

**СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**

**ДЕРЖАВНЕ НЕКОМЕРЦІЙНЕ ПІДПРИЄМСТВО  
«НАЦІОНАЛЬНИЙ ІНСТИТУТ РАКУ»  
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**

Кваліфікована наукова праця  
на правах рукопису

**МОСКАЛЕНКО ЮЛІЯ ВАСИЛІВНА**

**УДК: 616.24-006-085.27.37(043.5)**

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**ПРЕДИКТОРИ ЕФЕКТИВНОСТІ ІНГІБІТОРІВ ІМУННИХ  
КОНТРОЛЬНИХ ТОЧОК У ХВОРИХ НА НЕДРІБНОКЛІТИННИЙ РАК  
ЛЕГЕНЬ**

**14.01.07 – онкологія  
22 – охорона здоров'я  
222 – медицина**

**Подається на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук**

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ Ю. В. Москаленко

**Київ 2026**

## АНОТАЦІЯ

*Москаленко Ю. В.* Предиктори ефективності інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на недрібноклітинний рак легень. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.07 – онкологія – Державне некомерційне підприємство «Національний інститут раку», МОЗ України. – Київ, 2026.

Недрібноклітинний рак легень (НДКРЛ) залишається однією з найпоширеніших причин онкологічної смертності у світі, включно з Україною. Попри значні досягнення сучасної імунотерапії, ефективність інгібіторів імунних контрольних точок (ІКТ) істотно варіює між пацієнтами. Ця гетерогенність зумовлена впливом широкого спектра клінічних, імунологічних, морфометричних та генетичних детермінант, які формують індивідуальну чутливість до імунотерапії. Таким чином, виникає нагальна потреба у створенні інтегративних і водночас практичних підходів до прогнозування ефективності ІКТ, що ґрунтуватимуться на поєднанні біомаркерів різних рівнів організації.

З огляду на зазначене, дисертаційну роботу присвячено комплексному багаторівневому аналізу предикторів ефективності імунотерапії, оцінці їх незалежного та комбінованого впливу на виживаність пацієнтів із метастатичним НДКРЛ та побудові персоналізованої прогностичної моделі. Особливу увагу приділено питанням інтеграції клінічних, лабораторних та морфометричних характеристик у зручний цифровий формат, який може бути використаний практичними онкологами. Результатом цього процесу стала розробка цифрової платформи підтримки клінічних рішень IMMUN-LUNG, що дозволяє здійснювати індивідуалізовану оцінку прогнозу і відповіді на ІКТ.

Метою дослідження було виявити незалежні клінічні, морфометричні, імунологічні та молекулярно-генетичні фактори, що впливають на ефективність ІКТ, оцінити їхній взаємозв'язок і на основі цього створити інструмент персоналізованого прогнозування для пацієнтів з метастатичним НДКРЛ.

Для реалізації поставленої мети дослідження виконано у трьох взаємопов'язаних напрямках, кожен з яких відображає певний рівень функціональної організації пухлинного процесу: 1) організовий рівень, що включав оцінку клінічних та системних біомаркерів; 2) пухлинний рівень, де проаналізовано мутаційний та транскриптомний профіль; 3) рівень пухлинного мікрооточення, у межах якого досліджено клітинні та імунні компоненти, що модулюють відповідь на ПКТ.

Для досягнення мети використано методи статистичного аналізу (криві виживаності Каплана–Майєра, регресія Кокса, ROC-аналіз, моделювання сплайнами, бутстреп-ресемплінг), імуногістохімічний аналіз ( $CD8^+$ ,  $FoxP3^+$ ,  $CD163^+/CD68^+$ ,  $STAT6^+$ ), морфометричну оцінку скелетної мускулатури та жирової тканини, генетичне профілювання соматичних мутацій ( $KRAS$ ,  $TP53$ ,  $KEAP1$ ,  $STK11$ ,  $TTN$ ) й аналіз транскриптомних сигнатур, включно з  $IFN\gamma$ -асоційованим генним підписом.

Увагу сучасних дослідників дедалі більше привертає роль системних характеристик організму, які можуть модифікувати ефективність імунотерапії. У дисертаційному дослідженні встановлено клінічну значущість циркадного підходу: ранкові інфузії ПКТ забезпечували достовірно довшу загальну виживаність порівняно з вечірніми (експонований розмір ефекту 2,07;  $p < 0,001$ ).

Вивчення вікових характеристик показало, що пацієнти віком понад 70 років частіше мали імунозалежні побічні реакції ( $p = 0,046$ ), проте загальна виживаність не відрізнялася від молодших груп, що свідчить про відсутність підстав для вікових обмежень застосування ПКТ.

Окрему увагу приділено впливу тютюнової експозиції. У пацієнтів зі стажем  $\geq 28$  пачко-років імунотерапія забезпечувала достовірно кращі результати, зокрема загальну виживаність ( $HR = 0,63$ ;  $p = 0,013$ ), що корелювало з вищими рівнями експресії PD-L1 ( $p = 0,0001$ ). Об'єктивна відповідь на ПКТ у цієї категорії досягала 75,6% проти 27,5% серед пацієнтів, які отримували хіміотерапію ( $p = 0,0045$ ). Виявлено важливу роль тривалості терапії ПКТ:

лікування менш ніж 8 місяців збільшувало ризик неефективності ПКТ більш ніж утричі (HR = 3,637; p = 0,0001).

Суттєвим модифікатором ефективності ПКТ виявилися системні кортикостероїди, застосування яких асоціювалося зі значно гіршою виживаністю без прогресування (HR = 3,94; p = 0,0001) та загальною виживаністю (HR = 6,53; p = 0,0001), тоді як інгаляційні кортикостероїди не знижували ефективності і забезпечували найвищу відповідь (87,5%; p = 0,0001). Цікавим є й той факт, що пацієнти із супутнім хронічним обструктивним захворюванням легень мали значно кращу загальну виживаність (HR = 0,17; p = 0,004), що може відобразити роль локального імунного ремоделювання дихальних шляхів.

Серед системних біохімічних маркерів ключову роль відігравали нейтрофільно-лімфоцитарне співвідношення (NLR) та система LEM. Підвищений NLR ( $\geq 3,6$ ) був незалежним негативним фактором загальної виживаності (HR = 2,33; p = 0,015), тоді як низькі значення асоціювалися з кращою відповіддю (57,1% проти 32,8%; p = 0,0213). Система LEM дозволила чітко ідентифікувати групи високого ризику, зокрема пацієнти із трьома факторами ризику мали медіану виживаності 4,2 місяця (HR = 1,81; p = 0,0001).

Морфометричні характеристики тіла та метаболічний статус пацієнта дедалі більше привертають увагу дослідників як фактори, що можуть впливати на чутливість до ПКТ. У роботі виявлено, що радіологічна щільність підшкірної жирової тканини (ПЖК) в інтервалі  $-106 \dots -100$  HU є прогностичним маркером кращої загальної виживаності (HR = 0,32; p = 0,002). Встановлена U-подібна крива залежності свідчить про те, що як надмірно низька, так і надмірно висока щільність ПЖК є несприятливими характеристиками.

Щільність вісцеральної жирової тканини хоча й не мала прямого прогностичного значення, але виявила здатність модифікувати вплив PD-L1 (p < 0,0001), підкреслюючи взаємозалежність метаболічних та імунних характеристик. У хворих на метастатичний НДКРЛ параметри скелетної мускулатури (індекс та щільність) не асоціювалися зі загальною чи безпрогресійною виживаністю, але впливали на досягнення контролю над

захворюванням ( $p = 0,031$ ). Експресія PD-L1  $\geq 50\%$  залишалася ключовим незалежним предиктором довшої виживаності (HR = 0,29;  $p = 0,001$ ), при цьому встановлено значущу взаємодію між PD-L1 та індексом скелетних м'язів ( $p$  для взаємодії = 0,027).

Молекулярно-генетичний аналіз висвітлив істотні відмінності між гістологічними підтипами НДКРЛ. Для аденокарциноми несприятливим прогностичним фактором була мутація STK11 (HR = 3,89;  $p = 0,026$ ), а ко-мутації KRAS+TP53, KRAS+KEAP1 та STK11+KEAP1 асоціювалися з критично високими ризиками смерті (HR до 16,60). Натомість при плоскоклітинному раку мутації TTN та TP53, окремо й у поєднанні, були позитивними прогностичними ознаками, збільшуючи медіану виживаності до 63,7 місяця порівняно з 27,8 місяця ( $p = 0,0065$ ).

IFN $\gamma$ -асоційований генний підпис у пацієнтів з аденокарциномою був пов'язаний із довшою загальною виживаністю (47,4 проти 41,2 місяця;  $p = 0,0438$ ), проте не був незалежним фактором; у плоскоклітинному раку його прогностична цінність була мінімальною.

Важливу роль у формуванні відповіді на ПКТ відіграє клітинний склад пухлинного мікрооточення. У дослідженні оцінено три імунні фенотипи: імунно активний, імуносупресивний та змішаний. Хоча між ними виявлено значні відмінності у тривалості виживаності (Log-rank  $p = 0,0001$ ), жоден фенотип не мав незалежного прогностичного значення. Єдиним достовірним показником поганого прогнозу виявилось високе співвідношення CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup>, що відображає домінування M2-орієнтованих макрофагів (HR = 4,34;  $p < 0,001$ ).

FoxP3<sup>+</sup> регуляторні Т-клітини асоціювалися зі зниженням виживаності, хоча й не були незалежним фактором, що узгоджується з їх функціональною пластичністю. У хірургічно пролікованих пацієнтів виділено два імунні фенотипи, які відрізнялися щільністю CD8<sup>+</sup> Т-клітин та співвідношенням M1/M2-макрофагів. Попри значну різницю медіан виживаності (114,5 проти 38,1 місяця), статистичної значущості не виявлено. Водночас у підгрупі PD-L1-позитивних пацієнтів, які отримували ад'ювантну хіміоімунотерапію, мутація

TP53 асоціювалася з суттєвим подовженням виживаності без прогресування (93,8 проти 9,1 місяця;  $p = 0,029$ ), що вказує на складну взаємодію мутаційного й імунного профілів.

На основі незалежних предикторів, виявлених на рівні організму, пухлини та пухлинного мікрооточення, створено інтегральну прогностичну модель для оцінки ризику несприятливого перебігу у хворих на метастатичний НДКРЛ, які отримують ПКТ. До моделі увійшли клінічні показники, лабораторні індикатори запалення, морфометричні характеристики та імунологічні маркери, що відображають багатовимірну біологію відповіді на імунотерапію. Генетичні параметри свідомо не включалися, оскільки їх визначення потребує молекулярно-генетичних досліджень, які нерідко є недоступними для пацієнтів в Україні та обмежували б можливість широкого застосування моделі у клінічній практиці. Прогностичну модель побудовано за допомогою багатофакторних регресій Кокса з використанням бутстреп-ресемплінгу для підвищення стабільності оцінок. Отримані коефіцієнти ризику трансформовано у бальну систему, що дозволило здійснити стратифікацію пацієнтів на групи низького, проміжного та високого ризику та забезпечило можливість персоналізованого прогнозування загальної виживаності.

Для практичного застосування модель інтегровано у цифрову платформу IMMUN-LUNG, створену у вигляді веб-прототипу, що не потребує встановлення програмного забезпечення. Платформа забезпечує числову та текстову інтерпретацію результатів, а також пропонує короткі клінічні орієнтири відповідно до сучасних міжнародних рекомендацій. Веб-орієнтований формат, двомовність (українська, англійська) та доступність на різних пристроях роблять IMMUN-LUNG зручним інструментом для практичних онкологів. Прототип доступний за посиланням: <https://yuliia-moskalenko.github.io/immu-lung-score/>.

Узагальнюючи результати дослідження, можна стверджувати, що виявлені предиктори не лише поглиблюють розуміння біології відповіді на ПКТ, але й мають реальне практичне значення, що підтверджено створенням цифрової платформи IMMUN-LUNG. Розроблений інструмент забезпечує персоналізовану

стратифікацію пацієнтів та може бути застосований у клінічній практиці для оптимізації прийняття терапевтичних рішень та підвищення якості медичної допомоги онкологічним хворим.

**Ключові слова:** недрібноклітинний рак легень, інгібітори імунних контрольних точок, імунотерапія, предиктори, прогнозування, пухлинне мікрооточення, мутації, імунні фенотипи, прототип цифрової платформи підтримки клінічних рішень.

## SUMMARY

*Moskalenko Yu. V.* Predictors of the Efficacy of Immune Checkpoint Inhibitors in Patients with Non–Small Cell Lung Cancer. – Manuscript.

The thesis of the Doctor of Medical Sciences degree in the specialty 14.01.07 – Oncology. Nonprofit Organization National Cancer Institute. – Kyiv, 2026.

Non–small cell lung cancer (NSCLC) remains one of the leading causes of cancer mortality worldwide, including in Ukraine. Despite significant advances in modern immunotherapy, the efficacy of immune checkpoint inhibitors (ICI) varies substantially between patients. This heterogeneity is driven by a broad spectrum of clinical, immunological, morphometric, and genetic determinants that shape individual sensitivity to immunotherapy. Consequently, there is an urgent need for integrative yet practical approaches to predict ICI efficacy, based on the combination of biomarkers from multiple levels of biological organization.

Accordingly, the present dissertation is dedicated to a comprehensive, multilevel analysis of predictors of immunotherapy efficacy, evaluating their independent and combined impact on survival in patients with metastatic NSCLC, and to the construction of a personalized prognostic model. Particular attention was given to integrating clinical, laboratory, and morphometric characteristics into a user-friendly digital format suitable for practical use by oncologists. As a result of this process, the digital decision-support platform IMMU-LUNG was developed, allowing individualized prognostic assessment of response to ICI therapy.

The aim of the study was to identify independent clinical, morphometric, immunological, and molecular-genetic factors influencing ICI efficacy; to assess their interrelation; and on this basis, to create a tool for personalized prognosis for patients with metastatic NSCLC.

To achieve this aim, the research was carried out in three interrelated directions, each reflecting a different level of functional organization of the tumor process: 1) the organismal level, which included the evaluation of clinical and systemic biomarkers; 2) the tumor level, involving analysis of mutation and transcriptome profiles; 3) the

tumor microenvironment level, within which cellular and immune components modulating response to ICI were investigated.

The study employed statistical methods (Kaplan–Meier survival curves, Cox regression, ROC analysis, spline modeling, bootstrap resampling), immunohistochemical analysis (CD8<sup>+</sup>, FoxP3<sup>+</sup>, CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup>, STAT6<sup>+</sup>), morphometric assessment of skeletal muscle and adipose tissue, genetic profiling of somatic mutations (KRAS, TP53, KEAP1, STK11, TTN) and transcriptomic signature analysis, including an IFN $\gamma$ -associated gene signature.

Increasing attention from contemporary researchers is given to systemic organismal characteristics that may modify immunotherapy effectiveness. In this study, a clinically significant chronotherapy effect was demonstrated: morning infusions of ICI provided significantly longer overall survival compared with evening infusions (effect size 2.07;  $p < 0.001$ ).

Analysis of age-related characteristics showed that patients over 70 years more frequently experienced immune-related adverse events ( $p = 0.046$ ); however, their overall survival did not differ from younger groups, indicating no grounds for age-related restrictions on ICI usage.

Special attention was paid to the impact of tobacco exposure. In patients with a smoking history  $\geq 28$  pack-years, immunotherapy provided significantly better outcomes – including overall survival (HR = 0.63;  $p = 0.013$ ) – which correlated with higher PD-L1 expression levels ( $p = 0.0001$ ). Objective response to ICI in this category reached 75.6% versus 27.5% among patients receiving chemotherapy ( $p = 0.0045$ ). The duration of ICI therapy also played an important role: treatment shorter than 8 months increased the risk of ICI failure more than threefold (HR = 3.637;  $p = 0.0001$ ).

Systemic corticosteroids emerged as a substantial modifier of ICI efficacy: their use was associated with markedly worse progression-free survival (HR = 3.94;  $p = 0.0001$ ) and overall survival (HR = 6.53;  $p = 0.0001$ ), whereas inhaled corticosteroids did not reduce efficacy and yielded the highest response rate (87.5%;  $p = 0.0001$ ). Interestingly, patients with concomitant chronic obstructive pulmonary disease had

significantly better overall survival (HR = 0.17;  $p = 0.004$ ), which may reflect the role of local immune remodeling in the airways.

Among systemic biochemical markers, the neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) and the LEM system played a key role. Elevated NLR ( $\geq 3.6$ ) was an independent negative factor for overall survival (HR = 2.33;  $p = 0.015$ ), while low NLR was associated with a better response (57.1% vs. 32.8%;  $p = 0.0213$ ). The LEM system effectively identified high-risk groups: patients with three risk factors had a median survival of only 4.2 months (HR = 1.81;  $p = 0.0001$ ).

Morphometric characteristics of body composition and metabolic status are increasingly recognized as potential modifiers of ICI sensitivity. This work revealed that subcutaneous adipose tissue (SAT) radiodensity in the range of  $-106\dots-100$  HU was a prognostic marker of improved overall survival (HR = 0.32;  $p = 0.002$ ). A U-shaped dependence indicated that both excessively low and excessively high SAT density were unfavorable. Although visceral adipose tissue density had no direct prognostic value, it modified the impact of PD-L1 ( $p < 0.0001$ ), underscoring the interaction between metabolic and immune features. In metastatic NSCLC patients, skeletal muscle parameters (index and density) were not associated with overall or progression-free survival, but they did influence disease control achievement ( $p = 0.031$ ). PD-L1 expression  $\geq 50\%$  remained a key independent predictor of longer survival (HR = 0.29;  $p = 0.001$ ), and a significant interaction between PD-L1 expression and skeletal muscle index was observed ( $p$  for interaction = 0.027).

Molecular-genetic analysis highlighted significant differences between NSCLC histological subtypes. In adenocarcinoma, STK11 mutation was an unfavorable prognostic factor (HR = 3.89;  $p = 0.026$ ), while co-mutations KRAS+TP53, KRAS+KEAP1, and STK11+KEAP1 were associated with critically high risks of death (HR up to 16.60). In contrast, in squamous cell carcinoma, TTN and TP53 mutations – individually and in combination – were positive prognostic markers, increasing median survival to 63.7 months compared with 27.8 months ( $p = 0.0065$ ).

The IFN $\gamma$ -associated gene signature in adenocarcinoma patients was linked with longer overall survival (47.4 vs. 41.2 months;  $p = 0.0438$ ), though it was not an

independent prognostic factor; in squamous cell carcinoma, its prognostic value was minimal.

The cellular composition of the tumor microenvironment plays a critical role in shaping ICI response. In this study, three immune phenotypes were assessed: immune-active, immunosuppressive, and mixed. Although there were significant differences in survival duration (Log-rank  $p = 0.0001$ ) among them, none had independent prognostic value. The only reliable indicator of poor prognosis was a high CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup> ratio, reflecting the predominance of M2-oriented macrophages (HR = 4.34;  $p < 0.001$ ). FoxP3<sup>+</sup> regulatory T cells were associated with reduced survival, although they were not independent prognostic factors – consistent with their functional plasticity. In surgically treated patients, two immune phenotypes were distinguished based on CD8<sup>+</sup> T-cell density and M1/M2 macrophage ratio. Despite a substantial difference in median survival (114.5 vs. 38.1 months), statistical significance was not reached. Meanwhile, in the subgroup of PD-L1–positive patients receiving adjuvant chemo-immunotherapy, TP53 mutation was associated with a significant prolongation of progression-free survival (93.8 vs. 9.1 months;  $p = 0.029$ ), indicating a complex interaction between mutational status and immune profile.

Based on the independent predictors identified at the organismal, tumor, and microenvironment levels, an integrative prognostic model was developed to estimate the risk of unfavorable outcomes in patients with metastatic NSCLC receiving ICI therapy. The model incorporated clinical indicators, laboratory markers of inflammation, morphometric characteristics, and immunological markers – reflecting the multidimensional biology of response to immunotherapy. Genetic parameters were consciously excluded from the model, as their determination requires molecular-genetic testing, which is often unavailable to patients in Ukraine; including them would limit the model's applicability in routine clinical practice. The prognostic model was built using multivariable Cox regression with bootstrap resampling to enhance the stability of estimates. The derived risk coefficients were transformed into a point-based scoring system, enabling stratification of patients into low-, intermediate-, and high-risk groups, and facilitating personalized prognosis of overall survival.

For practical application, the model was integrated into the digital platform IMMU-LUNG, implemented as a web-based prototype requiring no software installation. The platform provides both numerical and textual interpretation of results, and offers brief clinical guidance aligned with current international recommendations. Its web-oriented format, bilingual support (Ukrainian and English), and accessibility across different devices make IMMU-LUNG a convenient tool for practicing oncologists. The prototype is available at: <https://yuliia-moskalenko.github.io/immu-lung-score/>.

Summing up the study results, it can be concluded that the identified predictors not only deepen our understanding of the biology underpinning the response to ICI, but also hold real practical significance – as evidenced by the creation of the digital IMMU-LUNG platform. The developed tool enables personalized stratification of patients and may be applied in clinical practice to optimize therapeutic decision-making and improve the quality of oncological care.

**Keywords:** non–small cell lung cancer, immune checkpoint inhibitors, immunotherapy, predictors, prognostication, tumor microenvironment, mutations, immune phenotypes, clinical decision support platform prototype.

## СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

**Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:**

*Статті, опубліковані в наукових журналах, внесених до наукометричних баз Scopus або Web of Science*

1. Moskalenko Y, Kovchun V, Bohdanov A, Budko V. Subcutaneous adipose tissue radiodensity as a prognostic marker in metastatic non-small cell lung cancer treated with immune checkpoint inhibitors. *Contemporary Oncology/Współczesna Onkologia*. 2026;30(1): 1-9. <https://doi.org/10.5114/wo.2026.159311>. *(Особистий внесок здобувача: розробка дизайну дослідження, відбір КТ-сканів для проведення дослідження, статистична обробка результатів візуалізаційних досліджень, написання тексту статті, формулювання висновків).*

2. Moskalenko YuV, Bohdanov AM, Budko VV. Smoking as a predictor of immune checkpoint inhibitor efficacy in metastatic non-small cell lung cancer patients. *East Ukr Med J*. 2025; 13(4): 1168–1176. [https://doi.org/10.21272/eumj.2025;13\(4\):1168-1176](https://doi.org/10.21272/eumj.2025;13(4):1168-1176). *(Особистий внесок здобувача: розробка дизайну дослідження, опрацювання даних первинної медичної документації, збір клінічних даних, літературний пошук, статистичний аналіз, підготовка статті до публікації).*

3. Moskalenko Y, Kovchun V, Vynnychenko I, Moskalenko R. Association of skeletal muscle radiodensity and skeletal muscle index with immunotherapy response in metastatic non-small cell lung cancer. *Muscles* 2025; 4(4):51. <https://doi.org/10.3390/muscles4040051>. *(Особистий внесок здобувача: формування досліджуваної когорти пацієнтів, розробка дизайну дослідження, відбір КТ-сканів, статистична обробка результатів візуалізаційних досліджень, аналіз літературних джерел, написання тексту статті та формулювання висновків).*

4. Moskalenko Y, Moskalenko R. Prognostic significance of immune phenotypes in patients with metastatic non-small cell lung cancer. *The journal of V. N. Karazin National University. Series Medicine*. 2025;33(5):689-702. *(Особистий*

*внесок здобувача: розробка дизайну дослідження, формування досліджуваної когорти, аналіз результатів морфологічного та імуногістохімічного дослідження, статистична обробка та узагальнення отриманих результатів, написання тексту статті).*

5. Moskalenko Y, Yazykov O, Vasylieva O, Smiiian K, Ivakhniuk T, Budko H, Moskalenko R. The Impact of Age on the Effectiveness of Immune Checkpoint Inhibitors Therapy in Patients with Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer. *Geriatrics (Basel)*. 2025;10(4):85. doi: 10.3390/geriatrics10040085. *(Особистий внесок здобувача: формування досліджуваної когорти пацієнтів, розробка дизайну дослідження, статистична обробка отриманих даних, аналіз літературних джерел та написання тексту статті).*

6. Moskalenko YV. IFN $\gamma$ -associated gene signature as a potential prognostic biomarker of survival and immunotherapy response in lung adenocarcinoma. *The journal of V. N. Karazin National University. Series Medicine*. 2025;33(4):510-522. <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-55-02>.

7. Moskalenko Y, Hyriavenko N, Derevianko T. Immunogenomic stratification of the tumor microenvironment in surgically treated non-small cell lung cancer: A Ukrainian single-center experience. *Regul. Mech. Biosyst*. 2025;16(3):e25136. <https://doi.org/10.15421/0225136>. *(Особистий внесок здобувача: розробка дизайну дослідження, статистичний аналіз результатів імуногістохімічного дослідження, формулювання висновків, підготовка статті до публікації).*

8. Moskalenko Y, Kovchun V, Bohdanov A, Budko V, Yazykov O. Visceral Adipose Tissue Radiodensity as a Potential Biomarker of Immunotherapy Efficacy in Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer Patients. *Galician med. j*. 2025;32(3):e-GMJ2025-A21. <https://doi.org/10.21802/e-GMJ2025-A21>. *(Особистий внесок здобувача: добір пацієнтів для участі у дослідженні, розробка дизайну дослідження, відбір КТ-сканів, статистична обробка результатів візуалізаційних досліджень, аналіз літературних джерел та написання тексту статті).*

9. Kozakov D, Kobyliak N, Livshun S, Seleznov O, Koshyk O, Matvieieva A, Shparyk Y, Kolesnik O, Moskalenko Y, Vynnychenko O, Moskalenko R, Kropyvko S, Khmel A, Shkarupii B, Sulaieva O. Genetic alterations affect immune contexture of non-small cell lung cancer: Ukrainian study. *Front Med (Lausanne)*. 2025;12:1558016. doi: 10.3389/fmed.2025.1558016. *(Особистий внесок здобувача: збір зразків пухлинної тканини для молекулярно-генетичного аналізу, написання підрозділу статті)*.

10. Moskalenko Y., Kravets O., Kovchun V. Clinical outcomes of concurrent use of corticosteroids and immune checkpoint inhibitors in oncology. *Regul Mech Biosyst*. 2025;16(2):e25062. <https://doi.org/10.15421/0225062>. *(Особистий внесок здобувача: формування досліджуваної когорти пацієнтів, опрацювання первинної медичної документації, розробка дизайну дослідження, аналіз отриманих даних, підготовка статті до публікації)*.

11. Moskalenko YV. The role of novel risk-scoring systems in predicting the efficacy of immunotherapy. *The journal of V. N. Karazin National University. Series Medicine*. 2025;33(1):59–68. <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-52-05>.

12. Vynnychenko OI, Moskalenko YV, Moskalenko RA, Dudnichenko OS, Rysovana LM, Hrankina SS. A single-center, cohort study of the mutational profile of Ukrainian patients with non-small cell lung cancer. *Ukr J Radiol Oncol*. 2024; 32(4): 504–517. doi: <https://doi.org/10.46879/ukroj.4.2024.504-517>. *(Особистий внесок здобувача: розробка дизайну дослідження, участь у проведенні молекулярно-генетичного дослідження та написанні тексту статті)*.

13. Moskalenko Y. Biological mechanisms of resistance to immune checkpoint inhibitors and overcoming this resistance: Challenges in medical oncology. *Regul. Mech. Biosyst*. 2024;15(1):83-91. <https://doi.org/10.15421/022412>.

14. Moskalenko YuV, Vynnychenko OI, Sulaieva OM, Moskalenko RA. The role of next-generation sequencing in lung cancer diagnosis. *EUMJ*. 2023; 11(3): 214–223. doi: [https://doi.org/10.21272/eumj.2023;11\(3\):214-223](https://doi.org/10.21272/eumj.2023;11(3):214-223) *(Особистий внесок здобувача: аналіз літературних джерел, написання підрозділів статті)*.

15. Smorodska O, Moskalenko Y, Kononenko M, Ivanov S. Inflammation indexes as predictors of disease recurrence in patients with surgically resected non-small cell lung cancer. East Ukr Med J. 2022;10(4):379-388 doi: [https://doi.org/10.21272/eumj.2022;10\(4\):379-388](https://doi.org/10.21272/eumj.2022;10(4):379-388). *(Особистий внесок здобувача: аналіз результатів лабораторних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка рукопису до публікації).*

16. Moskalenko Y, Smorodska O, Deineka V, Kravets O, Moskalenko R. Prognostic factors for recurrence in patients with surgically resected non-small cell lung cancer. Contemporary Oncology/Współczesna Onkologia. 2022;26(3):239-246. doi:10.5114/wo.2022.120638. *(Особистий внесок здобувача: розробка дизайну дослідження, формування когорти пацієнтів, написання тексту статті, формулювання висновків).*

*Статті, опубліковані в наукових фахових виданнях, затверджених Міністерством освіти і науки України:*

17. Moskalenko Y, Hyriavenko N. Timing of infusion and immunotherapy efficacy in metastatic non-small cell lung cancer: a meta-analysis. Buk Med Herald. 2025;29(4):89–94. doi:10.24061/2413-0737.29.4.116.2025.15. *(Особистий внесок здобувача: відбір публікацій для проведення мета-аналізу, статистична обробка та аналіз отриманих результатів, підготовка статті до друку).*

18. Moskalenko YV. Blood count test for predicting the efficacy of immune checkpoint inhibitors. Art of Med. 2025;4(36):26–32. doi:10.21802/artm.2025.4.36.26.

19. Moskalenko YV. Prognostic value of IFN $\gamma$ -associated genes signature in lung squamous cell carcinoma: TCGA-based analysis. Art of Med. 2025;3(35):58–64. doi:10.21802/artm.2025.3.35.58.

20. Moskalenko Y, Hyriavenko N. Prognostic significance of TP53 and PD-L1 depending on the type of adjuvant therapy in patients with non-small cell lung cancer. Buk Med Herald. 2025;29(3):17–22. doi:10.24061/2413-0737.29.3.115.2025.3. *(Особистий внесок здобувача: формування досліджуваної когорти, відбір зразків*

пухлинної тканини для проведення імуногістохімічного дослідження, статистична обробка та аналіз отриманих результатів, підготовка статті до друку).

21. Moskalenko Yu, Kovchun V. Molecular and immune predictors of survival in lung squamous cell carcinoma: A TCGA-based analysis. Bull Med Biol Res. 2025;7(3):26–36. doi:10.63341/bmbr/3.2025.26. (Особистий внесок здобувача: формування досліджуваної когорти, збір даних з відкритих онкологічних репозиторіїв, статистична обробка та аналіз отриманих результатів, написання тексту статті).

22. Moskalenko Y, Moskalenko R. Regulatory T cells as predictor of immunotherapy response in patients with metastatic non-small cell lung cancer. Act. Probl. of the Modern Med. 2025;25(3):48-3. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.25.3.48>. (Особистий внесок здобувача: формування досліджуваної когорти, відбір зразків пухлинної тканини для проведення імуногістохімічного дослідження, статистична обробка та аналіз отриманих результатів, формулювання висновків та написання тексту статті).

23. Moskalenko Y, Kovchun V, Gyriavenko N. Immune subtype as a moderator of the prognostic significance of mutations in lung adenocarcinoma: a TCGA data analysis. Arch. clin. med. 2025;31(2):16–22. <https://doi.org/10.21802/acm.2025.2.1>. (Особистий внесок здобувача: формування досліджуваної когорти, збір даних з відкритих онкологічних репозиторіїв, статистичний аналіз отриманих результатів, написання тексту статті).

24. Moskalenko YV, Vynnychenko IO, Smorodska OM, Vynnychenko OI, Moskalenko RA. PD-L1 testing as a way of personalizing the treatment of non-small cell lung cancer. Likars'ka sprava. 2019;5-6:40-45. doi: [https://doi.org/10.31640/JVD.5-6.2019\(4\)](https://doi.org/10.31640/JVD.5-6.2019(4)). (Особистий внесок здобувача: аналіз літературних джерел, написання тексту статті та формулювання висновків).

25. Винниченко ІО, Москаленко ЮВ, Винниченко ОІ, Москаленко РА, Піддубний АМ. Бульозний пемфігоїд Левера у хворого на метастатичний рак легені після лікування атезоліумабом. Клінічна онкологія. 2019;9(1):55–57. doi:

10.32471/clinicaloncology.2663-466X.38.22146. *(Особистий внесок здобувача: лікування пацієнта, збір зразків шкіри для проведення імуногістохімічного дослідження, аналіз отриманих результатів, написання тексту статті).*

*Розділи монографій, опубліковані у закордонних виданнях:*

26. Moskalenko Y. Immune-related toxicity of checkpoint inhibitors. *Medicine and psychology: modern problems, new technologies and ways of developing outdated theories: collective monograph /ed. Hennadii Slabkyi. Boston: Primedia eLaunch, 2024. p. 124-145. doi: 10.46299/ISG.2024.MONO.MED.1 (Особистий внесок здобувача: літературний пошук, узагальнення отриманих даних, написання тексту статті та формулювання висновків).*

27. Moskalenko Y, Smorodska O. Lung cancer biomarkers. *Theoretical and practical aspects of the development of modern scientific research: monograph/ed. Anita Jankovska. Riga: Izdevniecība "Baltija Publishing", 2022. p. 212–233. doi: <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-195-4-23>. (Особистий внесок здобувача: узагальнення результатів літературного пошуку, написання тексту підрозділів, формулювання висновків).*

*Опубліковані праці, які додатково відображають наукові результати:*

28. Свідоцтво про реєстрацію авторського права на твір комп'ютерна програма "IMMU-LUNG: Прототип цифрової платформи підтримки клінічних рішень" №142937 / Ю. В. Москаленко. // заяв. 28.11.2025; опубл. 19.02.2026.

**Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:**

29. Москаленко Ю. Прогностичне значення імунних фенотипів у хворих на метастатичний недрібноклітинний рак легень. Дев'ята всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології»: матеріали. 6–7 листопада 2025 р., м. Дніпро. Дніпро: ДДМУ, 2025: 146–147.

30. Москаленко Ю. Вплив віку на ефективність інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на метастатичний недрібноклітинний рак легень. VIII науково-практична internet-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів та хвороб та їх фармакологічна корекція»: матеріали. 20 жовтня 2025 р., м. Харків. Харків: НФаУ, 2025: 175–176.

31. Moskalenko Y, Kravets Y. IFN $\gamma$ -associated genes signature as a potential prognostic biomarker of survival and immunotherapy response in lung adenocarcinoma. 12<sup>th</sup> International Black Sea coastline countries scientific research conference. 2025 September 26–28, Trabzon. Black Sea Strategic Research and Application Center, 2025: 9.

32. Denysenko A., Moskalenko Y., Moskalenko R. Immune phenotypes in patients with non-small cell lung cancer and their association with smoking. 37-th European Congress of Pathology. 6-10 September 2025, Vienna, Austria: Virchows Archiv, 2025; 487 (Suppl 1): PS-26-001.

33. Москаленко Ю. Вплив кортикостероїдів на ефективність інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на недрібноклітинний рак легень. XXIX конгрес студентів та молодих учених «Майбутнє за наукою»: матеріали. 9–11 квітня 2025 р., м. Тернопіль: ТНМУ. 2025: 44.

34. Sulaieva O., Seleznov O., Kozakov D., Koshyk O., Lapsar H., Livshun S., et al. Immune contexture of non-small cell lung cancer with actionable mutations: deciphering the mechanisms of immune evasion. United States and Canadian Academy of Pathology's 114th Annual Meeting. 22-27 March 2025, Boston, USA: Lab Invest, 2025; Vol. 105, Suppl.1: 48.

35. Москаленко Ю. Поширеність TP53 ко-мутацій у пацієнтів з недрібноклітинним раком легень. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих учених «Медична наука – 2024»: матеріали. 5 грудня 2024 р., м. Полтава. Полтава, 2024: 46.

36. Москаленко Ю, Погорелов М. Прогностична роль STAT6 у пацієнтів з недрібноклітинним раком легень. Восьма всеукраїнська науково-практична

конференція з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології»: матеріали. 6–8 листопада 2024 р., м. Дніпро. Дніпро: ДДМУ, 2024: 100–102.

37. Москаленко Ю. Індекс маси тіла як предиктор ефективності терапії інгібіторами імунних контрольних точок. X науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів»: матеріали. 17–18 жовтня 2024 р., м. Тернопіль: ТНМУ. 2024: 225–226.

38. Moskalenko YV, Kozakov DS, Livshun SS, Panko MI, Sulaieva OM. Association of genetic alterations in the EGFR and ALK genes with PD-L1 expression in non-small cell lung cancer. *BioGENext: Next Generation Therapy Conference. Biopolym Cell.* 2024; 40(3): 199. <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000AC8>.

39. Romaniuk A., Moskalenko Y., Baryshok A., Moskalenko R. Expression of FOXP3 in the microenvironment of non-small cell lung cancer tissue on the background of the application of immunotherapy. 36-th European Congress of Pathology. 7–11 September 2024, Florence, Italy: *Virchovs Archiv*, 2024; 485 (Suppl 1): 450.

40. Смородська О, Москаленко Ю. Індeksi системної запальної реакції як фактор прогнозу рецидиву раку легень. Міжнародна науково-практична конференція «Молодіжна наука заради миру та розвитку»: матеріали. 9–11 листопада 2022 р., м. Чернівці: ЧНУ ім. Ю. Федьковича, 2022: 62–64.

41. Москаленко Ю, Смородська О, Бондаренко Л, Кадурін М. Онїхолізіс як наслідок токсичного впливу інгібіторів імунних контрольних точок. XIV з'їзд онкологів та радіологів України: матеріали. 30 вересня–2 жовтня 2021р., м. Київ: Національний інститут раку, 2021: 282–284.

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	24
ВСТУП.....	25
<b>РОЗДІЛ 1</b>	
БІОЛОГІЧНІ ОСНОВИ ЕФЕКТИВНОСТІ ІНГІБІТОРІВ ІМУННИХ КОНТРОЛЬНИХ ТОЧОК: ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	41
1.1. Механізм дії патологічних шляхів CTLA-4 та PD-1/PD-L1.....	41
1.2. Механізми розвитку резистентності до інгібіторів імунних контрольних точок.....	44
1.3. Шляхи подолання резистентності до інгібіторів імунних контрольних точок.....	54
1.4. Імунозалежна токсичність інгібіторів імунних контрольних точок..	65
1.5. Імунотерапія недрібноклітинного раку легень: сучасний стан та прогностичні маркери відповіді на лікування.....	79
<b>РОЗДІЛ 2</b>	
МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.....	89
2.1. Дизайн дослідження та характеристика пацієнтів.....	89
2.2. Клінічний метод.....	108
2.3. Гістологічний та імуногістохімічні методи.....	110
2.4. Молекулярно-генетичний метод.....	112
2.5. Лабораторний метод.....	113
2.6. Клініко-лабораторний метод.....	113
2.7. Рентгенологічний метод.....	114
2.8. Інформаційно-аналітичний метод.....	117
2.9. Статистичний метод.....	118
2.10. Кластерний метод аналізу.....	119
2.11. Мета-аналітичний метод.....	120
2.12. Методи цифрової розробки (математичного моделювання та веб- програмування.....)	121

## РОЗДІЛ 3

## ВИВЧЕННЯ ПРЕДИКТОРІВ ЕФЕКТИВНОСТІ ІНГІБІТОРІВ ІМУННИХ КОНТРОЛЬНИХ ТОЧОК НА РІВНІ ОРГАНІЗМУ ПАЦІЄНТА.....123

- 3.1. Вплив часу інфузії на ефективність імунотерапії метастатичного НДКРЛ: мета-аналіз.....123
- 3.2. Вплив віку на ефективність імунотерапії метастатичного НДКРЛ...127
- 3.3. Паління як предиктор ефективності інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на метастатичний НДКРЛ.....138
- 3.4. Клінічні наслідки конкурентного використання кортикостероїдів та інгібіторів імунних контрольних точок в онкології.....144
- 3.5. Клінічний аналіз крові для прогнозування ефективності терапії інгібіторами імунних контрольних точок у хворих на метастатичний НДКРЛ.....150
- 3.6. Роль сучасних систем оцінки ризику у прогнозуванні ефективності імунотерапії у хворих на метастатичний НДКРЛ.....155
- 3.7. Радіологічна щільність підшкірної жирової клітковини як предиктор ефективності інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на метастатичний НДКРЛ.....158
- 3.8. Радіологічна щільність вісцерального жиру як потенційний біомаркер ефективності імунотерапії у хворих на метастатичний НДКРЛ.....168
- 3.9. Зв'язок радіологічної щільності скелетних м'язів та індексу скелетних м'язів із відповіддю на імунотерапію у хворих на НДКРЛ.....175

## РОЗДІЛ 4

## ВИВЧЕННЯ ПРЕДИКТОРІВ ЕФЕКТИВНОСТІ ІНГІБІТОРІВ ІМУННИХ КОНТРОЛЬНИХ ТОЧОК НА РІВНІ ПУХЛИННОГО МІКРООТОЧЕННЯ...185

- 4.1. Прогностичне значення імунних фенотипів у хворих на метастатичний НДКРЛ.....185
- 4.2. Регуляторні Т-клітини як предиктор відповіді на імунотерапію у хворих на метастатичний НДКРЛ.....193

4.3. Імуногеномна стратифікація пухлинного мікрооточення при хірургічно пролікованому НДКРЛ.....	197
4.4. Прогностичне значення TP53 та PD-L1 залежно від виду ад'ювантної терапії у хворих на НДКРЛ.....	202
РОЗДІЛ 5	
ВИВЧЕННЯ ПРЕДИКТОРІВ ЕФЕКТИВНОСТІ ІНГІБІТОРІВ ІМУННИХ КОНТРОЛЬНИХ ТОЧОК НА РІВНІ ГЕНОМУ.....	209
5.1. Імунний підтип як модератор прогностичної значущості мутацій у хворих на аденокарциному легень.....	209
5.2. Молекулярні та імунні предиктори виживаності при плоскоклітинній карциномі легень.....	216
5.3. Прогностична цінність IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису при аденокарциномі легень.....	224
5.4. Прогностична цінність IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису при плоскоклітинній карциномі легень.....	229
РОЗДІЛ 6	
РОЗРОБКА ПРОТОТИПУ ЦИФРОВОЇ ПЛАТФОРМИ ПІДТРИМКИ КЛІНІЧНИХ РІШЕНЬ IMMU-LUNG.....	235
РОЗДІЛ 7	
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ...	243
ВИСНОВКИ.....	315
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	320
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	322
ДОДАТОК А	
СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ.....	395
ДОДАТОК Б	
АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ.....	403
ДОДАТОК В	
АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ.....	405

## **ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ**

C163<sup>+</sup> – кластер диференціації 163

CD68<sup>+</sup> – кластер диференціації 68

CD8<sup>+</sup> – кластер диференціації 8

СТСАЕ v5.0 – загальні термінологічні критерії побічних явищ, версія 5

CTLA-4 - цитотоксичний Т лімфоцит-асоційований антиген 4

Foxp3<sup>+</sup> – фактор транскрипції Forkhead box P3

HR – відношення ризику

HU – одиниці Гаунсфілда

IFN- $\gamma$  – інтерферон-гамма

PD-1 – білок програмованої загибелі клітини 1

PD-L1 – ліганд програмованої загибелі клітини 1

Treg – регуляторні Т-лімфоцити

ВЖК – вісцеральна жирова клітковина

ДІ – довірчий інтервал

ІКТ – інгібітори імунних контрольних точок

ІМТ – індекс маси тіла

ІСМ – індекс скелетних м'язів

КТ – комп'ютерна томографія

М1 – прозапальні макрофаги

М2 – протизапальні макрофаги

НДКРЛ – недрібноклітинний рак легень

ПЖК – підшкірна жирова клітковина

РЩСМ – радіологічна щільність скелетних м'язів

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Недрібноклітинний рак легень (НДКРЛ) є найпоширенішим гістологічним підтипом раку легень і однією з провідних причин онкологічної смертності у світі [1,2]. Сучасні підходи до лікування суттєво змінилися з появою інгібіторів імунних контрольних точок (ІКТ), які сьогодні є фундаментальною складовою терапії хворих із метастатичним НДКРЛ. Завдяки блокаді сигнальних шляхів PD-1/PD-L1 або CTLA-4 імунотерапія здатна забезпечити тривалий контроль захворювання та сформувати стійку протипухлинну відповідь, недосяжну при використанні традиційної хіміотерапії [3]. Крім того, ІКТ поступово інтегруються у схеми лікування пацієнтів із ранніми стадіями НДКРЛ: у неоад'ювантному режимі для зменшення пухлинної маси перед операцією та в ад'ювантному – для зниження ризику рецидиву після радикального хірургічного лікування. Саме тому визначення факторів, що впливають на відповідь на ІКТ, є критично важливим як для пацієнтів із метастатичною хворобою, так і для оперованих хворих, у яких рецидив захворювання суттєво погіршує довгостроковий прогноз [4,5].

Імунотерапія є високовартісним методом лікування, що створює значне навантаження на систему охорони здоров'я. Курс ІКТ може коштувати десятки тисяч доларів, а тривале лікування пацієнтів із хронічним перебігом захворювання збільшує фінансовий тягар для держави і самих пацієнтів. З соціальної точки зору, неефективна імунотерапія призводить до втрати часу для підбору альтернативного лікування, розвитку побічних реакцій, зниження працездатності й погіршення якості життя. У зв'язку з цим потреба у точному визначенні предикторів ефективності ІКТ виходить далеко за межі суто медичної проблеми і стає важливим соціально-економічним завданням, необхідним для раціонального використання ресурсів, оптимізації онкологічної допомоги та забезпечення рівного доступу до інноваційних методів лікування [6,7].

Попри значний прогрес у вивченні механізмів дії ПКТ, клінічна відповідь залишається у високій мірі гетерогенною. Одні пацієнти демонструють тривалу ремісію, тоді як інші не відповідають на лікування або мають раннє прогресування. Це свідчить про багатофакторну природу відповіді на імунотерапію та необхідність комплексного аналізу характеристик як пухлини, так і організму пацієнта. У науковій літературі сформувалися три основні групи потенційних предикторів: 1) клініко-біологічні чинники на рівні організму пацієнта, 2) параметри пухлинного мікрооточення, 3) генетичні та молекулярні особливості пухлини.

Стан організму пацієнта визначає фундаментальні можливості імунної системи для формування протипухлинної відповіді. Одним із важливих чинників, що привертає дедалі більше уваги, є вплив віку. Імуносенесценція, обумовлена інволюцією тимуса та зниженням пулу функціонально повноцінних Т-лімфоцитів, може теоретично зменшувати чутливість до ПКТ [8,9]. Проте результати досліджень суперечливі: частина авторів не виявляє зниження ефективності у літніх пацієнтів і демонструє подібні результати лікування порівняно з молодшими хворими [10], тоді як інші пов'язують старший вік із гіршою відповіддю через знижену імунну резистентність [11]. Це підкреслює потребу у детальнішому аналізі вікового впливу з урахуванням інших клінічних та імунологічних параметрів.

Не менш важливим є фактор паління, який змінює як мутаційний ландшафт, так і імунологічний профіль пацієнта. У тютюні міститься понад 79 канцерогенів, що спричиняють високий пухлинний мутаційний тягар, формують характерний C>A мутаційний підпис і підвищують експресію PD-L1 [12–14]. Встановлено, що пацієнти-курці частіше мають гіпермутаційні пухлини з більшою імуногенністю, що теоретично може підсилювати відповідь на ПКТ [15]. Деякі дослідження підтверджують позитивний вплив паління на виживаність і частоту об'єктивної відповіді під час терапії ПКТ [16,17], хоча інші роботи не знаходять однозначного зв'язку [18].

Важливими є також фактори, пов'язані із системним запаленням [19]. Хронічне запалення змінює співвідношення ключових клітин периферичної крові, зокрема лімфоцитів, нейтрофілів, моноцитів, тромбоцитів, що визначає цитокінове середовище організму [20,21]. Для відображення цих змін запропоновано індекси системного запалення (NLR, PLR, SII, SIRI), які є доступними, недорогими та потенційно придатними для рутинної клінічної практики [22–24]. Проте навіть ці прості показники демонструють варіабельність прогностичного значення, що вимагає подальших досліджень у контексті НДКРЛ.

Окрему увагу у дослідженнях ефективності ПКТ привертають параметри складу тіла, що відображають метаболічний та нутритивний статус пацієнтів. Найчастіше аналізують радіологічні характеристики підшкірної жирової клітковини (ПЖК), зокрема її щільність, яка може бути показником фіброзу, зменшення ліпідного компоненту або «бурування» жирової тканини – станів, що асоціюються з кахексією та несприятливим прогнозом [25–27]. Проте останні роботи свідчать, що важливими є також показники вісцеральної жирової клітковини (ВЖК), яка відрізняється метаболічною активністю та здатністю продукувати широкий спектр прозапальних цитокінів. Саме надлишкова або метаболічно активна ВЖК може сприяти формуванню хронічного системного запалення, що потенційно модифікує відповідь на ПКТ [28,29]. У різних роботах знаходять як позитивні, так і негативні зв'язки між характеристиками жирової тканини та ефективністю ПКТ, що знову ж таки свідчить про складність системної взаємодії метаболізму та імунної відповіді [30,31].

Поряд із цим, прогностичну цінність може мати й стан скелетної мускулатури. Саркопенія, зумовлена онкологічним захворюванням чи загальним виснаженням, асоціюється з зниженою імунною резистентністю, порушенням метаболічної відповіді та гіршими результатами протипухлинного лікування [32,33]. Таким чином, взаємозв'язок між ПЖК, ВЖК і м'язовою масою свідчить про те, що склад тіла є інтегральним відображенням як нутритивного статусу, так

і системних імунно-метаболических процесів, які можуть суттєво впливати на ефективність терапії ПКТ.

Додатково на ефективність ПКТ можуть впливати медикаменти, зокрема кортикостероїди. Відомо, що системні кортикостероїди пригнічують активацію імунної відповіді та потенційно знижують ефективність ПКТ [34–36]. Натомість роль інгаляційних кортикостероїдів залишається не визначеною.

Імунне мікрооточення пухлини складається з клітинних популяцій, цитокінів, хемокінів та факторів транскрипції, які визначають здатність імунної системи розпізнавати та знищувати пухлинні клітини [37–39]. Просторове розташування  $CD8^+$  Т-лімфоцитів, присутність M1- і M2-макрофагів, інтенсивність імуносупресії та активність сигнальних шляхів, зокрема STAT6, формують імунний ландшафт пухлини [40,41]. Пухлини з високою інфільтрацією  $CD8^+$  Т-клітин можуть мати кращу відповідь на імунотерапію, тоді як домінування M2-макрофагів ( $CD163^+$ ) сприяє формуванню «холодного» фенотипу з низькою чутливістю до ПКТ [42,43].

Важливою складовою є також регуляторні Т-клітини ( $Foxp3^+$ ), які можуть бути незалежними предикторами ефективності ПКТ, оскільки вони модулюють імунну толерантність, ангіогенез та інвазивність пухлини [44–46]. Крім того, експресія лігандів PD-L1 на пухлинних клітинах і в мікрооточенні є критичним фактором, який безпосередньо визначає можливість пригнічення протипухлинної активності Т-лімфоцитів.

Генетичні особливості пухлини суттєво впливають на її імуногенність, метаболическу активність та здатність ухилятися від імунної відповіді. Окремі мутації та їх комбінації можуть радикально змінювати біологічну поведінку НДКРЛ. Зокрема, ко-мутації KRAS, STK11 і KEAP1 належать до найбільш клінічно значущих. Втрата STK11 активує YAP1 і формує резистентний фенотип, який характеризується низькою інфільтрацією  $CD8^+$  Т-клітин [47]. У роботах Pan-Cancer Atlas виявлено шість імунних підтипів (C1–C6), кожен із яких має характерні молекулярні патерни та різний прогноз [48].

Мутації KEAP1 і STK11, що формують “Redox<sup>high</sup>” фенотип, асоційовані зі зниженою щільністю імунних клітин та гіршою ефективністю ПКТ [49,50]. Інші мутації, такі як TP53, можуть підсилювати імуногенність, збільшуючи кількість пухлинних неоантигенів, що робить пацієнтів потенційно більш чутливими до імунотерапії. Таким чином, генетичний ландшафт пухлини є важливим, але досі недостатньо інтегрованим у клінічний процес елементом прогнозування.

В українській клінічній практиці досі відсутні інструменти, які б дозволяли надійно оцінювати індивідуальну ймовірність відповіді на імунотерапію. Хоча в міжнародних рекомендаціях як предиктивні біомаркери розглядають експресію PD-L1, мікросателітну нестабільність та пухлинне мутаційне навантаження, їх прогностична цінність є обмеженою у широкій популяції хворих [51]. Крім того, визначення мутаційного тягаря можливе лише за допомогою секвенування наступного покоління, яке в Україні залишається фінансово та технічно малодоступним. Унаслідок цього більшість комплексних молекулярних алгоритмів персоналізації лікування практично не можуть бути впроваджені у вітчизняних закладах охорони здоров'я.

Методи прогнозування відповіді на ПКТ, запропоновані у світовій літературі, охоплюють широкий спектр підходів – від рутинних лабораторних показників до багатофакторних моделей, що враховують морфологію мікрооточення, дані медичної візуалізації та транскриптомні чи геномні профілі. Клініко-лабораторні параметри та маркери системного запалення демонструють помірну прогностичну значущість [19,52], тоді як характеристики мікрооточення пухлини також можуть бути пов'язані з чутливістю до ПКТ [53]. Найточнішими є інтегровані моделі, які поєднують дані різної природи [54–56], однак вони потребують високотехнологічних платформ, недоступних у більшості українських клінік.

Результати систематичного огляду Sinha et al. [57] показали, що, попри значний прогрес у сфері штучного інтелекту, наявні AI-моделі для прогнозування відповіді на ПКТ залишаються фрагментарними й недостатньо стандартизованими. Метааналіз Oehring et al. [58] також засвідчив потенціал

цифрових систем підтримки клінічних рішень, однак підкреслив, що їх ефективність визначається доступністю якісних локальних даних та можливістю інтеграції таких систем у реальні медичні процеси.

З огляду на зазначене, постає необхідність у створенні адаптованої до українських реалій моделі прогнозування відповіді на ПКТ, яку можна було б застосовувати без використання дороговартісних технологій. Інтеграція доступних клінічних, морфологічних, лабораторних і радіологічних показників у єдину цифрову платформу підтримки клінічних рішень дозволить не лише оцінювати індивідуальну ймовірність відповіді на лікування, але й формувати персоналізовані рекомендації відповідно до настанов NCCN та ресурсних можливостей системи охорони здоров'я. Саме тому розробка науково обґрунтованого прототипу такої платформи є логічним та необхідним кроком для удосконалення персоналізованої імунотерапії в Україні.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами**

Дослідження проведено на базі Сумського державного університету МОН України в межах виконання проєкту Рамкової програми ЄС «Горизонт 2020» з наукових досліджень та інновацій – «Роль системи репарації ДНК у патогенезі та імуногенності раку легенів» (державний реєстраційний номер 0123U102755, шифр РН/11–2023, прикладне дослідження, період реалізації: 2023–2024 рр.).

Тему дисертаційної роботи затверджено рішенням вченої ради Сумського державного університету (протокол №4 від 11 грудня 2025 року).

**Мета дослідження:** визначити клінічні, імунологічні, морфологічні, радіологічні та молекулярно-генетичні предиктори ефективності інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на НДКРЛ, інтегрувати їх у єдину модель прогнозування та розробити прототип цифрової платформи підтримки клінічних рішень.

### **Завдання дослідження**

1. Оцінити вплив часу інфузії на ефективність ПКТ у хворих на метастатичний НДКРЛ.

2. Визначити вплив віку на частоту імуноопосередкованих побічних ефектів та ефективність ПКТ у хворих на метастатичний НДКРЛ, а також встановити прогностично значущий поріг тривалості терапії, пов'язаний з підвищенням загальної виживаності.
3. Дослідити вплив паління на ефективність ПКТ у хворих на метастатичний НДКРЛ.
4. Оцінити клінічні наслідки конкурентного використання кортикостероїдів та ПКТ у хворих на метастатичний НДКРЛ.
5. Дослідити роль клінічного аналізу крові та сучасних систем оцінки ризику у прогнозуванні ефективності ПКТ у хворих на метастатичний НДКРЛ.
6. Дослідити прогностичне значення радіологічної щільності ПЖК та ВЖК у хворих на метастатичний НДКРЛ.
7. Оцінити зв'язок радіологічної щільності скелетних м'язів та індексу скелетних м'язів із відповіддю на імунотерапію у хворих на метастатичний НДКРЛ.
8. Вивчити прогностичне значення імунних фенотипів та регуляторних Т-клітин у хворих на метастатичний НДКРЛ.
9. Дослідити імуногеномну стратифікацію пухлинного мікрооточення та прогностичне значення TP53 та PD-L1 залежно від виду ад'ювантної терапії у хворих з хірургічно пролікованим НДКРЛ.
10. Вивчити молекулярні та імунні предиктори виживаності при аденокарциномі та плоскоклітинній карциномі легень.
11. Оцінити прогностичну цінність IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису при аденокарциномі та плоскоклітинній карциномі легень.
12. Створити інтегровану прогностичну модель та розробити прототип цифрової платформи підтримки клінічних рішень для стратифікації пацієнтів за очікуваною ефективністю імунотерапії.

*Об'єкт дослідження:* НДКРЛ.

*Предмет дослідження:* клінічні, імунологічні, морфологічні, рентгенологічні, генетичні та транскриптомні характеристики хворих на НДКРЛ.

**Методи дослідження:** У дослідженні застосовано комплексний багаторівневий методологічний підхід, що включав клінічні, лабораторні, імуногістохімічні, молекулярно-генетичні, рентгенологічні, інформаційно-аналітичні та статистичні методи. Клінічний метод передбачав збір демографічних характеристик, анамнезу паління, супутньої патології, даних щодо застосування кортикостероїдів, оцінку загального стану за ECOG та аналіз перебігу лікування. Лабораторні та клініко-лабораторні методи включали визначення загальноклінічних показників крові та обчислення індексів системного запалення (NLR, PLR, LMR, SII, SIRI), а також комплексних прогностичних індексів LIPI, ALI, PNI, PIOS і LEM.

Імуногістохімічний метод використовували для визначення рівня інфільтрації CD8<sup>+</sup>, FoxP3<sup>+</sup>, CD68<sup>+</sup>, CD163<sup>+</sup>, активності STAT6 та експресії PD-L1 і p53. Молекулярно-генетичний аналіз виконували методом секвенування нового покоління з метою виявлення мутацій в генах EGFR, ALK, BRAF, KRAS, ROS1, NRAS, RET, ERBB2, MET та PIK3CA. Рентгенологічний метод передбачав аналіз даних комп'ютерної томографії з визначенням радіологічної щільності та площі підшкірної й вісцеральної жирової тканини, а також параметрів скелетної мускулатури.

Інформаційно-аналітичні методи включали обробку транскриптомних, мутаційних та клінічних даних з відкритих баз TCGA, cBioPortal та UCSC Xena. Для виділення імунних та молекулярних підтипів застосовано методи кластерного аналізу.

