациенти, отговарящи напълно на всички включващи и изключващи критерии (табл. 7).

Пациентите са лекувани в Отделения по медицинска онкология в 5 лечебни заведения в България:

МБАЛ Надежда, София, УМБАЛ „Св. Марина“, Варна, Болница Софиямед, София, УМБАЛ „ Св Иван Рилски“, София, УМБАЛ „ Царица Йоана-ИСУЛ“, София.

Целта, задачите, включващите и изключващите критерии на проучването са одобрени от локална етична комисия на водещия проучването център в МБАЛ Надежда.

##### 2.Методи

##### 2.1 Включващи и изключващите критерии

Включващи и изключващите критерий на настоящето изследване са обобщени в табл.7 :

Табл. 7 Включващи и изключващи критерии на изследването.

<b>Включващи критерий</b>	<b>Изключващи критерий</b>
1. Възраст $\geq 18$ год.	1.Възраст <18 год.
2. Хистологично потвърдена диагноза за НДКБК в метастатичен стадий.	2. Липса на хистологично потвърдена диагноза за НДКБК в метастатичен стадий.

3. EGFR див тип.	3.Наличие на активираща мутация в EGFR.
4. ECOG PS <2	4.ECOG PS >/= 2
5. Заболяване, прогресиращо на фона на първа линия платин-базирано системно противотурморно лечение с наличие на мерими лезии.	5. Наличие на мозъчни метастази; липса на мерими лезии.
6. Налични компютърни томографии на съответните пациенти.	6.Липса на компютърни томографии на съответните пациенти.
7. Липса на автоимунни заболявания и симптоматична интерстициална белодробна болест .	7.Наличие на автоимунни заболявания и симптоматична интерстициална белодробна болест.
8. Липса на необходимост от провеждане на имunosупресивно лечение	8.Провеждане на имunosупресивно лечение
9. Липса на предходна имунотерапия, вкл. checkpoint инхибитори.	6 Провеждане на предходна имунотерапия, вкл. checkpoint инхибитори

## **2.2. Медицинска история на пациентите**

За всеки пациент в изпитването бе създадено отделно медицинско досие, включващо следната информация:

### ***2.2.1. Демографски данни***

*ID номер*

*Дата на раждане*

*Възраст: пациентите са разпределени в две категории > 65 и <65 год*

*Пол: Пациентите са разделени на две групи спрямо пола - мъж/жена*

*Рискови фактори- Тютюнопушене.*

Пациентите са разделени в три категории:

- Пушач; - Непушач; - Бивш пушач;

В категорията на Бивш пушач се включват пациенти, спрели да пушат  $\geq 1$  година преди поставяне на диагнозата.

### **2.2.2 Анамнеза**

Събрани са данни относно симптомите на пациентите към момента на диагнозата с фокус върху наличието на:

- Кашлица - да/не;
- Задух - да/не;
- кръвохрак- да/не;
- наличие на болка- да/не;
- втрисане - да/не;
- загуба на тегло- да/не;
- откритието на заболяването като случайна находка без клинична изява- да/не;

### **2.2.3. Медицинска история**

Информация за придружаващите заболявания на пациентите, поместената в медицинската документация.

### **2.2.4. Общо състояние:**

Общото състояние на всеки пациент е определяно според Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) (табл.8) и е оценено при поставяне на диагнозата преди започване на първа линия лечение с химиотерапия (ECOG PS I), при оценка ефекта от първата линия (ECOG PS II), преди започване на втора линия с Pembrolizumab (ECOG PS III) и при преоценката на фона на имунотерапията (ECOG PS IV).

Табл.8 Определяне на общото състояние според Eastern Cooperative Oncology Group (72)

степен	ECOG PERFORMANCE STATUS
0	Напълно активен, без нарушение във физическата активност
1	Леко увреден и ограничен във физическата активност, но способен да извършна работа от обичайното ежедневие като домакинска дейност, работав офис и т.н.
2	Способен за самообслужване, но ограничен във всекидневната активна дейност; прекарва повече или около 50% от деня в активно състояние.
3	Способен за ограничено самообслужване, прекарва повече от 50% от деня в стол или легло
4	Неспособен за самообслужване, прикован към леглото
5	Смърт

### 2.2.5. Информация за онкологичното заболяване:

Събрана е информация по отношение на диагнозата и стадия на болестта, включваща:

- Дата на диагнозата
- Хистологичен резултат – включени са пациенти с аденокарцином и плоскоклетъчен карцином
- Наличие на имунохистохимия: да/не
- *PD-L1 статус* – За оценка на PD-L1 статусът е извършвано имунохистохимично изследване чрез диагностичния тест Dako/Aglient 22c3 assay. Изследванията са осъществявани локално в отделните, включени в проучването центрове. Събрана е информация за процента експресия на PD-L1 върху туморните клетки. Информация дали изследването е извършено върху тъкан от първичния тумор или метастаза и каква не е събирана.
- *TNM стадий на болестта* – събрана е информация за началния стадий на болестта съгласно VIII издание на TNM класификацията на онкологичните заболявания (табл.9).

#### 8<sup>ма</sup> TNM клинична класификация

##### Т – първичен тумор

- ТХ първичният тумор не може да бъде оценен или тумор, доказан чрез наличието на малигнени клетки в хрчка или бронхиален лаваж, но без да е визуализиран при образно изследване или бронхоскопия

- T0 няма доказателство за първичен тумор
- Tis карцином in situ
- T1 тумор 3 см или по-малко в най-големия си размер, заобиколен от бял дроб или висцерална плевра, без бронхоскопско доказателство за инвазия по-проксимално от лобарен бронх (напр. без да е засегнат главен бронх)
- T1mi минимално инвазивен аденокарцином
- T1a Тумор 1 см или по-малко в най-големия си размер
- T1b тумор по-голям от 1 см, но не повече от 2 см в най-големия си размер
- T1c тумор по-голям от 2 см, но не повече от 3 см в най-големия си размер
- T2 тумор по-голям от 3 см, но не повече от 5 см; или тумор с някоя от следните характеристики:
  - ▪ ангажира главен бронх, независимо от разстоянието до карина, но без ангажиране на карина
  - ▪ инвазира висцерална плевра
  - ▪ свързан с ателектаза или с обструктивен пневмонит, който се простира до хилуса, ангажирайки част или целия бял дроб
- T2a тумор по-голям от 3 см, но не повече от 4 см в най-големия си размер
- T2b тумор по-голям от 4 см, но не повече от 5 см в най-големия си размер
- T3 тумор по-голям от 5 см, но не повече от 7 см в най-големия си размер или тумор, директно навлизащ в някоя от следните структури: париетална плевра, гърдна стена (включително тумори на горен сулкус), п. phrenicus, париетален перикард; или отделни туморни нодул(и) в същия лоб, където е първичният тумор
- T4 тумор по-голям от 7 см или тумор с всякакъв размер, навлизащ в някоя от следните структури: диафрагма, медиастинум, сърце, големи кръвоносни съдове, трахея, възвратен ларингеален нерв, хранопровод, тела на прешлени, карина; отделни туморни нодул(и) в различен ипсилатерален лоб от този, където е първичният тумор

#### **N – регионални лимфни възли**

- NX регионалните лимфни възли не могат да бъдат оценени
- N0 няма метастази в регионални лимфни възли
- N1 метастази в ипсилатералните перибронхиални и/или ипсилатерални хилусни лимфни възли и интрапулмонални възли, включително ангажиране чрез директно разпространение на тумора в тях
- N2 метастази в ипсилатералните медиастинални и/или субкаринни лимфни възел(и)

- N3 метастази в контралатерални медиастинални, контралатерални хилусни, ипсилатерални или контралатерални скаленни, или супраклавикуларни лимфни възел(и)

**М – далечни метастази**

- M0 няма далечни метастази
- M1 наличие на далечни метастази
- M1a отделни туморни нодул(и) в контралатерален лоб; тумор с плеврални или перикардни възли или малигнен плеврален или перикарден излив
- M1b единична екстраторакална метастаза в един орган
- M1c множествени екстраторакални метастази в един или множество органи

Табл.9 Стадиране на белодробния карцином според 8<sup>ма</sup> TNM класификация

Стадий	T	N	M
Окултен карцином	Tx	N0	M0
Стадий 0	Tis	N0	M0
Стадий IA	T1	N0	M0
Стадий IA1	T1mi	N0	M0
	T1a	N0	M0
Стадий IA2	T1b	N0	M0
Стадий IA 3	T1c	N0	M0
Стадий IB	T2a	N0	M0
Стадий IIA	T2b	N0	M0
Стадий IIB	T1a-c, T2a,b	N1	M0
	T3	N0	M0
Стадий IIIA	T1a-c, T2a, b	N2	M0
	T3	N1	M0
	T4	N0, N1	M0
Стадий IIIB	T1a-c, T2a, b	N3	M0
	T3, T4	N2	M0
Стадий III C	T3, T4	N3	M0
Стадий IV	Всяко T	Всяко N	M1
Стадий IVA	Всяко T	Всяко N	M1a, M1b

Стадий IVB	Всяко T	Всяко N	M1c
------------	---------	---------	-----

В настоящото изследване са включени единствено пациенти с метастазирало заболяване, т.е. в IV стадий спрямо TNM класификацията с доказани далечни метастази, метастази в контралатерален бял дроб или цитологично верифициран плеврален или перикарден излив.

- *Локализация на далечни метастази:*

Проследено е наличието на следните фокуси на метастазиране:

- *Черен дроб - да/не, контралатерален бял дроб – да/не, кости- да/не, надбъбреци да/не, плеврален излив да/не, супраклавикуларни лимфни възли – да/не, други – да/не,*

- *Наличие на >2 метастатични фокуса – да/не*

- *EGFR статус:*

Съгласно международния стандарт при поставяне на диагнозата и преди започване на каквото и да е лечение е необходимо извършването на генетичен анализ за скриниране наличието на най-често срещаните мутации, за които има и одобрени таргетни медикаменти. При откриване на такива мутации пациентът подлежи съответно на първа линия лечение с подходящия медикамент. Всички болни с доказан аденокарцином на белия дроб, както и всички непущачи/бивши пушачи с плоскоклетъчна хистология подлежат на скрининг за налични активиращи мутации в гените за епидермалния растежен фактор. Изследването се осъществява чрез real time-PCR и се търсят мутационни изменения в най-честите локуси – делеции в екзон 19 и точкови мутации в L858R. При липса на мутации в EGFR се продължава с изследване на ALK и търсене на генно пренареждане. То се осъществява чрез имунохистохимичен анализ, при който може да се използват няколко маркера ( D5F3, IA4). Ако са налични двусмислени резултати в хода на ИХХ се преминава към флуоресцентна ин ситу хибридизация (FISH). Същото е положението и с по-редките мутации в ROS1, които ако не могат да бъдат напълно доказани с ИХХ се извършва FISH. В момента скрининга за най-честите мутации в тези три гена е стандарт в страната. В нашето проучване е заложен единствено наличен негативен EGFR статус поради това, че са включени пациенти диагностицирани и лекувани в по-ранен времеви период, през който рутинно изследване на ALK и ROS не е на практика повсеместно.

### **2.2.6 Информация относно лабораторните показатели**

- Стойности на неутрофилите (absolute neutrophil count, ANC) преди първи курс на ХТ ANC1 и преди първата апликация на имунотерапията ANC2;

- Стойности на лимфоцитите (absolute lymphocyte count, ALC) преди първи курс на ХТ ALC1 и преди първата апликация на имунотерапията ALC2;
- Стойности на тромбоцитите (absolute platelet count, APC) преди първи курс на ХТ APC1 и преди първата апликация на имунотерапията APC2);
- Калкулиране на неутрофил-лимфоцитните съотношения (neutrophil-lymphocyte ratio,NLR) като ANC/ALC преди първи курс на ХТ NLR1 и преди първа апликация на имунотерапията NLR2. Разликата в NLR над 5 е възприета като висока, съгласно представените по-горе данни от предходни проучвания по темата (76,174,175).
- Калкулиране на тромбоцит-лимфоцитните съотношения (platelet-lymphocyte ratio, PLR) като APC/ALC преди първи курс ХТ PLR1 и преди първи курс имунотерапия PLR2.
- Изчисляване на  $\Delta$ NLR (NLR2–NLR1) и  $\Delta$ PLR (PLR2–PLR1).

### **2.2.7 Информация относно първата линия лечение с химиотерапия**

- *Дата на започване на първа линия химиотерапия*
- *Схема на лечение* - Проследените пациенти са провеждали първа линия химиотерапия за метастатична болест съгласно решение на съответната Клинична комисия по Медицинска онкология към съответното болнично заведение и в съответствие с националните и европейските стандарти на ESMO актуални към съответния времеви период на провеждане на лечението

Събрана е информация по отношение на провежданата двойна цитостатична комбинация, включваща платинов препарат (Cisplatin или Carboplatin) и трета генерация цитостатик (Gemcitabine, Paclitaxel, Docetaxel, Vinorelbine, Pemetrexed).

- При аденокарциномите на белия дроб са използвани следните терапевтични режими:
  - Cisplatin 75mg/m<sup>2</sup> D1 или Carboplatin AUC 5-6 D1 в комбинация с Pemetrexed 500 mg/m<sup>2</sup> D1 на всеки 21 дена
  - Carboplatin AUC 5-6 D1, Paclitaxel 225 mg/m<sup>2</sup> D1 и Bevacizumab 7.5mg/kg D1 на всеки 21 дена
  - Cisplatin 75mg/m<sup>2</sup> D1 и Vinorelbine 30mg/m<sup>2</sup> D1, D8 на 21 дни
- При плоскоклетъчна хистология е подбиран режим на лечение, включващ платинов препарат – Cisplatin 75 mg/m<sup>2</sup> D1 или Carboplatin AUC 5-6 D1, в комбинация с Gemcitabine 1250 mg/m<sup>2</sup> D1, D8 на всеки 21 дена.

Изборът на платинов препарат се определя от общото състояние на пациента и съпътстващите заболявания. Провеждат се общо 4-6 курса първа линия химиотерапия.

**Поддържащо лечение.** След завършване на цитостатично лечение и липса на прогресия на болестта на контролното образно изследване пациентите или остават на активно наблюдение, или се обмисля провеждането на поддържащо лечение. Решението зависи от отговора към проведената първа линия терапия, поносимостта към лечението, избора на пациента. Видове поддържащо лечение:

- Pemetrexed 500 mg/m<sup>2</sup> D1 на всеки 21 дена при пациенти лекувани с този препарат като първа линия лечение.
- Bevacizumab 7.5mg/kg D1 на всеки 21 дена при пациенти лекувани с този препарат като първа линия лечение. Поддържащото лечение продължава до прогресия на болестта или неприемлива токсичност към медикамента.

При започването, провеждането и смяната на лечението, пациентите са информирани за целите и възможностите на лечението и са подписали съответните информирани съгласия.

- *Ръст, Тегло, ВМІ при започване на първи курс първа линия химиотерапия*
- *Дата на първа прогресията – събиране данни за датата на прогресия на пациентите по време на или след приключване на първа линия химиотерапия:*
- *Вида на прогресията на фона на първа линия химиотерапия;- поява на или прогресия на съществуващи белодробни, чернодробни, костни, супраренални, мозъчни метастази, ЛВ или плеврален излив.*
- *Преживяемост без прогресия на болестта на фона на първа линия химиотерапия ( PFS1 – progression free survival) – времето от започване на първата линия ХТ до установяване радиологична прогресия на заболяването или смърт.*

### **2.2.7 Информация по отношение на втората линия терапия с Pembrolizumab.**

- *Дата на започване на Pembrolizumab:* Втората линия имунотерапия с Pembrolizumab е започната поне 3 седмици след края на предходната линия на лечение. Пациентите с мозъчни метастази, автоимунни заболявания, симптоматична интерстициална белодробна болест, пациенти провеждащи имуносупресивно лечение, или такива, които са провеждали предходно имунолечение, вкл. с чекпойнт инхибитори са изключени от проучването. Pembrolizumab е администриран чрез интравенозна инфузия

в доза 2 мг/кг в началото за 60 мин. на 21 дни, след което поради промяна на дозировката съгласно кратката характеристика на продукта – във фиксирана доза 200 мг интравенозно на всеки 21 дни.

- *Продължителност на лечението с Pembrolizumab:*
- *Отговор на лечение с Pembrolizumab при първата КТ преоценка на болестта* - събрана е информация за отговора към имунотерапията при първата преоценка 8-12 седмици след началото на лечението с Pembrolizumab
- *Отговор на лечение с Pembrolizumab към момента на последна визита на пациента* – събрана е информация за отговора към имунотерапията спрямо последната визита на пациент по време на лечението с Pembrolizumab спрямо RECIST v.1.1 критериите поместени в Табл.10.
- *Преживяемост без прогресия на болестта на фона на втора линия системно лечение с Pembrolizumab ( PFS2 – progression free survival)* – времето от започване на втора линия лечение с Pembrolizumab до установяване на прогресия на заболяването. Пациенти, спрели II-ра линия поради неприемлива токсичност не са включени в проучването.

2.2.8 *Обща преживяемост (OS –overall survival)*– Изчислена е общата преживяемост за всички пациенти, т. е времето от поставяне на диагнозата до спиране на проследяването или смърт по каквато и да е причина.

### **2.3. Образна диагностика:**

За първоначално стадиране и рестадиране на пациентите са използвани стандартните методи на образната диагностика - компютърна томография на гръден кош и корем, при необходимост костна сцинтиграфия и компютърна томография или ядрено-магнитен резонанс на глава. При някои от пациентите са осъществени нуклеарни образни изследвания ( FDG- ПЕТ/СТ) по показания, които не са обект на настоящото изследване и чиито резултати не са проследени и обобщени.

**2.3.1 КТ на торакс и абдомен с контрастна материя** – провежда се преди започване на цитостатичното лечение с оглед стадиране на болните. Чрез изследването е определено локалното разпространение на тумора и бройката, вида и обема на далечните метастази. Преди стартиране на цитостатичното лечение пациентите се стадират спрямо последното VIII издание на TNM класификацията, поместена по-горе (табл. 9).

В хода на провежданата първа линия ХТ са осъществявани КТ образни изследвания на всеки 8-12 седмици с оглед рестадиране, след завършване на първата линия терапия, при последващо проследяване ефекта от проведеното лечение и при поява на клинично влошаване. Съответните компютърни

томографии са осъществявани в конкретните болнични заведения, където пациентите са проследени. Съгласно основните принципи на RECIST v.1.1 при пациентите е провеждано сравнение на образните изследвания за оценка ефекта от лечението. Принципите на RECIST v.1.1 са представени в табл.10

Табл.10 RECIST 1.1 критерии за определяне ефекта от лечение при онкологично болни пациенти (176)

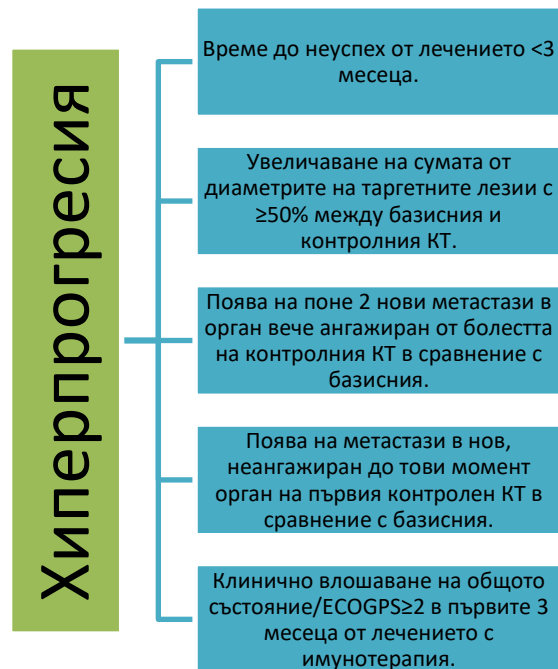
Отговор	Таргетни лезии	Нетаргетни лезии	Нови лезии
<b>Пълен отговор (CR - Complete response)</b>	Пълно обратно развитие на всички таргетни лезии	Обратно развитие на всички нетаргетни лезии	Липсат
	Лимфни възли <10мм в късия диаметър	Нормализиране нивата на туморните маркери* (ако има съответни)	
<b>Частичен отговор (PR – partial response)</b>	>/= 30% намаление на общата сума на диаметрите на таргетните лезии спрямо началното излседване	Липса на прогресия	Липсват
<b>Прогресия (PD – progressive disease)</b>	>/= 20% увеличение на общата сума на диаметрите на таргетните лезии спрямо надира, което трябва да отразява над 5 мм абсолютна стойност	Недвусмислена прогресия в размера	Наличие на нови метастатични лезии
<b>Стабилно заболяване (SD – stable disease)</b>	Резултат, който изключва както прогресията, така и частичния отговор	Наличие на една или повече нетаргетни лезии и/или туморни маркери над нормата*	Липсват

След началото на лечението с Pembrolizumab при първата преоценка на заболяването, пациентите с прогресия на фона на втората линия с имунотерапия са разделени в няколко групи:

- Пациенти с прогресия (P)
- Пациенти с хиперпрогресия (HP)
- Пациенти с псевдопрогресия (PP)

Останалите пациенти са обозначени като непрогресоти (NP)

В изследваната група сме определили като хиперпрогресията наличието на поне три от изложените на фиг.7 критерий (177).



Фиг. 7. Критерии за определяне наличието на хиперпрогресия (HP) при лечение с имунотерапия (177).

Псевдопрогресията (PP) от друга страна е определяна като начална образна прогресия при липса на клинично влошаване на общото състояние следвана или от частичен отговор или стабилно заболяване продължаващо поне 6 месеца (178).

### 2.3.2 Диагностицирането на наличие или не на саркопения при изследваната популация.

В настоящото изследване сме използвали като маркер за наличие на саркопения предложения от група японски колеги в трудът им, поместен в Journal of Clinical Medicine 2019, а именно промяната в площта

на m. psoas major (PMMA), измерен двустранно на ниво L3 преди началото на ХТ и преди началото на втора линия лечение с имунотерапия. Промяната в m.psoas major ( $\Delta PMMA$ ) с над 10% авторите определят като наличие на саркопения(179). Като динамичен параметър, съгласно статистическата обработка, промяната в PMMA( $\Delta PMMA$ ), би се считала като по-достоверна в сравнение със статичните параметри като стойността на PMMA в даден момент. Наличието на КТ изследвания на пациентите с метастатичен НДКБК както и липсата на абсолютен стандарт в определянето на налична саркопения насочи нашето изследване по посока на утилизацията на гореспоменатия параметър за определяне на наличие или не на саркопения.

Така в хода на настоящето проучването е определяна площта на m. psoas major (Area of psoas major muscle - PMMA) като сбор от площта на левия и десния мускул на ниво L3. PMMA е определена преди първа линия ХТ и преди втора линия лечение с имунотерапия.

Измерен е процента промяна на PMMA по следната формула:

$$\Delta PMMA = [1 - \text{PMMA преди Имунотерапия} / \text{PMMA преди ХТ}] \times 100$$

Пациентите с промяна на площта на m. psoas major ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) са определени като такива с налична саркопения.

Пример на пациент с налична саркопения, т.е.  $\Delta PMMA \geq 10\%$ .

Както е илюстрирано по-долу на резултатите от КТ на един от включените пациенти, измерените преди ХТ ляв и десен PMMA са съответно 5.74 и 7.16 см<sup>2</sup>, а преди имунотерапия съответно 4.98 и 6.12 см<sup>2</sup> (фиг.8). Процентната промяна на PMMA в хода на заболяването е както следва:

$$\Delta PMMA = (1 - (5.74 + 7.16) / (4.98 + 6.12)) \times 100 = 13.9\%$$



Фиг. 8 Пример на пациент с налична саркопения, т.е. ΔPMMA ≥ 10%.

Пример на пациент без саркопения, т.е. ΔPMMA < 10%.

Както е илюстрирано на снимките по-долу на един от включените пациенти, измерените преди ХТ левият и десният PMMA са съответно 5.57 и 5.20 cm<sup>2</sup>, а преди имунотерапия съответно 5.96 и 5.36 cm<sup>2</sup> (фиг.9). Процентната промяна на PMMA в хода на заболяването е както следва:

$$\Delta PMMA = (1 - (5.96 + 5.36) / (5.57 + 5.20)) \times 100 = -9.51\%$$



Фиг. 9 Пример на пациент без налична саркопения, т.е.  $\Delta PMMA < 10\%$ .

Забележка:

При пациентите, чийто  $\Delta PMMA$  е отрицателна стойност, се наблюдава увеличаване на мускулната маса в хода на болестта и лечението, т.е. при тях не се установява саркопения.

### **3. СТАТИСТИЧЕСКИ МЕТОДИ**

За изработването на статистическия анализ са използвани следните статистически методи:

А. Описателни методи

1. Вариационен анализ на количествени променливи – средна стойност, стандартно отклонение, минимум, максимум.
2. Честотен анализ на качествени променливи (номинални и рангови), който включва абсолютни честоти, относителни честоти (в проценти), кумулативни относителни честоти (в проценти).
3. Графични изображения.

Б. Методи за проверка на хипотези

1. Параметрични

2. Непараметрични методи

2.2 Метод на Ман-Уитни (Mann-Whitney) – сравняване на две групи на една количествена променлива, когато разпределението не е нормално. Проверява се хипотезата, че групите са със статистически еднакви медиани. Алтернативната хипотеза естествено е, че едната извадка има статистически значима разлика в медианата спрямо другата.

2.4 Метод хи-квадрат (Chi-square test) или точен тест на Фишер (Fisher's exact test) – търсене на връзка между две качествени променливи.

В. Корелационен анализ

1. Параметричен коефициент на линейна корелация – Пирсън. Стойността на коефициента показва теснотата на изследваната зависимост. Корелационният коефициент на Пирсън се прилага за измерване силата на зависимост при единични и множествени корелационни връзки. Възприето е следното тълкуване на коефициента:

$0 < Rho < 0,3$  – слаба корелация

$0,3 < Rho < 0,5$  – умерена корелация

$0,5 < Rho < 0,7$  – значителна корелация

$0,7 < Rho < 0,9$  – висока корелация

$0,9 < Rho < 1$  – много висока корелация

## 2. Непараметричен показател за корелация – коефициент за знакова корелация на Спирман.

Използва се при изследване на връзки при рангови (ординални) данни. Представя се чрез корелационният коефициент  $r_s$ (Спирман  $rho$ ) който възприема стойности от +1 до -1 и се интерпретира по сходен начин както коефициентът на Пирсън.

- стойности от 0 до +1 показва силата на положителната корелация

- стойности от 0 до -1 показва силата на отрицателната корелация

### Г. Регресионен анализ

1. Логистичен регресионен анализ - връзка между бинарна (дихотомна) зависима променлива и множество количествени и качествени променливи (рискови фактори).

### Д. Други методи

1. ROC – анализ – диагностичната адекватност на изследваните променливи е дефинирана като измерване на най-широката площ под кривата (area under the curve, AUC). Интерпретация на резултатите: AUC >0.9 – висока адекватност, AUC 0.7-0.9- умерена адекватност, AUC 0.5=0.7 – ниска адекватност

2. Анализ на преживяемост – Kaplan-Meier; Log Rank тест; Life Tables.

Използваното от нас критично ниво на значимост е  $\alpha = 0.05$ . Съответната нулева хипотеза се отхвърля, когато P стойността (P-value) е по-малка от  $\alpha$ .

За обработка на данните от проучването, свързано с дисертационната работа, беше използвана версията на SPSS за Windows v.23.

## V. Резултати

### 1. Разпределение спрямо базисните характеристики на пациентите

#### 1.1 Разпределение на пациентите спрямо възраст, пол, ECOG PS, хистология, тютюнопушене, придружаващи заболявания и клинични симптоми.

Между 2017 и 2020 година са проследени 112 пациента с метастатичен недребноклетъчен карцином на белия дроб на възраст от 45 до 81 год – средна възраст  $60.95 \pm 8.09$  години. 73 (65,2%) от пациентите са мъже и 39 (34,8%) са жени. Почти всички пациенти са с леки оплаквания в ECOG PS 1 109 (97,3%) като единствено трима (2,6%) от проследяваните пациенти са без никакви клинични симптоми в ECOG PS 0. Спрямо хистологичните характеристики 51 (45,5%) от пациентите са с аденокарцином, а 61 (54,5%) са с плоскоклетъчен карцином. Информация по отношение на тютюнопушенето е достъпна за 73 от пациентите. Сред тях мнозинството са пушачите 61.6% (45 пациенти). От останалата популация 4-ма са бивши пушачи (5,5%) и 24-ма са непушачи (32.9%). Основните характеристики на изследваната популация са систематизирани и може да се проследят в табл.11.

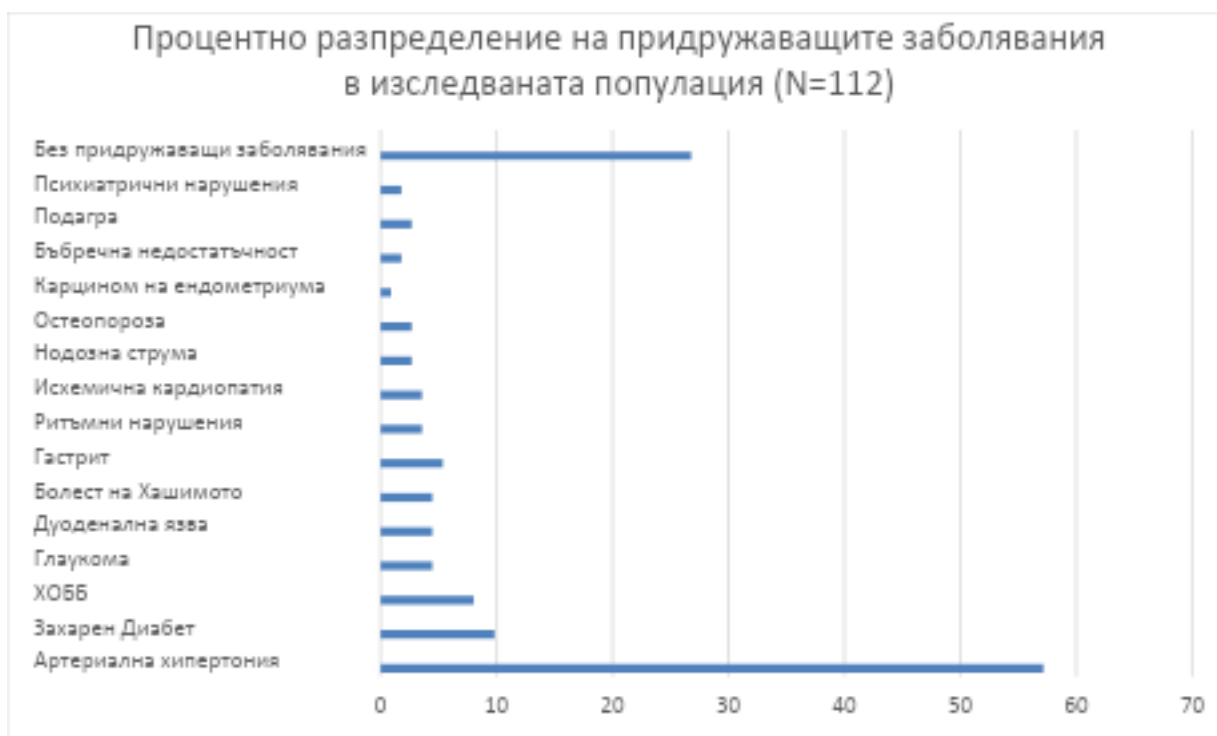
Табл.11 Основни демографски характеристики на изследваната популация (N=112).

Основни характеристики	Брой	Относителен дял (%)
Пациенти	112	100%
Пол		
Мъже	73	65,2%
Жени	39	34,8%
Средна възраст	$60,95 \pm 8,09$ год.	
Хистология		
Аденокарцином	51	45,5%
Плоскоклетъчен карцином	61	54,5%
Общо състояние (ECOG PS)		
ECOG PS 0	3	2,7%
ECOG PS 1	109	97,3%
Тютюнопушене		
Пушач	46	41.1%
Бивш пушач	4	3,6%
Непушач	26	23.2%

Без информация	36	32,1%
----------------	----	-------

### Придружаващи заболявания

Събираната информация по отношение на коморбидностите на включените пациенти демонстрира превес за сметка на артериална хипертония (64 пациента, 57.14%), диабет (11 пациента, 9.82%) и ХОББ (9 пациента, 8.03%), като единствено при един пациент (1.56%) има анамнеза за друго онкологично заболяване (карцином на ендометриума) (фиг.10) От изследваните пациенти мнозинството 73,21% (82 души) са с поне едно придружаващо заболяване, като 26.78% (30 пациенти) от тях са само с артериална хипертония.



Фиг.10 Разпределение на придружаващите заболявания по нозологични единици ( N=112)

### Клинични симптоми

Началните оплаквания сред пациенти са типични - задух, кашлица, хемоптое, загуба на тегло, болка, повишена температура и се наблюдават при мнозинството от пациентите в проследяваната група, като само при 11 пациента (9.82%) заболяването е установено като случайна находка. Най-честият симптом е кашлицата и се среща при 83.04%, като тя се открива при дебюта на болестта като единствено

оплакване при при 9.82% (11 пациента). Хемоптоето се среща рядко при едва 8.04% от заболяелите (Табл.12).