Для створення прототипу платформи підтримки клінічних рішень IMMULUNG застосовано методи цифрової розробки (математичного моделювання та веб-програмування). На основі результатів багатофакторних регресій Кокса та бутстреп-ресемплінгу створено бальну модель ризику, яку інтегровано у веб-інтерфейс із використанням HTML, CSS та JavaScript. Функціональність

інструменту перевіряли шляхом внутрішньої валідації, тестування крайніх сценаріїв та оцінки відповідності прогнозів вихідним статистичним моделям. Прототип розміщено у відкритому доступі як легку цифрову систему, що не потребує встановлення програмного забезпечення.

Статистичний аналіз охоплював моделі Кокса, аналіз Каплана–Майєра, ROC-аналіз, сплайнове моделювання, багатофакторні регресійні моделі та бутстреп-валідацію. Окремо використовували кластерний аналіз для визначення імуно-біологічних підтипів та проведено мета-аналіз опублікованих досліджень із використанням моделей фіксованих і випадкових ефектів для оцінки впливу часу доби інфузії ПКТ на виживаність.

**Наукова новизна отриманих результатів.** У представленій роботі вперше в Україні проведено комплексне мультидисциплінарне дослідження, яке охоплює клінічні, імунологічні, морфологічні, рентгенологічні, генетичні та транскриптомні характеристики пацієнтів із НДКРЛ, і спрямоване на визначення предикторів ефективності ПКТ.

Встановлено, що час доби інфузії ПКТ є незалежним предиктором загальної виживаності: ранкове введення забезпечує достовірне подовження життя порівняно з вечірніми інфузіями. Це положення підтверджено мета-аналізом, що вводить у науковий обіг новий доказовий напрям – циркадну імунотерапію.

Новими є результати щодо віку як біологічного модифікатора. Встановлено, що літній вік не пов'язаний зі зменшенням ефективності ПКТ, але асоціюється зі збільшенням профілю імунозалежної токсичності. Уперше для української когорти переосмислено концепцію імуносенесценції в контексті ПКТ та визначено мінімальну тривалість імунотерапії для досягнення оптимального ефекту.

Вперше в українській популяції показано, що тривалий стаж паління має протилежний прогностичний ефект у разі застосування хіміотерапії та імунотерапії, що вказує на складну взаємодію тютюнового мутагенезу, PD-L1-регуляції та імуногенності пухлини.

Вперше показано, що інгаляційні кортикостероїди не мають негативного впливу на ефективність ПКТ, в той час як системні кортикостероїди тривалої дії негативно впливають на виживаність та відповідь на лікування, що дає підстави для перегляду практики їх рутинного призначення.

Вперше описано прогностичну роль композиції тіла, включно з радіологічною щільністю ПЖК та ВЖК та параметрами скелетної мускулатури, що дає змогу визначати рентгенологічні фенотипи відповіді на ПКТ. Встановлено оптимальну радіологічну щільність ПЖК, яка вказує на стан імунометаболічного оптимуму та є предиктором кращої відповіді на ПКТ.

Уточнена предиктивна роль показників клінічного аналізу крові та комплексних прогностичних шкал у оцінці ефективності ПКТ. Уперше для української когорти пацієнтів з метастатичним НДКРЛ, які отримували ПКТ виконано комплексний аналіз індексів системного запалення (NLR, PLR, LMR, SII, SIRI) та їхнього зв'язку з клінічними результатами імунотерапії. Крім того, встановлено, що шкала LEM має достовірну предиктивну здатність щодо відповіді на ПКТ і може бути використана як незалежний маркер.

Науково новими є результати щодо пухлинного мікрооточення: встановлено, що співвідношення  $CD163^+/CD68^+$  є незалежним предиктором виживаності, а просторовий розподіл  $CD8^+$  Т-клітин, рівні FoxP3<sup>+</sup> та активність STAT6 формують імунний профіль, пов'язаний з чутливістю до ПКТ.

Новими є також дані щодо молекулярних предикторів. Уперше у вітчизняній практиці на базі відкритих онкологічних репозиторіїв проведено інтегративний аналіз мутаційних ландшафтів (KRAS, STK11, KEAP1, TP53) та IFN $\gamma$ -асоційованих транскриптомних підписів, які продемонстрували незалежний прогностичний потенціал.

Принципово новим науковим результатом є розробка першого в Україні інтегративного прототипу цифрової платформи підтримки клінічних рішень IMMUNO-LUNG, який базується на комплексній багаторівневій моделі прогнозування ефективності ПКТ. Модель поєднує клінічні параметри, біомаркери системного запалення, морфологічні та радіологічні характеристики,

показники пухлинного мікрооточення та молекулярно-генетичні предиктори. Ітерована математична трансформація багатофакторної регресійної моделі у бальну шкалу дозволила створити інструмент, здатний до індивідуалізованого прогнозування виживаності.

Створення інтерактивного веб-прототипу, реалізованого у форматі автономного HTML/JavaScript-модуля, стало новим етапом у впровадженні цифрових технологій у вітчизняну онкологію. Прототип забезпечує миттєву оцінку ризику та прогнозу, демонструє високу доступність і не потребує спеціального програмного забезпечення чи серверної інфраструктури, що робить його потенційно широко застосовним у закладах охорони здоров'я України.

Таким чином, сукупність отриманих результатів не лише розширює сучасні наукові уявлення про біологічні детермінанти відповіді на ПКТ, а й формує національну методологічну основу для створення цифрових платформ підтримки клінічних рішень у персоналізованій онкології.

**Практичне значення отриманих результатів.** Отримані результати мають суттєве практичне значення для персоналізації лікування хворих на НДКРЛ, які отримують ПКТ. Показано, що ранкове введення ПКТ асоціюється з кращою загальною виживаністю порівняно з вечірніми інфузіями, що створює підґрунтя для впровадження циркадно орієнтованих схем імунотерапії без додаткових витрат ресурсів. У літніх пацієнтів виявлено підвищену частоту імуноопосередкованих ускладнень, що обґрунтовує необхідність інтенсивнішого моніторингу токсичності та індивідуалізації супровідної терапії. Крім того, визначено клінічно значущий поріг тривалості лікування: терапія ПКТ менш як 8 місяців суттєво підвищує ризик неефективності лікування, тоді як достатня тривалість є важливою умовою досягнення оптимальної відповіді.

Встановлено, що тривалий стаж паління по-різному впливає на результати лікування: у хворих, які отримують ПКТ, він асоціюється з кращою виживаністю, тоді як при хіміотерапії – із гіршими показниками, що дозволяє враховувати статус паління при виборі виду системної терапії. Оцінка складу тіла (радіощільність підшкірної та вісцеральної жирової клітковини, параметри

скелетних м'язів) дає змогу ідентифікувати пацієнтів з несприятливим метаболічним профілем, у яких імунотерапія потребує особливо ретельного нагляду.

Показано, що серед комплексних прогностичних індексів лише шкала LEM має значуще предиктивне значення щодо відповіді на ПКТ, що дає змогу спростити стратифікацію ризику й уникати надмірного використання малокорисних індексів. Встановлено, що співвідношення CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup> у пухлинному мікрооточенні є незалежним предиктором виживаності, а дані про експресію FoxP3 і PD-L1, а також про мутаційний статус (KRAS, STK11, KEAP1, TP53) та IFN $\gamma$ -асоційовані генні підписи можуть використовуватися для формування індивідуалізованих моделей прогнозу й вибору оптимальної терапевтичної стратегії.

Окреме практичне значення має розроблений у межах роботи інтегративний прототип цифрової платформи підтримки клінічних рішень IMMUN-LUNG, який є першим в Україні інструментом такого типу для пацієнтів з метастатичним НДКРЛ, що отримують ПКТ. На основі багатофакторної прогностичної моделі створено зручний у використанні веб-модуль, який автоматично розраховує індивідуальний ризик та прогноз виживаності на підставі клінічних, лабораторних, морфологічних та поведінкових параметрів.

Практична цінність цього прототипу полягає у можливості швидкої стратифікації пацієнтів за рівнем ризику та у формуванні персоналізованих клінічних рекомендацій у реальному часі, без необхідності встановлення спеціального програмного забезпечення чи доступу до високопродуктивних обчислювальних ресурсів. Завдяки автономній реалізації на HTML/JavaScript інструмент може використовуватися у звичайних стаціонарних або амбулаторних умовах, у тому числі в лікарнях із обмеженою матеріально-технічною базою.

Важливим є те, що IMMUN-LUNG ґрунтується на національних даних, що забезпечує високу релевантність результатів для української популяції пацієнтів, на відміну від більшості існуючих міжнародних калькуляторів, які створені на основі вибірок інших країн і не завжди враховують етнічні, поведінкові та

клініко-біологічні особливості українських хворих. Використання цього прототипу може підвищити точність прогнозування, оптимізувати прийняття рішень щодо режиму введення ПКТ, тривалості лікування та необхідності інтенсифікованого моніторингу.

Створений веб-модуль також сприяє стандартизації клінічних підходів та зменшенню суб'єктивності при оцінці пацієнтів, що є особливо важливим для міждисциплінарних онкологічних консилиумів. Прототип може бути інтегрований у внутрішні інформаційні системи медичних закладів, застосовуватися для навчання лікарів-інтернів та молодих фахівців, а також слугувати основою для подальшого розширення цифрових інструментів у сфері імуноонкології.

У перспективі IMMUN-LUNG може бути доповнений модулями для автоматичного зчитування радіологічних параметрів, біомаркерів або даних електронної медичної карти, що відкриває можливості для створення повноцінної національної платформи підтримки прийняття рішень у лікуванні раку легень.

**Впровадження результатів дослідження.** Отримані результати вже інтегровані в клінічну практику ряду медичних закладів, зокрема Сумського обласного клінічного онкологічного центру, медичної лабораторії CSD та хірургічного центру «Надія». Матеріали дисертації також використовуються в освітньому процесі на кафедрах онкології провідних медичних університетів України, серед яких Івано-Франківський національний медичний університет, Буковинський державний медичний університет, Навчально-науковий медичний інститут СумДУ та Харківський національний медичний університет.

**Особистий внесок здобувача.** Клінічний етап дослідження було проведено в Сумському обласному клінічному онкологічному центрі на базі кафедри онкології та радіології Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету під керівництвом кандидата медичних наук, доцента І. О. Винниченка. Морфологічні дослідження виконувалися на кафедрі патологічної анатомії цього ж інституту під науковим супроводом доктора

медичних наук, професора Р. А. Москаленка. Молекулярно-генетичні дослідження здійснено у Медичній лабораторії CSD під керівництвом її медичного директора, доктора медичних наук, професора О. М. Сулаєвої.

Здобувач самостійно сформуvala концепцію, мету, завдання та дизайн дослідження, визначивши ключові напрями аналізу предикторів ефективності ПКТ. Автор особисто здійснила відбір пацієнтів, формування клінічної когорти, збір первинних медичних даних, створення стандартизованих електронних баз та систематизацію усіх клініко-демографічних і терапевтичних характеристик.

Здобувач брала безпосередню участь у аналізі лабораторних показників і самостійно виконала розрахунок індексів системного запалення та комплексних прогностичних шкал. Автор здійснила повну обробку КТ-даних та кількісну оцінку параметрів ПЖК та ВЖК, а також скелетної мускулатури.

Аналіз результатів імуногістохімічного дослідження, зокрема оцінювання прогностичного значення експресії CD8<sup>+</sup>, CD68<sup>+</sup>, CD163<sup>+</sup>, FoxP3<sup>+</sup>, STAT6 та PD-L1, виконано здобувачем особисто, так само як і підготовка матеріалу до молекулярно-генетичного аналізу. Автор брала участь у трактуванні результатів молекулярно-генетичного дослідження методом секвенування наступного покоління та самостійно виконала їх інтеграцію з клінічними показниками.

Окремо здобувач самостійно здійснила завантаження, обробку та аналіз транскриптомних, мутаційних і клінічних даних із відкритих баз TCGA, cBioPortal та UCSC Xena, включно з нормалізацією даних, формуванням панелей генних підписів, аналізом IFN $\gamma$ -асоційованих транскриптомних кластерів та зіставленням їх із клінічними результатами терапії.

Увесь статистичний аналіз – моделі Кокса, аналіз Каплана–Майєра, сплайнове моделювання, ROC-аналіз, кластеризація та мета-аналіз – виконано здобувачем самостійно. Автор здійснила інтерпретацію результатів, сформулювала висновки, підготувала всі розділи дисертації та забезпечила впровадження отриманих даних у клінічну й освітню практику.

Особистим внеском здобувача є також повний цикл розробки інтегративного прототипу цифрової платформи підтримки клінічних рішень

IMMU-LUNG. Автор самостійно здійснила побудову математичної моделі бального прогнозування, виконала трансформацію регресійних коефіцієнтів у систему зважених балів, розробила алгоритм стратифікації ризику, сформувала прогнозні криві для різних часових точок та інтегрувала їх у єдину прогностичну структуру. Технічна реалізація прототипу – написання HTML/JavaScript-коду, створення інтерфейсу, логіки обчислень, системи виведення результатів та клінічних підказок, а також розгортання готового модуля на GitHub Pages – повністю виконані здобувачем.

Створений інструмент став завершальним етапом роботи та практичним втіленням отриманих наукових результатів, а також демонструє здатність здобувача до самостійного виконання комплексних мультидисциплінарних досліджень, що включають як клінічні й лабораторні методи, так і сучасні цифрові технології.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення та висновки дисертаційної роботи пройшли широку апробацію на низці наукових заходів різного рівня. Результати були представлені на XIV з'їзді онкологів та радіологів України (Київ, 2021) та Міжнародній науково-практичній конференції «Молодіжна наука заради миру та розвитку» (Чернівці, 2022). Молекулярно-генетичні та імунологічні результати роботи були представлені на BioGENext: Next Generation Therapy Conference (Київ, 2024). Практичні й клініко-прогностичні аспекти дослідження оприлюднювалися на X науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2024) та на Восьмій всеукраїнській науково-практичній конференції «Теорія та практика сучасної морфології» (Дніпро, 2024). Результати щодо клінічних, запальних та імунних предикторів були розглянуті на VII та VIII науково-практичних internet-конференціях «Механізми розвитку патологічних процесів та хвороб та їх фармакологічна корекція» (Харків, 2024 та 2025), а також на Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених «Медична наука – 2024» (Полтава, 2024).

Імуногістохімічні та геномні дані дисертації були представлені на 36-му та 37-му Європейському конгресі патології (Флоренція, 2024 та Відень, 2025), 114-ій Щорічній конференції Об'єднаної академії патологів США та Канади (Бостон, 2025), а також на 12th International Black Sea Scientific Research Conference (Трабзон, 2025). Подальші результати, що стосуються морфологічних аспектів імунного мікрооточення, були апробовані на Дев'ятій всеукраїнській науково-практичній конференції «Теорія та практика сучасної морфології» (Дніпро, 2025). Крім того, окремі положення дослідження доповідалися на ХХІХ конгресі студентів та молодих учених «Майбутнє за наукою» (Тернопіль, 2025).

**Публікації.** За результатами дисертаційної роботи підготовлено та оприлюднено 41 наукову працю. До них входять 25 статей, серед яких 16 індексовані у міжнародних наукометричних базах Scopus та/або Web of Science, 9 надруковано у фахових виданнях категорії Б, схвалених Міністерством освіти і науки України, та 2 розділи монографій в закордонних виданнях. Отримане 1 свідоцтво про реєстрацію авторського права на твір комп'ютерна програма. Крім того, за темою дисертації представлено 13 тез доповідей на наукових форумах міжнародного та національного рівнів та отримане свідоцтво про реєстрацію авторського права на твір комп'ютерна програма.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота викладена українською мовою та займає 411 сторінок. Її зміст включає вступ, огляд літератури, опис матеріалів і методів, чотири розділи власних досліджень, розділ з аналізом та узагальненням отриманих результатів, висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел та додатки. Бібліографія налічує 634 найменування, серед яких 9 джерел подано кирилицею та 625 – латиницею; загальний обсяг списку становить 73 сторінки. Робота проілюстрована 67 рисунками та доповнена 45 таблицями і схемами.

## РОЗДІЛ 1

### БІОЛОГІЧНІ ОСНОВИ ЕФЕКТИВНОСТІ ІНГІБІТОРІВ ІМУННИХ КОНТРОЛЬНИХ ТОЧОК: ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1. Механізм дії патологічних шляхів CTLA-4 та PD-1/PD-L1

Імунна система захищає організм людини від дії різних патогенів та атипових клітин. Основну роль у цьому процесі відіграють Т-лімфоцити. Виснаження Т-клітин пов'язане з низькою виживаністю та поганим прогнозом для пацієнтів. За даними Ma et al. [59] внутрішньопухлинні Т-клітини, які перебувають у дисфункціональному стані, індукуються супресивними сигналами в пухлинному мікрооточенні. Про виснаження Т-лімфоцитів свідчать низькі рівні цитокінів (наприклад, IFN- $\gamma$ ) та високі рівні експресії інгібіторних рецепторів PD-1 і CTLA-4. Супресивні патологічні шляхи блокують вироблення ефекторних цитокінів, зокрема цитотоксичного лімфоцитного гранзиму А, цитотоксичного лімфоцитного гранзиму В та перфорину 1.

Не зважаючи на те, що PD-1 і CTLA-4 мають однакову супресивну дію на Т-лімфоцити, існують відмінності в місці та часі дії. Сигнальний механізм CTLA-4 діє переважно на рівні лімфатичних вузлів та на етапі ранньої стадії імунної відповіді. PD-1 пригнічує Т-клітини, розташовані паратуморально та в периферичних тканинах. Відбувається це дещо пізніше. Крім того, PD-1 експресується на В-лімфоцитах, Т-лімфоцитах, мієлоїдних клітинах, в той час як CTLA-4 обмежений лише Т-клітинами. Отже, CTLA-4 працює на початкових етапах активації Т-лімфоцитів в лімфатичних вузлах, а PD-1 приєднується під час ефекторної фази і діє здебільшого в периферичних тканинах [60].

Секрет високої ефективності комбінованої терапії інгібіторами імунних контрольних точок полягає у одночасному впливі на PD-1 та CTLA-4 рецептори, що розташовані на виснажених CD8<sup>+</sup> Т-лімфоцитах у різних місцях та у різний часовий проміжок. Блокування PD-1 (або його ліганду PD-L1) та CTLA-4 призводить до відновлення нормальної функції Т-клітин. Ймовірно, саме це

забезпечує вражаючий терапевтичний ефект у пацієнтів з раком молочної залози [61], гліобластомою [62] та багатьма іншими злоякісними новоутвореннями.

Внаслідок впливу блокаторів CTLA-4 відбувається активація та активна проліферація Т-клітин. Це, в свою чергу, зменшує імуносупресію, зумовлену регуляторними Т-лімфоцитами (Treg). Для активації Т-клітин, що перебувають у стані спокою, необхідна блокада патологічного шляху PD-1. Поєднаний вплив на PD-1 та CTLA-4 призводить до покращення протипухлинної імунної відповіді.

CTLA-4 завжди локалізуються на Treg, проте є механізм стимуляції появи цих рецепторів. Він полягає у передачі патологічних сигналів CD28 і Т-клітинного рецептора та активації Т-клітин. Рецептори CD28 та CTLA-4 на поверхні Т-клітин мають два спільні ліганди з рецепторами CD86 і CD80 на поверхні антиген-презентуючих клітин. Проте, CTLA-4 більш схильний до взаємодії із CD80 [63].

У стані спокою Т-лімфоцити експресують мінімальну кількість CTLA-4, і цей рецептор практично не бере участі в регуляції імунної відповіді. Після активації Т-клітин його експресія різко зростає, і CTLA-4 починає конкурувати з CD28 за зв'язування з лігандами CD80 та CD86 на антиген-презентуючих клітинах. Оскільки афінність CTLA-4 до цих лігандів значно вища, він ефективно витісняє CD28, що призводить до гальмування ко-стимуляторного сигналу, необхідного для повноцінної активації Т-лімфоцитів. У результаті передача сигналу між антиген-презентуючою клітиною та Т-клітиною блокується, проліферація та функціональна активність ефektorних Т-лімфоцитів знижуються, а регуляторні Т-клітини, навпаки, можуть посилювати свою імуносупресивну дію. Як наслідок, загальна інтенсивність імунної відповіді зменшується, і пухлинні або інші атипові клітини отримують можливість уникати імунного нагляду та прогресувати.

У випадку, коли рівень експресії CTLA-4 значний і сигнали від нього перевершують сигнали від CD28 Т-лімфоцит може стати взагалі неактивним і зазнати апоптозу [64]. Дія блокаторів CTLA-4 полягає у порушенні системи

інгібіторних сигналів, яких зазнає Т-клітина. Після цього спостерігається активація імунної відповіді.

Протеїн запрограмованої клітинної смерті-1 (PD-1) експресується значно частіше, ніж CTLA-4. На відміну від CTLA-4, цю коінгібіторну молекулу можна виявити не лише на поверхні Т-лімфоцитів, але також В-лімфоцитів та природніх клітинах-кілерах. PD-1 здатний діяти протягом 6–12 годин, в той час як CTLA-4 лише 1 годину [65]. Різновидом PD-1 є його ліганд - PD-L1, що знаходиться на поверхні пухлинних клітин та лімфоцитах, що інфільтрують пухлину. Діючи разом, PD-1/PD-L1 створюють умови для пригнічення Т-лімфоцитів та забезпечують ухилення пухлини від імунної відповіді. Атипові клітини можуть накопичувати різноманітні генетичні мутації і застосовують різні механізми для контролю імуноредагування. Блокуючи інгібіторні сигнали до Т-лімфоцитів, досягається нормалізація їх роботи і активація протипухлинного імунітету [66].

CTLA-4 та PD-1 є найбільш детально дослідженими імунними контрольними точками. Проте, багато інших знаходяться на етапі розробки: PD-L2 [67], VISTA [68], LAG3 [69], Siglec-15 [70] та інші [71]. Всі вони потенційно можуть бути використані для імунотерапії злоякісних новоутворень.

В нормі сигнальні шляхи CTLA-4 і PD-1 забезпечують захист здорових клітин організму від надмірної імунної відповіді. Для того, щоб розрізнити здорові та ракові клітини на поверхні Т-лімфоцитів розташовуються спеціальні білкові молекули. PD-1, що переважно експресується на Т-лімфоцитах, шукає білок PD-L1 на інших клітинах та визначає наскільки вони здорові. Посилаючи сигнал від PD-L1 до PD-1, атипова клітина здатна видати себе за нормальну та ухилитися від імунної відповіді. ІКТ блокують CTLA-4 і PD-1 та покращують імунну відповідь. Такі препарати, як ніволумаб та пембролізумаб блокують рецептори PD-1 і порушують сигнал від PD-L1. Після цього злоякісні клітини стають беззахисними перед Т-клітинами.

На відміну від блокаторів PD-1, ІКТ CTLA-4 здатні переналаштовувати рецептори CTLA-4 для покращення протиракової імунної відповіді. В будь-якому випадку суть дії усіх ІКТ полягає у блокуванні сигналу «вимкнено», що

забезпечує знищення пухлинних клітин Т-клітинами [72]. В країнах Європи та Північної Америки моноклональні антитіла проти PD-1 застосовують для лікування різних типів злоякісних новоутворень, зокрема пембролізумаб – для лікування раку легень [73], меланому [74], рак стравоходу [75], шлунку [76], голови та шиї [77], ендометрію [78], гепатоцелюлярного раку [79], карциноми Меркеля [80], уротеліальної карциноми [81], нирково-клітинного раку [82], лімфоми Ходжкіна [83], ніволумаб – для лікування раку легень [84], меланому [85], уротеліальної карциноми [86], нирково-клітинного раку [87], раку голови та шиї [88] та лімфоми Ходжкіна [89].

Моноклональні антитіла проти PD-L1 мають менший спектр показань, зокрема атезолізумаб використовують для лікування раку легень [90], молочної залози [91], уротеліальної карциноми [92], дурвалумаб – раку легень [93], уротеліальної карциноми [94], авелумаб – уротеліальної карциноми [95], карциноми Меркеля [96], нирково-клітинного раку [97].

Моноклональні антитіла проти CTLA-4 також використовуються досить широко, зокрема іпілімумаб – для менеджменту раку легень [98], меланому [85], раку простати [99], яєчників [100], колоректального [101] та нирково-клітинного раку [102], тремілімумаб – раку легень [103] та гепатоцелюлярного раку [104].

Отже, механізми дії CTLA-4 та PD-1/PD-L1 є ключовими у розвитку імунної толерантності пухлин, адже обидва шляхи пригнічують активність Т-лімфоцитів, але на різних етапах імунної відповіді. Комбіноване блокування цих контрольних точок дозволяє посилити протипухлинний імунітет шляхом відновлення функцій Т-клітин у різних фазах їх активації.

## **1.2. Механізми розвитку резистентності до інгібіторів імунних контрольних точок**

Імунотерапія з використанням ІКТ – це сучасний та дуже перспективний напрямок лікування злоякісних новоутворень. Не зважаючи на загальну значну клінічну ефективність, у частини пацієнтів спостерігається резистентність до

даного виду препаратів. Як наслідок, відповідь на лікування може бути непередбачуваною та незадовільною.

Механізми розвитку резистентності до інгібіторів імунних контрольних точок остаточно не вивчені. Вважається, що нечутливість до даного виду імунотерапії може бути набутою або вродженою. Не зважаючи на те, що доволі часто зустрічаються пацієнти зі стійкими і навіть повними відповідями, у частини онкохворих лікування завершується невдачею.

Причини розвитку резистентності можна розглядати в аспекті механізму дії ІКТ. По-перше, ефективність імунотерапії знижує недостатня кількість та слабка інфільтрація пухлини протипухлинними Т-клітинами. По-друге, порушення синтезу Т-клітин пам'яті зумовлює відсутність довгострокового терапевтичного ефекту. По-третє, так звана дисфункція пухлиноспецифічних Т-клітин та недостатня презентація антигенів можуть призводити до резистентності [105]. Проте, поняття резистентності набагато глибше і потребує деталізованого підходу.

Існує значна кількість теорій, які намагаються пояснити причини розвитку резистентності до ІКТ. Багато робіт присвячені дослідженню впливу пухлинного мікрооточення [106], лімфоїдного виснаження та сигнальних шляхів [107], пухлинного мутаційного тягаря [108], експресії інгібіторних рецепторів (TIM-3, VISTA, LAG-3 та TIGIT) [109], метаболітів [110] та інших факторів.

Усі механізми резистентності до терапії можна умовно поділити на три основні групи залежно від їх походження: ті, що пов'язані з властивостями самої пухлини, з особливостями пухлинного мікрооточення, а також з індивідуальними характеристиками пацієнта.

*Механізми розвитку резистентності, пов'язані з властивостями пухлини.*  
У контексті механізмів резистентності, обумовлених властивостями пухлини, до можливих причин неефективності терапії ІКТ належать, зокрема, низьке мутаційне навантаження та/або втрата пухлинних неоантигенів, що знижує імовірність розпізнавання пухлини імунною системою. Крім того, резистентність може бути спричинена порушеннями в процесингу або презентації неоантигенів,

що унеможлиблює ефективну активацію Т-клітин. Важливу роль також відіграють зміни у сигнальних шляхах, що беруть участь у розвитку пухлини, а також епігенетичні модифікації в певних генах, які можуть знижувати чутливість пухлинних клітин до імунотерапії.

Значно вищу чутливість до імунотерапії демонструють пацієнти, що мають пухлини з високим пухлинним мутаційним тягарем. Первинна стійкість або слабкий ефект даної групи препаратів обумовлені низьким пухлинним мутаційним тягарем, що пов'язано з недостатнім утворенням або втратою неоантигенів [111]. В алгоритмах підрахунку пухлинного мутаційного тягара важливо враховувати невеликі мутаційні вставки та делеції. Багато пухлин, одна з яких світлоклітинна нирково-клітинна карцинома, мають низьку кількість одонуклеотидних варіантів, проте високу частоту делецій. Ці делеції призводять до збільшення кількості неоантигенів та, відповідно, гарної відповіді на імунотерапію. Поява резистентності в процесі лікування пухлин такого типу може бути пов'язана з імуноредагуванням, в процесі якого в пухлинній тканині залишаються субклони, які не здатні експресувати неоантигени [112].

Наступною причиною резистентності, пов'язаної безпосередньо з властивостями пухлини є зміни в процесингу або презентації неоантигенів. Пухлинні клітини стають непомітними для пухлиноспецифічних CD8<sup>+</sup> Т-клітин, якщо спостерігається зниження експресії головного комплексу гістосумісності-1 та  $\beta$ 2-мікроглобуліну (одного із його компонентів) [113].

Епігенетична модифікація компонентів, які приймають участь в презентації антигенів та процесингу є ще однією причиною стійкості до імунотерапії. Looi et al. [114] досліджували зв'язок між ухиленням від імунної відповіді у пацієнтів з назофарингеальною карциномою та перехресними перешкодами між епігенетичними механізмами. Встановлено роль інгібіторів ДНК-метилтрансферази і гістондеацетилази у зворотному пригніченні імунітету та посиленні протипухлинного імунітету. Вчені дійшли висновку, що для подолання імунної резистентності необхідно застосовувати ПКТ разом з епігенетичною терапією.

Іншими прикладами епігенетичних модифікацій компонентів є ремоделювання хроматину, метилювання ДНК імунозалежних генів, метилювання ДНК у процесі диференціації мієлоїдних клітин та CD8<sup>+</sup> Т-клітин, регуляція PD-1 через зміни доступності хроматину [115].

Наслідком епігенетичних модифікацій може стати порушення синтезу цитокінів. Прикладом може бути пригнічення синтезу хемокинів, які сприяють переміщенню цитотоксичних Т-лімфоцитів в пухлинне мікрооточення. Спричиняючи метилювання ДНК за допомогою ДНК-метилтрансферази-1 та модифікуючи гістони за допомогою білка EZH2 (підсилювача субодиниці полікомб репресивного комплексу zeste 2), епігенетичні модифікації сприяють розвитку резистентності до інгібіторів імунних контрольних точок. Дослідження підтверджують, що інгібітори метилтрансферази EZH2 підвищують чутливість до імунотерапії у пацієнтів з плоскоклітинними карциномами легень. В процесі експерименту вчені використовували двовимірні лінії ракових клітин людини та тривимірні органоїди мишей і пацієнтів. Зразки обробляли двома інгібіторами EZH2 та інтерфероном- $\gamma$ . Як результат, підвищувалася експресія основного комплексу гістосумісності класу I та II (MHC I/II) на рівні мРНК та білка [116].

Відповідь на терапію інгібіторами імунних контрольних точок може залежати від генів, які відповідають за відновлення пошкоджень ДНК (FANCA, MSH, POLE, ERCC2, ATM і BRCA). У випадку нирково-клітинних карцином та колоректального раку мутації в генах SWI/SNF забезпечують високу мікросателітну нестабільність, високий рівень експресії PD-L1 та пухлинного мутаційного тягаря. Як наслідок, такі пухлини є дуже чутливими до терапії інгібіторами імунних контрольних точок [117].

Lebedev et al. [118] досліджували механізми, які лежать в основі імуномодулюючої ролі AT-збагаченого домену взаємодії 1A, який є найбільш часто мутованим епігенетичним регулятором серед усіх злоякісних захворювань людини. Впливаючи на даний фактор, можна стимулювати імунну відповідь та покращити результати лікування пацієнтів.

Зміни в онкогенних сигнальних шляхах PTEN, IFN- $\gamma$ , MAPK, STK11, CDK4/6 та Wnt/ $\beta$ -катенін також можуть призводити до резистентності терапії інгібіторами імунних контрольних точок. Основним чинником, що може пригнічувати імунну відповідь є втрата функціональних мутацій та зниження експресії у сигнальному шляху інтерферон- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). Xie et al. [119] дослідили, що резистентність до інгібіторів імунних контрольних точок пов'язана з негативним впливом IFN- $\gamma$  на NSDHL (NAD(P)-залежний дегідрогеназоподібний стероїд) і SREBP1 (білок 1, що зв'язує регуляторний елемент стеролу). Як наслідок цих процесів, посилюється вироблення TGF- $\beta$ 1 (трансформуючого фактору росту бета-1), знижується цитотоксичність Т-клітин і посилюється інфільтрація Tregs. Усі разом ці фактори призводять до погіршення імунної відповіді. Регулювання патологічного шляху NSDHL/SREBP1/TGF- $\beta$ 1 шляхом застосування інгібіторів тирозинкіназ дозволяє досягти кращих результатів у пацієнтів, що приймають інгібітори імунних контрольних точок. Мутації в компонентах сигналізації IFN- $\gamma$  також можуть призводити до резистентності, оскільки Т-лімфоцити використовують цей патологічний сигнальний шлях для індукції експресії PD-L1.

Manolakos et al. [120] дійшли висновку, що одиничні мутації STK11 (серин/треонін кіназа 11) демонструють неоднозначні результати та не можуть вважатися прогностичними біомаркерами для терапії інгібіторами імунних контрольних точок. Однак поєднання мутацій KRAS (гомологу вірусного онкогену саркоми щурів Кірстена) та STK11 є предикторами первинної резистентності. Дослідження проводилося за участі пацієнтів з метастатичним недрібноклітинним раком легень. Існує пряма кореляція між відсутністю експресії PD-L1 на пухлинних клітинах та інактивацією STK11. В даному випадку немає залежності від ступеня пухлинного мутаційного тягаря та імунною відповіддю, оскільки спостерігається вроджена резистентність до блокади PD-1 у осіб з KRAS-мутантним недрібноклітинним раком легень.

Порушення в сигнальному шляху PTEN призводить до збільшення експресії VEGF (фактору росту ендотелію судин) та активації шляху PI3K

(фосфатидилінозитол-3-кінази). В свою чергу, це призводить до появи стійкості до інгібіторів імунних контрольних точок шляхом зниження рівня експресії PD-L1[121].

Сигнальний шлях MAPK (мітоген-активовані протеїнкінази) призводить до активації VEGF та імунорегуляторних цитокінів (IL-6, IL-8, IL-10). Як наслідок, спостерігається порушення функції TIL (лімфоцитів, що інфільтрують пухлину) та зниження імунної відповіді [122]. Активація шляху Wnt/ $\beta$ -катеніну призводить до порушення інфільтрації та активації CD103<sup>+</sup> дендритних клітин. CD103<sup>+</sup> дендритні клітини приймають участь у підготовці та активації CD8<sup>+</sup> Т-клітин, тому наслідком цього є пригнічення імунної відповіді та зниження ефективності інгібіторів імунних контрольних точок [123].

Сигнальний шлях CDK4/6 (циклін-залежна кіназа 4/6) здатний безпосередньо змінювати функцію Т-клітин та впливати на імунну відповідь. Ефект блокаторів рецепторів CDK4/6 заснований на збільшенні кількості лімфоцитів, що інфільтрують пухлину та зниженні кількості M2-макрофагів. При цьому знижується ступінь виснаження Т-клітин та Tregs [124].

Ще одним фактором резистентності до інгібіторів імунних контрольних точок є наявність гормонзалежної пухлини. Наприклад, рак передміхурової залози та люмінальний тип раку молочної залози вважаються малочутливими до імунотерапії. Варто зазначити, що такі пухлини мають низькі рівні лімфоцитів, що інфільтрують пухлину та пухлинного мутаційного тягаря, а онкогенез опосередкований гормональним фактором [125].

Резистентність до інгібіторів імунних контрольних точок може бути зумовлена низьким мутаційним навантаженням, втратою або дефектною презентацією неоантигенів, епігенетичними змінами та порушеннями в онкогенних сигнальних шляхах. Ці фактори знижують здатність імунної системи розпізнавати й атакувати пухлину, що ускладнює досягнення ефективної відповіді на імунотерапію.

*Механізми розвитку резистентності, пов'язані з пухлинним мікрооточенням.* Усі пухлини в залежності від виду імунних інфільтратів

належать до певних імунофенотипів. На основі результатів імуногістохімічного дослідження виділяють «гарячі» (запальні) та «холодні» пухлинні фенотипи. Для «гарячих» пухлин характерна наявність інфільтрату не лише навкруги пухлини, але і в її основі. Як наслідок, спостерігається картина вираженого імунного захисту. «Холодний» імунофенотип означає повну відсутність інфільтрації. В залежності від цього фактору відповідь на терапію інгібіторами імунних контрольних точок буде різною. Запальні пухлини дуже чутливі до імунотерапії, в той час як ефективність лікування «холодних» є обмеженою. Пухлинне мікрооточення представлене комбінацією різних структур: стромальних та імунних клітин, позаклітинного матриксу, цитокінів, кровоносних судин. Кожна із них може як посилювати імунну відповідь, так і знижувати її та сприяти появі набуті (вторинної) резистентності до інгібіторів імунних контрольних точок [126].

До імунних клітин, що входять до складу пухлинного мікрооточення і погіршують ефект імунотерапії, належать Tregs (регуляторні Т-клітини), MDSC (мієлоїдні супресорні клітини) та пухлиноасоційовані макрофаги. Дія Tregs пов'язана із продукуванням інгібіторних цитокінів (TGF- $\beta$ , IL-10, IL-35). Як наслідок, спостерігається пригнічення функції В- та Т-клітин. Крім того, Tregs можуть безпосередньо контактувати з ефекторними лімфоцитами та блокувати їх роботу. Потенційно, визначення співвідношення Tregs та ефекторних Т-клітин дозволяє прогнозувати ефект від терапії інгібіторами імунних контрольних точок. MDSC також відіграють важливу роль у патогенезі пухлини. Ці клітини пригнічують імунну відповідь шляхом впливу на пухлиноспецифічні CD8<sup>+</sup> Т-клітини. Саме тому висока концентрація MDSC в пухлинному мікрооточенні свідчить про резистентність до інгібіторів імунних контрольних точок [127].

Крім Tregs та MDSC, з резистентністю до лікування та поганим прогнозом пов'язують пухлиноасоційовані макрофаги. Усі пухлиноасоційовані макрофаги розділяють на дві групи: класичні прозапальні (M1) та альтернативні протизапальні (M2). Прозапальні макрофаги секретують прозапальні цитокіни

(наприклад, TNF, IL-1, IL-6). Альтернативні протизапальні макрофаги пов'язані із синтезом інгібіторних цитокінів (IL-10, IL-13 та TGF- $\beta$ ) [128].

Фібробласти та ендотеліальні клітини належать до стромальних клітин пухлинного мікрооточення та виконують опорну роль для росту злоякісної пухлини. Вони також можуть змінювати імунну відповідь та сприяти розвитку резистентності. Крім того, пухлинні ендотеліальні клітини сприяють неоангіогенезу. Вони продукують тромбоцитарний фактор росту, VEGF, IL та TGF- $\beta$ . Як наслідок, стимулюється васкуляризація, ріст пухлини та спостерігається порушення процесу ефektorної екстравазації Т-клітин. Пухлинні ендотеліальні клітини сприяють накопиченню Tregs та посилюють негативні регулятори активації Т-клітин (PD-L1, PD-L2 та IL) [129].

Фібробласти, що входять до складу пухлинного мікрооточення, приймають участь в ремоделюванні матриці, синтезі факторів, які стимулюють розвиток пухлини (хемокінів і цитокінів) та пухлинній інвазії. Зміна імунної відповіді опосередкована впливом хемокінів та цитокінів, які посилюють імуносупресивні властивості пухлиноасоційованих макрофагів, Т-клітин, MDSC та дендритних клітин. В патологічний процес залучається більша кількість Tregs та мієлоїдних клітин. Оскільки хемокіни та цитокіни впливають на проліферацію та активацію імунних клітин, вони здатні впливати на результати лікування пацієнтів, які отримують терапію інгібіторами імунних контрольних точок. Найпоширенішими хемокінами, пов'язаними з онкогенезом є CXCL8/12 та CCL5/7/17/22. Їх роль полягає в стимуляції переміщення MDSCs та Tregs до пухлинного мікрооточення. Тому результатом підвищеної активності хемокінів є резистентність до інгібіторів імунних контрольних точок [130].

Ефект цитокінів (VEGF та TGF- $\beta$ ) пов'язаний із впливом на Tregs та Т-клітини. Проте, механізми дії дещо відрізняються. Цитокін VEGF пригнічує рівень ефektorних CD8<sup>+</sup> Т-клітин та сприяє рекрутуванню Tregs. Це призводить до порушення синтезу Т-лімфоцитів, труднощів з їх переміщенням та загального виснаження. Як наслідок, імунна відповідь та ефект від імунотерапії знижуються. Підвищення рівня цитокіну TGF- $\beta$  призводить до пухлинної

прогресії шляхом пригнічення цитотоксичних Т-лімфоцитів та активації Tregs. Після цього пухлина здатна уникати імунної відповіді [131].

Найпоширенішим біомаркером, який використовують для прогнозування відповіді на терапію інгібіторами імунних контрольних точок є експресія PD-L1. Дослідження, проведене Krieger et al. [132] виявило, що відповідь на імунотерапію у пацієнтів з НДКРЛ або меланомою напряму залежить від рівня експресії PD-L1. Проте, у випадку карциноми Меркеля, раку молочної залози, шлунку та світлоклітинної карциноми нирки не завжди можна передбачити відповідь.

Zhang et al. [133] у своєму дослідженні дійшли висновку, що важливо визначати експресію PD-L1 не тільки в пухлинній тканині, але і в імунних клітинах, що інфільтрують пухлину. Вчені вважають, що статуси PD-L1 і CD8 клітин TME є новими прогностичними біомаркерами у пацієнтів з плоскоклітинними карциномами стравоходу. Вони можуть використовуватися для вибору терапевтичної тактики та прогнозувати відповідь на терапію ІКТ.

Прискорити виснаження Т-клітин та зменшити імунну відповідь можуть такі молекули TME, як TIGIT, LAG-3, TIM-3 та VISTA. Порушуючи аденозинергічну передачу сигналів, вони підвищують рівень циклічного аденозинмонофосфату. Наслідком цього процесу є ослаблення функції Т-клітин та зменшення ефективності ІКТ [134].

Відповідь на терапію ІКТ залежить не лише від клітин, що знаходяться в пухлинному мікрооточення, але і від метаболічного фону. Для активації та функціонування CD8<sup>+</sup> Т-клітин необхідне адекватне підтримання процесу аеробного гліколізу. Підвищення рівня лактатдегідрогенази крові призводить до порушення цього процесу. Як наслідок, імунна відповідь знижується. На функцію імунних клітин можуть впливати аргіназа, глутаміназа та фермент, що метаболізує триптофан. Вони пригнічують проліферацію та функцію ефektorних Т-клітин через продукування токсичних метаболітів. Крім того, на гомеостаз тканин та імунну відповідь впливають амінокислоти. Порушення регуляції амінокислотного обміну в імунних клітинах призводить до метаболічного

перепрограмування пухлинного мікрооточення, росту пухлини та метастазів. Від концентрації вільних амінокислот, кількості мембранних рецепторів та функціонування основних метаболічних шляхів (mTOR і GCN2) залежить диференціювання та функціонування імунних клітин [135].

Гіпоксія в пухлинному мікрооточенні може бути ще одним механізмом розвитку резистентності до ПКТ. Цей стан є наслідком активної проліферації пухлинних клітин та збільшенням споживання ними кисню. В результаті спостерігається посилення регуляції PD-L1 та активація імуносупресивного мікрооточення [136].

Таким чином, пухлинне мікрооточення значною мірою впливає на ефективність імунотерапії, формуючи сприятливі умови для імуносупресії. Наявність регуляторних Т-клітин, MDSC, пухлиноасоційованих макрофагів, а також дія цитокінів, хемокінів і гіпоксії знижують імунну відповідь, сприяючи розвитку набутої резистентності до інгібіторів імунних контрольних точок.

*Механізми розвитку резистентності, пов'язані з характеристиками пацієнта.* Кишкова мікробіота може чинити як онкогенний, так і протипухлинний ефект. Вона вважається важливим модулятором імунної відповіді. Наслідком дисбактеріозу потенційно може бути не тільки колоректальний рак, але і гепатоцелюлярна карцинома та рак молочної залози. Вважається, що здорова кишкова мікробіота здатна підвищувати рівні ефекторних Т-клітин, регулювати МНС-II та активувати дендритні клітини [137].

На ефективність терапії ПКТ може впливати стать пацієнта. Wu et al. [138] встановили, що показники безрецидивної виживаності та загальної виживаності значно вищі у чоловіків. Ймовірно, в основі цього процесу є гормональні та генетичні фактори, що впливають на імунну відповідь. Естроген зданий змінювати імунні та стромальні клітини пухлинного мікрооточення, а також регулювати експресію PD-1 і PD-L1 та секрецію цитокінів. Проте, існують відмінності у жінок в залежності від популяції, статусу паління, мутаційного профілю, гістологічного варіанту пухлини, гормонального статусу. Тим не менш, гормональна терапія вважається потенційно перспективним напрямком

лікування, який дозволить підвищити ефективність ПКТ та подолати набуту резистентність [139].

Ефективність імунотерапії може залежати від генотипу HLA-I (людського лейкоцитарного антигену класу I), який здатний погіршити розпізнавання неоантигенів CD8<sup>+</sup> Т-клітинами та погіршити імунну відповідь. Вплив на специфічні мутації HLA-I потенційно може підвищити ефективність ПКТ [140].

Отже, індивідуальні особливості пацієнта, зокрема стан кишкової мікробіоти, стать, гормональний фон та генетичні варіації (наприклад, у генах HLA-I), можуть суттєво впливати на ефективність імунотерапії. Ці фактори формують імунну відповідь організму і здатні як підвищувати, так і знижувати чутливість до ПКТ.

### **1.3. Шляхи подолання резистентності до інгібіторів імунних контрольних точок**

Базуючись на розумінні біологічних механізмів резистентності до ПКТ, для успішного лікування пацієнтів необхідно обрати правильну стратегію. Згідно результатів проведених досліджень, правильним вибором може бути комбінування ПКТ з іншими препаратами, такими як інший ПКТ, хіміотерапією, таргетною терапією, інгібіторами неоангіогенезу, PARP інгібіторами, TGF- $\beta$  інгібіторами або епігенетичними модифікаторами.

*Комбінування двох ПКТ.* У дослідженні III фази 3 CheckMate 067 вчені дійшли висновку, що серед пацієнтів із занедбаною стадією меланоми найкращі показники п'ятирічної виживаності мали пацієнти, що приймали комбінацію ніволумаба та іпіліумаба. Середня загальна виживаність у даній когорті пацієнтів становила 60 місяців, в той час як в групі монотерапії ніволумаба та іпіліумаба 36,9 та 19,9 відповідно. Загалом після комбінованої терапії п'ятирічний бар'єр подолали 52% осіб. В групі монотерапії ніволумаба та іпіліумаба показники були значно нижчі (44% та 26% відповідно). Комбінування інгібіторів імунних контрольних точок не призвело до появи пізніх токсичних ефектів та не погіршило якість життя пацієнтів [141].

Подібні результати були отримані у дослідженні III фази CheckMate 214. Пацієнти зі світлоклітинним раком нирки, що приймали комбінацію ніволумаба та іпіліумаба мали кращі результати п'ятирічної виживаності у порівнянні з когортою, що використовувала лише сунітініб [142].

У дослідженні CheckMate 227 були підведені підсумки про ефективність лікування пацієнтів з метастатичним НДКРЛ. Пацієнти отримували лікування незалежно від рівня експресії PD-L1. Найкращі результати показала когорта, що отримувала комбінацію ніволумаба з іпіліумабом. Показники п'ятирічної виживаності були вищими у порівнянні з групою хіміотерапії (24% проти 14%), незалежно від експресії PD-L1 пухлиною. Вчені дійшли висновку, що ніволумаб плюс іпіліумаб можна використовувати в якості першої лінії терапії [143].

Комбінацію ніволумаба та іпіліумаба визнано новим стандартом лікування пацієнтів з плоскоклітинною карциномою стравоходу. У глобальному дослідженні фази III CheckMate 648 встановлено, що медіана загальної виживаності складала 17,6 місяців у групі ніволумаба та іпіліумаба, 15,5 місяців у групі ніволумаба та хіміотерапії, 11 місяців у групі хіміотерапії. Переносимість лікування в групі з комбінуванням ПКТ була прийнятною, що дозволило рекомендувати дану схему для першої лінії терапії [144].

У іншому дослідженні, оцінювали ефективність використання ніволумаба та іпіліумаба у пацієнтів із метастатичною гепатоцелюлярною карциномою. Одним із основних критеріїв включення була попередня терапія інгібіторами PD-1 або PD-L1. Критерієм виключення вважалася попередня терапія інгібіторами CTLA-4. За результатами комп'ютерної томографії, частота об'єктивної відповіді склала 22%. У 3% пацієнтів зареєстрована повна відповідь, 19% - часткова відповідь, 25% - стабілізація захворювання, 50% - прогресія, 3% - неможливо оцінити. Загалом вчені зробили висновок, що комбінація іпіліумаба та ніволумаба має достатню клінічну ефективність. Ця схема показана для лікування прогресуючої гепатоцелюлярної карциноми у пацієнтів, які раніше отримували моноклональні антитіла проти PD-1 або PD-L1 [145].

Нещодавно схему ніволумаб плюс іпілімумаб було схвалено для лікування метастатичного колоректального раку з високою мікросателітною нестабільністю. Імунотерапії підлягали пацієнти, які в якості першої лінії терапії приймали хіміотерапію з 5-фторурацилом [146]. Близько 95% колоректальних карцином мають мікросателітну стабільність, тому нечутливі до терапії ПКТ. Проте, команда вчених довела, що темозоламід, який використовують для лікування злоякісної гліобластоми, сенсibiliзує клітини колоректальної карциноми та робить її чутливою до комбінації ніволумабу та іпілімумабу [147].

Згідно результатів дослідження III фази CheckMate 743 із середнім періодом спостереження 43,1 місяця, ніволумаб та іпілімумаб продемонстрували значно більшу ефективність у пацієнтів з неоперабельною мезотеліомою плеври, ніж хіміотерапія. Медіана загальної виживаності була вищою в групі імунотерапії (18,1 проти 14,1 місяців). Показники загальної трирічної виживаності склали 23% для ПКТ та 15% для хіміотерапії [148].

У дослідженні II фази NEONIPIGA науковці вивчали частоту патогістологічної повної відповіді та токсичність комбінації ніволумаба з іпілімумабом у пацієнтів з резектабельним раком шлунку. Критерієм включення був високий рівень мікросателітної нестабільності в пухлинній тканині. Усі 32 пацієнти отримали неoad'ювантну терапію ПКТ. Після цього 29 з них були прооперовані. Три пацієнти мали повну відповідь за результатами комп'ютерної томографії, ендоскопічного дослідження та біопсії, тому не отримали хірургічного лікування. Усі пацієнти за результатами патогістологічного дослідження мали негативні краї резекції. Токсичність комбінованої терапії ПКТ виявилася значною. Імунозалежні небажані явища третього та четвертого ступеня тяжкості зареєстровано у 19% пацієнтів [149].

Протипухлинну активність демонструє інша комбінація ПКТ – дурвалумаб та тремелімумаб. Зокрема, у дослідженні III фази POSEIDON пацієнти з метастатичним НДКРЛ були розділені на три групи. Першу групу лікували тремелімумабом, дурвалумабом і хіміотерапією, другу – дурвалумабом та хіміотерапією, третю – хіміотерапією. Як наслідок, найкращі показники

загальної та безрецидивної виживаності продемонстрували пацієнти, у яких лікування дурвалумабом та хіміотерапією було доповнене треміліумабом [150].

Важливі висновки були зроблені у дослідженні III фази MYSTIC. Для оптимальної ефективності комбінації дурвалумаб та треміліумаб поріг пухлинного мутаційного тягаря повинен бути більше 20 мутацій на мегабазу. В іншому випадку показники загальної виживаності подібні до групи монотерапії дурвалумабом або хіміотерапії [151].

Ефективність комбінації дурвалумабу та треміліумабу для лікування пацієнтів з неоперабельною гепатоцелюлярною карциномою оцінювали у дослідженні HIMALAYA. Така схема продемонструвала кращі результати лікування у порівнянні з монотерапією дурвалумабом або сорафенібом [152].

Ефективність лікування ПКТ може залежати від наявності метастазів у печінці пацієнтів з колоректальним раком. Такі хворі мають нижчу загальну та безрецидивну виживаність. У групі пацієнтів без печінкових метастазів, що лікувалися комбінацією дурвалумабу та треміліумабу, показник контролю захворювання складав 49%, в той час як у групі з метастазами лише 14%. Цю особливість необхідно враховувати під час вибору терапевтичної тактики [153].

Пацієнти з поширеним колоректальним раком, що приймали дурвалумаб та треміліумаб, мають кращу загальну виживаність у порівнянні з тими, хто отримував іншу доступну медикаментозну терапію (хіміотерапію, інгібітори неоангіогенезу, таргетну терапію). Найкращі результати спостерігалися у пацієнтів з пухлинним мутаційним тягарем більше 28 мутацій на мегабазу та мікросателітно стабільними пухлинами [154].

Комбінована блокада рецепторів PD-1/PD-L1 та CTLA-4 призводить до взаємодоповнюючого ефекту. Як наслідок, активуються ефекторні Т клітини, зменшується виснаження Т-клітин, пригнічуються Tregs. Моноклональні антитіла проти PD-1/PD-L1 та CTLA-4 мають різні механізми дії, але одну спільну мету (посилення імунної відповіді). Тому якщо на один із препаратів розвивається резистентність, інший забезпечує стимулюючий ефект альтернативним шляхом [155].

Важливим механізмом ухилення від імунної відповіді є експресія інших імунних контрольних точок (LAG-3, TIM-3, VISTA, TIGIT) [156]. Посилити ефект моноклональних антитіл проти PD-1/PD-L1 та CTLA-4 можна за допомогою використання інгібіторів цих молекул. Наприклад, інгібування LAG-3 блокує негативну регуляцію та сприяє протипухлинній відповіді Т клітин. В основі процесу лежить зменшення експресії LAG-3 в TIL, виснажених Т-клітинах та інших типах імунних клітин. Крім того, блокування LAG-3 порушує взаємодію з дендритними клітинами та молекулами МНС-II на Tregs. Синергічна взаємодія між LAG-3 і PD-1 у мікрооточенні пухлини здатна підвищити ефективність лікування та подолати резистентність [157].

Ще однією перспективною мішенню на шляху подолання резистентності є TIGIT. Високий рівень експресії даних рецепторів пов'язаний із виснаженням Т-клітин. Ефект TIGIT полягає в інгібуванні ефektorної функції природних клітин-кілерів, стимуляції трансформації макрофагів до фенотипу M2. Ці інгібіторні молекули сприяють диференціюванню Т-клітин до Tregs, пригнічують дозрівання дендритних клітин. Крім того, існує прямий зв'язок між рівнем експресії TIGIT та PD-L1. Доклінічні дослідження продемонстрували, що наслідком спільного інгібування TIGIT і PD-1/PD-L1 є посилення імунної відповіді та покращення виживаності пацієнтів з різними типами пухлин. Загалом, спільне інгібування TIGIT і PD-1/PD-L1 – це нова перспективна терапевтична стратегія, яка здатна подолати резистентність до класичних інгібіторів імунних контрольних точок [158].

Посилити протипухлинну відповідь та усунути імуносупресивні ефекти можна за допомогою інгібування TIM-3. TIM-3 експресується на виснажених або дисфункціональних Т-клітинах і сприяє розвитку супресорних клітин мієлоїдного походження. Висока експресія PD-1 і TIM-3 в CD4<sup>+</sup> і CD8<sup>+</sup> Т-клітинах пов'язана з поганим прогнозом. Комбінована терапія моноклональними антитілами проти PD-1 і TIM-3 має більш виражений клінічний ефект, ніж монотерапія інгібіторами PD-1. Вчені довели, що протипухлинна відповідь забезпечується інфільтрацією Т-клітин у пухлинну тканину та зниженням

регуляції експресії TIM-3 та PD-1 на CD8<sup>+</sup> Т-клітинах. Комбінація ПКТ забезпечує вироблення ефektorних цитокінів IFN- $\gamma$  та TNF- $\alpha$ . Крім того, у пухлинній тканині знижується вироблення імуносупресивних цитокінів IL-10 та IL-6. Усі разом ці ефекти дозволяють підвищити протипухлинний імунітет та уникнути резистентності [159].

Багатообіцяючою новою терапевтичною мішенню є VISTA. Ця імуносупресивна молекула належить до сімейства B7. VISTA експресується клітинами мієлоїдної лінії в імуносупресивному мікрооточенні пухлини. Науковці розробили потенційне моноклональне антитіло проти VISTA. Клінічний кандидат KVA12123 не демонструє перехресної активності проти інших членів родини B7, але дуже специфічний проти VISTA. Дія потенційного інгібітора VISTA полягає в активації Т-клітин і NK-опосередкованій активації моноцитів. У відкритому клінічному дослідженні фази 1/2 у пацієнтів із прогресуючими солідними пухлинами KVA12123 у поєднанні з пембролізумабом демонструє кращу протипухлинну активність та підвищену ефективність у порівнянні з монотерапією [160].

*Комбінування інгібіторів імунних контрольних точок з інгібіторами неоангіогенезу.* Інгібування рецепторів васкулярного ендотеліального фактора росту (VEGF) може змінювати пухлинне мікрооточення та підвищувати ефективність імунотерапії. Гуманізоване біоспецифічне антитіло AK112 націлене на рецептори PD-1 та VEGF. Ефективність та безпеку AK112 у поєднанні з хіміотерапією досліджували у пацієнтів із метастатичним недрібноклітинним раком легень. Хіміотерапія на основі платини у поєднанні з AK112 продемонструвала задовільну протипухлинну активність у різних когортах пацієнтів. Дану комбінацію використовували для першої лінії терапії у пацієнтів без драйвальної мутації EGFR, а також для другої лінії після неефективного лікування інгібіторами тирозинкінази, інгібіторами імунних контрольних точок чи хіміотерапії. Комбінація інгібіторів PD-1 та VEGF вважається потенційним шляхом для подолання резистентності [161].

Комбінована терапія авелумабом та акситинібом продемонструвала свої переваги у дослідженні III фази JAVELIN Renal 101. Частота об'єктивної відповіді та виживаність без прогресування у пацієнтів із метастатичною нирково-клітинною карциномою виявилися кращими, ніж у когорті, що приймала сунітініб. Вчені дійшли висновку про доцільність застосування авелумаба та акситинібу для першої лінії терапії пацієнтів усіх вікових груп. Дані про загальну виживаність пацієнтів відсутні, оскільки дослідження триває [162].

Комбіновані інгібітори рецепторів PD-1 та VEGF пембролізумаб та акситиніб довели свою ефективність в якості першої лінії терапії у пацієнтів з метастатичною нирково-клітинною карциномою. Загальна виживаність та виживаність без прогресування значно вищі, ніж у пацієнтів групи сунітініба. Крім того, така тенденція зберігалася у випадку застосування цієї схеми для другої та третьої лінії терапії. Медіана виживаності без прогресування із застосуванням пембролізумаба та акситиніба становила 11,1 місяці, показник об'єктивної відповіді – 31,4% [163].