Табл.12 Разпределение на пациентите спрямо най-чести симптоми при поставяне на диагнозата

Симптоми при поставяне на диагнозата	Брой Пациенти (N=112)	Относителен дял (%)
Кашлица	93	83.04
Хемоптое	9	8.04
Задух	65	58.04
Загуба на тегло	74	66.07
Фебрилитет	12	10.71
Болка	35	31.25
Без оплаквания	11	9.82

## 1.2. Разпределение на пациентите спрямо размерът на първичния тумор, ангажираните регионални лимфни възли и метастатичните сайтове

Спрямо оценката на първичния тумор, разпространението в регионални лимфни възли и наличните метастатични сайтове пациентите биват групирани съгласно 8-мата TNM класификация. Стадирането е проведено чрез образни методи към момента на поставяне на диагнозата. Брой на заболяванията с T1 (тумор  $\geq 3$ см , без бронхоскопско доказателство за инвазия проксимално от лобарен бронх) е малък 4 (3,5%), докато превалират заболяванията с T2 (тумор 3-5см и/или ангажиращ главен бронх; ангажиращ висцерална плевра; свързан с ателектаза или с обструктивен пневмонит, разпространен до хилуса, ангажиращ част или целия бял дроб) = 34 (30,4%), T3 ( тумор 5-7см или директно инвазиращ париеална плевра, гръдна стена, p.phrenicus, париеален перикард; и/или отделни нодул(и) в същия бял дроб) =41 ( 36,6%), T4 ( тумор > 7см или тумор, навлизащ в медиастиnum, диафрагма, сърце, големи кръвоносни съдове, трахея, p. laryngeus recurrens, хранопровод, тела на прешлени и/или отделни нодли в друг ипсилатерален лоб) =33 (29,5%). По отношение на ангажирането на регионалните лимфни възли (медиастинални, хилусни, лобарни, интерлобарни, сегментни, субсегментни, скаленни и супраклавикуларни) пациентните от изследваната популация са разпределени както следва: N0 (без ангажирани локални ЛВ) = 2 (1,8%), N1 (метастази в ипсилатерални перибронхиални, хилусни и интрапулмонални ЛВ) =30 ( 26,8%), N2 (метастази в ипсилатерали медиастинални и/или субкаринни ЛВ) = 63 (56,2%), N3 (метастази в контралатерални хилусни, ипси- или контралатерални скаленни или

супраклавикуларни ЛВ) = 17 (15,2%). Разпределението на пациентите спрямо стадия е изведено в табл. 12.

Табл.12 Разпределение на пациентите съгласно 8-мата TNM класификация ( N=112)

TNM категория	Брой пациенти	Относителен дял ( %)
T- категория		
T1	4	3,6%
T2	34	30,4%
T3	41	36,6%
T4	33	29,5%
N – категория		
N0	2	1,8%
N1	30	26,8%
N2	63	56,2%
N3	17	15,2%
M-категория		
M0	0	0
M1	112	100%

Цялата пациентска популация включва пациенти с метастатично заболяване към момента на поставяне на диагнозата, като са събрани данни за метастатичния профил на болестта. Най-честото място на метастазиране е контралатералния бял дроб или наличието на плеврален излив, които се наблюдават при съответно 82 пациента (73.21%) и 72 пациента (64,29%). Други наблюдавани места за метастазиране са черен дроб (32 пациента, 28,57%), кости (50 пациента, 44,64%), надбъбреци (17 пациента, 15,18%), супраклавикуларни ЛВ (2 пациента, 1,79%) и други (5 пациента, 4,46%) (фиг.11). При почти от половината от пациентите е установено наличие на повече от едно метастатични огнища - 46 пациента (41,07%).

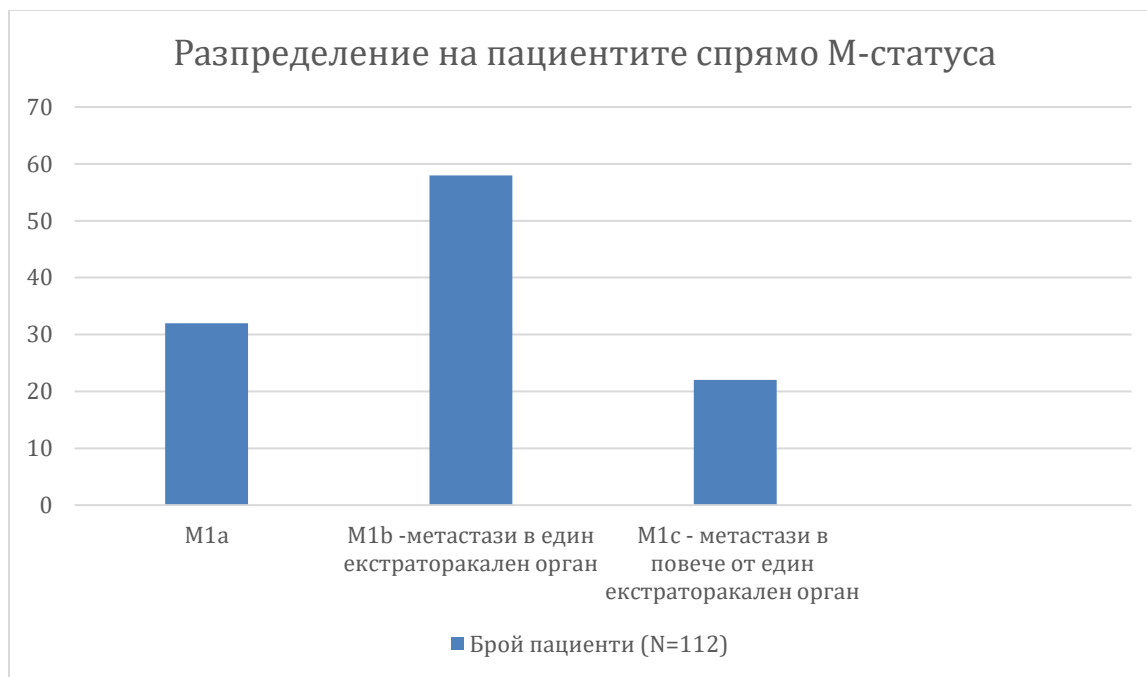


Фиг. 11 Процентно разпределение на метастатичните огнища в изследваната популация (N=112).

Съгласно 8-мото издание на TNM класификацията, в зависимост от далечното разпространение на туморите на белия дроб се отдиференцират 3 подгрупи

- M1a – при наличие на контралатерални белодробни метастази, тумор с плеврални или перикардни възли или наличие на плеврален или перикарден излив.
- M1b – солитарна екстраторакална метастаза в един орган
- M1c – множество екстраторакални метастази в един или множество органи

Предвид 8-мото издание на TNM класификацията разпределението на обследваните пациенти спрямо M-статуса е както следва: пациентите с M1 (контралатерални белодробни метастази, тумор с плеврални или перикардни възли или наличие на плеврален или перикарден излив) са 32 (28.57%), онези с ангажиран един екстраторакален орган M1b са мнозинството 58 (51,78%), докато тези с M1c са 22 (19.64%) (фиг. 12). От друга страна е събирана информация и по отношение на броя на ангажираните метастатични локализации, независимо от местоположението им в или извън гръдния кош. Съгласно това разпределение при 46 от пациентите (41,07%) се наблюдава ангажиране на повече от два метастатични локализации.



Фиг.12

Разпределение на пациентите спрямо M-статуса

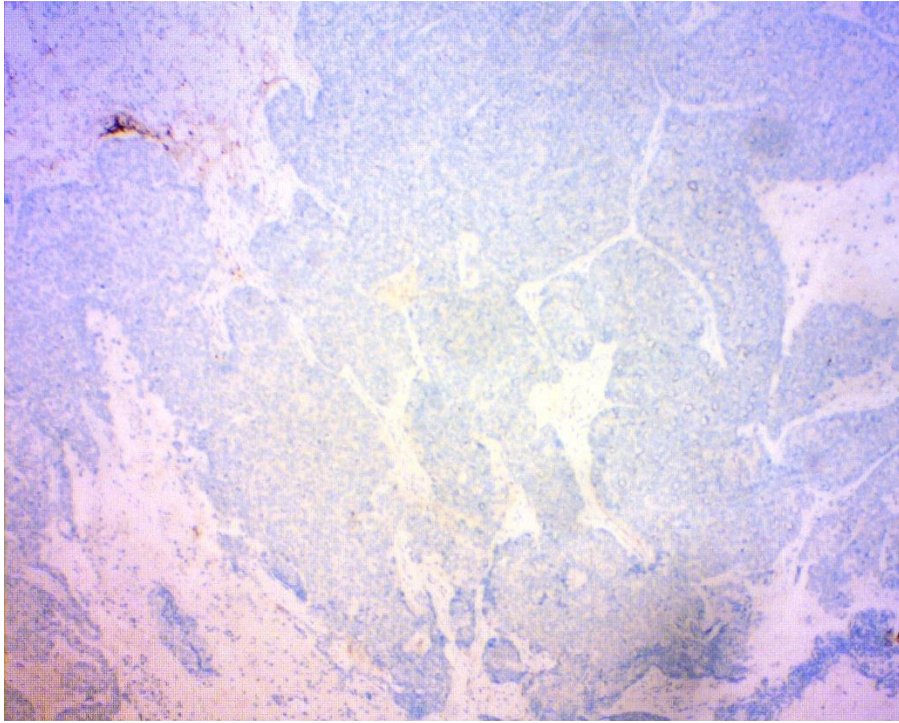
### 1.3. Разпределение на пациентите спрямо оценката на PD-L1 статус

Определянето на PD-L1 статуса на всички пациенти е осъществен посредством имунохистохимично изследване на проби от туморната тъкан. Използван е одобреният в Европа метод за анализ на PD-L1, използващ анти тяло 22C3 - Dako/Agilent 22c3 assay.

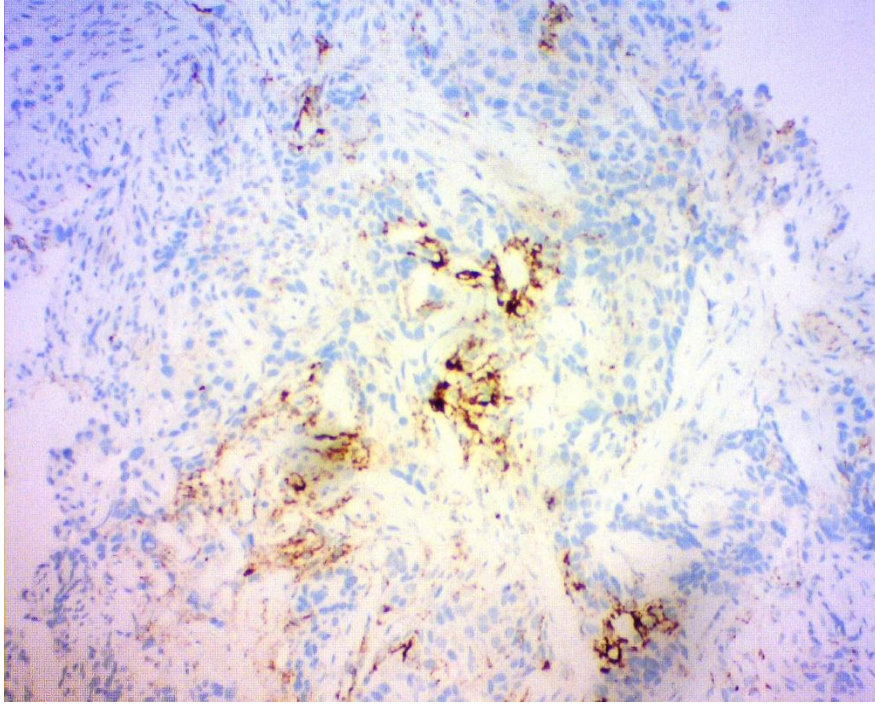
Пациентите са групирани в три групи според стойностите на PD-L1 – 1-24%, 25-49%, >50%. Минимална част от пациентите са със силно позитивен PD-L1  $\geq 50$  – 11 (9,8%) (фиг. 15). Повечето са с PD-L1 <50, като с PD-L1 1-24 са 49 (43,8%) пациента (фиг.13), а със стойност на PD-L1 25-49 са 52 (46,4%) (фиг.14) пациента (табл.13).

Табл.13 Разпределение на пациентите спрямо PD-L1 статуса

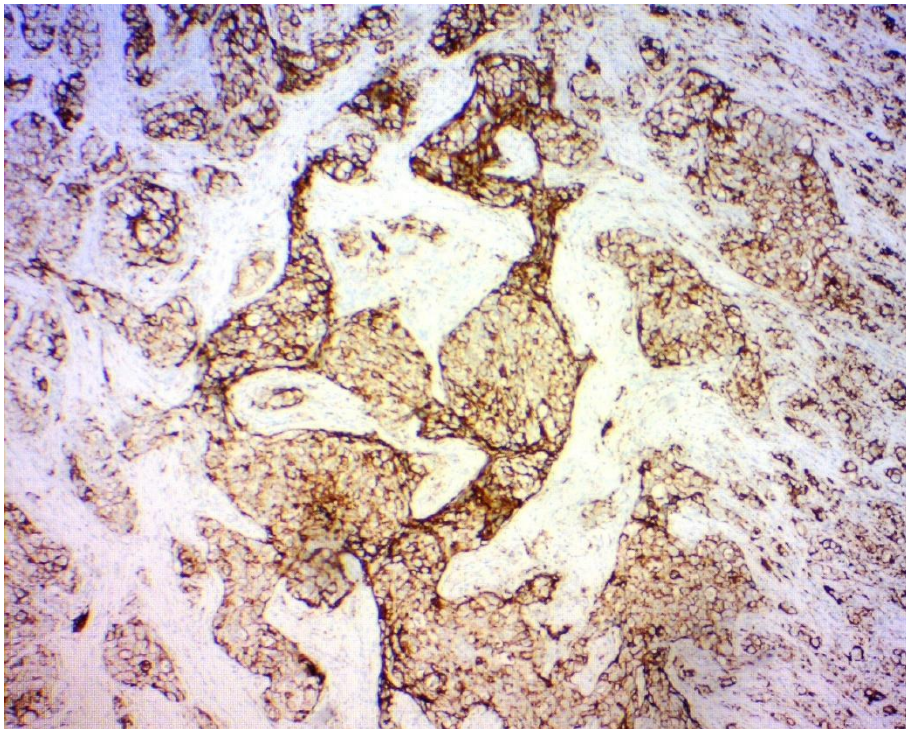
Характеристики	Брой пациенти	Относителен дял (%)
PD-L1 статус		
1-24	49	43,8%
25-49	52	46,4%
$\geq 50$	11	9,8%



Фиг.13. HDKBK, плоскоклетъчен под микроскоп – PD-L1 TPS 1%, увеличение x10,  
Dako/Agilent 22c3 assay



Фиг.14. НДКБК, аденокарцином под микроскоп – PD-L1 TPS 25%, увеличение x10,  
Dako/Agilent 22c3 assay



Фиг.15. НДКБК, аденокарцином под микроскоп – PD-L1 TPS 100%, увеличение x10,

Dako/Agilent 22c3 assay

#### 1.4. Разпределение на пациентите спрямо $\Delta PMMA \geq 10\%$ (със саркопения) и $< 10\%$ ( без саркопения)

При пациентите съгласно представеният в Материали и Методи модел на изчисления е определена процентната промяна на площта на m.psoas major измервана на ниво L3 в хода на лечението, т.е.  $\Delta PMMA$ . Сред проследените 112 пациенти честотата на саркопенията ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) е 30.3% (n=34), докато в 2/3 от пациентите са без саркопения 69.7% (n=78) (Фиг. 16).



Фиг.16 Разпределение на пациентите спрямо наличието на саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) – със саркопения 30.3% (n=34) и без саркопения  $\Delta PMMA < 10\%$  69.7% (n=78)

#### 1.5. Разпределение на пациентите според проведената първа линия лечение с ХТ

1.5.1 Всички 112 пациенти в проследената популация са разпределени в няколко групи в зависимост от проведената схема за първа линия лечение на метастатично заболяване. Включените в проучването пациенти са без данни за налични активиращи мутации, подлежащи на първа линия системна противотуморна терапия. В зависимост от хистологичния тип, възрастта, коморбидността, общото състояние на пациента и опитът на съответното лечебно заведение е избрана съответен терапевтичен режим от препоръчаните съгласно Европейските и световни препоръки. Мнозинството от пациентите са провели лечение с Carboplatin AUC 6 I.V. D1, Paclitaxel 175mg/m<sup>2</sup> I.V. D1, повторение през 21 (44

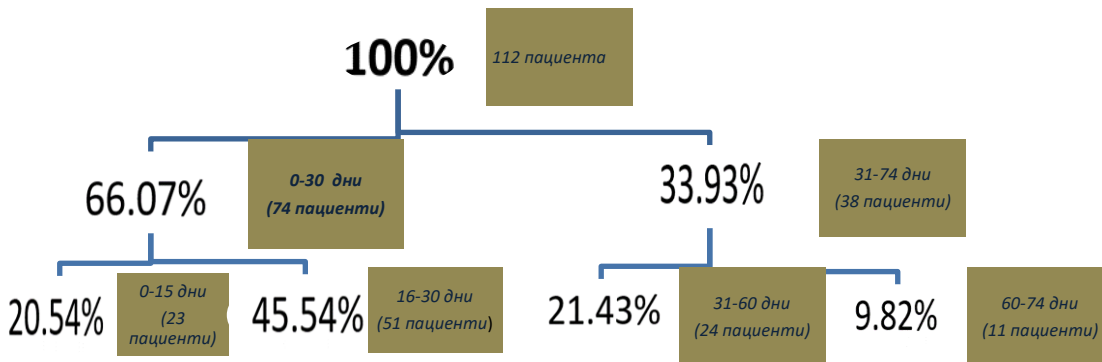
пациенти) или Cisplatin 75-80 mg/m<sup>2</sup> I.V. D1, Gemcitabine 1200-1250 mg/m<sup>2</sup> I.V. D1, D8, D15, повторение през 21 (30 пациенти), или Cisplatin 75 mg/m<sup>2</sup>, D1, Pemetrexed 500 mg/m<sup>2</sup> I.V. D1, повторение през 21 дни ( 14 пациенти). Значително по-рядко са избирани други дублетни режими като Carboplatin AUC5 I.V. D1, Pemetrexed 500 mg/m<sup>2</sup> I.V. D1, повторение през 21 дни; Carboplatin AUC 5 I.V. D1, Gemcitabine 1200-1250 mg/m<sup>2</sup> I.V. D1,D8, D15, повторение през 21 дни и Cisplatin 75mg/m<sup>2</sup> I.V. D1, Vinorelbine 25 mg/m<sup>2</sup> I.V. D1, D8, повторение през 21 дни. При малък процент от пациентите е провеждано лечение с тройна комбинация с анти-VEGF инхибитор по схема с Carboplatin AUC 6 I.V. D1, Paclitaxel 175 mg/m<sup>2</sup> I.V. D1, Bevacizumab 15 mg/kg I.V, D1, повторение през 21 дни (табл.14).

Табл.14 Разпределение на пациентите според вида терапевтичен режим на I ва линия (N=112).

Терапевтичен режим	Брой пациенти (N=112)	Относителен дял (%)
Carboplatin/Paclitaxel	45	40.17
Cisplatin/Gemcitabine	30	26.78
Cisplatin/Pemetrexed	14	12.50
Carboplatin/Gemcitabine	4	3.57
Carboplatin/Pemetrexed	9	8.03
Cisplatin/Vinorelbine	6	5.35
Carboplatin/Paclitaxel/Bevacizumab	4	3.57

### 1.5.2 Разпределение на пациентите в зависимост от времето до начало на първа линия лечение.

Терапията при наблюдаваните пациенти е започнала от 0 до 74 дни от поставяне на диагнозата като средно времето до започване на терапия е  $28.29 \pm 17.22$  дни (фиг. 17). При мнозинството от пациентите (74 пациенти, 66.07%) е започнала в рамките на първия месец от диагностицирането на болестта, а при близо 1/5 (20.54%) от проследяваните пациенти дори в първите 2 седмици (0-15 дни) от диагностицирането на метастатичния НДКБК. За съжаление при 11 пациенти, 9.82% от общата популация, специфичното противотуморно лечение е иницирано от 60 до 74 дни след поставянето на диагнозата (фиг.17).



Фиг. 17 Разпределение на пациентите спрямо времето от диагностициране на заболяването до започване на първа линия системно противотуморно лечение.

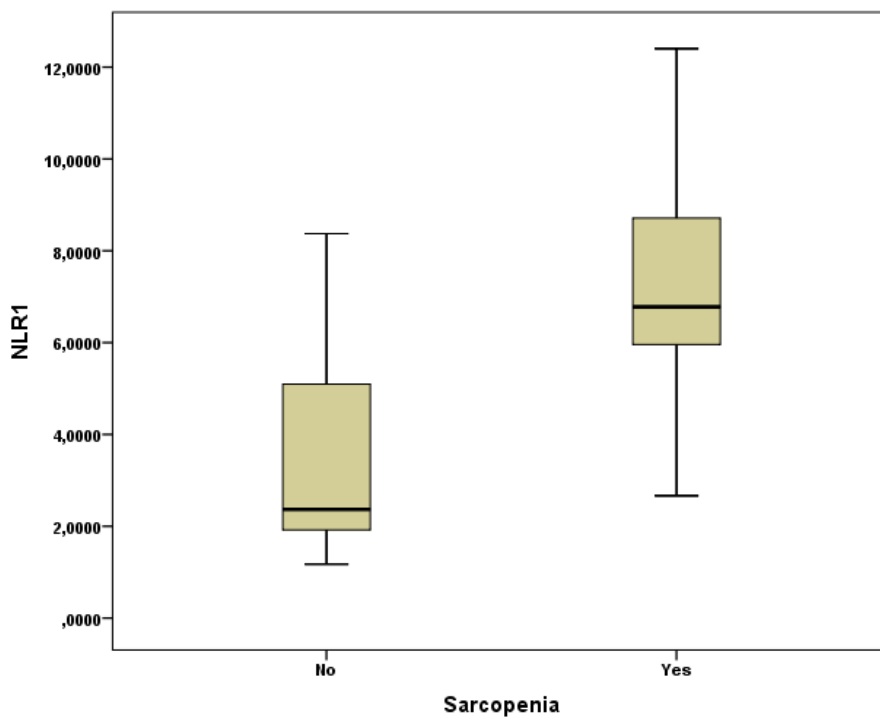
## 2. Разпределение на пациентите спрямо хематологичните биомаркери и наличието на саркопения

При пациентите са проследени стойностите на ANC1, ALC1, APC1, NLR1, PLR1 преди ХТ и ANC2, ALC2, APC2, NLR2 преди ИТ, след което е изчислена промяната на показателите в хода на първа линия ХТ чрез  $\Delta\text{NLR}$  ( $\text{NLR2}-\text{NLR1}$ ) и  $\Delta\text{PLR}$  ( $\text{PLR2}-\text{PLR1}$ ). Wilcoxon test показва, че стойностите на ALC и APC преди и след ХТ не се променят значително. Стойностите на ANC за цялата популация също не се изменят. При пациентите със саркопения ( $\Delta\text{PMMA} \geq 10\%$ ) се наблюдава разлика в ANC преди 1-ва линия ХТ ( $8.1 \pm 2.1$ ) и преди началото на ИТ ( $9.2 \pm 3.3$ ) без да е статистическа значима ( $p=0.17$ ). По отношение на NLR съгласно представените в литературния обзор проучвания стойностите на NLR над 5 са счестени за високи (72,80–82). Средните стойности на NLR1 в цялата популация са  $4.54 \pm 2.63$ , а на NLR2  $4.94 \pm 3.32$ . McNemar тестът показва, че в хода на лечението преди и след 1-ва линия ХТ броя на пациентите с  $\text{NLR} \geq 5$  не търпи сигнификантна промяна. Преди ХТ 51 (45.54%) пациенти имат  $\text{NLR} \geq 5$ , а преди ИТ 52 (46.43%), като при 40% от пациентите и двата показателя (NLR1 и NLR2) са над 5. От пациентите със саркопения ( $\Delta\text{PMMA} \geq 10$ ) 61% са със  $\text{NLR1} \geq 5$ , а 54% са с  $\text{NLR2} \geq 5$ . При подгрупов анализ се установява статистически значима разлика в стойностите на NLR1 ( $p < 0.001$ ) и NLR2 ( $p < 0.001$ ) в групите със саркопения ( $\text{NLR1} = 7.21 \pm 1.98$ ;  $\text{NLR2} = 7.99 \pm 3.14$ ) и в групите без саркопения ( $\text{NLR1} = 3.37 \pm 1.93$ ;  $\text{NLR2} = 3.63 \pm 2.39$ ) (табл.15).

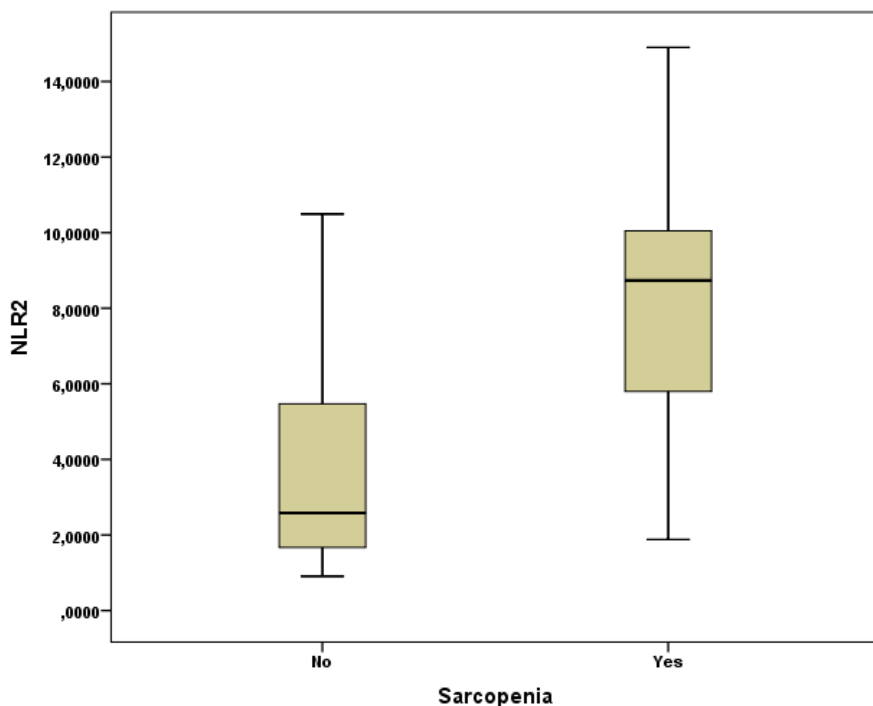
Табл.15 Сравнение между стойностите на NLR1 и NLR2 и наличието или не на саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10$ ).

	$\Delta PMMA \geq 10\%$ (със саркопения)		<i>P- value</i>
	<i>Да</i>	<i>не</i>	
<b><i>NLR1</i></b>	7.2±1.97 (n=34)	3.37±1.93 (n=78)	<0.001
<b><i>NLR2</i></b>	7.9±3.14 (n=34)	3.63±2.39 (n=78)	<0.001

Директното сравнение на стойностите на NLR1 и NLR2 в групите без и със ( $\Delta PMMA \geq 10$ ) е отразено на boxplot графиките фиг.18 и фиг.19. На графиките е онагледена статистически значимата разлика на NLR1 спрямо наличието на саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10$ ) с  $p < 0.001$  и при двете групи.



Фиг.18 Вохplot графики директно сравняващи стойностите на NLR1 в групата без и със саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10$ ) ( $p < 0.001$ )



Фиг.19 Вохplot графики директно сравняващи стойностите на NLR2 в групата без и със саркопения саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10$ ) ( $p < 0.001$ )

По отношение на стойностите на PLR Mann Whitney U-test показва, че пациентите със саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10$ ) имат сигнификантно по-високи стойности на PLR1 ( $286.1 \pm 98.3$  vs  $174.6 \pm 90.7$ ,  $p < 0.0001$ ) и на PLR2 ( $315.9 \pm 157.9$  vs  $168.7 \pm 93.8$ ,  $p < 0.0001$ ) в сравнение с пациентите без саркопения (табл.16). От друга страна промяната в съотношението в хода на заболяването преди ХТ и преди ИТ не е статистически значима както за пациентите без саркопения ( $p = 0.76$ ), така и на тези със саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10$ ) ( $p = 0.35$ ) (табл.16).

McNemar тестът демонстрира също липса на разлика в пропорцията на пациентите  $>$  и  $<$  медианата в хода на ХТ, като с PLR  $>$  медианата са 51% пациенти със саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10$ ) преди ХТ и 58% преди ИТ.

Табл. 16 Сравнение между стойностите на PLR1 и PLR2, и наличието или не на саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10$ ).

	$\Delta PMMA \geq 10\%$ (със саркопения)		<i>P- value</i>
	<i>Да</i>	<i>не</i>	
<b><i>PLR1</i></b>	286.1±98.3 (n=34)	174.6±90.7 (n=78)	<0.0001
<b><i>PLR2</i></b>	315.9±157.9 (n=34)	168.7±93.8 (n=78)	<0.0001
<b><i>P- value</i></b>	0.35	0.76	

В изследваната група средната стойност на  $\Delta NLR$  е 0.41 ( $\pm 2.05$ ), а  $\Delta PLR$  е 4.12 ( $\pm 103.33$ ). Отново при стратифициране на изследваната популация спрямо наличието или не на саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10$ ) се наблюдават разлики в стойностите на  $\Delta NLR$  и  $\Delta PLR$ , които са статистически значими (табл17).

Табл.17 Обобщение на средните стойности на  $\Delta NLR$  и  $\Delta PLR$  в групите с и без саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10$ ).

	$\Delta PMMA \geq 10\%$ (със саркопения)		<i>P- value</i>
	<i>Да</i>	<i>не</i>	
<b><i><math>\Delta NLR</math></i></b>	0.78±2.74 (n=34)	0.27±1.65 (n=78)	<0.0001
<b><i><math>\Delta PLR</math></i></b>	27.21±132.85 (n=34)	-5.54±85.88 (n=78)	<0.0001

### 3. Връзка между базисни характеристики на пациентите и наличието на саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ )

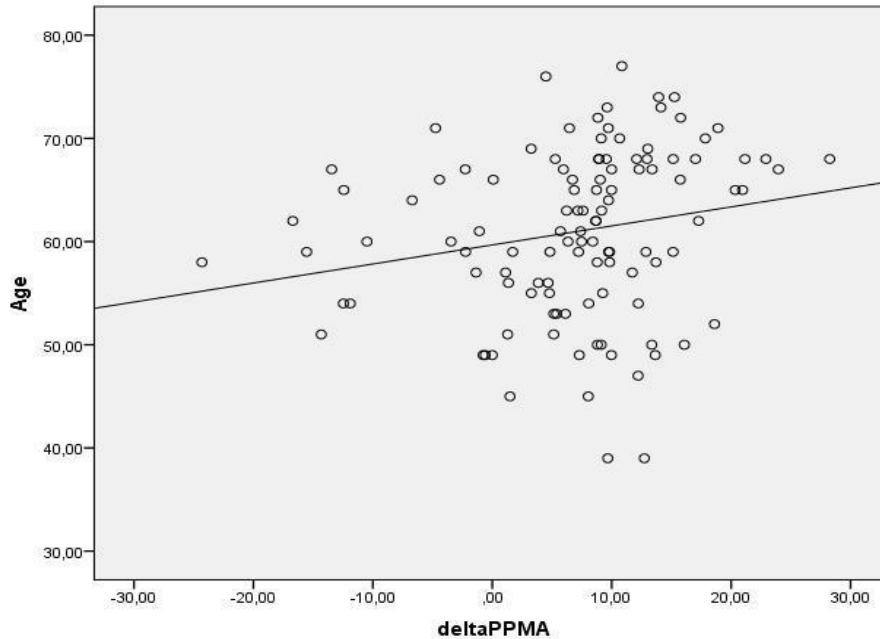
#### 3.1 Връзка между възрастта и наличието на саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ )

Както представихме в литературния обзор възрастта е един от основните рискови фактори за развитието на саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) и увеличава възможността от саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) в общата популация (116–120). В изследваната група пациенти 40 (35.71%) са на възраст над 65 години, а останалите 72 (64.29%) са под 65-годишна възраст. Пациентите са разпределени в зависимост от възрастта и наличието на саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) в четири групи:  $\geq 65$  год. и без саркопения: 20 (17.86%);  $\geq 65$  год. и със саркопения: 20 (17.86%);  $< 65$  год. и без саркопения: 58 (51.78%);  $< 65$  год. и със саркопения: 14 (12.5%) (табл.18). Поради литературните данни за връзка между двете категории променливи, проведохме изследване на същата зависимост в нашата група пациенти с НДБКБ като Chi-Square тестът доказва наличието на статистически значима връзка между възрастта и наличието на саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) за проучваната група пациенти (табл.18).

Табл.18 Връзка на пациентите спрямо възрастта ( $\geq 65$  и  $< 65$ ) и наличието или не на саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) с  $p=0.0008$ .

Възраст	$\Delta PMMA \geq 10\%$ (със саркопения)		p-value
	Да	не	
$\geq 65$	20(17.86%)	20(17.86%)	0.0008
$< 65$	14(12.5%)	58(51.78%)	

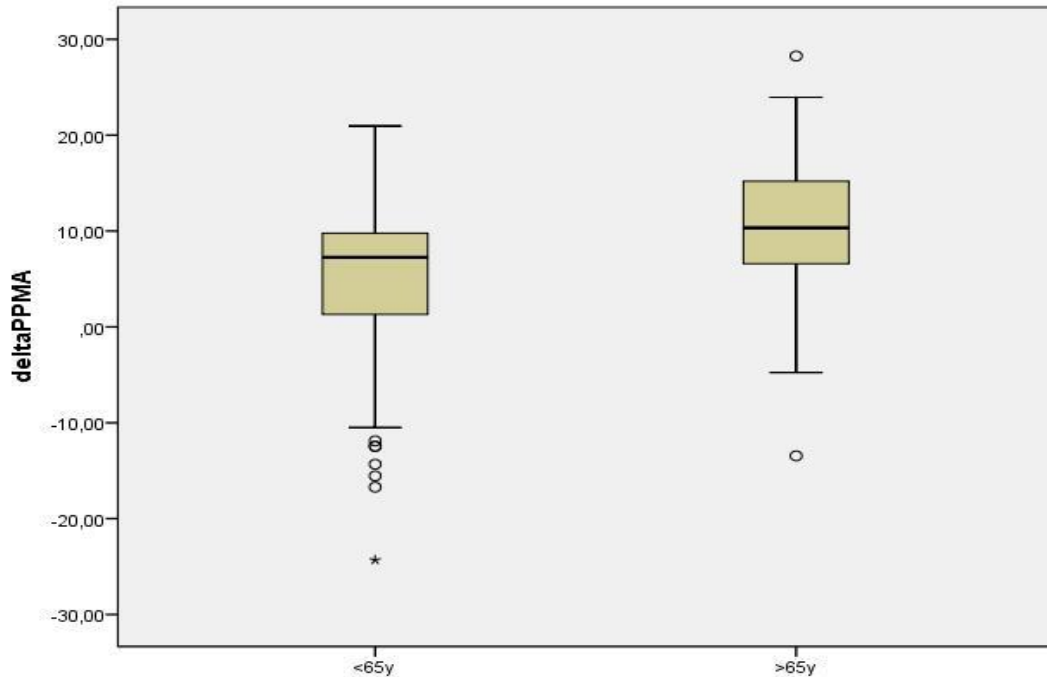
Допълнително проведенят корелационен анализ на Spearman потвърди наличието на статистически значима, но слаба връзка ( $\rho=0.286$ ,  $p=0.002$ ) между наличието на саркопения ( $\Delta PMMA > 10\%$ ) и възрастта (фиг.20).