Комбінована терапія атезолізумабом та бевацизумабом у порівнянні з ленватинібом збільшує загальну виживаність у пацієнтів з гепатоцелюлярними карциномами. Варто зазначити, що даний ефект спостерігається лише у випадку вірусної етіології пухлини. Якщо гепатоцелюлярна карцинома розвинулася внаслідок жирового гепатозу, то загальна виживаність буде кращою в групі ленватиніба [164].

У дослідженні фази Shalata et al. [165] вивчали вплив терапії пембролізумабом проти ніволумаба та іпілімумаба на показник безрецидивної виживаності за 12 місяців у пацієнтів з III або IV стадією аденокарциноми легень. Критерієм включення був TMB більше 10 мутацій на мегабазу. Як результат, показник безрецидивної виживаності за 12 місяців становив 51,3%, загальної виживаності – 72,0%.

Комбінована терапія пембролізумабом та ленватинібом показала кращі показники безрецидивної та загальної виживаності у пацієнтів із занедбаними гепатоцелюлярними карциномами. Вчені дійшли висновку, що комбінована

терапія має більше переваг щодо виживання, ніж монотерапія пембролізумабом. Вважається, що комбінування інгібіторів PD-1/PD-L1 та VEGF допомагає подолати резистентність за рахунок посилення інфільтрації пухлинної тканини Т-клітинами. При цьому кількість Tregs та MDSCs, які чинять імуносупресивну дію, знижується. Крім того, інгібування VEGF стимулює дозрівання дендритних клітин [166].

*Комбінування ІКТ з хіміотерапією.* Переваги комбінування ІКТ з хіміотерапією спостерігали у багатьох клінічних дослідженнях. Наприклад, у дослідженні фази III KEYNOTE-407 порівнювали результати лікування пацієнтів з метастатичним недрібноклітинним раком легень. Для лікування пацієнтів першої групи використовували пембролізумаб та хіміотерапію, другої – плацебо та хіміотерапію. П'ятирічна виживаність без прогресування та загальна виживаність були значно вищими при застосуванні пембролізумаба, ніж плацебо (18,4% проти 9,7% відповідно) [167].

Поєднання пембролізумабу з хіміотерапією показало свої переваги у дослідженні фази III KEYNOTE-859. У порівнянні з учасниками групи хіміотерапія та плацебо, вчені спостерігали кращі показники загальної виживаності та керовану токсичність. Як наслідок, комбінацію пембролізумаба та хіміотерапії рекомендовано використовувати для першої лінії терапії у пацієнтів з метастатичною або місцево-поширеною HER2-негативною аденокарциномою шлунково-стравохідного переходу або шлунка [168].

Покращення виживаності пацієнтів внаслідок комбінування інгібіторів імунних контрольних точок з хіміотерапією спостерігалось у пацієнтів з раком шийки матки [169], мезотеліоми плеври [170], біліарного тракту [171], тричі негативного раку молочної залози [172] та інших злоякісних новоутвореннях.

Вважається, що в основі підвищеної чутливості до інгібіторів імунних контрольних точок лежить імуностимулюючий ефект хіміотерапії. Він проявляється накопиченням пухлинспецифічних ефекторних Т-клітин, стимуляцією імуногенної загибелі клітин, зниженням регуляції MDSCs та Tregs

в ТМЕ. Крім того, хіміотерапія дозволяє уникнути лімфоїдного виснаження та покращити імунну відповідь [173].

*Комбінування ІКТ з таргетною терапією.* Комбінування інгібіторів імунних контрольних точок з таргетною терапією є дуже багатообіцяючим напрямком. Комбінацію дабрафенібу (інгібітор BRAF) з траметинібом (інгібітор MEK) використовують для лікування пацієнтів з анапластичним раком щитоподібної залози з мутацією BRAFV600E [174]. Проте, через певний проміжок часу настає резистентність і захворювання прогресує. Для подолання цієї проблеми вчені застосовували монотерапію інгібітором імунних контрольних точок, який продемонстрував медіану загальної виживаності 5,9 місяців. Проте, найкращі результати отримані після застосування схеми, що включала дабрафеніб, траметиніб та пембролізумаб. У даній когорті пацієнтів медіана загальної виживаності склала 9,0 місяців [175].

Аналогічну комбінацію препаратів використовували для лікування пацієнтів із занедбаним BRAF-мутантним НДКРЛ. Безрецидивна виживаність у пацієнтів, що приймали комбінацію ІКТ та таргетної терапії була кращою, ніж в у тих, хто отримував лише таргетну терапію (18,5 проти 4,1 місяців відповідно) [176].

На жаль, у дослідженні фази III IMspire150 вчені попередньо констатували, що у пацієнтів із метастатичною меланою з позитивною мутацією BRAFV600 загальна виживаність в групі атезоліумабу, вемурафенібу та кобіметинібу не відрізнялася з групою плацебо, вемурафенібом і кобіметинібом. Результати остаточного аналізу очікуються [177].

Перспективність комбінування ІКТ з інгібіторами BRAF/MEK впливає з їх клінічних ефектів. Як відомо, пацієнти, які добре реагують на імунотерапію отримують тривалий терапевтичний ефект. Таргетна терапія дозволяє швидко отримати лікувальний ефект, але тривалість відповіді обмежена. Саме тому від поєднання препаратів різних груп очікується гарна клінічна відповідь (швидка та тривала). Інгібітори BRAF чинять позитивний вплив на пухлинне мікрооточення та підвищують протипухлинний імунітет. Це відбувається шляхом активування

CD8<sup>+</sup> Т-клітин, покращення їх функції, посилення експресії антигену та PD-L1, зниження імуносупресивних цитокінів. В свою чергу, інгібітори MEK також посилюють Т-клітинну інфільтрацію та стимулюють експресію антигену [178].

Активно проводяться дослідження, присвячені вивченню ефективності комбінації ПКТ з інгібіторами PI3K [179,180] або CDK4/6 [181,182]. Ефект інгібіторів PI3K полягає в посиленні експресії рецепторів PD-1 і CTLA-4 на Т-клітинах, збільшенні інфільтрації ефекторних Т-клітин та трансформації асоційованих з пухлиною мієлоїдних клітин. Наслідком цих змін в пухлинному мікрооточенні є активація імунної відповіді [183].

Інгібітори CDK4/6 також покращують протипухлинний імунітет. Їх ефект полягає у покращенні презентації пухлинного антигену та пригніченні функції та проліферації Tregs [184].

*Комбінування ПКТ з епігенетичними модифікаторами.* Для того, щоб зробити пухлинне мікрооточення більш сприятливим для гарної імунної відповіді використовують епігенетичні модифікатори. Комбінацію пембролізумаба з 5-азацитидином та ромідепсином використовували у пацієнтів з прогресуючим колоректальним раком, який виявився резистентним до блокування лише рецепторів PD1. Вчені зробили висновок, що комбіноване інгібування ДНК-метилтрансферази та/або гістондеацетилази підвищує чутливість до терапії ПКТ [185].

В іншому дослідженні науковці вивчали ефективність застосування та вплив на пухлинне мікрооточення комбінації децитабіна та іпілімумаба (інгібітора ДНК-метилтрансферази та CTLA-4 відповідно) у пацієнтів з мієломою. Децитабін викликав переважно циторедуктивний ефект. Іпілімумаб забезпечував активацію імунної відповіді. Він змінював експресію гена Т-клітин CD4<sup>+</sup> відповідно до триваючої диференціації Т-клітин [186].

Комбінація іпілімумабу з гуадецитабіном також продемонструвала імуномодулюючу активність та гарну клінічну відповідь. Підсумки були зроблені після п'ятирічного періоду спостереження за пацієнтами з меланомою, що приймали участь у дослідженні фази Ib NIVIT-M4. Поєднаний вплив іпілімумабу

та гуадецитабіну забезпечує посилення експресії HLA-I та регуляцію генів шляху IFN- $\gamma$ . Таким чином полегшується передача протипухлинних сигналів [187].

Наступним перспективним напрямком для подолання резистентності до терапії ПКТ є пембролізумаб та вориностат. Ця комбінація препаратів застосовувалася у пацієнтів з класичною лімфомою Ходжкіна, резистентної до попередньої блокади PD-1. Частота повної відповіді у даної когорти склала 11%, а загальна частота відповіді – 56% [188].

Два дослідження фази II PEMDAC [189] та ENCORE 601 [190] показали гарний протипухлинний ефект комбінації пембролізумаба та ентіностата. У пацієнтів з увеальною меланомою та занедбаним НДКРЛ, резистентних до попередньої терапії ПКТ, спостерігалися синергічні ефекти. Вони проявлялися у інгібуванні Tregs і MDSC та підвищенні імунної відповіді. На жаль, дана комбінація препаратів не допомогла покращити результати лікування пацієнтів з мієлодиспластичним синдромом та гострою мієлоїдною лейкемією [191].

*Комбінування ПКТ з інгібіторами відновлення пошкоджень ДНК.* Найпоширенішим цитотоксичним агентом, який пригнічує полі(АДФ-рибоза)-полімераза (PARP) є олапариб. Ефективність олапарибу та дурвалумабу була оцінена в кількох дослідженнях. Ця комбінація препаратів довела свою ефективність у пацієнтів з операбельними пухлинами голови та шиї. Науковці дійшли висновку, що дурвалумаб та олапариб забезпечують зниження експресії Ki67, індукують синтез прозапальних цитокінів макрофагами та стимулюють регуляцію PD-L1 [192].

Комбінація пембролізумабу та нірапарібу показала гарні результати у пацієнтів з рецидивуючим раком яєчників [193], занедбаним НДКРЛ [194], тричі негативним раком молочної залози [195] та деякими іншими пухлинами.

Синергічний ефект ПКТ та інгібіторів PARP пояснюється активуючим впливом на імунну систему. Внаслідок пошкодження мікроядер в цитоплазму виділяється дволанцюгова ДНК, яка активує вроджену імунну систему. Спостерігається збільшення пухлинного мутаційного тягара, посилення

експресії неоантигену, активація ефektorних Т-клітин, стимуляція дозрівання дендритних клітин та посилення регуляції PD-L1 [196].

*Комбінування ІКТ з інгібіторами TGF- $\beta$ .* TGF- $\beta$  - це імуносупресивний цитокін. Його ефект полягає в стимуляції активності Tregs, пригніченні диференціації та інфільтрації ефektorних Т-клітин. У деяких доклінічних дослідженнях вчені дійшли висновків, що блокування сигналізації TGF- $\beta$  сенсibiliзує пухлинні клітини та робить їх чутливими до інгібіторів імунних контрольних точок [197]. Від комбінації дурвалумаба та галунісертиба, яку використовували для лікування пацієнтів з рецидивуючим раком підшлункової залози, очікували високу протипухлинну активність та гарний клінічний результат. Проте, ефект від такого лікування виявився обмеженим [198].

Таким чином, імунотерапія з використанням інгібіторів імунних контрольних точок є сучасним і перспективним методом лікування злоякісних новоутворень. Її дія ґрунтується на блокуванні рецепторів CTLA-4, PD-1 та PD-L1 моноклональними антитілами з метою активації протипухлинної імунної відповіді. Попри високу клінічну ефективність, у частини пацієнтів спостерігається первинна або набута резистентність, що зумовлює непередбачуваність відповіді на лікування. Механізми резистентності можуть бути пов'язані з біологічними особливостями пухлини (низьке пухлинне мутаційне навантаження, втрата або порушення презентації неоантигенів, зміни сигнальних шляхів, епігенетичні модифікації), впливом пухлинного мікрооточення, яке здатне як стимулювати, так і пригнічувати імунну відповідь, а також з індивідуальними характеристиками пацієнта.

#### **1.4. Імунозалежна токсичність інгібіторів імунних контрольних точок**

ІКТ значно покращили результати лікування багатьох злоякісних новоутворень, проте їх застосування нерідко супроводжується розвитком імунозалежної токсичності. Ці побічні ефекти є наслідком надмірної активації імунної системи й можуть уражати різні органи та системи, що вимагає глибокого розуміння їхніх механізмів для забезпечення безпечного й ефективного

лікування. Для онколога дуже важливо вчасно виявити побічні ефекти, оскільки такі пацієнти потребують призначення супутньої терапії, відміни препарату або прицільного моніторингу.

Для оцінювання ступеня тяжкості імунозалежних небажаних явищ використовують класифікацію СТСАЕ v5.0 (загальні термінологічні критерії побічних явищ, версія 5), згідно якої на основі симптомів, ознак або результатів лабораторних досліджень усі стани розділяють на п'ять ступенів тяжкості [199]. Зазвичай, пацієнти з першим ступенем небажаних явищ мають легкі симптоми або безсимптомний перебіг, тому не потребують призначення медикаментозної терапії. Для менеджменту станів другого ступеня тяжкості необхідні мінімальні, неінвазивні втручання. Пацієнти з третім ступенем тяжкості потребують госпіталізації, а четвертого – невідкладного лікування для уникнення тяжких ускладнень і летальних наслідків. П'ятий ступінь тяжкості відповідно системи СТСАЕ v5.0 означає смерть пацієнта. Для контролю над небажаними явищами може знадобитися тимчасова або повна відміна імунопрепарату, призначення високих доз стероїдних гормонів та госпіталізація пацієнта.

Під час лікування ПКТ завжди є ризик імунозалежних небажаних явищ з боку шлунково-кишкового тракту, печінки, шкіри, ендокринних органів. У пацієнтів, які приймають моноклональні антитіла проти PD-1, іноді спостерігається нудота, діарея, свербіж та висип на шкірі, тиреоїдит. Для блокаторів CTLA-4 більш характерними є ускладнення з боку товстої кишки та гіпофізу. Імунозалежні небажані явища можуть виникати у процесі лікування та навіть після його завершення. Зазвичай, минає 3–6 місяців від початку імунотерапії [200].

Небажані явища можуть бути пов'язані з ураженням різних органів та систем: системні небажані явища (лихоманка, загальна слабкість, алергічні реакції) [201], шлунково-кишковий тракт (гастрит, коліт) [202], шкіра (свербіж, акнеподібний висип, екзема, бульозні дерматози) [203], дихальна система (пневмоніт, саркоїдоз легень) [204], гепато-біліарна система (гепатит) [205], нервова система (нейропатія, мієлопатія, енцефаліт, міастенія, менінгіт) [206],

сечовидільна система (гостре ураження нирок, імунозалежне захворювання нирок) [207], ендокринна система (гіпотиреоз, гіпертиреоз, тиреоїдит, надниркова недостатність, цукровий діабет, гіпофізит) [208], орган зору (блефарит, увеїт, ідіопатичне запалення орбіти) [209], серцево-судинна система (перикардит, міокардит, аритмії) [210], кров (нейтропенія, апластична анемія, імунна тромбоцитопенічна пурпура, аутоімунна гемолітична анемія, кріоглобулінемія, набута гемофілія А) [211], м'язово-кістково-суглобовий апарат (артралгія, міопатія, васкуліт, спондилоартропатія, ревматична поліміалгія, синдром Сікка [212].

За даними метааналізу, проведеного Wang et al. [213], імунозалежні побічні ефекти мали місце у 27% пацієнтів, що приймали блокатори PD-1/PD-L1. У 6,1% пацієнтів розвинулися імунозалежні небажані явища третього або четвертого ступеня тяжкості, а у 0,17% внаслідок ускладнень імунотерапії настала смерть.

*Шлунково-кишкова токсичність* ПКТ є однією із найпоширеніших. У більшості випадків вона асоційована з прийомом моноклональних антитіл до CTLA-4. Так, 40% випадків імунозалежних небажаних явищ пов'язані з ураженням шлунку та/або кишечника після прийому блокаторів CTLA-4. Комбінація CTLA-4 та PD-1/PD-L1 має меншу токсичність. Лише у 10% пацієнтів виникає імунозалежне пошкодження шлунково-кишкового тракту [214].

Імунотерапія може призвести до токсичного ураження будь-якого відділу травного тракту. Проте, блокатори CTLA-4 значно частіше провокують розвиток запалення у нижніх відділах. Приблизно у кожного третього пацієнта спостерігається коліт. Блокатори PD-1/PD-L1 є більш безпечними і викликають запалення слизової рота, стравоходу, шлунку, дванадцятипалої кишки легкого ступеня [215].

Клінічними симптомами, які вказують на шлунково-кишкову токсичність імунопрепарату є ентероколіт. На діарею та біль у животі скаржаться 45% пацієнтів, що приймають моноклональні антитіла до CTLA-4. Менш поширеними симптомами вважаються наявність слизу у калі та лихоманку.

При ураженні верхніх відділів травного тракту пацієнт може втратити апетит, відчувати нудоту та біль у животі. Іноді дані симптоми супроводжуються блюванням. Вкрай рідко спостерігаються загрозливі для життя стани: кровотечі, зневоднення, сепсис, перфорація шлунку або кишечника. Симптоми імунного ураження зазвичай проявляються [216] через 6–9 тижнів від початку лікування, тобто після отримання 2–3 доз препарату. Однак є випадки «відтермінованої» токсичності, коли симптоми з'являються через кілька місяців після завершення лікування [217].

Основним методом, що дозволяє ідентифікувати зміни слизової шлунково-кишкового тракту (запалення, виразки, еритему), є ендоскопічний. Важливо, що під час ендоскопічного дослідження можна виконати біопсію та дослідити тканину. Про наявність імунозалежного запалення свідчать еозинофільні внутрішньоепітеліальні інфільтрати, інвазія крипт, скупчення лімфоцитів та нейтрофілів. Комп'ютерна томографія (КТ) може бути альтернативним, але менш ефективним методом дослідження. В деяких випадках зміни на КТ передують клінічним симптомам коліту [218].

Диференційну діагностику проводять з інфекційним ентероколітом, неспецифічним виразковим колітом, хворобою Крона, псевдомембранозним колітом, медикаментозним гастритом.

Пацієнти з легким ступенем шлунково-кишкової токсичності не потребують припинення імунотерапії. Рекомендується призначення симптоматичного лікування. У випадку більш тяжкого перебігу ПКТ тимчасово відміняють і призначають стероїди. У разі неефективності стероїдів застосовують інфліксимаб або ведолізумаб. Якщо ураження травного тракту відповідає 4 ступеню тяжкості, то імунопрепарат відміняється назавжди.

*Дихальна система*, зокрема легені також часто зазнають імунної атаки. Пневмоніт реєструють у 3–6% пацієнтів. Моноклональні антитіла проти CTLA-4 є менш токсичними для легень і викликають запалення лише у близько 1% пацієнтів. Блокатори PD-1/PD-L1 уражають дихальну систему у 1–5% випадків.

Комбінована терапія обома групами препаратів посилює легеневу токсичність, тому у кожного десятого пацієнта розвивається пневмоніт [219].

Пневмоніт може залишатися безсимптомним або мати симптоми, що відповідають легкому, середньому або тяжкому ступеню тяжкості. Найбільш часто спостерігається лихоманка, сухий кашель, задишка, біль у грудях, інфільтрати в легенях під час візуалізації на КТ, МРТ, рентгенографії. Пневмоніт може розвиватися у різний час, проте в середньому пацієнт отримує імунотерапію протягом 2–3 місяців до появи перших ознак токсичності. У випадку комбінованої терапії симптоми можуть з'явитися раніше. Найбільш відповідним методом діагностики імунозалежного пневмоніту є КТ. Зазвичай, рентгенологи описують інфільтрати в легенях (переважно нижніх відділах) по типу «матового скла». Додатковими методами обстеження можуть бути бронхоскопія та спірометрія. В процесі діагностики варто виключити інфекційну природу захворювання [220].

Пневмоніт потрібно диференціювати з саркоїдоподібною реакцією. Рентгенологічні зміни у верхніх частках легень з симетричною середостінною лімфаденопатією виявляють у 5–7% пацієнтів з меланомою після прийому іпіліумабу.

Інший стан, що схожий з імунозалежним пневмонітом – радіаційний пневмоніт. В анамнезі таких пацієнтів завжди є променева терапія [221].

Лікування залежить від ступеня тяжкості пневмоніту. У випадку першого ступеня без вираженої клінічної симптоматики потрібне динамічне спостереження за пацієнтом та повторне виконання КТ через 1 місяць [222]. При появі клінічних симптомів та розвитку легеневої токсичності 2 ступеня необхідна тимчасова відміна імунотерапії та призначення стероїдних гормонів. ПКТ відміняють назавжди, якщо пневмоніт відповідає третьому або четвертому ступеню тяжкості. Для лікування призначають високі дози стероїдів, а у разі їх неефективності – імуносупресанти інфліксімаб, тоцилізумаб, імуноглобулін внутрішньовенно та госпіталізація у відділення інтенсивної терапії [223].

*Печінка* – це орган гепато-біліарної системи, який також часто стає мішенню для аутоантитіл. Токсичність ІКТ збільшується у разі їх комбінування. При цьому імунозалежний гепатит розвивається у близько 30% випадків. При монотерапії моноклональними антитілами проти CTLA-4 показник є вдвічі нижчим і складає 15%.

Про настання імунозалежного гепатиту свідчать лабораторні показники: підвищення загального білірубіну, аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази. При цьому перебіг захворювання переважно безсимптомний. У більш важких випадках пацієнт скаржиться на біль у правому підребер'ї, лихоманку, нудоту, блювання, загальну слабкість, жовтяницю. Термін початку гепатиту може бути різний, проте найчастіше це трапляється через 3-14 тижнів від початку лікування імунопрепаратами [224].

Для діагностики імунозалежного гепатиту застосовують такі методи: лабораторний, УЗД, КТ, МРТ, ендоскопічне УЗД, холангіопанкреатографію. Захворювання супроводжується асцитом та лімфаденопатіями [216].

Диференційну діагностику необхідно проводити з вірусними та алкогольними гепатитами та ідіопатичним аутоімунним гепатитом. Лікування подібне до інших імунозалежних побічних ефектів. Полягає у визначенні ступеня тяжкості гепатиту та призначенні стероїдної терапії або мофетилу мікофенолату. Лікування імунопрепаратом відмінюють тимчасово або назавжди.

*Підшлункова залоза* у порівнянні з іншими органами шлунково-кишкового тракту значно рідше зазнає побічної дії ІКТ. Порушуватися може як ендокринна, так і екзокринна функція підшлункової залози [225]. Комбінація PD-1/PD-L1 та CTLA-4 призводять до появи панкреатиту у 14% пацієнтів, в той час як монотерапія блокаторами CTLA-4 – лише у менш ніж 5% осіб. Небажане явище розвивається на 9-20-й тижні лікування ІКТ і супроводжується підвищенням рівня ліпази та амілази крові.

Клінічні симптоми спочатку не виражені, ознак гострого панкреатиту немає. На користь запалення залози свідчать лабораторні показники. Дещо пізніше з'являється широкий спектр симптомів: втрата ваги, загальна слабкість,

діарея, транзиторне підвищення амілази та ліпази крові. Можуть спостерігатися ознаки цукрового діабету та недостатності травних ферментів [226].

Діагностика імунозалежного запалення підшлункової залози доволі складна, оскільки ознаки подібні до традиційного гострого панкреатиту. Для підтвердження діагнозу використовують УЗД, КТ, МРТ та ПЕТ-КТ (позитронно-емісійну томографію). На користь імунозалежних побічних ефектів свідчить імунотерапія в анамнезі, біль в епігастрії, рівень ліпази крові більш ніж втричі вище норми, специфічні результати візуалізаційних методів дослідження (ураження залози по типу інтерстиціального набрякового панкреатиту). Іноді ПКТ можуть призводити до хронічного панкреатиту і атрофії паренхіми підшлункової залози. Як наслідок, у таких пацієнтів розвивається цукровий діабет.

Диференційну діагностику імунозалежного панкреатиту проводять з аутоімунним панкреатитом, пов'язаним з імуноглобуліном G4. Відмінність полягає у гострому початку аутоімунного панкреатиту та типовому вигляду залози під час УЗД та КТ. Підшлункова залоза має вигляд «ковбаски» без нормальних жирових часточок [227].

Лікування імунозалежного панкреатиту полягає у призначенні стероїдів та тимчасовій чи повній відміні імунотерапії.

*Нирки* рідко піддаються патологічному впливу ПКТ. Імунозалежні побічні явища розвиваються у близько 5% пацієнтів, що приймають комбіновану терапію та у менш ніж 1% після монотерапії. До розвитку симптомів нефротоксичності проходить певний час (зазвичай 3–6 місяців).

Початок захворювання гострий. Одразу з'являються ознаки гострої ниркової недостатності. В деяких випадках спостерігається нирковий тубулярний ацидоз або нефротичний синдром без ниркової недостатності. Підвищення рівня креатиніну крові є основною ознакою пошкодження нирок.

Імунозалежну нефротоксичність треба диференціювати з іншими захворюваннями, що супроводжуються гострою нирковою недостатністю та

виникають через зменшення ниркового кровотоку, обструкцію сечовидільних шляхів або пряме пошкодження нирок.

Для лікування імунозалежного нефриту призначають стероїди. Якщо рівень креатиніну більше ніж втричі вище норми, то імунотерапію відмінюють назавжди. Пацієнт може потребувати госпіталізації та гемодіалізу [228].

Імунозалежні ураження *нервової системи* є складними для клінічної діагностики. Частота неврологічних ігАЕ під час монотерапії блокаторами PD-1 складає близько 6%, блокаторами CTLA-4 – 4%. Комбінація імунопрепаратів призводить до неврологічної токсичності у 12% пацієнтів [229].

Інгібітори імунних контрольних точок можуть призводити до токсичного ураження як периферичної, так і центральної нервової системи. Неврологічні ураження тяжкого ступеню мають місце у менш ніж 1 % випадків, проте можуть призводити до важких розладів і навіть смерті пацієнтів.

До загальних ознак нейротоксичності відносяться слабкість, втома, запаморочення, головний біль. Іноді у пацієнтів з'являються симптоми міастенії, поперечного мієліту, синдрому Гійєна-Барре. Асептичний енцефаліт та менінгіт – це загрозові для життя стани. Зустрічаються вони вкрай рідко.

Найчастіше на фоні прийому імунопрепаратів спостерігається ураження периферичної нервової системи у вигляді периферичних нейропатій, менінгорадикулітів та, рідше, синдрому Гійєна-Барре. Для появи клінічних симптомів минає близько 6 тижнів. Проте, іноді нейротоксичність препарату проявляється через кілька місяців після початку терапії ПКТ.

Диференційну діагностику імунозалежного ураження нервової системи проводять із токсичними, метаболічними та аутоімунними розладами. Необхідно виключити метастатичний процес, наявність злоякісної пухлини центральної нервової системи.

Лікування імунозалежної нейротоксичності полягає у призначенні стероїдів з тимчасовою або остаточною відміною імунотерапії. Для менеджменту синдрому Гійєна-Барре може знадобитися плазмаферез та внутрішньовенний імуноглобулін [230].

Імунозалежні ураження *ендокринних органів* зустрічаються у 40% пацієнтів, що отримували ПКТ [231]. Вчені встановили, що частота реєстрації будь-яких ступенів тяжкості гіпотиреозу, гіпертиреозу, гіпофізиту та надниркової недостатності становить 8,26, 5,48, 22,03 та 3,87% відповідно. При цьому не враховувалася група імунопрепарату (блокатори CTLA-4 чи PD-1) та локалізація первинної пухлини [232].

Якщо перераховувати ендокринні органи у порядку зростання, то найрідше ПКТ уражають бета-клітини острівців підшлункової залози, потім – наднирники, гіпофіз, щитоподібну залозу [233]. Ступінь тяжкості ендокринопатій може бути різна. Моноклональні антитіла рідко призводять до важких наслідків, але здатні погіршити якість життя пацієнтів. Іноді зміни органів є незворотними і завершуються постійною дисфункцією та гормональним дисбалансом. Більшість патологічних станів вдало піддаються лікуванню, якщо діагностуються вчасно. Проте, виявити ендокринопатії клінічно вкрай важко, оскільки симптоми є неспецифічними і схожими на прояви основного захворювання (втома, нездужання, загальна слабкість). Для вчасної діагностики необхідно регулярний моніторинг рівня гормонів крові.

*Щитоподібна залоза* є дуже чутливою до токсичного впливу ПКТ, особливо до комбінованої імунотерапії блокаторами PD-1/CTLA-4. Ускладнення розвиваються у кожного п'ятого пацієнта. У випадку анти-PD1/антиPD-L1 монотерапії – у кожного десятого, а при лікуванні блокаторами CTLA4 – у кожного двадцятого.

Імунозалежне ураження щитоподібної залози може проявлятися у вигляді гіпотиреозу або гіпертиреозу. Середній час до появи патологічних відхилень у лабораторних аналізах крові складає 6 тижнів.

Здебільшого гіпертиреоз та гіпотиреоз першого ступеня тяжкості є безсимптомними. Пізніше при недостатності гормонів щитоподібної залози пацієнти скаржаться на втому, пітливість, збільшення ваги, депресію, закреп. Гіпертиреоз проявляється підвищеним серцебиттям, тремором рук, загальним збудженням, безсонням. Тиреоїдні кризи вкрай рідкісні [234].

Для ранньої діагностики відхилень у роботі щитоподібної залози застосовують лабораторний метод. Для цього регулярно визначають рівні гормонів тироксину (Т4), трийодтироніну (Т3), тиреотропного гормону (ТТГ), а також антитиреоїдних антитіл до тиреоглобуліну та пероксидази. Основним візуалізаційним методом є УЗД та ПЕТ-КТ.

Диференційну діагностику проводять із гіпотиреозом, що настав внаслідок токсичного ураження гіпофіза інгібіторами імунних контрольних точок, а також з метастазами в щитоподібну залозу.

Імунозалежне пошкодження щитоподібної залози легкого ступеня потребує динамічного спостереження або призначення супровідної медикаментозної терапії (гормонів щитоподібної залози при гіпофункції або антитиреоїдної терапії при гіперфункції). Лікування інгібіторами імунних контрольних точок не припиняють. У більш складних випадках та при появі клінічних симптомів захворювання рекомендується призначення стероїдних гормонів [235].

Гіпофізит розвивається у близько 5% пацієнтів, що приймали блокатори імунних контрольних точок. Цікавий факт, що блокатори PD-1/PD-L1 викликають токсичні ефекти лише у 1% пацієнтів, в той час як блокатори CTLA-4 – у 14% [236].

Гіпофізит починається з втоми, головного болю, симптомів гіпогонадізму, гіпотиреозу та гіпокортицизму. Зазвичай це трапляється через 9 тижнів від початку імунотерапії [237].

Оскільки симптоми імунозалежного гіпофізиту неспецифічні, то частіше він діагностується випадково під час виконання КТ, МРТ або ПЕТ-КТ. Візуалізаційні методи дослідження допомагають виключити наявність аденоми гіпофіза або метастатичне ураження. При підозрі на гіпофізит вимірюють рівні гормонів крові. Діагноз підтверджують на підставі анамнестичних даних про терапію ПКТ, результатів візуалізаційних та лабораторних тестів.

Диференційну діагностику імунозалежного гіпофізиту проводять з аденомами гіпофіза, лімфоцитарним гіпофізитом та метастатичним ураженням.

Для лікування пацієнтів призначається замісна гормональна терапія. Імунотерапію тимчасово припиняють. В деяких випадках необхідне призначення стероїдів та остаточна відміна інгібіторів імунних контрольних точок [238].

Недостатність функції *наднирників* розвивається у менш ніж 5% осіб, що отримували імунотерапію. Спочатку пацієнти скаржаться на втому та гіпотонію. Зрідка через гормональну недостатність настає надниркова криза, що потребує негайного лікування. Потрібно пам'ятати, що гормональний дисбаланс може бути наслідком гіпопітuitarизму.

Для діагностики імунозалежного пошкодження надниркових залоз застосовують лабораторний метод. Для цього вимірюють рівні адренкортикотропного гормону, кортизолу, альдостерону, реніну, електролітів. Серед візуалізаційних методів найбільш інформативною є ПЕТ-КТ, яка дозволяє виявити двобічне збільшення розміру надниркових залоз та помірне накопичення флюорорезоксиглюкози. Диференційну діагностику імунозалежного адреналіту проводять з метастазами злоякісних новоутворень у надниркові залози. Лікування полягає у госпіталізації пацієнта та внутрішньовенній інфузії глюкокортикоїдних гормонів [239].

Імунозалежне ураження *ендокринних клітин підшлункової залози* є рідкісним станом. Дане імунозалежне побічне явище розвивається у 1,5% пацієнтів на фоні прийому комбінованої терапії інгібіторами імунних контрольних точок та у 1% після монотерапії антитілами до PD-1/PD-L1. Механізм розвитку діабету є аутоімунним. Про цей факт свідчать знижена експресія PD-1 на Т-клітинах та антитіла до GAD65 (глутаматдекарбоксилази 65).

Гіперглікемія не завжди являється наслідком прийому ІКТ. Вона може спостерігатися після прийому високих доз кортикостероїдів. Початок захворювання поступовий. Гіперглікемія та схуднення є основними проявами імунозалежного цукрового діабету. До появи лабораторних ознак минає від 1 до 12 місяців від початку прийому інгібіторів імунних контрольних точок [240].

Крім лабораторного методу, про пошкодження підшлункової залози свідчать результати УЗД. Орган набуває форму «ковбаски» та збільшується у розмірі. Імунозалежне пошкодження підшлункової залози необхідно диференціювати зі злоякісними новоутвореннями, метастатичним ураженням та звичайним запаленням.

Під час лікування ПКТ аналіз на глюкозу крові повинен виконуватися регулярно. Це дозволить вчасно діагностувати небажане явище. Для менеджменту гіперглікемії призначають інсулін. Імунотерапію відмінюють до нормалізації показників обміну цукру [241].

Імунозалежні небажані явища з боку *серцево-судинної системи* зустрічається у менш ніж 1% пацієнтів, що приймають інгібітори імунних контрольних точок. Кардіотоксичність здебільшого розвивається у пацієнтів з хворобами серця в анамнезі та у випадку використання комбінованої терапії. Важливо вчасно діагностувати ускладнення, оскільки смертність внаслідок кардіотоксичності може досягати 50%. Найчастіше діагностують ураження серцевого м'язу – міокардит [242].

Прояви міокардиту дуже різноманітні. В деяких випадках перебіг може бути фульмінантним і проявлятися тяжкими аритміями, міастенією, міозитом. У сироватці крові таких пацієнтів підвищується рівень тропоніну. Систолічна дисфункція спостерігається у близько 50% осіб. Ризик смерті таких пацієнтів є максимальним.

На фоні прийому інгібіторів імунних контрольних точок доволі часто виникають серцеві аритмії (шлуночкові та передсердні), а також порушення провідності. У таких пацієнтів може настати раптова смерть. Крім того, після використання моноклональних антитіл існує ризик розвитку васкуліту та перикардиту. Схожу з міокардитом клінічну симптоматику має синдром Такоцубо. На користь імунозалежного міокардиту свідчать міозит, міокардит та наявність імунотерапії в анамнезі [243].

Перебіг захворювань, викликаних імунозалежним токсичним ураженням серцево-судинної системи, не завжди гострий. Вчені повідомляли про випадки

«тліючого» міокардиту, що має хронічний перебіг. Потенційно реакція на введення ПКТ може виникати з перших днів лікування. Проте, це може статися в інтервалі від кількох днів до 15 місяців від початку імунотерапії.

Для діагностики уражень серцево-судинної системи використовують лабораторні тести та візуалізаційні методи. Показники серцевих біомаркерів та зміни на ЕКГ неспецифічні, проте доступні. Ехокардіографія, МРТ серця, ПЕТ-КТ та біопсія міокарду вважаються сучасними та перспективними методами діагностики для оцінки кардіотоксичності, спричиненої імунотерапевтичними препаратами [244].

Міокардит, що виник внаслідок токсичного впливу ПКТ, потрібно диференціювати з міокардитами іншої етіології. До розвитку даного захворювання призводять інфекційні та неінфекційні фактори. Зокрема, деякі бактерії, віруси, паразити чи гриби можуть викликати запалення серцевого м'язу. Неінфекційними причинами появи міокардиту є аутоімунні захворювання, деякі медикаменти, радіаційне опромінення.

Особливістю лікувальної тактики є остаточна відміна імунотерапії при появі найменших ознак токсичного ураження серцевого м'язу. Пацієнтам призначають стероїди, а у складних та рефрактерних випадках – інфліксимаб [245].

*Шкірна токсичність* проявляється у 30–60% пацієнтів, що отримують лікування інгібіторами імунних контрольних точок. При монотерапії блокаторами PD-L1 побічна дія на шкіру менш виражена у порівнянні з блокаторами PD-1, CTLA-4 та комбінованою терапією (20% проти 34–42, 44–59 та 59–72% відповідно). Крім того, існує зв'язок між ступенем тяжкості імунозалежного побічного ефекту та групою імунопрепарату. Тяжкі пошкодження шкіри частіше виникають після монотерапії блокаторами PD-L1 (7,2% випадків), ніж CTLA-4 чи PD-1 у (4,7% та 2,3% відповідно). Традиційно, комбінована терапія призводить до найвищої частоти шкірної токсичності третього та четвертого ступеня (14,5%) [246].

Клінічні симптоми, що свідчать про імунозалежне ураження шкіри можуть бути різноманітними. Макулопапулярний висип є найчастішим шкірним небажаним явищем. Під час фізикального огляду можна побачити еритематозні папули та плями зі схильністю до злиття. Висип локалізується переважно на шкірі тулуба та кінцівок. Інколи макулопапулярний висип прогресує і трансформується у синдром Стівена-Джонсона або синдром гіперчутливості, індукований ліками. Про тяжкий ступінь ураження шкіри свідчать поява пухирів, відшарування епідермісу, розвиток мукозиту, поява лихоманки та лімфаденопатії.

Інгібітори імунних контрольних точок можуть призводити до появи екземи, псоріазу або псоріазоподібних висипань, вітіліго, бульозних вогнищ, алопеції та свербіжу. Слід ретельно спостерігати за пацієнтами, у яких спостерігається утворення пухирів, мукозит, відшарування епідермісу, висока температура або збільшення лімфатичних вузлів [247].

Імунозалежне пошкодження шкіри розвивається через кілька тижнів або місяців лікування інгібіторами імунних контрольних точок. Для кожного варіанту шкірної реакції характерні свої часові межі початку захворювання. Наприклад, найбільш поширений макулопапулярний та псоріазоподібний висипи виникають через 3–6 тижнів від початку імунотерапії. Для розвитку безпосередньо псоріазу потрібно більше часу – до 12 тижнів, алопеції – 12–24, вітіліго – 26 тижнів. Свербіж шкіри може турбувати пацієнтів вже через тиждень після першого введення імунотерапевтичного препарату. Склеродермія виникає дуже рідко. Зазвичай потрібен тривалий прийом ПКТ (до 48 тижнів) [248].

Диференційну діагностику імунозалежного ураження шкіри проводять з алергічними реакціями, бактеріальними та вірусними інфекціями, грибковим та аутоімунним ураженням шкіри.

Для лікування висипки легкого ступеня застосовують мазі з кортикостероїдами, пероральні антигістамінні препарати та зволожуючі креми. Проте, пацієнти, що мають обширний висип та лихоманку потребують призначення системних стероїдів у дозі 0,5–1 мг/кг/день. При легкому ступені тяжкості імунозалежного небажаного явища імунотерапію не припиняють. В

більш тяжких випадках ПКТ можуть бути тимчасово або остаточно відмінені [249].

Таким чином, імунозалежна токсичність є важливим обмеженням у застосуванні інгібіторів імунних контрольних точок, оскільки може призводити до серйозних ускладнень з боку різних органів. Розуміння механізмів її виникнення є ключовим для своєчасної діагностики, профілактики та ефективного ведення пацієнтів, що отримують імунотерапію.

### **1.5. Імунотерапія недрібноклітинного раку легень: сучасний стан та прогностичні маркери відповіді на лікування**

*Епідеміологія та клінічне значення НДКРЛ.* НДКРЛ є одним із найвагоміших викликів сучасної онкології, на який припадає близько 85% усіх випадків раку легень, і саме цей гістологічний підтип найбільше визначає загальносвітові показники захворюваності та смертності [250]. За даними GLOBOCAN, у 2022 році рак легень був однією з провідних причин онкологічної смертності у світі та формував тенденції глобального онкологічного навантаження, демонструючи зростаючу медичну й соціально-економічну значущість. Прогнозується, що до 2050 року кількість випадків продовжить збільшуватися, що пов'язано із старінням населення, зростанням глобальної тривалості життя, зміною структури споживання тютюнових виробів, забрудненням повітря та зростанням поширеності факторів ризику, не пов'язаних із палінням, зокрема при аденокарциномі легень [251].

З клінічної точки зору НДКРЛ вирізняється складною молекулярною природою, генетичним поліморфізмом, високоінвазивним потенціалом та значною часткою пізнього встановлення діагнозу. Пацієнти часто звертаються із поширеною стадією хвороби, що робить можливості радикального хірургічного лікування обмеженими. Навіть у пацієнтів, які отримують стандартні схеми хіміотерапії чи хіміопроменевої терапії, рівень п'ятирічної виживаності залишається низьким, а ризик прогресування високим. У цих умовах системна терапія є ключовою точкою впливу на прогноз, й саме тому НДКРЛ став одним із

головних напрямків розробки інноваційних протиракових методів лікування, включно із імунотерапією [252].

В останні роки імунотерапія суттєво змінила парадигму лікування поширеного НДКРЛ. На відміну від цитотоксичних препаратів, що безпосередньо руйнують пухлинні клітини, ІКТ модифікують імунну відповідь та дають можливість організму «самостійно» відновити ефективне протипухлинне реагування. Це забезпечило суттєве підвищення показників загальної виживаності та тривалих відповідей на лікування у частини пацієнтів навіть за наявності дисемінованого метастатичного процесу [253]. Імунотерапія також має надзвичайно важливу роль у ранніх стадіях НДКРЛ, де розглядається як неoad'ювантна або ад'ювантна стратегія, що підсилює потенціал радикального лікування, зменшує ризик рецидиву та ймовірність мікрометастатичного поширення [254]. Таким чином, клінічне значення імунотерапії при НДКРЛ сьогодні виходить далеко за межі виключно пізніх стадій хвороби.

Попри загальні успіхи, клінічні результати ІКТ залишаються гетерогенними. Частина пацієнтів досягає тривалої ремісії, тоді як інші демонструють первинну або вторинну резистентність до терапії. Відмінності у прогнозі можуть бути пов'язані з біологічним підтипом НДКРЛ, статусом PD-L1, мутаційними драйверами, характеристиками пухлинного мікрооточення та імунного статусу організму [255]. Ця гетерогенність відповіді стала передумовою формування нового наукового та клінічного пріоритету – виявлення надійних предикторів імовірної ефективності лікування, що дозволило би персоналізувати підходи до імунної терапії НДКРЛ та уникнути неефективного застосування і дорогого лікування у пацієнтів без потенціалу відповіді на ІКТ.

Величезний глобальний, соціально-економічний та медичний тягар НДКРЛ, разом з доказовою здатністю імунотерапії радикально змінювати прогноз у вибраних групах пацієнтів, робить саме недрібноклітинний рак легень найбільш затребуваною моделлю для сучасних досліджень у сфері імунотерапії

та системної прецизійної онкології. Саме тому поглиблене дослідження механізмів дії, факторів неоднорідності відповіді та прогностичних маркерів ефективності імунотерапії при НДКРЛ має ключове значення для подальшого розвитку клінічних стратегій та оптимізації результатів лікування.

*Особливості застосування ІКТ при НДРЛ.* Ініціація застосування ІКТ докорінно змінила парадигму лікування НДКРЛ, оскільки ці препарати здатні «розблокувати» протипухлинну активність Т-лімфоцитів, відновлюючи ефекторну імунну відповідь, яка була пригнічена механізмами пухлинної імунної толерантності [255]. НДКРЛ став одним із перших солідних пухлинних типів, де застосування інгібіторів PD-1/PD-L1 було стандартизовано і включено як можливість першої лінії лікування для частини пацієнтів, особливо із високою експресією PD-L1 [256].

Імунотерапія отримала широке клінічне застосування як у монотерапії, так і у комбінованих схемах з хіміотерапією та антиангіогенними препаратами. Поєднання ІКТ з хіміотерапією потенціює перехресний синергічний ефект, що пов'язано зі здатністю цитотоксичних препаратів підвищувати імуногенність пухлинних клітин, полегшуючи розпізнавання пухлини імунною системою [253]. Комбінації з анти-VEGF агентами також здатні покращувати інфільтрацію Т-лімфоцитів та знижувати інгібіторні механізми у мікрооточенні пухлини [257]. Таким чином, раціональне комбінування імунотерапії є одним з основних стратегічних напрямів у сучасній онкопульмонології [258].

PD-1/PD-L1 блокатори стали клінічними стандартами лікування у США та Європі, при цьому показники довготривалої виживаності у відповідній вибраній групі пацієнтів суттєво перевищують рутинні результати цитотоксичної хіміотерапії [259]. Важливим досягненням імунотерапії при НДКРЛ є частка пацієнтів з тривалим «виживанням без лікування», що демонструє ефект імунологічної пам'яті, чого класичні системні методи лікування забезпечити не можуть [260]. Наявність можливості підтримання тривалої ремісії без підтримуючої терапії є однією з принципових переваг цього класу препаратів при НДКРЛ [261].

Разом з тим імунотерапія асоціюється з ризиком імунозалежних токсичних реакцій, які можуть мати клінічно значиму інтенсивність. Імуноопосередковані побічні ефекти частіше виникають при комбінованому блокуванні PD-1 та CTLA-4, що вимагає ретельного клінічного моніторингу та своєчасного введення кортикостероїдів [262]. Важливим викликом залишається проблема фінансової токсичності, оскільки терапія ІКТ має високі економічні витрати, які можуть впливати на доступність лікування та формувати суттєве навантаження на системи охорони здоров'я [263]. Таким чином, клінічні рішення мають базуватися на індивідуалізації ризику, потенційної користі та економічної доцільності [259].

Поступово імунотерапія виходить за межі лише метастатичної популяції. Все більше доказів підтверджують ефективність застосування ІКТ у ранніх стадіях НДКРЛ як у неoad'ювантному режимі, так і в ад'ювантному лікуванні після резекції пухлини [254]. Розширення використання ІКТ у ранніх етапах пухлинного процесу відображає трансформацію сучасного клінічного мислення від очікування прогресії до ранньої активної протипухлинної імунної корекції [261]. Це створює передумови для подальшої еволюції стандартів лікування та перегляду ролі хірургії, таргетної та хіміотерапії як моноцентричних стратегій.

Враховуючи гетерогенність відповіді, застосування ІКТ при НДКРЛ сьогодні розглядається як стратегія, що обов'язково повинна бути персоналізованою та базуватися на мультипараметричних прогностичних ознаках, тобто поєднанні клінічних, молекулярних, імунологічних та метаболічних предикторів [264]. Саме тому сучасні клінічні рекомендації активно формують теоретичну основу переходу до індивідуальних імуноонкологічних моделей, що мають забезпечити максимальну ефективність та мінімізацію токсичного навантаження [265].

*Проблеми неоднорідності відповіді на імунотерапію при НДКРЛ.* Однією з ключових проблем сучасної імунотерапії НДКРЛ є значна неоднорідність клінічної відповіді серед пацієнтів, навіть за однакових молекулярних характеристик та схожих клінічних параметрів. Частина пацієнтів демонструє

тривалі ремісії, тоді як інші мають первинну резистентність або швидке прогресування на фоні терапії інгібіторами PD-1/PD-L1 [265]. Це свідчить про складну багатофакторну природу імунної взаємодії між пухлиною та організмом хворого, а також про недостатність застосування поодиноких біомаркерів для прогнозування ефективності лікування [255].

Гетерогенність відповіді на терапію зумовлена відмінностями у генетичних та епігенетичних змінах пухлини, рівнем пухлинного мутаційного навантаження, складом та функціональним статусом пухлинного мікрооточення, наявністю імуносупресивних клітин, регуляторних цитокінів та метаболічних факторів [264]. Наприклад, пухлини з високим мутаційним тягарем частіше демонструють кращу виживаність та значно вищу ймовірність відповіді на імунотерапію, що було підтверджено у дослідженнях з використанням PD-1/PD-L1 блокаторів [266]. Проте значна частина пацієнтів із високим пухлинним мутаційним тягарем все одно не відповідає, що доводить складність та багаторівневість патогенетичних механізмів [267].

Додатковим фактором є вплив системного метаболічного статусу та соматичного складу пацієнта. Показано, що саркопенія, втрата м'язової маси та зміни у жировій масі пов'язані з гіршими результатами терапії ПКТ, навіть при високому рівні PD-L1 [268]. Аналогічно, пацієнти з вираженим запальним системним фоном, що підтверджується підвищеним NLR (neutrophil-to-lymphocyte ratio), мають гіршу клінічну відповідь, що підкреслює роль імунно-запальних процесів як модератора ефективності лікування [269]. Таким чином, клінічні біомаркери, що інтегрують системні фізіологічні параметри організму, також необхідно враховувати при персоналізації імунотерапії.

Суттєвий внесок у неоднорідність відповіді відіграють особливості терапевтичних схем та супутнє медикаментозне навантаження. Наприклад, застосування кортикостероїдів на ранніх етапах лікування або у високих дозах може знижувати ефективність ПКТ, що доведено в клінічних когортних дослідженнях [35]. Також супутні автоімунні захворювання, лікування імуносупресантами або застосування певних супутніх таргетних препаратів

можуть змінювати якість активованої імунної відповіді та модулювати здатність ПКТ забезпечувати тривалу ремісію [270].

Не менш важливим є той факт, що значний відсоток пацієнтів розвиває вторинну (набуту) резистентність у процесі лікування, навіть після тривалої успішної відповіді. Внутрішньоклональна еволюція пухлини, зміни антиген-презентації, ремоделювання мікрооточення та накопичення вторинних шляхів імунної супресії призводять до втрати чутливості до ПКТ [267]. Це пояснює необхідність динамічного підходу до оцінки імунного статусу під час лікування, а не лише до початку терапії [271].

Отже, клінічна неоднорідність відповіді при НДКРЛ є ключовим бар'єром для широкої універсалізації імунотерапії та підтверджує необхідність розробки нових багаторівневих моделей прогнозування та стратифікації пацієнтів, які включають інтеграцію молекулярних, імунологічних, метаболічних, клінічних та фармакологічних факторів [264]. Саме системний мультипараметричний підхід є необхідною умовою для переходу до справжньої персоналізованої імуноонкології.

*Актуальні та потенційні предиктори ефективності імунотерапії при НДКРЛ.* Найбільш уживаним у клініці предиктором відповіді на блокаду PD-1/PD-L1 залишається експресія PD-L1 у пухлині та/або імунних клітинах. Високий PD-L1 загалом асоціюється з вищою імовірністю об'єктивної відповіді, однак значна частка пацієнтів із низьким PD-L1 отримує користь, тоді як частина пацієнтів із високим PD-L1 демонструє первинну резистентність; це обмежує PD-L1 як самодостатній біомаркер і підкреслює потребу мультипараметричних моделей [272,273].

Пухлинне мутаційне навантаження розглядають як один із ключових геномних предикторів імуночутливості завдяки збільшенню кількості неоантигенів. У рандомізованому VFAST (cohort C) високий кровообіговий пухлинний мутаційний тягар був пов'язаний із кращою ефективністю атезоліумабу порівняно з хіміотерапією, тоді як нещодавній IMpower151 показав користь режиму атезоліумаб + бевацизумаб + хіміотерапія в підгрупах,

визначених молекулярними характеристиками, зокрема з акцентом на роль пухлинного мутаційного тягара у стратифікації ризику [257,266]. Додатково, проспективні реальні дані вказують, що високий пухлинний мутаційний тягар може ідентифікувати групи з довготривалою користю від комбінацій з анти-VEGF компонентом. Водночас міжплатформні відмінності у вимірюванні пухлинного мутаційного тягара і неуніфіковані пороги залишаються бар'єром для стандартизації у практиці [266].

Ключовим джерелом варіабельності відповіді є імунне пухлинне мікрооточення: щільність і просторово-часова організація CD8+ інфільтрату, баланс ефektorних та імуносупресивних клітин (Tregs, MDSC), цитокіновий і метаболічний ландшафт. Концепція імунологічної оцінки на основі контрольних точок імунної відповіді інтегрує кількісні та топографічні характеристики інфільтрату і демонструє прогностичну цінність щодо відповіді на ІКТ [264,274]. Крім того, механізми резистентності включають ремоделювання пухлинного мікрооточення і навіть нетривіальні явища на кшталт мітохондріального трансферу, що сприяє імунній втечі [275,276].

Системні маркери запалення також корисні для стратифікації. Підвищений коефіцієнт нейтрофіли/лімфоцити (NLR), абсолютна кількість нейтрофілів та похідний NLR (dNLR) асоціюються з гіршими результатами саме в популяціях, що отримують ІКТ (на відміну від хіміотерапії), а їх прогностична вага підтверджена у ретроспективних порівняннях і незалежних вибірках [277]. Це вказує на роль хронічного запалення як модератора імунної ефективності і підсилює доцільність включення простих гематологічних індикаторів до комбінованих скорів [269].

Параметри тілобудови й метаболічного статусу хворого – окремий пласт предикторів. Саркопенія та небажані зміни м'язової/жирової маси ще до початку або на тлі лікування корелюють із меншою імовірністю відповіді та гіршим прогнозом при застосуванні інгібіторів PD-1/PD-L1; це продемонстровано у мультицентрових когортних дослідженнях і підтверджено в різних лініях терапії (пембролізумаб першої лінії; ніволумаб у попередньо лікованих хіміотерапією

пацієнтів) [35,270]. Отже, показники тілобудови слугують імунометаболічними модифікаторами ефективності ПКТ і мають бути включені у клінічні номограми ризику.

Клінічно значимими є й модифікатори терапевтичної чутливості, насамперед глюкокортикоїди: базисний або інтеркурентний прийом стероїдів асоціюється зі зниженням ефективності комбінацій хіміоімунотерапії та монотерапії ПКТ, що вимагає обережності у веденні симптомів імуноопосередкованих токсичностей і супутніх станів. Водночас «спеціальні популяції» (пацієнти похилого віку та з низьким функціональним статусом) недостатньо представлені в дослідженнях; метааналізи та огляди свідчать, що вік і загальний статус організму суттєво впливають на ефективність та переносимість, підкреслюючи потребу персоналізації рішень у цих групах [35,270].

Динамічні предиктори, що відстежують імунну відповідь “у реальному часі”, набувають практичного значення. Зміни популяцій імунних клітин периферичної крові під час лікування відображають активність протипухлинного імунітету та здатні передбачати тривалість клінічної відповіді раніше за радіологічні критерії; подібні сигнатури стають основою для адаптивної модифікації терапії та обґрунтування ескалації/деескалації. Додатково, молекулярно-імунні профілі окреслюють маркери, що відрізняють пацієнтів зі стійкою користю від тих, у кого розвивається вторинна резистентність до ПКТ [271,278].

Результати рандомізованих клінічних досліджень підтверджують, що поєднання клінічних і біологічних предикторів потрібно інтерпретувати в контексті конкретних режимів. Так, ключові KEYNOTE-189/-407 і підгруповий аналіз для  $TPS < 1\%$  і  $TPS \geq 50\%$  демонструють, що PD-L1, супутні фактори пацієнта та тип імунотерапевтичного режиму разом визначають масштаб користі. П'ятирічні звіти показують довготривалі криві виживаності у відібраних підгрупах. Довготривала виживаність при подвійній імуноблокаді (CheckMate

227) підсилює тезу, що «якість» імунної активації залежить від біомаркерного контексту, а не лише від класу препарату [167,279].

Важливим «реальним фільтром» для застосовності предикторів є дані поза рандомізованими клінічними дослідженнями. Дослідження HYPERION підтверджує ефективність і безпеку атезоліумабу у популяції після попередньої хіміотерапії, але показує, що клінічний профіль пацієнтів, коморбідність та супутні ліки істотно впливають на реалізацію потенціалу біомаркерів у повсякденній практиці [280]. Додатково, «фінансова токсичність» ПКТ та комбінаційних режимів формує бар'єри доступу й підкреслює необхідність біомаркер-орієнтованого відбору, щоб максимізувати користь за ресурсних обмежень систем охорони здоров'я [263].

Сучасна стратифікація пацієнтів із НДКРЛ для імунотерапії має спиратися на «композиційні» моделі, що інтегрують PD-L1, параметри пухлинного мікрооточення, системне запалення, тілобудову/метаболічний профіль і клінічні модифікатори, доповнені динамічними маркерами в ході лікування. Такий мультипараметричний підхід підвищує точність прогнозу, дає підстави для персоналізованих комбінацій і дозволяє раціонально використовувати ресурси системи охорони здоров'я [281]. Крім того, інтегрована біомаркерна стратифікація пацієнтів з НДКРЛ є ключем до підвищення ефективності імунотерапії, подолання резистентності та покращення довготривалих клінічних результатів. Це визначає стратегію подальших досліджень та формування нових індивідуалізованих алгоритмів лікування [272].

Таким чином, попри значні досягнення в імунотерапії злоякісних новоутворень, зокрема НДКРЛ, її ефективність залишається непередбачуваною: частина пацієнтів демонструє стійку клінічну відповідь, тоді як в інших лікування виявляється неефективним або супроводжується тяжкими імунозалежними ускладненнями. Така варіабельність зумовлена комплексною взаємодією факторів, що лежать на рівні самого організму пацієнта, пухлини та її мікрооточення. Сформовані механізми резистентності, особливості імунного

статусу, метаболізм пухлини та генетичні зміни значною мірою визначають терапевтичну відповідь.

У цьому контексті пошук достовірних біомаркерів – предикторів ефективності імунотерапії – набуває ключового значення для персоналізованої медицини. Їх ідентифікація дозволить прогнозувати відповідь на лікування, мінімізувати ризики небажаних ефектів і оптимізувати вибір терапевтичної стратегії. Саме це завдання і становить предмет подальшого дослідження у межах даної дисертаційної роботи.

**Матеріали розділу висвітлені в наступних публікаціях [282–286]:**

– Moskalenko Y. Biological mechanisms of resistance to immune checkpoint inhibitors and overcoming this resistance: Challenges in medical oncology. *Regul. Mech. Biosyst.* 2024 Feb 17;15(1):83-91.

– Винниченко ІО, Москаленко ЮВ, Винниченко ОІ, Москаленко РА, Піддубний АМ. Бульозний пемфігоїд Левера у хворого на метастатичний рак легені після лікування атезоліумабом. *Клінічна онкологія.* 2019;9(1):55–57.

– Moskalenko YV, Vynnychenko IO, Smorodska OM, Vynnychenko OI, Moskalenko RA. PD-L1 testing as a way of personalizing the treatment of non-small cell lung cancer. *Likars'ka sprava.* 2019;5-6:40-45.

– Moskalenko Y, Smorodska O. Lung cancer biomarkers. Theoretical and practical aspects of the development of modern scientific research: monograph/ed. Anita Jankovska. Riga : Izdevniecība “Baltija Publishing”, 2022. p. 212–233.