Фиг.20 Корелационен анализ на Spearman, диаграма на разсейване отразяваща разпределението на пациентите спрямо възрастта и стойностите на  $\Delta$ РММА ( $\rho = 0.286$ ,  $p = 0.002$ )

Резултатите от теста на Mann-Whitney U test показват, че има статистически значимо различие между стойностите на  $\Delta$ РММА в групите на пациентите  $<65$  (средна стойност на  $\Delta$ РММА  $5.0 \pm 8.9$ ) и  $\geq 65$  год. (средна стойност на  $\Delta$ РММА  $10 \pm 8.1$ )  $U=891,000$ ,  $p<0,001$ .

На Boxplot графиките може да се проследи динамиката на  $\Delta$ РММА в групите над и под 65 год., където се наблюдава сигнификантно увеличаване на  $\Delta$ РММА с възрастта (фиг.21).



Фиг.21 Box plot графика директно сравняваща стойностите на  $\Delta PMMA$  във възрастови групи  $\geq 65$  години и  $< 65$  години,  $p < 0.001$ .

*o* – аномално наблюдение

*\** - екстремално наблюдение

### 3.2. Връзка между пола, ECOG PS, броят метастатични сайтове и хистологията и наличието на саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ )

Пациентите от изследваната популация бяха групирани спрямо пола, общото състояние (ECOG PS), броят метастатични сайтове, хистологичния вид и наличието или липсата на саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ). При разпределението спрямо пол се наблюдава саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) при 28.8% ( $n=21$ ) от мъжете и при 33.3% ( $n=13$ ) от жените, като полът не демонстрира статистически значима връзка с наличието на саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) ( $p=0.61$ ). Мнозинството от саркопеничните пациенти са в ECOG PS 1 ( $n=32$ ), а само 2 са в ECOG PS 0, и повечето от тях са с  $>2$  метастатични огнища. Липсва статистически значима връзка с наличието на саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) и ECOG PS ( $p=0.16$ ) и броят на метастатичните огнища ( $p=0.74$ ). Хистологичният вид няма статистически значимо отношение с развитието на саркопения ( $p=0.54$ ) като саркопенични (с  $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) са 32.8% ( $n=20$ ) от пациентите с аденокарцином и 27.5% ( $n=14$ ) от тези с плоскоклетъчен НДКБД. Данните са обобщени в табл.19. От

това може да се заключи, че за оценка рискът от наличие на саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) не може да се използват базисни клинични и патоанатомични характеристики на заболяването.

Табл.19 Връзка между изходните клинични и патоанатомични параметри – пол (мъже/жени), ECOG PS (ECOG PS 0/ECOG PS1), брой метастатични сайтове ( $>2/\leq 2$ ), хистологичен вид (аденокарцином/плоскоклетъчен карцином) и наличието или липса на саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%/\Delta PMMA < 10\%$ ).

	$\Delta PMMA \geq 10\%$ (със саркопения)	$\Delta PMMA < 10\%$ (без саркопения)	P value
<b>Пол</b>			0.61
<b>Мъже</b>	21(28.8%)	52(71.2%)	
<b>Жени</b>	13(33.3%)	26(66.7%)	
<b>ECOG PS</b>			0.16
<b>0</b>	2(66.7%)	1(33.3%)	
<b>1</b>	32(29.4%)	77(70.6%)	
<b>Брой на метастатични сайтове</b>			0.74
<b>&gt;2</b>	45(70.3%)	32(67.4%)	
<b><math>\leq 2</math></b>	19(29.7%)	16(32.6%)	
<b>Хистология</b>			0.54
<b>аденокарцином</b>	20(32.8%)	41(67.2%)	
<b>Плоскоклетъчен карцином</b>	14(27.5)	37(72.5)	

### 3.3. Връзка между PDL1 експресията и наличието на саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ )

Като важен показател доказал своята значимост по отношение на вероятността за отговор от лечението с имунотерапия в извадката за пациентите в изследваната популация е събрана информация по отношение на PD-L1 експресията. В зависимост от стойностите на PD-L1 и наличието или не на саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ), пациентите са разпределени в няколко групи представени в табл.20. Пациентите с PD-L1 > 50% са малък брой и в двете групи (7 с  $\Delta PMMA \geq 10\%$  и 4 с  $\Delta PMMA < 10\%$ ),

докато мнозинството са с PD-L1 25-49% (42 с  $\Delta$ PMMA $\geq$ 10% и 10 с  $\Delta$ PMMA<10% ) или PD-L1 1-24 (29 с  $\Delta$ PMMA $\geq$ 10% и 20 с  $\Delta$ PMMA<10%). За да установим има ли наличие на връзка между саркопенията ( $\Delta$ PMMA $\geq$ 10%) и PD-L1 използвахме тестът Chi-Square, чийто резултат 5,768 (p=0,056) не показва сигнификантна връзка но демонстрира тренд за корелация между PD-L1 статуса на наличието на саркопения ( $\Delta$ PMMA $\geq$ 10%) ( табл.20)

Табл. 20 Разпределение на пациентите с  $\Delta$ PMMA $\geq$ 10% и  $\Delta$ PMMA<10% спрямо PD-L1 статуса в три групи 1-24%, 25-49%,  $\geq$ 50% (p=0.056).

PD-L1 статус	$\Delta$ PMMA $\geq$ 10% (със саркопения)	$\Delta$ PMMA<10% (без саркопения)	p-value
1-24%	29 ( 59,2%)	20 ( 40,8%)	0.056
25-49%	42 (80,8%)	10 ( 19,2%)	
$\geq$ 50%	7 ( 63,6%)	4 ( 36,4%)	

### 3.4 Връзка между тютюнопушенето и саркопенията ( $\Delta$ PMMA $\geq$ 10% )

Проведено е разпределение на пациентите в зависимост от тютюнопушенето и стойностите на  $\Delta$ PMMA. Пациентите, за които е налична информация по повод на тютюнопушенето са разделени на пушачи и непушачи, като е представена информация за бройката и процентът пациенти от всяка група с и без саркопения ( $\Delta$ PMMA $\geq$ 10% ), като се провери дали съществува връзка между двата параметъра (табл.21).

Табл.21 Разпределение на пациентите според наличието на саркопения( $\Delta$ PMMA $\geq$ 10% ) и статуса на тютюнопушене.

	Непушачи	Пушачи	p-value
$\Delta$ PMMA: <10	17 (36.2%)	30 (63.8%)	0.989
$\Delta$ PMMA: $\geq$ 10	9 (36%)	16 (64%)	
Общо	26 (36.1%)	46 (63.9%)	

За оценка на асоциацията между двете независими променливи тютюнопушене и  $\Delta$ PMMA е използван Chi-Square тест, чийто резултат не потвърждава наличието на статистически значима връзка между двата фактора -  $\chi^2(1)=<0.001$ , p=0.98.

### 3.5 Връзка между тегло, BMI и телесна повърхност на пациентите при започване на първа линия системно лечение и саркопенията ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ )

При проследените пациенти средните стойности на измерено теглото и височина към началото на системното лечение са съответно  $71.99 \pm 10.27$  кг за телесното тегло и  $173 \pm 8.28$  см за височината. След изчисление на BMI (body mass index) на пациентите съгласно стандартната формула  $BMI = \text{тегло} / \text{височина}^2$  установихме липса на такива с ниско тегло ( $BMI < 18.5$ ). Разпределението на пациентите спрямо BMI е както следва: BMI 18,5-24,9 (нормално телесно тегло) - 74.11% (n=83), BMI 25-29.9 (наднормено тегло) - 24.10% (n=27), BMI >30 (затлъстяване) – 1.79% (n=2) (табл.22)

Табл.22 Разпределение на проследяваните пациенти съгласно BMI към момента на започване на лечение

BMI	Брой пациенти ( n=112)	Относителен дял (%)
<18.5 (поднормено тегло)	0	0
18,5-24.9 ( нормално тегло)	83	74.11%
25-29.9 ( наднормено тегло)	27	24.10%
>30 (затлъстяване)	2	1.78%

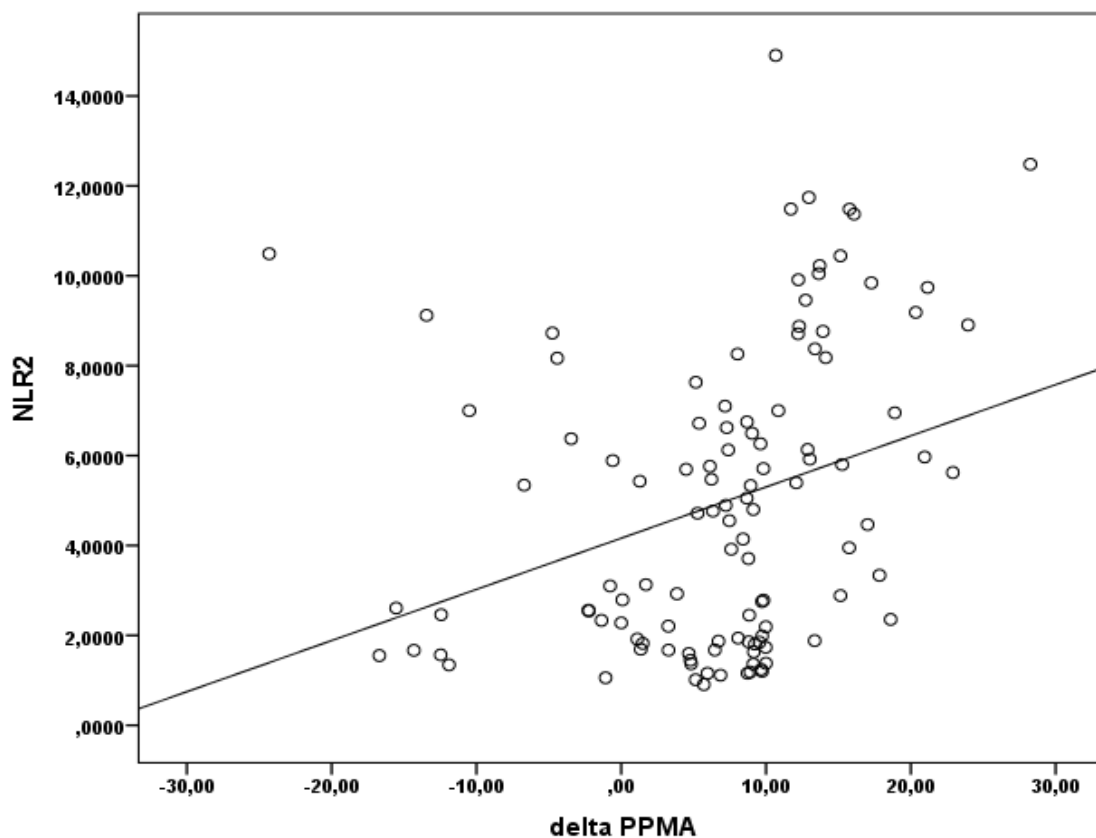
По отношение на BMI и наличието на саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) анализът не доказва статистически значима връзка между двете категории – mean BMI в групата със саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) е  $23.66 \pm 2.40$ , в групата без саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) е  $23.78 \pm 2.46$  (95% CI -1.11:0.87, p=0.81). В групата със саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) 20.59% (n=7) са пациенти с наднормено тегло, а останалите 79.41% (n=27) са с нормално тегло.

Измерена е и телесната повърхност (BSA – body surface area) на пациентите по формулата на Schlich, съгласно килограмите, височината и пола на пациента. В зависимост от наличието или не на саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) пациентите отново са разпределени в две групи като в тази със саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) средната стойност на BSA е  $1.77 \pm 0.15$ , а в групата без саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) mean BSA е  $1.79 \pm 0.18$ . При оценка на връзката между наличието на саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) и стойностите на BSA е установено, че няма статистически значима разлика в BSA при двете групи пациенти с и без саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) (95% CI -0.05:0.01, p=0.57).

### 4. Корелация между хематологичните показатели и саркопенията ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ )

Проведохме статистическа обработка на данните, анализирайки взаимоотношенията между събраната информация за резултатите от хематологичните изследвания преди началото на първа линия ХТ и преди

началото втора линия имунотерапия с Pembrolizumab и развитието на саркопения ( $\Delta\text{PMMA} \geq 10\%$ ). Според корелационният анализ на Spearman, приложен за обследване на връзката между NLR2 (преди лечение с Pembrolizumab) и  $\Delta\text{PMMA}$ , при корелационен коефициент  $\rho=0.394$ , ( $p<0.001$ ), е налична статистически значима умерено силната положителна линейна връзка между NLR2 и  $\Delta\text{PMMA}$  (фиг22).



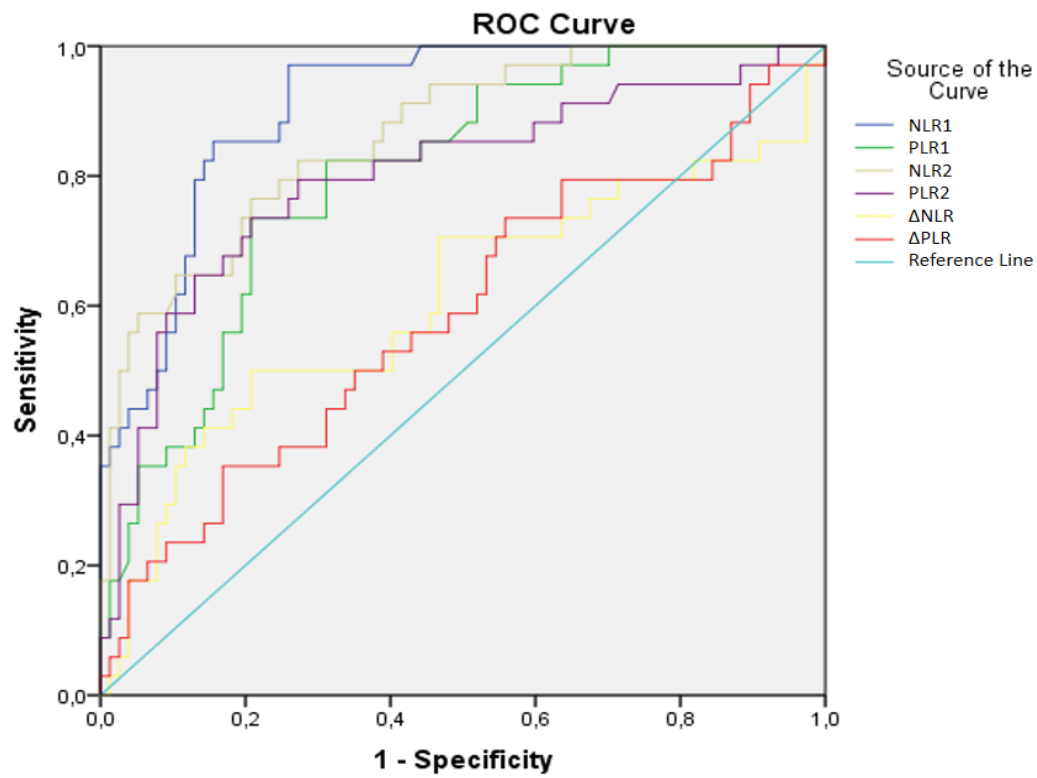
Фиг.22 Корелационен анализ на Spearman, диаграма на разсейване, отразяваща корелацията на разпределението на стойностите на NLR2 спрямо  $\Delta\text{PMMA}$  ( $\rho=0.394$ ,  $p<0.001$ )

Използвайки корелационния анализ на Spearman за изследване на връзката между останалите събрани хематологични показатели NLR1, PLR1, PLR2,  $\Delta\text{NLR}$  и  $\Delta\text{PLR}$  и стойностите на  $\Delta\text{PMMA}$  се отчита положителна връзка между всички тях и  $\Delta\text{PMMA}$ , като връзката на NLR1 е сходна като тази на NLR2 – положителна умерено силна с  $\rho=0.439$ ,  $p<0.001$ . По-слабо изразена, но статистически значима връзка имат PLR1 ( $\rho=0.329$ ,  $p<0.001$ ) и PLR2 ( $\rho=0.306$ ,  $p=0.001$ ), докато слаба, несигнификантна е при  $\Delta\text{NLR}$  ( $\rho=0.104$ ,  $p=0.227$ ) и  $\Delta\text{PLR}$  ( $\rho=0.092$ ,  $p=0.336$ ) (табл. 23).

Табл.23 Корелационен анализ на Spearman на връзката между  $\Delta PMMA$  и хематологичните показатели NLR1, NLR2, PLR1, PLR2,  $\Delta NLR$ ,  $\Delta PLR$  (N=112).

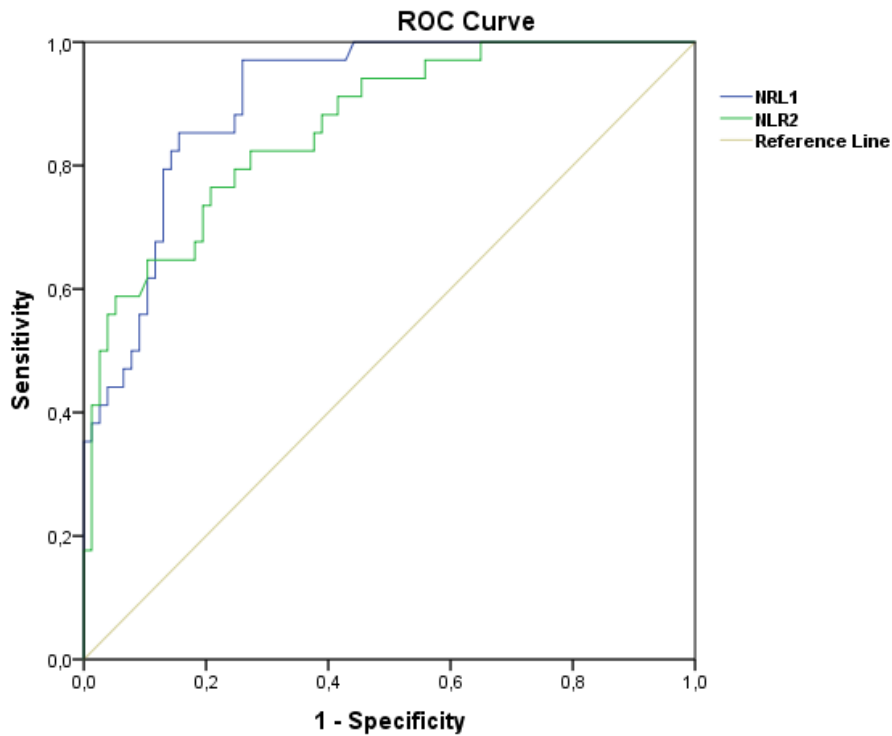
	$\Delta PMMA$	
	Rho	p-value
NLR1	0.439	<0.001
NLR2	0.394	<0.001
PLR1	0.329	<0.001
PLR2	0.306	0.001
$\Delta NLR$	0.104	0.277
$\Delta PLR$	0.092	0.336

ROC анализът е използван, за да се определи възможността на проследените хематологични показатели да бъдат предиктивни маркери за наличието на саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) (фиг.23) От всички хематологични показатели в сферата на интерес на настоящето изпитване NLR1 и NLR2 може да разграничат пациенти с или без саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) с най-висока специфичност и сензитивност, със съответно  $AUC=0.91$  (95% CI, 0.86-0.96;  $p<0.0001$ ) и  $AUC=0.86$  (95% CI, 0.79-0.94;  $p<0.0001$ ) (фиг.24). Сред останалите показатели  $\Delta NLR$  и  $\Delta PLR$  не биха могли да се използват за дискриминиране на двете групи пациенти спрямо стойностите на  $\Delta PMMA$  съгласно резултатите от ROC анализа  $AUC=0.61$  (95% CI, 0.481-0.733;  $p=0.073$ ) и  $AUC=0.59$  (95% CI, 0.466-0.706;  $p=0.150$ ) (табл.24) .



Diagonal segments are produced by ties.

Фиг.23 AUC криви, отразяващи специфичността и сензитивността на NLR1 ( $p < 0.0001$ ), NLR2 ( $p < 0.0001$ ), PLR1 ( $p < 0.0001$ ), PLR2 ( $p < 0.0001$ ),  $\Delta$ NLR ( $p = 0.073$ ) и  $\Delta$ PLR ( $p = 0.150$ ) за предсказване наличието на саркопения ( $\Delta$ PMMA  $\geq 10\%$ ).



Фиг. 24 AUC криви, отразяващи специфичността и сензитивността на NLR1 ( $p < 0.0001$ ) и NLR2 ( $p < 0.0001$ ) за предсказване наличието на саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ), без сигнификантна разлика между способността на двата маркера ( $p = 0.92$ ).

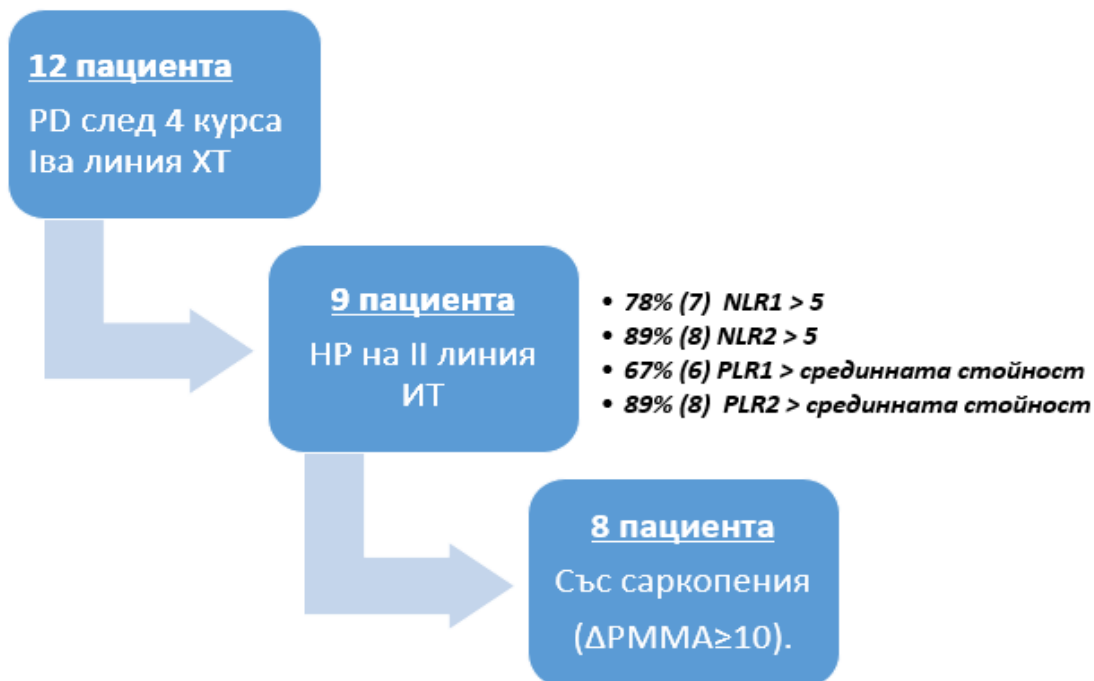
Табл.24 Разпределение на резултатите от ROC анализа за различните хематологични показатели и възможността им за откриване на налична саркопения.

	AUC	Standard error	p-value	95% CI
NLR1	0.908	0.027	<0.001	0.856-0.961
NLR2	0.863	0.037	<0.001	0.791-0.935
PLR1	0.800	0.043	<0.001	0.716-0.884
PLR2	0.800	0.049	<0.001	0.703-0.897
$\Delta NLR$	0.607	0.064	0.073	0.481-0.733
$\Delta PLR$	0.586	0.061	0.150	0.466-0.706

## 5. Връзка между саркопенията ( $\Delta PMMA \geq 10$ ), хематологичните характеристики и резултатът от първия контролен КТ на фона на ИТ при пациенти, неотговарящи на първа линия ХТ

При провеждане на първата линия ХТ, провели всички 112 пациента, на първия контролен КТ, проведен след 4 курса ХТ, прогресия на заболяването се регистрира при 12 (10.71%) пациенти. От тези пациенти, които са започнали последваща линия с Pembrolizumab на първия контролен КТ, проведен 8-12 седмици след началото на втората линия ИТ всички са с  $NLR1 > 5$ . От тези 12 пациента 9 са със саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10$ ).

Тази популация от бързи прогресори на фона на първа линия ХТ се характеризира и с по-висок риск за развитие на хиперпрогресия на фона на втора линия Pembrolizumab. Такава е отчетена при 9 от 12-те пациента, т.е. 75% от бързите прогресори на 1-ва линия ХТ. Групата на пациентите развили хиперпрогресия след липса на отговор и на 1-ва линия ХТ демонстрира високи нива на системно възпаление и високи стойности на лабораторните показатели – 78% са с  $NLR1 > 5$ , 89% са с  $NLR2 > 5$ , 67% са с  $PLR1 >$  средната стойност, 89% са с  $PLR2 >$  средната стойност. Мнозинството от пациентите с хиперпрогресия на Pembrolizumab след бърза прогресия на 1-ва линия ХТ са и със саркопения (8 от 9 пациенти) (фиг.25).

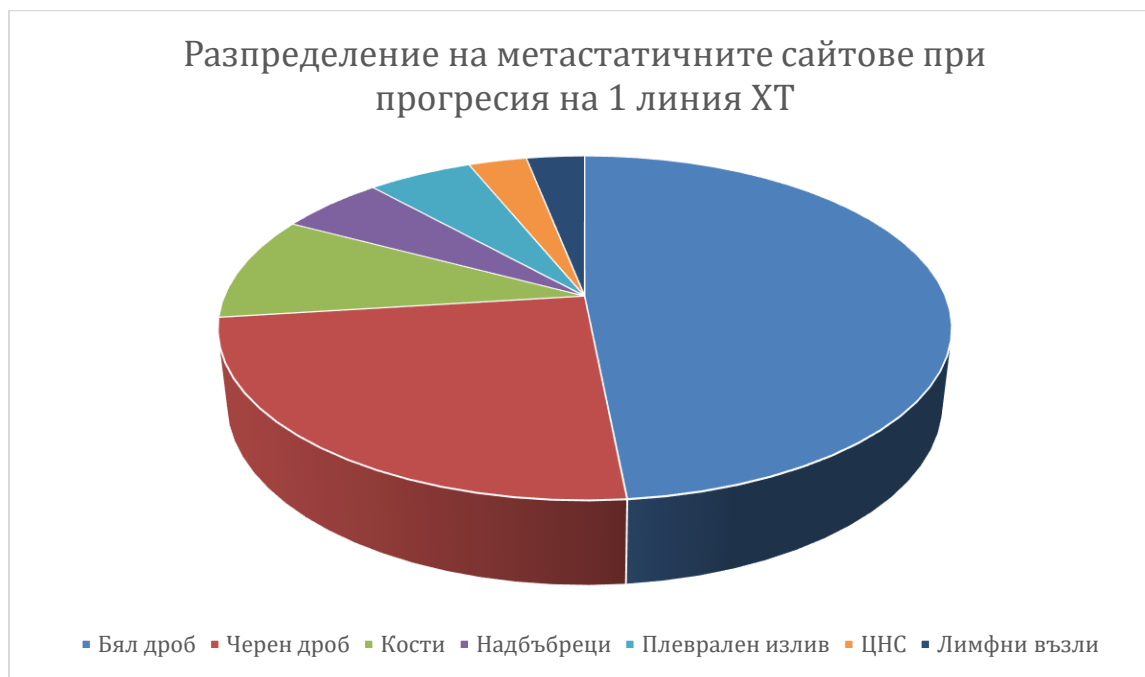


Фиг.25. Характеристики на пациентите с прогресия ( N=12) при първото контролно образно изследване на фона на 1-ва линия ХТ

## 6. Разпределение на пациентите спрямо типа на прогресия на първа линия ХТ

Всички пациенти са преоценявани с КТ на определен интервал, започващ при липса на влошаване на общото състояние след 4 курс ХТ и продължаващо на интервали, съгласно хода на болестта, общото състояние и протоколите във всяко лечебно заведение, участващо в проучването.

За популацията от 112 пациента е събрана и информация за начина на прогресия на болестта след първа линия лечение. При мнозинството се установява белодробна прогресия ( N=79, 70.53%), докато при 40 (36.7%) пациента се наблюдава прогресия на налични или поява на нови метастази в черен дроб. В по-малък процент се установяват поява/прогресия на метастази в кости (N=16, 14,3%), надбъбреци (N=9, 8%), ЦНС (N=5, 4.46%), ЛВ(N=5, 4.46%), поява на плеврален излив ( N=9, 8%) (фиг.26).



Фиг.26. Графика на местата на метастазиране при прогресия на първа линия ХТ .

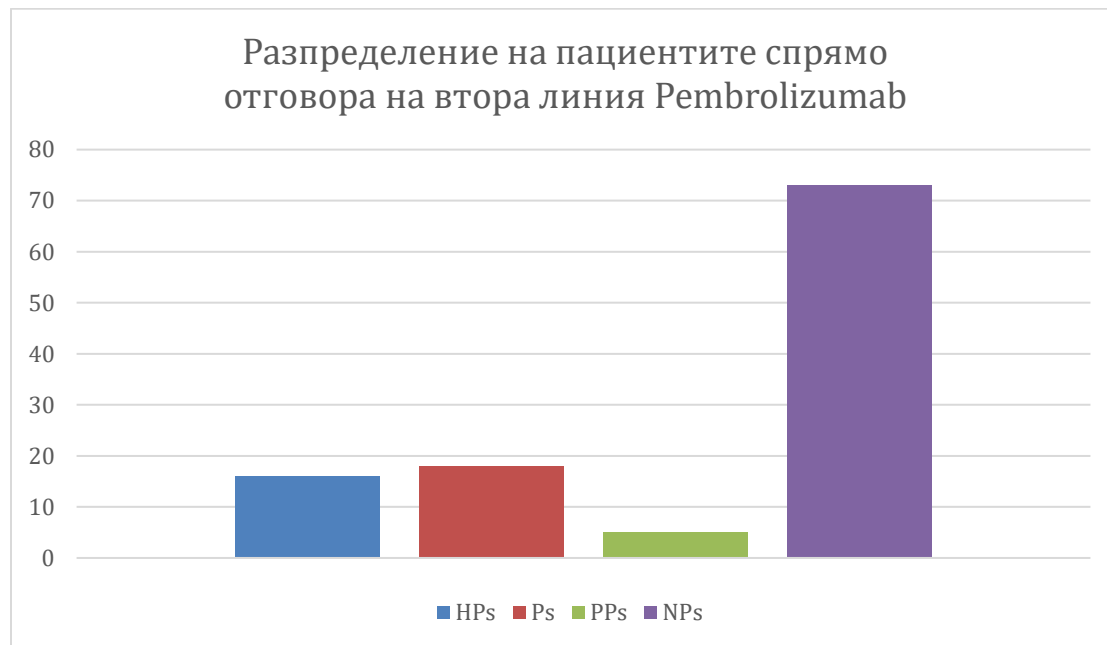
## 7. Разпределение на пациентите спрямо отговора на лечение с Pembrolizumab при първата преоценка.

Всички 112 пациента са прогресирали след първа линия платин-базирана ХТ. При всички е назначено втора линия имунотерапия с Pembrolizumab, като инфузията е започната поне 3 седмици след края на химиотерапевтичното лечение. Pembrolizumab е приложен първоначално в доза 2 мг/кг интравенозно за

60 минути през 21 дни, след което е преминато съгласно адаптацията на дозовия режим на световно ниво, на доза 200 мг и.в. на всеки 3 седмици.

Отговорът от провежданото лечение с Pembrolizumab е определен на базата на клиничното състояние и RECIST version 1.1 критериите на всеки 8-12 седмици или при клинично влошаване на пациентите. Пациентите на лечение с pembrolizumab са разпределени в четири групи: непрогресиращи на фона на ИТ (non-progressors -NPs), прогресори (Ps), хиперпрогресори (hyperprogresors - HPs), псевдопрогресори (pseudoprogresors – PPs).

Пациентите проявяващи се като хиперпрогресори (HPs) на първата преоценка са 16 (14.29%), прогресорите (Ps) са 18( 16.07%), тези прогресиращи (NPs) на фона на първия контролен скенер са 73 (65.18%), а псевдопрогресорите (PPs) са 5 (4.46%)(фиг.27). При пациентите с псевдопрогресия не е наблюдавано клинично влошаване и е продължено с лечението, като след 8 седмици е осъществена нова образна преоценка на болестта, като при трима е отчетено стабилно заболяване, а при двама частична ремисия. Поради малкия брой PPs са изключени от по-нататъшния статистически анализ.



Фиг.27. Разпределение на пациентите спрямо отговора на втора линия Pembrolizumab – HPs(n=16), Ps (n=18), PPs (n=5), NPs (n=73).

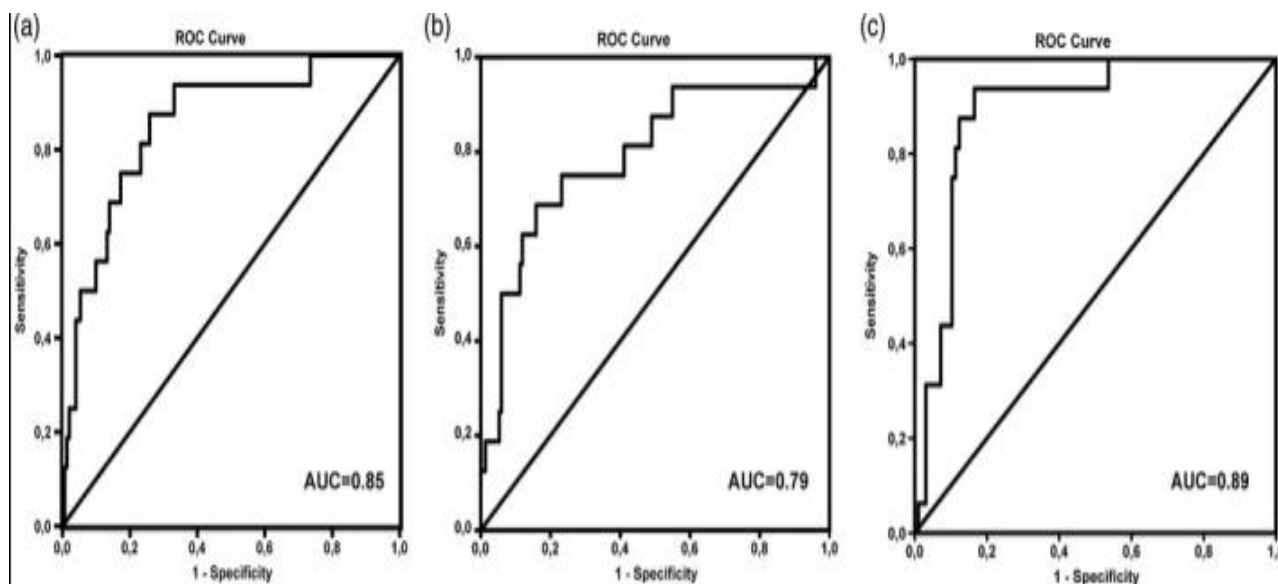
**8. Връзка между саркопенията ( $\Delta PMMA \geq 10$ ), хематологичните характеристики и резултатът от първия контролен КТ на фона на втора линия терапия с Pembrolizumab**

Пациентите развиващи саркопения на фона на ХТ (N=34) и преминали на втора линия ИТ с Pembrolizumab след първия контролен КТ са разпределени в следните групи: HPs- 15 са хиперпрогресори, PPs - 4 са псевдопрогресори, Ps -7 са прогресори и NPs- 8 не са прогресирали на фона на лечението. Отчетена е статистическа значима връзка между наличието на саркопения и отговорът на първата КТ преценка на болестта с  $p\text{-value} < 0.0001$  (табл. 25).

Табл.25 Разпределение на пациентите със и без саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10$ ) в зависимост от отговорът на първия контролен КТ на фона на II-а линия ИТ с Pembrolizumab

Саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10$ )	HPs	PPs	Ps	NPs	p-value
Не (N=78)	1 (0.9%)	1 (0.9%)	11 (9.8%)	65 (58%)	<0.0001
Да (N=34)	15 (13.4%)	4 (3.6%)	7 (6.3%)	8 (7.1%)	

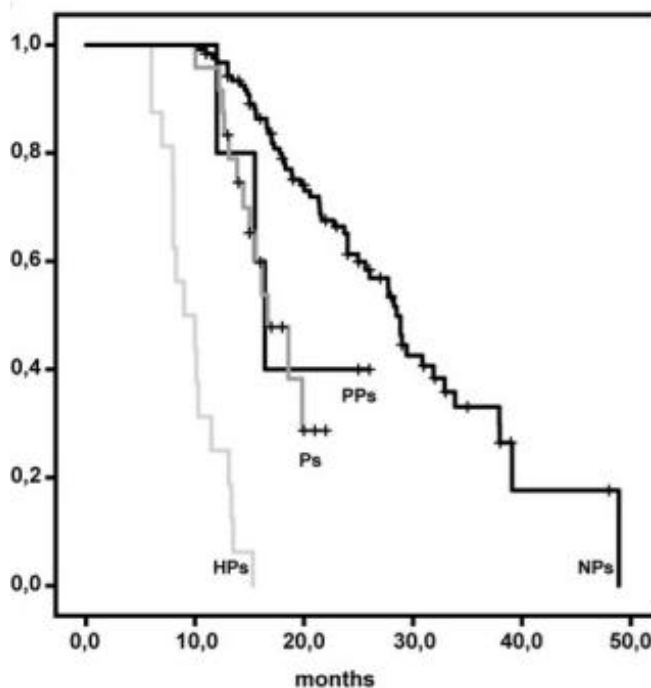
Анализът на данните чрез тестът на Kruskal-Wallis ANOVA показва значима разлика в  $\Delta PMMA$  единствено между хипер прогресорите и прогресорите ( $16.2 \pm 4.8$  vs  $8.3 \pm 8.1$ ;  $p=0.009$ ) и между непрогресорите и хиперпоргесорите ( $5.8 \pm 13.8$  vs  $16.2 \pm 4.8$ ;  $p < 0.0001$ ). ROC анализът показва, че при високи стойности на  $\Delta PMMA$  може да се раграничат пациенти с или без хиперпрогресия с  $AUC=0.89$  (95% CI, 0.82-0.96;  $p < 0.0001$ ) при чувствителност от 93.8% и специфичност от 79.2% (фиг.28). След корекция на резултатите съгласно възраст, пол, PD-L1 експресия, брой метастатични сайтове, NLR, PLR, високите стойности на  $\Delta PMMA$  са асоциирани с намалена вероятност пациентът да е с Ps спрямо това да е HPs (OR, 0.81; 95% CI, 0.65-0.99;  $p=0.047$ ) и намалена възможност да бъде NPs спрямо това да е с HPs (OR, 0.76; 95% CI, 0.62-0.94;  $p=0.012$ ).



Фиг.28 Графика на ROC анализа, използващ NLR, PLR и  $\Delta$ PMMA за разграничаване на пациентите с и без HPs. Диагностичната акуратност на биомаркерите е определена чрез най-голямата площ под кривата AUC в ROC анализа. (a) NLR2 AUC = 0.85; (b) PLR2 AUC = 0.79; (c)  $\Delta$ PMMA AUC = 0.89.

След като демонстрирахме доказателства от статистическата обработка на данните, че наличието на саркопения ( $\Delta$ PMMA $\geq$ 10) може да се свърже с повишен риск от развитие на хиперпрогресия, то трябва да подчертаем, че важността на този резултат се имплементира в стратифицираните резултати по отношение на средната общата преживяемост (mOS). Отразено на кривите на Kaplan-Meier по-долу HPs (mOS=9.83 months; 95%, CI 8.44-11.22) имат сигнификантно по-къса обща преживяемост спрямо PPs (mOS=19.18 months; 95%, CI 14.13-24.22) (log-rank test  $p=0.001$ ), Ps (mOS=17.32 months; 95%, CI 15.67-18.98) (log-rank test  $p<0.001$ ) и близо три пъти по-къса mOS спрямо NPs (29.79 months; 95%, CI 26.87-32.71) (log-rank test  $p<0.001$ ) (фиг.29).

OS (probability)



Фиг.29. Криви на Карпан-Меиер за разпределяне на mOS спрямо отговорът на първата КТ преценка на фона на 2-ра линия лечение с Pembrolizumab.

#### 9. Връзка между саркопенията (PMMA<10%) и наличието на клинична полза (CBR)

Наличието на клинична полза (clinical benefit rate - CBR) от провеждането на първата линия лечение с ХТ е определена като процента пациенти с наличен частичен отговор (PR-partial response) или стабилно заболяване (SD- stable disease) за поне 6 месеца от началото на терапията. Пациенти с пълен отговор не са наблюдавани в проследяваната група. CBR в изследваната популация се наблюдава при 61 пациента (54,5%). Разглеждайки пациентите според стойностите на  $\Delta$ PMMA на такива със саркопения ( $\Delta$ PMMA $\geq$ 10%) и такива без (PMMA<10%), се наблюдава, че мнозинството (57, 93.4%) от пациентите с CBR са без саркопения. Докато от пациентите развиващи саркопения на фона на ХТ само при 4 се регистрира клинична полза от първата линия терапия. Така се оказва, че от групата пациенти без клинична полза мнозинството са със саркопения (30, 58.8%), докато останалите (21, 41.2%) са без саркопения. Следователно проведения Chi squared тест анализира данните и обективизира сигнификантната връзка ( $p<0.0001$ ) между наличието на CBR и  $\Delta$ PMMA с (табл.27).

Табл.27 Връзка между наличието и липсата на саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) и проявата или липсата на клинична полза (CBR) ( $p < 0.0001$ ).

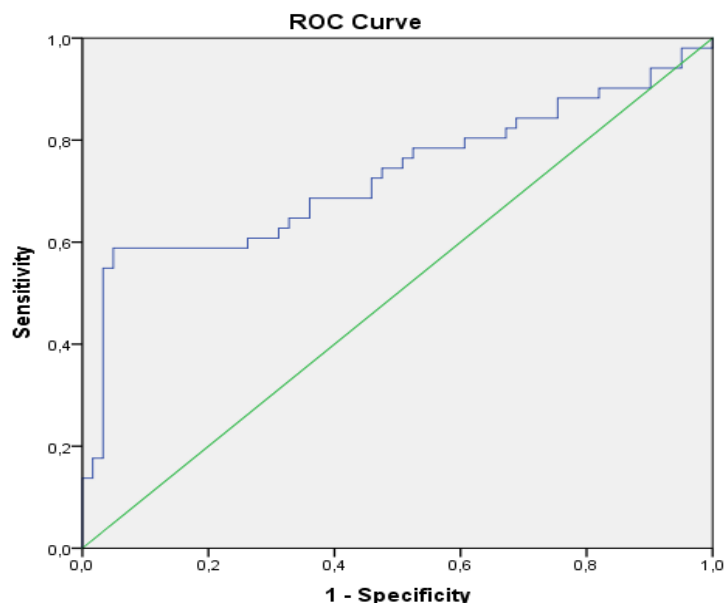
Клинична полза, CBR (PR+SD)	Саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ )	Без саркопения ( $\Delta PMMA < 10\%$ )	p-value
Налична	4(6.6%)	57(93.4%)	<0.0001
Липсва	30(58.8%)	21(41.2%)	

Приложеният за сравнителен анализ тест на Mann-Whitney U test между наличието на клинична полза и няколко характеристики, включващи възраст,  $\Delta PMMA$ , BMI и изходното тегло на пациентите, показва, че единствено  $\Delta PMMA$  има статистически значима връзка ( $p = 0.001$ ) със степента на клинична полза в сравнение с теглото, BMI и възрастта (табл.28).

Табл.28 Сравнение между възрастта,  $\Delta PMMA$ , BMI и теглото и наличието на клинична полза

Характеристики	Клинична полза, CBR (PR+SD)		p-value
	Налична	Липсва	
Възраст	59.3±7.4	62.8±8.4	0.23
BMI	1.8±0.1	1.8±0.1	0.602
Тегло	71.2±18.0	75.4±16.4	0.212
$\Delta PMMA$	4.3±7.5	9.3±9.7	0.001

При оптимални стойности на  $\Delta PMMA$ , този показател може да разграничи пациентите с и без CBR с чувствителност 72.5% и сензитивност 54.1% (AUC 0,729, 95%CI: 0,629-0,829,  $p < 0,001$ ) (фиг.30)



**Фиг.30** ROC анализ, разделящ болните според стойностите на  $\Delta$ PMMA на такива с и без СВР . Диагностичната прецизност на  $\Delta$ PMMA се определя чрез оценка на най-голямата площ под кривата (AUC 0,729, 95%CI: 0,629-0,829,  $p < 0,001$ ).

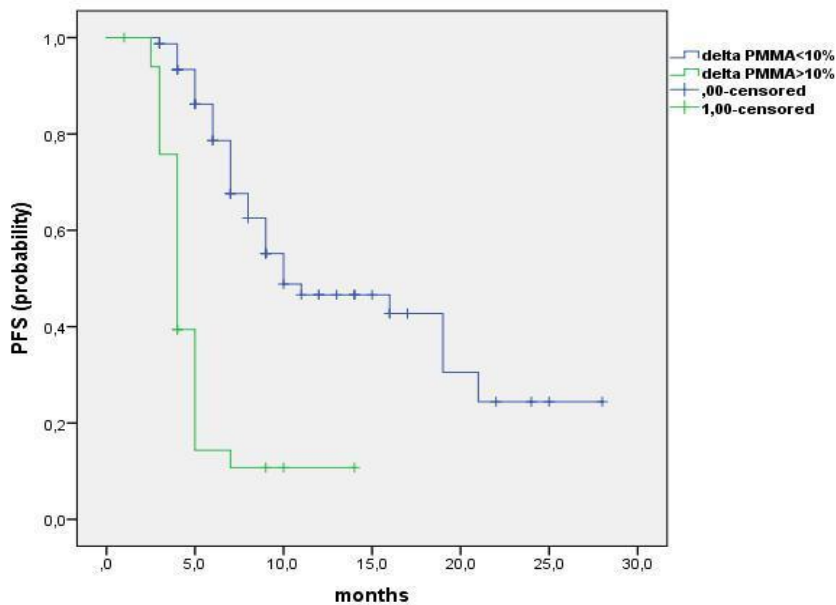
#### 10. Връзка между саркопенията ( $\Delta$ PMMA $\geq$ 10%) и свободната от прогресия преживяемост (PFS)

От обработените данни е установено, че свободната от прогресия преживяемост на фона на първа линия ХТ (mean PFS1) е 9.9. месеца  $\pm$ 4.85м. При пациентите със и без саркопения е изчислена mean PFS1 като е установена статистически значима връзка между намалената мускулна маса и по-бързата прогресия на фона на началното лечение с ХТ (95%, CI 3.47-6.92,  $p < 0.0001$ ) (табл.29)

Табл.29 Връзка на свободната от прогресия преживяемост на фона на първа линия ХТ (PFS1) и наличието или не на саркопения ( $\Delta$ PMMA $\geq$ 10%) (95%, CI 3.47-6.92,  $p < 0.0001$ ).

	$\Delta$ PMMA $\geq$ 10% (със саркопения)		<i>P- value</i>
	<i>Да</i>	<i>не</i>	
<i>PFS1</i>	6.3 $\pm$ 3.43 (n=34)	11.5 $\pm$ 4.55 (n=78)	<0.0001

Вземайки цялата изследвана група пациенти, е изчислена свободната от прогресия преживяемост на втората линия терапия с Pembrolizumab, която е определена от датата на първата апликация на медикамента до датата на прогресия на болестта или смърт от каквато и да е причина (mean PFS2). Средната свободна от прогресия преживяемост на фона на Pembrolizumab в цялата популация е 7.76мес.±5.29мес. В зависимост от наличието или липса на саркопения ( $\Delta\text{PMMA} \geq 10\%$ ) log-rank тестът демонстрира статистически значима връзка между наличието на саркопения ( $\Delta\text{PMMA} \geq 10\%$ ) и mean PFS2 ( $p < 0.0001$ ) като mean PFS2 при пациентите със саркопения ( $\Delta\text{PMMA} \geq 10\%$ ) е 5,2 months (95%, CI 4,0-6,3) докато при останалите пациенти без саркопения mean PFS2 е 14,8 months (95%, CI 12,2-17,4). Установеното статистически значимо отношение на саркопенията ( $\Delta\text{PMMA} \geq 10\%$ ) върху скъсяването на времето без прогресия е илюстрирано чрез кривите на Kaplan-Meier (Фиг.31).



Фиг.31. Kaplan-Meier криви на преживяемостта без прогресия (mean PFS) на втора линия терапия с Pembrolizumab при пациенти със саркопения ( $\Delta\text{PMMA} \geq 10\%$ ) (mean PFS2=5,2 months (95%, CI 4,0-6,3) и без саркопения ( $\Delta\text{PMMA} < 10\%$ ) (mean PFS2 =14,8 months (95%, CI 12,2-17,4), ( $p < 0.0001$ ))

За да установим има ли други фактори, които оказват влияние върху стойностите на  $\Delta\text{PMMA}$  и влиянието ѝ върху PFS на фона на втора линия терапия с Pembrolizumab, приложихме многофакторен Сох-регресионен анализ, изследващ влиянието на независимите променливи пол, възраст, PD-L1 статус, върху отношението на  $\Delta\text{PMMA}$  към свободната от прогресия преживяемост. Оказа се, че стойността на

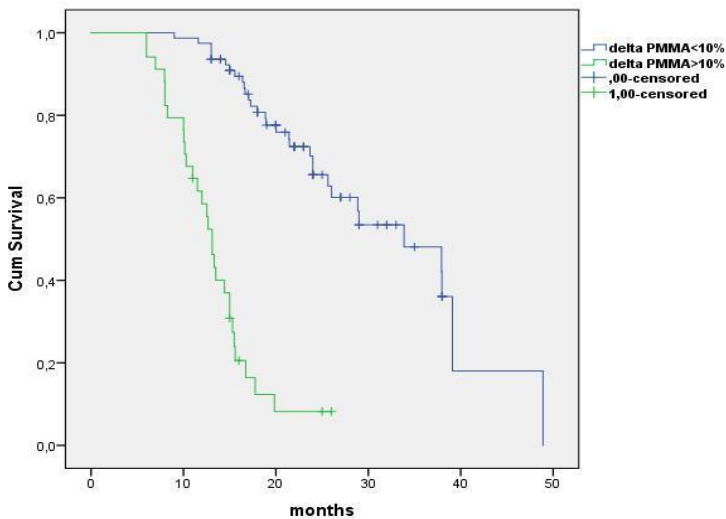
ΔPMMA (HR 5,1, 95% CI 2.8-9.3, p<0.0001) е независим рисков фактор за по-кратка свободна от прогресия преживяемост (табл.30).

**Табл.30** Многофакторен Cox regression анализ, предсказващ влиянието на ΔPMMA върху свободната от прогресия преживяемост (PFS)

Меркер	HR	95% CI	p- value
<b>ΔPMMA</b> ΔPMMA $\geq$ 10%vs <10%	5.1	2.8-9.3	<0,0001
<b>Пол</b> Мъже vs жени	0.774	0.460-1.303	0.335
<b>Възраст</b> >65 vs <65	1.251	0.714-2.190	0.434
<b>PD-L1</b> <50 vs >50	1.996	0.816-4.880	0.130

### 11. Връзка между саркопенията (ΔPMMA $\leq$ 10%) и общата преживяемост (OS)

Общата преживяемост на цялата група от 112 пациенти с НДКБД е 19.9 $\pm$ 8.29мес. При мъжете и жените не се наблюдава съществена разлика в mean OS (мъже: 20 $\pm$ 8.36мес., жени: 19.5 $\pm$ 8.86мес.). Разпределяйки обаче пациентите в две групи според наличието или липса на саркопения (ΔPMMA  $\leq$ 10%) се наблюдава сигнификантно по-къса средна обща преживяемост mean OS 13.5м (95%, CI 11.7-15.2) при пациентите със саркопения спрямо останалите пациенти без саркопения mean OS 31.8 months (95%, CI 27.6-35.8) (фиг.32).



Фиг. 32. Kaplan-Meier криви на общата преживяемост (mean OS) при пациенти със саркопения ( $\Delta$ PMMA  $\geq 10\%$ ), mean OS=13.5м (95%, CI 11.7-15.2) и без саркопения ( $\Delta$ PMMA  $< 10\%$ ), mean OS=31.8м (95%, CI 27.6-35.8).

За проследяваната популация е осъществен и многофакторен Cox-регресионен анализ сравняващ различни променливи фактори и връзката им с общата преживяемост. От всички проследени възраст, пол, хистология, PD-L1 статус, брой метастатични огнища и наличие на саркопения статистическия анализ определи, че единствено  $\Delta$ PMMA  $\geq 10\%$  (HR 10.5, 95% CI 5.07 – 21.72,  $p < 0.001$ ) и броят метастатични огнища (HR 0.50, 95% CI 0.28 – 0.88,  $p = 0.018$ ) са независими фактори, свързани с по-лоша прогноза (табл.31).

Табл. 31 Многофакторен Cox regression предсказващ общата преживяемост (mean OS) спрямо пол (жени vs мъже), брой метастатични огнища ( $\leq 2$  vs  $> 2$ ), хистология (несквамозна vs сквамозна), възраст ( $\geq 65$  год. vs  $< 65$  год),  $\Delta$ PMMA ( $\geq 10\%$  vs  $< 10\%$ ), PD-L1 статус ( $< 50\%$  vs  $\geq 50\%$ )

	HR (95% CI)	p-value
<b>Пол</b> Жени vs мъже	0.89 (0.49-1.59)	0.703
<b>Брой метастатични места</b> $\leq 2$ vs $> 2$	0.50 (0.28-0.88)	0.018

<b>Хистология</b> Несквамозна vs сквамозна	0.76 ( 0.41-1.38)	0.372
<b>Възраст</b> ≥65 год. vs <65 год.	1.62 ( 0.88-3.0)	0.120
<b>ΔPMMA</b> ≥10% vs <10%	10.5 ( 5.07-21.72)	<0.001
<b>PD-L1 статус</b> ( <50% vs ≥50%)	0.62(0.24-1.57)	0.316

## VI. Обсъждане

Според данните на GLOBOCAN от 2020 г карциномът на белия дроб остава основен проблем в онкологията като се нарежда на трето място по заболяемост от онкологични заболявания (29.2/100 000 души) и остава водеща причина за смъртност (22.9/100 000 души) сред населението на световно ниво. Въпреки напредъка, молекулярното профилиране и въвеждането в практиката на множество нови медикаменти карциномът на белия дроб все още остава предизвикателство. Имуноterapia революционализира лечението на НДКБК, но независимо от постиженията има недостатъци и ефективността не е еднаква при всички пациенти. В ерата на персонализираната медицина, имайки възможност да предложим на пациентите с напреднал НДКБК голям набор от медикаменти – ХТ, различни таргетни медикаменти, имунотерапевтици, от основно значение е да подберем правилните медикаменти за подходящия пациент и адекватно да подредим последователността на приложението им, за да извлечем максимална полза за пациента. Следователно ни е необходимо да боравим с достатъчно полезни предиктивни и прогностични фактори при определяне на терапевтичния план, които да ни помогнат във вземането на решение по отношение на вида и последователността на лечението.

В търсене на нови функционални предиктивни и прогностични маркери се спряхме на изследване на ефектът, който саркопенията - намалената мускулна маса, оказва върху ефективността от лечението и общата преживяемост при НДКБК. Дори и в България в последните 1-2 години се появяват единични съобщения по темата (264). Общата мускулатура, както споменахме в литературния обзор, варира в

зависимост от няколко фактора, включително етническа принадлежност, възраст, пол и разпространение на затлъстяването, но все още няма единно приети граници за нормално ниска мускулна маса (86). Мускулната маса започва да намалява около 40-годишна възраст със средна загуба от ~8% на десетилетие до 70-годишна възраст (180) и след това намалява по-бързо със скорост от 25%-40% загуба на мускули на всеки 10 години (181,182). Тъй като повечето онкологични заболявания се появяват в зряла-възрастна възраст, се очаква и саркопенията да има високо разпространение в тази популация. Причините за поява на саркопения са разнородни – самото онкологично заболяване, провежданото специфично лечение, локорегионално увреждане, причинено от проведеното хирургично или лъчелечение, съпътстващи заболявания, недохранване, обездвижване (112). Самата саркопения от друга страна е рисков фактор за повишен риск от поява на токсичност от провежданото системно лечение и намален противотуморен отговор (86,139).

### Диагностика на саркопенията

Нарастването на изследванията, свързани със саркопенията при злокачествени заболявания до голяма степен е подхранвано и от широката наличност на КТ изображения, получени като част от рутинните изследвания в онкологията, и способността да се използват за множество ретроспективни проучвания, свързани с изследвания на телесния състав. Телесното тегло и индексът на телесна маса (ВМІ) са сред първите мерки, използвани за измерване на здравословния и хранителен статус при онкологичните пациенти и остават често използвани мерки в клиничната практика. Те обаче са неточни особено при по-възрастни пациенти и не могат да направят разлика между разпределението на различните тъкани в организма (183). Вече са налични както споменахме множество по-адекватни техники и методи, които могат да се използват за оценка на състава на тялото, вариращи от прости антропометрични измервания до по-усъвършенствани ЯМР техники, всеки от които имат свои предимства и недостатъците (Табл. 32) (184).

Табл.32 Предимства и недостатъци на често използвани методи за оценка на саркопенията (184)

Метод за диагностициране на саркопения	Предимства	Недостатъци
<u>Антропометричен (Дължини и ширини/обиколки/дебелина на кожната гънка)</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Лесен за изпълнение</li> <li>● Евтин</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Сравнително нечувствителен</li> <li>● Голяма степен на вариабилност на</li> </ul>

		резултатите при различните измервания
<b><u>Биоелектрически импеданс</u></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Преносима апаратура</li> <li>● Безопасен</li> <li>● Сравнително евтин</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Разчита на регресионни уравнения, специфични за населението (някои от тези уравнения не са пуснати от производителя)</li> <li>● Ограничена приложимост при тези с BMI &gt;34 kg/m<sup>2</sup>,</li> </ul>
<b><u>DXA</u></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Висока прецизност и точност</li> <li>● Безопасен за многократни измервания</li> <li>● Бърз и неинвазивен</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Има разлики в рамките на и между производителите и версиите на софтуера.</li> <li>● Измерванията се влияят от хидратацията.</li> <li>● Ниско излагане на радиация, но не е безопасно за бременни жени.</li> </ul>
<b><u>КТ</u></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Много точна количествен и качествен метод за оценка</li> <li>● Висока резолюция на изображението.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Необходимост от специализирано оборудване, настройки и персонал.</li> <li>● Високо ниво на облъчване</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Полезно в клинични условия, където тези изображения се придобиват за целите на медицинска диагноза/проследяване.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Не може да побере много едри пациенти</li> </ul>
<b><u>ЯМР</u></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Отлични резолюция на изображението.</li> <li>● Най-точният метод за количествена и качествена оценка на телесния състав</li> <li>● Безопасен</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Необходимост от специализирано оборудване, настройки и персонал.</li> <li>● Скъп</li> <li>● Не може да побере много едри пациенти</li> </ul>
<b><u>Ехография</u></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Безопасен, преносим, бърз, по-ниска цена.</li> <li>● Надежден, точен и възпроизводим резултат.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Липса на стандартизирани техники за измерване;</li> <li>● Резултатите се влияят от технически грешки, стандартизация на протокола и анатомични вариации</li> <li>● Осигурява повече качествени, отколкото количествени резултати.</li> <li>● Резултатите силно зависят от уменията на ехографиста.</li> </ul>
<b><u>Тест за разреждане на креатинина</u></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Висока прецизност и точност</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Скъп</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Безопасен</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Необходимост от специализиран анализ</li> </ul>
--	---	--

Табл.32 Предимства и недостатъци на често използвани методи за оценка на саркопенията (184)

**Използване на КТ срезове на ниво L3 за оценка на саркопения**

Предвид гореизложените факти в проучванията от последните години върху саркопенията при онкологичните пациенти се употребява най-често КТ методиката, но и тук има вариации в определените мускулни групи и съотношения, които се използват. Най-често се проследяват SMA (skeletal muscle area) – площта на m. psoas major на квадрата на височината или SMI (skeletal muscle index) на ниво L3 (185–187). SMI се изчислява като стойността, получена чрез разделяне на общата площ на всички скелетни мускули върху напречното сечение на тялото на прешлен L3, получено чрез СТ или MRI, на квадрата на височината. За наличие на саркопения се приемат стойности на SMI <39 cm<sup>2</sup>/m<sup>2</sup> за жените и <55 cm<sup>2</sup>/m<sup>2</sup> за мъже (188). През 2019 година Nishioka et al публикува модел за изчисляване на саркопенията не като моментно състояние, а като динамичен показател, отчита промяната на мускулната площ във времето в хода на лечението на метастатичен НДКБК като отчита площта на m. psoas major (PMMA) към момента на диагнозата и преди провеждане на поредна линия ИТ(179). В нашето проучване решихме да използваме и проверим ефективността именно на динамичната оценка на площта на m. psoas major (ΔPMMA), като за налична саркопения сме възприели стойности предложени от Nishioka на ΔPMMA ≥10% изчислено като съотношението на площта на m. psoas major преди ИТ и първата линия терапия. Площта на m. psoas major се определя на КТ срези на ниво на L3.

**Изследване на връзката на саркопенията, определена като ΔPMMA ≥10%, с базисни характеристики на пациенти с метастатичен НДКБК**

Изследванията на Nishioka et al бяха в основата на изграждане на нашето изследване, което цели да провери ефективността на динамичното проследяване на PMMA при пациенти с метастатичен НДКБК, прогресирали на първа линия ХТ, на които е предложена и проведена втора линия имунотерапия с чекпойнт инхибиторът Pembrolizumab. Нашата група от 112 пациента надвишава три пъти бройката на пациентите, проследявани от Nishioka (N=38), въпреки че и ние наблюдаваме пациентите ретроспективно. Предимствата на нашето изследване включват по-строга дефинирана група пациенти - единствено такива, провеждали и прогресирали на първа линия ХТ в добро общо състояние (ECOG PS 0-1), докато в проучването на Nishioka et al са включени и пациенти, провеждали няколко линии терапия

и такива с ECOG PS  $\geq 2$  (26% от проследените пациенти), характеристики които може да компрометират резултатите.

В нашето проучване 65% от пациентите са мъже и 35% жени, като мнозинството 97.3% са ECOG PS 1 и 2.7% са с ECOG PS 0. Съгласно гореспоменатия метод на динамично проследяване на промяната в площта на *m. psoas major* ( $\Delta$ PMMA), установихме, че в нашата популация от 112 пациенти честотата на саркопенията е 30.4% (34 пациента). По отношение на възрастта и в нашето проучване се наблюдава очакваната свързаност на честотата на саркопенията и напредването на възрастта, като разделяйки пациентите над и под 65 год, се установява статистически значимо увеличаване на честотата на саркопенията при по-възрастното население (12.5% при пациенти <65 години vs 17.8% при пациенти  $\geq 65$  години,  $p=0.0008$ ).

Отделно проведохме оценка на BMI и BSA по формулата на Schlich, съобразена с пола. Мнозинство от пациентите са с нормално (74%) или с наднормено тегло (24%) и едва около 2% със затлъстяване, като не се наблюдават пациенти с поднормено тегло и недोхранване. Сред саркопеничните пациенти спрямо стойностите на BMI се наблюдава нормално тегло при 80% (27 пациента) и наднормено тегло при 20% (7 пациента). Наличието на саркопения при нашите пациенти няма статистическа връзка с BMI ( $p=0.81$ , 95% CI (-1.1117 -0.8717)) като в групата без саркопения *mean* BMI е 23.82, а в групата със саркопения *m*BMI е 23.53. При оценката на BSA резултатът е сходен в групата без саркопения *m*BSA е 1.78m<sup>2</sup> и в групата без саркопения *m*BSA е 1.78m<sup>2</sup> ( $p=0.57$ , 95% CI (-0.0499 to 0.0899)). С тези резултати нашите наблюдения потвърждават невъзможността да се селектират пациенти с потенциална саркопения на базата на теглото, BMI и BSA.

Честотата на саркопения при онкологичните пациенти зависи от хистологичния вид според проучванията правени през годините. Например при пациентите с карцином на млечната жлеза саркопеничните пациенти са 16%, докато при пациентите с карцином на белия дроб достига 71% от всички симптоматични пациенти (189–191). Нашето проучване на саркопения сред пациентите с НДКБК показва обаче, че наличието на саркопения няма разлика в зависимост от хистологичния подвид НДКБК. От общата проследявана популация 61 пациенти са с аденокарцином, като 20 (32.8%) от тях са със саркопения, и 51 пациенти с плоскоклетъчен карцином, като 14 (27.5%) от тях са саркопенични ( $p=0.54$ ). Изследването ни доказва и липса на връзка на пола ( $p=0.61$ ), броят метастатични сайтове ( $p=0.74$ ), тютюнопушенето ( $p=0.989$ ) и PD-L1 статуса ( $p=0.056$ ) с честотата на саркопенията.

Загубата на мускулна тъкан има влияние върху преживяемостта според наличните до момента литературни данни. При пациентите с карцином на ректума, хранопровода, стомаха, бъбрек и черен

дроб, наличието на саркопения е негативен прогностичен фактор (86,183). Ако количеството на мускулната тъкан е запазено или се увеличи, се наблюдава и обратната зависимост – увеличаване на преживяемостта (190).

### **Взаимовръзките между саркопенията и хематологичните показатели при пациентите с НДКБК**

Хематологичните показатели и по-специално левкоцити, неутрофили, лимфоцити, тромбоцити и техните производни, включително съотношение неутрофили към лимфоцити (NLR) и съотношение тромбоцити към лимфоцити (PLR) са прости и широко достъпни маркери за системно възпаление, свързано с множество болести като сърдечно-съдови заболявания, захарен диабет и злокачествени заболявания (192) .