– Moskalenko Y. Immune-related toxicity of checkpoint inhibitors. *Medicine and psychology: modern problems, new technologies and ways of developing outdated theories: collective monograph /ed. Hennadii Slabkyi.* Boston: Primedia eLaunch, 2024. p. 124-145. doi: 10.46299/ISG.2024.MONO.MED.1

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дисертаційне дослідження було виконано на базі Сумського державного університету із залученням наукових ресурсів кафедри онкології та радіології і кафедри патологічної анатомії, що забезпечило можливість комплексного вивчення клінічних, морфологічних та молекулярно-біологічних аспектів перебігу НДКРЛ. До клінічної частини роботи було включено результати лікування 247 пацієнтів, які отримували терапію та спостерігалися у Сумському обласному клінічному онкологічному центрі протягом 2016–2024 рр. Для підвищення універсальності та статистичної потужності аналізу додатково використано дані 809 хворих на НДКРЛ із відкритої онкогеномної платформи The Cancer Genome Atlas (TCGA), серед яких 390 мали аденокарциному, а 419 – плоскоклітинну карциному легень.

У результаті було сформовано інтегровану вибірку загальною чисельністю 1056 пацієнтів, що забезпечило можливість дослідити предиктори ефективності ПКТ за широким спектром параметрів. До фінальної когорти увійшли: 105 пацієнтів із метастатичним НДКРЛ, які отримували ПКТ; 100 хворих, пролікованих лише хіміотерапією (порівняльна група); 42 пацієнти з хірургічно пролікованими пухлинами (для детального вивчення імунного мікрооточення та молекулярно-генетичних факторів); а також 809 випадків НДКРЛ із бази TCGA, використані для молекулярно-генетичних аналізів.

#### **2.1. Дизайн дослідження та характеристика пацієнтів**

*2.1.1. Дизайн дослідження.* Концептуально дослідження було побудовано як багаторівневий аналіз предикторів ефективності ПКТ, що охоплював три ключові рівні біологічної організації: рівень організму пацієнта, рівень пухлинного мікрооточення та рівень геному і транскриптому пухлини. Така структура дизайну дозволила інтегрувати дані різної природи (клінічні, радіологічні, морфологічні, імуногістохімічні, геномні й транскриптомні) для подальшого формування всебічної прогностичної моделі.

На першому рівні, рівні організму пацієнта, досліджували системні чинники, що можуть визначати чутливість до імунотерапії. До них належали циркадні умови проведення інфузій ПКТ, вік, інтенсивність тютюнової експозиції, супутнє застосування кортикостероїдів, показники системного запалення, а також кількісні характеристики жирової тканини та скелетної мускулатури за даними комп'ютерної томографії. Цей рівень дозволив оцінити біоенергетичний, запальний та імунометаболічний контекст відповіді на імунотерапію.

На другому рівні, рівні пухлинного мікрооточення, проведено аналіз клітинних компонентів, що формують локальну імунну відповідь. У зразках пухлин 105 пацієнтів із метастатичним НДКРЛ та 42 пацієнтів із хірургічно резектованими пухлинами оцінювали щільність CD8<sup>+</sup> Т-лімфоцитів, FoxP3<sup>+</sup> регуляторних Т-клітин, макрофагів CD68<sup>+</sup> та CD163<sup>+</sup>, співвідношення CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup>, а також STAT6<sup>+</sup> клітин. Це забезпечило можливість визначити імуноактивний або імуносупресивний профіль мікросередовища та його зв'язок із прогнозом та чутливістю до ПКТ.

На третьому рівні, рівні геному та транскриптому пухлини, використано дані 809 пацієнтів із бази TCGA для оцінки генетичних і транскриптомних маркерів імуногенності. Було проаналізовано IFN $\gamma$ -асоційований генний підпис, транскриптомні патерни, показники мутаційного навантаження та мутаційні зміни у ключових генах (TP53, TTN, PIK3CA, KEAP1/NFE2L2 та ін.), що відомі як модифікатори ефективності імунотерапії.

Виконання дослідження було схвалено Комісією з питань дотримання біоетики при проведенні експериментальних та клінічних досліджень Навчально-наукового медичного інституту СумДУ (протокол № 3/12 від 17.12.2024) та відповідало вимогам Хельсінської декларації (редакція 2008 р., Сеул) і Універсальної декларації про біоетику та права людини (2006 р.).

Отримані результати багаторівневого аналізу стали основою для створення прототипу цифрової платформи підтримки клінічних рішень IMMUN-LUNG для прогнозування відповіді на ПКТ у хворих на метастатичний НДКРЛ. Метою

створення інструмента було трансформування результатів багатофакторного прогнозування у практично застосовну форму, яка дозволяє швидко отримувати індивідуалізовану оцінку ризику та прогнозу виживаності.

Таким чином, загальний дизайн дисертаційного дослідження поєднував глибоке клініко-біологічне вивчення предикторів ефективності імунотерапії та практичну інженерну реалізацію отриманих результатів у форматі сучасного медичного цифрового сервісу.

*2.1.2. Характеристика хворих на метастатичний НДКРЛ, що отримували терапію ПКТ.* Для проведення ретроспективного, одноцентрового когортного дослідження було залучено 105 хворих на метастатичний НДКРЛ, що отримували терапію ПКТ в Сумському обласному клінічному онкологічному центрі з 2016 по 2024 роки.

Критеріями включення були вік 18 років та старше, гістологічно підтверджений НДКРЛ, IV стадія захворювання, використання терапії ПКТ (пембролізумаба або атезолізумаба, мінімум 1 дози), наявність результатів клінічного та біохімічного аналізів крові до початку імунотерапії, наявність даних про зріст та масу тіла пацієнтів. Критеріями виключення вважали дрібноклітинний рак легень, I–III стадії НДКРЛ, розвиток іншої злоякісної пухлини, аутоімунні захворювання, інфекційні захворювання та/або лихоманка протягом 1 місяця до початку імунотерапії.

Пацієнти отримували атезолізумаб або пембролізумаб як монотерапію при гіперекспресії PD-L1 або у комбінації із хіміотерапією на основі платини відповідно до гістологічного варіанту пухлини. Крім того, пембролізумаб застосовували як монотерапію у якості другої лінії у хворих з прогресією НДКРЛ після хіміотерапії на основі платини.

Для атезолізумаба доза становила 1200 мг внутрішньовенно кожних 3 тижні, для пембролізумаба – 200 мг внутрішньовенно кожних 3 тижні. Дози хіміопрепаратів розраховували відповідно до інструкцій із застосування препаратів. Перша інфузія ПКТ тривала протягом 60 хв. Розчин вводили за допомогою інфузійної системи, оснащеної стерильним, апірогенним фільтром з

низькою здатністю до зв'язування білків та розміром пор від 0,2 до 5 мікрон. Якщо перша інфузія добре переносилася, то тривалість подальших скорочувалися до 30 хв. При комбінованій схемі з хімотерапією для досягнення оптимального ефекту атезоліумаб вводили перед хімотерапевтичними агентами. Загалом терапія ПКТ продовжувалася до прогресії захворювання або неприйнятної токсичності.

Оцінку відповіді на лікування проводили з інтервалом 6–9 тижнів, дотримуючись прийнятих локальних клінічних протоколів. Інтерпретація результатів комп'ютерної томографії здійснювалася згідно з критеріями iRECIST, розробленими для моніторингу ефективності імунотерапії, з урахуванням можливості псевдопрогресії.

Початкову прогресію фіксували як непідтверджену прогресію захворювання у випадках, коли спостерігалось збільшення сумарного розміру таргетних уражень понад 20 % порівняно з найменшим зафіксованим значенням, поява нових вогнищ або суттєве прогресування нетаргетних уражень. У разі непідтвердженої прогресії захворювання лікування могло бути продовжене, якщо клінічний стан пацієнта залишався стабільним, а повторна візуалізація призначалася через 4–8 тижнів.

Підтверджена прогресія захворювання встановлювалася лише за умови, що під час контрольного дослідження після непідтвердженої прогресії захворювання виявлялося подальше збільшення уражень або збільшення розмірів/кількості нових вогнищ. У такому випадку дата підтверджена прогресія захворювання визначалася як момент остаточного підтвердження прогресії. Якщо під час контрольного дослідження було зафіксовано зменшення або стабілізацію розмірів пухлин, діагноз прогресії скасовувався, а стан перекваліфікували на стабілізацію захворювання, часткову відповідь або повну відповідь відповідно до ступеня змін.

Визначення категорій відповідей:

1) повна відповідь – повне зникнення всіх таргетних, нетаргетних та нових вогнищ захворювання;

2) часткова відповідь – зменшення сумарного розміру таргетних уражень щонайменше на 30 % від початкового рівня;

3) стабілізація – зміни, які не відповідають критеріям ані часткової відповіді, ані прогресії захворювання;

4) непідтверджена прогресія захворювання – початкові ознаки можливого прогресування, що потребує додаткового контролю;

5) підтверджена прогресія захворювання – стійке або подальше збільшення пухлинного навантаження, що підтверджене при повторній візуалізації.

У випадках появи нових вогнищ вони фіксувалися окремо та класифікувалися як нові таргетні або нетаргетні ураження відповідно до їхніх розмірів і кількості. При цьому сумарна оцінка таргетних уражень базувалася лише на початково визначених таргетних ураженнях.

Ступенем контролю над захворюванням вважали сумарний відсоток пацієнтів, які досягли повної відповіді, часткової відповіді та стабілізації захворювання. Об'єктивною відповіддю на лікування вважали відсоток пацієнтів, які досягли повної та часткової відповіді на лікування. Первинними кінцевими точками були виживаність без прогресування та загальна виживаність.

Вживаність без прогресування визначали як інтервал часу від початку імунотерапії до моменту встановлення підтвердженої прогресії захворювання. Загальну виживаність обчислювали від початку лікування до смерті з будь-якої причини. Інформація про дати смерті пацієнтів була отримана в канцер-реєстрі Сумського обласного клінічного онкологічного центру. Кінцевою датою збору даних було 1 квітня 2025 року.

Узагальнені клініко-патологічні, лабораторні, імуногістохімічні та рентгенологічні параметри хворих на метастатичний НДКРЛ, зібрані з первинної медичної документації та визначені у процесі виконання дисертаційного дослідження представлені у таблицях 2.1, 2.2, 2.3 та 2.4.

Таблиця 2.1 – Узагальнені клініко-патологічні параметри хворих на метастатичний НДКРЛ, що отримували терапію ПКТ

Клініко-патологічні параметри	Загальна кількість пацієнтів, n=105
Вік, n (%)	
<60	41 (39,0)
≥60	64 (61,0)
Стать, n (%)	
Чоловіки	89 (84,8)
Жінки	16 (15,2)
Гістологічні варіанти пухлини, n (%)	
Аденокарциноми	47 (44,8)
Плоскоклітинні карциноми	58 (55,2)
Метастази в головному мозку, n (%)	
Відсутні	103 (98,1)
Присутні	2 (1,9)
Метастази в легенях, n (%)	
Відсутні	56 (53,3)
Присутні	49 (46,7)
Метастази в плеврі, n (%)	
Відсутні	93 (88,6)
Присутні	12 (11,4)
Метастази в печінці, n (%)	
Відсутні	76 (72,4)
Присутні	29 (27,6)
Метастази в кістках, n (%)	
Відсутні	72 (68,6)
Присутні	33 (31,4)
Лінія лікування, n (%)	
Перша	93 (88,6)
Друга	12 (11,4)
Імунотерапевтичний режим, n (%)	
Монотерапія ПКТ	38 (36,2)
Хіміотерапія + ПКТ	67 (63,8)
Тип ПКТ, n (%)	
Атезолізумаб	39 (37,1)
Пембролізумаб	66 (62,9)

## Продовження таблиці 2.1

Клініко-патологічні параметри	Загальна кількість пацієнтів, n=105
Тривалість лікування, n (%)	
<8 місяців	62 (59,0)
≥8 місяців	43 (46,0)
Імунозалежні побічні ефекти, n (%)	
Відсутні	78 (74,3)
Присутні	27 (25,7)
Гіпертонічна хвороба, n (%)	
Присутня	26 (24,8)
Відсутня	79 (75,2)
Цукровий діабет, n (%)	
Присутній	11 (10,5)
Відсутній	94 (89,5)
ХОЗЛ, n (%)	
Присутнє	21 (20,0)
Відсутнє	84 (80,0)
Серцево-судинне захворювання, n (%)	
Присутнє	12 (11,4)
Відсутнє	93 (88,6)
Паління, n (%)	
Ніколи не палили	25 (23,8)
Поточні або колишні курці	80 (76,2)
ІМТ, n (%)	
Недостатня вага (<18,5)	5 (4,8)
Нормальна вага (18,5-24,9)	52 (49,5)
Надлишкова вага (25,0-29,9)	31 (29,5)
Ожиріння (≥30,0)	17 (16,2)
Індекс коморбідності Чарльсона, n (%)	
0 балів	7 (6,6)
1 бал	23 (21,9)
2 бали	49 (46,7)
≥3 балів	26 (24,8)
Загальний статус ECOG, n (%)	
0-1	100 (95,2)
2	5 (4,8)

## Продовження таблиці 2.1

Клініко-патологічні параметри	Загальна кількість пацієнтів, n=105
Використання системних кортикостероїдів, n (%)	
Так	36 (34,3)
Ні	69 (65,7)
Використання інгаляційних кортикостероїдів, n (%)	
Так	20 (19,0)
Ні	85 (81,0)
Відповідь на лікування, n (%)	
Повна відповідь	6 (5,8)
Часткова відповідь	48 (45,7)
Стабілізація захворювання	37 (35,2)
Прогресія захворювання	14 (13,3)

Таблиця 2.2 – Узагальнені лабораторні параметри хворих на метастатичний НДКРЛ, що отримували терапію ПКТ

Лабораторні параметри	Загальна кількість пацієнтів, n=105
SIRI, n (%)	
<1,5 (низький)	53 (50,5)
≥1,5 (високий)	52 (49,5)
SP, n (%)	
<926,0 (низький)	57 (54,3)
≥926,0 (високий)	48 (45,7)
NLR, n (%)	
<3,6 (низький)	63 (60,0)
≥3,6 (високий)	42 (40,0)
LMR, n (%)	
<3,3 (низький)	48 (45,7)
≥3,3 (високий)	57 (54,3)
LPI, n (%)	
0 факторів	57 (54,3)
1 фактор	40 (38,1)
2 фактори	8 (7,6)

## Продовження таблиці 2.2

Лабораторні параметри	Загальна кількість пацієнтів, n=105
LEM, n (%)	
0 факторів	32 (30,5)
1 фактор	48 (45,7)
2 фактори	15 (14,3)
3 фактори	10 (9,5)
PIOS, n (%)	
<0,4 (низький)	55 (52,4)
≥0,4 (високий)	50 (47,6)
ALI, n (%)	
≥419 (високий)	50 (47,6)
<419 (низький)	55 (52,4)

Таблиця 2.3 – Узагальнені імуногістохімічні параметри хворих на метастатичний НДКРЛ, що отримували терапію ПКТ

Імуногістохімічні параметри	Загальна кількість пацієнтів, n=86
Експресія CD8 <sup>+</sup> , n (%)	
<38,1 клітин/мм <sup>2</sup> (низька експресія)	61 (70,9)
≥38,1 клітин/мм <sup>2</sup> (висока експресія)	25 (29,1)
Експресія STAT6 <sup>+</sup> , n (%)	
<13,8 клітин/мм <sup>2</sup> (низька експресія)	30 (34,9)
≥13,8 клітин/мм <sup>2</sup> (висока експресія)	56 (65,1)
Експресія CD68 <sup>+</sup> , n (%)	
<29,1 клітин/мм <sup>2</sup> (низька експресія)	48 (55,8)
≥29,1 клітин/мм <sup>2</sup> (висока експресія)	38 (44,2)
Експресія CD163 <sup>+</sup> , n (%)	
<18,1 клітин/мм <sup>2</sup> (низька експресія)	24 (27,9)
≥18,1 клітин/мм <sup>2</sup> (висока експресія)	62 (72,1)
Співвідношення CD163 <sup>+</sup> /CD68 <sup>+</sup> , n (%)	
<0,48 (низьке)	25 (29,1)
≥0,48 (високе)	61 (70,9)
Експресія Foxp3 <sup>+</sup> , n (%)	
<20 клітин/мм <sup>2</sup> (низька експресія)	21 (24,4)
≥20 клітин/мм <sup>2</sup> (висока експресія)	65 (75,6)
Експресія PD-L1, n (%)	
1–49%	67 (77,9)
≥50	19 (22,1)

Таблиця 2.4 – Узагальнені рентгенологічні параметри хворих на метастатичний НДКРЛ, що отримували терапію ПКТ

Лабораторні параметри	Загальна кількість пацієнтів, n=92
Радіологічна щільність ПЖК, n (%)	
–190HU>Q1≤–107HU	23 (25,0)
–106HU>Q2≤–100HU	23 (25,0)
–99HU>Q3≤–92HU	23 (25,0)
–91HU>Q4≤–30	23 (25,0)
Радіологічна щільність ВЖК, n (%)	
–120HU>Q1≤–100HU	23 (25,0)
–99HU>Q2≤–91HU	23 (25,0)
–90HU>Q3≤–73HU	23 (25,0)
–72HU>Q4≤–50HU	23 (25,0)
Середня площа поперекових скелетних м'язів (см <sup>2</sup> )	171,0±44,9
Індекс скелетних м'язів, n (%)	
Високий (≥39,0 см <sup>2</sup> /м <sup>2</sup> для ІМТ < 24,9 та ≥60 см <sup>2</sup> /м <sup>2</sup> для ІМТ ≥ 25,0)	56 (60,9)
Низький (<39,0 см <sup>2</sup> /м <sup>2</sup> для ІМТ < 24,9 та <60 см <sup>2</sup> /м <sup>2</sup> для ІМТ ≥ 25,0)	20 (21,7)
Не визначали	16 (17,4)
Середній індекс скелетних м'язів (см <sup>2</sup> /м <sup>2</sup> )	58,0±15,46
Радіологічна щільність скелетних м'язів (HU), n (%)	
Висока (≥40,0 HU для ІМТ < 24,9 та ≥53,0 HU для ≥ 25,0)	62 (67,4)
Низька (<40,0 HU для ІМТ < 24,9 та <53,0 HU для ≥ 25,0)	14 (15,2)
Не визначали	16 (17,4)
Середня радіологічна щільність скелетних м'язів (HU)	49,29±10,37

2.1.3. *Характеристика хворих на метастатичний НДКРЛ, що отримували системну хіміотерапію (без ПКТ).* Для проведення дослідження було залучено 100 хворих на метастатичний НДКРЛ, для лікування котрих застосовували лише хіміотерапію на основі платини або хіміопроменеу терапію. Для включення в

групу хіміотерапії критерії були наступними: вік 18 років та старше, застосування для лікування хіміотерапії на основі платини або хіміопроменевої терапії, IV стадія НДКРЛ, наявність даних по тривалість та інтенсивність паління. Критеріями виключення вважали наявність іншої, ніж IV стадія НДКРЛ, наявність в анамнезі таргетної та імунотерапії.

Пацієнти отримували хіміотерапію на основі платини відповідно до гістологічного варіанту пухлини у дозах, вказаних у інструкціях до застосування препаратів. Відповідь на лікування оцінювали кожних 2 або 3 цикли згідно критеріїв RECIST 1.1.

Узагальнені клініко-патологічні параметри хворих на метастатичний НДКРЛ, що отримували хіміотерапію (без ПКТ) представлені у таблиці 2.5.

Таблиця 2.5 – Узагальнені клініко-патологічні параметри хворих на метастатичний НДКРЛ, що отримували хіміотерапію (без ПКТ)

Клініко-патологічні параметри	Загальна кількість пацієнтів, n=100
Вік, n (%)	
<65	64 (64,0)
≥65	36 (36,0)
Стать, n (%)	
Чоловіки	68 (68,0)
Жінки	32 (32,0)
Гістологічні варіанти пухлини, n (%)	
Аденокарциноми	45 (45,0)
Плоскоклітинні карциноми	55 (55,0)
Паління, n (%)	
Курці (<28 пачко-років)	43 (43,0)
Курці (≥28 пачко-років)	40 (40,0)
Некурці	17 (17,0)
Тип медикаментозної терапії, n (%):	
Хіміотерапія	90 (90,0)
Хіміотерапія + променева терапія	10 (10,0)

2.1.4. *Характеристика хворих з хірургічно пролікованим НДКРЛ.* Для проведення ретроспективного дослідження було залучено 42 хірургічно пролікованих хворих на НДКРЛ, включаючи 27 пацієнтів, які отримали

ад'ювантну хіміотерапію на основі платини та 15 пацієнтів, які крім хіміотерапії отримували ПКТ (атезолізумаб). Дослідження було пілотним та одноцентровим, що обумовило значну відмінність у складі досліджуваних груп пацієнтів. Критеріями включення вважали наявність гістологічно підтвердженого НДКРЛ, ІА-ІІВ стадії захворювання, хірургічно пролікований НДКРЛ, вік пацієнтів 18 років та старше, наявність архівної пухлинної тканини гарної якості. Пацієнтів із ІV стадією хвороби, супутніми станами, що могли суттєво скоротити тривалість життя, з неoad'ювантною хіміо- або променевою терапією, а також тих, у кого виникли тяжкі післяопераційні ускладнення, не включали в дослідження.

Після завершення радикального хірургічного лікування та ад'ювантної терапії усі пацієнти перебували під динамічним наглядом. Відповідно до стандартів локальної клінічної практики, упродовж перших двох років після оперативного втручання контрольне обстеження за допомогою комп'ютерної томографії проводили кожні 3 місяці. У подальші три роки сканування виконували з інтервалом у 6 місяців. Після п'ятирічного рубежу спостереження здійснювали щороку з використанням рентгенографії органів грудної клітки. У разі появи нових симптомів або підозри на рецидив захворювання проводили додаткові, позапланові візуалізаційні дослідження.

Безрецидивну виживаність визначали як проміжок часу від моменту хірургічного втручання до встановлення факту рецидиву хвороби. Загальну виживаність розглядали як період від дати операції до смерті пацієнта з будь-якої причини. Мінімальна тривалість спостереження за пацієнтами, які залишилися живими, становила 72 місяці. Загальний діапазон періоду спостереження варіював від 2 до 117 місяців. Остаточна оцінка безрецидивної та загальної виживаності була виконана 01 червня 2025 року. Дані про смерть були детально зібрані в канцер-реєстрі Сумського обласного клінічного онкологічного центру. Узагальнені клініко-патологічні параметри хворих з хірургічно пролікованим НДКРЛ, зібрані з первинної медичної документації та ідентифіковані у процесі дослідження представлені у таблиці 2.6.

Таблиця 2.6 – Узагальнені клініко-патологічні параметри хворих з хірургічно пролікованим НДКРЛ

Клініко-патологічні параметри	Пацієнти з НДКРЛ, n=42	Пацієнти з НДКРЛ, %
Вік, n (%):		
Середній	58,5±8,48	
< 60	22	52,4
≥ 60	20	47,6
Стать, n (%):		
Жінки	8	19,0
Чоловіки	34	81,0
Гістологічний варіант пухлини, n (%):		
Аденокарцинома	20	47,6
Плоскоклітинний рак	22	52,4
Стадія, n (%):		
IA–IIA	15	35,7
IIIB–IIIV	27	64,3
Ад'ювантна терапія, n (%):		
Хіміотерапія	27	64,3
Хіміоімунотерапія	15	35,7
Ад'ювантна терапія ПКТ, n (%):		
Так	15	
Ні	27	
Променева терапія, n (%):		
Так	5	11,9
Ні	37	88,1
Експресія PD-L, n (%):		
<1 %	12	28,6
1-49 %	24	57,1
≥50	6	14,3
Цитотоксичні Т-клітини в острівцях (CD8 <sup>+</sup> ), n (%):		
Низька експресія (<9 клітин/мм <sup>2</sup> )	13	30,1
Висока експресія (≥9 клітин/мм <sup>2</sup> )	29	69,0
Цитотоксичні Т-клітини (CD8 <sup>+</sup> ) в стромі, n (%):		
Низька експресія (<24 клітин/мм <sup>2</sup> )	20	47,6
Висока експресія (≥24 клітин/мм <sup>2</sup> )	22	52,4

## Продовження таблиці 2.6

Клініко-патологічні параметри	Пацієнти з НДКРЛ, n=42	Пацієнти з НДКРЛ, %
Регуляторні Т-клітини (FoxP3 <sup>+</sup> ), n (%):		
Низька експресія (<23 клітини/мм <sup>2</sup> )	18	42,9
Висока експресія (≥23 клітини/мм <sup>2</sup> )	24	57,1
Макрофаги M1 в пухлинних острівцях, n (%):		
Низька експресія (<18 клітин/мм <sup>2</sup> )	16	38,1
Висока експресія (≥18 клітин/мм <sup>2</sup> )	26	61,9
Макрофаги M1 в стромі, n (%):		
Висока експресія (≥11 клітин/мм <sup>2</sup> )	18	42,9
Низька експресія (<11 клітин/мм <sup>2</sup> )	24	57,1
Макрофаги M2 в пухлинних острівцях, n (%):		
Висока експресія (≥13 клітин/мм <sup>2</sup> )	15	35,7
Низька експресія (<13 клітин/мм <sup>2</sup> )	27	64,3
Макрофаги M2 в стромі, n (%):		
Висока експресія (≥24 клітини/мм <sup>2</sup> )	21	50,0
Низька експресія (<24 клітини/мм <sup>2</sup> )	21	50,0
Мутація EGFR, n (%):		
Відсутня	40	95,2
Присутня	2	4,8
Мутація ALK, n (%):		
Відсутня	41	97,6
Присутня	1	2,4
Мутація BRAF, n (%):		
Відсутня	41	97,6
Присутня	1	2,4
Мутація KRAS, n (%):		
Відсутня	35	83,3
Присутня	7	16,7
Статус p53, n (%):		
Дикий тип	23	54,8
Мутантний тип	19	45,2

2.1.5. *Характеристика хворих на аденокарциному легень бази даних TCGA.*  
Для проведення дослідження було зібрано інформацію з 3 відкритих онкологічних баз даних: TCGA (<https://portal.gdc.cancer.gov/>), cBioPortal

(<https://www.cbioportal.org/>) та UCSC Xena Browser (<https://xenabrowser.net>). Досліджувана когорта пацієнтів складалася із пацієнтів, які входили до проекту TCGA-LUAD (n=585).

Клінічні дані, такі як стать, вік, стадія, тривалість виживаності та статус виживаності, були витягнуті з репозиторію TCGA. Дані про імунні фенотипи пухлин та транскриптомні профілі експресії генів, отримані методом RNA-seq, були зібрані з бази даних Xena Browser. Мутаційний матрикс бази cBioPortal став першоджерелом для оцінювання мутацій TP53, EGFR, KRAS, BRAF, KEAP1 та STK11.

Критеріями включення у дослідження вважали наявність інформації про стать, вік, статус виживання, тривалість виживання, результатів мутаційного статусу кожного із досліджуваних генів, а також транскриптомних даних генів CXCL9, CXCL10, CXCL11, IDO1, IRF9, CCR5, STAT1, PRF1, IFNG, HLA-DRA. У зв'язку з відсутністю певних клінічних даних було виключено 128 пацієнтів. Ще 67 пацієнтів мали неповні результати щодо мутацій TP53, EGFR, KRAS, BRAF, KEAP1 або STK11, що також стало підставою для виключення із дослідження. Для решти пацієнтів (n=390) були наявні усі транскриптомні дані.

Таким чином, до складу фінальної досліджуваної когорти увійшли 390 хворих на аденокарциному легень, що мали повний набір клінічних та молекулярно-генетичних даних. Блок-схема відбору хворих на аденокарциному легень для участі у дослідженні та їх клініко-патологічні параметри представлені на Рис. 2.1 та таблиці 2.7.

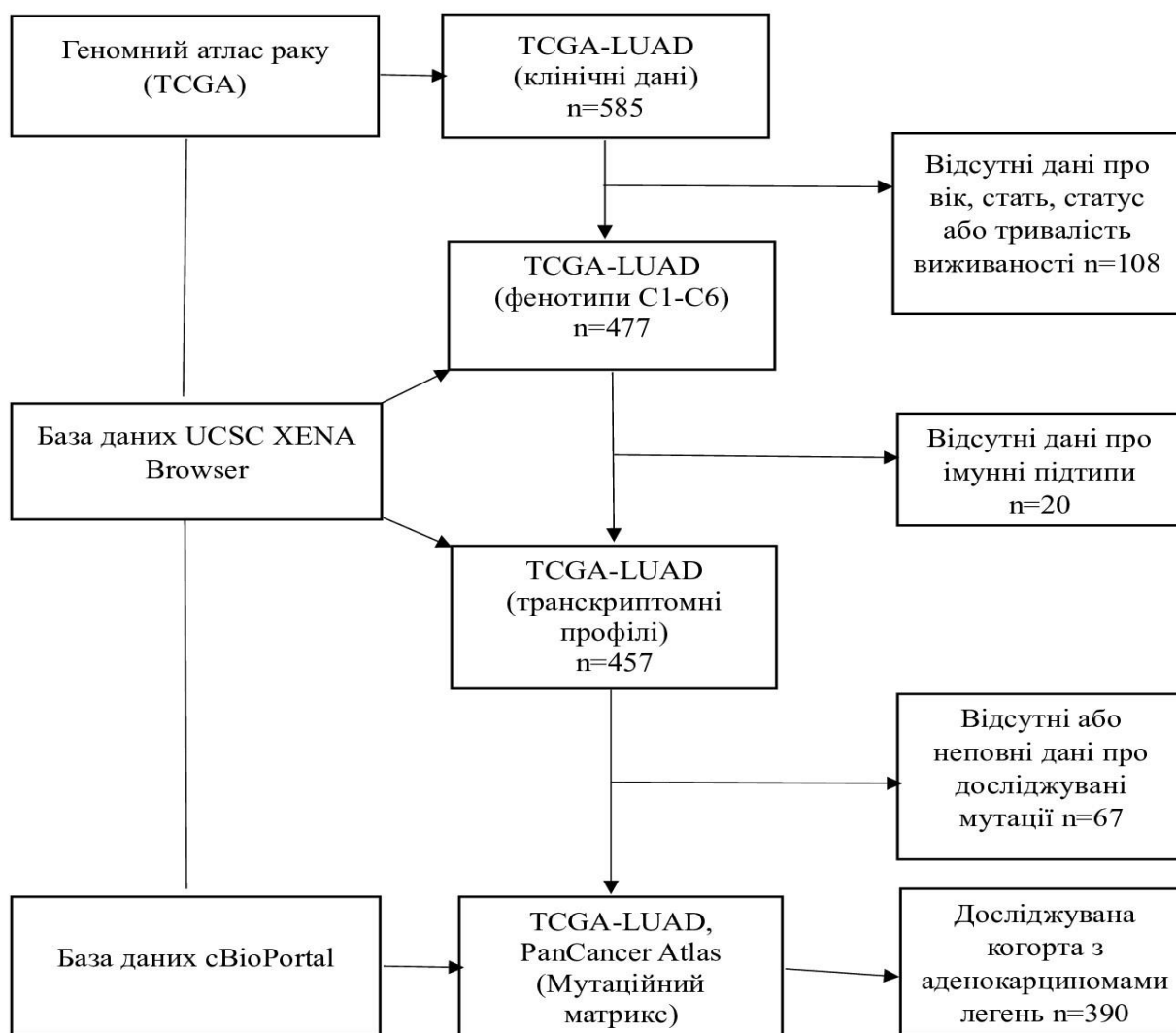


Рисунок 2.1 – Блок-схема відбору хворих на аденокарциному легень

Таблиця 2.7 – Узагальнені клініко-патологічні параметри хворих на аденокарциному легень (база даних TCGA)

Клініко-патологічні параметри	Загальна кількість пацієнтів, n=390
Середній вік (роки, інтервал)	65,2±10,06 (39–88)
Стать, n (%):	
Жіноча	211 (54,1)
Чоловіча	179 (45,9)
Стадія, n (%):	
I	190 (48,7)
II	76 (19,5)
III	51 (13,1)
IV	18 (4,6)
Невідома	55 (14,1)

## Продовження таблиці 2.7

Клініко-патологічні параметри	Загальна кількість пацієнтів, n=390
Мутація TP53, n (%):	
Присутня	194 (49,7)
Відсутня	196 (50,3)
Мутація KRAS, n (%):	
Присутня	126 (32,3)
Відсутня	264 (67,7)
Мутація STK11, n (%):	
Присутня	62 (15,9)
Відсутня	328 (84,1)
Мутація KEAP1, n (%):	
Присутня	71 (18,2)
Відсутня	319 (81,8)
Мутація EGFR, n (%):	
Присутня	57 (14,6)
Відсутня	333 (85,4)
Мутація BRAF, n (%):	
Присутня	26 (6,7)
Відсутня	364 (93,3)
Ко-мутація KRAS+TP53, n (%):	
Присутня	45 (11,5)
Відсутня	345 (88,5)
Ко-мутація KRAS+STK11, n (%):	
Присутня	33 (8,5)
Відсутня	357 (91,5)
Ко-мутація KRAS+KEAP1, n (%):	
Присутня	30 (7,7)
Відсутня	360 (92,3)
Ко-мутація STK11+KEAP, n (%):	
Присутня	18 (4,6)
Відсутня	372 (95,4)
Експресія IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису, n (%):	
Низька (<5,62 log <sub>2</sub> (RSEM+1))	201 (51,5)
Висока ( $\geq$ 5,62 log <sub>2</sub> (RSEM+1))	189 (48,5)

2.1.6. *Характеристика хворих на плоскоклітинну карциному легень бази даних TCGA.* Початкова вибірка включала 504 пацієнтів із гістологічно підтвердженим діагнозом плоскоклітинної карциноми легень, залучених до проєкту TCGA-LUSC.

До участі допускалися пацієнти віком від 18 років і старше, з повним набором клінічних даних (вік, стать, стадія пухлини, загальна тривалість виживання та статус), визначеним імунним підтипом пухлини, наявною інформацією про мутаційний статус чотирьох ключових генів (TP53, TTN, PIK3CA та KEAP1/NFE2L2), а також транскриптомних даних щодо генів CXCL9, CXCL10, CXCL11, IDO1, IRF9, CCR5, STAT1, PRF1, IFNG та HLA-DRA.

Пацієнтів виключали з аналізу у разі відсутності валідних даних щодо віку, статусу виживання або тривалості спостереження, відсутності інформації про імунний підтип або браку даних щодо мутацій. У фінальну когорту увійшли 419 пацієнтів, які відповідали всім критеріям та мали повний набір клінічних, імунологічних і генетичних показників. Блок-схема відбору хворих на плоскоклітинну карциному легень для участі у дослідженні та їх клініко-патологічні параметри представлені на рис. 2.2 та таблиці 2.8.

Таблиця 2.8 – Узагальнені клініко-патологічні параметри хворих на плоскоклітинну карциному легень (база даних TCGA)

Клініко-патологічні параметри	Загальна кількість пацієнтів, n=419
Середній вік (роки, інтервал)	67,0±8,53(39–84)
Стать, n (%):	
Жіноча	106 (25,3)
Чоловіча	313 (74,7)
Стадія, n (%):	
I	181 (43,2)
II	124 (29,6)
III	58 (13,8)
IV	5 (1,2)
Невідома	51 (12,2)

## Продовження таблиці 2.8

Клініко-патологічні параметри	Загальна кількість пацієнтів, n=419
Мутація TTN, n (%):	
Присутня	356 (85,0)
Відсутня	63 (15,0)
Мутація TP53, n (%):	
Присутня	377 (90,0)
Відсутня	42 (10,0)
Мутація PIK3CA, n (%):	
Присутня	56 (13,4)
Відсутня	363 (86,6)
Мутація KEAP1/NFE2L2, n (%):	
Присутня	117 (27,9)
Відсутня	302 (72,1)
Ко-мутація TTN+TP53, n (%):	
Присутня	319 (76,1)
Відсутня	100 (23,9)
Ко-мутація TP53+PIK3CA, n (%):	
Присутня	48 (11,5)
Відсутня	371 (88,5)
Експресія IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису, n (%):	
Низька (<7,32 log <sub>2</sub> (RSEM+1))	196 (46,8)
Висока ( $\geq$ 7,32 log <sub>2</sub> (RSEM+1))	223 (53,2)

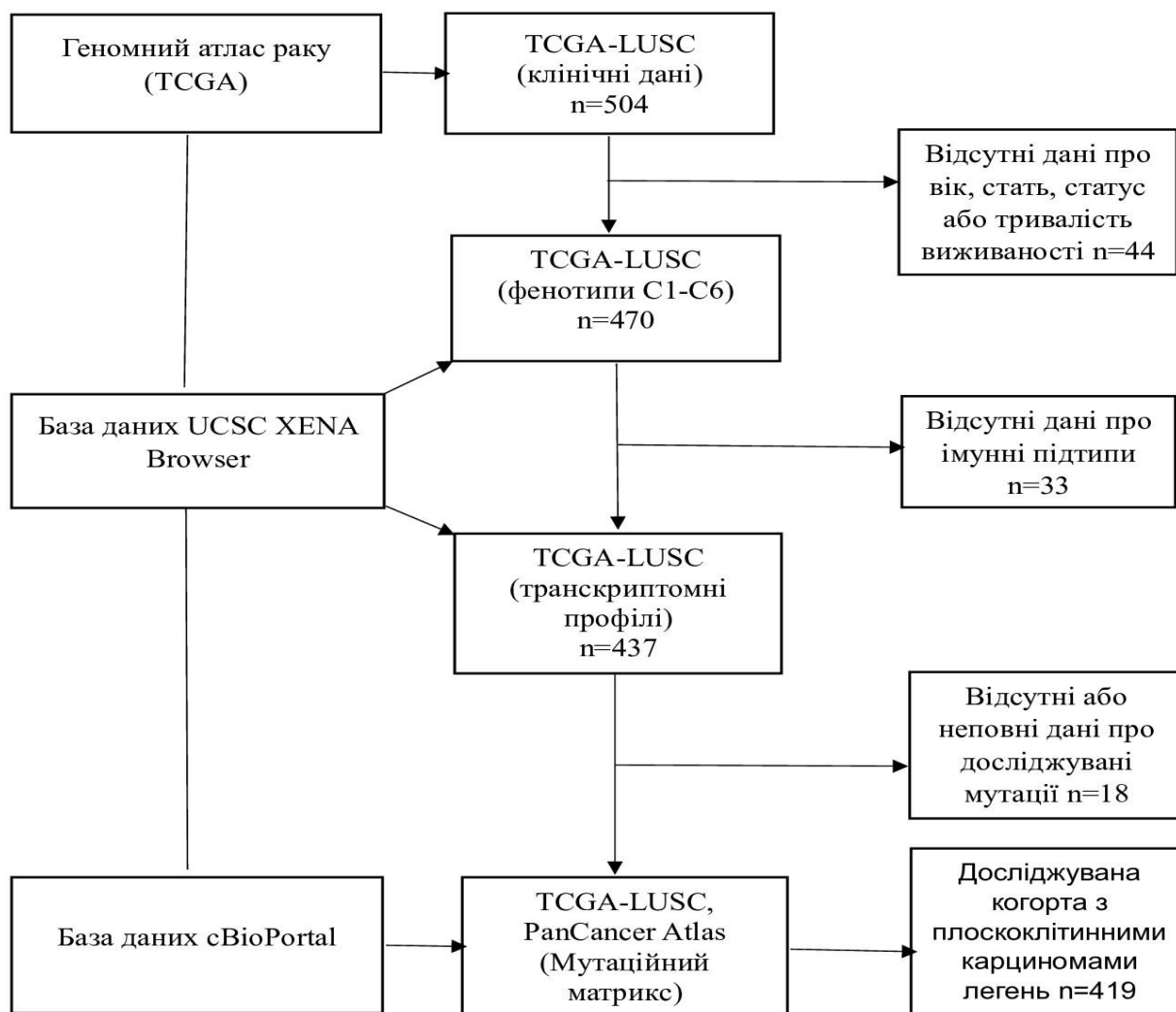


Рисунок 2.2 – Блок-схема відбору хворих на плоскоклітинну карциному легень для участі у дослідженні

## 2.2. Клінічний метод

Дані про стать, вік пацієнтів, гістологічні варіанти пухлин, застосований імунотерапевтичний режим, лінію терапії, тип ПКТ, тривалість імунотерапії, статус паління, функціонального статусу за шкалою ECOG, локалізацію метастазів та імуноопосередковані побічні явища брали з первинної медичної документації. Серед супутніх захворювань особлива увага була зосереджена на наявності у пацієнта хронічного обструктивного захворювання легень (ХОЗЛ), гіпертонічної хвороби (ГХ) будь-якого ступеня, серцево-судинних захворювань (ССЗ) (ішемічної хвороби серця, серцевої недостатності, аритмії, кардіоміопатії, цереброваскулярних захворювань), цукрового діабету будь-якого типу.

Оцінку вираженості імуноопосередкованих побічних ефектів проводили відповідно до Критеріїв загальної термінології для побічних ефектів (СТСАЕ, версія 5).

Кількісну оцінку супутніх захворювань здійснювали за допомогою індексу коморбідності Чарлсона (ІКЧ). Відомості про супутні патології також отримували з медичних карт. Індекс охоплював 19 клінічних категорій, кожна з яких мала різну вагу впливу на ризик смерті. До розрахунку включали всі супутні стани, за винятком НДКРЛ, після чого для кожного пацієнта обчислювали сумарний бал. Для корекції з урахуванням віку пацієнта до загального бала додавали по одному пункту за кожне десятиліття життя, починаючи з 40 років.

На основі даних про зріст та вагу розраховували індекс маси тіла (ІМТ) на етапі до початку лікування ПКТ. ІМТ  $<18,5$ ,  $18,5-24,9$ ,  $25,0-29,9$  та  $\geq 30,0$  кг/м<sup>2</sup> вважали недостатньою, нормальною, надлишковою масою тіла та ожирінням, відповідно.

Відповідно до статусу паління пацієнтів розділили на курців та некурців. Некурцями вважали пацієнтів, які використали менше 100 цигарок протягом життя. До групи курців включали колишніх курців, які не палили більше 1 року та теперішніх курців, які кинули палити менше 1 року тому або продовжують палити. Кількість пачко-років підраховували за формулою: кількість пачок цигарок, використаних за 1 день  $\times$  кількість років паління. Граничне значення для розподілу пацієнтів відповідно до пачко-років було визначено методом середніх величин.

Інформацію про застосування пацієнтом кортикостероїдів брали з медичної документації. Усі пацієнти були розподілені у групи відповідно до використання кортикостероїдів: 1) пацієнти без терапії кортикостероїдами, 2) пацієнти, що приймали системні кортикостероїди та 3) пацієнти, що приймали інгаляційні кортикостероїди. До системних кортикостероїдів відносили дексаметазон, метилпреднізолон та преднізолон. Дозу еквівалентну  $\geq 10$  мг преднізолону вважали вищою за фізіологічну норму і оцінювали як застосування системних кортикостероїдів. До інгаляційних кортикостероїдів відносили

беклометазон, будесонід та флютиказон, за виключенням інтраназальних форм цих препаратів.

### 2.3. Гістологічний та імуногістохімічні методи

Для гістологічного аналізу зразки пухлинної тканини фіксували у 10 % нейтральному буферному розчині формаліну протягом 24 годин. Після цього проводили поетапне зневоднення матеріалу та заливання в парафін з використанням апарата карусельного типу «АТМ-4М» (виробництво – Україна). Серійні парафінові зрізи виготовляли на ротаційному мікротомі Shandon Finnesse 325 (Thermo Scientific, США), отримуючи шари завтовшки 4 мкм. Після депарафінізації зрізи фарбували гематоксиліном та еозином за стандартною методикою.

Для кожного зразка пухлинної тканини НДКРЛ було оцінено щільність та розподіл імунних клітин за допомогою імуногістохімії (ІГХ). Вивчалися такі показники: цитотоксичні CD8<sup>+</sup> Т-клітини (в стромі та в пухлинних острівцях), регуляторні Т-клітини (FoxP3<sup>+</sup>), макрофаги M1 (CD68<sup>+</sup> у стромі та острівцях), макрофаги M2 (CD163<sup>+</sup> у стромі та острівцях), експресія PD-L1, STAT6<sup>+</sup> та p53.

Для проведення ІГХ серійні зрізи тканин НДКРЛ товщиною 4 мкм наносили на адгезивні предметні скельця SuperFrost (Thermo Scientific, США). Сушіння зразків виконували при температурі 60 °С протягом 18 годин. Депарафіновані зрізи піддавали термічному демаскуванню епітопів шляхом інкубації у 0,1 М цитратному буфері (рН 6,0) при температурі 95–98 °С протягом 20 хвилин. Після цього зразки охолоджували до кімнатної температури та тричі промивали дистильованою водою.

Блокування ендогенної пероксидазної активності здійснювали за допомогою комерційного реагенту (MAD-021540Q-125) протягом 10 хвилин. Подальше фарбування виконували шляхом інкубації зрізів з первинними моноклональними антитілами (експозиція 10 хв), після чого проводили візуалізацію за допомогою системи детекції In Vitro (Master-Diagnostica, Іспанія). Оцінку здійснювали шляхом вибору шести ділянок пухлинної тканини

діаметром 1 мм<sup>2</sup> з максимальною щільністю позитивно забарвлених клітин. Для кожного маркера обчислювали середні значення.

Для ідентифікації регуляторних Т-клітин використовували кролячі моноклональні антитіла проти транскрипційного фактора Foxp3<sup>+</sup> (Clone SP97, Master-Diagnostica, Іспанія; код MAD-000536-QD-12, готові до використання). Порогове значення експресії Foxp3<sup>+</sup> у зразках пухлинної тканини хірургічно пролікованих хворих на НДКРЛ становило 23 клітини/1 мм<sup>2</sup>. Залежно від цього показника пацієнтів поділяли на групи з низькою (<23 клітини/мм<sup>2</sup>) та високою (≥23 клітини/мм<sup>2</sup>) інфільтрацією Foxp3<sup>+</sup> клітин. Пороговий рівень експресії FOXP3<sup>+</sup> у хворих з метастатичним НДКРЛ встановлено на рівні 20 клітин/мм<sup>2</sup>, що дозволило розподілити пацієнтів на групи з високою (≥20 клітини/мм<sup>2</sup>) та низькою (<20 клітини/мм<sup>2</sup>) експресією. Як позитивний контроль використовували тканину мигдаликів згідно з рекомендаціями виробника.

Для візуалізації асоційованих із пухлиною макрофагів застосовували мишачі моноклональні антитіла проти CD68<sup>+</sup> (Clone KP-1, Master-Diagnostica, Іспанія) та кролячі антитіла проти CD163<sup>+</sup> (Clone EP324, Master-Diagnostica, Іспанія). Всі реагенти були готовими до використання. Порогові значення експресії макрофагів у зразках пухлинної тканини хірургічно пролікованих хворих на НДКРЛ визначали методом середніх значень: макрофаги M1 в острівцях – 18 клітин/мм<sup>2</sup>, у стромі – 11 клітин/мм<sup>2</sup>; макрофаги M2 в острівцях – 13 клітин/мм<sup>2</sup>, у стромі – 24 клітини/мм<sup>2</sup>. Граничними значеннями для розподілу пацієнтів з метастатичним НДКРЛ в підгрупи з низькою та високою експресією CD68<sup>+</sup> та CD163<sup>+</sup> були 29,1 та 18,1 клітин/1 мм<sup>2</sup> відповідно.

Цитотоксичні Т-клітини (CD8<sup>+</sup>) визначали з використанням антитіл (клон C8/144В, Дако, Данія). Пороговими значеннями для стратифікації експресії CD8<sup>+</sup>-клітин у зразках пухлинної тканини хірургічно пролікованих хворих на НДКРЛ були: <9 клітин/мм<sup>2</sup> – низька інфільтрація в острівцях, <24 клітин/мм<sup>2</sup> – у стромі. В той же час, для зразків пухлинної тканини хворих на метастатичний НДКРЛ пороговим значенням визначено 38,1 клітин/1 мм<sup>2</sup>.

Для виявлення рецепторів PD-L було використано моноклональні антитіла до PD-L1 (виробництва Master Diagnostica, клон Cal-10, розведення 1:50). Відповідно до рівня експресії PD-L зразки пухлинної тканини були стратифіковані у 3 групи: <1 %, 1–49 %,  $\geq$ 50 %. Реакцію вважали позитивною у разі чіткого мембранного забарвлення пухлинних клітин НДКРЛ, яке могло супроводжуватися частковим або повним цитоплазматичним забарвленням різної інтенсивності. Забарвлення елементів мікрооточення пухлини, таких як макрофаги та лімфоцити, а також винятково цитоплазматична реакція, не враховувались при оцінюванні.

Для оцінювання експресії білка p53 використовували антитіла проти p53 (виробник Master Diagnostica, клон SP5, розведення 1:50). Для кожного зразка був розрахований імуногістохімічний бал. Для цього відсоток позитивно забарвлених ядер, трансформований у бали, множили на інтенсивність фарбування (від 0 до 3). Відсутність позитивно забарвлених ядер означала 0 балів, <25% – 1 бал, 25%-50% – 2 бали, 50%-75% – 3 бали та 75%-100% – 4 бали. Білок p53 вважали мутантним, якщо спостерігали відсутність експресії p53 (0 балів) або його гіперекспресію (4 бали та вище).

Для детекції STAT6<sup>+</sup> використовували кролячі моноклональні антитіла (клон EP325, Cell Marque, США, готові до використання). Граничним значенням для розподілу хворих на метастатичний НДКРЛ в підгрупи з низькою та високою експресією STAT6<sup>+</sup> були 13,8 клітин/1 мм<sup>2</sup>. Інтерпретацію результатів ІГХ здійснював кваліфікований патолог.

#### **2.4. Молекулярно-генетичний метод**

Для молекулярного аналізу зразків пухлинної тканини було використано технологію секвенування наступного покоління. Виділення ДНК із парафінових блоків (FFPE) здійснювали за допомогою комерційного набору E.Z.N.A.® FFPE DNA Kit (Omega Bio-tek, США), дотримуючись інструкцій виробника. Концентрація екстрагованої ДНК визначалась за допомогою флуориметричного

методу із використанням dsDNA Broad Range Assay (DeNovix, США), а ступінь фрагментації оцінювали за допомогою PreSeq DNA QC Assay (ArcherDX, США).

Для секвенування застосовано таргетну панель AmoyDx Essential NGS Panel (AmoyDx, Китай), яка охоплює ключові мутації, характерні для НДКРЛ. Побудову бібліотек здійснювали згідно з протоколами, рекомендованими виробником, з використанням не менше 30 нг ДНК на реакцію. Кількісну оцінку бібліотек проводили з використанням набору KAPA Library Quantification Kit (Roche, Швейцарія), а розмірні характеристики фрагментів перевіряли на системі Agilent TapeStation (Agilent Technologies, США).

Після нормалізації до концентрації 4 нМ бібліотеки об'єднували та завантажували на платформу Illumina NextSeq 550Dx (США), використовуючи реагенти з набору NextSeq 550 Mid-Output Kit. Первинний аналіз даних, а також анотацію і класифікацію варіантів проводили з використанням серверної платформи ANDAS ADXLC10 (версія 3.3.0, AmoyDx).

## 2.5. Лабораторний метод

Перед початком дослідження ми зібрали результати клінічних та лабораторних аналізів крові, включаючи дані про абсолютне число нейтрофілів, абсолютне число лімфоцитів, кількість лейкоцитів крові, альбуміну крові, лактатдегідрогенази. Індeksi запалення оцінювали базуючись на результатах клінічного аналізу крові, виконаного не більш як за 7 днів до першої інфузії ПКТ. Розрахування індексів було наступним:  $SIRI = \text{нейтрофіли} \times \text{моноцити} / \text{лімфоцити}$ ;  $SII = \text{тромбоцити (г/л)} \times \text{нейтрофіли} / \text{лімфоцити}$ ;  $NLR = \text{нейтрофіли} / \text{лімфоцити}$ ;  $PLR = \text{тромбоцити (г/л)} / \text{лімфоцити}$ ;  $LMR = \text{лімфоцити} / \text{моноцити}$ ;  $MLR = \text{моноцити} / \text{лімфоцити}$ .

## 2.6. Клініко-лабораторний метод

Для оцінювання прогностичних шкал у ролі предикторів ефективності ПКТ були враховані поєднання лабораторних та клінічних даних, зокрема загального статусу пацієнта згідно Східної кооперативної групи (ECOG),

демографічних даних, кількості ліній попередніх терапій та даних про зріст та масу тіла пацієнтів для розрахунку ІМТ. Усі пацієнти, що приймали участь у дослідженні були стратифіковані у групи відповідно до моделей легеневого імунного прогностичного індексу (LPI), індексу прогресуючого раку легень (ALI), шкали імунотерапії Patras (PIOS), прогностичного індексу харчування (PNI) та LEM. Прогностична модель LPI припускає, що факторами ризику неефективності ПКТ є лактатдегідрогеназа вище верхньої межі норми та похідна NLR (dNLR) >3. Відповідно, пацієнтів стратифікували у 3 групи: 0 факторів ризику, 1 фактор ризику та 2 фактори ризику. У прогностичній моделі LEM факторами ризику вважаються АЧЛ <math>1,5 \times 10^9 / \text{л}</math>, ECOG  $\geq 2$  та наявність метастазів у легенях та/або плеврі. Згідно моделі LEM пацієнтів стратифікували у 4 групи: 0, 1, 2 та 3 фактори ризику. ALI розраховували як співвідношення добутку ІМТ та альбуміну крові до NLR, PIOS – як співвідношення добутку ECOG та ІМТ до добутку лінії імунотерапії та віку пацієнта, PNI – як сума альбуміну крові та АЧЛ. Методом середніх величин було визначено граничне значення для індексів ALI, PIOS та PNI, які становили 419, 0,4 та 44 відповідно. Відповідно, пацієнти були стратифіковані у групи з низькими та високими ALI, PIOS та PNI, базуючись на встановлених граничних значеннях.

## 2.7. Рентгенологічний метод

Для аналізу були відібрані КТ-скани, які виконували пацієнтам не більш як за 1 місяць до початку терапії ПКТ. Жирову тканину візуалізували методом тканино-специфічного розмежування за допомогою встановлення діапазону від -190 до -30 HU для ПЖК та від -150 до -50 HU. Для аналізу використовували одиничний аксіальний скан на рівні третього поперекового хребця. Радіологічною щільністю ПЖК та ВЖК вважали середнє значення HU, визначеній на площі тканини 1 см<sup>2</sup> підшкірного та вісцерального жиру відповідно (Рис. 2.3). Для підрахунку застосовували програмне забезпечення Syngo.via Siemens Healthineers, версія VB6OS-HF01. Радіологічну щільність ПЖК та ВЖК оцінювали двома підходами – як категоріальні та безперервні

змінні. Категоріальні змінні аналізували на чотирьох рівнях, що відповідали розподілу на квартилі. Для ПЖК були встановлені такі межі радіологічної щільності:  $-190\text{HU} > Q1 \leq -107\text{HU}$ ,  $-106\text{HU} > Q2 \leq -100\text{HU}$ ,  $-99\text{HU} > Q3 \leq -92\text{HU}$ ,  $-91\text{HU} > Q4 \leq -30$ ; для ВЖК – наступні:  $-150\text{HU} > Q1 \leq -100\text{HU}$ ,  $-99\text{HU} > Q2 \leq -91\text{HU}$ ,  $-90\text{HU} > Q3 \leq -73\text{HU}$ ,  $-72\text{HU} > Q4 \leq -50\text{HU}$ .

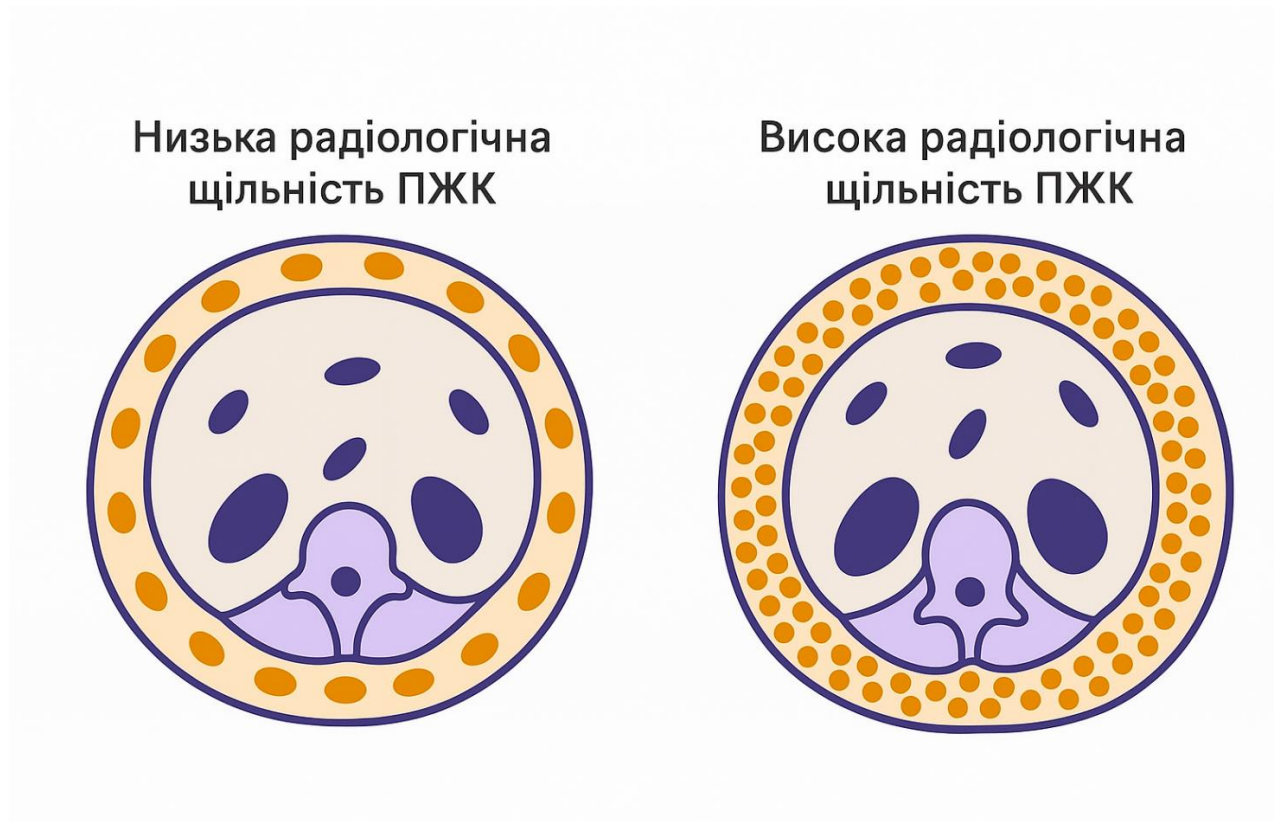


Рисунок 2.3 – Схематична ілюстрація, що порівнює об'єм підшкірної жирової тканини з її радіологічною щільністю, підкреслюючи, що пацієнти з подібним об'ємом жиру можуть мати різні параметри жирової тканини

До аналізу включалися пацієнти, у яких було проведено КТ органів черевної порожнини не пізніше ніж за 30 днів до початку імунотерапії. М'язову масу аналізували на аксіальних зрізах КТ на рівні L3 із чіткою візуалізацією обох поперечних відростків. Зображення оцінювали за допомогою програмного забезпечення Synapse 3D (версія 6.0, Токіо, Японія; серверна платформа типу thin-client, що включає понад 50 клінічних 3D-модулів) (Рис. 2.4).

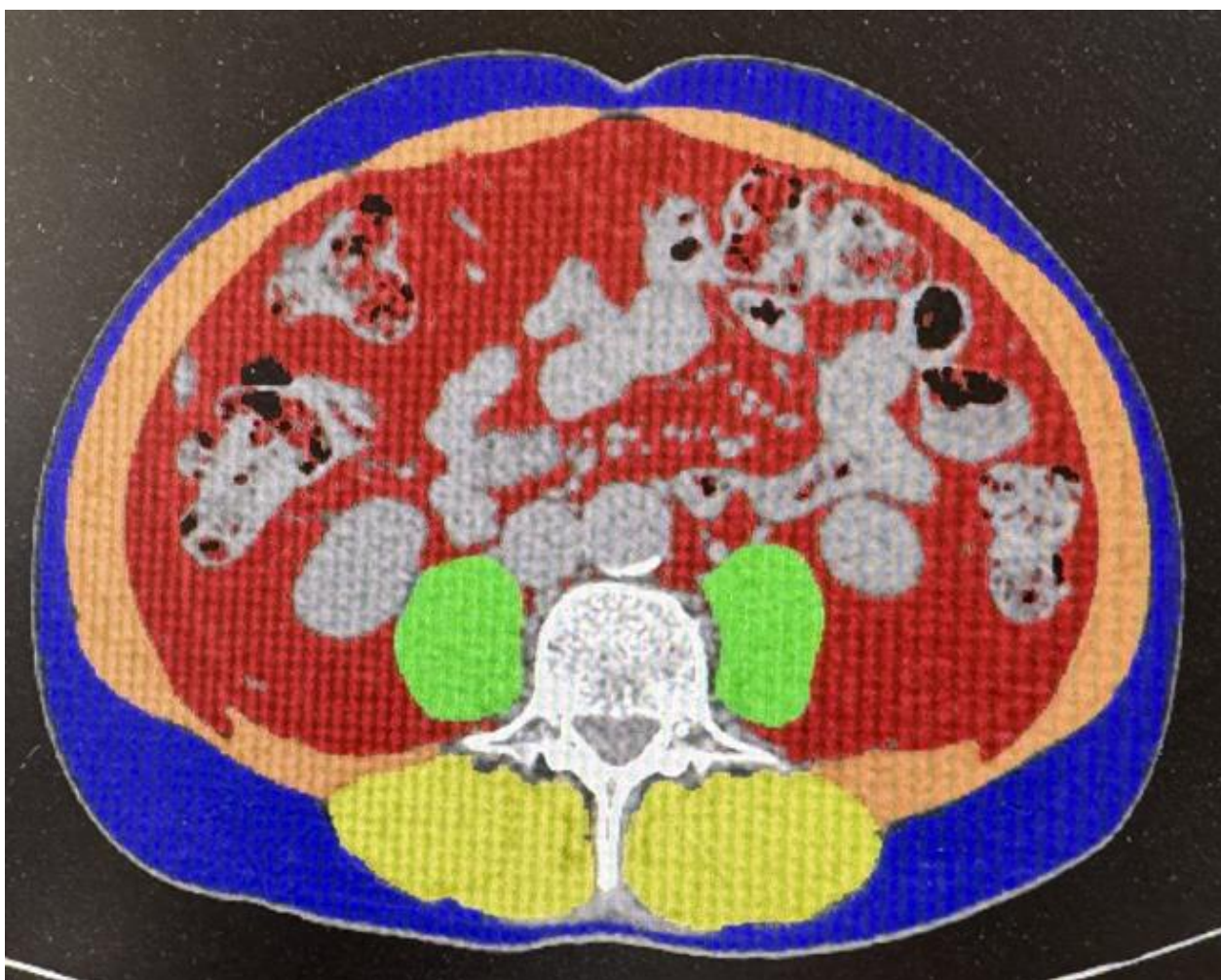


Рисунок 2.4 – КТ-оцінювання площі поперекових скелетних м'язів на рівні L3 за допомогою Synapse 3D. М'язи виділені жовтим та помаранчевим кольорами

Для виключення впливу контрастної речовини використовували лише зображення в базальній або ранній артеріальній фазі. М'язова тканина визначалась у діапазоні щільності від  $-29$  до  $+150$  HU. Індекс скелетних м'язів (ІСМ) розраховували як площу поперечного перерізу м'язів ( $\text{cm}^2$ ), поділену на квадрат зросту ( $\text{m}^2$ ). До аналізу включались поперекові, паравертебральні та м'язи черевної стінки. Радіологічну щільність скелетних м'язів (РЩСМ) визначали автоматично як середнє значення HU по всій площі м'язів.

Ми не застосовували попередньо виведені порогові значення ІСМ та РЩСМ, які були розраховані до ери ПКТ. Замість цього, порогові значення визначали безпосередньо на підставі даних досліджуваної популяції, розподіленої на дві підгрупи: чоловіки з ІМТ  $< 24,9$  та  $\geq 25,0$ . Відповідно,

пацієнтів класифікували як таких із низьким (ознака саркопенії) або високим ІСМ, а також низькою або високою РЩСМ. Оцінку якості КТ-сканів та радіологічної щільності ПЖК було зроблено радіологом, який не мав доступу до клінічних даних пацієнтів та результатів лікування.

## 2.8. Інформаційно-аналітичний метод

Для проведення дослідження дані були зібрані з 3 відкритих онкологічних репозиторіїв: TCGA (<https://portal.gdc.cancer.gov/>), cBioPortal (<https://www.cbioportal.org/>) та UCSC Xena Browser (<https://xenabrowser.net>). Ці платформи надають розширену клінічну, імунологічну та геномну інформацію про пацієнтів із різними злоякісними новоутвореннями, зокрема з НДКРЛ.

Клінічні дані, такі як стать, вік, стадія, тривалість виживаності та статус виживаності, були витягнуті з репозиторію TCGA. Дані про імунні фенотипи пухлин та транскриптомні профілі експресії генів, отримані методом RNA-seq, були зібрані з бази даних Xena Browser. Мутаційний матрикс бази cBioPortal став першоджерелом для оцінювання мутацій TP53, EGFR, KRAS, BRAF, KEAP1 та STK11 для аденокарцином, а також TP53, TTN, PIK3CA та KEAP1/NFE2L2 для плоскоклітинних карцином.

IFN $\gamma$ -асоційований генний підпис був сформований на основі десяти генів, залучених до інтерферон- $\gamma$ -опосередкованої імунної відповіді: CXCL9, CXCL10, CXCL11, IDO1, IRF9, CCR5, STAT1, PRF1, IFNG, HLA-DRA. Дані експресії для кожного гена були отримані у вигляді нормалізованих транскриптомних значень ( $\log_2(\text{RSEM}+1)$ ) з відкритого репозиторію TCGA. Сумарний підпис розраховували як середнє арифметичне логарифмованих значень експресії цих генів для кожного зразка.

Для стратифікації пацієнтів на групи з високою та низькою експресією IFN $\gamma$ -асоційованого підпису було проведено ROC-аналіз. Оптимальною точкою відсічення виявилось значення 5,62  $\log_2(\text{RSEM}+1)$  для аденокарцином та 7,32  $\log_2(\text{RSEM}+1)$  для плоскоклітинних карцином легень.

## 2.9. Статистичний метод

Категоріальні змінні подані у вигляді відсотків та абсолютних частот. Для перевірки нормальності розподілу використовували критерій Шапіро-Уїлка. За наявності нормального розподілу числових даних статистичну значущість оцінювали за допомогою t-критерію Стюдента та дисперсійного аналізу ANOVA. У випадках, коли розподіл не відповідав нормальному, для порівняння використовували непараметричні методи – критерій Манна-Уїтні, Вілкоксона або Краскела-Уолліса, залежно від кількості груп та умов аналізу. Наявність асоціативних зв'язків між клініко-патологічними характеристиками визначали за допомогою критерію  $\chi^2$  Пірсона або точного критерію Фішера для категоріальних змінних. Для візуалізації відмінностей у виживаності між підгрупами будували криві Каплана-Майєра, а статистичну значущість оцінювали за допомогою критерію Log-rank.

Для оцінки зв'язку між клініко-патологічними параметрами та смертністю, пов'язаною з НДКРЛ у хворих, що отримували терапію ПКТ, використовували моделі пропорційних ризиків Кокса, в яких обчислювали відношення ризиків (HR) та 95 % довірчі інтервали (ДІ). Для частини досліджень використовували 3 регресійні моделі, скориговані за різними клініко-патологічними параметрами.

Припущення про пропорційність ризиків перевіряли за допомогою залишків Шонфельда. Для дослідження нелінійних зв'язків між клініко-патологічними параметрами та ризиком смерті від НДКРЛ, було виконано аналіз за допомогою обмежених кубічних сплайнів з трьома вузлами. Сплайнові моделі будували із вузлами, розташованими на 10-му, 50-му та 90-му перцентилях; медіанне значення використовували як референтне. Вибір розташування вузлів здійснювали згідно зі стандартними рекомендаціями для досліджень із середнім обсягом вибірки. Тест відношення правдоподібностей використовували для порівняння лінійної та сплайнової моделей. Внутрішню валідацію моделей Кокса виконували за допомогою непараметричного бутстреп-ресемплінгу (1000 ітерацій) для оцінки надійності оцінок відношення ризиків.

Підгруповий аналіз та аналіз на взаємодію між клініко-патологічними факторами виконували з метою виявлення прогностичних предикторів виживаності. Для контролю помилки I типу при множинних порівняннях застосовували поправку Бонферроні.

У якості аналізу на чутливість використовували аналіз робочих характеристик приймача (ROC), завдяки якому визначали площі під кривими (AUC) та граничні значення для найбільш відповідного поділу пацієнтів на підгрупи.

Усі статистичні розрахунки проводили з використанням Stata версії 19.5 (StataCorp, Техас, США; <https://www.stata.com>, 2025). Значення  $p < 0,05$  вважалося статистично значущим.

## **2.10. Кластерний метод аналізу**

Для зменшення розмірності даних та виявлення прихованих структур у взаємозв'язках між імунними маркерами використовували аналіз головних компонент та кластеризацію. До аналізу включали стандартизовані значення експресії CD8<sup>+</sup>, STAT6<sup>+</sup> та логарифмічно перетворене співвідношення CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup>. Попередня стандартизація (z-бали) дозволяла усунути вплив різних масштабів вимірювання та забезпечувала порівнюваність внеску кожної змінної у головні компоненти. Аналіз головних компонент застосовувався для отримання нових інтегральних змінних (головних компонент), що пояснювали найбільшу частку варіації вихідних показників. Для подальшої візуалізації використовували перші дві головні компоненти, які сумарно відображали основну частку дисперсії даних.

Після виконання аналізу головних компонент було застосовано ієрархічний кластерний аналіз методом Ворда (Ward's linkage) із використанням евклідової відстані як міри подібності між спостереженнями. Цей підхід мінімізував внутрішньогрупову варіабельність і забезпечив формування найбільш однорідних кластерів. За результатами кластеризації було виділено групи пацієнтів, що інтерпретувалися як окремі імунні фенотипи пухлинного

мікрооточення. Ідентифікацію фенотипів здійснювали шляхом порівняння середніх значень маркерів у кожному кластері. Імуноактивний фенотип характеризувався високим рівнем CD8<sup>+</sup>, низькою експресією STAT6<sup>+</sup> та низьким співвідношенням CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup>; імуносупресивний фенотип – низьким рівнем CD8<sup>+</sup>, високою експресією STAT6<sup>+</sup> та високим співвідношенням CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup>; нейтральний/змішаний фенотип мав проміжні характеристики. Для наочного представлення результатів аналізу головних компонент та кластеризації будували двовимірний графік розташування пацієнтів у просторі перших двох головних компонент із кольоровим виділенням належності до кластерів.

## 2.11. Мета-аналітичний метод

Кінцевою точкою мета-аналізу опублікованих даних було оцінювання впливу часу доби, коли проводилися інфузії ПКТ на загальну виживаність пацієнтів із метастатичним НДКРЛ. Для пошуку опублікованих статей використовували базу даних PubMed та ручне дослідження статей Європейського товариства клінічних онкологів та Американського товариства клінічних онкологів. Був використаний фільтр для встановлення часового інтервалу з 2015 по 2025 роки та пошукові терміни: «імунотерпія, білок програмованої клітинної загибелі-1 (PD-1), ліганд білка програмованої загибелі клітини (PD-L1)», «час доби інфузії, циркадні ритми, хронотерапія», «пембролізумаб, ніволумаб, атезолізумаб, імунні контрольні точки». У кожній науковій статті було зібрано таку інформацію: автори публікації та рік видання, граничне значення для часу інфузії ПКТ, тип ПКТ, загальна кількість пацієнтів, кількість пацієнтів «ранкової групи», кількість пацієнтів «вечірньої групи», медіани загальної виживаності. Аналіз включав лише статті про метастатичний НДКРЛ.

Дослідження було проведене з використанням методу Кокрана для мета-аналізу. Обчислення та побудову графіків здійснювали в програмному середовищі Stata (версія 18.0, США). Неоднорідність вибірки оцінювали за допомогою  $I^2$  та тесту  $t^2$ , де  $p < 0,05$  свідчила про наявність неоднорідності. Для візуалізації неоднорідності між дослідженнями був створений графік Гелбрейта.

У зв'язку з високою гетерогенністю досліджень для розрахунку сукупного відносного ризику була залучена рандомізована модель. Результати мета-аналізу представлені як Cohen`s d із 95% ДІ. Про статистичну значущість свідчив  $p < 0,05$ .

## **2.12. Методи цифрової розробки (математичного моделювання та веб-програмування)**

На першому етапі було проведено аналітичне опрацювання факторів, що асоціювалися із загальною виживаністю. Для цього використано багатфакторну регресію Кокса, що дозволила визначити незалежні предиктори ефективності ПКТ та оцінити ступінь їхнього впливу на ризик смерті. Для кожного показника було обчислено  $\beta$ -коефіцієнти як натуральні логарифми відповідних hazard ratio. Оскільки предиктори мали різну силу асоціації з подією, здійснено нормалізацію  $\beta$ -коефіцієнтів шляхом поділу на найменше за абсолютною величиною значення, яке використовувалося як референтне. Такий підхід дозволив уніфікувати внесок кожного фактора і забезпечив можливість подальшої конверсії коефіцієнтів у бальну шкалу.

На наступному етапі було сформовано прогностичну систему у вигляді сумарного бального показника. Нормалізовані коефіцієнти трансформовано у цілі значення балів, що відображають відносну силу впливу кожного чинника. Позитивні значення відповідали факторам, які збільшували ризик смерті, тоді як нульові або від'ємні – факторам із нейтральним або потенційно сприятливим прогнозом. Сумарний індивідуальний бал для кожного пацієнта визначали шляхом додавання бальної ваги всіх релевантних показників, що дозволило отримати інтегральний прогностичний індекс.

З метою стратифікації пацієнтів на клінічно значущі групи ризику було визначено оптимальні межові значення сумарного бала. Для цього застосовано ROC-аналіз із розрахунком індексу Юдена, що дозволило встановити оптимальний поріг між низьким та проміжним ризиком. Межа між проміжною та високоризиковою категоріями була уточнена з урахуванням розподілу вибірки та клінічної доцільності. Подальша валідація здійснювалася за допомогою

кривих Каплана–Майєра та Log-rank тесту, що підтвердило суттєві відмінності загальної виживаності між сформованими групами. Для кожної групи також визначено ймовірність виживаності у фіксовані часові точки (6, 12, 18, 24, 30 та 36 місяці), що підвищило практичну цінність моделі.

Після статистичної та клінічної валідації модель була трансформована у прототип цифрової платформи підтримки клінічних рішень. Технічна реалізація передбачала створення інтерактивного веб-модуля, у якому алгоритм бальної оцінки та логіка розрахунку ризику були закодовані у вигляді автономної HTML/JavaScript-структури. Такий формат забезпечив миттєвий розрахунок результуючих показників без потреби у серверній обробці, що робить інструмент придатним для використання як у клінічному середовищі, так і в умовах обмеженої інфраструктури. Інтерфейс містить систему введення вихідних клініко-біологічних параметрів, автоматичний розрахунок сумарного бала та визначення групи ризику з подальшим виведенням орієнтовних прогностичних значень.

Готовий прототип було розміщено у відкритому доступі з використанням платформи GitHub Pages, що забезпечило стабільне публічне посилання, прозорість алгоритму, можливість контролю версій та подальшої інтеграції у розширені цифрові рішення. Таким чином, розроблений модуль IMMU-LUNG поєднує валідовану статистичну модель із сучасними інструментами цифрової медицини та може розглядатися як повноцінний прототип платформи підтримки клінічних рішень для оцінки відповіді на ПКТ у хворих на метастатичний НДКРЛ.

## РОЗДІЛ 3

### ВИВЧЕННЯ ПРЕДИКТОРІВ ЕФЕКТИВНОСТІ ІНГІБІТОРІВ ІМУННИХ КОНТРОЛЬНИХ ТОЧОК НА РІВНІ ОРГАНІЗМУ ПАЦІЄНТА

#### **3.1. Вплив часу інфузії на ефективність імунотерапії метастатичного недрібноклітинного раку легень: мета-аналіз**

За пошуковими термінами «імунотерпія, білок програмованої клітинної загибелі-1 (PD-1), ліганд білка програмованої загибелі клітини (PD-L1)», «час доби інфузії, циркадні ритми, хронотерапія», «пембролізумаб, ніволумаб, атезолізумаб, імунні контрольні точки» було ідентифіковано 157 досліджень.

Після аналізу були виключені статті, у яких повідомляли про вплив часу доби на імунотерапію інших, ніж НДКРЛ, злоякісних новоутверень (n=101). Крім того, були видалені препринти (n=10), дублікати статей (n=7) та статті, де інгібітори PD-1/PD-L1 поєднували з інгібіторами цитотоксичного Т-лімфоцит асоційованого білка (n=31), хіміотерапією та хіміопроменевою терапією (n=2). Загалом ми ідентифікували 7 статей, у яких автори порівнювали результати загальної виживаності у хворих з метастатичним НДКРЛ у залежності від часу доби, коли пацієнти отримували інфузію ПКТ.

У кожному звіті детально вивчено принципи визначення граничного часу для поділу пацієнтів у «ранкові групи» та «вечірні групи». Здебільшого автори застосовували прагматичний підхід, який базувався на визначенні середнього часу доби, коли виконувалися інфузії ПКТ для кожного пацієнта. За даним показником розбіжності між деякими дослідженнями досягали 5 годин (інтервал від 11:37 до 16:30). У 6 дослідженнях був оцінений вплив усіх циклів імунотерапії, в одному - лише першої інфузії.

У трьох дослідженнях граничні значення були «ранніми» (11:37, 12:00 та 12:55) та у чотирьох «пізніми» (14:30, 16:00 та 16:30). В усіх дослідженнях пацієнтів відносили до «ранкової групи», якщо вони отримували більше 80% інфузій до визначеного граничного часу. До «вечірньої групи» включали пацієнтів, які отримали більше 20% інфузій ПКТ після граничного часу.

До мета-аналізу було залучено 1491 пацієнта, серед яких 813 (54,5%) були включені в «ранкову групу» та 678 (45,5%) пацієнтів у «вечірню групу». Результати аналізу публікацій, включених до мета-аналізу представлено в таблиці 3.1.

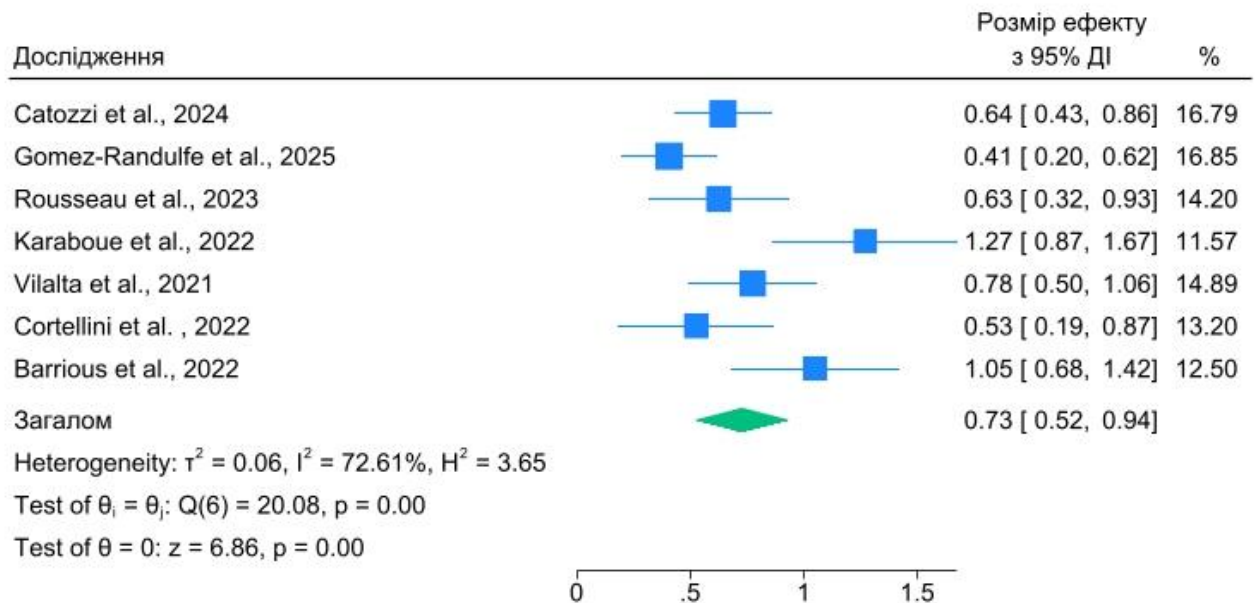
Таблиця 3.1 – Характеристики досліджень, включених в мета-аналіз

Автори дослідження та рік публікації	Країна	Тип ІКТ	Граничне значення	Кількість пацієнтів («ранкова група» / «вечірня група»)
Gomez-Randulfe et al., 2025 [287]	Великобританія	PD-1/ PD-L1	14:30	349 (188/161)
Catozzi et al., 2024 [288]	Франція	PD-1/ PD-L1	11:37	361 (136/225)
Rousseau et al., 2023 [289]	Франція	PD-1/ PD-L1	16:30	180 (115/65)
Karaboue et al., 2022 [290]	Франція	PD-1	12:55	95 (48/47)
Cortellini et al., 2022 [291]	Іспанія	PD-1/ PD-L1	16:30	180 (136/44)
Barrious et al., 2022 [292]	Бразилія	PD-1/ PD-L1	16:00	129 (86/43)
Vilalta et al., 2021 [293]	Іспанія	PD-1/ PD-L1	12:00	197 (104/93)

Основним оцінюваним результатом у мета-аналізі було логарифмічно трансформоване співвідношення медіан загальної виживаності між групами ранкового та вечірнього введення ( $\log\_median\_ratio$ ). У всіх семи дослідженнях  $\log\_median\_ratio$  було більше 0, що свідчило про вищу медіану виживаності в «ранкових» групах. Узагальнений розмір ефекту, розрахований за моделлю випадкових ефектів, становив 0,73 (95% ДІ: 0,521–0,938;  $p < 0,001$ ), що вказувало на статистично достовірну перевагу ранкового введення ІКТ.

Для зручнішої клінічної інтерпретації було здійснено зворотну логарифмічну трансформацію (експонування) узагальненого  $\log\_median\_ratio$ , в результаті чого отримано експонований розмір ефекту 2,07. Це означає, що медіанна загальна виживаність пацієнтів, які отримували ІКТ у ранковий час,

була більш ніж удвічі довшою, ніж у пацієнтів, які проходили лікування у вечірній період (рис. 3.1).



Random-effects REML model

Рисунок 3.1 – Результати мета-аналізу загальної виживаності для пацієнтів «ранкової групи» та «вечірньої групи» відповідно до часу інфузії ПКТ

Гетерогенність між дослідженнями була значною:  $I^2 = 72,6\%$ , що свідчило про суттєву варіабельність ефектів, яка не пояснювалася випадковістю ( $Q = 20,08$ ;  $p = 0,0027$ ). Розмір ефекту в окремих дослідженнях варіював від 0,407 до 1,270, у всіх випадках на користь ранкового введення. Це свідчить про сталість напрямку ефекту незалежно від популяційних характеристик, дизайну досліджень або типу застосованого інгібітора PD-1/PD-L1.

Така односторонність результатів підсилює припущення про реальний вплив часу доби на клінічну ефективність ПКТ. Незважаючи на відмінності у граничних значеннях часу інфузій та методології розподілу пацієнтів між групами, ефект на користь ранкового введення залишався послідовним.

Для оцінки гетерогенності серед включених досліджень було побудовано графік Гелбрейта. Жоден з розрахованих розмірів ефекту не перевищував 95% довірчих інтервалів, що свідчить про узгодженість між дослідженнями (рис. 3.2).

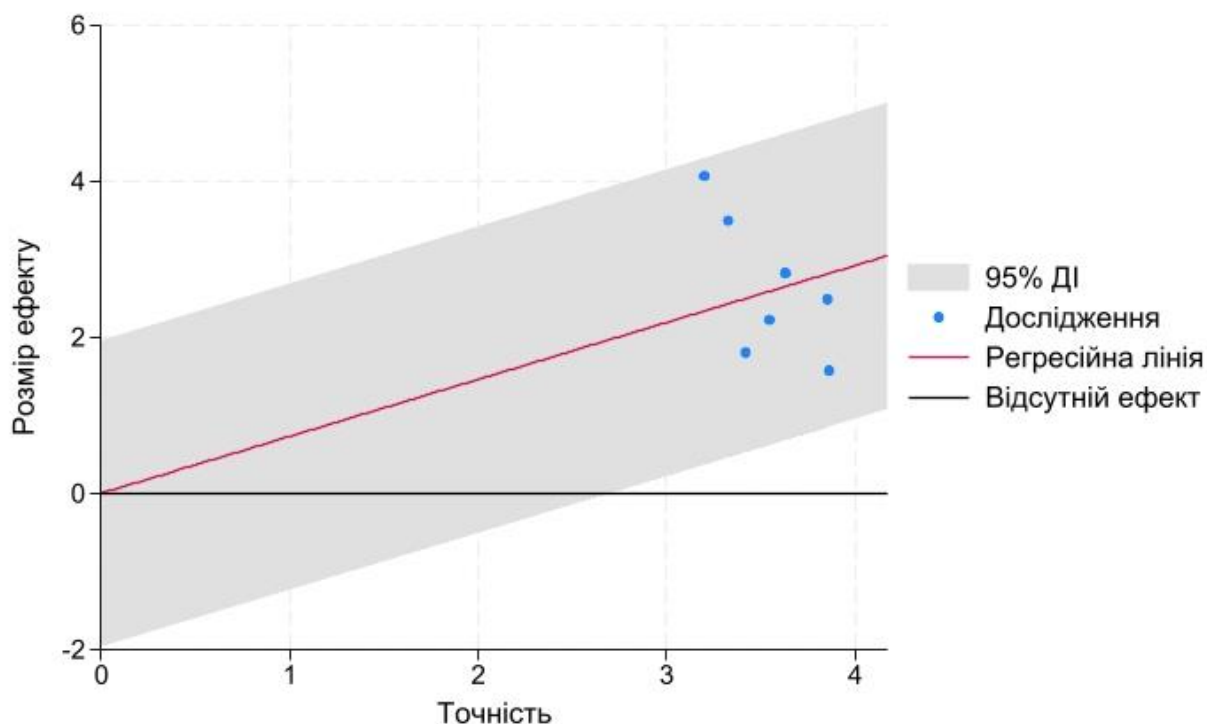


Рисунок 3.2 – Тест на гетерогенність – графік Гелбрейта для підведення підсумків мета-аналізу

Таким чином, отримані результати узгоджено підтверджують гіпотезу про те, що циркадне планування введення ПКТ істотно впливає на клінічну ефективність лікування. Ранкове введення інгібіторів PD-1/PD-L1 асоціюється з достовірно кращими показниками загальної виживаності незалежно від типу препарату, країни проведення дослідження чи застосованого граничного часу. У сукупності ці висновки підсилюють доцільність упровадження хронотерапевтичних підходів у клінічну практику лікування метастатичного НДКРЛ та відкривають можливості для подальших досліджень, спрямованих на оптимізацію часу введення ПКТ як простого й економічно необтяжливого способу підвищення ефективності імунотерапії.

### 3.2. Вплив віку на ефективність імунотерапії метастатичного недрібноклітинного раку легень

Серед 105 пацієнтів із метастатичним НДКРЛ 89 (84,8%) були чоловічої статі, а 16 (15,2%) – жіночої. Середній вік пацієнтів становив 60,8 років (діапазон: 34–78 років). У таблиці 3.2 подано стратифіковані характеристики пацієнтів відповідно до кватилів віку.

Таблиця 3.2 – Стратифіковані характеристики пацієнтів за кватилиями віку

Змінні	Вік пацієнтів				p
	Квартиль 1, n=27	Квартиль 2, n=26	Квартил 3, n=26	Квартиль 4, n=26	
Стать, n (%)					
Чоловіча	21 (77,8)	25 (96,2)	23 (88,5)	20 (76,9)	0,162 ( $\chi^2$ )
Жіноча	6 (22,2)	1 (3,8)	3 (11,5)	6 (23,1)	
Гітологічний варіант, n (%)					
Аденокарцинома	17 (63,0)	18 (69,2)	9 (34,6)	14 (53,8)	0,066 ( $\chi^2$ )
Плоскоклітинна карцинома	10 (37,0)	8 (30,8)	17 (65,4)	12 (46,2)	
Метастази в легенях, n (%)					
Відсутні	12 (44,4)	14 (53,8)	17 (65,4)	13 (50,0)	0,477 ( $\chi^2$ )
Присутні	15 (55,6)	12 (46,2)	9 (34,6)	13 (50,0)	
Метастази в плеврі, n (%)					
Відсутні	25 (92,6)	26 (100,0)	25 (96,2)	17 (65,4)	0,000 1†
Присутні	2 (7,4)	0 (0,0)	1 (3,8)	9 (34,6)	
Метастази в печінці, n (%)					
Відсутні	22 (81,5)	20 (76,9)	17 (65,4)	17 (65,4)	0,447 ( $\chi^2$ )
Присутні	5 (18,5)	6 (23,1)	9 (34,6)	9 (34,6)	
Метастази в кістках, n (%)					
Відсутні	21 (77,8)	15 (57,7)	16 (61,5)	20 (76,9)	0,269 ( $\chi^2$ )
Присутні	6 (22,2)	11 (42,3)	10 (38,5)	6 (23,1)	
Лінія терапії, n (%)					
Перша	25 (92,6)	22 (84,6)	23 (88,5)	23 (88,5)	0,801 †
Друга	2 (7,4)	4 (15,4)	3 (11,5)	3 (11,5)	
Режим лікування, n (%)					
Моноterapia ПКТ	10 (37,0)	13 (50,0)	6 (23,1)	9 (34,6)	0,249 ( $\chi^2$ )
Хіміоімунотерапія	17 (63,0)	13 (50,0)	20 (76,9)	17 (65,4)	

Продовження таблиці 3.2

Змінні	Квартиль 1, n=27	Квартиль 2, n=26	Квартил 3, n=26	Квартиль 4, n=26	p
Імунозалежні побічні ефекти, n (%)					
Відсутні	22 (81,5)	23 (88,5)	21 (80,8)	13 (50,0)	0,010
Присутні	5 (18,5)	3 (11,5)	5 (19,2)	13 (50,0)	†
Експресія PD-L1, n (%)					
1-49%	22 (81,5)	23 (88,5)	19 (73,1)	18 (69,2)	0,327
≥50%	5 (18,5)	3 (11,5)	7 (26,9)	8 (30,8)	†
Загальний статус ECOG, n (%)					
0-1	26 (96,3)	24 (84,6)	24 (84,6)	26(100,0)	0,568
≥2	1 (3,7)	2 (15,4)	2 (15,4)	0 (0,0)	†
Індекс коморбідності Чарльсона, n (%)					
0	7 (26,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0,000
1	12 (44,4)	11 (42,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	1†
2	8 (29,6)	10 (38,5)	21 (80,8)	10 (38,5)	
≥3	0 (0,0)	5 (19,2)	5 (19,2)	16 (61,5)	

Примітка: † Використано точний критерій Фішера; застосовано  $\chi^2$ -критерій Пірсона

Було виявлено статистично значущий зв'язок між квартилями віку, плевральними метастазами, імунозалежними побічними ефектами та індексом коморбідності Чарльсона. У пацієнтів із найвищого вікового квартиля частота плевральних метастазів була значно вищою, ніж у наймолодшій групі (34,6% проти 7,4% відповідно;  $p = 0,0001$ ), що свідчить про наявність вікових відмінностей у частоті метастазування в плевру.

Імунозалежні побічні ефекти також найчастіше спостерігалися у пацієнтів із найвищого квартиля віку. У першому квартилі вони були зафіксовані у 18,5% хворих на метастатичний НДКРЛ, тоді як у четвертому квартилі – у 50,0% випадків ( $p = 0,010$ ). Виявлені вікові відмінності у частоті імунозалежних побічних ефектів можуть мати суттєве клінічне значення, що вказує на потребу у віково-орієнтованих підходах до моніторингу та менеджменту пацієнтів, які отримують інгібітори імунних контрольних точок.

Крім того, у більшості пацієнтів четвертого вікового квартиля індекс коморбідності Чарлсона був  $\geq 3$ . У першому квартилі індекс коморбідності Чарлсона  $\geq 3$  не виявлено жодного разу, натомість у четвертому квартилі – у 61,5% пацієнтів ( $p = 0,0001$ ).

Інші чинники, зокрема стать, гістологічний підтип пухлини, локалізація метастазів (легені, печінка, кістки), лінія терапії та схема імунотерапії, не продемонстрували статистично значущих відмінностей між чотирма віковими квартилями.

**Тривалість лікування.** Середня тривалість терапії ПКТ у досліджуваній когорті становила 8,0 місяців (діапазон: 1,0–24,0 місяці). Статистично значущого зв'язку між тривалістю лікування та квартилями віку не виявлено ( $p = 0,5976$ ; табл. 3.3).

Таблиця 3.3 – Тривалість терапії ПКТ у пацієнтів з метастатичним НДКРЛ, стратифікованих за віковими квартилями

Вікові групи	Середня тривалість терапії ПКТ (інтервал), місяці	p
Квартиль 1, n=27	8,1 (1,3–20,0)	0,5976
Квартиль 2, n=26	7,6 (1,3–18,7)	
Квартиль 3, n=26	7,5 (1,0–18,5)	
Квартиль 4, n=26	8,7 (1,0–24,0)	

Примітка: застосовано критерій Краскела–Волліса

**Відповідь на лікування.** Повна відповідь на терапію спостерігалася у 6 з 105 пацієнтів (5,7%), часткова – у 48 (45,7%), стабілізація захворювання – у 37 (35,2%), а прогресування – у 14 пацієнтів (13,4%). Таким чином, об'єктивної відповіді на лікування досягли 51,4%, а рівню контролю над захворюванням – 86,6% пацієнтів. Статистично значущого зв'язку між відповіддю на лікування та віковими квартилями не виявлено (табл. 3.4).

Таблиця 3.4 – Порівняння відповіді на лікування між віковими квантилями

Відповідь на лікування	Квартиль 1, n (%)	Квартиль 2, n (%)	Квартиль 3, n (%)	Квартиль 4, n (%)	p
Об'єктивна відповідь на лікування:					
Так (n=54)	13 (48,1)	11 (42,3)	14 (53,8)	16 (61,5)	0,551 ( $\chi^2$ )
Ні (n=51)	14 (51,9)	15 (57,7)	12 (46,2)	10 (38,5)	
Ступінь контролю над захворюванням:					
Так (n=91)	21 (77,8)	23 (88,5)	25 (96,2)	22 (84,6)	0,257†
Ні (n=14)	6 (22,2)	3 (11,5)	1 (3,8)	4 (15,4)	

Примітка: † використано точний критерій Фішера;  $\chi^2$ -критерій Пірсона

**Аналіз виживаності.** Для оцінки зв'язку між віком та смертністю від будь-яких причин у пацієнтів із метастатичним НДКРЛ, які отримували терапію ПКТ, були застосовані моделі пропорційних ризиків Кокса. Вік було категоризовано за квантилями, причому найнижчий квантиль (Q1) використовувався як референтна група. Отримані результати свідчать, що підвищення віку, стратифіковане за квантилями, не є незалежним предиктором зростання ризику загальної смертності в цій популяції пацієнтів (табл. 3.5).

Таблиця 3.5 – Результати регресійного аналізу Кокса щодо зв'язку між віком та смертністю від усіх причин

Модель	Вікові квантилі	Відношення ризиків	95% ДІ	p	p для тренду
Модель 1	Q1	Референтна	–	–	0,370
	Q2	1,19	0,90–1,57	0,208	
	Q3	1,19	0,99–1,44	0,063	
	Q4	1,05	0,91–1,21	0,468	
Модель 2	Q1	Референтна	–	–	0,577
	Q2	1,24	0,92–1,67	0,143	
	Q3	1,17	0,95–1,43	0,122	
	Q4	1,02	0,87–1,19	0,795	

## Продовження таблиці 3.5

Модель	Вікові квартилі	Відношення ризиків	95% ДІ	p	p для тренду
Модель 3	Q1	Референтна	–	–	0,716
	Q2	1,19	0,84–1,68	0,317	
	Q3	1,24	0,95–1,62	0,110	
	Q4	1,03	0,83–1,27	0,762	

Примітки: Модель 1 не була скоригована.

Модель 2 була скоригована за статтю, гістологічним підтипом пухлини та наявністю метастазів у головному мозку, легенях, плеврі, печінці й кістках.

Модель 3 була скоригована за статтю, гістологічними варіантами, метастазами у легенях, плеврі, печінці й кістках, лінією терапії, схемою лікування, наявністю імуноопосередкованих побічних ефектів, тривалістю терапії ПКТ, статусом загального стану за ECOG, експресією PD-L та індексом коморбідності Чарлсона.

При моделюванні віку як неперервної змінної не було виявлено статистично значущого зв'язку між віком пацієнтів та загальною смертністю в жодній із моделей регресії Кокса (Модель 1: HR = 1,00; 95% ДІ: 0,98–1,03; p = 0,603; Модель 2: HR = 1,00; 95% ДІ: 0,98–1,03; p = 0,533; Модель 3: HR = 1,00; 95% ДІ: 0,95–1,04; p = 0,889). Ці результати підтверджують попередні висновки, отримані за квартилями віку, та засвідчують, що вік не є незалежним прогностичним фактором виживаності в пацієнтів із метастатичним НДКРЛ, які отримують ПКТ.

Смертність була зафіксована у 100 із 105 (95,2%) пацієнтів, з них у 96 із 100 (96,0%) випадків причиною стала прогресія метастатичного НДКРЛ, а в 4 із 100 (4,0%) – інші причини. Медіана загальної виживаності у пацієнтів першого, другого, третього та четвертого квартилів становила відповідно 14,2; 14,8; 13,4 та 12,1 місяця. Статистично значущих відмінностей у загальній виживаності між пацієнтами різних вікових квартилів не виявлено (Log-rank p = 0,2853). Криві виживаності Каплана-Мейєра продемонстрували, що виживаність пацієнтів із метастатичним НДКРЛ не залежить від віку, що додатково підтверджує раніше отримані результати (рис. 3.3).

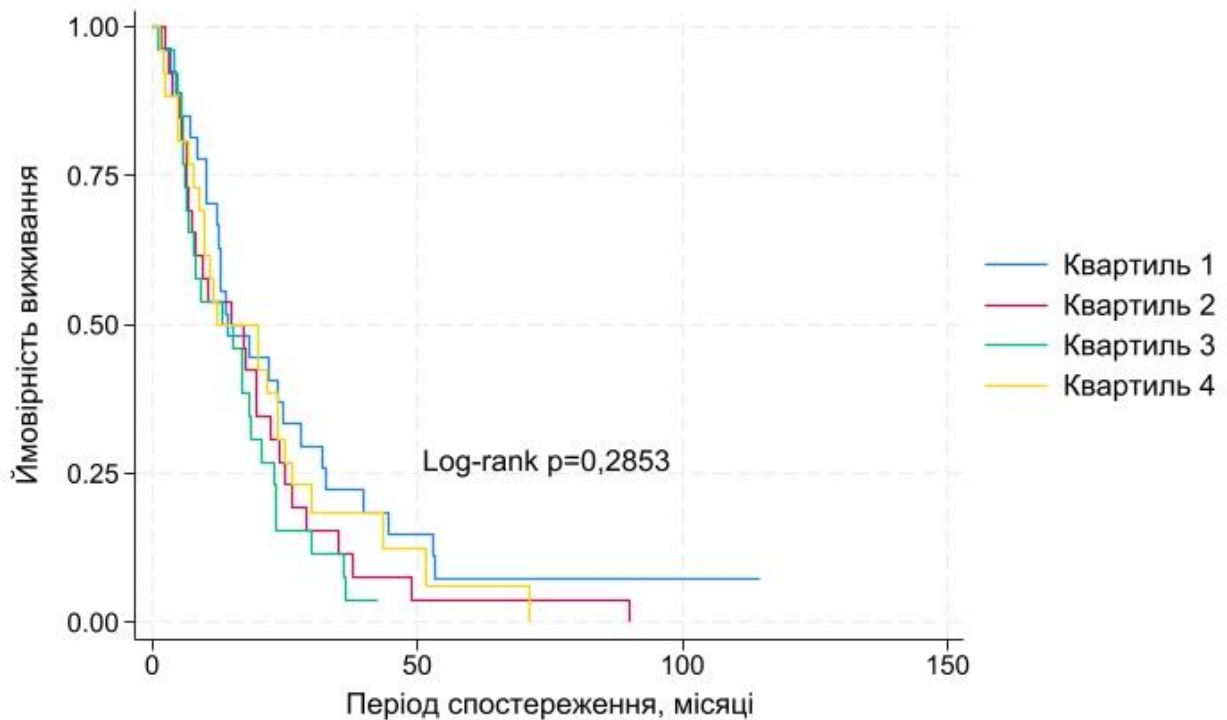


Рисунок 3.3 – Криві виживаності Каплана–Мейєра щодо смертності від усіх причин. Пацієнтів стратифіковано на чотири групи (Q1, Q2, Q3 та Q4) відповідно до квартилів віку

*Аналіз обмежених кубічних сплайнів.* Для візуалізації зв'язку між віком пацієнтів із мНДКРЛ та відношенням ризиків було застосовано аналіз із використанням обмежених кубічних сплайнів (рис. 3.4). Для побудови сплайнів використано відношення ризиків, розраховані за Моделлю 3, яка була скоригована за статтю, гістологією, наявністю метастазів у легенях, плеврі, печінці та кістках, лінією терапії, схемою лікування, імуноопосередкованими побічними ефектами, тривалістю терапії ПКТ, статусом за шкалою ECOG, експресією PD-L та індексом коморбідності Чарлсона.

Тест відношення правдоподібності, що порівнював модель сплайнів з лінійною моделлю, показав значуще покращення відповідності моделі ( $\chi^2 = 99,34$ ;  $p < 0,001$ ), що свідчить про нелінійний характер зв'язку між віком і ризиком смерті.

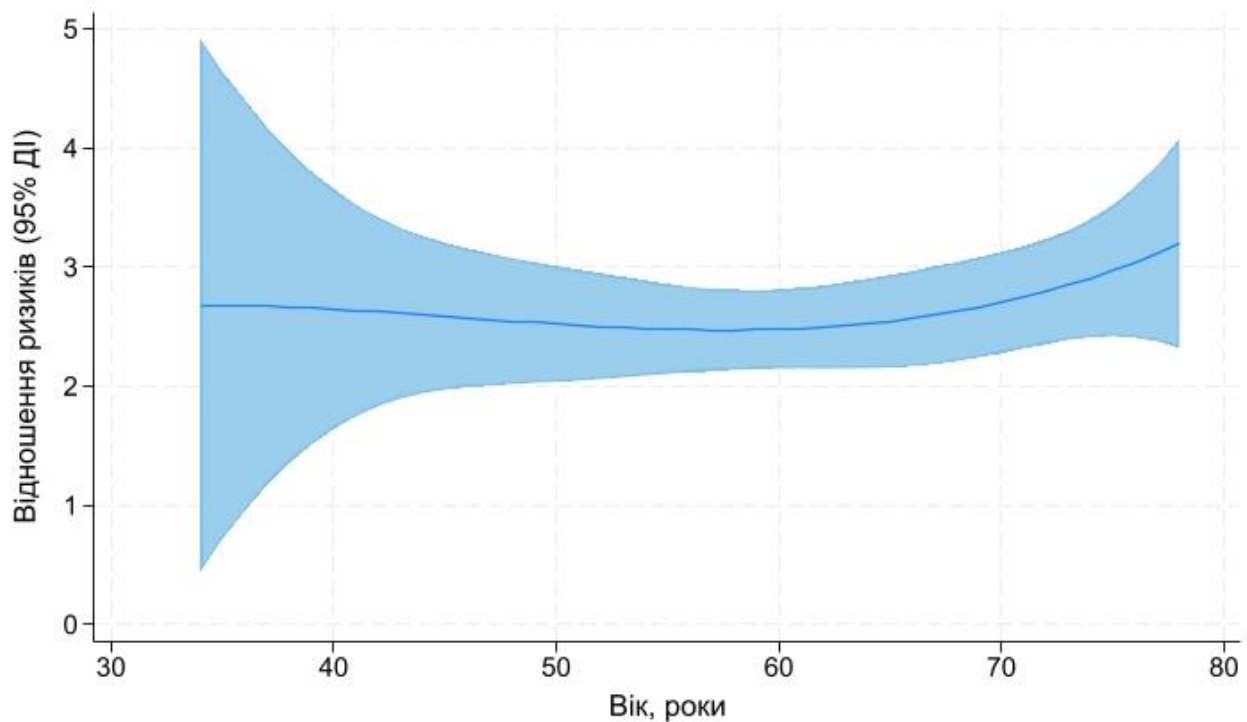


Рисунок 3.4 – Графік обмеженого кубічного сплайна, який ілюструє нелінійний зв'язок між віком та смертністю від усіх причин у пацієнтів з мНДКРЛ. Синя суцільна лінія відображає відношення ризиків (HR), а заштрихована зона навколо неї – 95% довірчий інтервал

**Підгруповий аналіз.** Підгруповий аналіз був проведений з метою дослідження зв'язку між клініко-патологічними характеристиками та загальною смертністю у пацієнтів із метастатичним НДКРЛ, які отримували терапію ПКТ. Статус загального стану за шкалою ECOG продемонстрував сильний зв'язок із ризиком смерті. Пацієнти зі статусом ECOG 0–1 мали достовірно знижене відношення ризиків (HR = 0,081; 95% ДІ: 0,021–0,276;  $p = 0,0001$ ), тоді як ECOG 2 був асоційований із виражено підвищеним ризиком смерті (HR = 3,543; 95% ДІ: 1,273–5,223;  $p = 0,0001$ ).

Тривалість терапії ПКТ також була значущим прогностичним чинником. Пацієнти, які отримували ПКТ менше 8 місяців, мали вищий ризик смертності (HR = 3,637; 95% ДІ: 1,695–5,432;  $p = 0,0001$ ), тоді як у пацієнтів із тривалістю

лікування  $\geq 8$  місяців ризик був достовірно нижчим (HR = 0,104; 95% ДІ: 0,054–0,198;  $p = 0,0001$ ; рис. 3.5).

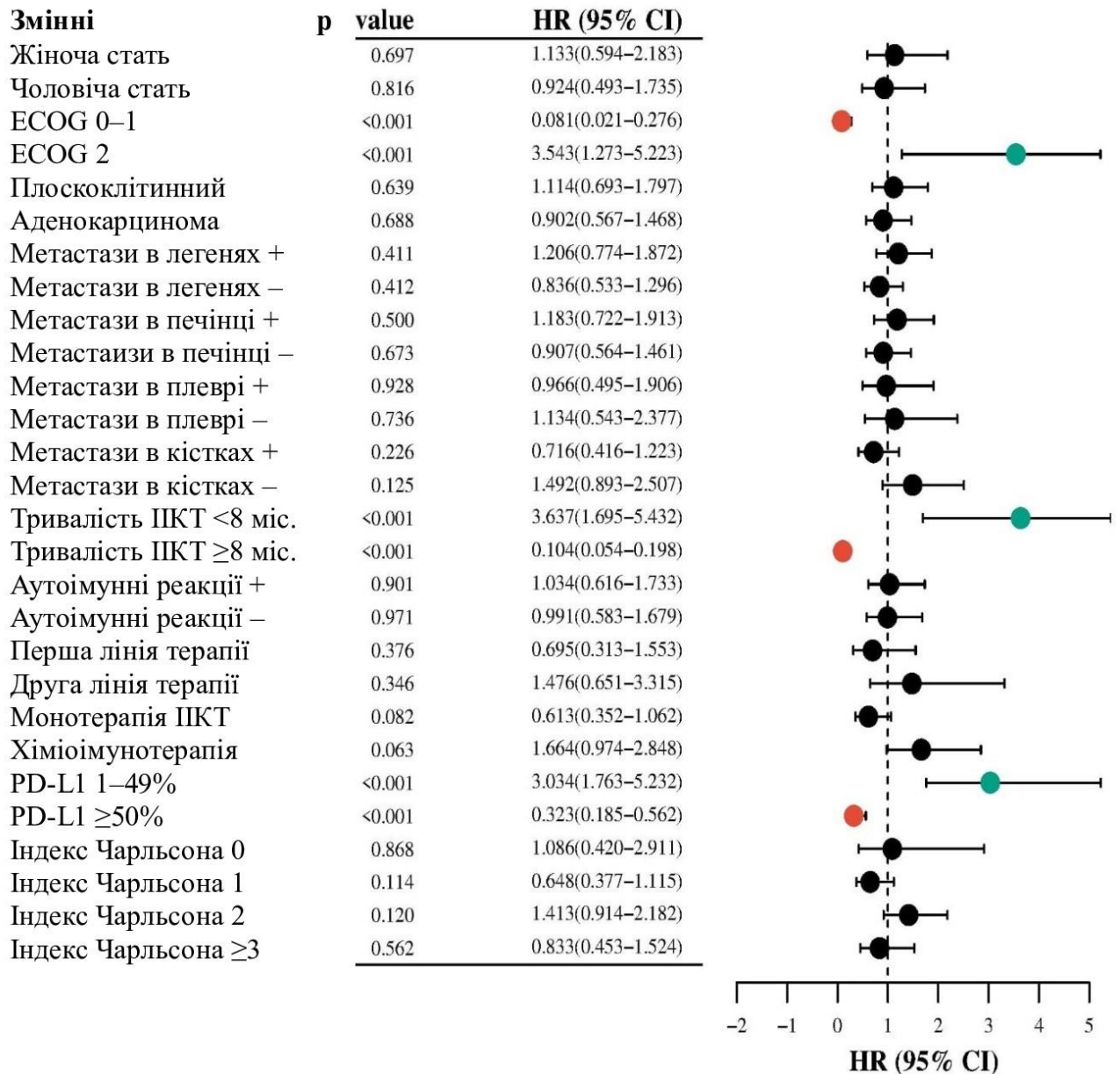


Рисунок 3.5 – Підгруповий аналіз для оцінки зв'язку між віком та смертністю від усіх причин

Рівень експресії PD-L1 також виявився значущим прогностичним показником. Проміжний рівень експресії (1–49%) асоціювався з підвищеним ризиком смерті (HR = 3,034; 95% ДІ: 1,763–5,232;  $p = 0,0001$ ), тоді як високий рівень експресії ( $\geq 50\%$ ) мав захисний ефект (HR = 0,323; 95% ДІ: 0,185–0,562;  $p = 0,0001$ ).

Стать, гістологічний підтип пухлини та наявність метастазів у легенях, печінці, плеврі та кістках не продемонстрували статистично значущого зв'язку з рівнем смертності. Подібним чином, імунозалежні побічні ефекти, лінія лікування та індекс Чарлсона також не були значущими предикторами у моделі виживаності. Хоча комбінована ПКТ із хіміотерапією продемонструвала тенденцію до підвищеного ризику (HR = 1,664; 95% ДІ: 0,974–2,848; p = 0,063), а монотерапія ПКТ – до зниження ризику (HR = 0,613; 95% ДІ: 0,352–1,062; p = 0,082), ці відмінності не досягли статистичної значущості

Додатково було проведено аналіз взаємодії між віком пацієнтів із метастатичним НДКРЛ та клініко-патологічними характеристиками, які потенційно впливають на загальну смертність. Виявлено статистично значущу взаємодію між віком і статусом ECOG (HR = 1,03; 95% ДІ: 1,01–1,05; p = 0,001), що свідчить про те, що негативний прогностичний вплив поганого загального стану посилюється з віком.

Значущу взаємодію також було виявлено між експресією PD-L1 та віком (HR = 0,99; 95% ДІ: 0,98–1,00; p = 0,017), що вказує на підсилення захисного ефекту високої експресії PD-L1 із віком пацієнтів – із незначним зниженням ризику смерті на кожен рік віку. Найбільш виражену та статистично значущу взаємодію спостерігали між тривалістю ПКТ та віком (HR = 1,03; 95% ДІ: 1,02–1,04; p < 0,0001), що свідчить про те, що зв'язок між тривалістю лікування та ризиком смерті є сильнішим у старших пацієнтів.

Ці результати дозволяють припустити, що вік модифікує вплив статусу ECOG, експресії PD-L1 та тривалості імунотерапії на загальну виживаність. Зокрема, літні пацієнти є більш вразливими до негативного впливу поганого загального стану та тривалого лікування ПКТ, тоді як позитивний ефект експресії PD-L1, навпаки, може посилюватися з віком.

**Аналіз чутливості та специфічності.** Для оцінки чутливості та специфічності віку як прогностичного діагностичного інструмента було проведено ROC-аналіз (рис. 3.6). Прогностична здатність віку щодо передбачення смертності від усіх причин серед пацієнтів із метастатичним

НДКРЛ була охарактеризована площею під кривою (AUC), яка становила 0,4400 (95% ДІ: 0,34143–0,53834).

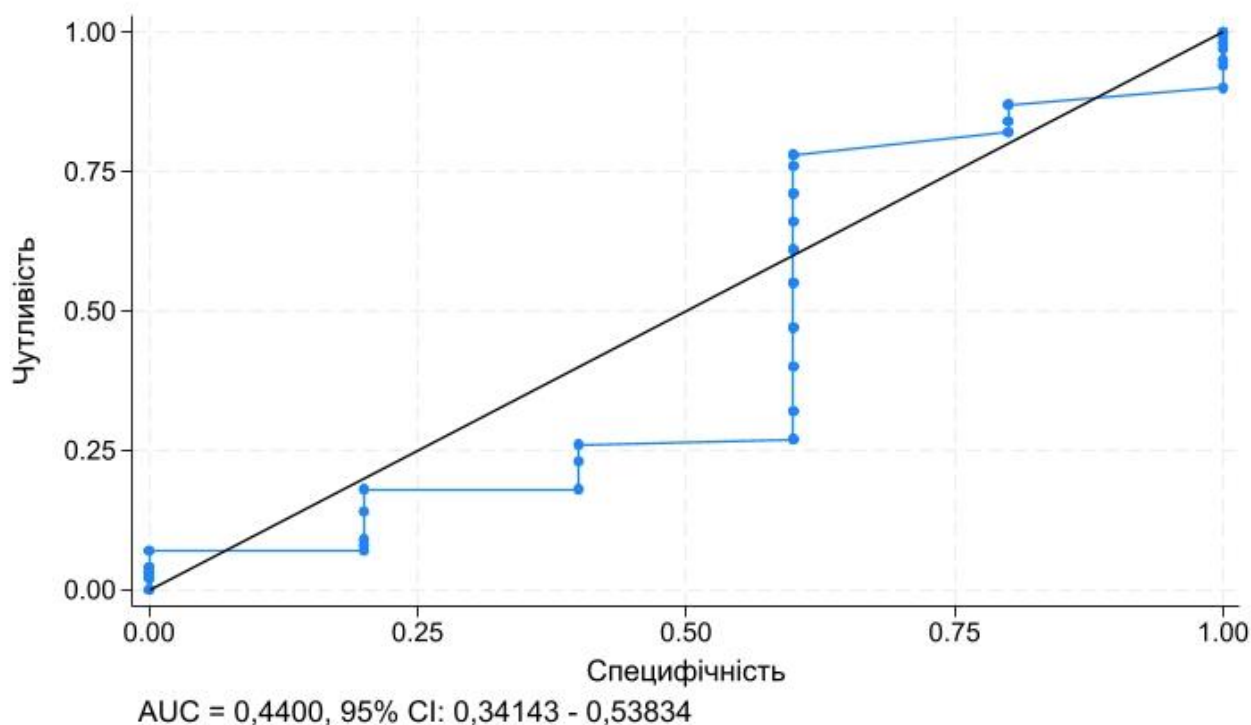


Рисунок 3.6 – ROC-аналіз віку та смертності від усіх причин

**Імунозалежні побічні ефекти.** У пацієнтів із найвищого вікового квартиля спостерігалася вища поширеність імуноопосередкованих побічних ефектів порівняно з нижчими квартилями ( $p = 0,046$ ), зокрема гіпертиреозу. Водночас при аналізі токсичності 3 ступеня або вище результати були подібними в усіх вікових групах ( $p = 0,936$ ). Порівняльний аналіз токсичності, пов'язаної з ПКТ, у розрізі вікових квартилів наведено в таблиці 3.6.