Неутрофилите, най-разпространените клетки в човешкото кръвообращение, наскоро бяха идентифицирани като решаващ играч по време на канцерогенезата (193). Неутрофилите са основният клетъчен тип по време на острия възпалителен отговор, бързо се набират към засегнатата тъкан чрез многостепенна каскада и са способни да елиминират патогени чрез различни механизми, включително фагоцитоза, освобождаване на антимикробни протеини и образуване на неутрофилни извънклетъчни капани (NETs)(194). В процеса на възстановяване от възпаление или при противовъзпалителен режим участието на неутрофилите също е значително. Тяхната фагоцитна активност подпомага изчистването на мъртвите клетки и бактерии, като по този начин допринася за елиминирането и възстановяването на засегнатата област. Постоянната инфилтрация на неутрофили причинява хронично възпаление, което от своя страна води до увреждане на тъканите и играе важна роля в появата на злокачествени заболявания. Това продължително и неразрешено тъканно възпаление е характерна черта на туморната микросреда (195). Доказано е, че неутрофилите могат да модулират туморната прогресия по време на появата и растежа на тумора, притежавайки както протуморни, така и антитуморни функции (194).

В зависимост от контекста, неутрофилите играят двойна роля в развитието на злокачествените заболявания. Те насърчават възпалението и разпространението на тумора и метастазите чрез улесняване на имунната супресия, ангиогенезата, подвижността на раковите клетки и прехода от епител към мезенхим (196). Последните изследвания подчертаха критичната роля на NETs в иницирането на тумора и метастазите (194). Междувременно неутрофилите могат да ограничат растежа на тумора чрез различни механизми, като и да инхибират туморните метастази (194)

И така въпреки че комбинираният ефект от възпаление и недохранване при пациенти с ракова саркопения остава не съвсем изяснен, е ясно, че системното възпаление и недохранването са свързани

със саркопенията при злокачествени заболявания и имат негативен ефект върху резултата от специфичното лечение.

Guo-Tian Ruan се опитва да обедини нови съвременни маркери за системното възпаление и недोхранването в проучването си, публикувано във *Frontiers in Nutrition* 2021 и да докаже негативния ефект на саркопенията. Проспективно е събирана информация за 9,727 онкологични пациенти, като 1204 от тях са диагностицирани със саркопения чрез комбинация от нисък ASMI (appendicular skeletal muscle index) и ниска мускулна сила чрез HGS (handgrip strength), 239 (19.90%) от тях с белодробен карцином. Пациентите са разпределени в две групи с нисък (<18,39) и висок ( $\geq 18,39$ ) белодробен възпалителен индекс (ALI). След проведените едновариантни и мултивариантни анализи авторите заключват, че ALI е по-добър маркер от NLR, PLR, прогностичния хранителен индекс (PNI) и индекса на системно имунно възпаление (SII) при пациенти със саркопения. Проучването показва, че възпалението, комбинирано с тежко недохранване, има почти 3-кратен риск от смърт при пациенти със саркопения, което предполага, че е необходимо намаляване на системното възпаление, засилване на хранителната интервенция и подобряване на скелетната мускулна маса при пациентите, при които се наблюдава подобна конфигурация (197).

Като вторична цел в нашето проучване също сме изследвали взаимовръзката между хематологичните показатели и по-специално NLR и PLR преди ХТ и преди ИТ, както и промяната в двата показателя  $\Delta$ NLR и  $\Delta$ PLR с наличието на саркопения. По отношение на NLR се наблюдава статистически значима разлика в стойностите при пациентите със и без саркопения както преди ХТ така и преди ИТ (NLR1(саркопения)= $7.21 \pm 1.98$ ; NLR1(без саркопения)= $3.37 \pm 1.93$ ,  $p < 0.001$ ; NLR2(саркопения)= $7.99 \pm 3.14$ , NLR2(без саркопения)= $3.63 \pm 2.39$ ,  $p < 0.001$ ). Разделяйки обаче NLR над и под 5, позовавайки се на данните от наличните до момента проучвания, представени в литературния обзор (72,80–82), от пациентите със саркопения 61% са със NLR  $1 \geq 5$ , а 54% са с NLR  $2 \geq 5$ . Допълнителния анализ показва и че бройката на пациентите с NLR  $\geq 5$  се запазва преди ХТ (45.54%) и преди ИТ (46.43%), което индиректно ни демонстрира невъзможността NLR да ни служи за ориентир за тласък на болестта. Подобни резултати се наблюдават и за PLR. И тук стойностите при пациентите със и без саркопения са със статистически значима разлика (PLR1(саркопения)  $286.1 \pm 98.3$ , PLR1 (без саркопения)  $174.6 \pm 90.7$ ,  $p < 0.0001$ ); PLR2 (саркопения)  $315.9 \pm 157.9$ , PLR (без саркопения)  $168.7 \pm 93.8$ ,  $p < 0.0001$ ). Тук разделянето на PLR е над и под средната за изследваната популация като също липсва разлика в пропорцията на пациентите при саркопеничните и несаркопеничните пациенти. Освен с по-високи стойности NLR и PLR, пациентите със саркопения се характеризират и с по-високи стойности и на  $\Delta$ NLR и  $\Delta$ PLR, които са доказват като статистически значими в нашето проучване.

След допълнителен статистически анализ нашето проучване доказва наличието на умерено силната положителна линейна връзка между NLR1 ( $\rho=0.439$ ,  $p<0.001$ ), NLR2 ( $\rho=0.394$ ,  $p<0.001$ ) и  $\Delta$ PMMA, по-слаба статистически значима връзка между PLR1( $\rho=0.329$ ,  $p<0.001$ ), PLR2 ( $\rho=0.306$ ,  $p<0.001$ ) и  $\Delta$ PMMA и слаба несигнификантна връзка между  $\Delta$ NLR ( $\rho=0.104$ ,  $p=0.227$ ),  $\Delta$ PLR ( $\rho=0.092$ ,  $p=0.336$ ) и  $\Delta$ PMMA

При 12 (10.71%) от проследяваните 112 пациента се регистрира бърза прогресия, т.е. още на първата КТ преценка след 4 курса първа линия ХТ е наличен тласък на болестта. От тези 12 пациенти, които са започнали последваща линия с Pembrolizumab на първия контролен КТ, проведен 8-12 седмици след началото на втората линия ИТ всички са с NLR1 >5. От тези 12 пациента 9 са със саркопения ( $\Delta$ PMMA $\geq$ 10).

Тази популация от бързи прогресори на фона на първа линия ХТ се характеризира и с по-висок риск за развитие на хиперпрогресия на фона на втора линия Pembrolizumab. Такава е отчетена при 9 от 12-те пациента, т.е. 75% от бързите прогресори на 1-ва линия ХТ. Групата на пациентите развили хиперпрогресия след липса на отговор и на 1-ва линия ХТ демонстрира високи нива на системно възпаление и високи стойности на лабораторните показатели – 78% са с NLR1>5, 89% са с NLR2>5, 67% са с PLR1> средната стойност, 89% са с PLR2 > средната стойност. Мнозинството от пациентите с хиперпрогресия на Pembrolizumab след бърза прогресия на 1-ва линия ХТ са и със саркопения (8 от 9 пациента) (фиг. 25)

### **Саркопенията като нов съвременен предиктор за ефекта от лечение с първа линия ХТ**

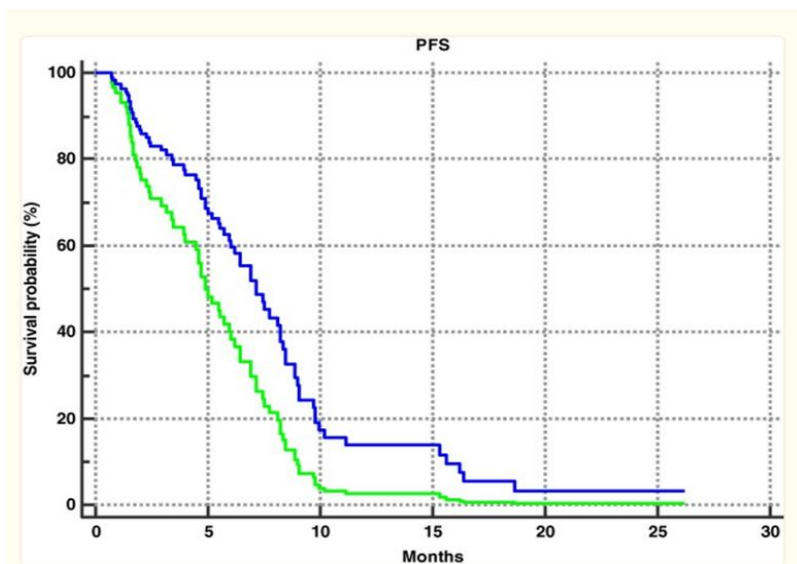
Изучавайки саркопенията от друга гледна точка се установява връзка между намалената мускулна маса и повишения риск от странични ефекти, незадоволителния отговор към провежданата химиотерапия, като освен това в проведените проучвания саркопеничните пациенти имат тенденция по-рядко да получават и да завършват пълния обем от планираното мултидисциплинарно лечение особено в случаите с авансирал НДКБК (198).

Категорично пациентите с НДКБК, които получават комплексно лечение, имат по-добра прогноза и живеят по-дълго. Оценката и в ранните и в напредналите стадии включва физическото състояние на пациента, като онези с влошено общо състояние дори и в ранен стадии не успяват да се възползват от всички терапевтични възможности както е проучвано в проспективното изследване на Collins et al (198). Има много изследвания за негативното влияние върху общата преживяемост на влошеното общото

състояние към момента на поставяне на диагнозата (199,200), като трябва да се има предвид и субективизма при оценката на общото състояние. От друга страна и много пациенти, около 33% по данни от някои автори (198), преценени за комплексно лечение не успяват да го започнат поради влошаване на физическото състояние.

Физическото състояние е силно свързано с поддържането на мускулната маса и невромускулната функция. При изследване на пациенти с НДКБК, вариациите в мускулната маса на единица телесна повърхност представляват до три пъти промени в обема на разпределение на химиотерапията, като по този начин допринасят за недостатъчно биоразпределение или предозирането ѝ (201). Клиничните проблеми, които произтичат от това, са свързани с увеличаване на риска от дозо-лимитиращи токсични ефекти при саркопеничните пациенти, както е описвано вече при пациенти с хепатоцелуларен карцином, бъбречноклетъчен карцином и карцином на млечната жлеза (202–204).

Cortellini et al. са проследили ретроспективно 81 пациента с НДКБД в IV стадий, без активиращи мутации (*EGFR* мутации, *ALK* транслокации) и с PD-L1<50%, които са провеждали първа линия ХТ (платин-базиран дублет - 64 (79.1%) или монотерапия - 17 (20.9%). Комбинираните с платина режими включват: remetrexed при 33 пациента (51.6%), gemcitabine при 18 (28.2%), paclitaxel/bevacizumab при 7 (10.9%), paclitaxel при 2 (3.1%), etoposide при 2 (3.1%) и vinorelbine при 2 пациента (3.1%). Монотерапия е провеждана с carboplatin при 8 пациента (47.1%), docetaxel при 6 (35.3%) и vinorelbine при 3 (17.6%) (205). Изследвани са базисната скелетна мускулна маса (SMM) чрез измерване на скелетния мускулен индекс (SMI) заедно със скелетната мускулна образна плътност (SMD). Корелационни анализи са извършени между клиничния отговор и следните пациентски характеристики: базисна SMM (нисък/висок), базисна SMD (ниска/висока), BMI (поднормено/не поднормено), възраст (<70/≥70години), пол (мъж/жена), ECOG PS (0-1/≥2), хистологичен подвид (плоскоклетъчен/непоскоклетъчен), брой метастатични огнища (≤2/>2), ХТ режим (платин-базиран дублет/монотерапия). След среден период на проследяване от 34.8 месеца, средната свободна от прогресия преживяемост е 5.7 месеца (95% CI 4.7–7.1), а общата преживяемост 11.9 месеца (95% CI 9.6–13.4). При унивариантния анализ на PFS няма статистически значима разлика между пациентите с нисък и висок SMM или SMD. Подобна липса на статистически значима връзка се наблюдава и при PFS и пациентите с поднормено тегло и всички останали характеристики. Въпреки това мултивариантния анализ потвърждава ниската базисна SMM като независим предиктивен фактор за по-кратка PFS (HR 0.54, 95% CI 0.31–0.93; P = 0.0278), за разлика от SMD (Фиг.33).

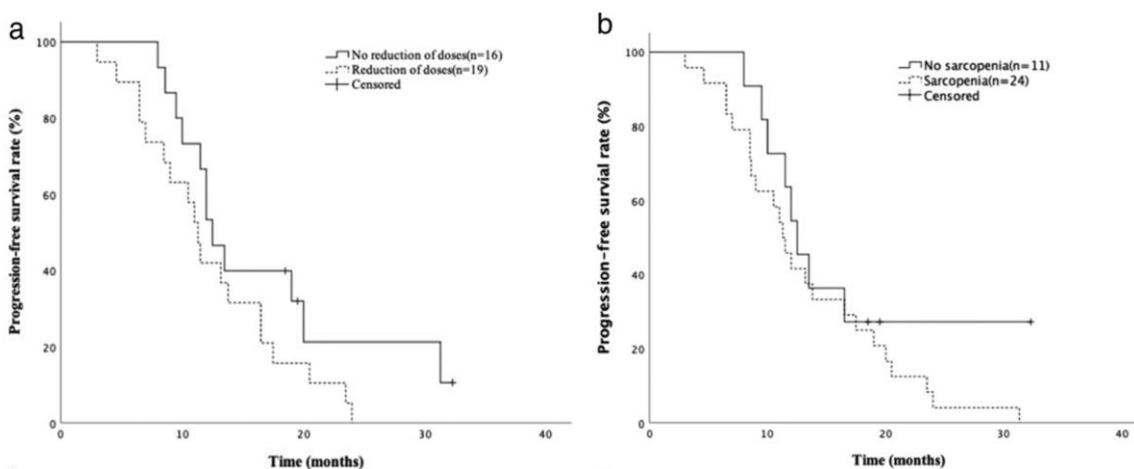


Фиг.33 Сох пропорционална регресионна крива на риска на многовариантния анализ за преживяемост без прогресия (PFS): HR 0.54, 95% CI 0.31–0.93;  $P = 0.0278$ . Ниска скелетна мускулна маса (SMM): (—) да и (—) не.

Не се наблюдава обаче статистически значима връзка при уни и мултивариантния анализ между скъсена обща преживяемост и ниските стойности на SMM и SMD. Сред изследваната полулация от Cortellini et al. 67 пациенти (82.7%) са били включени в оценка на токсичността. От всички проследени параметри единствено базисната ниска SMM ( $p = 0.0278$ ) и възрастта над 70 години ( $p = 0.0221$ ) са потвърдени като сигнификантни предиктори на по-висок риск единствено за хематологично странични ефекти от всякаква степен (205).

Проучване на Nie et al. от 2021г изследва ефективността и повишения риск от странични ефекти при лечение с Afatinib при пациенти с EGFR мутирал НДКБК. Ретроспективно са обобщени данни на 35 пациента, лекувани с първа линия Afatinib по повод на метастатичен НДКБК. Площта на скелетната мускулатура (SMA) е изследвана на ниво L3 чрез КТ, като саркопенията е дефинирана като скелетен мускулен индекс ( $SMI = SMA / височина^2 \leq 38.5 \text{ cm}^2/\text{m}^2$  за жените и  $\leq 52.4 \text{ cm}^2/\text{m}^2$  за мъжете базирано на предишни критерии. Средната възраст на пациентите към момента на диагнозата е 65 години (39-84год), като от изследваните общо 24 (68.6%) пациента са диагностицирани със саркопения. Най-честият страничен ефект наблюдаван при лечението с Afatinib е диария (94.3%), следван от обрив (77.1%) и паронихия (60%). Общо при 19 пациента е била необходима редукция на дозата (54.3%) Саркопеничните пациенти имат сигнификантно по-висок процент  $\geq \text{II}$  степен диария (75.0 vs. 27.3%,  $p = 0.011$ ) и свързана с токсичността редукция на дозата (75.0 vs. 9.1%,  $p = 0.001$ ).

Мултивариантният анализ показва, че саркопенията е независим рисков фактор за редукция на дозата на Afatinib (odds ratio [OR] 51.7, 95% confidence interval [CI]: 2.4–1081.3,  $p = 0.01$ ). Средната свободна от прогресия преживяемост за пациентите на таргетна терапия е 12.0 месеца. Както редукцията на дозата и саркопенията (фиг.34) обаче не повлияват ефекта от провежданото лечение, което води до заключение на авторите на проучването, че наличието на саркопения е предпоставка да се обсъжда започване на лечение с Afatinib при тези пациенти в намалени дози (206).



Фиг.34 Kaplan–Meier криви отразяващи свободната от прогресия преживяемост (PFS) (а) Сравнение на PFS при пациенти с редукция и без редукция на дозата на Afatinib. (б) Сравнение на PFS при пациенти със и без саркопения (206).

Резултатите от нашето проучване върху сходна с проследяваната от Cortellini et al група пациенти и свободната от прогресия преживяемост на първата линия ХТ показват, че саркопенията изчислена като  $\Delta$ PMMA води до статистически значимо намаляване на PFS (95%, CI 3.47-6.92,  $p < 0.0001$ ) от 11.5мес при несаркопеничните пациенти на 6.3мес при саркопеничните пациенти. Още повече от бързите прогресори (N=12) на фона на първата линия ХТ, 75% са със саркопения. Нашите изследвания дори демонстрират наличието на саркопения като възможен предиктор за липса на клинична полза ( $CBR = CR + PR + SD$ ) ( $p < 0.001$ ). Мнозинството от пациентите, при които се наблюдава CBR са без саркопения (93.4%), а тези при които липсва преобладава наличието на саркопения (58.8%). Тук може да се обсъждат по-задълбочено и взаимовръзките между липсата на отговор от ХТ и процесите водещи до саркопения. Изследваната популация обаче е малка, за да се правят по-генерални изводи в тази посока, но със сигурност наличието на един такъв рисков фактор е показател, който е необходимо да се взема предвид още при изготвяне на началната терапевтична стратегия и съпътстващите симптоматични грижи за пациента.

### **Саркопенията като предиктивен фактор за отговор от имунотерапия при пациенти с НДКБК**

Въздействието на саркопенията върху ефекта на имунотерапията може да се обясни по няколко начина. Хронично възпаление при онкологичните заболявания, което е и основен участник в каскадата на саркопенията (207), причинява имунна дисфункция включително Т-клетъчно изтощение, характеризиращо се със загуба на ефекторна функция, продължителна и висока експресия на множество инхибиторни рецептори и специфични транскрипционни пътища (208). В допълнение скелетните мускули синтезират цитокини и други протеини общо наричани миокини. Миокини като IL-6, IL-15, TNF- $\alpha$  и TGF- $\beta$  осъществяват автокринни, ендокринни и паракринни ефекти върху множество тъкани. С променената активност на тези цитокини в условията на саркопения, имунната система се насочва както към проява на проинфламаторни процеси и мускулен катаболизъм, така и към индуциране на имунно стареене (209,210). В допълнение ролята на гастроинтестиналния микробиом в развитието на саркопения и модулиране на имунните чек-пойнт инхибитори в последните години се установи и изследва. Чревният микробиом е широко застъпен в развитието на имунната система поради множество фактори, включително анатомични особености, като при пациенти със смутена функция, чревната дисбиоза може да провокира активирането на проинфламаторни пътища водещи до саркопения. Въпреки проучванията по темата все още не е напълно изяснена патофизиологията и ролята на чревния микробиом в регулацията на отговора към имунните чек-пойнт инхибитори (211,212).

През 2019 Cortellini et al. провеждат ретроспективно изследване на малка група пациенти с метастатичен НДКБК, провеждащи лечение с Nivolumab. Въпреки че няма статистически значима връзка се наблюдава разлика в PFS и OS между пациентите с ниска и висока скелетна мускулна маса, за сметка на тезите без ниска SMM (213).

Систематичният анализ на Wang et al. от 2020 цели да събере наличните по темата проучвания и да установи връзката между клиничната ефективност на имунотерапията и наличието на саркопения. Събраните изпитвания показват, че наличието на саркопения преди лечението с имунотерапия сигнификантно увеличава риска от по-ниска обща преживяемост (HR 1.61; 95% CI 1.24-2.10) и по-кратко PFS (HR 1.98; 95% CI 1.32-2.97). Още повече развитието на саркопения или влошаването на съществуващата такава в хода на имунотерапията също е свързано с по-кратка OS и PFS. Предтерапевтичното наличие на саркопения (RR 0.70, 95% CI 0.56-0.86) и развитието/влошаването на саркопения (RR 0.62; 95% CI 0.40-0.96) в хода на лечението са свързани с по-лош контрол на болестта. Като цяло наличието на саркопения има тенденция да повлиява негативно отговора от лечението, въпреки че няма статистически значима връзка (RR 0.54; 95% CI 0.19-1.53). От друга страна

систематичният анализ не доказва наличието на категорична връзка между саркопенията и увеличаване на имунно-свързаните странични ефекти (RR 0.99; 95% CI 0.21-4.67)(214).

Naik et al. 2021 изследват връзката между ниската мускулна маса и клиничната полза включително имунносвързаните странични ефекти при пациентите лекувани с имунни чекпойнт инхибитори. Ретроспективно са проследени 261 с метастатични солидни тумори, провеждащи имунотерапия. Ниската мускулна маса е дефинирана като  $SMI < 41 \text{ cm}^2/\text{m}^2$  за жени и  $< 43 \text{ cm}^2/\text{m}^2$  за мъже при  $BMI < 25 \text{ kg/m}^2$  или  $SMI < 53 \text{ cm}^2/\text{m}^2$  при  $BMI > 25 \text{ kg/m}^2$ . Мнозинството от пациентите (179 пациенти, 69%) включени в проучването са с метастатичен карцином на белия дроб. Честотата на ниската мускулна маса е 47%, като средната свободната от прогресия преживяемост при тези пациенти е 32.2 седмици и 24.3 седмици при пациентите без ниска мускулна маса (adjusted HR 0.80; 95% CI 0.60–1.055;  $p = 0.11$ ). За пациентите с белодробен карцином средната PFS е съответно 24.0 седмици и 18.8 седмици за тези с ниска мускулна маса и без ниска мускулна маса (adjusted HR 0.70; 95% CI 0.50–0.98;  $p = 0.04$ ), средната обща преживяемост е съответно 50.7 седмици и 41.1 седмици (adjusted HR 0.77; 95% CI 0.54–1.10,  $p = 0.15$ ), имунно –свързаните странични ефекти настъпват при съответно 3.3% и 9.4% (adjusted OR, 0.69; 95% CI: 0.31–1.49;  $p = 0.35$ ). С тези резултати проучването заключава, че липсва разлика в преживяемостта и безопасността в групите пациенти с ниска и висока мускулна маса, при които е осъществявано лечение с имунни чекпойнт инхибитори. (215)

Като ефективен биомаркер даващ дългосрочна прогноза по отношение отговора от лечение при пациентите провеждащи имунотерапия, саркопенията все пак се оформя като важен компонент при взимане на терапевтични решения съгласно резултатите от мета-анализа на Lee et al. от 2021. Четиринайсет проучвания разглеждащи авансирани заболявания, са включени в анализа, 12 от които от 2020 год, а 6 насочени към НДКБК. Рапортувани са hazard ratios (HRs) за общата преживяемост и свободната от прогресия преживяемост базирани на наличната саркопения при пациенти, провеждащи лечение с имунотерапия. Като цяло смъртността при пациентите със саркопения на лечение с имунни чекпойнт инхибитори е по-висока, отколкото в групата без саркопения при унивариантния анализ (HR 1.66; 95% CI 1.20–2.29;  $p = 0.002$ ) и адаптираните HRs го демонстрират също (HR 1.55; 95% CI 1.15–2.10;  $p = 0.004$ ). Същите резултати са получени и за PFS-а при униварианния анализ (HR 1.75; 95% CI 1.37–2.23;  $p < 0.001$ ) и за адаптирания HRs (HR 1.63; 95% CI 1.28–2.09;  $p < 0.001$ ) (216).

Даните от нашето проучване също доказват негативното влияние на саркопенията при лечението с имунотерапия, фокусирайки се единствено върху пациенти с белодробен карцином, лекувани с PD-1 инхибитора Pembrolizumab. Разликата в свободната от прогресия преживяемост (PFS2) на фона на II-ра

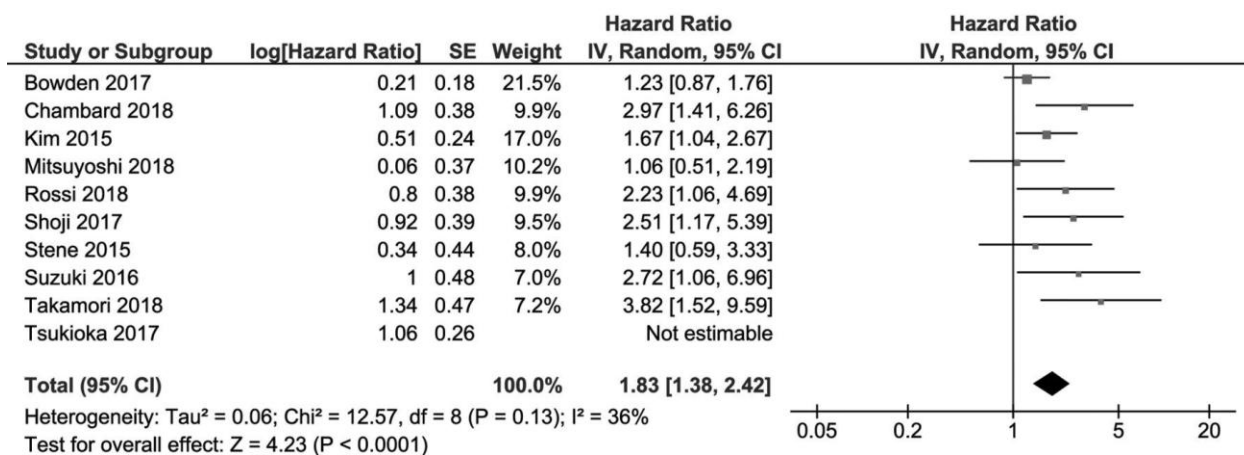
линия Pembrolizumab е повече от 2 пъти при пациентите със саркопения ( $\Delta PMMA \geq 10\%$ ) (5,2 мес vs 14,8 мес). При coh-регресияния анализ, саркопенията остава независим фактор (HR 5,1, 95% CI 2.8-9.3,  $p < 0.0001$ ), който не се влияе от други променливи като възраст, пол, PD-L1 статус. Всичко това показва, че саркопенията е нов, надежден съвременен предиктивен биомаркер.

### **Саркопенията като прогностичен фактор при пациенти с НДКБК**

Литературните данни по тази тема донякъде са противоречиви. Martin *et al.* съобщава, че niskият мускулен индекс и мускулната атрофия са независими прогностични фактори за преживяемост, но в този анализ се включват голяма серия от разнородни пациенти както с тумори на белия дроб така и с тумори на ГИТ (217). В мултивариантния анализ на малка серия от пациенти, Tsukioka *et al.* съобщават, че саркопенията няма предиктивна стойност по отношение на ранния рецидив след куративно хирургично лечение (218). Stene *et al.* установява средно намаление на мускулната маса от 1,4 кг през първите девет седмици на първа линия платин-базирана химиотерапия, но наличието на изходната саркопения не е предиктивна по отношение на преживяемостта при мултивариантен анализ (190). Голямо норвежко проучване също показва, че мускулната маса, измерена чрез SMI, не е значим независим предиктор на OS (219). За разлика от това, Kimura *et al.* съобщава, че изходните саркопенични пациенти, лекувани с химиотерапия, са имали значително по-къса OS от пациентите без саркопения (220). По същия начин Rossi *et al.* показва, че изходната саркопения е свързана с по-продължителна OS, дори и да не повлияе на отговора към лечението с гефитиниб, при пациенти с EGFR мутирал NSCLC (221).

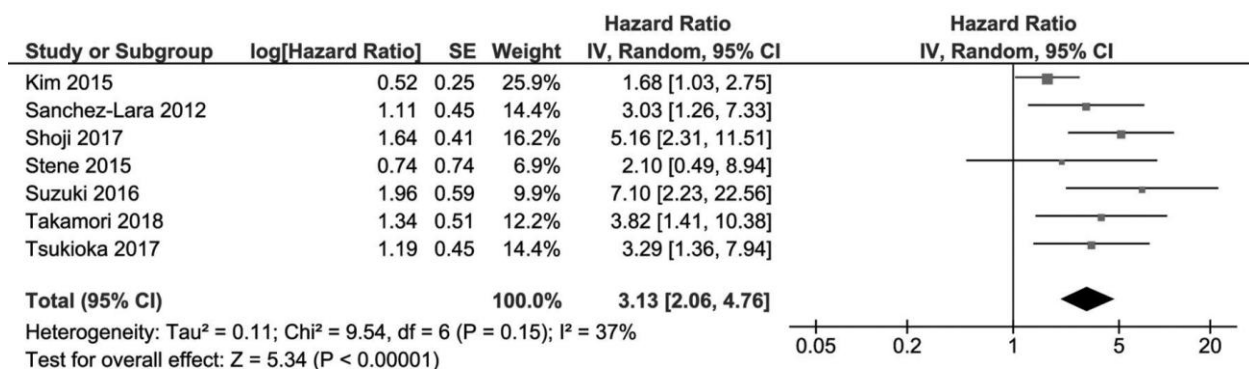
Впоследствие прогностичната роля на саркопенията при пациенти с карцином на белия дроб е оценена чрез мета-анализ на Buentzel *et al.*, включващ 10 ретроспективни проучвания и 5 проспективни публикувани между 2008 и 2018. Бройката на пациентите, участващи в проучванията варира между 33 и 252 пациенти, общо 2521, мнозинството от които мъже (60,5%) (139). В анализа са включени пациенти с НДКБК ( 13 проучвания), НДКБК и ДКБК ( 1 проучване) и ДКБК ( 1 проучване). Групата на НДКБК е хетерогенна и трябва да се има предвид, че в проучванията не е провеждан подгрупов анализ на саркопенията при различните хистологични групи (аденокарциноми, плоскоклетъчни карциноми). В проучванията, включени в мета-анализа, пациентите са провеждали оперативно лечение, лъчетерапия, химиотерапия, таргетна терапия или комбинация от посочените методи. Времето за проследяване на пациентите варира от 90 дни до проследяване до смъртта на пациента. В съответните проучвания саркопенията е измерена най-вече чрез измерване на мускулната площ чрез КТ (ниво L3/псоас, пекторалис или Th 12, 12 проучвания), анализ на биоелектрически импеданс ( BIA, 2 проучвания), DEXA ( 1 проучване). Проучванията използват уни и мултивариантни модели за определяне на връзката

между влиянието на саркопенията върху общата преживяемост. Оценка на зависимостта на свободната от заболяване преживяемост и саркопенията не е била възможна в хода на мета-анализа, тъй като само едно от включените проучвания изследва тази връзка (222). Десет проучвания използват инвариантни Сох-регресионни модели за изследване на риска от смърт при саркопенични пациенти. Комбинирания HR е 1.96 (95% CI=1.49,2.59), което демонстрира сигнификантно по-голям риск от смърт при пациентите със саркопения (  $P < 0.001$  ) ( фиг.35) (139).



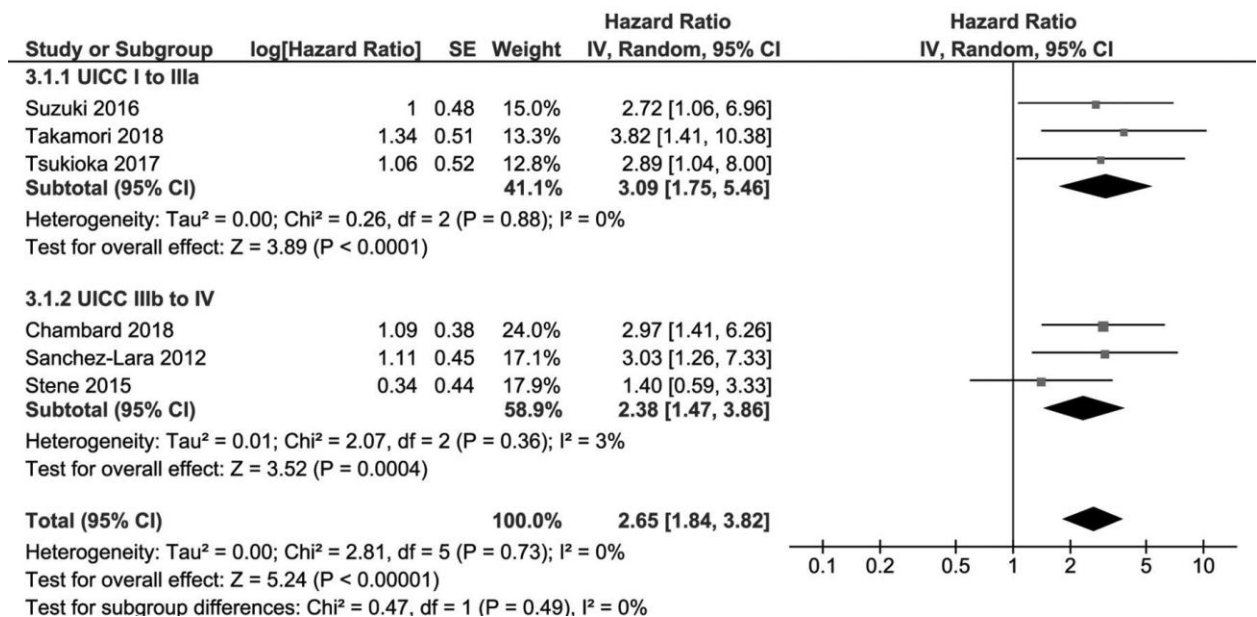
Фиг.35 Унивариантен анализ на наличието на саркопения върху риска от смърт при пациенти с белодробен карцином.

Мултивариантните анализи наблюдавани в седем от проучванията, оценяващо зависимостта между саркопенията и риска от смърт, показват комбиниран HR 3.13 ( 95% CI=2.06, 4.76), подчертават значително по-ниската обща преживяемост при наличие на саркопения ( $p < 0.001$ ) (Фиг.36) (139).



Фиг.36 Мултивариантен анализ на наличието на саркопения върху риска от смърт при пациенти с белодробен карцином.