Таблиця 3.6 – Імунозалежні побічні ефекти в пацієнтів з метастатичним НДКРЛ, стратифікованих за віковими квартилями

Імунозалежні побічні ефекти	Квартиль 1	Квартиль 2	Квартиль 3	Квартиль 4
Свербіж шкіри	0 (0,0%)	1 (3,8%)	0 (0,0%)	1 (3,8%)
Гіпотиреоз	0 (0,0%)	1 (3,8%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Гіпертиреоз	0 (0,0%)	1 (3,8%)	1 (3,8%)	4 (15,4%)
Гепатит	1 (3,7)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (2,0%)

## Продовження таблиці 3.6

Імунозалежні побічні ефекти	Квартиль 1	Квартиль 2	Квартиль 3	Квартиль 4
Пневмоніт	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (3,8%)	1 (6,7%)
Нефрит	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	2 (7,7%)
Коліт	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	2 (7,7%)
Артралгія	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (3,8%)
Міалгія	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (3,8%)	0 (0,0%)
Бульозний пемфігоїд	1 (3,7%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Онїхолізіс	0 (0,0%)	1 (3,8%)	0 (0,0%)	1 (3,8%)
Неврит зорового нерва	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (3,8%)	0 (0,0%)
Висип	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (3,8%)	0 (0,0%)
Асептичний некроз кісток	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (3,8%)	0 (0,0%)
Інфузійна реакція	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	2 (7,7%)
Загальна кількість імунозалежних небажаних явищ будь-якого ступеня тяжкості	2 (7,4%)	4 (15,4%)	6 (23,1)	15 (57,7%)
Кількість імунозалежних небажаних явищ $\geq 3$ ступеня тяжкості	2 (7,4%)	3 (11,5%)	3 (11,5)	1 (3,8%)

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що хоча пацієнти старшого віку отримували подібну користь від терапії ПКТ у плані виживаності та відповіді пухлини, вони значно частіше стикалися з імуноопосередкованими побічними ефектами порівняно з молодшими пацієнтами. Це підкреслює важливість проактивного моніторингу токсичності у цій віковій групі та необхідність віково-орієнтованого підходу до нагляду за токсичністю, але не є підставою для обмеження доступу літніх пацієнтів до ПКТ.

### 3.3. Паління як предиктор ефективності інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на недрібноклітинний рак легень

Для проведення дослідження було залучено 205 хворих на метастатичний НДКРЛ, включаючи 105 пацієнтів, що отримували терапію ПКТ та 100 пацієнтів, для лікування котрих застосовували лише хіміотерапію на основі платини. У групі імунотерапії був 21 (20,0 %) некурець та 84 (80,0 %) курці, включаючи 43 (51,2 %) пацієнти зі стажем паління <28 пачко-років та 41 (48,8 %) пацієнта зі стажем паління  $\geq$ 28 пачко-років. До досліджуваної когорти було включено 16 (15,2 %) пацієнтів жіночої та 89 (84,8 %) чоловічої статі. Було помічено, що у курців зі стажем паління  $\geq$ 28 пачко-років, які застосовували ПКТ частіше зустрічається гіперекспресія PD-L1 ( $p = 0,0001$ ). Крім того, у даній підгрупі у порівнянні із некурцями та тими, хто мав стаж паління <28 пачко-років переважали пацієнти віком 65 років та старше ( $p = 0,0001$ ; табл. 3.7).

Таблиця 3.7 – Пацієнти з метастатичним НДКРЛ групи імунотерапії, стратифіковані за статусом паління

Клініко-патологічні характеристики	Група імунотерапії, n=105			p
	Курці (<28 пачко-років), n=43	Курці ( $\geq$ 28 пачко-років), n=41	Некурці, n=21	
Вік, n (%):				
Середній	60,8	60,9	61,0	0,0001
Інтервал	36–78	34–78	49–74	
< 65	40 (93,0)	19 (46,3)	16 (76,2)	
$\geq$ 65	3 (7,0)	22 (53,7)	5 (23,8)	
Стать, n (%):				
Жінки	7 (16,3)	6 (14,6)	3 (14,3)	1,000
Чоловіки	36 (83,7)	35 (85,4)	18 (85,7)	
Експресія PD-L1, n (%):				
1–49%	42 (97,7)	20 (48,7)	20 (95,2)	0,0001
$\geq$ 50%	1 (2,3)	21 (51,2)	1 (4,8)	
Лікувальний режим, n (%):				
Монотерапія ПКТ	19 (44,2)	11 (26,8)	8 (38,1)	0,2610
ПКТ+хіміотерапія	24 (55,8)	30 (73,2)	13 (61,9)	

До групи хіміотерапії було включено 17 (17,0 %) некурців та 83 (83,0 %) курця, включаючи 43 (51,8 %) пацієнти зі стажем паління <28 пачко-років та 40 (48,2 %) пацієнтів зі стажем паління  $\geq 28$  пачко-років. До досліджуваної когорти було включено 32 (32,0 %) жінки та 68 (68,0 %) чоловіків. Середній вік досліджуваної когорти був 60,5 років (інтервал 40–76). Примітно, що серед некурців, які застосовували хіміотерапію переважали жінки ( $p = 0,0001$ ). Крім того, більшість пацієнтів зі стажем паління  $\geq 28$  пачко-років були віком старше 65 років ( $p = 0,0001$ ; табл. 3.8).

Таблиця 3.8 – Пацієнти з метастатичним НДКРЛ групи хіміотерапії, стратифіковані за статусом паління

Клініко-патологічні характеристики	Група хіміотерапії, n=100			p
	Курці (<28 пачко-років), n=43	Курці ( $\geq 28$ пачко-років), n=40	Некурці, n=17	
Вік, n (%):				
Середній	60,4	60,6	60,5	0,0001
Інтервал	40–76	41–74	45–70	
< 65	41 (95,3)	13 (35,3)	10 (64,7)	
$\geq 65$	2 (4,7)	27 (64,7)	7 (35,3)	
Стать, n (%):				
Жінки	8 (18,6)	10 (25,0)	14 (82,4)	0,0001
Чоловіки	35 (81,4)	30 (75,0)	3 (17,6)	
Лікувальний режим, n (%):				
Хіміотерапія	38 (88,4)	37 (92,5)	15 (88,2)	0,7450
Хіміотерапія + променева терапія	5 (11,6)	3 (7,5)	2 (11,8)	

**Оцінювання виживаності без прогресування у групах імунотерапії та хіміотерапії.** Прогресування захворювання було зареєстровано у 96/105 (91,4 %) пацієнтів групи імунотерапії та 83/100 (83,0 %) пацієнтів групи хіміотерапії. У групі імунотерапії найкраща виживаність без прогресування зареєстрована у курців зі стажем паління  $\geq 28$  пачко-років. Медіани виживаності без прогресування становили 8,1 місяців, 8,5 місяців, 15,3 місяців для некурців,

курців зі стажем паління  $<28$  пачко-років та курців зі стажем паління  $\geq 28$  пачко-років відповідно (Log-rank  $p = 0,0001$ ).

У групі хіміотерапії, навпаки, найкращу ВБП зареєстровано у некурців. Медіани виживаності без прогресування становили 9,8 місяців, 7,0 місяців, 6,6 місяців для некурців, курців зі стажем паління  $<28$  пачко-років та курців зі стажем паління  $\geq 28$  пачко-років відповідно (Log-rank  $p = 0,0002$ ; рис. 3.7).

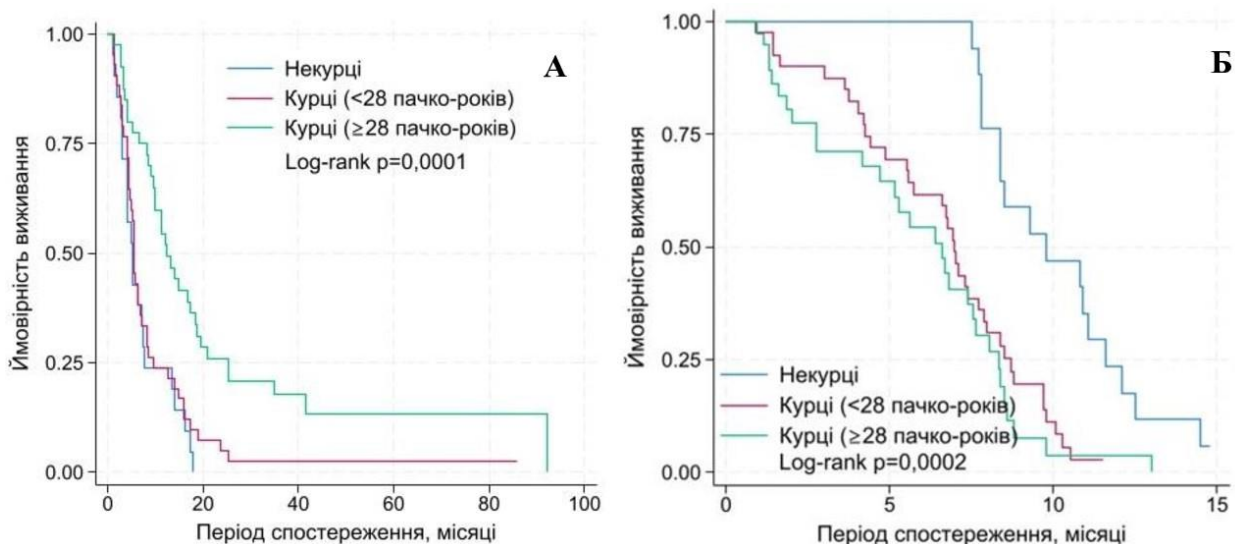


Рисунок 3.7 – Виживаність без прогресування у пацієнтів групи імунотерапії (А) та групи хіміотерапії (Б) у залежності від статусу паління

**Оцінювання загальної виживаності у групах імунотерапії та хіміотерапії.** Смерть внаслідок прогресування метастатичного НДКРЛ або внаслідок інших причин було зареєстровано у 100/105 (95,2 %) пацієнтів групи імунотерапії та 92/100 (92,0 %) пацієнтів групи хіміотерапії. Закономірність, виявлена для виживаності без прогресування також була актуальною для загальної виживаності. У групі імунотерапії найкраща загальна виживаність зареєстрована у курців зі стажем паління  $\geq 28$  пачко-років. Медіани загальної виживаності становили 9,7 місяців, 12,6 місяців, 23,3 місяці для некурців, курців зі стажем паління  $<28$  пачко-років та курців зі стажем паління  $\geq 28$  пачко-років відповідно (Log-rank  $p = 0,0013$ ).

У групі хіміотерапії найкращу загальну виживаність зареєстровано у некурців. Медіани загальної виживаності становили 16,8 місяців, 12,4 місяців,

6,9 місяців для некурців, курців зі стажом паління <28 пачко-років та курців зі стажом паління  $\geq 28$  пачко-років відповідно (Log-rank  $p = 0,0001$ ; рис. 3.8).

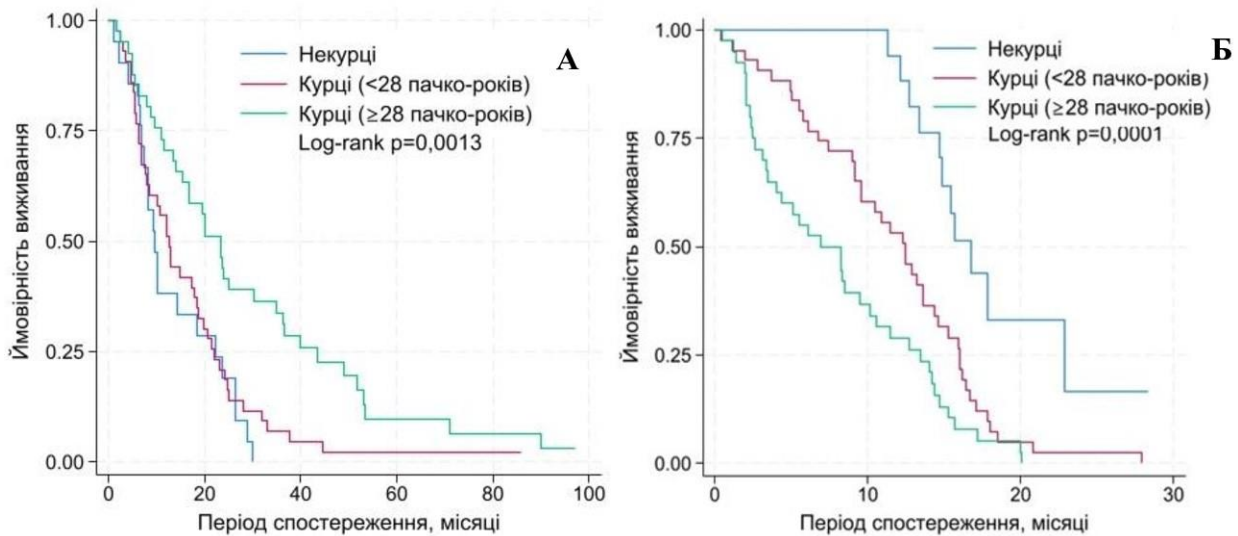


Рисунок 3.8 – Загальна виживаність у пацієнтів групи імунотерапії (А) та групи хіміотерапії (Б) у залежності від статусу паління

**Оцінювання відповіді на лікування.** У групі імунотерапії об'єктивної відповіді на лікування досягли 5 з 21 (23,8 %) некурців, 18 з 43 (41,9 %) курців зі стажом паління <28 пачко-років та 31 з 41 (75,6 %) курців зі стажом  $\geq 28$  пачко-років. Отримані результати свідчать про поступове зростання ефективності імунотерапії зі збільшенням тютюнового стажу, що може бути пов'язано з підвищеним мутаційним навантаженням і більш вираженою імуногенністю пухлин у хронічних курців.

У групі хіміотерапії найвищу частоту об'єктивної відповіді було зафіксовано у некурців – 11 з 17 (64,7 %), тоді як серед курців із меншим стажом (<28 пачко-років) цей показник становив 15 з 43 (34,9 %), а серед пацієнтів зі стажом  $\geq 28$  пачко-років – лише 11 з 40 (27,5 %). Отже, у групі хіміотерапії спостерігається зворотна тенденція, де наявність і тривалість паління, навпаки, асоціюється зі зниженням ефективності лікування.

Ми виявили статистично достовірну різницю в частоті об'єктивної відповіді на лікування між курцями зі стажом  $\geq 28$  пачко-років, які отримували імунотерапію або хіміотерапію (75,6% проти 27,5 %,  $p = 0,0045$ ; рис. 3.9). Це

підкреслює важливість урахування тютюнового анамнезу як потенційного предиктора при виборі оптимальної терапевтичної стратегії.

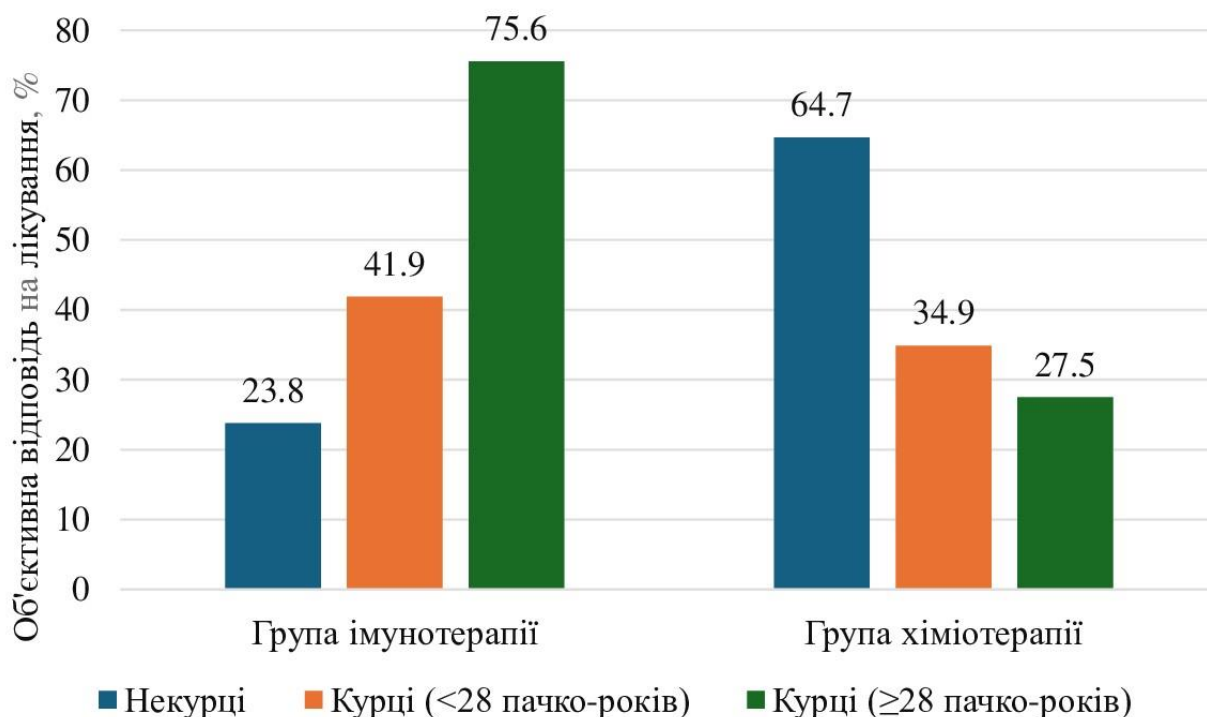


Рисунок 3.9 – Об’єктивна відповідь на лікування в групах імунотерапії та хіміотерапії в залежності від статусу паління хворих на метастатичний НДКРЛ

**Визначення незалежних предикторів виживаності у пацієнтів, що отримували терапію ПКТ.** Ми встановили, що в досліджуваній когорті пацієнтів з метастатичним НДКРЛ значне прогностичне значення мають експресія PD-L1 та статус паління. Пацієнти з гіперекспресією PD-L1 мають кращу виживаність без прогресування (HR = 0,41, 95% ДІ 0,23–0,74,  $p = 0,003$ ) та загальну виживаність (HR = 0,40, 95% ДІ 0,22–0,73,  $p = 0,003$ ).

Історія паління  $\geq 28$  пачко-років має позитивне прогностичне значення. Завзяті курці, що отримують терапію ПКТ мають кращу виживаність без прогресування (HR = 0,88, 95% ДІ 0,62–1,30,  $p = 0,026$ ) та загальну виживаність (HR = 0,63, 95% ДІ 0,36–0,89,  $p = 0,013$ ; табл. 3.9).

Таблиця 3.9 – Визначення незалежних предикторів виживаності у групі пацієнтів з метастатичним НДКРЛ, що отримували лікування ПКТ (n=105)

Змінні	Виживаність без прогресування			Загальна виживаність		
	HR	95% ДІ	p	HR	95% ДІ	p
Вік (<65 проти ≥65 років)	0,99	0,61–1,62	0,992	0,98	0,61–1,58	0,946
Стать (чоловіча проти жіночої)	1,22	0,71–2,11	0,460	1,17	0,67–2,04	0,569
Експресія PD-L1 (1–49 % проти ≥50 %)	0,41	0,23–0,74	0,003	0,40	0,22–0,73	0,003
Лікувальний режим (монотерапія ПКТ проти хіміоімунотерапії)	0,90	0,59–1,38	0,652	1,11	0,73–1,68	0,615
Статус паління: некурці проти курців (<28 пачко-років)	0,74	0,51–1,00	0,056	0,79	0,56–1,09	0,162
некурці проти курців (≥28 пачко-років)	0,88	0,62–1,30	0,026	0,63	0,36–0,89	0,013

Таким чином, у дослідженні встановлено, що серед пацієнтів з метастатичним НДКРЛ, які отримували ПКТ, найкращі показники виживаності спостерігалися у курців зі стажом ≥28 пачко-років. У цієї категорії пацієнтів частіше реєстрували гіперекспресію PD-L1, а також фіксували значно вищу частоту об'єктивної відповіді на лікування. Це дозволяє припустити існування біологічного зв'язку між тривалою тютюновою експозицією та чутливістю до ПКТ. У пацієнтів, які отримували лише хіміотерапію, навпаки, найкращі результати продемонстрували некурці.

Регресійний аналіз підтвердив, що високий рівень експресії PD-L1 та значний стаж паління (≥28 пачко-років) є незалежними предикторами поліпшеної виживаності при застосуванні ПКТ, незалежно від інших клінічних параметрів. Отримані дані свідчать про доцільність обов'язкового врахування статусу паління під час планування імунотерапії та формування персоналізованих схем лікування.

### 3.4. Клінічні наслідки конкурентного використання кортикостероїдів та інгібіторів імунних контрольних точок в онкології

У дослідженні прийняли участь 105 хворих на метастатичний НДКРЛ, серед яких 38 пацієнтів отримували системні кортикостероїди (СКС), 16 пацієнтів отримували інгаляційні кортикостероїди (ІКС) та 51 пацієнт не отримував кортикостероїдів (КС). Клініко-патологічні характеристики пацієнтів представлені у таблиці 3.10.

Таблиця 3.10 – Клініко-патологічні характеристики пацієнтів, стратифіковані за групами терапії кортикостероїдами

Змінні	Без КС, n=51	СКС, n=38	ІКС, n=16	p
Вік, n (%)				
<60	26 (51,0)	11 (28,9)	4 (25,0)	0,035
≥60	25 (49,0)	27 (71,1)	12 (75,0)	
Стать, n (%)				
Чоловіча	43 (84,3)	32 (84,2)	14 (87,5)	0,864
Жіноча	8 (15,7)	6 (15,8)	2 (12,5)	
Гіпертонічна хвороба, n (%)				
Присутня	13 (25,5)	8 (21,1)	1 (6,2)	0,157
Відсутня	38 (74,5)	30 (78,9)	15 (93,8)	
Цукровий діабет, n (%)				
Присутній	4 (7,8)	7 (18,4)	0 (0,0)	0,511
Відсутній	47 (92,2)	31 (81,6)	16 (100,0)	
ХОЗЛ, n (%)				
Присутнє	1 (2,0)	2 (5,3)	15 (93,8)	0,0001
Відсутнє	50 (98,0)	36 (94,7)	1 (6,2)	
Серцево-судинне захворювання, n (%)				
Присутнє	3 (5,9)	10 (26,3)	0 (0,0)	0,080
Відсутнє	48 (94,1)	28 (73,7)	16 (100,0)	

Терапію СКС та ІКС здебільшого отримували пацієнти ≥60 років (p = 0,035). Прийом ІКС був асоційований із наявністю ХОЗЛ (p = 0,0001).

**Клінічні наслідки.** Медіана спостереження за досліджуваною когортою пацієнтів до реєстрації прогресії захворювання становила 7,0 місяців. Пацієнти,

які застосовували СКС мали значно гіршу виживаність без прогресування у порівнянні з тими, хто їх не приймав або застосовував ІКС. Медіани виживаності без прогресування становили 8,6 місяців, 4,1 місяців та 16,8 місяців для пацієнтів, які не отримували КС, приймали СКС та ІКС відповідно (Log-rank  $p = 0,0001$ , рис. 3.10).

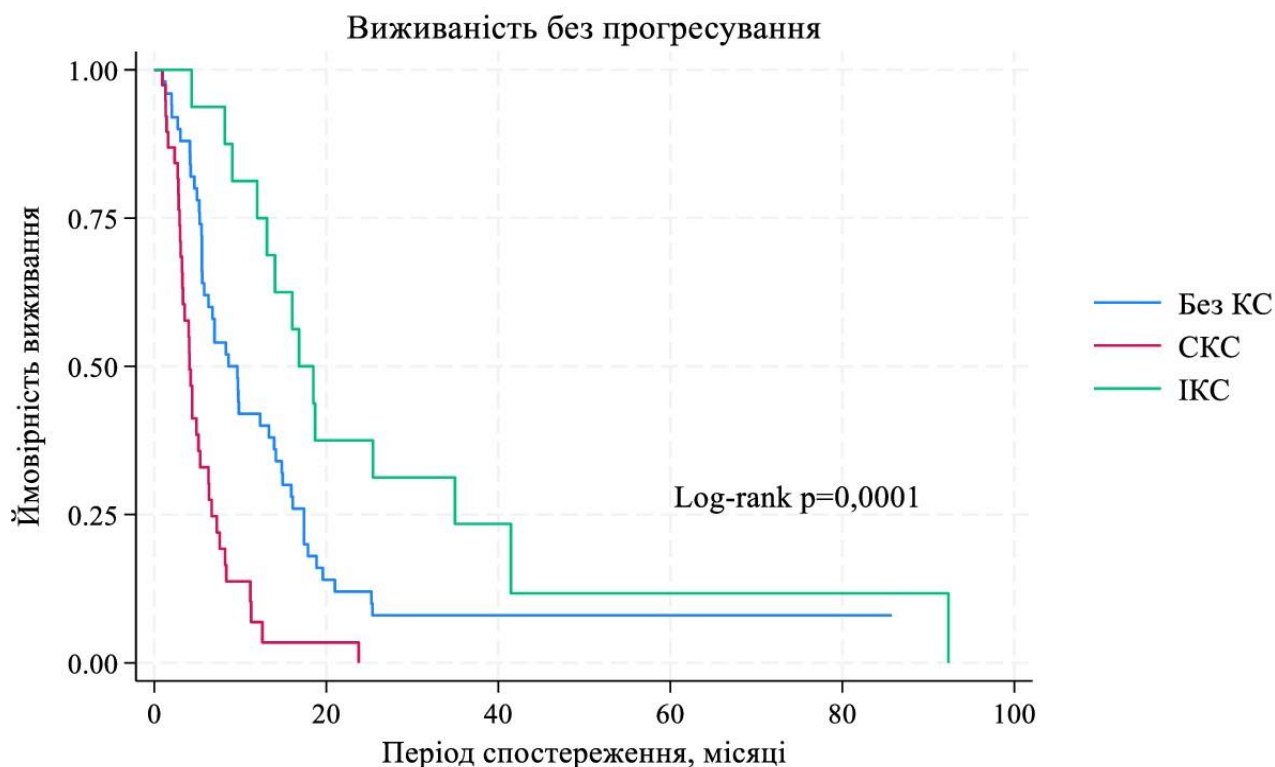


Рисунок 3.10 – Порівняння виживаності без прогресування пацієнтів відповідно до історії застосування кортикостероїдів

Медіана спостереження за досліджуваною когортою пацієнтів до смерті внаслідок прогресії захворювання або інших причин становила 14,8 місяців. Пацієнти, які застосовували СКС мали значно гіршу загальну виживаність у порівнянні з тими, хто їх не приймав або застосовував ІКС. Медіани загальної виживаності становили 20,1 місяців, 6,9 місяців та 35,1 місяців для пацієнтів, які не отримували КС, приймали СКС та ІКС відповідно (Log-rank  $p = 0,0001$ , рис. 3.11).

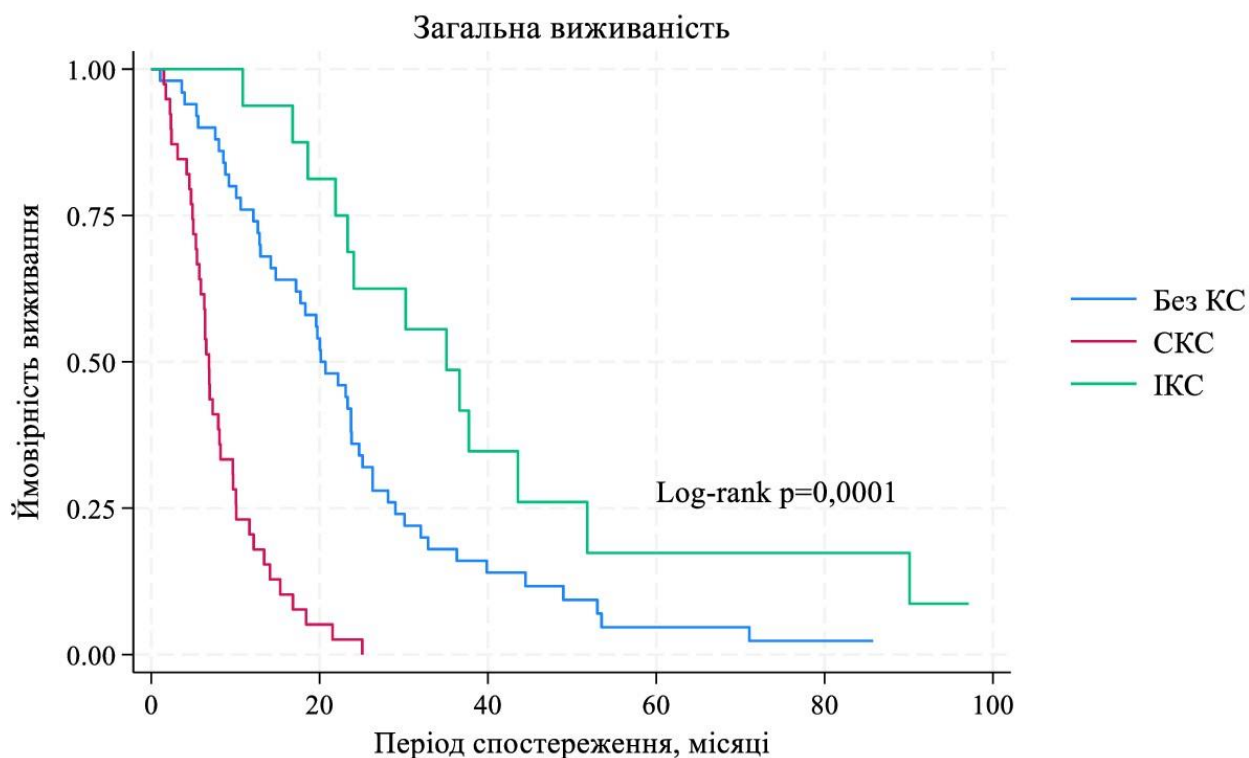


Рисунок 3.11 – Порівняння загальної виживаності пацієнтів відповідно до історії застосування КС

Об'єктивна відповідь на лікування для досліджуваної когорти була 51,4 %, в той час як ступінь контролю над захворюванням – 86,6 %. Була помічена значна різниця за цими показниками у групах. Кращу об'єктивну відповідь на лікування та ступінь контролю над захворюванням демонстрували пацієнти, що використовували ІКС ( $p = 0,0001$  та  $p = 0,012$  відповідно; табл. 3.11, рис. 3.12).

Таблиця 3.11 – Відповідь на терапію ПКТ, стратифікована за історією застосування стероїдів

Відповідь на лікування	Без КС, n (%)	СКС, n (%)	ІКС, n (%)	p
Об'єктивна відповідь на лікування:				
Так (n=54)	31 (60,8)	9 (23,7)	14 (87,5)	0,0001
Ні (n=51)	20 (39,2)	29 (76,3)	2 (12,5)	
Ступінь контролю над захворюванням:				
Так (n=91)	47 (92,2)	28 (73,7)	16 (100,0)	0,012
Ні (n=14)	4 (7,8)	10 (26,3)	0 (0,0)	

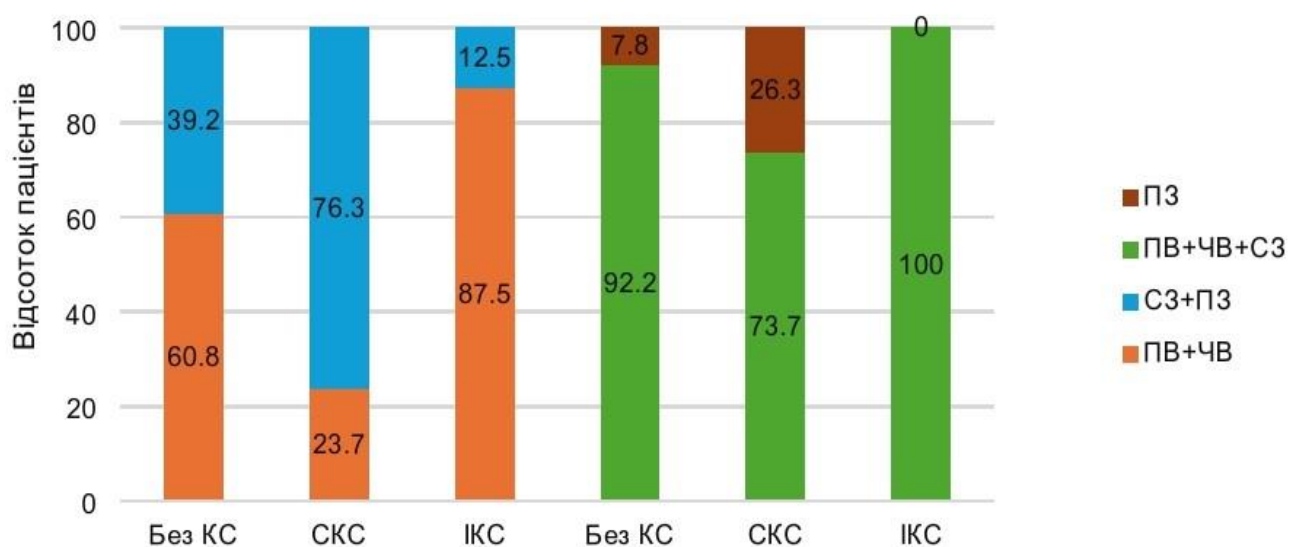


Рисунок 3.12 – Відповідь на лікування відповідно до історії застосування кортикостероїдів, де ПВ – повна відповідь, ЧВ – часткова відповідь, СЗ – стабілізація захворювання, ПЗ – прогресія захворювання

Багатофакторний регресійний аналіз продемонстрував, що використання СКС (HR = 3,94, 95 % ДІ 2,29–6,79,  $p = 0,0001$ ) та ХОЗЛ (HR = 0,15, 95 % ДІ 0,05–0,46,  $p = 0,001$ ) є незалежними прогностичними факторами виживаності без прогресування. Пацієнти, які приймали СКС під час терапії ПКТ та ті, що не мали ХОЗЛ мали гіршу виживаність без прогресування у порівнянні з пацієнтами, що не застосовували СКС та мали ХОЗЛ.

Щодо загальної виживаності, незалежними предикторами виявлено лікування СКС (HR = 6,53; 95% ДІ: 3,62–11,76;  $p = 0,0001$ ), наявність серцево-судинного захворювання (HR = 2,94; 95% ДІ: 1,43–6,04;  $p = 0,003$ ) та ХОЗЛ (HR = 0,17; 95% ДІ: 0,05–0,56;  $p = 0,004$ ). Як видно з отриманих даних, і СКС, і серцево-судинні захворювання є факторами несприятливого прогнозу, тоді як ХОЗЛ, навпаки, асоціюється з покращеною загальною виживаністю. Ці висновки додатково підтверджуються наведеними результатами у табл. 3.12, де чітко простежується взаємозв'язок між вищезазначеними клінічними характеристиками та виживаністю пацієнтів.

Таблиця 3.12 – Визначення незалежних предикторів виживаності без прогресування та загальної виживаності в досліджуваній когорті

Змінні	Виживаність без прогресування			Загальна виживаність		
	HR	95% ДІ	p	HR	95% ДІ	p
Вік (<60 проти ≥60 років)	1,13	0,72–1,78	0,575	1,46	0,92–2,31	0,105
Стать (чоловіча проти жіночої)	1,06	0,60–1,87	0,834	1,10	0,62–1,34	0,738
Гіпертонічна хвороба (відсутня проти присутня)	2,06	1,21–3,53	0,058	2,26	1,32–3,85	0,053
Цукровий діабет (відсутній проти присутній)	0,91	0,43–1,92	0,810	1,16	0,58–2,29	0,669
ХОЗЛ (відсутнє проти присутнє)	0,15	0,05–0,46	0,001	0,17	0,05–0,56	0,004
Серцево-судинне захворювання (відсутнє проти присутнє)	2,01	0,98–4,10	0,054	2,94	1,43–6,04	0,003
Лікування КС (СКС проти без КС)	3,94	2,29–6,79	0,0001	6,53	3,62–11,76	0,0001
Лікування КС (ІКС проти без КС)	2,84	0,91–8,83	0,071	2,48	0,68–9,03	0,167

**Аналіз впливу СКС на ефективність ПКТ.** Серед 38 хворих на метастатичний НДКРЛ, що отримували СКС 17/38 (44,7 %) пацієнтам вони були призначені у зв'язку з розвитком імунозалежних побічних ефектів ≥2 ступеня тяжкості, 21/38 (55,2 %) пацієнтам – для лікування пов'язаних із раком симптомів (втоми, больового синдрому, кахексії, симптоматичних метастазів головного мозку). Вісімнадцять пацієнтів отримували КС тривалої дії (дексаметазон), 20 – середньої тривалості дії (метилпреднізолон та преднізолон). Ми дослідили зв'язок між ефективністю ПКТ та типом стероїдів. Пацієнти, які отримували СКС тривалої дії мали значно гіршу загальну виживаність у порівнянні з тими, хто

отримував СКС середньої тривалості дії. Медіани загальної виживаності становили 9,7 місяці та 4,7 місяців для пацієнтів, що використовували СКС середньої тривалості дії та тривалої дії відповідно (Log-rank  $p = 0,0001$ ). СКС тривалої дії здебільшого призначали для лікування пов'язаних з раком симптомів (85,7 %), СКС середньої тривалості дії – для менеджменту імунозалежних побічних ефектів  $\geq 2$  ступеня тяжкості (100,0 %). Таким чином, можна припустити, що СКС середньої тривалості дії не погіршували виживаність пацієнтів, у яких розвинулися імунозалежні побічні ефекти. СКС тривалої дії, які призначали для контролю симптомів раку, навпаки, знижували ефективність ПКТ та призводили до погіршення загальної виживаності пацієнтів (рис. 3.13).

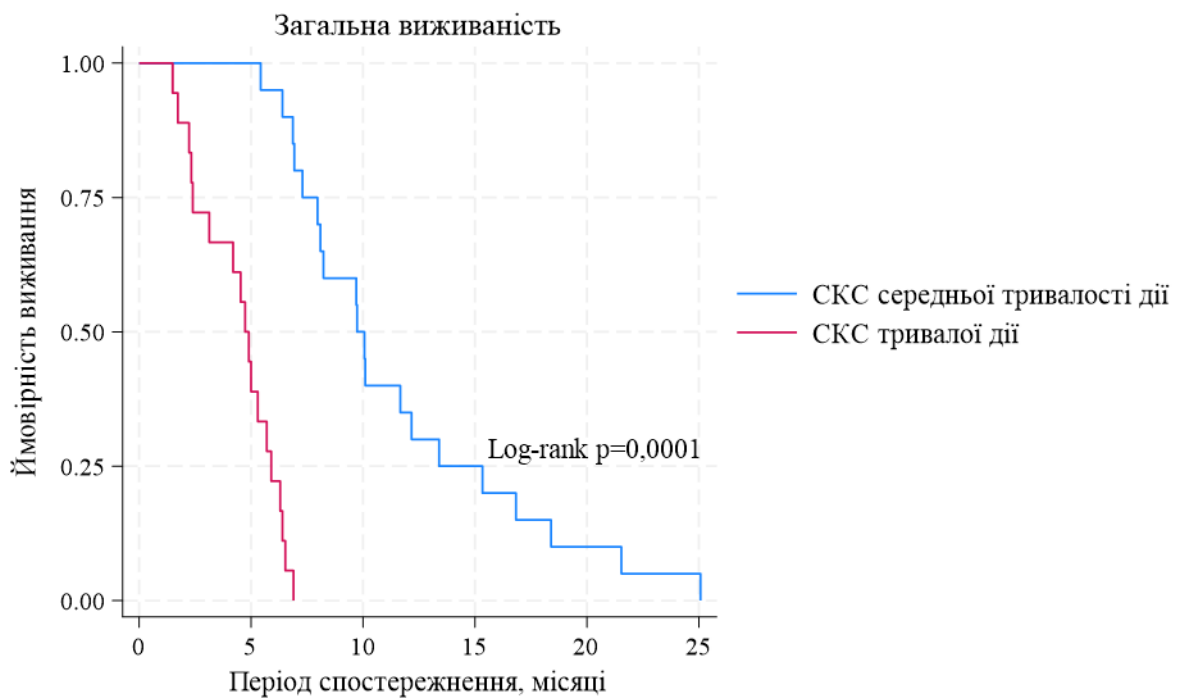


Рисунок 3.13 – Відмінності у загальній виживаності хворих на метастатичний НДКРЛ, що приймали системні кортикостероїди середньої та тривалої дії

Таким чином, супутнє призначення системних кортикостероїдів асоціювалося з гіршими показниками виживаності, тоді як інгаляційні кортикостероїди не мали негативного впливу.

### 3.5. Клінічний аналіз крові для прогнозування ефективності терапії інгібіторами імунних контрольних точок у хворих на недрібноклітинний рак легень

Для проведення дослідження було проаналізовано результати розгорнутого клінічного аналізу крові 105 хворих на метастатичний НДКРЛ, які отримували терапію ПКТ. Більшість пацієнтів досліджуваної когорти отримували першу лінію терапії (77,1 %), що включала ПКТ у комбінації з хіміотерапією (63,8 %). На основі показників лейкоцитів, нейтрофілів, моноцитів, лімфоцитів та тромбоцитів периферичної крові, зібраної перед початком імунотерапії були розраховані індекси запалення SIRI, SII, NLR, LMR, MLR та PLR.

Достатньо специфічними та чутливими індексами запалення визначено SIRI (AUC = 0,5439, 95 % ДІ 0,30544–0,78228), SII (AUC = 0,5380, 95% ДІ 0,28727–0,78876), NLR (AUC = 0,5497, 95% ДІ 0,30643–0,79299) та LMR (AUC = 0,5637, 95% ДІ 0,37821–0,74928). Для PLR та MLR AUC були менше 0,5, що вказувало на їх низьку прогностичну цінність (рис 3.14). Як наслідок, вплив цих індексів запалення на ефективність імунотерапії ми не оцінювали.

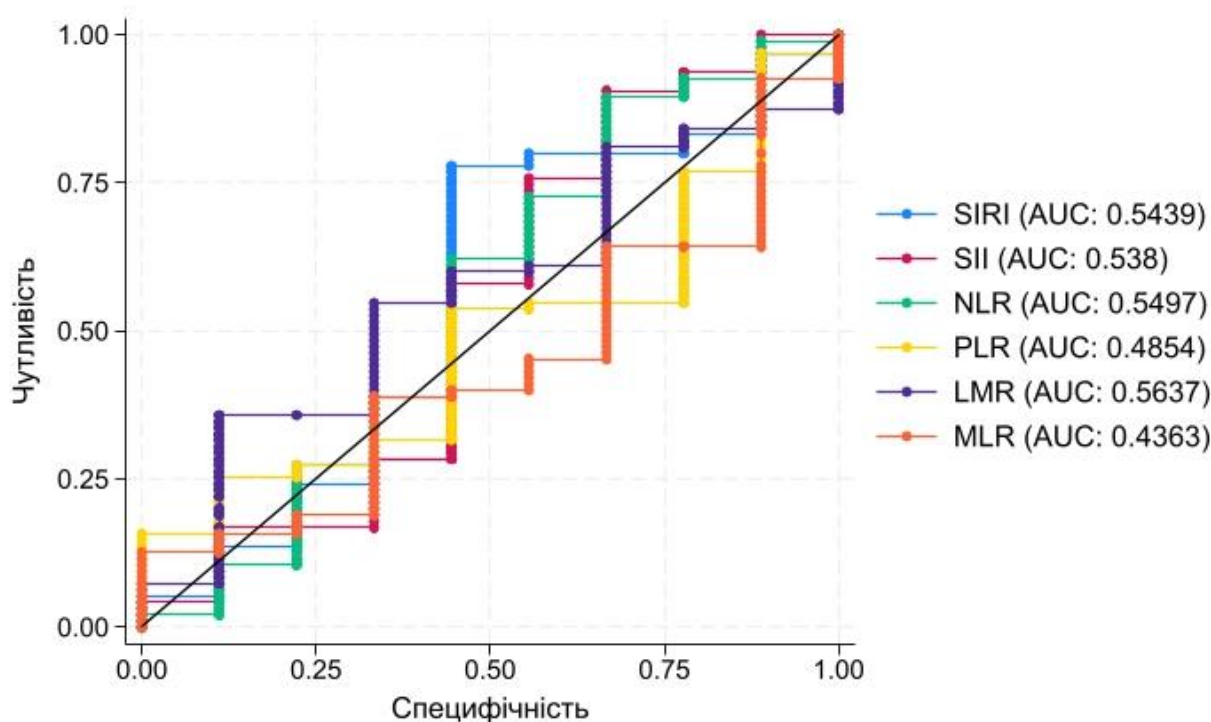


Рисунок 3.14 – Оцінювання специфічності та чутливості SIRI, SII, NLR, PLR, LMR та MLR для прогнозування ефективності ПКТ

Таблиця 3.13 – Клінічні та лабораторні характеристики досліджуваної когорти

Змінні		Загальні кількість пацієнтів, n=105
Стать, n (%)	Жіноча	16 (15,2)
	Чоловіча	89 (84,8)
Імунотерапевтичний режим, n (%)	Монотерапія ПКТ	38 (36,2)
	Хіміотерапія + ПКТ	67 (63,8)
Лінія лікування, n (%)	Перша	81 (77,1)
	Друга	24 (22,9)
SIRI, n (%)	<1,5 (низький)	53 (50,5)
	≥1,5 (високий)	52 (49,5)
SII, n (%)	<926,0 (низький)	57 (54,3)
	≥926,0 (високий)	48 (45,7)
NLR, n (%)	<3,6 (низький)	63 (60,0)
	≥3,6 (високий)	42 (40,0)
LMR, n (%)	<3,3 (низький)	48 (45,7)
	≥3,3 (високий)	57 (54,3)

**Оцінювання впливу індексів запалення на виживаність та ефективність ПКТ.** Ми встановили, що жоден із досліджуваних індексів системного запалення не мав достовірного впливу на виживаність без прогресування у пацієнтів, які отримували ПКТ. Зокрема, виживаність без прогресування пацієнтів з низькими та високими рівнями SIRI, SII та LMR залишалася статистично подібною (Log-rank  $p = 0,7353$ ;  $p = 0,5683$  та  $p = 0,7571$  відповідно), що свідчить про обмежену прогностичну цінність цих показників у даній когорти.

Водночас, у групі з низьким співвідношенням NLR спостерігалася тенденція до кращої виживаності без прогресування. Медіана виживаності без прогресування становила 8,2 місяця у пацієнтів із низьким рівнем NLR порівняно з 5,5 місяцями у пацієнтів із високим NLR. Хоча ця різниця не досягла статистичної значущості (Log-rank  $p = 0,1084$ ), вона може вказувати на

потенційне прогностичне значення NLR як маркера сприятливого перебігу при застосуванні ПКТ. Візуалізацію результатів наведено на рис. 3.15.

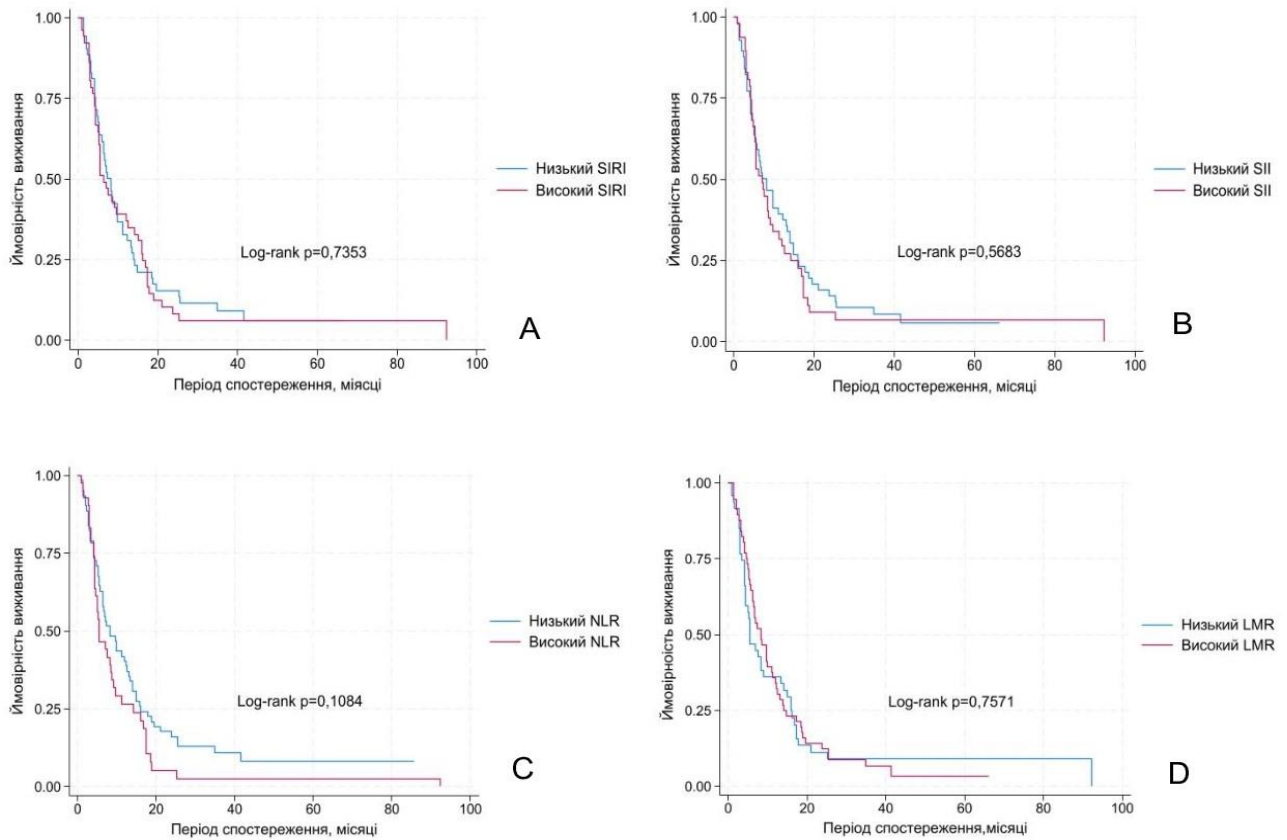


Рисунок 3.15 – Криві виживаності без прогресування у залежності від базових рівнів SIRI (A), SII (B), NLR (C) та LMR (D)

Щодо впливу індексів запалення на загальну виживаність, то нами було виявлено значну різницю в тривалості життя пацієнтів залежно від рівня NLR. Зокрема, медіани загальної виживаності становили 19,7 місяців у пацієнтів з низьким NLR, тоді як у пацієнтів з високим NLR – лише 10,0 місяців. Ця різниця була статистично достовірною (Log-rank  $p = 0,0191$ ), що вказує на те, що підвищене NLR може бути негативним прогностичним маркером загальної виживаності при проведенні імунотерапії.

Ймовірно, це зумовлено тим, що високий рівень нейтрофілів на тлі зниженого лімфоцитарного пулу відображає системне запалення та імуносупресивний стан організму, що негативно впливає на формування ефективної протипухлинної відповіді.

На відміну від NLR, загальна виживаність пацієнтів із низькими та високими значеннями інших індексів, зокрема SIRI, SII та LMR, була статистично порівнянною. Відповідні значення Log-rank  $p$  становили 0,9694; 0,4688 та 0,9490 відповідно, що свідчить про відсутність асоціації між цими маркерами запалення і тривалістю життя в межах дослідженої когорти (рис. 3.16). Таким чином, серед обраних індексів саме NLR може розглядатися як потенційно корисний прогностичний біомаркер у клінічній практиці.

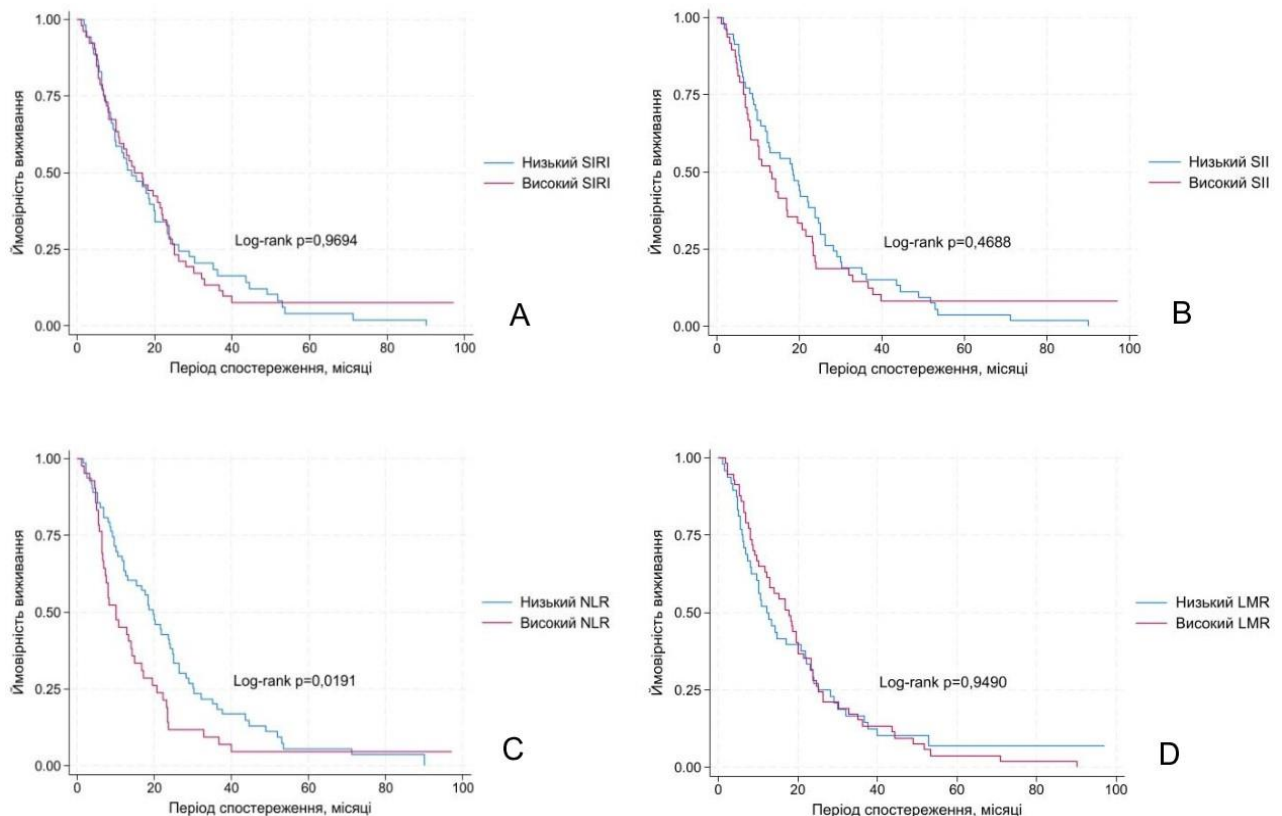


Рисунок 3.16 – Криві загальної виживаності у залежності від базових рівнів SIRI (A), SII (B), NLR (C) та LMR (D)

Об'єктивна відповідь на лікування та ступінь контролю над захворюванням досліджуваної когорти становили 51,4% та 86,6% відповідно. Ми спостерігали значні відмінності у об'єктивній відповіді на лікування (57,1% проти 32,8%,  $p=0,0213$ ) у пацієнтів з низьким та високим NLR. На відміну від об'єктивної відповіді на лікування, не було помічено різниці у ступені контролю над захворюванням (85,7% проти 88,0%,  $p=0,7515$ ). Краща об'єктивна відповідь на

лікування у пацієнтів з низьким NLR дозволяє припустити наявність зв'язку між ефективністю ПКТ, кількістю нейтрофілів та лімфоцитів.

**Визначення незалежних предикторів виживаності.** Багатофакторний регресійний аналіз продемонстрував, що незалежним предиктором загальної виживаності є NLR. Пацієнти з низьким NLR мають кращу загальну виживаність у порівнянні з тими, чий NLR високий (HR=2,33, 95% ДІ 1,17–4,61, p=0,015). Інші клінічні та лабораторні характеристики пацієнтів, включаючи стать, лінію лікування, імунотерапевтичний режим, SIRI, SII та LMR не мали прогностичного значення (табл. 3.14).

Таблиця 3.14 – Модель пропорційних ризиків Кокса для прогнозування виживаності пацієнтів, що приймають ПКТ

Змінні	Вживаність без прогресування			Загальна виживаність		
	HR	95% ДІ	p	HR	95% ДІ	p
Стать (чоловіки проти жінок)	1,30	0,74–2,28	0,358	1,39	0,77–2,51	0,263
Лінія лікування (перша проти другої)	0,75	0,33–1,67	0,483	0,92	0,42–1,98	0,837
Імунотерапевтичний режим (монотерапія ПКТ проти хіміотерапії + ПКТ)	0,80	0,49–1,30	0,380	0,93	0,58–1,50	0,792
SIRI (низький проти високого)	0,97	0,81–2,30	0,929	0,81	0,42–1,56	0,539
SII (низький проти високого)	0,75	0,37–1,52	0,437	0,73	0,35–1,53	0,414
NLR (низький проти високого)	1,80	0,92–3,54	0,085	2,33	1,17–4,61	0,015
LMR (низький проти високого)	1,00	0,57–1,77	0,977	0,99	0,55–1,76	0,981

Отже, низький рівень індексу NLR у хворих на метастатичний НДКРЛ асоціюється з кращою загальною виживаністю та об'єктивною відповіддю на імунотерапію, що підтверджує його прогностичну цінність як незалежного біомаркера ефективності лікування.

### 3.6. Роль сучасних систем оцінки ризику у прогнозуванні ефективності імунотерапії у хворих на недрібноклітинний рак легень

Перед початком дослідження за участі 105 хворих на метастатичний НДКРЛ було зібрано результати клінічних, біохімічних аналізів крові, а також клінічні дані, що включали загальний статус ECOG, демографічні дані, кількість ліній попередніх терапій та дані про зріст та масу тіла пацієнтів для розрахунку ІМТ. Усі пацієнти, що приймали участь у дослідженні були стратифіковані у групи відповідно до систем оцінки ризику (LIPI, ALI, LIPS, PIOS, PNI та LEM) та досягнутої відповіді на лікування. Об'єктивна відповідь на лікування була досягнута у 54 (51,4 %) пацієнтів, ступінь контролю над захворюванням – у 91 (86,6 %). Розподіл пацієнтів у групи представлено в таблиці 3.15.

Таблиця 3.15 – Зв'язок між відповіддю на лікування та системами оцінки ризику LIPI, LEM, PIOS, PNI та ALI

Змінні	Об'єктивна відповідь на лікування		p	Ступінь контролю над захворюванням		p
	Так (n=54)	Ні (n=51)		Так (n=91)	Ні (n=14)	
<b>LIPI:</b>						
0 факторів	30 (55,6)	27 (52,9)	0,965	52 (57,1)	5 (35,7)	0,191
1 фактор	20 (37,0)	20 (39,2)		33 (36,3)	7 (50,0)	
2 фактори	4 (7,4)	4 (7,9)		6 (6,6)	2 (14,3)	
<b>LEM:</b>						
0 факторів	21 (38,9)	11 (21,6)	0,002	31 (34,1)	1 (7,1)	0,000
1 фактор	23 (42,6)	25 (49,0)		42 (46,2)	6 (42,9)	
2 фактори	10 (18,5)	5 (9,8)		14 (15,4)	1 (7,1)	
3 фактори	0 (0,0)	10 (19,6)		4 (4,3)	6 (42,9)	
<b>PIOS:</b>						
<0,4 (низький)	25 (46,3)	29 (56,9)	0,279	47 (51,6)	7 (50,0)	1,000
≥0,4 (високий)	29 (53,7)	22 (43,1)		44 (48,4)	7 (50,0)	
<b>PNI:</b>						
≥44 (високий)	28 (51,9)	27 (52,9)	0,911	47 (51,6)	8 (57,1)	0,779
<44 (низький)	26 (48,1)	24 (47,1)		44 (48,4)	6 (42,9)	
<b>ALI:</b>						
≥419 (високий)	27 (50,0)	23 (45,1)	0,615	44 (48,4)	6 (42,9)	0,779
<419 (низький)	27 (50,0)	28 (54,9)		47 (51,6)	8 (57,1)	

Пацієнти із 3 факторами ризику LEM значно рідше досягали об'єктивної відповіді на лікування ( $p = 0,002$ ) та ступені контролю над захворюванням ( $p = 0,0001$ ). Відповідь на лікування у пацієнтів без факторів ризику LEM, 1 або 2 факторами ризику була порівняною. За прогностичною спроможністю системи оцінки ризику LIPI, ALI, LIPS, PIOS та PNI були однорідними. Серед досліджених систем оцінки ризику прогностичне значення мала лише LEM, яка включала усі 3 фактори ризику ( $\text{АЧЛ} < 1,5 \times 10^9/\text{л}$ ,  $\text{ECOG} \geq 2$  та наявність метастазів у легенях та/або плеврі).

**Вплив системи оцінки ризику LEM на виживаність.** Ми встановили, що відповідно до системи оцінки ризику LEM найгіршу виживаність без прогресування мали пацієнти з 3 факторами ризику. Медіани виживаності без прогресування становили 11,1, 8,3, 5,5 та 3,0 місяці у пацієнтів без факторів ризику, 1, 2 та 3 факторами ризику відповідно (Log-rank  $p = 0,001$ , рис. 3.17).

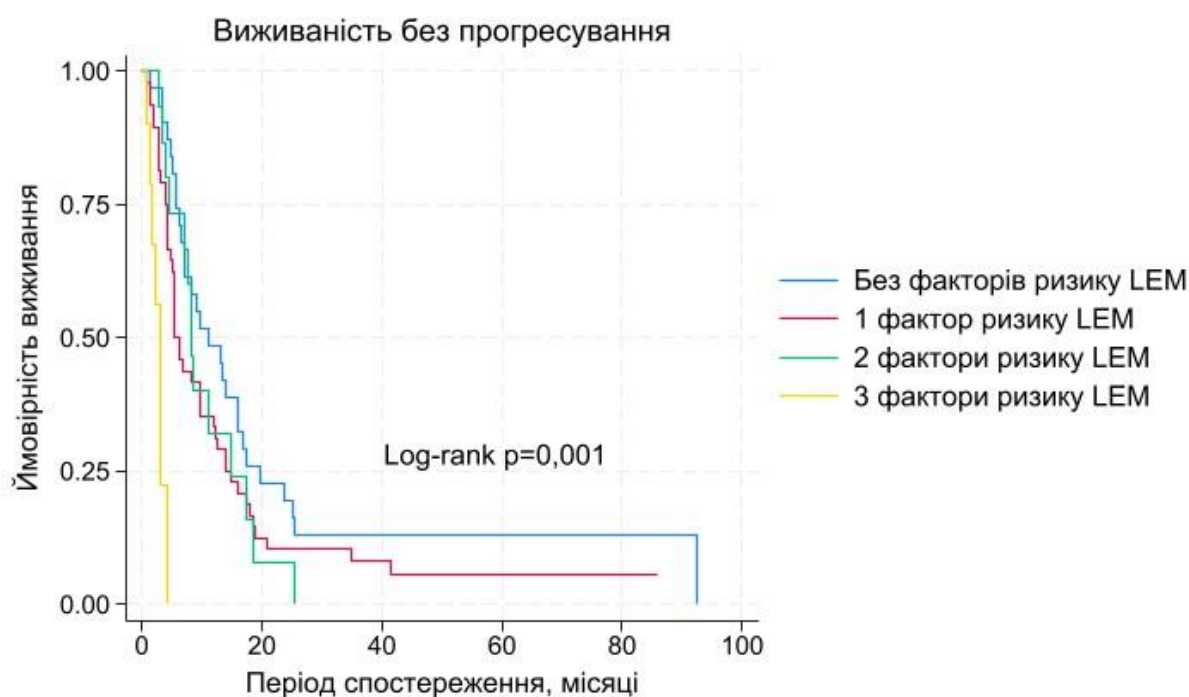


Рисунок 3.17 – Виживаність без прогресування відповідно до кількості факторів ризику за системою оцінки ризику LEM

Аналогічні результати були отриманні при вивченні загальної виживаності відповідно до кількості факторів ризику за системою оцінки ризику LEM.

Найгіршу загальну виживаність мали пацієнти з 3 факторами ризику. Медіани виживаності без прогресування становили 18,6, 18,4, 10,1 та 4,2 місяці у пацієнтів без факторів ризику, 1, 2 та 3 факторами ризику відповідно (Log-rank  $p = 0,0001$ , рис. 3.18).

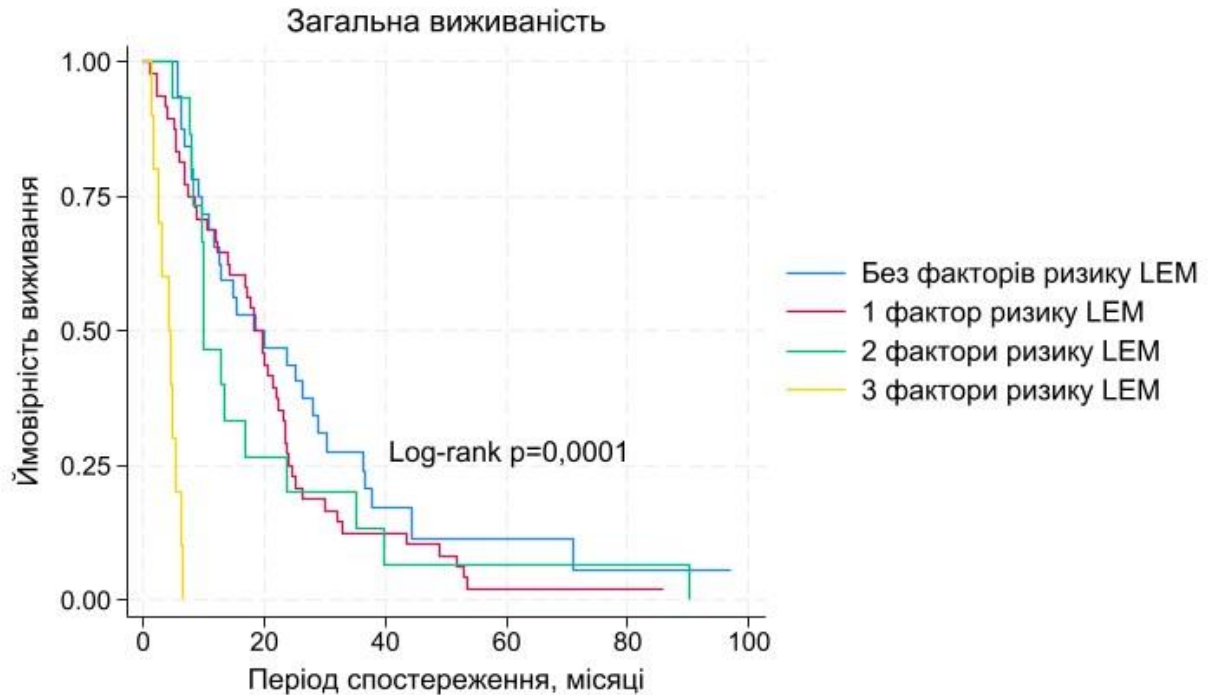


Рисунок 3.18 – Загальна виживаність відповідно до кількості факторів ризику за системою оцінки ризику LEM

**Незалежні предиктори виживаності.** Модель прогностичних ризиків Кокса продемонструвала, що серед усіх досліджуваних систем оцінки ризику лише система LEM виявила достовірне прогностичне значення для виживаності пацієнтів, які отримували імунотерапію. Зокрема, у пацієнтів, які мали три фактори ризику неефективності ПКТ за шкалою LEM, відзначалося істотне погіршення як виживаності без прогресування (HR = 1,59; 95% ДІ: 1,22–2,08;  $p = 0,001$ ), так і загальної виживаності (HR = 1,81; 95% ДІ: 1,38–2,39;  $p = 0,0001$ ) порівняно з пацієнтами, які мали 0, 1 або 2 фактори ризику.

Накопичення несприятливих ознак у межах системи LEM дозволяє ефективно стратифікувати пацієнтів за прогнозом і визначити групу підвищеного ризику, що потребує більш ретельного клінічного моніторингу або

альтернативних терапевтичних підходів. Залежність між кількістю факторів ризику та виживаністю була чітко вираженою, що свідчить про адитивний ефект елементів моделі на клінічні результати. Детальні характеристики прогнозу за групами ризику наведено у табл. 3.16.

Таблиця 3.16 – Прогностичне значення систем оцінки ризику LIPI, LEM, PIOS, PNI та ALI

Змінні	Вживаність без прогресування			Загальна виживаність		
	HR	95% ДІ	p	HR	95% ДІ	p
LIPI (0 факторів проти 1 проти 2)	1,08	0,75–1,55	0,645	1,23	0,88–1,73	0,222
LEM (0 факторів проти 1 проти 2 проти 3)	1,59	1,22–2,08	0,001	1,81	1,38–2,39	0,0001
PIOS (низький проти високого)	0,94	0,62–1,43	0,788	0,76	0,49–1,15	0,203
PNI (високий проти низького)	1,02	0,66–1,57	0,904	0,80	0,52–1,22	0,303
ALI (низький проти високого)	0,87	0,53–1,43	0,596	0,85	0,54–1,36	0,519

Таким чином, система оцінки ризику LEM може бути корисною у відборі хворих на метастатичний НДКРЛ, що отримують більше користі від терапії ПКТ. Пацієнти, що мають 3 фактори ризику відповідно до системи оцінки ризику LEM значно рідше досягають об'єктивної відповіді на лікування, ступеня контролю над захворюванням та мають гіршу виживаність виживаність.

### **3.7. Радіологічна щільність підшкірної жирової клітковини як предиктор ефективності інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на недрібноклітинний рак легень**

Було проведено ретроспективне когортне дослідження, до якого включено 92 пацієнти з метастатичним НДКРЛ, які отримували терапію ПКТ. Пацієнти були стратифіковані на чотири рівні кватилі відповідно до значень радіологічної щільності ПЖК (табл. 3.17).

Таблиця 3.17 – Характеристики пацієнтів, стратифікованих за квантилями радіологічної щільності ПЖК

Змінні	Радіологічна щільність ПЖК				p (тест)
	Квантиль 1, n=23	Квантиль 2, n=23	Квантиль 3, n=23	Квантиль 4, n=23	
Стать, n (%)					
Чоловіча	18 (78,3)	19 (82,6)	20 (87,0)	21 (91,3)	0,768†
Жіноча	5 (21,7)	4 (17,4)	3 (13,0)	2 (8,7)	
Вік, n (%)					
<60 років	10 (56,5)	9 (39,1)	9 (39,1)	7 (30,4)	0,831 ( $\chi^2$ )
≥60 років	13 (43,5)	14 (60,9)	14 (60,9)	16 (69,6)	
Гістологічний тип, n (%)					
Аденокарцинома	10 (43,5)	15 (65,2)	14 (60,9)	11 (47,8)	0,395 ( $\chi^2$ )
Плоскаклітинний рак	13 (56,5)	8 (34,8)	9 (39,1)	12 (52,2)	
Куріння, n (%)					
Ніколи не палили	8 (34,8)	6 (26,1)	6 (26,1)	21 (91,3)	0,176†
Поточні або колишні курці	15 (65,2)	17 (73,9)	17 (73,9)	2 (8,7)	
Експресія PD-L1, n (%)					
1–49 %	16 (69,6)	16 (69,6)	19 (82,6)	18 (78,3)	0,710†
≥50 %	7 (30,4)	7 (30,4)	4 (17,4)	5 (21,7)	
Імунотерапевтичний режим, n (%)					
Монотерапія ПКТ	6 (26,1)	8 (34,8)	11 (47,8)	8 (34,8)	0,492 ( $\chi^2$ )
Хіміоімунотерапія	17 (73,9)	15 (65,2)	12 (52,2)	15 (65,2)	
Індекс коморбідності Чарлсона, n (%)					
0	2 (8,7)	0 (0,0)	2 (8,7)	1 (4,4)	0,786†
1	7 (30,4)	6 (26,1)	4 (17,4)	3 (13,0)	
2	10 (43,5)	10 (43,5)	12 (52,2)	13 (56,5)	
≥3	4 (17,4)	7 (30,4)	5 (21,7)	6 (26,1)	
ІМТ, n (%)					
Недостатня маса тіла	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	5 (21,7)	0,007†
Нормальна маса тіла	7 (30,4)	9 (39,1)	13 (56,5)	14 (60,9)	
Надлишкова маса тіла	10 (43,5)	9 (39,1)	6 (26,1)	3 (13,0)	
Ожиріння	6 (26,1)	5 (21,8)	4 (17,4)	1 (4,4)	

У всіх квартилях переважали чоловіки: від 78,3 % у Q1 до 91,3 % у Q4, статистично значущих відмінностей не виявлено ( $p = 0,768$ ). Розподіл за віком також був подібним: частка пацієнтів віком  $\geq 60$  років зростала від 43,5 % у Q1 до 69,6 % у Q4 ( $p = 0,831$ ).

Гістологічний варіант пухлини ( $p = 0,395$ ), статус паління ( $p = 0,176$ ) і експресія PD-L1 ( $p = 0,710$ ) не відрізнялися між квартилями. Проте у квартилі з найвищою щільністю ПЖК (Q4) спостерігалася більша частка курців (91,3 %), що може свідчити про можливу, хоча й статистично не підтвержену, асоціацію. Режим імунотерапії (монотерапія ПКТ або хіміоімунотерапія) також не мав суттєвого зв'язку з радіологічною щільністю ПЖК ( $p = 0,492$ ).

Індекс коморбідності Чарлсона був подібним у всіх квартилях ( $p = 0,786$ ); найпоширенішим значенням був індекс 2 (43,5–56,5 %). На відміну від цього, ІМТ мав статистично значущого зв'язку із щільністю ПЖК ( $p = 0,007$ ). У квартилі Q1 (найнижча щільність ПЖК) не було пацієнтів із недостатньою вагою; переважали особи з надмірною вагою (43,5 %) та ожирінням (26,1 %).

У квартилі Q4 (найвища щільність ПЖК) 21,7 % пацієнтів мали недостатню вагу, а лише 4,4 % – ожиріння. Така обернена залежність між радіологічною щільністю ПЖК та ІМТ може свідчити про більш виражену метаболічну декомпенсацію або наявність кахексії у пацієнтів із вищою щільністю ПЖК.

**Радіологічна щільність ПЖК та аналіз виживаності.** Найкращу загальну виживаність спостерігали у пацієнтів другого квартиля, що характеризувався проміжними значеннями радіологічної щільності ПЖК. Медіана загальної виживаності в квартилях Q1, Q2, Q3 та Q4 становила 13,4; 26,3; 18,4 та 14,2 місяця відповідно (Log-rank  $p = 0,0226$ ; рис. 3.19).

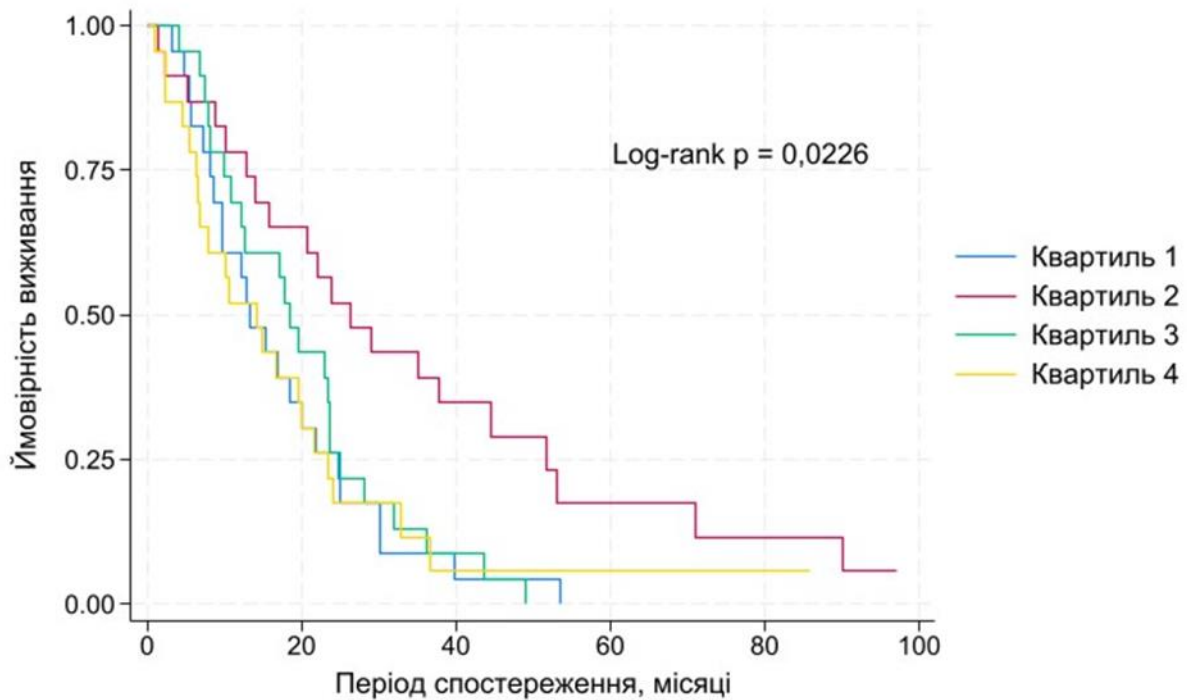


Рисунок 3.19 – Загальна виживаність хворих на метастатичний НДКРЛ за квантилями радіологічної щільності ПЖК

Далі було проаналізовано зв'язок між радіологічною щільністю ПЖК і загальною смертністю за допомогою регресійних моделей пропорційних ризиків Кокса. Пацієнтів стратифікували за квантилями щільності ПЖК, використовуючи Q1 як референтну категорію. Було побудовано три моделі з поетапним включенням коваріат. У всіх трьох моделях другий квантиль (Q2) був достовірно пов'язаний зі зниженим ризиком смертності порівняно з Q1: модель 1 (HR = 0,42; 95 % ДІ: 0,22–0,78;  $p = 0,007$ ), модель 2 (HR = 0,32; 95 % ДІ: 0,15–0,64;  $p = 0,002$ ), модель 3 (HR = 0,32; 95 % ДІ: 0,15–0,64;  $p = 0,002$ ).

Ці результати свідчать про суттєве зниження ризику смертності у пацієнтів із помірно зниженою щільністю ПЖК порівняно з тими, у кого цей показник був найнижчим. Ефект був стабільним у всіх трьох моделях, незалежно від ступеня врахування коваріат.

Найнижчий ризик смертності виявлено в Q2, після чого у Q3 і Q4 спостерігалось повернення до рівня, близького до референтного, що свідчить про можливу нелінійну або U-подібну залежність між щільністю ПЖК і смертністю

при НДКРЛ. Така U-подібна асоціація може відображати оптимальний метаболічний баланс у пацієнтів із помірною щільністю ПЖК, тоді як як надто низькі, так і високі значення можуть бути пов'язані з кахексією або резистентністю до терапії. Цю гіпотезу було підтверджено за допомогою моделі обмежених кубічних сплайнів, яка виявила статистично значущу нелінійну залежність і відсутність лінійного тренду.

Значення  $p$  для тренду в трьох моделях становили 0,481, 0,523 і 0,712 відповідно – жодне з яких не було статистично значущим, що свідчить про відсутність поступової залежності між ПЖК і ризиком смерті. Інакше кажучи, підвищення щільності ПЖК не супроводжувалося прогресивним зниженням ризику смерті (табл. 3.18).

Таблиця 3.18 – Регресійний аналіз Кокса для вивчення зв'язку між радіологічною щільністю ПЖК і смертністю, пов'язаною з метастатичним НДКРЛ

Модель	Радіологічна щільність ПЖК	HR	95% ДІ	Значення $p$	$p$ для тренду
Модель 1	Q1	Референтна	–	–	0,481
	Q2	0,42	0,22–0,78	0,007	
	Q3	0,86	0,48–1,54	0,625	
	Q4	0,96	0,53–1,75	0,914	
Модель 2	Q1	Референтна	–	–	0,523
	Q2	0,32	0,15–0,64	0,002	
	Q3	0,73	0,39–1,36	0,333	
	Q4	0,80	0,41–1,55	0,514	
Модель 3	Q1	Референтна	–	–	0,712
	Q2	0,32	0,15–0,64	0,002	
	Q3	0,73	0,39–1,36	0,329	
	Q4	0,77	0,37–1,61	0,500	

Примітки: Модель 1 не була скоригована.

Модель 2 була скоригована за віком, статтю, гістологічними типами, статусом паління, експресією рецепторів PD-L, імунотерапевтичним режимом та індексом коморбідності Чарлсона.

Модель 3 була скоригована за усіма коваріатами Моделі 2 + ІМТ.

Метод бутстреп-ресемплінгу з 1000 ітерацій підтвердив стабільність результатів: у Q2 зберігалася достовірною асоціація зі зниженням ризику смерті порівняно з Q1 (HR = 0,32; 95 % ДІ: 0,13–0,79;  $p = 0,013$ ), що підтримує надійність отриманих висновків (табл. 3.19).

Таблиця 3.19 – Регресійний аналіз Кокса щодо зв'язку між квантилями радіологічної щільності ПЖК та загальною виживаністю, стратифікований за рівнем експресії PD-L1

Квантилі	HR (95% ДІ)	Значення p
PD-L1 1–49% (n = 69)		
Q1 (референтна)	1,00	-
Q2	0,362 (0,106–1,238)	0,106
Q3	0,710 (0,256–1,968)	0,511
Q4	0,685 (0,188–2,492)	0,566
PD-L1 $\geq 50\%$ (n = 23)		
Q1 (референтна)	1,00	-
Q2	0,024 (0,001–0,291)	0,003
Q3	0,121 (0,013–1,118)	0,063
Q4	0,229 (0,023–2,239)	0,205

Примітки: Моделі були стратифіковані за статусом експресії PD-L1.

У всіх моделях квантиль Q1 використовувався як референтна категорія.

Усі моделі були скориговані з урахуванням віку, статі, гістологічного типу пухлини, статусу куріння, режиму імунотерапії, індексу коморбідності Чарлсона та ІМТ.

Величини відношення ризиків (HR) та 95% довірчі інтервали (ДІ) були розраховані методом бутстреп-ресемплінгу (1 000 ітерацій)

Аналіз радіологічної щільності ПЖК як неперервної змінної не виявив статистично значущого зв'язку з ризиком смерті в жодній із трьох моделей (модель 1: HR = 1,00; 95 % ДІ: 0,99–1,01;  $p = 0,828$ ; модель 2: HR = 1,00; 95 % ДІ: 0,98–1,01;  $p = 0,911$ ; модель 3: HR = 0,99; 95 % ДІ: 0,98–1,01;  $p = 0,738$ ). Це свідчить, що аналіз щільності ПЖК за квантилями є більш інформативним підходом.

**Аналіз з використанням обмежених кубічних сплайнів.** Для візуалізації зв'язку між щільністю ПЖК та відношенням ризиків у пацієнтів із

метастатичним НДКРЛ було побудовано графік обмеженого кубічного сплайну. Сплайни були сформовані на основі коефіцієнтів ризику, розрахованих за моделлю 3, яка була скоригована за віком, статтю, гістологічним типом пухлини, статусом куріння, експресією PD-L1, режимом імунотерапії, індексом коморбідності Чарлсона та ІМТ.

Для оцінки того, чи забезпечує повна модель на основі сплайнів кращу відповідність даним порівняно зі спрощеною лінійною моделлю, було проведено тест відношення правдоподібності (likelihood ratio test). Результати показали, що модель на основі сплайнів значно краще описує варіацію даних, ніж лінійна модель:  $LR \chi^2 = 21,84$ ;  $p = 0,0094$  (рис. 3.20).

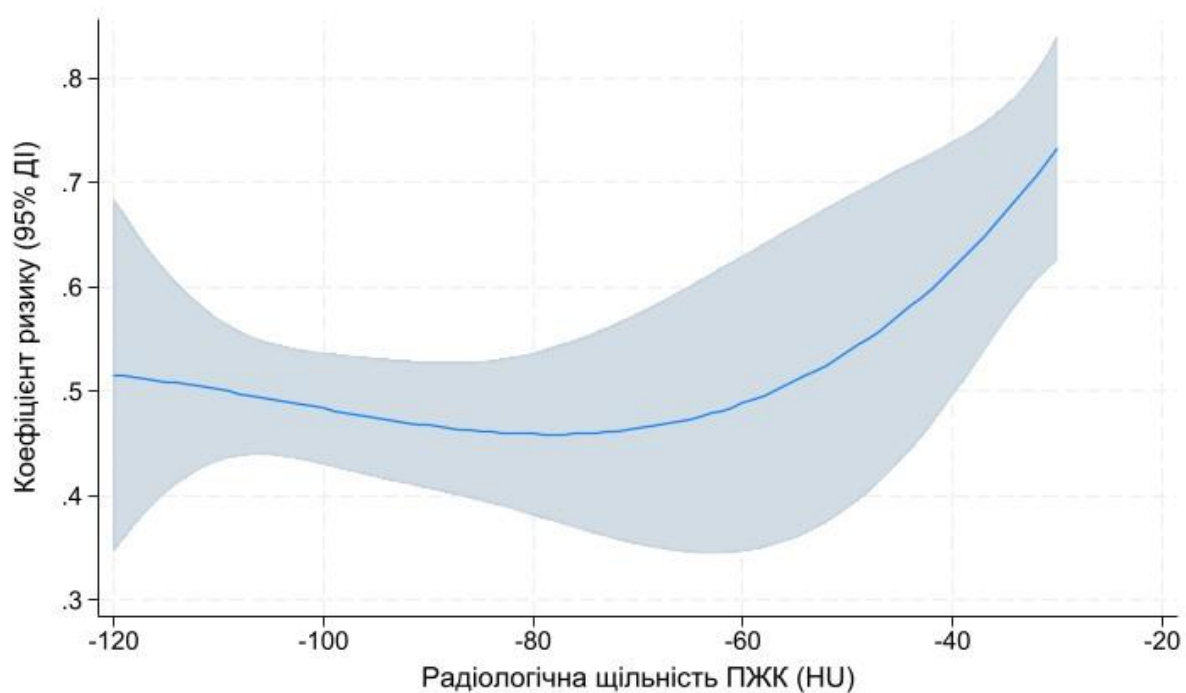


Рисунок 3.20 – Графік обмеженого кубічного сплайну, який демонструє нелінійний зв'язок між радіологічною щільністю ПЖК та ризиком смерті, специфічної для метастатичного НДКРЛ. Суцільна синя лінія вказує на коефіцієнт ризику, поле навколо суцільної лінії – 95% ДІ.

**Підгруповий аналіз.** Аналіз підгруп показав, що більшість клінічних параметрів, включаючи стать, вік, гістологічний тип пухлини, статус куріння, режим імунотерапії, індекс коморбідності Чарлсона та ІМТ, не були достовірно

пов'язані з ризиком смертності (усі  $p > 0,05$ ). Єдиним параметром із статистично значущим впливом виявилася експресія PD-L1. Пацієнти з рівнем PD-L1 у межах 1–49% мали достовірно вищий ризик смерті (HR = 2,793; 95% ДІ: 1,608–4,850;  $p < 0,0001$ ). Натомість у пацієнтів з PD-L1  $\geq 50\%$  спостерігався захисний ефект (HR = 0,350; 95 % ДІ: 0,201–0,609;  $p < 0,0001$ ).

Для глибшого розуміння ролі ПЖК були побудовані моделі взаємодії, які оцінювали зв'язок між щільністю ПЖК та різними клініко-патологічними характеристиками. Серед усіх протестованих взаємодій лише взаємодія між експресією PD-L1 та щільністю ПЖК досягла статистичної значущості (HR = 1,010; 95 % ДІ: 1,005–1,016;  $p < 0,0001$ ). Це свідчить про те, що щільність ПЖК може модулювати прогностичний ефект PD-L1 щодо виживаності. Інші моделі взаємодії, що включали щільність ПЖК, зокрема за віком, статтю, режимом імунотерапії, індексом коморбідності Чарлсона та ІМТ, не мали статистичної значущості (табл. 3.20).

Таблиця 3.20 – Підгруповий аналіз зв'язку між щільністю ПЖК та смертністю, пов'язаною з метастатичним НДКРЛ, залежно від клінічних параметрів

Клініко-патологічні характеристики	HR	95 % ДІ	Значення p	p для взаємодії
Стать:				
Жіноча	0,809	0,352–1,858	0,617	0,793
Чоловіча	1,301	0,592–2,861	0,513	
Вік:				
<60	1,293	0,753–2,221	0,351	0,565
$\geq 60$	1,269	0,672–2,393	0,463	
Гістологічний тип:				
Аденокарцинома	0,859	0,532–1,388	0,536	0,863
Плоскоклітинна карцинома	1,150	0,712–1,858	0,567	
Статус паління:				
Поточні або колишні курці	0,747	0,372–1,500	0,413	0,403
Некурці	1,444	0,717–2,908	0,304	

## Продовження таблиці 3.20

Клініко-патологічні характеристики	HR	95 % ДІ	Значення p	p для взаємодії
Імунотерапевтичний режим:				
Монотерапія ПКТ	0,904	0,565–1,446	0,674	0,553
Хіміоімунотерапія	1,130	0,722–1,770	0,593	
Експресія PD-L1:				
1–49%	2,793	1,608–4,850	<0,0001	<0,0001
≥50%	0,350	0,201–0,609	<0,0001	
Індекс коморбідності Чарлсона:				
0	1,179	0,400–3,476	0,765	0,798
1	0,723	0,351–1,488	0,378	
2	1,238	0,759–2,018	0,392	
≥3	0,882	0,487–1,598	0,679	
ІМТ:				
Недостатня маса тіла	0,877	0,297–2,586	0,812	0,716
Нормальна маса тіла	1,116	0,658–1,891	0,684	
Надлишкова маса тіла	1,044	0,622–1,752	0,871	
Ожиріння	0,808	0,410–1,591	0,537	

У стратифікованому аналізі виживаності за методом Каплана–Майєра, проведеному з урахуванням рівня експресії PD-L1, достовірних відмінностей загальної виживаності між кuartилями щільності ПЖК у пацієнтів із рівнем експресії PD-L1 (1–49%) виявлено не було (Log-rank  $p = 0,2664$ ). Хоча статистична значущість не досягнута, у цій підгрупі знову простежувалася найсприятливіша тенденція у другому кuartилі щільності (Q2) (рис. 3.21).

Натомість у пацієнтів із гіперекспресією PD-L1 ( $\geq 50\%$ ) було зафіксовано достовірний зв'язок між щільністю ПЖК та загальною виживаністю (Log-rank  $p = 0,0214$ ). У цій підгрупі також найкращі показники загальної виживаності були відзначені в другому кuartилі щільності ПЖК, що може вказувати на наявність «оптимального інтервалу» щільності жирової тканини, за якого метаболічний

стан пацієнта є найбільш сприятливим для відповіді на ПКТ (рис. 3.22).

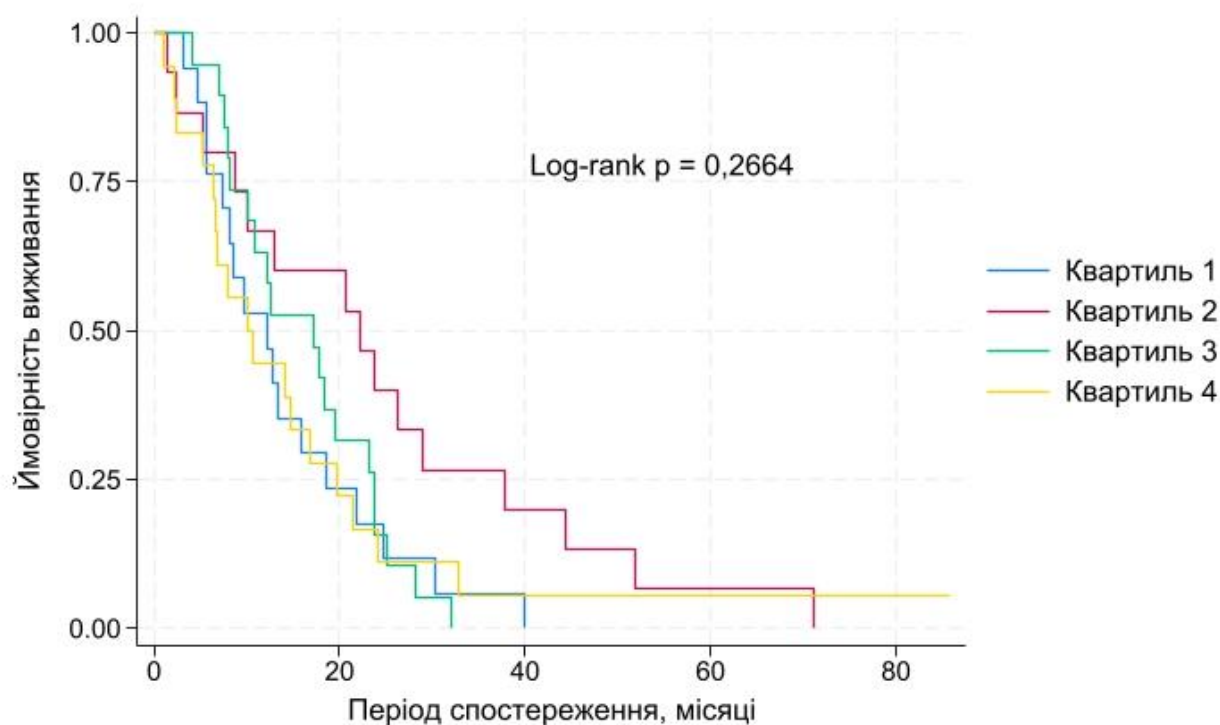


Рисунок 3.21 – Загальна виживаність за квантилями радіоцільності ПЖК у пацієнтів з рівнем експресії PD-L1 1–49%

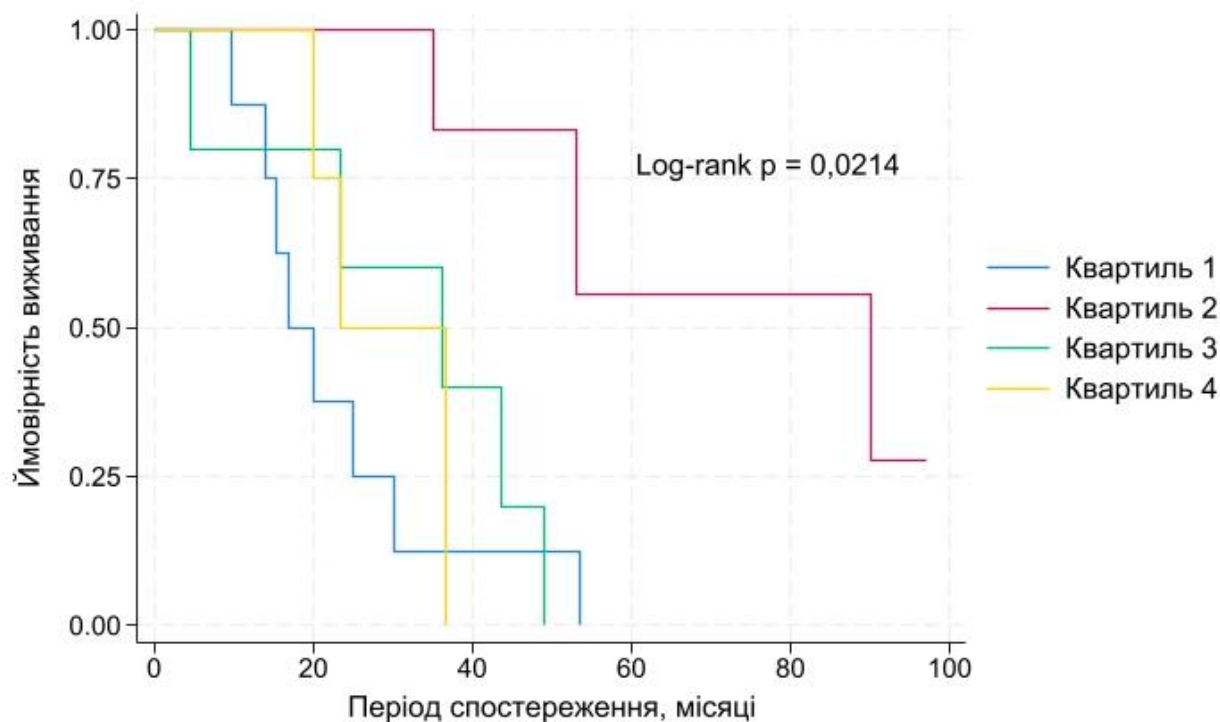


Рисунок 3.22 – Загальна виживаність за квантилями радіоцільності ПЖК у пацієнтів з експресією PD-L1  $\geq 50\%$

Ці результати були підтверджені в багатофакторному регресійному аналізі Кокса, стратифікованому за рівнем PD-L1, де квартиль Q2 був асоційований із найнижчим ризиком смертності (HR = 0,024; 95% ДІ: 0,001–0,291; p = 0,003).

Для контролю ризику хибнопозитивних результатів у підгруповому аналізі було застосовано поправку Бонферроні ( $\alpha = 0,00625$ ). Після застосування корекції статистичної значущості досягла лише взаємодія між щільністю ПЖК та експресією PD-L1.

Таким чином, помірна радіологічна щільність ПЖК пов'язана з покращеним виживанням у пацієнтів із метастатичним НДКРЛ, які отримували терапію ПКТ, що, ймовірно, відображає оптимальний метаболічно-імунний баланс. Показник щільності ПЖК, який легко отримати під час рутинних візуалізаційних досліджень, потребує подальшої проспективної валідації як масштабований прогностичний біомаркер.

### **3.8. Радіологічна щільність вісцерального жиру як потенційний біомаркер ефективності імунотерапії у хворих на недрібноклітинний рак легень**

У дослідженні було проаналізовано зв'язок між радіологічною щільністю ВЖК та клініко-патологічними характеристиками 92 хворих на метастатичний НДКРЛ, розподілених на чотири квартилі відповідно до значень щільності ВЖК (по 23 пацієнти в кожній групі).

Вік, стать, гістологічний підтип пухлини, статус куріння, рівень експресії PD-L1, схема імунотерапії та індекс коморбідності Чарлсона були порівняні між квартилями. Натомість ІМТ демонстрував статистично значущу відмінність між квартилями (p < 0,0001). У першому квартилі переважали пацієнти з надмірною вагою або ожирінням (зокрема 39,1% – ожиріння), тоді як у четвертому квартилі більшість становили пацієнти з нормальною (65,2%) або недостатньою масою тіла (21,7%). Це вказує на сильну залежність між щільністю ВЖК та ІМТ (табл. 3.21).

Таблиця 3.21 – Характеристика хворих на НДКРЛ за квантилями радіологічної щільності ВЖК

Змінні	Радіологічна щільність ВЖК				p
	Квантиль 1, n=23	Квантиль 2, n=23	Квантиль 3, n=23	Квантиль 4, n=23	
Вік, n (%)					
<60 років	8 (34,8)	8 (34,8)	11 (47,8)	8 (34,8)	0,742 ( $\chi^2$ )
≥60 років	15 (65,2)	15 (65,2)	12 (52,2)	15 (65,2)	
Стать, n (%)					
Чоловіча	20 (87,0)	18 (78,3)	20 (87,0)	20 (87,0)	0,883 †
Жіноча	3 (13,0)	5 (21,7)	3 (13,0)	3 (13,0)	
Гістологічний тип, n (%)					
Аденокарцинома	11 (47,8)	12 (52,2)	16 (69,6)	11 (47,8)	0,395 ( $\chi^2$ )
Плоскаклітинний рак	12 (52,2)	11 (47,8)	7 (30,4)	12 (52,2)	
Паління, n (%)					
Ніколи не палили	6 (30,4)	7 (30,4)	6 (30,4)	3 (13,0)	0,559 †
Поточні або колишні курці	17 (69,6)	16 (69,6)	17 (69,6)	20 (87,0)	
Експресія PD-L1, n (%)					
1-49%	15 (65,2)	19 (82,6)	16 (69,6)	19 (82,6)	0,462 †
≥50%	8 (34,8)	4 (17,4)	7 (30,4)	4 (17,4)	
Імунотерапевтичний режим, n (%)					
Монотерапія ІКТ	8 (34,8)	8 (34,8)	8 (34,8)	9 (39,1)	0,986 ( $\chi^2$ )
Хіміоімунотерапія	15 (65,2)	15 (65,2)	15 (65,2)	14 (60,9)	
ІКЧ, n (%)					
0	0 (0,0)	2 (8,7)	1 (4,4)	2 (8,7)	0,719 †
1	8 (34,8)	4 (17,4)	5 (21,7)	3 (13,0)	
2	10 (43,5)	10 (43,5)	13 (56,5)	12 (52,2)	
≥3	5 (21,7)	7 (30,4)	4 (17,4)	6 (26,1)	
ІМТ, n (%)					
Недостатня маса тіла	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	5 (21,7)	<0,0 001†
Нормальна маса тіла	3 (13,1)	9 (39,1)	16 (69,6)	15 (65,2)	
Надлишкова маса тіла	11 (47,8)	11 (47,8)	3 (13,1)	3 (13,0)	
Ожиріння	9 (39,1)	3 (13,1)	4 (17,3)	0 (0,0)	

Примітка: † Підраховано за допомогою точного критерію Фішера; ( $\chi^2$ ) підраховано за допомогою  $\chi^2$ -тест Пірсона.

**Радіологічна щільність ВЖК та аналіз виживаності.** Загальний період спостереження за пацієнтами досліджуваної когорти становив 8,1 років. Протягом цього періоду 87/92 (94,6 %) пацієнтів померло внаслідок прогресування НДКРЛ. Медіани загальної виживаності становили 15,9, 21,9, 20,1 та 14,2 місяці для кватилів Q1, Q2, Q3 та Q4, відповідно. Тенденція до кращої загальної виживаності прослідковувалася у хворих другого та третього кватилів радіологічної щільності ВЖК, проте статистично достовірної різниці не було досягнуто (Log-rank  $p = 0,6331$ , рис. 3.23).

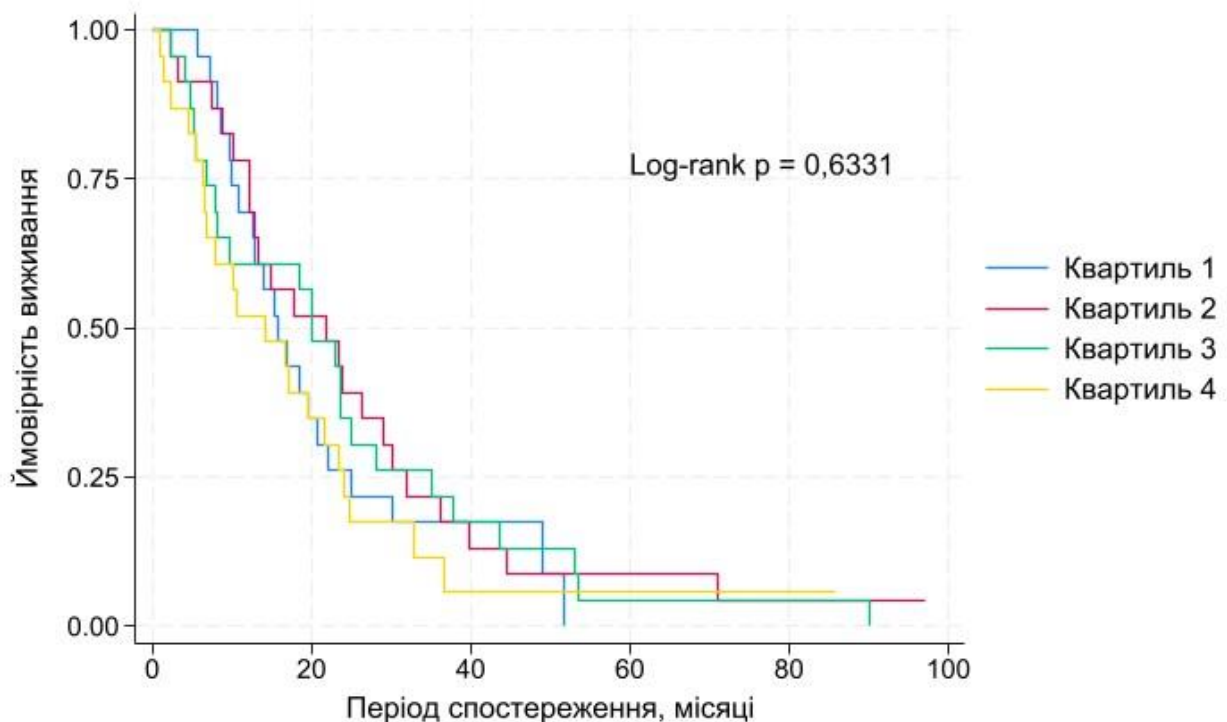


Рисунок 3.23 – Загальна виживаність пацієнтів з метастатичним НДКРЛ за кватілями радіологічної щільності ВЖК

Для оцінки зв'язку між радіологічною щільністю ВЖК та смертністю, специфічною для НДКРЛ, було проведено регресійний аналіз Кокса у трьох послідовних моделях. У моделі 1, яка не враховувала жодних коваріат, показники ризику смерті для другого, третього та четвертого кватилів щільності ВЖК становили відповідно 0,82 (95 % ДІ: 0,45–1,51;  $p = 0,535$ ), 0,90 (95% ДІ: 0,49–1,65;  $p = 0,751$ ) та 1,21 (95 % ДІ: 0,65–2,22;  $p = 0,535$ ) у порівнянні з першим

квартилем (референтна категорія). Загальна тенденція між рівнями щільності та смертністю була статистично незначущою ( $p$  для тренду = 0,507).

Модель 2, яка враховувала вік, стать, гістологічний тип пухлини, рівень експресії PD-L1, статус паління, індекс коморбідності Чарлсона та режим лікування, не виявила статистично значущих асоціацій між щільністю ВЖК та специфічною смертністю. Коефіцієнти ризику для другого, третього та четвертого квартилів становили 0,72 (95% ДІ: 0,38–1,36;  $p$  = 0,315), 1,12 (95% ДІ: 0,58–2,17;  $p$  = 0,715) та 1,17 (95% ДІ: 0,61–2,22;  $p$  = 0,625) відповідно ( $p$  для тренду = 0,329).

У моделі 3, що була додатково скоригована за усіма змінними моделі 2 та ІМТ, ризики залишалися подібними: коефіцієнт ризику для другого квартиля становив 0,70 (95% ДІ: 0,36–1,34;  $p$  = 0,287), для третього – 1,07 (95% ДІ: 0,52–2,18;  $p$  = 0,844), а для четвертого – 1,07 (95% ДІ: 0,48–2,39;  $p$  = 0,865). Загальна тенденція залишалася статистично незначущою ( $p$  для тренду = 0,545). Таким чином, у жодній із трьох моделей не було виявлено достовірного зв'язку між радіощільністю ВЖК та смертністю, специфічною для НДКРЛ (табл. 3.22).

Таблиця 3.22 – Регресійний аналіз Кокса для оцінювання зв'язку між радіологічною щільністю ВЖК та смертністю, специфічною для НДКРЛ

	Радіологічна щільність ВЖК	HR	95% ДІ	Значення $p$	$p$ для тренду
Модель 1	Q1	Референтна	–	–	0,507
	Q2	0,82	0,45–1,51	0,535	
	Q3	0,90	0,49–1,65	0,751	
	Q4	1,21	0,65–2,22	0,535	
Модель 2	Q1	Референтна	–	–	0,329
	Q2	0,72	0,38–1,36	0,315	
	Q3	1,12	0,58–2,17	0,715	
	Q4	1,17	0,61–2,22	0,625	
Модель 3	Q1	Референтна	–	–	0,545
	Q2	0,70	0,36–1,34	0,287	
	Q3	1,07	0,52–2,18	0,844	
	Q4	1,07	0,48–2,39	0,865	

При аналізі радіологічної щільності ВЖК як безперервної змінної також не було помічено статистично значимого зв'язку із ризиком смерті у жодній із 3 досліджуваних моделей (Модель 1: HR = 1,00, 95% ДІ = 0,99–1,01, p = 0,547; Модель 2: HR = 1,00, 95% ДІ = 0,99–1,01, p = 0,374; Модель 3: HR = 1,00, 95% ДІ = 0,98–1,01, p = 0,627). Ця знахідка свідчить, що незалежно від статистичного підходу до оцінювання радіологічної щільності ВЖК результати залишаються однаковими – ризик смерті від НДКРЛ не пов'язаний із радіологічною щільністю ВЖК.

**Обмежений кубічний сплайн.** Для аналізу обмеженого кубічного сплайну та візуалізації зв'язку між коефіцієнтом ризику та радіологічною щільністю ВЖК у хворих з метастатичним НДКРЛ були побудовані сплайни та відповідний графік. Для побудови сплайнів були використані коефіцієнти ризику, отримані у моделі 3, що була скоригована за віком, статтю, гістологічним типом пухлини, рівнем експресії PD-L1, статусом паління, індекс коморбідності Чарлсона, режимом лікування та ІМТ.

Для оцінки внеску додаткових клініко-патологічних змінних у прогнозування загальної виживаності було проведено тест логарифмічного відношення ймовірностей, який порівнював дві вкладені моделі: спрощену (модель 1), що включала лише радіологічну щільність ВЖК, та повну модель, яка додатково враховувала усі коваріати моделі 3 та сплайни. Результати LR-тесту вказали на статистично значуще покращення відповідності повної моделі даним:  $\chi^2(9) = 21,12$ ; p = 0,0121. Це свідчить про те, що додаткові коваріати суттєво покращують пояснювальну здатність моделі щодо ризику смерті, специфічної для НДКРЛ.

Таким чином, хоча радіологічна щільність ВЖК сама по собі не продемонструвала статистично значущого зв'язку з виживаністю, її роль у контексті ширшої клінічної картини не може бути повністю виключена, зважаючи на значний вплив інших змінних, включених до повної моделі (рис. 3.24).

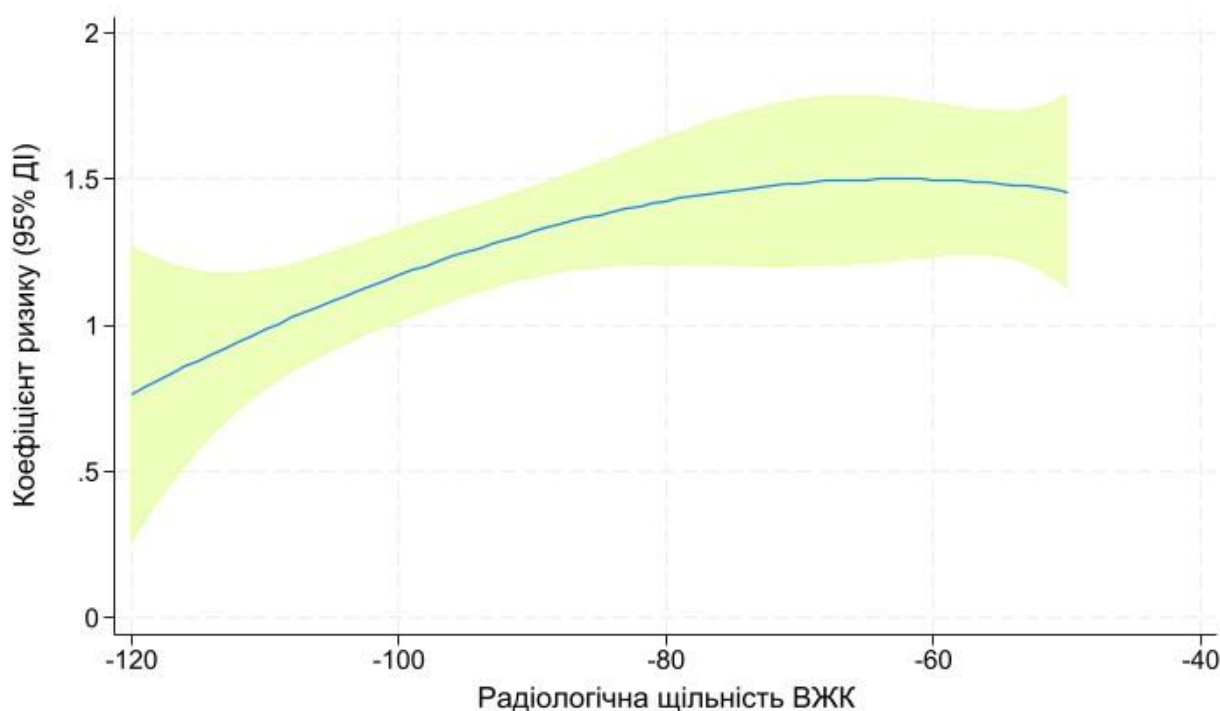


Рисунок 3.24 – Графік обмеженого кубічного сплайну, що показує нелінійний зв'язок між ризиком смерті та щільністю ВЖК у хворих на метастатичний НДКРЛ. Суцільна лінія – коефіцієнт ризику, тінь навколо суцільної лінії – 95% довірчий інтервал

**Незалежні предиктори виживаності.** Серед усіх клініко-патологічних характеристик, єдиним незалежним і статистично значущим фактором зниження ризику смерті виявилася експресія PD-L1  $\geq 50\%$ , яка була асоційована з на 66% нижчим ризиком смерті порівняно з експресією 1–49% (HR = 0,34; 95% ДІ: 0,20–0,59;  $p < 0,0001$ ). Інші змінні, включаючи вік, стать, гістологічний варіант пухлини, паління, імунотерапевтичний режим, ІКЧ та ІМТ, не продемонстрували статистично значущого впливу на ризик смерті ( $p > 0,05$  для всіх).

Додатково був проведений аналіз взаємодії кожної із клініко-патологічних характеристик з показником радіологічної щільності ВЖК для виявлення модифікуючого впливу. Взаємодія між експресією PD-L1 та радіологічною щільністю ВЖК була статистично значущою ( $p < 0,0001$ ), що свідчить про можливу модифікацію захисного ефекту високої експресії PD-L1 залежно від радіологічної щільності ВЖК. Це може вказувати на важливу біологічну

взаємодію між метаболічним середовищем і імунною відповіддю. Жодна інша змінна не виявила значущої взаємодії з ВЖК (табл. 3.23).

Таким чином, отримані результати свідчать про незалежний прогностичний вплив експресії PD-L1 та потенційно значущий модифікаторний ефект радіологічної щільності ВЖК, що вимагає подальших досліджень для підтвердження механізму цієї взаємодії.

Таблиця 3.23 – Визначення незалежних предикторів виживаності у хворих на метастатичний НДКРЛ та аналіз на взаємодію між клініко-патологічними характеристиками та радіологічною щільністю ВЖК

Змінні	Смертність, специфічна для НДКРЛ			p для взаємодії
	HR	95% ДІ	p	
Вік (<60 проти ≥60 років)	1,45	0,72–2,91	0,293	0,473
Стать (чоловіча проти жіночої)	0,81	0,36–1,83	0,625	0,624
Гістологічний варіант (аденокарцинома проти плоскоклітинної карциноми)	1,14	0,70–1,84	0,589	0,822
Паління (ніколи не палили проти поточних або колишніх курців)	0,71	0,35–1,43	0,343	0,276
Експресія PD-L1 (1-49% проти ≥50%)	0,34	0,20–0,59	<0,001	<0,001
Імунотерапевтичний режим (монотерапія ПКТ проти хіміотерапії + ПКТ)	1,11	0,71–1,75	0,621	0,520
Індекс коморбідності Чарлсона				
0 (референтна)	–	–	–	–
1	0,72	0,26–1,99	0,532	0,549
2	1,15	0,45–2,96	0,762	0,876
≥3	0,97	0,35–2,67	0,962	0,781
ІМТ:				
Недостатня маса тіла	–	–	–	–
Нормальна маса тіла	1,22	0,42–3,50	0,702	0,892
Надлишкова маса тіла	1,34	0,46–3,90	0,587	0,907
Ожиріння	1,01	0,33–3,11	0,974	0,724

Таким чином, радіоденситометрія ВЖК не є незалежним предиктором виживання у пацієнтів із метастатичним НДРЛ, які отримували терапію ПКТ. Водночас її взаємодія з рівнем експресії PD-L1 підкреслює потенційну модифікуючу роль, що потребує подальшого вивчення. Отримані результати свідчать на користь інтеграції радіоденситометрії ВЖК у багатофакторні прогностичні моделі, а не використання її як окремого біомаркера.

### **3.9. Зв'язок радіологічної щільності скелетних м'язів та індексу скелетних м'язів із відповіддю на імунотерапію у хворих на недрібноклітинний рак легень**

Загалом для проведення дослідження було включено 76 пацієнтів чоловічої статі із метастатичним НДКРЛ, більшість із яких були курцями (88,2%). Середній вік пацієнтів становив  $61,4 \pm 7,05$  років. Гістологічно переважали пацієнти з плоскоклітинними карциномами (59,2%) порівняно з аденокарциномами (40,8%). Рівень експресії PD-L1  $\geq 50\%$  спостерігався у 38,2% випадків, тоді як у 61,8% – у межах 1–49%. За ІМТ майже рівномірно розподілилися пацієнти з ІМТ  $< 24,9$  (52,6%) та  $\geq 25,0$  (47,4%). Середня площа поперекових скелетних м'язів досліджуваної когорти була  $171,0 \pm 44,9$  см<sup>2</sup>.

Середній індекс скелетних м'язів (ІСМ) у пацієнтів досліджуваної когорти становив  $58,0 \pm 15,46$  см<sup>2</sup>/м<sup>2</sup>. За допомогою ROC-аналізу було встановлено, що ІСМ мав достатню специфічність та чутливість (AUC = 0,6577, 95% ДІ 0,48316–0,79372 для ІМТ  $< 24,9$  та AUC = 0,7794, 95% ДІ 0,60848–0,89885 для ІМТ  $\geq 25,0$ ). Пороговим значенням для розподілу пацієнтів у підгрупи з низьким та високим ІСМ визначено 39,0 см<sup>2</sup>/м<sup>2</sup> та 60 см<sup>2</sup>/м<sup>2</sup> для ІМТ  $< 24,9$  та  $\geq 25,0$  відповідно. Низький ІСМ, що свідчив про саркопенію, виявлено у 26,3% пацієнтів.

Середнє значення радіологічної щільності скелетних м'язів (РЩСМ) у пацієнтів чоловічої статі, хворих на НДКРЛ було  $49,29 \pm 10,37$  НУ, при цьому низька щільність спостерігалась у 18,4% випадків. Аналогічно до ІСМ, порогові значення для РЩСМ були розраховані за допомогою ROC-аналізу, проте даний показник був менш специфічним та чутливим (AUC = 0,3649, 95% ДІ 0,22726–

0,54199 для ІМТ <24,9 та AUC = 0,5147, 95% ДІ 0,35486–0,69595 для ІМТ ≥25,0). Пороговим значенням для РЦСМ визначено 40,0 НУ та 53,0 НУ для ІМТ < 24,9 та ≥ 25,0 відповідно.

Щодо відповіді на лікування, часткова відповідь зафіксована у 44,7 % хворих досліджуваної когорти, стабілізація – у 35,5 %, повна відповідь – у 8,0 %, прогресія – у 11,8 %.