Подгруповия анализ на пациентите в групите с ранен карцином на белия дроб (IA-IIIa стадий) и тези с авансирало заболяване ( IIIb-IV стадий) показва наличие на саркопенични пациенти и в двете групи. Освен това и в първата и в във втората група пациентите със саркопения имат повишен риск от смърт (IA-IIIa стадий HR 3.09 (95% CI=1.75, 5.46,  $p < 0.001$ ), IIIb-IV стадий HR 2.38 (95% confidence interval=1.47, 3.86,  $p < 0.00$ )), като не се наблюдава сигнификантна разлика в очакваната смъртност и в двете подгрупи (Фиг. 37).

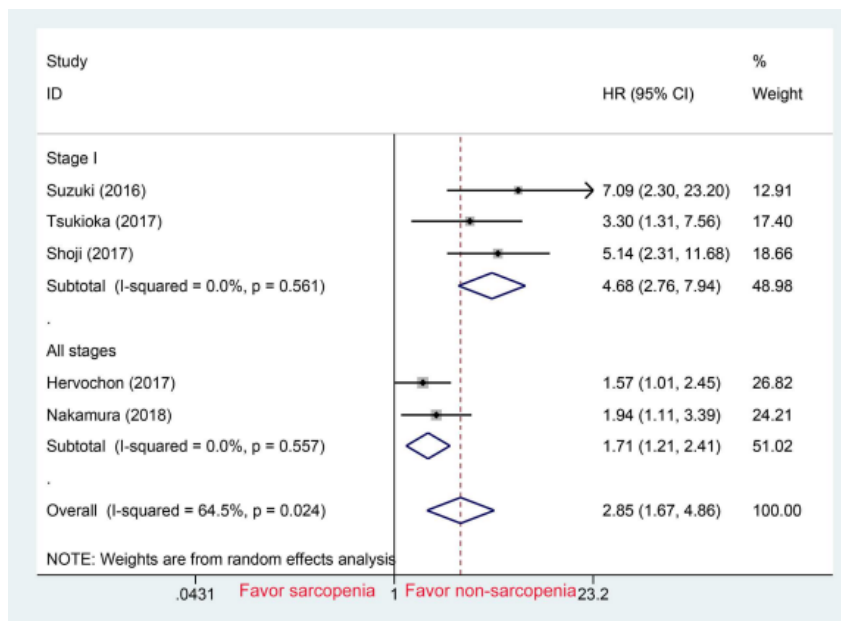


Фиг.37 Подгрупов анализ по отношение на влиянието на туморния стадий върху зависимостта на саркопенията и смъртността.

Даните от ретроспективните и проспективните проучвания в рамките на мета-анализа са сходни, определяйки саркопенията като независим рисков фактор за повишена смъртност при пациентите с карцином на белия дроб. Съответно представените данни показват наличието на саркопения като прогностичен фактор, който увеличава риска от смърт от два пъти до три пъти в мултивариантните анализи при пациентите с карцином на белия дроб. Липсата на статистически значима разлика между групите с ранно и напреднало заболяване може да бъде в различните причини за саркопения в двете подгрупи. Съвместно с кахексията, саркопенията е по-честа при пациентите в късните стадии на заболяването. Наличието на саркопения в ранните стадии, подлежащи на дефинитивно лечение, може да се дължи на възрастта, коморбидността, загуба на мускулна маса в резултат на намалена физическа активност около провеждане на болнично лечение. Въпреки демонстративните резултати мета-анализът

включва наблюдателни проучвания, в които се различават методите на оценка на саркопенията и единност по отношение на диагностичните критерии (139).

Друг систематичен литературен преглед и мета-анализ на Deng et al., също оценява прогностичната роля на саркопенията при пациенти с НДКБК, провеждали хирургично лечение. Общо 6 проучвания, включващи 1213 пациенти, от които 422 със саркопения и 791 без саркопения, са включени в анализа. Обработването на данните показва, че пациентите със саркопения са със сигнификантно по-ниска 5-годишна преживяемост в сравнение с тези без саркопения (RR 1.63; 95% CI 1.13, 2.33; p=0.008). Тази зависимост е дори по-изразена в по-ранните стадий на заболяването. Наличните данни доказват саркопенията като независим предиктор на скъсена обща преживяемост при пациенти с НДКБД, при които е извършено оперативно лечение NSCLC (HR 2.85; 95% CI 1.67,4.86; p<0.001). Поради ограничения размер на извадката няма достатъчно доказателства за значима разлика в 5-годишна свободна от заболяване преживяемост между двете групи (RR 1,14; 95% CI 0.59, 2.17; p=0,70). Въпреки това, в подгрупата пациенти с ранен стадий НДКБК, саркопенията се свързва със значително по-ниска честота на 5-годишната свободна от заболяване преживяемост (RR 1,59; 95% CI 1.01, 2.52, p=0,046) (фиг.38) (223).



Фиг.38 Анализ на 6 проучвания, оценяващи ролята на саркопенията при пациенти с НДКБК, провеждали хирургично лечение, върху 5 годишната обща преживяемост. Анализът определя саркопенията като независим предиктор за скъсена OS при пациенти с НДКБК, при които е извършено оперативно лечение (HR 2.85; 95%CI 1.67, 4.86; p<0.001). Подгрупов анализ в групите с и без

саркопения при: I стадий НДКБК- (RR 1,59; 95% CI 1,01, 2,52; p=0,046); Всички стадий НДКБК (RR 1,14; 95% CI 0,59, 2,17; p=0,70) (223).

Въпреки резултатите от мета-анализа на Deng et al. влиянието на саркопенията върху пациентите, провеждащи хирургично лечение, остава ненапълно изяснена. Някои от включените проучвания представят данни за повишен риск от постоперативни усложнения (224). Подобно на предишните проучвания, които също имат лимитирана бройка пациенти (225–227), този мета-анализ показва че влиянието на саркопенията върху свободната от заболяване преживяемост за всички стадии е статистически незначима, но за ранните стадии се наблюдава сигнификантно намаляване на преживяемостта без заболяване, което корелира с тренда посочен в предишни изпитвания за 5 годишната свободна от заболяване преживяемост (225,226). В едно от проучванията си Tsukioka et al се установява още, че саркопенията е независим предиктор на ранен рецидив след оперативно лечение при N2 НДКБК (218). Тези открития водят до заключението за необходимост от детайлна преценка и проследяване на пациентите в ранен стадий насочени за оперативно лечение и включване на дейности за предоперативна корекция на саркопеничния статус и внимателно следоперативно проследяване на пациентите.

Предишни изследвания в областта доказват връзката на саркопенията и имунонутриционни параметри като гериатричния нутриционен индекс за оценка на риска и контрола на нутриционния статус, които позволяват изследване на хранителния статус, протеиновия резерв, намалението на калории и имунната защита (228). Поради гореспоменатото саркопенията често е придружена от недोхранване и нарушена имунна функция. Още повече пациентите със саркопения имат по-високо неутрофил/лимфоцитно съотношение насочващо към релативна лимфоцитопения (218), което може да резултира в недостатъчен лимфоцитно-медиран имуноен отговор срещу тумори (229). Това резултира в нарушение на противотуморния отговор от страна на организма и води до по-лоша прогноза при тези пациенти. Още повече саркопенията има сигнификантна линейна връзка между възпалителните маркери като С-реактивен протеин, които имат роля в канцерогенезата и са проучвани като прогностични маркери при белодробния карцином (230). Разбира се в цитирания метаанализ се срещат доста недостатъци, сред които освен ретроспективния характер на проучванията, хетерогенната група пациенти и малкия брой, за които има данни за 5-годишната свободна от заболяване преживяемост, вариациите в дефиницията на саркопенията и методите на изследването ѝ (223).

Към горепосочените обзори и проучвания по темата нашето допринася с категорични данни от статистическия анализ за връзка между наличието на саркопения ( $\Delta\text{PMMA} \geq 10\%$ ) и общата

преживяемост. Въпреки неголямата кохорта пациенти повече от маркантна е разликата в общата преживяемост в групите със и без саркопения ( $\Delta\text{PMMA} \geq 10\%$ ) като се наблюдава повече от два пъти по-къса средна обща преживяемост при наличието на намалена мускулна маса (mOS 13.5m vs 31.8m). Още повече проведения от нас многофакторен Cox-регресионен анализ сравняващ различни променливи фактори като възраст, пол, хистология, PD-L1 статус, брой метастатични огнища и наличие на саркопения и връзката им с общата преживяемост определи, че единствено  $\Delta\text{PMMA} \geq 10\%$  (HR 10.5, 95% CI 5.07 – 21.72,  $p < 0.001$ ) и броят метастатични огнища (HR 0.50, 95% CI 0.28 – 0.88,  $p = 0.018$ ) са независими фактори за по-къса mOS. Всичко това показва, че саркопенията е нов, надежден съвременен прогностичен биомаркер.

### **Саркопенията като предиктор за риска от хиперпрогресия при лечение с имунотерапия**

След революцията на ИТ в лечението на туморите на белия дроб и въвеждането и широкото им използване в рутинната практика през последното десетилетие станахме свидетели на нови модели и на туморен отговор, нетипични за таргетната терапия и ХТ. Специално парадоксалното ускорение на растежа на тумора, наричано хиперпрогресия (HP) е от специален интерес за науката поради негативния ефект върху общата преживяемост, който оказва (231).

Saada-Bouzid и др. съобщават за първи път за HP при пациенти с авансирал плоскоклетъчен карцином на главата и шията през 2017 г (174). По-късно през 2018 Ferrara et al. предполагат, че HP се появява по-често при пациенти с напреднал с повече от две метастатични сайта по време на терапия с PD-1/PD-L1 анти тяло (232). Едно възможно обяснение е, че по-агресивните туморни фенотипове предполагат по-висок риск от HP.

Още в началото при описването на този модел на прогресия на болестта е установено, че при по-възрастните пациенти ( $\geq 65$ ) HP се среща по-често по време на лечение с ИТ в сравнение с по-младите пациенти и имат по-лоша прогноза (233). Много рандомизирани проучвания също съобщават за по-малка полза от ИТ при по-възрастни пациенти за разлика от по-млади пациенти, което потвърждава, че възрастта играе роля в ефективността от имунотерапията въпреки че механизмите, свързващи HP и напредналата възраст остават неизяснени.

Системен и метаанализ от 2024 на Kim et al. представя, че честотата на развитие на хиперпрогресия сред пациентите, лекувани с ИТ е 12, 4% и се среща най-често при пациентите с авансирал карцином на стомаха, хепатоцелуларен карцином и НДКБК в сравнение с други първични локализации като например с бъбречноклетъчен карцином (234). Встрани от проблемите по отношение на единен и

общоприет метод за диагностициране на НР, в последните години са актуални и непрекъснато да се разработват нови и чувствителни маркери, предсказващи положителни и отрицателни отговори на имунотерапия и клинични фактори, които идентифицират високорискови популации НДКБК с потенциален риск за НР след лечение с ИТ. Преди публикуване на данните от нашето проучване 2020 г има оскъдни проучвания по темата. Един от малцината проучвали темата Youjin Kim et al публикуват данни 2019 г за проследяване на 335 пациенти с авансирал НДКБК провеждали поредна линия с PD-1 (nivolumab, pembrolizumab) и PD-L1 инхибитори (atezolizumab, durvalumab, avelumab). 135 пациента са били с прогресия при проследяването, като 48 са определени с хиперпрогресия. Проведени са уни- и мултивариантни анализи, които показват, че измежду множеството изследвани параметри единствено повишените стойности на NLR над 4 ( $p=0,007$ ) и LDH над горна граница на нормата ( $p=0,003$ ) имат статистически значима връзка с риска от НР(235). Останалите проучвани фактори като възраст, пол, ECOGPS, тютюнопушене, хистологичен вид, PD-L1 статус, EGFR-мутационен статус, предхождаща бройка терапии, брой лимфоцити нямат статистически значима връзка с риска от развитие на хиперпрогресия(235). В следващите няколко години са проведени още проучвания по темата като различните изследователи откриват връзка между ECOG $> 1$ , LDH, бройката на метастатичните сайтове  $>2$ , наличие на чернодробни метастази, размера и бройката на метастазите, PD-L1 $<50\%$ , бялата раса, възрастта, NLR над 3.3, ниските нива на хемоглобин 100 г/мл. Всички тези изпитвания са обобщени от Li et al 2023 в един мета анализ, като прави впечатление, че единствено нашето проучване изследва и доказва връзката на саркопенията с риска от НР (231)

В изследваната от нас популация 16 пациенти извяват хиперпрогресия (НР) на фона на II-ра линия ИТ като 15 от тях са със саркопения, като е налична статистически значима връзка между двата показателя ( $p<0.0001$ ). За определяне на пациентите с НР са използвани RECIST 1.1. критериите (1. Време до неуспех от лечението  $<3$  месеца. 2. Увеличаване на сумата от диаметрите на таргетните лезии с  $\geq 50\%$  между базисния и контролния КТ. 3.Поява на поне 2 нови метастази в орган вече ангажиран от болестта на контролния КТ в сравнение с базисния. 4.Поява на метастази в нов, неангажиран до този момент орган на първия контролен КТ в сравнение с базисния. 5.Клинично влошаване на общото състояние/ECOGPS $\geq 2$  в първите два месеца от лечението с имунотерапия. (177)). Статистическият анализ, които проведохме доказва, че наличието на саркопения увеличава вероятността на първото образно изследване на фона на ИТ пациентът да се окаже с хиперпрогресия вместо с прогресия или с отговор от лечението. Саркопенията се оформи като маркер за хиперпрогресия (AUC=0.89) с доста висока чувствителност (93.8%) и специфичност (79.2%). Другите два маркера, които проследихме NLR(AUC=0.87) и PLR (AUC=0.79) също се доказаха като биомаркери за риск от хиперпрогресия. Нашите наблюдения от друга страна доказаха и негативното влияние на НР върху прогнозата на тези пациенти. Например НР имат mOS=9.83мес, докато псевдопрогресорите са с

mOS=19.18м (log-rank test p=0.001), прогресорите с mOS=17.32м (log-rank test p<0.001), а непрогресорите са с над три пъти по-дълга mOS=29.79м (log-rank test p<0.001).

### **Възможности за повлияване и лечение на саркопенията – настоящи и бъдещи изследвания .**

След представянето на убедителните данни за наличие на връзка между наличната саркопения и рисковете, които са свързани с нея при пациентите с НДКБК следва въпросът дали има начини, по които може да въздействаме на развитието на състоянието и ефективно да повлияем обратното му развитие.

Стратегиите за ефикасно лечение на саркопенията и кахексията имат сходни цели:

- увеличаване на мускулната маса,
- подобряване на мускулната функция и цялостната функция на пациента,
- подобряване на физическото представяне.

Въпреки че няма одобрено от FDA или ЕМА лечение за ракова кахексия и саркопения при злокачествени заболявания, има няколко интервенции, съобразени с индивида, които широко се използват. В момента са налични 3 основни групи методи:

- Чрез физическа активност
- Чрез промяна в хранителния режим/хранителни добавки
- Чрез медикаменти

#### ***Физическа активност***

През последното десетилетие все повече доказателства установяват, че упражненията са безопасна и ефективна допълнителна терапия по време на лечение при злокачествени заболявания, която ограничава страничните ефекти, свързани с лечението и подобрява общото състояние на пациентите със саркопения (236,237). Съвременните насоки при лечение на онкологичните заболявания препоръчват пациентите да започнат да спортуват възможно най-скоро, тъй като колкото по-рано се включат в тренировъчни програми, толкова повече ползи за здравето има (238).

Физическите упражнения са предложени като най-ефективната нефармакологична интервенция както за превенция, така и за въздействие на налична вече саркопения по време на различните етапи от развитието на злокачествените заболявания (239,240). Скелетната мускулна маса е свързана с нивата на физическа активност и дори само една седмица почивка в леглото може да провокира значителна атрофия на скелетната мускулатура (236), докато по-изразена загуба на скелетна мускулатура и

увреждане на функционалните способности е демонстрирано след продължителни периоди на физическо бездействие (241).

Положителните ефекти от упражненията върху поддържането на мускулна маса се дължат на техните анаболни ефекти и благоприятстват бързите и/или хроничните процеси на адаптация, наблюдаващи се в различни физиологични системи, които могат да противодействат на свързания с онкологичните заболявания катаболизъм. По-конкретно, упражненията регулират системното хронично възпаление, синтеза на протеини, функцията на мускулните стволни клетки и на митохондриите, както и хипоталамо-хипофизно-надбъбречната ос, която от своя страна контролира функцията на скелетните мускули дори в контекста на развитието и прогресията на тумора (236).

Още повече в изследвания е проучвано дали упражненията при вече развита се саркопения различни интервенции с упражнения може да донесат полза. По-конкретно при пациенти със затлъстяване със саркопения, провеждащи адювантна химиотерапия по повод карцином на гърдата, различни видове упражнения под наблюдение са сравнени по отношение на тяхното въздействие върху характеристиките на саркопения (242). Резултатите от това проучване установяват, че тренировките със съпротивителни упражнения за общо 17 седмици имат по-добър ефект върху мускулната маса и сила в сравнение с обичайните физическа активност или аеробните упражнения. В проучването 26,2% от пациентите са променили статуса на саркопенията, подобрили качеството на живот, намалела е умората и анемията (242). Друго проучване изследва ефекта от 3-месечна интервенция с упражнения за резистентност, със или без протеинова добавка, върху саркопенията и качеството на живот на пациенти с карцином на простатата, провеждащи хормонотерапия (243). Силовите упражнения намаляват саркопенията за 28,3% от пациентите, както се вижда от увеличената мускулна сила и подобрената телесна композиция и качеството на живот, докато протеиновата добавка не водят до повишена ефективност (243).

Подобни резултати се наблюдават и след комбинирана тренировъчна интервенция за упражнения (както аеробна, така и тренировка за устойчивост), която е проучвана при сървайвъри с карцином на гърдата със саркопенично затлъстяване, три пъти седмично за период от 4 месеца (244). Отбелязано е значително подобрение в параметрите, свързани със затлъстяването, като ИТМ, телесно тегло, обиколка на бедрата и проценти на телесни мазнини, подобрявайки фенотипа на саркопенично затлъстяване (244). При пациенти с хепатоцелуларен карцином, провеждащи транскатетърна артериална химиоемболизация, са осъществявани вътреболнични комбинирани интервенции с упражнения ежедневно, включващи упражнения с ниска до умерена интензивност (245). Дори ако средната интензивност на упражненията е само 2,5 метаболитни еквивалента, тя дава значителни клинични ползи

в интервенционната група, тъй като SMI се повишава, креатинина намалява, а скоростта на гломерулна филтрация се повишава, което показва намален катаболизъм и подобрена бъбречна функция (245).

Друг съществен момент е вида на упражненията. Установено е, че тези упражнения, базирани на съпротивление показват убедителни доказателства за подобряване на мускулното количество и функция. Много от доказателства за ефикасност все пак са били екстраполирани от опити с хора без или преди развитието саркопения и малко проучвания са измервали конкретно саркопенията като целеви резултат. Важното при използването на физическата активност за повлияване на саркопенията е и че контролираните програми за упражнения се понасят добре от пациентите със злокачествени заболявания и придържането варира от 68,2% до 95%, което подчертава тяхната осъществимост при появата на саркопения (236).

Въз основа на резултатите от гореспоменатите и много други проучвания, които изследват ползите от упражненията върху физическото функциониране и качеството на живот, Американският колеж по спортна медицина (ACSM) е разработил насоки за упражнения за възрастни с рак (236). Въпреки това съществуват големи пречки пред прилагането на тази проста интервенция, тъй като много възрастни, живеещи в общността, нямат достъп или мотивация да участват в строга програма за упражнения, а за по-възрастните онкологични пациенти има по-малко данни, за формирането на препоръки. Въпреки гореспоменатите насоки, които за момента са единствени по темата саркопения при онкологично болни, в клиничната практика има големи вариации на предписанията за упражнения и няма стандартизирани насоки за индивидуализирано предписание за упражнения за съпротива, особено по отношение на честотата на упражненията, продължителността на програмата, интензивността на упражненията и повторенията, което оформя и необходимостта от бъдещи по-задълбочени изследвания в областта.

### ***Хранителен режим/хранителни добавки***

Въпреки че доказателствата не са убедителни и не съществуват универсални насоки, поддържането или генерирането на мускулна маса изисква адекватен калориен и протеинов прием (246,247). В допълнение към осигуряването на адекватен калориен прием, протеиновата добавка и оптимизирането на нивата на витамин D са най-обещаващите диетични стратегии при повлияване на свързана с възрастта саркопения в неонкологични проучвания (246).

За да бъде ефективна хранителната интервенция, тя трябва да осигурява достатъчно калории, да съдържа подходящи хранителни вещества и да е с достатъчна продължителност, за да повлияе на здравето на мускулите (247). Проучванията показват, че здравословните хранителни навици -

включително консумация на пълнозърнести храни, магнезий, калий, други йони и висок прием на протеини - както и активни хранителни добавки, могат да насърчат функционалното възстановяване на мускулите(248,249). Целевият енергиен прием за активна хранителна терапия трябва да е равен на общия енергиен разход (ТЕЕ) плюс натрупаната енергия, като натрупването на енергия на килограм телесно тегло обикновено е 7500 kcal. В идеалния случай, за да се качи 1 кг за 30 дни, целевият дневен енергиен прием би бил ТЕЕ +250 kcal (250). Въпреки това, терапевтичната ефективност на хранителната интервенция при саркопения остава донякъде неясна. Доказано е, че добавките от незаменими аминокиселини, включително приблизително 2,5 g левцин или бета-хидрокси-бета-метилбутират (HMB), имат определени ефекти за подобряване на мускулната маса и функция (248).

Диетичният прием играе критична роля в управлението на саркопенията, като в проучванията се показва, че постното червено месо и нетечните млечни продукти подобряват мускулната маса, докато плодовете и зеленчуците подобряват мускулната функция (251). Протеин, HMB, креатин, незаменими аминокиселини, левцин и мултинутриентни добавки са идентифицирани като ефективни за смекчаване на саркопенията, а добавките с омега-3 мастни киселини значително подобряват силата и представянето на по-ниската част на тялото (252). Съществува и признат принос на витамин D в управлението на саркопенията (92). Скорошни проучвания изследват ефикасността на комбинирането на витамин D с други хранителни вещества като левцин, суроватъчен протеин и пробиотици с високо съдържание на протеини за лечение на саркопения (248).

Ефективното лечение на кахексията и саркопенията изисква по-сложен подход, отколкото просто повече прием на храна. Адекватният калориен прием и хранителните добавки сами по себе си често са неуспешни при обръщане или възстановяване на мускулната маса при пациенти, страдащи от кахексия (143).

### *Лекарствено лечение*

Фармакологичното лечение не е основен метод за лечение на саркопенията засега, но при определени обстоятелства особено когато физическата активност и хранителните интервенции се окажат невъзможни или недостатъчни може да се окаже валиден спомагателен метод. При по-възрастните пациенти, при които има по-малко енергия или промени в храносмилателната функция особено при налично активно злокачествено заболяване, лекарственото лечение може да се окаже дори от по-голяма тежест в сравнение с физическата активност, хранителния режим и хранителните добавки (174). Ето и някои основни медикаменти и групи проучвани във времето и показали еизвестна ефективност за повлияване на саркопенията:

1. Медикаменти, повлияващи апетита

Стимулаторите на апетита (напр. мегестрол, кортикостероиди и канабиноиди), които са били изследвани при пациенти с кахексия в продължение на десетилетия, са помогнали за увеличаване на теглото, но не са успели да подобрят други важни резултати като физическо представяне и преживяемостта (143,253). Освен това възрастните хора с онкологични заболявания могат да бъдат изложени на по-висок риск от токсичност, свързана с някои от тези медикаменти като кортикостероиди и мегестрол.

2. ACE инхибитори.

Ефективното регулиране на кръвния поток може да помогне за контролиране на продължителното възпаление и оксидативния стрес налични в мускулите на възрастни хора, водещи до мускулна атрофия и намалена способност за извършване на физически дейности. В този контекст е изследвана въздействието на системата ренин-ангиотензин като вазодилатор и регулиране на кръвния поток в мускулите. В проучвания е доказано, че регулирането на разпределението на кръвния поток има известен ефект върху саркопенията, но ефектът не е много значителен и е необходимо по-дълго проследяване, за да се определят дългосрочните ефекти на този тип лекарства (246,248,254).

3. Андрогени

Тестостеронът е свързан с регулирането на гените и сигналните пътища, свързани с мускулния растеж, функцията, митохондриалната активност и противодействието на мускулната загуба при пациенти със злокачествени заболявания и други възпалителни състояния. Съответно приложението му самостоятелно или комбинирано с тренировка за резистентност в проучвания показва значително увеличаване на общата маса без мазнини, масата без мазнини в краката, дебелината на мускулите и площта на напречното сечение на квадрицепсите. Междувременно други проучвания наблюдават значителна мускулна загуба при пациенти, подложени на андрогенна супресивна терапия, което подчертава сложната връзка между нивата на андроген и саркопенията, засилвайки клиничното значение на тестостерона при лечението на саркопения (255,256).

4. Инхибитори на миостатина

Миостатинът инхибира синтеза на мускулен протеин и насърчава фиброзата, докато инхибирането на миостатина води до мускулна хипертрофия. Следователно начините за инхибиране на неговата активност са от огромен интерес за предотвратяване на загуба на мускулна маса. Няколко агента са в процес на разработка, включително хормони като

фолистатин (естествен миостатин-свързващ протеин), рекомбинантни миостатинови антитела и разтворими рецептори на активин ПВ (миостатинът се свързва с рецепторите на активин I, Па и Пб за своето действие), всички от които са механично антагонисти на миостатина. Провеждат се опити за оценка на ефектите им върху мускулни нарушения като изтощение или мускулни дистрофии (248).

5. Селективни модулатори на андрогенните рецептори (SARM)

SARM предлагат целенасочен подход за лечение на саркопения чрез селективно свързване към андрогенните рецептори в мускулите и костите, особено при състояния на мускулна загуба като саркопения и остеопороза (257). Последните разработки въведоха различни SARM съединения, включително NEP28, известен със своята висока рецепторна селективност и потенциални ползи не само за здравето на мускулите и костите, но също така и в осигуряването на защитна роля срещу болестта на Алцхаймер чрез повишаване на А $\beta$ -разграждащите ензими (258). По подобен начин SARM-2f демонстрира обещаващи резултати при увеличаване на масата на скелетната мускулатура и подобряване на липидните профили при проучвания върху животни, което предполага неговата полезност при справяне със саркопенията с подобрен профил на безопасност спрямо традиционните терапии (259).

6. Противовъзпалителни средства (НСПВС,  $\omega$ -3 мастни киселини, талидомид)

Тъй като възпалението е важен основен механизъм за кахексия, лекарствата, насочени към възпалителните цитокини, са от особен интерес за тази област, но нито едно не е показало благоприятни ефекти последователно. Проучвания, разглеждащи  $\omega$ -3 мастни киселини като ейкозапентанова киселина (ЕРА), както неселективни, така и селективни COX инхибитори, анти-TNF агенти и талидомид, съобщават за променлива ефикасност и противоречиви резултати (254). Талидомидът, имуномодулиращ, антинеопластичен и противовъзпалителен агент, изглежда подобрява загубата на тегло, наблюдавана при някои видове рак, но преглед на Cochrane, проведен през 2012 г., заключава, че има малко доказателства, които да препоръчват талидомид за такава употреба (260). Едно рандомизирано контролирано проучване, оценяващо мултимодален подход за лечение на кахексия, показва полза от използването на талидомид, МРА, ЕРА, L-карнитин и хранителна подкрепа заедно, но имаше значителна хетерогенност между групите, което възпрепятства всякакви смислени заключения за всяко отделно рамо. Тези проучвания предполагат, че тъй като кахексията е многофакторна единица, подходът, насочен към различни основни механизми, включително възпаление, стимулиране на апетита и мускулни анаболни агенти, може да се окаже по-ефикасен от самото насочване на възпалението.

Анти-IL-6 антитела В предклинични и фаза I и II проучвания на недребноклетъчен рак на белия дроб, моноклонално антитяло срещу IL-6, ALD-518, изглежда е от полза за облекчаване на свързаната с рак кахексия и анемия при хора (246). Необходими са допълнителни проучвания, за да се потвърди това наблюдение.

В заключение - адекватното хранене и силовите упражнения са крайъгълните камъни в лечението на саркопенията. При конкретни обстоятелства и индивидуална преценка добавянето на медикаментозно лечение е възможна опция, но се налагат насочени проучвания, изследващи активността и безопасността на ефективните медикаменти при пациентите с онкологични заболявания. Като се има предвид многоизмерният характер на саркопенията, мултимодалните интервенции се свързват с най-добрите резултати и се препоръчват (143).

#### **Ограничения на проучването:**

- Направените изводи и откритите взаимовръзки е необходимо да се проверят проспективно.
- Несинхронност по отношение на приетите методики за оценка на саркопенията. Някои експерти твърдят, че m.psoas е малък мускул и не е представителен за цялостната саркопения [103, 104]. Необходими са допълнителни проучвания, за да се провери или отхвърли използването на този метод.
- По отношение на метода за оценка на саркопенията и необходимостта от вземане на две стойности на РММА при започване на I-ва и при започване на II-ра линия лечение, е налице ограничаване използването на ΔРММА и го прави невъзможно при новодиагностицираните пациенти. Според актуалните гайдлайни от 2024г за лечение на пациентите и използване на ИТ на първа линия и дори при локализирано заболяване адювантно и неoadювантно е необходимо да се модифицира и унифицира метода за диагностициране на саркопения, за да се може да се имплементира показателя за оценка риска при съответните групи пациенти. Необходими са още проучвания за оценка на саркопенията при тези групи пациенти.
- Липса на информация по отношение на хидратационния статус на пациентите, който може да окаже влияние върху КТ-базирана оценка на мускулната маса.

## **VII. Изводи**

1. Наличието на саркопения е нов, съвременен негативен прогностичен маркер свързан със скъсена обща преживяемост.

2. Измерването на саркопенията чрез проследяване динамиката на промяна на площта на m.psoas мајог на ниво L3 е лесен, спестяващ време параметър, който може да се въведе рутинно в клиничната практика.
3. Наличието на саркопения няма връзка с пола, ECOG PS, хистологичния подтип, тютюнопушането, броя на местата на метастазиране, теглото, ВМІ и телесната повърхност, но честотата ѝ се увеличава с възрастта ( $\geq 65$  год.).
4. Наличието на саркопения е свързано с повишени стойности на класическите маркери на възпалението NLR, PLR и тяхната промяна в хода лечение ( $\Delta$ NLR и  $\Delta$ PLR), но липсва пряка зависимост с PD-L1 експресията .
5. Наличието на саркопения е състояние, наблюдаващо се често при пациенти, неотговарящи на първа линия ХТ, при които съществува голям риск от развитие на хиперпрогресия на фона на II-ра линия ИТ.
6. Наличието на саркопения е нов съвременен негативен предиктивен маркер за лечение с Pembrolizumab като монотерапия на II-ра линия при пациенти с метастатичен НДКБК, прогресирания на първа линия платин-базирана терапия, вкл е рисков фактор за развитие на хиперпрогресия в хода на терапията.

## VIII. Приноси

1. Анализ на честотата на саркопения като нов, съвременен прогностичен маркер при пациенти с недребнокелтъчен карцином на белия дроб сред българската популация. Това е едно от първите мултицентрични проучвания сред онкологичната общност в страната.
2. Сред първите изследвания в световната литература, показващо потенциала на наличната саркопения като съвременен нов предиктор на повишен риск от хиперпрогресия на фона на лечение с имунотерапия.
3. Научната разработка е измежду първите в света, показваща негативната предиктивна роля на саркопенията като нов съвременен биомаркер при болни с недребноклетъчен карцином на белия дроб, провеждащи специфично противотуморно лечение с имунотерапия.
4. Изложените данни доказват негативната прогностична роля на саркопенията при хора с авансирал недребноклетъчен белодробен карцином

5. Чрез изследването демонстрираме, че измерването на саркопенията по гореописания метод е нов, лесен, достъпен, евтин и спестяващ време, притежаващ реален потенциал да се въведе рутинно в клиничната практика.

6. Установяването на саркопенични пациенти създава основа за откриване на онези от тях, които са в по-голям риск за скъсена свободна от прогресия и обща преживяемост. Това представя възможност за индивидуализирано лечение на саркопенията като симптоматичен подход за подобряване риска от негативния ефект на състоянието върху качеството на живот и преживяемостта на пациентите.

## IX. Библиография

1. 100-bulgaria-fact-sheets.pdf [Internet]. [cited 2022 Mar 13]. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/100-bulgaria-fact-sheets.pdf>
2. GLOBOCAN 2020 Annex A.XLSX.
3. Cancer today [Internet]. [cited 2023 Aug 4]. Available from: <http://gco.iarc.fr/today/home>
4. Mielgo-Rubio X, Uribealraea EA, Cortés LQ, Moyano MS. Immunotherapy in non-small cell lung cancer: Update and new insights. J Clin Transl Res [Internet]. 2021 Jan 20 [cited 2022 Jul 23];7(1):1–21. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8177026/>
5. Calles A, Aguado G, Sandoval C, Álvarez R. The role of immunotherapy in small cell lung cancer. Clin Transl Oncol. 2019 Aug;21(8):961–76.
6. Postmus PE, Kerr KM, Oudkerk M, Senan S, Waller DA, Vansteenkiste J, et al. Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. Annals of Oncology [Internet]. 2017 July 1 [cited 2022 Jul 23];28:iv1–21. Available from: [https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534\(19\)42150-9/fulltext](https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534(19)42150-9/fulltext)
7. Alexander M, Kim SY, Cheng H. Update 2020: Management of Non-Small Cell Lung Cancer. Lung [Internet]. 2020 [cited 2022 Jul 23];198(6):897–907. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7656891/>
8. Hendriks LE, Kerr KM, Menis J, Mok TS, Nestle U, Passaro A, et al. Non-oncogene-addicted metastatic non-small-cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up☆. Annals of Oncology [Internet]. 2023 Apr 1 [cited 2023 Aug 4];34(4):358–76. Available from: [https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534\(22\)04785-8/fulltext](https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534(22)04785-8/fulltext)
9. Hendriks LE, Kerr KM, Menis J, Mok TS, Nestle U, Passaro A, et al. Oncogene-addicted metastatic non-small-cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up☆. Annals of

Oncology [Internet]. 2023 Apr 1 [cited 2023 Aug 4];34(4):339–57. Available from: [https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534\(22\)04781-0/fulltext](https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534(22)04781-0/fulltext)

10. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, Arcila ME, Beasley MB, Bernicker EH, et al. Updated Molecular Testing Guideline for the Selection of Lung Cancer Patients for Treatment With Targeted Tyrosine Kinase Inhibitors: Guideline From the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *Arch Pathol Lab Med*. 2018 Mar;142(3):321–46.
11. Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer. European Society for Medical Oncology. 2020;71.
12. Kerr KM, Bibeau F, Thunnissen E, Bottling J, Ryška A, Wolf J, et al. The evolving landscape of biomarker testing for non-small cell lung cancer in Europe. *Lung Cancer [Internet]*. 2021 Apr 1 [cited 2022 Mar 13];154:161–75. Available from: [https://www.lungcancerjournal.info/article/S0169-5002\(21\)00086-6/fulltext#secsect0025](https://www.lungcancerjournal.info/article/S0169-5002(21)00086-6/fulltext#secsect0025)
13. Lima ABC, Macedo LT, Sasse AD. Addition of bevacizumab to chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2011;6(8):e22681.
14. Soria JC, Mauguen A, Reck M, Sandler AB, Saijo N, Johnson DH, et al. Systematic review and meta-analysis of randomised, phase II/III trials adding bevacizumab to platinum-based chemotherapy as first-line treatment in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2013 Jan;24(1):20–30.
15. Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity*. 2013 Jul 25;39(1):1–10.
16. Seidel JA, Otsuka A, Kabashima K. Anti-PD-1 and Anti-CTLA-4 Therapies in Cancer: Mechanisms of Action, Efficacy, and Limitations. *Front Oncol [Internet]*. 2018 Mar 28 [cited 2022 Jul 23];8:86. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5883082/>
17. Murciano-Goroff YR, Warner AB, Wolchok JD. The future of cancer immunotherapy: microenvironment-targeting combinations. *Cell Res [Internet]*. 2020 Jun [cited 2022 Jul 23];30(6):507–19. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7264181/>
18. Pan C, Liu H, Robins E, Song W, Liu D, Li Z, et al. Next-generation immuno-oncology agents: current momentum shifts in cancer immunotherapy. *J Hematol Oncol [Internet]*. 2020 Apr 3 [cited 2022 Jul 23];13:29. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7119170/>
19. Punekar SR, Shum E, Grello CM, Lau SC, Velcheti V. Immunotherapy in non-small cell lung cancer: Past, present, and future directions. *Front Oncol [Internet]*. 2022 Aug 2 [cited 2023 Aug 4];12:877594. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9382405/>
20. Sehgal K. Hyperprogression in Patients With Cancer Receiving Immune Checkpoint Inhibitors. *JAMA Network Open [Internet]*. 2021 Mar 24 [cited 2023 Aug 7];4(3):e211839. Available from: <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.1839>

21. Park HJ, Kim KW, Won SE, Yoon S, Chae YK, Tirumani SH, et al. Definition, Incidence, and Challenges for Assessment of Hyperprogressive Disease During Cancer Treatment With Immune Checkpoint Inhibitors: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Network Open* [Internet]. 2021 Mar 24 [cited 2023 Aug 7];4(3):e211136. Available from: <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.1136>
22. Britt AS, Huang C, Huang CH. Hyperprogressive disease in non-small cell lung cancer treated with immune checkpoint inhibitor therapy, fact or myth? *Front Oncol* [Internet]. 2022 Nov 29 [cited 2023 Aug 7];12:996554. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9745068/>
23. Zhou C, Li M, Wang Z, An D, Li B. Adverse events of immunotherapy in non-small cell lung cancer: A systematic review and network meta-analysis. *Int Immunopharmacol*. 2022 Jan;102:108353.
24. Šutić M, Vukić A, Baranašić J, Försti A, Džubur F, Samaržija M, et al. Diagnostic, Predictive, and Prognostic Biomarkers in Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Management. *J Pers Med* [Internet]. 2021 Oct 27 [cited 2023 Mar 30];11(11):1102. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8624402/>
25. Complexities in prognostication in advanced cancer: “to help them live their lives the way they want to” - PubMed [Internet]. [cited 2022 Apr 11]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12837717/>
26. Viganò A, Dorgan M, Buckingham J, Bruera E, Suarez-Almazor ME. Survival prediction in terminal cancer patients: a systematic review of the medical literature. *Palliat Med*. 2000 Sep;14(5):363–74.
27. Maltoni M, Caraceni A, Brunelli C, Broeckaert B, Christakis N, Eichmüller S, et al. Prognostic Factors in Advanced Cancer Patients: Evidence-Based Clinical Recommendations—A Study by the Steering Committee of the European Association for Palliative Care. *JCO* [Internet]. 2005 Sep [cited 2022 Mar 23];23(25):6240–8. Available from: <https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2005.06.866>
28. Chen F, Wang XY, Han XH, Wang H, Qi J. Diagnostic value of Cyfra 21-1, SCC and CEA for differentiation of early-stage NSCLC from benign lung disease. *Int J Clin Exp Med* [Internet]. 2015 Jul 15 [cited 2023 Sep 2];8(7):11295–300. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4565321/>
29. Huszno J, Grzybowska E. TP53 mutations and SNPs as prognostic and predictive factors in patients with breast cancer. *Oncol Lett*. 2018 Jul;16(1):34–40.
30. Xu F, Lin H, He P, He L, Chen J, Lin L, et al. A TP53-associated gene signature for prediction of prognosis and therapeutic responses in lung squamous cell carcinoma. *Oncoimmunology*. 2020;9(1):1731943.
31. Qin K, Hou H, Liang Y, Zhang X. Prognostic value of TP53 concurrent mutations for EGFR- TKIs and ALK-TKIs based targeted therapy in advanced non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *BMC Cancer*. 2020 Apr 16;20(1):328.
32. Ma X, Le Teuff G, Lacas B, Tsao MS, Graziano S, Pignon JP, et al. Prognostic and Predictive Effect of TP53 Mutations in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer from Adjuvant Cisplatin-Based Therapy Randomized Trials: A LACE-Bio Pooled Analysis. *J Thorac Oncol*. 2016 Jun;11(6):850–61.

33. Cai R, Zhu H, Liu Y, Sha H, Peng W, Yin R, et al. To be, or not to be: the dilemma of immunotherapy for non-small cell lung cancer harboring various driver mutations. *J Cancer Res Clin Oncol* [Internet]. 2023 June 1 [cited 2023 Aug 7]; Available from: <https://doi.org/10.1007/s00432-023-04919-4>
34. Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM. Immune checkpoint blockade: a common denominator approach to cancer therapy. *Cancer Cell*. 2015 Apr 13;27(4):450–61.
35. Wang X, Sun Q. TP53 mutations, expression and interaction networks in human cancers. *Oncotarget*. 2017 Jan 3;8(1):624–43.
36. Lee J, Ku BM, Shim JH, La Choi Y, Sun JM, Lee SH, et al. Characteristics and outcomes of RET-rearranged Korean non-small cell lung cancer patients in real-world practice. *Jpn J Clin Oncol*. 2020 May 5;50(5):594–601.
37. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2015 Oct 22;373(17):1627–39.
38. Herbst RS, Baas P, Kim DW, Felip E, Pérez-Gracia JL, Han JY, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2016 Apr 9;387(10027):1540–50.
39. Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M, Kowanetz M, Vansteenkiste J, Mazieres J, et al. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. *Lancet*. 2016 Apr 30;387(10030):1837–46.
40. Lee CK, Man J, Lord S, Cooper W, Links M, GebSKI V, et al. Clinical and Molecular Characteristics Associated With Survival Among Patients Treated With Checkpoint Inhibitors for Advanced Non-Small Cell Lung Carcinoma: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Oncol*. 2018 Feb 1;4(2):210–6.
41. Pyo KH, Lim SM, Park CW, Jo HN, Kim JH, Yun MR, et al. Comprehensive analyses of immunodynamics and immunoreactivity in response to treatment in ALK-positive non-small-cell lung cancer. *J Immunother Cancer*. 2020 Jul;8(2):e000970.
42. Song P, Zhang J, Zhang L. Refinement of diagnosis and supporting evidence for the use of immunotherapy through sequential biopsies in a case of EML4-ALK positive lung cancer. *Onco Targets Ther*. 2019;12:2943–8.
43. Parikh AR, Ali SM, Schrock AB, Albacker LA, Miller VA, Stephens PJ, et al. Response to rapamycin analogs but not PD-1 inhibitors in PTEN-mutated metastatic non-small-cell lung cancer with high tumor mutational burden. *Lung Cancer (Auckl)*. 2018;9:45–7.
44. Ren K, Peng Q, Ding G, Yu Y, Huang T, Gong L, et al. Potential biomarkers and resistance mechanisms of atezolizumab in a patient with lung squamous cell carcinoma. *Immunotherapy*. 2022 Jan;14(1):15–21.

45. Mazieres J, Drilon A, Lusque A, Mhanna L, Cortot AB, Mezquita L, et al. Immune checkpoint inhibitors for patients with advanced lung cancer and oncogenic driver alterations: results from the IMMUNOTARGET registry. *Ann Oncol*. 2019 Aug 1;30(8):1321–8.
46. Guisier F, Dubos-Arvis C, Viñas F, Doubre H, Ricordel C, Ropert S, et al. Efficacy and Safety of Anti-PD-1 Immunotherapy in Patients With Advanced NSCLC With BRAF, HER2, or MET Mutations or RET Translocation: GFPC 01-2018. *J Thorac Oncol*. 2020 Apr;15(4):628–36.
47. Negrao MV, Skoulidis F, Montesion M, Schulze K, Bara I, Shen V, et al. Oncogene-specific differences in tumor mutational burden, PD-L1 expression, and outcomes from immunotherapy in non-small cell lung cancer. *J Immunother Cancer*. 2021 Aug;9(8):e002891.
48. Bodor JN, Bumber Y, Borghaei H. Biomarkers for immune checkpoint inhibition in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Cancer* [Internet]. 2020 Jan 15 [cited 2022 Mar 15];126(2):260–70. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7372560/>
49. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csőszi T, Fülöp A, et al. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1606774>. 2016 [cited 2019 Dec 29]. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1–Positive Non–Small–Cell Lung Cancer. Available from: [https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1606774?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%3Dwww.ncbi.nlm.nih.gov](https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1606774?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub%3Dwww.ncbi.nlm.nih.gov)
50. Rittmeyer A, Barlesi F, Waterkamp D, Park K, Ciardiello F, von Pawel J, et al. Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial. *Lancet*. 2017 Jan 21;389(10066):255–65.
51. Antonia SJ, Villegas A, Daniel D, Vicente D, Murakami S, Hui R, et al. Overall Survival with Durvalumab after Chemoradiotherapy in Stage III NSCLC. *N Engl J Med*. 2018 Dec 13;379(24):2342–50.
52. Mansfield AS, Aubry MC, Moser JC, Harrington SM, Dronca RS, Park SS, et al. Temporal and spatial discordance of programmed cell death-ligand 1 expression and lymphocyte tumor infiltration between paired primary lesions and brain metastases in lung cancer. *Ann Oncol*. 2016 Oct;27(10):1953–8.
53. Zhou J, Gong Z, Jia Q, Wu Y, Yang ZZ, Zhu B. Programmed death ligand 1 expression and CD8+ tumor-infiltrating lymphocyte density differences between paired primary and brain metastatic lesions in non-small cell lung cancer. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018 Apr 15;498(4):751–7.
54. Gridelli C, Ardizzoni A, Barberis M, Cappuzzo F, Casaluce F, Danesi R, et al. Predictive biomarkers of immunotherapy for non-small cell lung cancer: results from an Experts Panel Meeting of the Italian Association of Thoracic Oncology. *Transl Lung Cancer Res*. 2017 Jun;6(3):373–86.
55. Voong KR, Feliciano J, Becker D, Levy B. Beyond PD-L1 testing-emerging biomarkers for immunotherapy in non-small cell lung cancer. *Ann Transl Med*. 2017 Sep;5(18):376.
56. Ben Dori S, Aizic A, Sabo E, Hershkovitz D. Spatial heterogeneity of PD-L1 expression and the risk for misclassification of PD-L1 immunohistochemistry in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* [Internet]. 2020 Sep

1 [cited 2023 Aug 8];147:91–8. Available from:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169500220305341>

57. Suda K, Mitsudomi T. Inter-tumor heterogeneity of PD-L1 status: is it important in clinical decision making? *J Thorac Dis* [Internet]. 2020 May [cited 2023 Aug 8];12(5):1770–5. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7330404/>

58. Xu H, Chen X, Lin D, Zhang J, Li C, Zhang D, et al. Conformance Assessment of PD-L1 Expression Between Primary Tumour and Nodal Metastases in Non-Small-Cell Lung Cancer. *Onco Targets Ther*. 2019;12:11541–7.

59. Schoenfeld AJ, Rizvi H, Bandlamudi C, Sauter JL, Travis WD, Rekhtman N, et al. Clinical and molecular correlates of PD-L1 expression in patients with lung adenocarcinomas. *Ann Oncol*. 2020 May;31(5):599–608.

60. Kawachi H, Tamiya M, Tamiya A, Ishii S, Hirano K, Matsumoto H, et al. Association between metastatic sites and first-line pembrolizumab treatment outcome for advanced non-small cell lung cancer with high PD-L1 expression: a retrospective multicenter cohort study. *Invest New Drugs*. 2020 Feb;38(1):211–8.

61. Tamiya M, Tamiya A, Inoue T, Kimura M, Kunimasa K, Nakahama K, et al. Metastatic site as a predictor of nivolumab efficacy in patients with advanced non-small cell lung cancer: A retrospective multicenter trial. *PLoS One*. 2018;13(2):e0192227.

62. Provencio M, Ortega AL, Coves-Sarto J, Calvo V, Marsé-Fabregat R, Dómine M, et al. Atezolizumab Plus Bevacizumab as First-line Treatment for Patients With Metastatic Nonsquamous Non-Small Cell Lung Cancer With High Tumor Mutation Burden: A Nonrandomized Controlled Trial. *JAMA Oncology* [Internet]. 2023 Mar 1 [cited 2023 Aug 17];9(3):344–53. Available from: <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2022.5959>

63. Herbst RS, Lopes G, Kowalski DM, Nishio M, Wu YL, De Castro Junior G, et al. Association between tissue TMB (tTMB) and clinical outcomes with pembrolizumab monotherapy (pembro) in PD-L1-positive advanced NSCLC in the KEYNOTE-010 and -042 trials. *Annals of Oncology* [Internet]. 2019 Oct [cited 2023 Aug 17];30:v916–7. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0923753419604370>

64. Rossi G, Russo A, Tagliamento M, Tuzi A, Nigro O, Vallome G, et al. Precision Medicine for NSCLC in the Era of Immunotherapy: New Biomarkers to Select the Most Suitable Treatment or the Most Suitable Patient. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2020 Apr 30 [cited 2023 Aug 17];12(5):1125. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7281184/>

65. Tian Y, Zhai X, Yan W, Zhu H, Yu J. Clinical outcomes of immune checkpoint blockades and the underlying immune escape mechanisms in squamous and adenocarcinoma NSCLC. *Cancer Med*. 2021 Jan;10(1):3–14.

66. Binnewies M, Roberts EW, Kersten K, Chan V, Fearon DF, Merad M, et al. Understanding the tumor immune microenvironment (TIME) for effective therapy. *Nat Med*. 2018 May;24(5):541–50.

67. Fridman WH, Zitvogel L, Sautès-Fridman C, Kroemer G. The immune contexture in cancer prognosis and treatment. *Nat Rev Clin Oncol*. 2017 Dec;14(12):717–34.

68. Sato H, Okonogi N, Nakano T. Rationale of combination of anti-PD-1/PD-L1 antibody therapy and radiotherapy for cancer treatment. *Int J Clin Oncol* [Internet]. 2020 [cited 2023 Aug 30];25(5):801–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7192886/>
69. Tokito T, Azuma K, Kawahara A, Ishii H, Yamada K, Matsuo N, et al. Predictive relevance of PD-L1 expression combined with CD8+ TIL density in stage III non-small cell lung cancer patients receiving concurrent chemoradiotherapy. *Eur J Cancer*. 2016 Mar;55:7–14.
70. Mandaliya H, Jones M, Oldmeadow C, Nordman IIC. Prognostic biomarkers in stage IV non-small cell lung cancer (NSCLC): neutrophil to lymphocyte ratio (NLR), lymphocyte to monocyte ratio (LMR), platelet to lymphocyte ratio (PLR) and advanced lung cancer inflammation index (ALI). *Translational Lung Cancer Research* [Internet]. 2019 Dec [cited 2023 Sep 2];8(6). Available from: <https://tlcr.amegroups.org/article/view/34596>
71. Forrest LM, McMillan DC, McArdle CS, Angerson WJ, Dunlop DJ. Evaluation of cumulative prognostic scores based on the systemic inflammatory response in patients with inoperable non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer*. 2003 Sep 15;89(6):1028–30.
72. Gu XB, Tian T, Tian XJ, Zhang XJ. Prognostic significance of neutrophil-to-lymphocyte ratio in non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Sci Rep*. 2015 Jul 24;5:12493.
73. Moses K, Brandau S. Human neutrophils: Their role in cancer and relation to myeloid-derived suppressor cells. *Semin Immunol*. 2016 Apr;28(2):187–96.
74. Dumitru CA, Lang S, Brandau S. Modulation of neutrophil granulocytes in the tumor microenvironment: mechanisms and consequences for tumor progression. *Semin Cancer Biol*. 2013 June;23(3):141–8.
75. Treffers LW, Hiemstra IH, Kuijpers TW, van den Berg TK, Matlung HL. Neutrophils in cancer. *Immunol Rev*. 2016 Sep;273(1):312–28.
76. Klinger MHF, Jelkmann W. Role of blood platelets in infection and inflammation. *J Interferon Cytokine Res*. 2002 Sep;22(9):913–22.
77. Kargl J, Busch SE, Yang GHY, Kim KH, Hanke ML, Metz HE, et al. Neutrophils dominate the immune cell composition in non-small cell lung cancer. *Nat Commun*. 2017 Feb 1;8:14381.
78. Guthrie GJK, Charles KA, Roxburgh CSD, Horgan PG, McMillan DC, Clarke SJ. The systemic inflammation-based neutrophil-lymphocyte ratio: experience in patients with cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2013 Oct;88(1):218–30.
79. Tacconi F, Mangiameli G, Voulaz E, Patirelis A, Carlea F, Rocca EL, et al. Blood-Derived Systemic Inflammation Markers and Risk of Nodal Failure in Stage Ia Non-Small Cell Lung Cancer: A Multicentric Study. *J Clin Med* [Internet]. 2023 July 26 [cited 2023 Sep 6];12(15):4912. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10419646/>

80. Bagley SJ, Kothari S, Aggarwal C, Bauml JM, Alley EW, Evans TL, et al. Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio as a marker of outcomes in nivolumab-treated patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2017 Apr;106:1–7.
81. Diem S, Schmid S, Krapf M, Flatz L, Born D, Jochum W, et al. Neutrophil-to-Lymphocyte ratio (NLR) and Platelet-to-Lymphocyte ratio (PLR) as prognostic markers in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) treated with nivolumab. *Lung Cancer*. 2017 Sep;111:176–81.
82. Imai H, Wasamoto S, Tsuda T, Nagai Y, Kishikawa T, Masubuchi K, et al. Using the neutrophil-to-lymphocyte ratio to predict the outcome of individuals with nonsquamous non-small cell lung cancer receiving pembrolizumab plus platinum and pemetrexed. *Thoracic Cancer* [Internet]. 2023 [cited 2023 Sep 6];14(25):2567–78. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1759-7714.15036>
83. Song M, Zhang Q, Song C, Liu T, Zhang X, Ruan G, et al. The advanced lung cancer inflammation index is the optimal inflammatory biomarker of overall survival in patients with lung cancer. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* [Internet]. 2022 Oct [cited 2023 Sep 6];13(5):2504–14. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9530543/>
84. Rosenberg IH. Sarcopenia: origins and clinical relevance. *J Nutr*. 1997 May;127(5 Suppl):990S-991S.
85. Baumgartner RN, Koehler KM, Gallagher D, Romero L, Heymsfield SB, Ross RR, et al. Epidemiology of Sarcopenia among the Elderly in New Mexico. *American Journal of Epidemiology* [Internet]. 1998 Apr 15 [cited 2022 Apr 11];147(8):755–63. Available from: <https://academic.oup.com/aje/article-lookup/doi/10.1093/oxfordjournals.aje.a009520>
86. Bozzetti F. Forcing the vicious circle: sarcopenia increases toxicity, decreases response to chemotherapy and worsens with chemotherapy. *Annals of Oncology* [Internet]. 2017 Sep 1 [cited 2022 Mar 17];28(9):2107–18. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0923753419352366>
87. Baumgartner RN, Wayne SJ, Waters DL, Janssen I, Gallagher D, Morley JE. Sarcopenic obesity predicts instrumental activities of daily living disability in the elderly. *Obes Res*. 2004 Dec;12(12):1995–2004.
88. Laviano A, Gori C, Rianda S. Sarcopenia and nutrition. *Adv Food Nutr Res*. 2014;71:101–36.
89. Papadopoulou SK. Sarcopenia: A Contemporary Health Problem among Older Adult Populations. *Nutrients* [Internet]. 2020 May 1 [cited 2024 Jan 11];12(5):1293. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7282252/>
90. Riuizzi F, Sorci G, Arcuri C, Giambanco I, Bellezza I, Minelli A, et al. Cellular and molecular mechanisms of sarcopenia: the S100B perspective. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* [Internet]. 2018 Dec [cited 2024 Jan 11];9(7):1255–68. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6351675/>
91. Faulkner JA, Larkin LM, Claflin DR, Brooks SV. Age-related changes in the structure and function of skeletal muscles. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2007 Nov;34(11):1091–6.

92. Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, Boirie Y, Bruyère O, Cederholm T, et al. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. *Age Ageing* [Internet]. 2019 Jan [cited 2021 Feb 9];48(1):16–31. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6322506/>
93. Anagnostis P, Siolos P, Gkekas NK, Kosmidou N, Artzouchaltzi AM, Christou K, et al. Association between age at menopause and fracture risk: a systematic review and meta-analysis. *Endocrine*. 2019 Feb;63(2):213–24.
94. Volpato S, Bianchi L, Cherubini A, Landi F, Maggio M, Savino E, et al. Prevalence and Clinical Correlates of Sarcopenia in Community-Dwelling Older People: Application of the EWGSOP Definition and Diagnostic Algorithm. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* [Internet]. 2014 Apr [cited 2024 Jan 11];69(4):438–46. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3968828/>
95. Marcell TJ. Sarcopenia: causes, consequences, and preventions. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2003 Oct;58(10):M911-916.
96. Doherty TJ. Invited review: Aging and sarcopenia. *J Appl Physiol* (1985). 2003 Oct;95(4):1717–27.
97. Alexandre T da S, Duarte YA de O, Santos JLF, Wong R, Lebrão ML. Sarcopenia according to the European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) versus dynapenia as a risk factor for mortality in the elderly. *J Nutr Health Aging*. 2014;18(8):751–6.
98. Grammatikopoulou MG, Gkiouras K, Theodoridis X, Tsimiri M, Markaki AG, Chourdakis M, et al. Food insecurity increases the risk of malnutrition among community-dwelling older adults. *Maturitas*. 2019 Jan;119:8–13.
99. Proctor MJ, McMillan DC, Horgan PG, Fletcher CD, Talwar D, Morrison DS. Systemic Inflammation Predicts All-Cause Mortality: A Glasgow Inflammation Outcome Study. *PLoS One* [Internet]. 2015 Mar 2 [cited 2024 Jan 11];10(3):e0116206. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4346265/>
100. Beyer I, Mets T, Bautmans I. Chronic low-grade inflammation and age-related sarcopenia. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2012 Jan;15(1):12–22.
101. Frasca D, Blomberg BB. Inflammaging decreases adaptive and innate immune responses in mice and humans. *Biogerontology* [Internet]. 2016 Feb [cited 2024 Jan 11];17(1):7–19. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4626429/>
102. Cannizzo ES, Clement CC, Sahu R, Follo C, Santambrogio L. Oxidative stress, inflamm-aging and immunosenescence. *J Proteomics*. 2011 Oct 19;74(11):2313–23.
103. Toth MJ, Ades PA, Tischler MD, Tracy RP, LeWinter MM. Immune activation is associated with reduced skeletal muscle mass and physical function in chronic heart failure. *Int J Cardiol*. 2006 May 10;109(2):179–87.
104. Visser M, Pahor M, Taaffe DR, Goodpaster BH, Simonsick EM, Newman AB, et al. Relationship of interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha with muscle mass and muscle strength in elderly men and women: the Health ABC Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2002 May;57(5):M326-332.

105. Haran PH, Rivas DA, Fielding RA. Role and potential mechanisms of anabolic resistance in sarcopenia. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* [Internet]. 2012 Sep [cited 2024 Jan 11];3(3):157–62. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3424190/>
106. White DK, Neogi T, Nevitt MC, Peloquin CE, Zhu Y, Boudreau RM, et al. Trajectories of Gait Speed Predict Mortality in Well-Functioning Older Adults: The Health, Aging and Body Composition Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* [Internet]. 2013 Apr [cited 2024 Jan 11];68(4):456–64. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3593620/>
107. White TA, LeBrasseur NK. Myostatin and sarcopenia: opportunities and challenges - a mini-review. *Gerontology*. 2014;60(4):289–93.
108. Kalyani RR, Corriere M, Ferrucci L. Age-related and disease-related muscle loss: the effect of diabetes, obesity, and other diseases. *Lancet Diabetes Endocrinol* [Internet]. 2014 Oct [cited 2024 Jan 11];2(10):819–29. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4156923/>
109. Marty E, Liu Y, Samuel A, Or O, Lane J. A review of sarcopenia: Enhancing awareness of an increasingly prevalent disease. *Bone*. 2017 Dec;105:276–86.
110. Vitale JA, Bonato M, La Torre A, Banfi G. The Role of the Molecular Clock in Promoting Skeletal Muscle Growth and Protecting against Sarcopenia. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2019 Sep 3 [cited 2024 Jan 11];20(17):4318. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6747101/>
111. Risk Factors: Age - NCI [Internet]. 2015 [cited 2024 Jan 11]. Available from: <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/risk/age>
112. Chindapasirt J. Sarcopenia in Cancer Patients. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;16(18):8075–7.
113. Morley JE, Baumgartner RN, Roubenoff R, Mayer J, Nair KS. Sarcopenia. *J Lab Clin Med*. 2001 Apr;137(4):231–43.
114. Clark BC, Manini TM. Sarcopenia  $\neq$  dynapenia. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2008 Aug;63(8):829–34.
115. Bauer J, Morley JE, Schols AMWJ, Ferrucci L, Cruz-Jentoft AJ, Dent E, et al. Sarcopenia: A Time for Action. An SCWD Position Paper. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* [Internet]. 2019 Oct [cited 2022 Mar 15];10(5):956–61. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6818450/>
116. Morley JE, Abbatecola AM, Argiles JM, Baracos V, Bauer J, Bhasin S, et al. Sarcopenia With Limited Mobility: An International Consensus. *J Am Med Dir Assoc* [Internet]. 2011 Jul [cited 2022 Apr 11];12(6):403–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5100674/>
117. Sarcopenia: An Undiagnosed Condition in Older Adults. Current Consensus Definition: Prevalence, Etiology, and Consequences - PMC [Internet]. [cited 2022 Apr 11]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3377163/>

118. Muscaritoli M, Anker SD, Argilés J, Aversa Z, Bauer JM, Biolo G, et al. Consensus definition of sarcopenia, cachexia and pre-cachexia: joint document elaborated by Special Interest Groups (SIG) “cachexia-anorexia in chronic wasting diseases” and “nutrition in geriatrics.” *Clin Nutr*. 2010 Apr;29(2):154–9.
119. Dam TT, Peters KW, Fragala M, Cawthon PM, Harris TB, McLean R, et al. An Evidence-Based Comparison of Operational Criteria for the Presence of Sarcopenia. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* [Internet]. 2014 May [cited 2022 Apr 11];69(5):584–90. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3991139/>
120. Chen LK, Liu LK, Woo J, Assantachai P, Auyeung TW, Bahyah KS, et al. Sarcopenia in Asia: consensus report of the Asian Working Group for Sarcopenia. *J Am Med Dir Assoc*. 2014 Feb;15(2):95–101.
121. Fearon K, Strasser F, Anker SD, Bosaeus I, Bruera E, Fainsinger RL, et al. Definition and classification of cancer cachexia: an international consensus. *Lancet Oncol*. 2011 May;12(5):489–95.
122. Anker SD, Coats AJS, Morley JE, Rosano G, Bernabei R, von Haehling S, et al. Muscle wasting disease: a proposal for a new disease classification. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* [Internet]. 2014 Mar [cited 2022 Apr 11];5(1):1–3. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3953318/>
123. Lieffers JR, Mourtzakis M, Hall KD, McCargar LJ, Prado CM, Baracos VE. A viscerally driven cachexia syndrome in patients with advanced colorectal cancer: contributions of organ and tumor mass to whole-body energy demands<sup>123</sup>. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 2009 Apr [cited 2022 Apr 11];89(4):1173–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2667460/>
124. Muscaritoli M, Lucia S, Molfino A, Cederholm T, Rossi Fanelli F. Muscle atrophy in aging and chronic diseases: is it sarcopenia or cachexia? *Intern Emerg Med*. 2013 Oct;8(7):553–60.
125. Central tenet of cancer cachexia therapy: do patients with advanced cancer have exploitable anabolic potential? - PubMed [Internet]. [cited 2022 Apr 11]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23966429/>
126. Kouw IWK, Groen BBL, Smeets JSJ, Kramer IF, van Kranenburg JMX, Nilwik R, et al. One Week of Hospitalization Following Elective Hip Surgery Induces Substantial Muscle Atrophy in Older Patients. *J Am Med Dir Assoc*. 2019 Jan;20(1):35–42.
127. Wall BT, Dirks ML, Snijders T, Senden JMG, Dolmans J, van Loon LJC. Substantial skeletal muscle loss occurs during only 5 days of disuse. *Acta Physiol (Oxf)*. 2014 Mar;210(3):600–11.
128. Meza-Valderrama D, Marco E, Dávalos-Yerovi V, Muns MD, Tejero-Sánchez M, Duarte E, et al. Sarcopenia, Malnutrition, and Cachexia: Adapting Definitions and Terminology of Nutritional Disorders in Older People with Cancer. *Nutrients* [Internet]. 2021 Feb 26 [cited 2022 Mar 15];13(3):761. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7996854/>
129. Cederholm T, Bosaeus I, Barazzoni R, Bauer J, Van Gossum A, Klek S, et al. Diagnostic criteria for malnutrition - An ESPEN Consensus Statement. *Clin Nutr*. 2015 Jun;34(3):335–40.
130. Cederholm T, Barazzoni R, Austin P, Ballmer P, Biolo G, Bischoff SC, et al. ESPEN guidelines on definitions and terminology of clinical nutrition. *Clin Nutr*. 2017 Feb;36(1):49–64.

131. White JV, Guenter P, Jensen G, Malone A, Schofield M, Academy Malnutrition Work Group, et al. Consensus statement: Academy of Nutrition and Dietetics and American Society for Parenteral and Enteral Nutrition: characteristics recommended for the identification and documentation of adult malnutrition (undernutrition). *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2012 May;36(3):275–83.
132. Bauer JM, Kaiser MJ, Anthony P, Guigoz Y, Sieber CC. The Mini Nutritional Assessment--its history, today's practice, and future perspectives. *Nutr Clin Pract.* 2008;23(4):388–96.
133. Cederholm T, Jensen GL, Correia MITD, Gonzalez MC, Fukushima R, Higashiguchi T, et al. GLIM criteria for the diagnosis of malnutrition - A consensus report from the global clinical nutrition community. *Clin Nutr.* 2019 Feb;38(1):1–9.
134. Argilés JM, López-Soriano FJ, Busquets S. Mechanisms and treatment of cancer cachexia. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2013 Dec;23 Suppl 1:S19-24.
135. Evans WJ, Morley JE, Argilés J, Bales C, Baracos V, Guttridge D, et al. Cachexia: a new definition. *Clin Nutr.* 2008 Dec;27(6):793–9.
136. Fearon K, Strasser F, Anker SD, Bosaeus I, Bruera E, Fainsinger RL, et al. Definition and classification of cancer cachexia: an international consensus. *The Lancet Oncology* [Internet]. 2011 May 1 [cited 2021 Jul 21];12(5):489–95. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1470204510702187>
137. Gingrich A, Volkert D, Kiesswetter E, Thomanek M, Bach S, Sieber CC, et al. Prevalence and overlap of sarcopenia, frailty, cachexia and malnutrition in older medical inpatients. *BMC Geriatr.* 2019 Apr 27;19(1):120.
138. Zopf Y, Schink K, Reljic D, Herrmann HJ, Dieterich W, Kiesswetter E, et al. Assessing cachexia in older patients: Different definitions - But which one is the most practical for clinical routine? *Arch Gerontol Geriatr.* 2020 Feb;86:103943.
139. Buentzel J, Heinz J, Bleckmann A, Bauer C, Röver C, Bohnenberger H, et al. Sarcopenia as Prognostic Factor in Lung Cancer Patients: A Systematic Review and Meta-analysis. *Anticancer Res.* 2019 Sep;39(9):4603–12.
140. Peterson SJ, Mozer M. Differentiating Sarcopenia and Cachexia Among Patients With Cancer. *Nutr Clin Pract.* 2017 Feb;32(1):30–9.
141. Jensen GL, Cederholm T. The malnutrition overlap syndromes of cachexia and sarcopenia: a malnutrition conundrum. *Am J Clin Nutr.* 2018 Dec 1;108(6):1157–8.
142. Miller J, Wells L, Nwulu U, Currow D, Johnson MJ, Skipworth RJE. Validated screening tools for the assessment of cachexia, sarcopenia, and malnutrition: a systematic review. *Am J Clin Nutr.* 2018 Dec 1;108(6):1196–208.
143. Dunne RF, Loh KP, Williams GR, Jatoi A, Mustian KM, Mohile SG. Cachexia and Sarcopenia in Older Adults with Cancer: A Comprehensive Review. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2019 Nov 25 [cited 2021 Feb 9];11(12). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6966439/>

144. Argilés JM, Anker SD, Evans WJ, Morley JE, Fearon KCH, Strasser F, et al. Consensus on cachexia definitions. *J Am Med Dir Assoc*. 2010 May;11(4):229–30.
145. Beaudart C, Sanchez-Rodriguez D, Locquet M, Reginster JY, Lengelé L, Bruyère O. Malnutrition as a Strong Predictor of the Onset of Sarcopenia. *Nutrients*. 2019 Nov 27;11(12):E2883.
146. Ibrahim K, May C, Patel HP, Baxter M, Sayer AA, Roberts H. A feasibility study of implementing grip strength measurement into routine hospital practice (GRImP): study protocol. *Pilot Feasibility Stud* [Internet]. 2016 Jun 6 [cited 2022 Jun 11];2:27. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5154137/>
147. Leong DP, Teo KK, Rangarajan S, Lopez-Jaramillo P, Avezum A, Orlandini A, et al. Prognostic value of grip strength: findings from the Prospective Urban Rural Epidemiology (PURE) study. *Lancet*. 2015 Jul 18;386(9990):266–73.
148. Roberts HC, Denison HJ, Martin HJ, Patel HP, Syddall H, Cooper C, et al. A review of the measurement of grip strength in clinical and epidemiological studies: towards a standardised approach. *Age Ageing*. 2011 Jul;40(4):423–9.
149. Rossi AP, Fantin F, Micciolo R, Bertocchi M, Bertassello P, Zanandrea V, et al. Identifying sarcopenia in acute care setting patients. *J Am Med Dir Assoc*. 2014 Apr;15(4):303.e7-12.
150. Beaudart C, McCloskey E, Bruyère O, Cesari M, Rolland Y, Rizzoli R, et al. Sarcopenia in daily practice: assessment and management. *BMC Geriatr* [Internet]. 2016 Oct 5 [cited 2022 Jun 11];16:170. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5052976/>
151. Sipers WMWH, Verdijk LB, Sipers SJE, Schols JMGA, van Loon LJC. The Martin Vigorimeter Represents a Reliable and More Practical Tool Than the Jamar Dynamometer to Assess Handgrip Strength in the Geriatric Patient. *J Am Med Dir Assoc*. 2016 May 1;17(5):466.e1-7.
152. Francis P, Toomey C, Mc Cormack W, Lyons M, Jakeman P. Measurement of maximal isometric torque and muscle quality of the knee extensors and flexors in healthy 50- to 70-year-old women. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2017 July;37(4):448–55.
153. Maden-Wilkinson TM, Degens H, Jones DA, McPhee JS. Comparison of MRI and DXA to measure muscle size and age-related atrophy in thigh muscles. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2013 Sep;13(3):320–8.
154. Buckinx F, Landi F, Cesari M, Fielding RA, Visser M, Engelke K, et al. Pitfalls in the measurement of muscle mass: a need for a reference standard. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* [Internet]. 2018 Apr [cited 2022 Jun 11];9(2):269–78. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5879987/>
155. Differences among skeletal muscle mass indices derived from height-, weight-, and body mass index-adjusted models in assessing sarcopenia - PMC [Internet]. [cited 2022 Jun 11]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4939509/>

156. Beaudart C, Rolland Y, Cruz-Jentoft AJ, Bauer JM, Sieber C, Cooper C, et al. Assessment of Muscle Function and Physical Performance in Daily Clinical Practice. *Calcif Tissue Int* [Internet]. 2019 July 1 [cited 2022 Jun 11];105(1):1–14. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00223-019-00545-w>
157. Bruyère O, Beaudart C, Reginster JY, Buckinx F, Schoene D, Hirani V, et al. Assessment of muscle mass, muscle strength and physical performance in clinical practice: An international survey. *European Geriatric Medicine* [Internet]. 2016 Jun 1 [cited 2022 Jun 11];7(3):243–6. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878764915002430>
158. The timed “Up & Go”: a test of basic functional mobility for frail elderly persons - PubMed [Internet]. [cited 2022 Jun 11]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1991946/>
159. Cesari M, Kritchevsky SB, Newman AB, Simonsick EM, Harris TB, Penninx BW, et al. Added Value of Physical Performance Measures in Predicting Adverse Health-Related Events: Results from the Health, Aging, and Body Composition Study. *J Am Geriatr Soc* [Internet]. 2009 Feb [cited 2022 Jun 11];57(2):251–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2695653/>
160. Mourtzakis M, Prado CMM, Lieffers JR, Reiman T, McCargar LJ, Baracos VE. A practical and precise approach to quantification of body composition in cancer patients using computed tomography images acquired during routine care. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2008 Oct;33(5):997–1006.
161. Fearon K, Strasser F, Anker SD, Bosaeus I, Bruera E, Fainsinger RL, et al. Definition and classification of cancer cachexia: an international consensus. *Lancet Oncol*. 2011 May;12(5):489–95.
162. Baracos V, Kazemi-Bajestani SMR. Clinical outcomes related to muscle mass in humans with cancer and catabolic illnesses. *Int J Biochem Cell Biol*. 2013 Oct;45(10):2302–8.
163. Kim EY, Kim YS, Park I, Ahn HK, Cho EK, Jeong YM. Prognostic Significance of CT-Determined Sarcopenia in Patients with Small-Cell Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2015 Dec;10(12):1795–9.
164. Schweitzer L, Geisler C, Pourhassan M, Braun W, Glüer CC, Bosity-Westphal A, et al. What is the best reference site for a single MRI slice to assess whole-body skeletal muscle and adipose tissue volumes in healthy adults? *Am J Clin Nutr*. 2015 Jul;102(1):58–65.
165. Measurement of skeletal muscle radiation attenuation and basis of its biological variation - Aubrey - 2014 - *Acta Physiologica* - Wiley Online Library [Internet]. [cited 2024 Jan 13]. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/apha.12224>
166. Donini LM, Busetto L, Bischoff SC, Cederholm T, Ballesteros-Pomar MD, Batsis JA, et al. Definition and Diagnostic Criteria for Sarcopenic Obesity: ESPEN and EASO Consensus Statement. *Obes Facts* [Internet]. 2022 Feb 23 [cited 2024 Jan 15];15(3):321–35. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9210010/>
167. Barazzoni R, Bischoff S, Boirie Y, Busetto L, Cederholm T, Dicker D, et al. Sarcopenic Obesity: Time to Meet the Challenge. *Obes Facts* [Internet]. 2018 Sep [cited 2024 Jan 15];11(4):294–305. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6189532/>

168. Hong S hyeon, Choi KM. Sarcopenic Obesity, Insulin Resistance, and Their Implications in Cardiovascular and Metabolic Consequences. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2020 Jan 13 [cited 2024 Jan 15];21(2):494. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7013734/>
169. Guillet C, Masgrau A, Walrand S, Boirie Y. Impaired protein metabolism: interlinks between obesity, insulin resistance and inflammation. *Obes Rev*. 2012 Dec;13 Suppl 2:51–7.
170. Villareal D, Shah K. Obesity in Older Adults – A Growing Problem. In: *Nutrition and health: handbook of clinical nutrition and aging*. 2009. p. 1–15.
171. Bauer JM, Cruz-Jentoft AJ, Fielding RA, Kanis JA, Reginster JY, Bruyère O, et al. Is There Enough Evidence for Osteosarcopenic Obesity as a Distinct Entity? A Critical Literature Review. *Calcif Tissue Int*. 2019 Aug;105(2):109–24.
172. Atkins JL, Wannamathee SG. Sarcopenic obesity in ageing: cardiovascular outcomes and mortality. *Br J Nutr*. 2020 Nov 28;124(10):1102–13.
173. Peng TC, Chen WL, Chen YY, Chao YP, Wu LW, Kao TW. Associations between different measurements of sarcopenic obesity and health outcomes among non-frail community-dwelling older adults in Taiwan. *Br J Nutr*. 2021 Dec 14;126(11):1749–57.
174. Saâda-Bouzd E, Defaucheux C, Karabajakian A, Coloma VP, Servois V, Paoletti X, et al. Hyperprogression during anti-PD-1/PD-L1 therapy in patients with recurrent and/or metastatic head and neck squamous cell carcinoma. *Ann Oncol*. 2017 Jul 1;28(7):1605–11.
175. Kato S, Goodman A, Walavalkar V, Barkauskas DA, Sharabi A, Kurzrock R. Hyper-progressors after Immunotherapy: Analysis of Genomic Alterations Associated with Accelerated Growth Rate. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2017 Aug 1 [cited 2023 Oct 2];23(15):4242–50. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5647162/>
176. Ea E, P T, J B, Lh S, D S, R F, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)* [Internet]. 2009 Jan [cited 2023 Mar 7];45(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19097774/>
177. Matos I, Martin-Liberal J, García-Ruiz A, Hierro C, Ochoa de Olza M, Viaplana C, et al. Capturing Hyperprogressive Disease with Immune-Checkpoint Inhibitors Using RECIST 1.1 Criteria. *Clin Cancer Res*. 2020 Apr 15;26(8):1846–55.
178. Seymour L, Bogaerts J, Perrone A, Ford R, Schwartz LH, Mandrekar S, et al. iRECIST: guidelines for response criteria for use in trials testing immunotherapeutics. *Lancet Oncol* [Internet]. 2017 Mar [cited 2024 Mar 4];18(3):e143–52. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5648544/>
179. Nishioka N, Uchino J, Hirai S, Katayama Y, Yoshimura A, Okura N, et al. Association of Sarcopenia with and Efficacy of Anti-PD-1/PD-L1 Therapy in Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Med*. 2019 Apr 3;8(4).

180. Kitamura I, Koda M, Otsuka R, Ando F, Shimokata H. Six-year longitudinal changes in body composition of middle-aged and elderly Japanese: age and sex differences in appendicular skeletal muscle mass. *Geriatr Gerontol Int*. 2014 Apr;14(2):354–61.
181. Longitudinal muscle strength changes in older adults: influence of muscle mass, physical activity, and health - PubMed [Internet]. [cited 2022 Apr 11]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11320101/>
182. Goodpaster BH, Park SW, Harris TB, Kritchevsky SB, Nevitt M, Schwartz AV, et al. The loss of skeletal muscle strength, mass, and quality in older adults: the health, aging and body composition study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2006 Oct;61(10):1059–64.
183. Shachar SS, Williams GR, Muss HB, Nishijima TF. Prognostic value of sarcopenia in adults with solid tumours: A meta-analysis and systematic review. *Eur J Cancer*. 2016 Apr;57:58–67.
184. Prado CMM, Heymsfield SB. Lean Tissue Imaging. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* [Internet]. 2014 [cited 2024 Jan 12];38(8):940–53. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1177/0148607114550189>
185. Lin TY, Chen YF, Wu WT, Han DS, Tsai IC, Chang KV, et al. Impact of sarcopenia on the prognosis and treatment of lung cancer: an umbrella review. *Discover Oncol* [Internet]. 2022 Oct 28 [cited 2024 Jan 9];13:115. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9616989/>
186. Wakefield CJ, Lund N, Coughlin J, Karush JM, Geissen N, Alex G, et al. The association between thoracic sarcopenia and survival is gender specific in early-stage lung cancer. *Journal of Thoracic Disease* [Internet]. 2022 Nov [cited 2024 Jan 9];14(11). Available from: <https://jtd.amegroups.org/article/view/69409>
187. Wang K, Long W, Sima X, Zhao Y, Xiao B, Gulizeba H, et al. Sarcopenia defined by skeletal muscle mass index at the third lumbar vertebra is a prognostic factor for extensive-stage small cell lung cancer patients: a retrospective study. *Journal of Thoracic Disease* [Internet]. 2022 Jul [cited 2024 Jan 9];14(7). Available from: <https://jtd.amegroups.org/article/view/66546>
188. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer Statistics, 2021. *CA Cancer J Clin*. 2021 Jan;71(1):7–33.
189. Villaseñor A, Ballard-Barbash R, Baumgartner K, Baumgartner R, Bernstein L, McTiernan A, et al. Prevalence and prognostic effect of sarcopenia in breast cancer survivors: the HEAL Study. *J Cancer Surviv*. 2012 Dec;6(4):398–406.
190. Stene GB, Helbostad JL, Amundsen T, Sørhaug S, Hjelde H, Kaasa S, et al. Changes in skeletal muscle mass during palliative chemotherapy in patients with advanced lung cancer. *Acta Oncol*. 2015 Mar;54(3):340–8.
191. Dodson S, Baracos VE, Jatoi A, Evans WJ, Cella D, Dalton JT, et al. Muscle wasting in cancer cachexia: clinical implications, diagnosis, and emerging treatment strategies. *Annu Rev Med*. 2011;62:265–79.
192. Zhao W yu, Zhang Y, Hou L sha, Xia X, Ge M ling, Liu X lei, et al. The association between systemic inflammatory markers and sarcopenia: Results from the West China Health and Aging Trend Study (WCHAT).

Archives of Gerontology and Geriatrics [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2024 Jan 15];92:104262. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167494320302594>

193. Shaul ME, Fridlender ZG. Tumour-associated neutrophils in patients with cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. 2019 Oct;16(10):601–20.

194. Ren Y, Wang Q, Xu C, Guo Q, Dai R, Xu X, et al. Combining Classic and Novel Neutrophil-Related Biomarkers to Identify Non-Small-Cell Lung Cancer. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2024 Jan 25 [cited 2024 Mar 3];16(3):513. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10854517/>

195. Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2013 Mar;13(3):159–75.

196. Hedrick CC, Malanchi I. Neutrophils in cancer: heterogeneous and multifaceted. *Nat Rev Immunol*. 2022 Mar;22(3):173–87.

197. Ruan GT, Ge YZ, Xie HL, Hu CL, Zhang Q, Zhang X, et al. Association Between Systemic Inflammation and Malnutrition With Survival in Patients With Cancer Sarcopenia—A Prospective Multicenter Study. *Front Nutr* [Internet]. 2022 Feb 7 [cited 2024 Mar 3];8:811288. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8859438/>

198. Collins JT, Noble S, Chester J, Davies HE, Evans WD, Lester J, et al. Association of sarcopenia and observed physical performance with attainment of multidisciplinary team planned treatment in non-small cell lung cancer: an observational study protocol. *BMC Cancer* [Internet]. 2015 Jul 24 [cited 2022 Apr 12];15:544. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4513758/>

199. Buccheri G, Ferrigno D, Tamburini M. Karnofsky and ECOG performance status scoring in lung cancer: a prospective, longitudinal study of 536 patients from a single institution. *Eur J Cancer*. 1996 Jun;32A(7):1135–41.

200. O’Connell JP, Kris MG, Gralla RJ, Groshen S, Trust A, Fiore JJ, et al. Frequency and prognostic importance of pretreatment clinical characteristics in patients with advanced non-small-cell lung cancer treated with combination chemotherapy. *J Clin Oncol*. 1986 Nov;4(11):1604–14.

201. Prado CMM, Lieffers JR, McCargar LJ, Reiman T, Sawyer MB, Martin L, et al. Prevalence and clinical implications of sarcopenic obesity in patients with solid tumours of the respiratory and gastrointestinal tracts: a population-based study. *Lancet Oncol*. 2008 Jul;9(7):629–35.

202. Mir O, Coriat R, Blanchet B, Durand JP, Boudou-Rouquette P, Michels J, et al. Sarcopenia Predicts Early Dose-Limiting Toxicities and Pharmacokinetics of Sorafenib in Patients with Hepatocellular Carcinoma. *PLoS One* [Internet]. 2012 May 30 [cited 2022 Apr 12];7(5):e37563. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3364283/>

203. Huillard O, Mir O, Peyromaure M, Tlemsani C, Giroux J, Boudou-Rouquette P, et al. Sarcopenia and body mass index predict sunitinib-induced early dose-limiting toxicities in renal cancer patients. *Br J Cancer* [Internet]. 2013 Mar 19 [cited 2022 Apr 12];108(5):1034–41. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3619075/>

204. Prado CMM, Baracos VE, McCargar LJ, Reiman T, Mourtzakis M, Tonkin K, et al. Sarcopenia as a determinant of chemotherapy toxicity and time to tumor progression in metastatic breast cancer patients receiving capecitabine treatment. *Clin Cancer Res*. 2009 Apr 15;15(8):2920–6.
205. Cortellini A, Palumbo P, Porzio G, Verna L, Giordano AV, Masciocchi C, et al. Single-institution study of correlations between skeletal muscle mass, its density, and clinical outcomes in non-small cell lung cancer patients treated with first-line chemotherapy. *Thorac Cancer* [Internet]. 2018 Dec [cited 2022 Apr 13];9(12):1623–30. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6275826/>
206. Nie X, Zhang P, Gao J, Cheng G, Liu W, Li L. Sarcopenia as a predictor of initial administration dose of afatinib in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Thorac Cancer* [Internet]. 2021 Jun [cited 2022 Apr 12];12(12):1824–30. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8201527/>
207. Snyder A, Makarov V, Merghoub T, Yuan J, Zaretsky JM, Desrichard A, et al. Genetic basis for clinical response to CTLA-4 blockade in melanoma. *N Engl J Med*. 2014 Dec 4;371(23):2189–99.
208. Wherry EJ. T cell exhaustion. *Nat Immunol*. 2011 Jun;12(6):492–9.
209. Nelke C, Dziewas R, Minnerup J, Meuth SG, Ruck T. Skeletal muscle as potential central link between sarcopenia and immune senescence. *EBioMedicine*. 2019 Nov;49:381–8.
210. Schnyder S, Handschin C. Skeletal muscle as an endocrine organ: PGC-1 $\alpha$ , myokines and exercise. *Bone*. 2015 Nov;80:115–25.
211. Nardone OM, de Sire R, Petito V, Testa A, Villani G, Scaldaferrri F, et al. Inflammatory Bowel Diseases and Sarcopenia: The Role of Inflammation and Gut Microbiota in the Development of Muscle Failure. *Frontiers in Immunology* [Internet]. 2021 [cited 2022 Apr 13];12. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2021.694217>
212. The gut microbiome and efficacy of cancer immunotherapy - ScienceDirect [Internet]. [cited 2022 Apr 13]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0163725821001753?via%3Dihub>
213. Cortellini A, Verna L, Porzio G, Bozzetti F, Palumbo P, Masciocchi C, et al. Predictive value of skeletal muscle mass for immunotherapy with nivolumab in non-small cell lung cancer patients: A “hypothesis-generator” preliminary report. *Thorac Cancer* [Internet]. 2019 Feb [cited 2022 Apr 14];10(2):347–51. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6360197/>
214. Wang J, Cao L, Xu S. Sarcopenia affects clinical efficacy of immune checkpoint inhibitors in non-small cell lung cancer patients: A systematic review and meta-analysis. *Int Immunopharmacol*. 2020 Nov;88:106907.
215. Haik L, Gonthier A, Quivy A, Gross-goupil M, Veillon R, Frison E, et al. The impact of sarcopenia on the efficacy and safety of immune checkpoint inhibitors in patients with solid tumours. *Acta Oncologica* [Internet]. 2021 Dec 2 [cited 2022 Apr 13];60(12):1597–603. Available from: <https://doi.org/10.1080/0284186X.2021.1978540>

216. Lee D, Kim NW, Kim JY, Lee JH, Noh JH, Lee H, et al. Sarcopenia's Prognostic Impact on Patients Treated with Immune Checkpoint Inhibitors: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Med* [Internet]. 2021 Nov 16 [cited 2022 Apr 14];10(22):5329. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8622936/>
217. Martin L, Birdsell L, Macdonald N, Reiman T, Clandinin MT, McCargar LJ, et al. Cancer cachexia in the age of obesity: skeletal muscle depletion is a powerful prognostic factor, independent of body mass index. *J Clin Oncol*. 2013 Apr 20;31(12):1539–47.
218. Loss of Muscle Mass Is a Novel Predictor of Postoperative Early Recurrence in N2-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer - PMC [Internet]. [cited 2022 Apr 12]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6033530/>
219. B S, Bh G, T WL, Ve B, Mj H, N A, et al. Skeletal muscle radiodensity is prognostic for survival in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)* [Internet]. 2016 Dec [cited 2022 Apr 13];35(6). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27102408/>
220. Kimura M, Naito T, Kenmotsu H, Taira T, Wakuda K, Oyakawa T, et al. Prognostic impact of cancer cachexia in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Support Care Cancer*. 2015 Jun;23(6):1699–708.
221. Rossi S, Di Noia V, Tonetti L, Strippoli A, Basso M, Schinzari G, et al. Does sarcopenia affect outcome in patients with non-small-cell lung cancer harboring EGFR mutations? *Future Oncol*. 2018 Apr;14(10):919–26.
222. Takamori S, Toyokawa G, Okamoto T, Shimokawa M, Kinoshita F, Kozuma Y, et al. Clinical Impact and Risk Factors for Skeletal Muscle Loss After Complete Resection of Early Non-small Cell Lung Cancer. *Annals of Surgical Oncology* [Internet]. 2018 May 1 [cited 2022 Apr 11];25(5):1229–36. Available from: <http://www.scopus.com/inward/record.url?scp=85040328477&partnerID=8YFLogxK>
223. Deng HY, Hou L, Zha P, Huang KL, Peng L. Sarcopenia is an independent unfavorable prognostic factor of non-small cell lung cancer after surgical resection: A comprehensive systematic review and meta-analysis. *European Journal of Surgical Oncology* [Internet]. 2019 May 1 [cited 2022 Apr 12];45(5):728–35. Available from: [https://www.ejso.com/article/S0748-7983\(18\)31446-X/fulltext](https://www.ejso.com/article/S0748-7983(18)31446-X/fulltext)
224. Nakamura R, Inage Y, Tobita R, Yoneyama S, Numata T, Ota K, et al. Sarcopenia in Resected NSCLC: Effect on Postoperative Outcomes. *Journal of Thoracic Oncology* [Internet]. 2018 Jul 1 [cited 2021 Jul 21];13(7):895–903. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1556086418305975>
225. Clinical implications of sarcopenia in patients undergoing complete resection for early non-small cell lung cancer - PubMed [Internet]. [cited 2022 Apr 12]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27794415/>
226. Tsukioka T, Izumi N, Mizuguchi S, Kyukwang C, Komatsu H, Toda M, et al. Positive correlation between sarcopenia and elevation of neutrophil/lymphocyte ratio in pathological stage IIIA (N2-positive) non-small cell lung cancer patients. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*. 2018;66(12):716–22.

227. Kim EY, Lee HY, Kim KW, Lee JI, Kim YS, Choi WJ, et al. Preoperative Computed Tomography-Determined Sarcopenia and Postoperative Outcome After Surgery for Non-Small Cell Lung Cancer. *Scand J Surg*. 2018 Sep;107(3):244–51.
228. Relationship Between Preoperative Sarcopenia Status and Immuno-nutritional Parameters in Patients with Early-stage Non-small Cell Lung Cancer - PubMed [Internet]. [cited 2022 Apr 12]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29187486/>
229. Bar-Ad V, Palmer J, Li L, Lai Y, Lu B, Myers RE, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio associated with prognosis of lung cancer. *Clin Transl Oncol*. 2017 Jun;19(6):711–7.
230. Kim EY, Kim YS, Seo JY, Park I, Ahn HK, Jeong YM, et al. The Relationship between Sarcopenia and Systemic Inflammatory Response for Cancer Cachexia in Small Cell Lung Cancer. *PLoS One* [Internet]. 2016 Aug 18 [cited 2022 Apr 12];11(8):e0161125. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4990336/>
231. Li Y, Chen T, Nie TY, Han J, He Y, Tang X, et al. Hyperprogressive disease in non-small cell lung cancer after PD-1/PD-L1 inhibitors immunotherapy: underlying killer. *Front Immunol* [Internet]. 2023 May 22 [cited 2024 Mar 4];14:1200875. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10239849/>
232. Ferrara R, Mezquita L, Texier M, Lahmar J, Audigier-Valette C, Tessonier L, et al. Hyperprogressive Disease in Patients With Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Treated With PD-1/PD-L1 Inhibitors or With Single-Agent Chemotherapy. *JAMA Oncol* [Internet]. 2018 Nov [cited 2021 Feb 6];4(11):1543–52. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6248085/>
233. Wang X, Wang F, Zhong M, Yarden Y, Fu L. The biomarkers of hyperprogressive disease in PD-1/PD-L1 blockage therapy. *Mol Cancer* [Internet]. 2020 May 2 [cited 2024 Mar 4];19:81. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7195736/>
234. Kim MJ, Hong SPD, Park Y, Chae YK. Incidence of immunotherapy-related hyperprogressive disease (HPD) across HPD definitions and cancer types in observational studies: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Med* [Internet]. 2024 Feb 24 [cited 2024 Mar 4];13(3):e6970. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10891462/>
235. Kim Y, Kim CH, Lee HY, Lee SH, Kim HS, Lee S, et al. Comprehensive Clinical and Genetic Characterization of Hyperprogression Based on Volumetry in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Treated With Immune Checkpoint Inhibitor. *Journal of Thoracic Oncology* [Internet]. 2019 Sep 1 [cited 2024 Mar 4];14(9):1608–18. Available from: [https://www.jto.org/article/S1556-0864\(19\)30454-X/fulltext#secsectitle0045](https://www.jto.org/article/S1556-0864(19)30454-X/fulltext#secsectitle0045)
236. Papadopetraki A, Giannopoulos A, Maridaki M, Zagouri F, Droufakou S, Koutsilieris M, et al. The Role of Exercise in Cancer-Related Sarcopenia and Sarcopenic Obesity. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2023 Dec 15 [cited 2024 Mar 6];15(24):5856. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10741686/>
237. Schmitz KH, Stout NL, Maitlin-Shepard M, Campbell A, Schwartz AL, Grimmitt C, et al. Moving Through Cancer: Setting the agenda to make exercise standard in oncology practice. *Cancer* [Internet]. 2021 Feb 1 [cited 2024 Apr 21];127(3):476–84. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7899181/>

238. Exercise Guidelines for Cancer Survivors: Consensus statement from International Multidisciplinary Roundtable - PMC [Internet]. [cited 2024 Apr 21]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8576825/>
239. Marzetti E, Calvani R, Tosato M, Cesari M, Di Bari M, Cherubini A, et al. Physical activity and exercise as countermeasures to physical frailty and sarcopenia. *Aging Clin Exp Res*. 2017 Feb;29(1):35–42.
240. Mavropalias G, Sim M, Taaffe DR, Galvão DA, Spry N, Kraemer WJ, et al. Exercise medicine for cancer cachexia: targeted exercise to counteract mechanisms and treatment side effects. *J Cancer Res Clin Oncol* [Internet]. 2022 [cited 2024 Apr 21];148(6):1389–406. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9114058/>
241. Nonuniform loss of muscle strength and atrophy during bed rest: a systematic review - PMC [Internet]. [cited 2024 Apr 21]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8325614/>
242. Adams SC, Segal RJ, McKenzie DC, Vallerand JR, Morielli AR, Mackey JR, et al. Impact of resistance and aerobic exercise on sarcopenia and dynapenia in breast cancer patients receiving adjuvant chemotherapy: a multicenter randomized controlled trial. *Breast Cancer Res Treat*. 2016 Aug;158(3):497–507.
243. Dawson JK, Dorff TB, Todd Schroeder E, Lane CJ, Gross ME, Dieli-Conwright CM. Impact of resistance training on body composition and metabolic syndrome variables during androgen deprivation therapy for prostate cancer: a pilot randomized controlled trial. *BMC Cancer* [Internet]. 2018 Apr 3 [cited 2024 Apr 21];18:368. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5883585/>
244. Dieli-Conwright CM, Courneya KS, Demark-Wahnefried W, Sami N, Lee K, Buchanan TA, et al. Effects of Aerobic and Resistance Exercise on Metabolic Syndrome, Sarcopenic Obesity, and Circulating Biomarkers in Overweight or Obese Survivors of Breast Cancer: A Randomized Controlled Trial. *J Clin Oncol* [Internet]. 2018 Mar 20 [cited 2024 Apr 21];36(9):875–83. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5858524/>
245. Koya S, Kawaguchi T, Hashida R, Hirota K, Bekki M, Goto E, et al. Effects of in-hospital exercise on sarcopenia in hepatoma patients who underwent transcatheter arterial chemoembolization. *J Gastroenterol Hepatol*. 2019 Mar;34(3):580–8.
246. Ali S, Garcia JM. Sarcopenia, cachexia and aging: diagnosis, mechanisms and therapeutic options - a mini-review. *Gerontology*. 2014;60(4):294–305.
247. Calvani R, Miccheli A, Landi F, Bossola M, Cesari M, Leeuwenburgh C, et al. Current nutritional recommendations and novel dietary strategies to manage sarcopenia. *J Frailty Aging*. 2013;2(1):38–53.
248. Liu D, Wang S, Liu S, Wang Q, Che X, Wu G. Frontiers in sarcopenia: Advancements in diagnostics, molecular mechanisms, and therapeutic strategies. *Molecular Aspects of Medicine* [Internet]. 2024 Jun 1 [cited 2024 Apr 21];97:101270. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0098299724000293>

249. Nutrients | Free Full-Text | Identification and Characterization of Genomic Predictors of Sarcopenia and Sarcopenic Obesity Using UK Biobank Data [Internet]. [cited 2024 Apr 21]. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/15/3/758>
250. Nakahara S, Takasaki M, Abe S, Kakitani C, Nishioka S, Wakabayashi H, et al. Aggressive nutrition therapy in malnutrition and sarcopenia. *Nutrition* [Internet]. 2021 Apr 1 [cited 2024 Apr 21];84:111109. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0899900720303920>
251. Nutrients | Free Full-Text | Myoprotective Whole Foods, Muscle Health and Sarcopenia: A Systematic Review of Observational and Intervention Studies in Older Adults [Internet]. [cited 2024 Apr 21]. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/12/8/2257>
252. Nutrients | Free Full-Text | Effects of Omega-3 Supplementation Alone and Combined with Resistance Exercise on Skeletal Muscle in Older Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis [Internet]. [cited 2024 Apr 21]. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/14/11/2221>
253. Leśniak W, Bała M, Jaeschke R, Krzakowski M. Effects of megestrol acetate in patients with cancer anorexia-cachexia syndrome--a systematic review and meta-analysis. *Pol Arch Med Wewn.* 2008 Nov;118(11):636–44.
254. Rolland Y, Onder G, Morley JE, Gillette-Guyonet S, Abellan van Kan G, Vellas B. Current and future pharmacologic treatment of sarcopenia. *Clin Geriatr Med.* 2011 Aug;27(3):423–47.
255. Sarcopenia and change in body composition following maximal androgen suppression with abiraterone in men with castration-resistant prostate cancer | *British Journal of Cancer* [Internet]. [cited 2024 Apr 21]. Available from: <https://www.nature.com/articles/bjc2013340>
256. Testosterone therapy induces molecular programming augmenting physiological adaptations to resistance exercise in older men - Gharahdaghi - 2019 - *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle* - Wiley Online Library [Internet]. [cited 2024 Apr 21]. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jcsm.12472>
257. Development of selective androgen receptor modulators (SARMs) - ScienceDirect [Internet]. [cited 2024 Apr 21]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0303720717303404>
258. A novel selective androgen receptor modulator, NEP28, is efficacious in muscle and brain without serious side effects on prostate - ScienceDirect [Internet]. [cited 2024 Apr 21]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014299913008030>
259. A selective androgen receptor modulator SARM-2f activates androgen receptor, increases lean body mass, and suppresses blood lipid levels in cynomolgus monkeys - Morimoto - 2020 - *Pharmacology Research & Perspectives* - Wiley Online Library [Internet]. [cited 2024 Apr 21]. Available from: <https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/prp2.563>
260. Reid J, Mills M, Cantwell MM, Cardwell CR, Murray LJ, Donnelly M. Thalidomide for managing cancer cachexia. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2012 Apr 18 [cited 2024 Apr 21];2012(4):CD008664. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6353113/>

261. Саркопения – едно ново предизвикателство | Българско дружество по ендокринология [Internet]. [cited 2025 Mar 5]. Available from: <https://endo-bg.com/sarkopeniya-edno-novo-predizvikatelstvo/>
262. Markova D, Valchev G. Imaging methods used in diagnosing sarcopenia. *vmf*. 2023 Jan 23;12(1):12.
263. Сравнителен анализ на саркопения и нейните компоненти (мускулна сила, мускулна маса и физическо представяне) сред жени с новодиагностициран хипертиреозидизъм и такива, провеждащи тиреостатична терапия | Българско дружество по ендокринология [Internet]. [cited 2025 Mar 5]. Available from: <https://endo-bg.com/sravnitelen-analiz-na-sarkopeniya-i-nejnite-komponenti-muskulna-sila-muskulna-masa-i-fizichesko-predstaviane-sred-zheni-s-novodiagnostitsiran-hipertireoidizam-i-takiva-provezhdashti-tireostatichter/>
264. Zhelev K, Petrov I, Cholakova M, Hristova MM. Sarcopenia as an independent prognostic indicator in patients with non-small cell lung cancer with brain metastases treated with Gamma Knife radiosurgery. *KXO* [Internet]. 2023 Aug 4 [cited 2025 Mar 5];3(1). Available from: <https://oncojournal.eu/index.php/journal/article/view/32>