**Виживаність пацієнтів залежно від індексу скелетних м'язів та їх радіологічної щільності.** Порівняння загальної виживаності між пацієнтами з низьким та високим ІСМ не виявило статистично значущих відмінностей. Медіана виживаності у пацієнтів із високим ІСМ становила 17,2 місяця (міжквартильний інтервал: 8,0–25,1 місяця), тоді як у групі з низьким ІСМ – 12,6 місяця (міжквартильний інтервал: 5,5–32,9 місяця). Результати аналізу кривих виживаності Каплана-Майєра показали відсутність достовірної різниці між групами за критерієм лог-ранг:  $\chi^2(1)=0,18$ ,  $p=0,6746$ . Таким чином, у цій когорті пацієнтів ІСМ не був асоційований із загальною виживаністю (рис. 3.25).

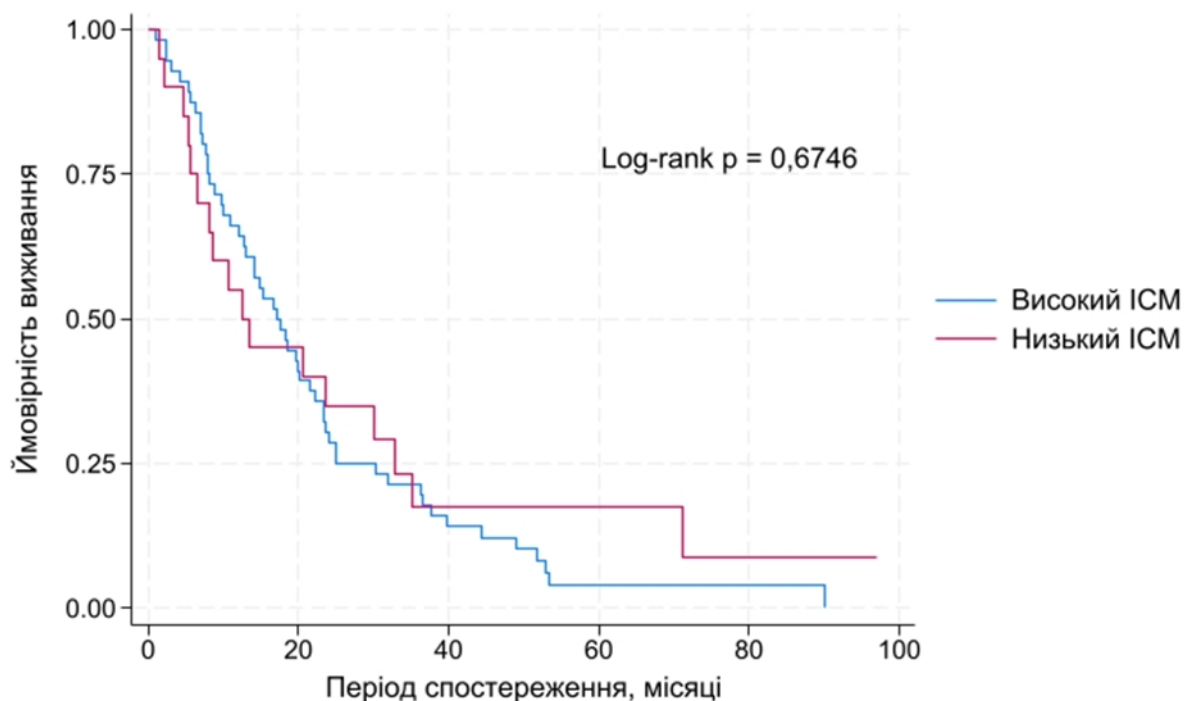


Рисунок 3.25 – Загальна виживаність хворих на метастатичний НДКРЛ, стратифікованих за індексом скелетних м'язів

При аналізі загальної виживаності з урахуванням РЦСМ також не виявлено статистично значущих відмінностей між групами. У пацієнтів із високою РЦСМ медіана загальної виживаності становила 16,8 місяця (міжквартильний інтервал: 7,9–32,9 місяця), тоді як у групі з низькою РЦСМ – 15,3 місяця (міжквартильний інтервал: 10,0–30,1 місяця). Відповідно до лог-ранг тесту, криві виживаності не відрізнялись достовірно:  $\chi^2(1) = 0,001$ ,  $p = 0,9470$ . Таким чином, РЦСМ не була асоційована із загальною виживаністю у даній когорті пацієнтів (рис. 3.26).

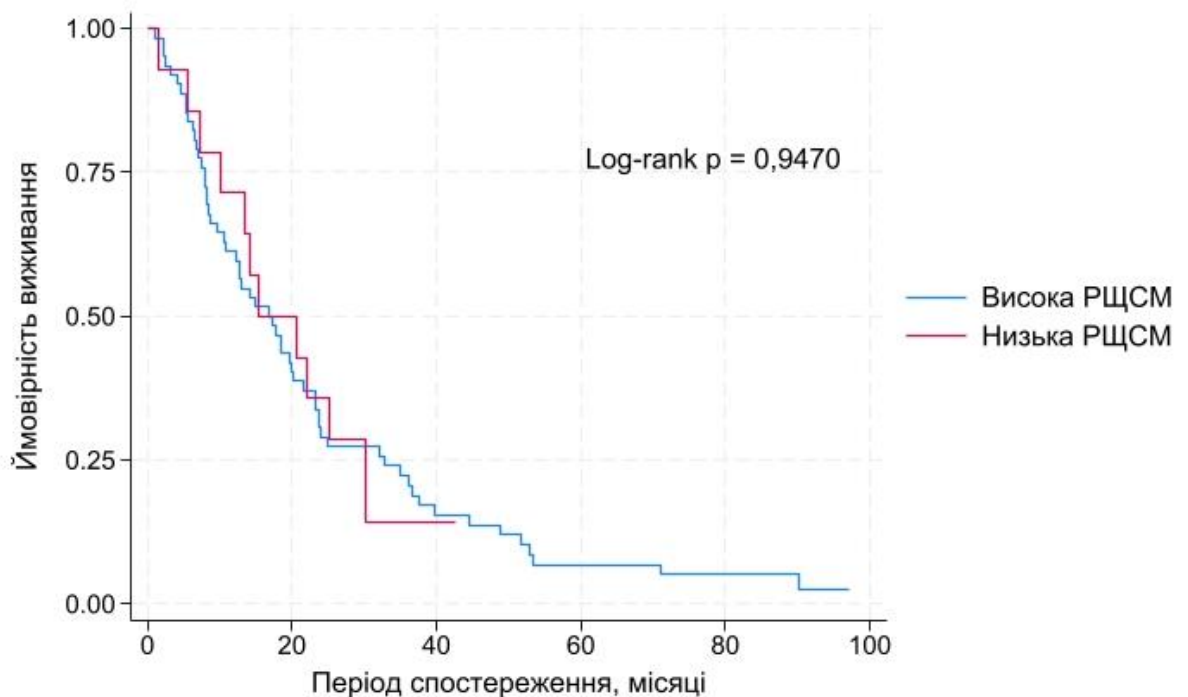


Рисунок 3.26 – Загальна виживаність хворих на метастатичний НДКРЛ, стратифікованих за радіологічною щільністю скелетних м'язів

Під час аналізу виживаності без прогресування не виявлено суттєвих відмінностей між групами з низьким та високим показником ІСМ. Медіани виживаності без прогресування становила відповідно 8,37 та 5,5 місяців (Log-rank  $p = 0,3672$ ; рис. 3.27). Аналогічно, не спостерігалось статистично значущої різниці у виживаності без прогресування між пацієнтами з низьким та високим рівнем РЦСМ. Медіани виживаності без прогресування становили 6,77 та 11,17 місяців відповідно (Log-rank  $p = 0,6049$ ; рис 3.28).

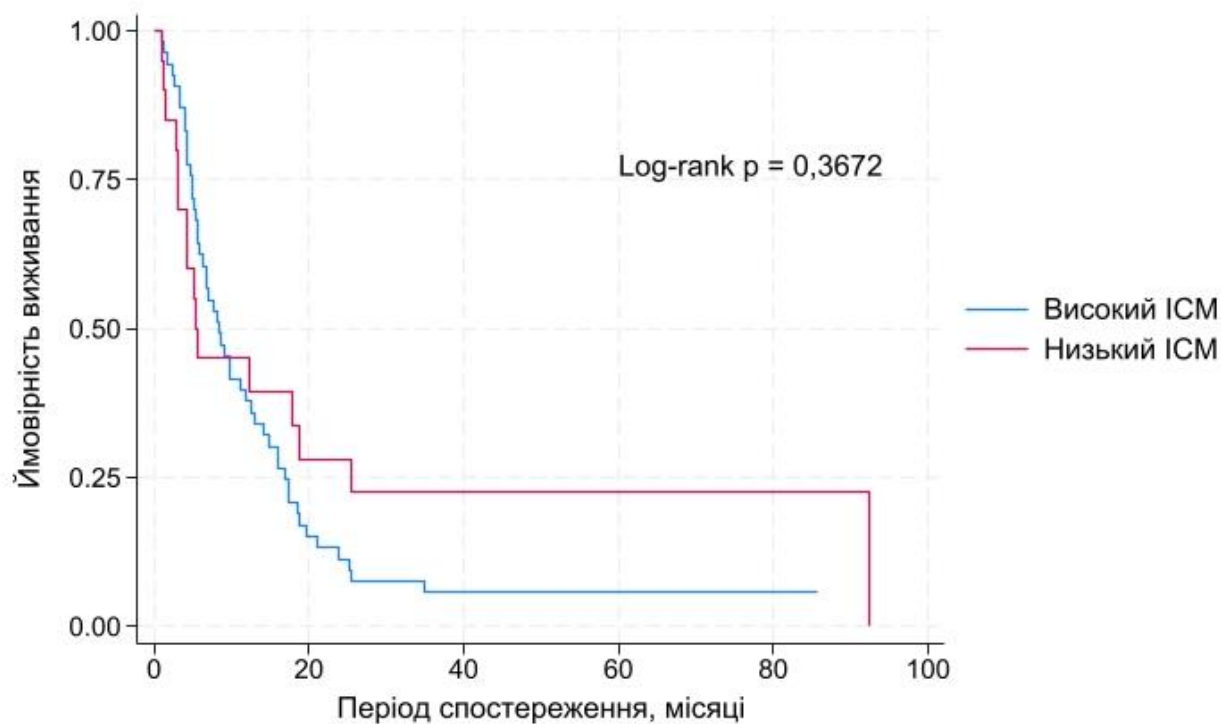


Рисунок 3.27 – Вживаність без прогресування у чоловіків із метастатичним НДКРЛ, стратифікована за індексом скелетних м'язів

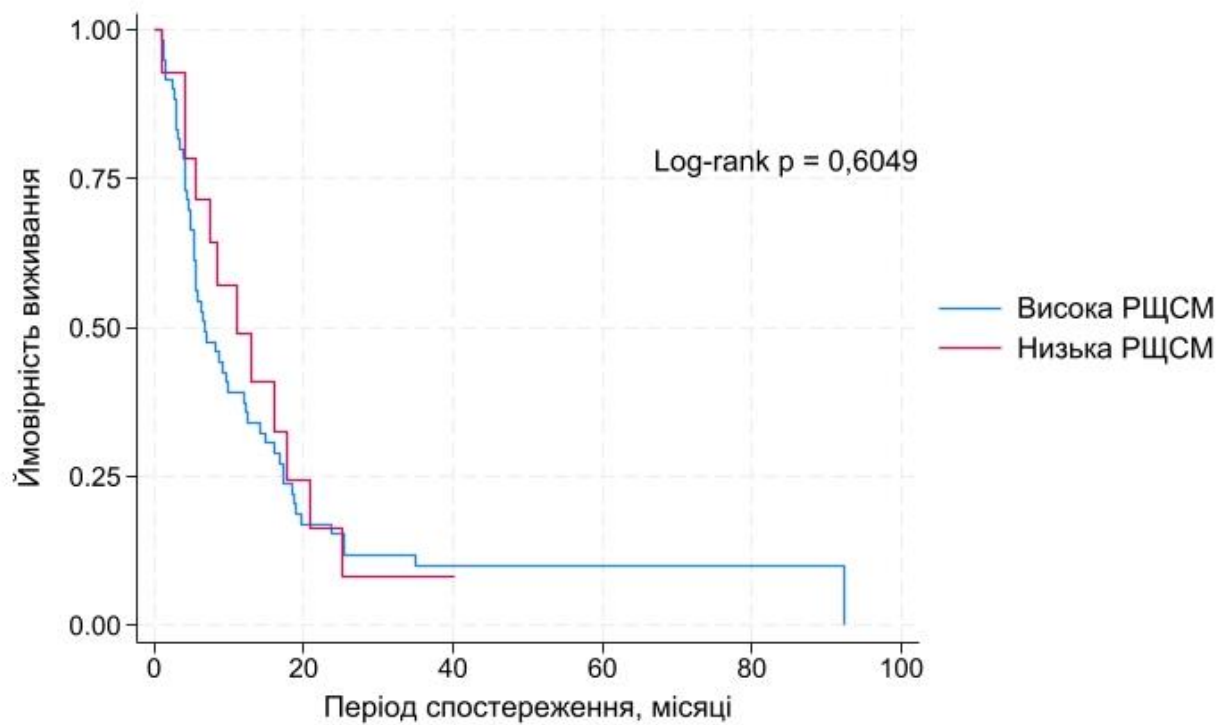


Рисунок 3.28 – Вживаність без прогресування у чоловіків із метастатичним НДКРЛ, стратифікована за радіощільністю скелетних м'язів

*Зв'язок індексу скелетних м'язів та їх радіологічної щільності з відповіддю на лікування.* Об'єктивної відповіді на лікування досягли 40/76 (52,6 %) пацієнтів, а ступеня контролю над захворюванням – 67/76 (88,2 %). Пацієнти, які досягли об'єктивної відповіді на лікування, мали вищий середній ІСМ ( $60,52 \pm 17,49 \text{ см}^2/\text{м}^2$ ), ніж ті, у кого відповідь була відсутня ( $55,18 \pm 12,50 \text{ см}^2/\text{м}^2$ ), а також вищі значення спостерігалися у пацієнтів з досягнутим контролем над захворюванням ( $58,66 \pm 15,14 \text{ см}^2/\text{м}^2$  проти  $53,00 \pm 17,84 \text{ см}^2/\text{м}^2$ ). Однак статистично значущих відмінностей у значеннях ІСМ між групами об'єктивної відповіді на лікування ( $p = 0,460$ ) та ступеня контролю над захворюванням не було виявлено ( $p = 0,730$ ), що свідчить про тенденцію, але не достовірний ефект.

Щодо РЩСМ, середні значення були близькими у пацієнтів, що досягли об'єктивної відповіді на лікування ( $48,85 \pm 10,02 \text{ НУ}$ ) та тих, хто її не досягнув ( $49,78 \pm 10,88 \text{ НУ}$ ), а також дещо вищими у пацієнтів із досягнутим ступенем контролю над захворюванням ( $56,22 \pm 8,04 \text{ НУ}$ ) порівняно з тими, хто його не досяг ( $48,36 \pm 10,34 \text{ НУ}$ ). Водночас значущої різниці для об'єктивної відповіді на лікування не було помічено ( $p = 0,532$ ), але виявлено статистично значущу відмінність для ступеня контролю над захворюванням ( $p = 0,031$ ), що може свідчити про негативний вплив зниженої щільності м'язів на ефективність імунотерапії (табл. 3.24).

Таблиця 3.24 – Відповідь на лікування у хворих на метастатичний НДКРЛ у залежності від значення індексу скелетних м'язів та їх радіологічної щільності

Відповідь на лікування		Середній ІСМ, $\text{см}^2/\text{м}^2$	Середня РЩСМ, НУ
Об'єктивна відповідь на лікування	Не досягнуто	$55,18 \pm 12,50$	$49,78 \pm 10,88$
	Досягнуто	$60,52 \pm 17,49$	$48,85 \pm 10,02$
Значення p		0,460	0,532
Ступінь контролю над захворюванням	Не досягнуто	$53,00 \pm 17,84$	$48,36 \pm 10,34$
	Досягнуто	$58,66 \pm 15,14$	$56,22 \pm 8,04$
Значення p		0,730	0,031

Примітка: Для розрахунку значення p використаний U-критерій Манна-Уїтні

Таким чином, отримані результати доповнюють попередні спостереження, підтверджуючи тенденцію до кращої клінічної відповіді у пацієнтів із вищими ІСМ, та підкреслюють прогностичне значення РЩСМ у контексті досягнення контролю над захворюванням.

***Взаємозв'язок саркопенії та м'язової щільності з розвитком імунозалежних побічних ефектів.*** У нашому дослідженні імуноасоційовані побічні ефекти будь-якого ступеня тяжкості були зареєстровані у 20/76 (26,3 %) пацієнтів, включаючи гіпертиреоз (n = 4), гіпотиреоз (n = 1), свербіж (n = 1), пневмоніт (n = 2), коліт (n = 2), гепатит (n = 2), бульозний пемфігоїд (n = 1), артралгію (n = 1), міалгію (n = 1), оніхолісис (n = 1), висип (n = 1), інфузійні реакції (n = 2) та асептичний некроз кістки (n = 1). Імуноасоційовані побічні ефекти мали 3/20 (15,0 %) пацієнтів із саркопенією та 17/56 (30,4 %) без саркопенії. Хоча у пацієнтів без саркопенії імунозалежні побічні ефекти спостерігалися частіше, ніж у хворих із саркопенією, ця різниця не досягла статистичної значущості (p = 0,243).

Щодо РЩСМ, то імунозалежні побічні ефекти спостерігали у 5/14 (35,7 %) пацієнтів із низькою РЩСМ та 15/62 (24,2 %) з високою РЩСМ. Різниця між групами також не була статистично значущою (p = 0,377).

Таким чином, у нашій когорті пацієнтів чоловічої статі з метастатичним НДКРЛ розвиток імуноасоційованих побічних ефектів не мав достовірної залежності від наявності саркопенії чи зниження щільності скелетних м'язів. Попри деякі тенденції у розподілі, статистично значущих асоціацій не виявлено, що може бути зумовлено обмеженим розміром вибірки. Для уточнення цих спостережень необхідні більші проспективні дослідження.

***Незалежні предиктори загальної виживаності.*** Для виявлення незалежних предикторів загальної виживаності було проведено багатофакторний регресійний аналіз із включенням основних клініко-патологічних характеристик (віку, статусу паління, гістологічного варіанту пухлини, ІМТ, експресії PD-L, лікувального режиму, ІСМ та РЩСМ). Крім того, виконано аналіз на взаємодію

між цими клініко-патологічними характеристиками та показниками складу тіла (табл. 3.25).

Таблиця 3.25 – Багатофакторний регресійний аналіз Кокса та аналіз взаємодії впливу клініко-патологічних характеристик і показників складу тіла (ІСМ та РЦСМ) на загальну виживаність у пацієнтів із метастатичним НДКРЛ

Змінні	Загальна виживаність			p для взаємодії	
	HR	95% ДІ	p	ІСМ	РЦСМ
Вік:					
<60 років	1	–	–		
≥60 років	1,58	0,90–2,56	0,113	0,986	0,311
Статус паління:					
Некурці	1	–	–		
Колишні/поточні курці	0,82	0,39–1,74	0,617	0,489	0,401
Гістологія:					
Аденокарцинома	1	–	–		
Плоскоклітинна карцинома	1,34	0,81–2,20	0,244	0,175	0,270
ІМТ:					
<24,9	1	–	–		
≥25,0	0,91	0,67–1,23	0,555	0,280	0,213
Експресія PD-L:					
1-49 %	1	–	–		
≥50 %	0,29	0,15–0,55	0,001	0,027	0,105
Лікувальний режим:					
Імунотерапія	1	–	–		
Хіміоімунотерапія	1,08	0,65–1,77	0,760	0,693	0,185
ІСМ:					
Низький	1	–	–		
Високий	0,94	0,53–1,65	0,832	–	0,146
РЦСМ:					
Висока	1	–	–		
Низька	1,12	0,54–2,32	0,755	0,497	–

Серед оцінених параметрів лише рівень експресії PD-L1 ≥50 % виявився статистично значущим фактором, асоційованим із кращою виживаністю (HR = 0,29; 95% ДІ: 0,15–0,55; p = 0,001). Це свідчить, що пацієнти з високою

експресією PD-L1 мали приблизно у три з половиною рази нижчий ризик смерті порівняно з тими, у кого експресія становила 1–49 %. Інші змінні, включно з віком, статусом паління, гістологічним підтипом, ІМТ, лікувальним режимом, ІСМ та РЦСМ, не мали достовірного впливу на загальну виживаність у даній когорті ( $p > 0,05$  для всіх).

Отримані результати свідчать, що серед досліджених клінічних та морфометричних показників лише висока експресія PD-L1 була незалежним предиктором тривалішої загальної виживаності. Це підтверджує ключове прогностичне значення біомаркерів імунної відповіді порівняно з традиційними клініко-патологічними характеристиками чи показниками складу тіла. Водночас відсутність асоціації ІСМ та РЦСМ із виживаністю в нашій когорті вказує на необхідність проведення масштабніших досліджень для уточнення їхньої потенційної ролі у прогнозуванні ефективності імунотерапії.

Крім того, щоб оцінити, чи залежить прогностичне значення показників складу тіла від цих змінних, було проведено аналізи взаємодії між ІСМ або РЦСМ та віком, статусом паління, гістологічним типом, ІМТ, експресією PD-L1 і схемою лікування. Взаємодія між експресією PD-L1 та ІСМ була статистично значущою ( $p$  для взаємодії = 0,027), що свідчить про те, що прогностичний вплив PD-L1 може відрізнятися залежно від маси скелетних м'язів. Натомість не виявлено значущої взаємодії між PD-L1 та РЦСМ ( $p = 0,105$ ), а також з іншими проаналізованими змінними (усі  $p > 0,1$ ), що вказує на те, що вплив ІСМ та РЦСМ на виживаність здебільшого є незалежним від цих клініко-патологічних характеристик.

**Матеріали розділу висвітлені в наступних публікаціях [294–305]:**

– Moskalenko Y, Yazykov O, Vasylieva O, Smiian K, Ivakhniuk T, Budko H, Moskalenko R. The Impact of Age on the Effectiveness of Immune Checkpoint Inhibitors Therapy in Patients with Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer. *Geriatrics (Basel)*. 2025 Jun 27;10(4):85.

– Moskalenko Y, Kovchun V, Bohdanov A, Budko V, Yazykov O. Visceral Adipose Tissue Radiodensity as a Potential Biomarker of Immunotherapy Efficacy in Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer Patients. *Galician med. j.* 2025;32(3):e-GMJ2025-A21.

– Moskalenko Y., Kravets O., Kovchun V. Clinical outcomes of concurrent use of corticosteroids and immune checkpoint inhibitors in oncology. *Regul Mech Biosyst.* 2025;16(2):e25062.

– Moskalenko YV. The role of novel risk-scoring systems in predicting the efficacy of immunotherapy. *The journal of V. N. Karazin National University.* 2025;33(1):59–68.

– Moskalenko Y, Kovchun V, Vynnychenko I, Moskalenko R. Association of skeletal muscle radiodensity and skeletal muscle index with immunotherapy response in metastatic non-small cell lung cancer. *Muscles* 2025; 4(4):51.

– Москаленко Ю. Індекс маси тіла як предиктор ефективності терапії інгібіторами імунних контрольних точок. X науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів»: матеріали. 17–18 жовтня 2024 р., м. Тернопіль: ТНМУ. 2024: 225–226.

– Москаленко Ю. Вплив кортикостероїдів на ефективність інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на недрібноклітинний рак легень. XXIX конгрес студентів та молодих учених «Майбутнє за наукою»: матеріали. 9–11 квітня 2025 р., м. Тернопіль: ТНМУ. 2025: 44.

– Москаленко Ю. Вплив віку на ефективність інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на метастатичний недрібноклітинний рак легень. VIII науково-практична internet-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів та хвороб та їх фармакологічна корекція»: матеріали. 20 жовтня 2025 р., м. Харків. Харків: НФаУ, 2025: 175–176.

– Moskalenko YuV, Bohdanov AM, Budko VV. Smoking as a predictor of immune checkpoint inhibitor efficacy in metastatic non-small cell lung cancer patients.

East Ukr Med J. 2025; 13(4): 1168–1176.  
[https://doi.org/10.21272/eumj.2025;13\(4\):1168-1176](https://doi.org/10.21272/eumj.2025;13(4):1168-1176).

– Moskalenko Y, Hyriavenko N. Timing of infusion and immunotherapy efficacy in metastatic non-small cell lung cancer: a meta-analysis. Buk Med Herald. 2025;29(4):89–94.

– Moskalenko YV. Blood count test for predicting the efficacy of immune checkpoint inhibitors. Art of Med. 2025;4(36):26–32.

– Moskalenko Y, Kovchun V, Bohdanov A, Budko V. Subcutaneous adipose tissue radiodensity as a prognostic marker in metastatic non-small cell lung cancer treated with immune checkpoint inhibitors. Contemporary Oncology/Współczesna Onkologia. 2026;30(1): 1–9.

## РОЗДІЛ 4

### ВИВЧЕННЯ ПРЕДИКТОРІВ ЕФЕКТИВНОСТІ ІНГІБІТОРІВ ІМУННИХ КОНТРОЛЬНИХ ТОЧОК НА РІВНІ ПУХЛИННОГО МІКРООТОЧЕННЯ

#### 4.1. Прогностичне значення імунних фенотипів у хворих на метастатичний недрібноклітинний рак легень

У дослідження було включено 86 пацієнтів з метастатичним НДКРЛ, які отримували імунотерапію у стандартних клінічних умовах. Середній вік пацієнтів становив  $60,9 \pm 7,86$  років. Переважну частину вибірки становили чоловіки – 87,2 % ( $n = 75$ ), тоді як частка жінок склала лише 12,8 % ( $n = 11$ ). За гістологічною структурою у більшості пацієнтів було виявлено плоскоклітинну карциному (59,3 %), тоді як аденокарцинома зустрічалася у 40,7 % випадків.

При імуногістохімічному аналізі виявлено, що низький рівень інфільтрації CD8<sup>+</sup> Т-клітинами ( $<38,1$  клітин/мм<sup>2</sup>) мав місце у більшості пацієнтів (70,9 %), тоді як високий рівень експресії STAT6<sup>+</sup> ( $\geq 13,8$  клітин/мм<sup>2</sup>) спостерігався у 65,1 % випадків. Щодо макрофагальних маркерів, CD68<sup>+</sup> виявлявся на високому рівні ( $\geq 29,1$  клітин/мм<sup>2</sup>) у 44,2 % пацієнтів, CD163<sup>+</sup> ( $\geq 18,1$  клітин/мм<sup>2</sup>) – у 72,1 %. Водночас, співвідношення CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup>, що вказує на переважання імунорегуляторного M2-фенотипу, було високим ( $\geq 0,48$ ) у 70,9 % учасників.

*Аналіз головних компонент і кластеризація.* Для дослідження гетерогенності пухлинного мікрооточення був проведений аналіз головних компонент на основі експресії CD8<sup>+</sup>, STAT6<sup>+</sup> та співвідношення CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup>. Двовимірною проекцією продемонструвала наявність трьох чітко відокремлених груп пацієнтів, які відповідали імунним фенотипам: нейтральному/змішаному, імуноактивному та імуносупресивному. Імуноактивний фенотип формував компактний кластер, тоді як імуносупресивний займав протилежне положення на графіку, що відображає суттєві біологічні відмінності між цими групами. Нейтральний/змішаний фенотип локалізувався у проміжній зоні (рис. 4.1).

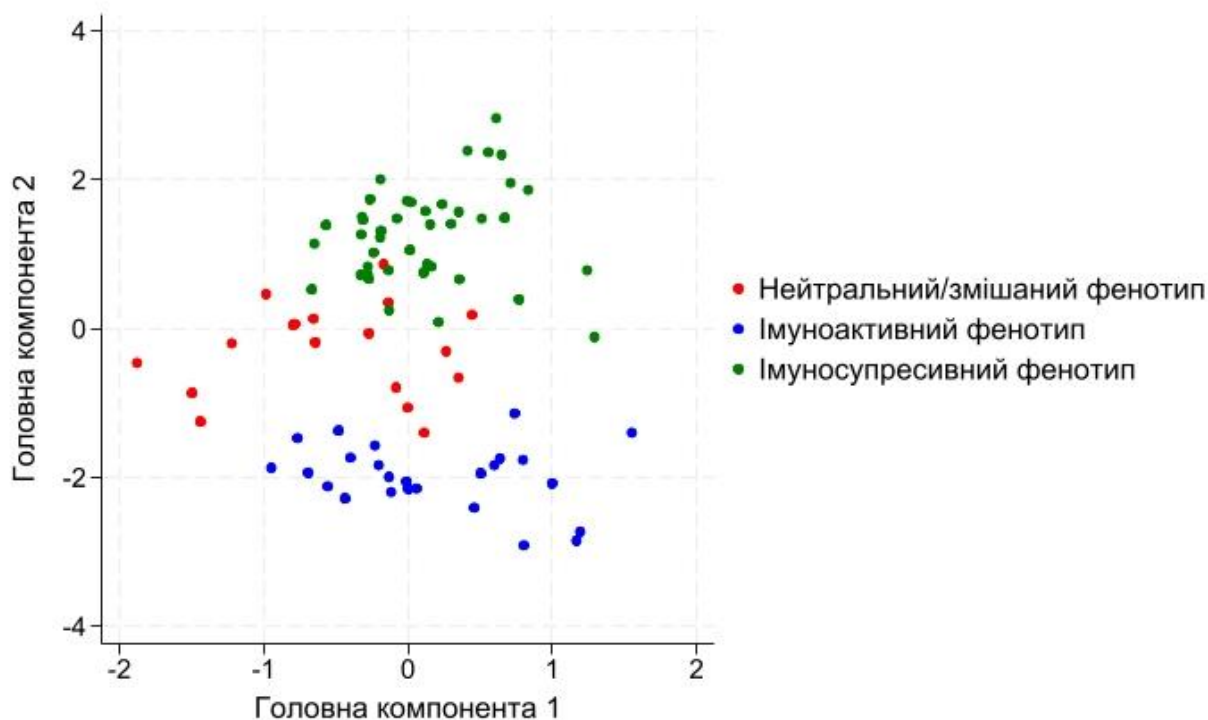


Рисунок 4.1 – Аналіз головних компонент експресії  $CD8^+$ ,  $STAT6^+$  та співвідношення  $CD163^+/CD68^+$  у пацієнтів з метастатичним НДКРЛ, які отримували імунотерапію

Для кількісної оцінки отриманих груп був застосований ієрархічний кластерний аналіз, результати якого підтвердили існування трьох відмінних імунних фенотипів. Імуноактивний фенотип характеризувався високим рівнем  $CD8^+$ , низькою експресією  $STAT6^+$  та низьким співвідношенням  $CD163^+/CD68^+$ , що свідчить про переважання прозапального імунного мікрооточення (рис. 4.2).

На противагу, імуносупресивний фенотип відзначався пригніченою Т-клітинною інфільтрацією, високими показниками  $STAT6^+$  та підвищеним співвідношенням  $CD163^+/CD68^+$ , що відповідає домінуванню імунорегуляторних M2-макрофагів (рис. 4.3). Нейтральний/змішаний фенотип мав проміжні характеристики (рис. 4.4). Результати імуногістохімічного дослідження представлені при збільшенні  $\times 400$ .

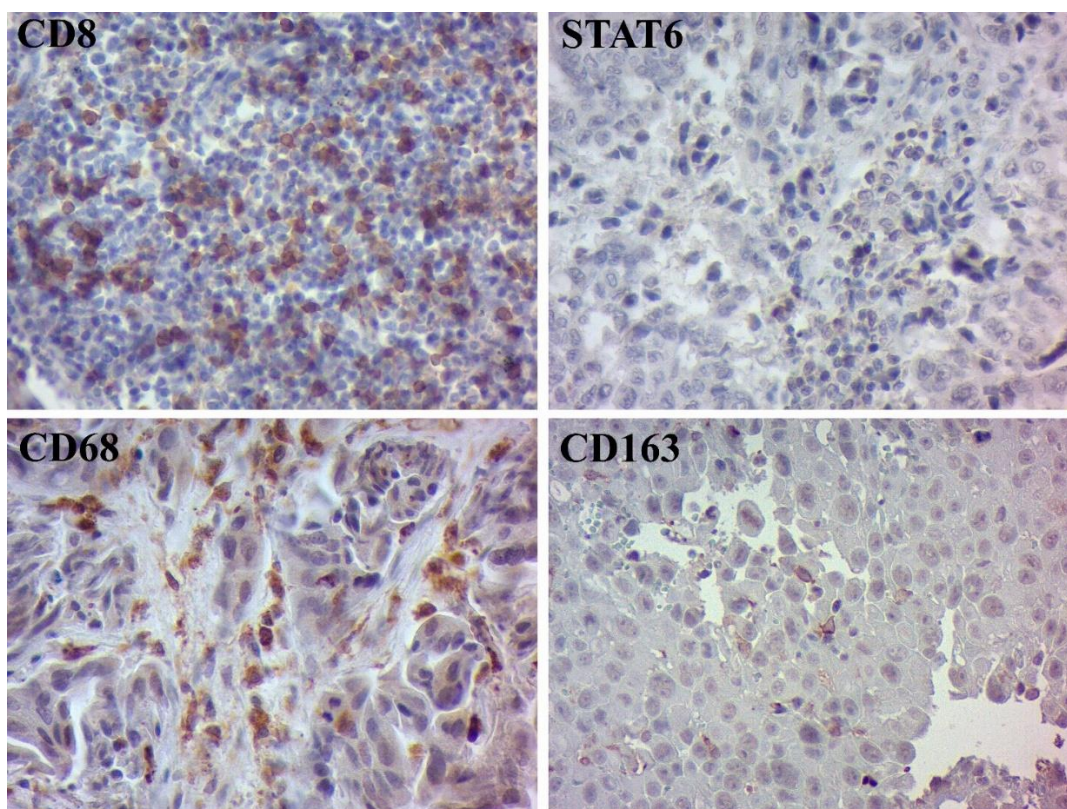


Рисунок 4.2 – Зразок пухлинної тканини НДКРЛ з імуноактивним фенотипом (висока експресія CD8<sup>+</sup> та CD68<sup>+</sup>, низька експресія STAT6<sup>+</sup> та CD163)

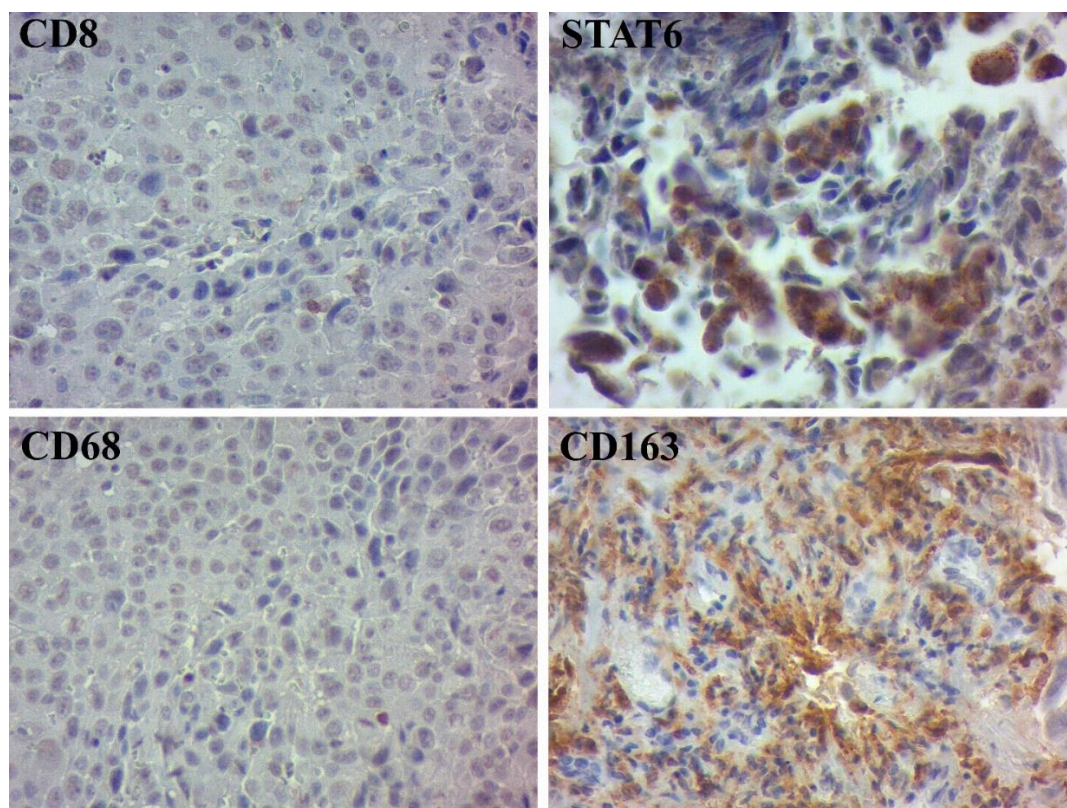


Рисунок 4.3 – Зразок пухлинної тканини НДКРЛ з імуносупресивним фенотипом (низька експресія CD8<sup>+</sup> та CD68<sup>+</sup>, висока експресія STAT6<sup>+</sup> та CD163<sup>+</sup>)

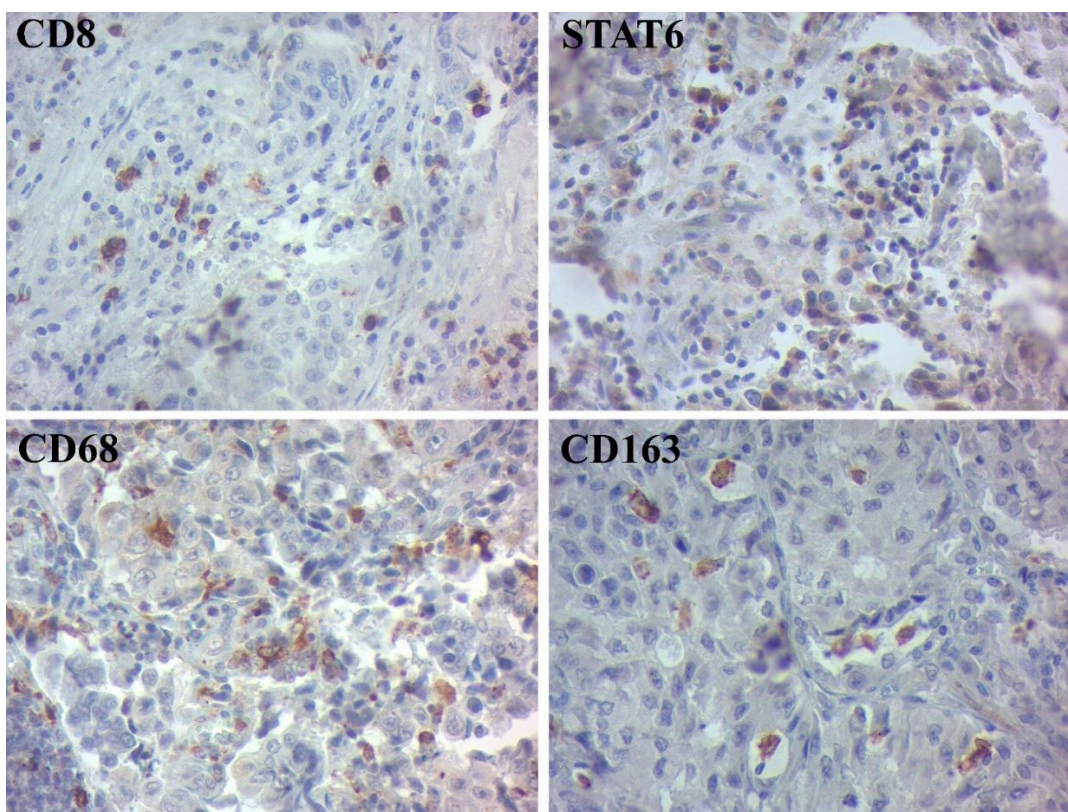


Рисунок 4.4 – Зразок пухлинної тканини НДКРЛ з нейтральним/змішаним фенотипом (помірна експресія CD8<sup>+</sup>, CD68<sup>+</sup>, STAT6<sup>+</sup> та CD163<sup>+</sup>)

Були виявлені статистично значущі відмінності між трьома фенотипами для всіх досліджуваних маркерів ( $p = 0,001$ ). Зокрема, рівень CD8<sup>+</sup> достовірно відрізнявся між імуноактивним фенотипом та двома іншими групами; експресія STAT6<sup>+</sup> була найнижчою в імуноактивному та найвищою в імуносупресивному фенотипі; співвідношення CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup> також суттєво зросло у пацієнтів з імуносупресивним фенотипом.

Таким чином, проведений аналіз показав, що серед пацієнтів з метастатичним НДКРЛ, які отримували терапію інгібіторами імунних контрольних точок, імунне мікрооточення пухлини може бути розділене на три відмінні фенотипи, з яких імуноактивний пов'язаний із найбільш сприятливим імунним профілем (табл. 4.1).

Таблиця 4.1 – Імунні фенотипи на основі експресії CD8<sup>+</sup>, STAT6<sup>+</sup> та співвідношення CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup> у хворих на метастатичний НДКРЛ

Маркери	Нейтральний / змішаний фенотип (n=18)	Імуноактивний фенотип (n=25)	Імуносупресивний фенотип (n=43)	p
CD8 <sup>+</sup> (клітин / 1мм <sup>2</sup> )	21.8 ± 12.3 18.6 [p50]	49.7 ± 12.8 48.2 [p50]	15.6 ± 9.6 13.5 [p50]	0,001
STAT6 <sup>+</sup> (клітин / 1мм <sup>2</sup> )	14.3 ± 7.8 13.9 [p50]	8.9 ± 4.1 8.4 [p50]	25.6 ± 6.4 23.8 [p50]	0,001
CD163 <sup>+</sup> /CD68 <sup>+</sup>	0.94 ± 0.51 0.83 [p50]	0.33 ± 0.13 0.29 [p50]	3.38 ± 1.62 3.05 [p50]	0,001

Примітка: Для обчислення значення p використано тест Краскела-Волліса

**Оцінювання виживаності.** Аналіз виживаності без прогресування залежно від імунних фенотипів показав суттєві відмінності між трьома групами. Пацієнти з імуноактивним фенотипом мали найсприятливіший перебіг захворювання: медіана виживаності без прогресування перевищувала 16 місяців. У групі з нейтральним/змішаним фенотипом медіана виживаності без прогресування становила близько 7,6 місяця, що відображає проміжні результати. Найгірші показники зафіксовані в пацієнтів з імуносупресивним фенотипом: медіана виживаності без прогресування захворювання не перевищувала 5,1 місяця.

За результатами Log-rank тесту виявлено статистично значущі відмінності між кривими виживаності у трьох фенотипах ( $\chi^2 = 26,25$ ;  $p < 0,001$ ). При цьому пацієнти з імуноактивним фенотипом мали достовірно кращу виживаність без прогресування у порівнянні з імуносупресивним та нейтральним/змішаним фенотипами, тоді як імуносупресивний фенотип асоціювався з найвищою частотою прогресування (рис. 4.5).

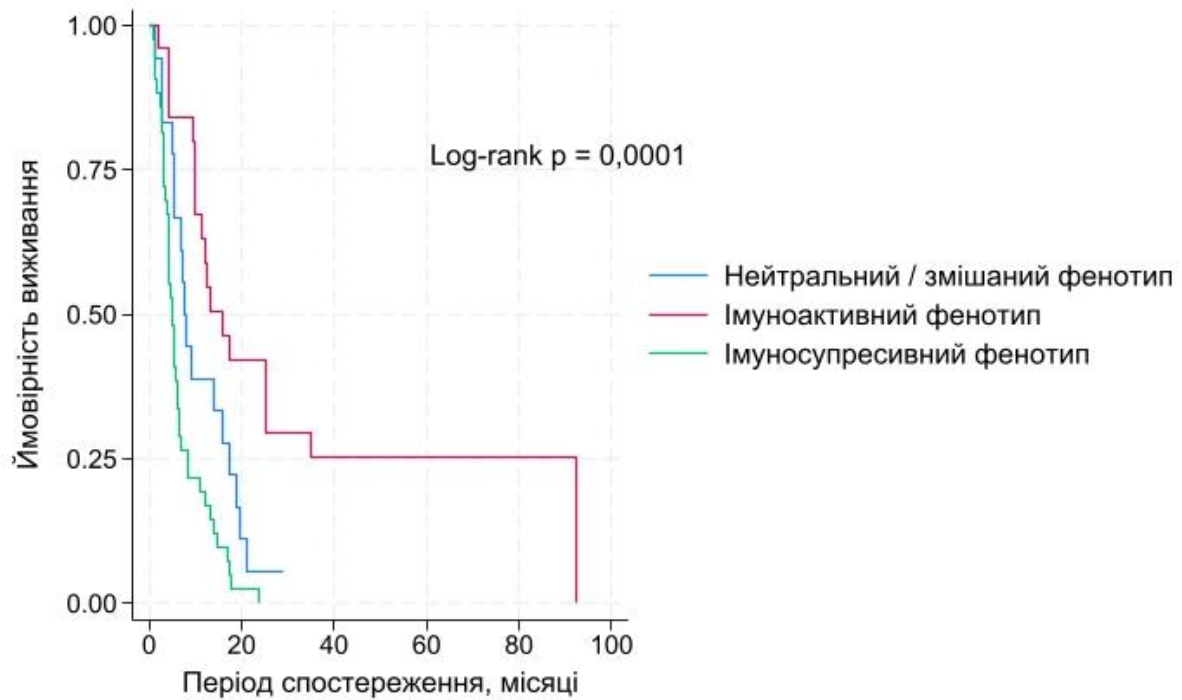


Рисунок 4.5 – Криві Каплана–Майєра, що демонструють виживаність без прогресування у пацієнтів з метастатичним НДКРЛ залежно від імунного фенотипу пухлинного мікрооточення

Таким чином, результати підтверджують, що імунний фенотип пухлинного мікрооточення має прогностичне значення для виживаності без прогресування у пацієнтів з метастатичним НДКРЛ, які отримували імунотерапію.

Аналіз загальної виживаності залежно від імунних фенотипів також продемонстрував суттєві відмінності між групами пацієнтів. Найсприятливіші результати спостерігалися у хворих з імуноактивним фенотипом: медіана загальної виживаності перевищувала 35,0 місяців, а 25% пацієнтів залишалися живими понад 4 роки після початку лікування. Пацієнти з нейтральним/змішаним фенотипом мали проміжну тривалість виживаності з медіаною близько 19,7 місяців. Найгірші показники були характерні для імуносупресивного фенотипу, де медіана загальної виживаності становила лише 8,8 місяців, а значна частка подій (смертей) фіксувалася у перші два роки спостереження.

Результати Log-rank тесту підтвердили статистично значущі відмінності між кривими загальної виживаності у трьох фенотипах ( $\chi^2 = 35,29$ ;  $p < 0,001$ ). Пацієнти з імуноактивним фенотипом мали достовірно кращу загальну виживаність порівняно з імуносупресивним та нейтральним/змішаним фенотипами, тоді як імуносупресивний фенотип асоціювався з найгіршим прогнозом (рис. 4.6).

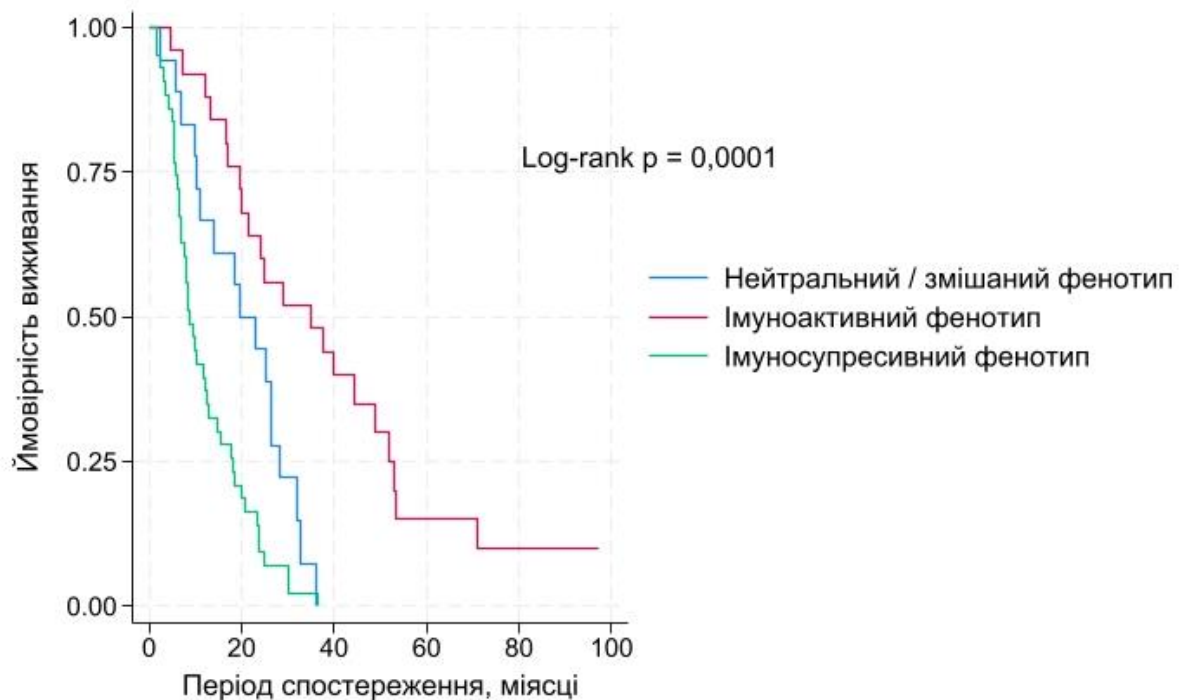


Рисунок 4.6 – Криві Каплана–Майєра, що демонструють загальну виживаність у пацієнтів з метастатичним НДКРЛ, залежно від імунного фенотипу пухлинного мікрооточення

Таким чином, отримані дані свідчать, що імунні фенотипи пухлинного мікрооточення мають суттєве прогностичне значення не лише для безрецидивної, а й для загальної виживаності у пацієнтів з метастатичним НДКРЛ, які отримували імунотерапію.

**Незалежні предиктори виживаності.** У багатовимірному регресійному аналізі Кокса було враховано вік, стать, гістологію, експресію CD8<sup>+</sup>, STAT6<sup>+</sup>, співвідношення CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup> та імунні фенотипи. Єдиним незалежним предиктором ризику прогресування виявилось співвідношення CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup>,

яке асоціювалося зі статистично значущим підвищенням ризику (HR = 2,81; 95% ДІ: 1,72–4,59;  $p < 0,001$ ). Жоден із інших показників, включно з CD8<sup>+</sup>, STAT6<sup>+</sup> та імунними фенотипами, не продемонстрував незалежного впливу на виживаність без прогресування.

При оцінці загальної виживаності у тій самій моделі ключовим незалежним фактором також залишалося співвідношення CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup>. Вищі значення цього показника асоціювалися з понад чотирикратним зростанням ризику смерті (HR = 4,34; 95% ДІ: 2,51–7,51;  $p < 0,001$ ). Вік, стать, гістологія, CD8<sup>+</sup>, STAT6<sup>+</sup> та імунні фенотипи не виявили статистично значущого прогностичного значення в багатовимірній моделі (табл. 4.2).

Таблиця 4.2 – Модель пропорційних ризиків Кокса для виживаності без прогресування та загальної виживаності у пацієнтів з метастатичним НДКРЛ

Змінні	Вживаність без прогресування (HR; 95% ДІ)	p	Загальна виживаність (HR; 95% ДІ)	p
Вік	0,98; 0,95–1,01	0,358	0,99; 0,96–1,02	0,657
Стать	1,45; 0,67–3,16	0,338	1,89; 0,88–4,04	0,100
Гістологія	1,20; 0,75–1,94	0,434	1,27; 0,77–2,12	0,341
CD8 <sup>+</sup>	0,83; 0,59–1,17	0,300	0,94; 0,67–1,31	0,728
STAT6 <sup>+</sup>	0,90; 0,62–1,32	0,619	0,79; 0,55–1,15	0,227
CD163 <sup>+</sup> /CD68 <sup>+</sup>	2,81; 1,72–4,59	<0,001	4,34; 2,51–7,51	<0,001
Імунні фенотипи	0,87; 0,56–1,36	0,557	0,85; 0,55–1,31	0,471

Таким чином, хоча криві Каплана–Майєра продемонстрували кращу виживаність пацієнтів з імунноактивним фенотипом, результати багатовимірного аналізу свідчать, що саме показник CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup> є ключовим незалежним предиктором як безрецидивної, так і загальної виживаності у хворих на метастатичний НДКРЛ, які отримували імунотерапію.

#### 4.2. Регуляторні Т-клітини як предиктор відповіді на імунотерапію у хворих на метастатичний недрібноклітинний рак легень

У дослідженні взяли участь 86 пацієнтів із метастатичним НДКРЛ, яких було розподілено на дві групи залежно від рівня експресії Foxp3<sup>+</sup>: 21 пацієнт із низькою експресією та 65 – з високою (рис. 4.7). Середній вік хворих у групі з низькою експресією Foxp3<sup>+</sup> становив 60,0±8,94 років, а у групі з високою експресією – 61,2±7,53 років, без статистично значущої різниці між групами (p=0,166).

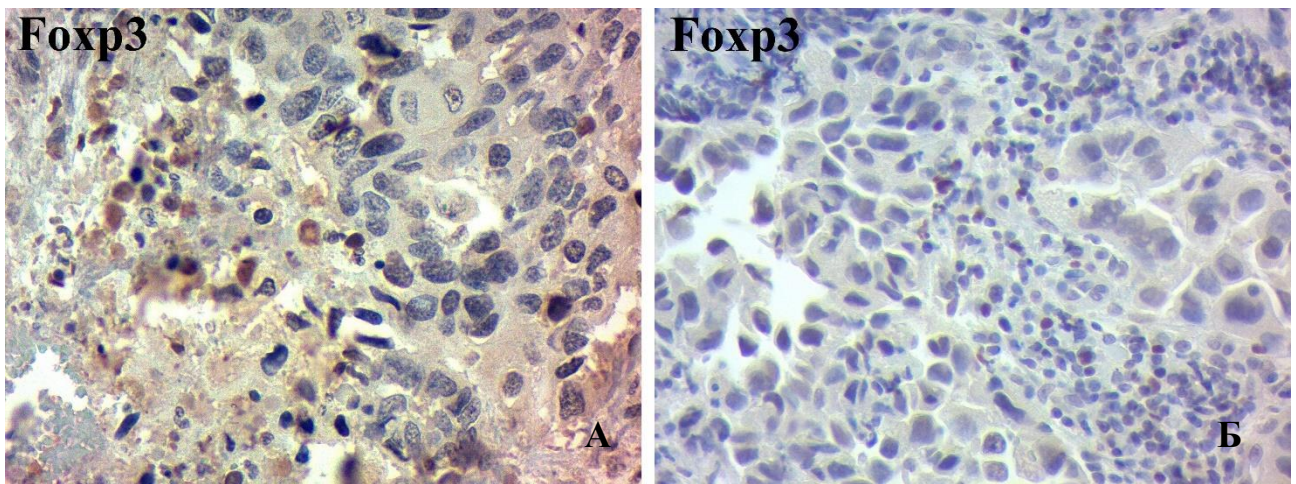


Рисунок 4.7 – Пухлинна тканина НДКРЛ з високою (А) та низькою (Б) експресією Foxp3<sup>+</sup> (збільшення ×400)

Аналіз клініко-патологічних характеристик (стать, статус паління, гістологічний тип, наявність метастазів у легенях, печінці, кістках) не показав достовірних відмінностей між групами (p>0,05 у всіх випадках). Натомість встановлено достовірний зв'язок між рівнем експресії Foxp3<sup>+</sup> та рівнем експресії PD-L1: у пацієнтів з високою експресією Foxp3<sup>+</sup> частіше спостерігався помірний рівень PD-L1 (1–49%) порівняно з високим рівнем (≥50%) (p=0,0008). Цей факт може свідчити про потенційний взаємозв'язок між активністю регуляторних Т-клітин та експресією імунних контрольних точок у пухлинах (табл. 4.3).

Таблиця 4.3 – Зв’язок між клініко-патологічними характеристиками хворих на метастатичний НДКРЛ та експресією Foxp3<sup>+</sup>

Змінні	Низька експресія Foxp3 <sup>+</sup> , n=21	Висока експресія Foxp3 <sup>+</sup> , n=65	p
Вік, n (%)			0,166
Середній	60,0±8,94	61,2±7,53	( $\chi^2$ )
<60	11 (52,4)	23 (35,4)	
≥60	10 (47,6)	42 (64,6)	
Стать, n (%)			0,813†
Чоловіки	18 (85,7)	57 (87,7)	
Жінки	3 (14,3)	8 (12,3)	
Паління, n (%)			0,559†
Ніколи не палили	3 (14,3)	13 (20,0)	
Поточні або колишні курці	18 (85,7)	52 (80,0)	
Гістологічний тип, n (%)			0,429
Аденокарциноми	14 (66,7)	37 (56,9)	( $\chi^2$ )
Плоскоклітинні карциноми	7 (33,3)	28 (43,1)	
Метастази в легенях, n (%)			0,709
Відсутні	10 (47,6)	34 (52,3)	( $\chi^2$ )
Присутні	11 (52,4)	31 (47,7)	
Метастази в печінці, n (%)			0,621
Відсутні	14 (66,7)	47 (72,3)	( $\chi^2$ )
Присутні	7 (33,3)	18 (27,7)	
Метастази в кістках, n (%)			0,931
Відсутні	14 (66,7)	44 (67,7)	( $\chi^2$ )
Присутні	7 (33,3)	21 (32,3)	
Експресія PD-L1, n (%)			0,0008
1–49%	12 (57,1)	55 (84,6)	( $\chi^2$ )
≥50	9 (42,9)	10 (15,4)	

Примітка: ( $\chi^2$ ) – тест Пірсона; † – точний критерій Фішера.

**Вживаність пацієнтів.** Методом Каплана-Майєра було проведено аналіз виживаності без прогресування залежно від рівня експресії Foxp3<sup>+</sup>. Медіана виживаності без прогресування у пацієнтів з високою експресією Foxp3<sup>+</sup> становила 5,8 місяців (міжквартильний інтервал 4,0–11,9 міс.), тоді як у групі з низькою експресією Foxp3<sup>+</sup> – значно вища: 17,4 місяців (міжквартильний

інтервал 11,2–92,3 міс.). Згідно з лог-ранг тестом, різниця між кривими виживаності без прогресування є статистично значущою ( $\chi^2 = 16,56$ ;  $p < 0,0001$ ), що вказує на несприятливий прогноз при високій експресії Foxp3<sup>+</sup> у пацієнтів з метастатичним НДКРЛ (рис. 4.8).

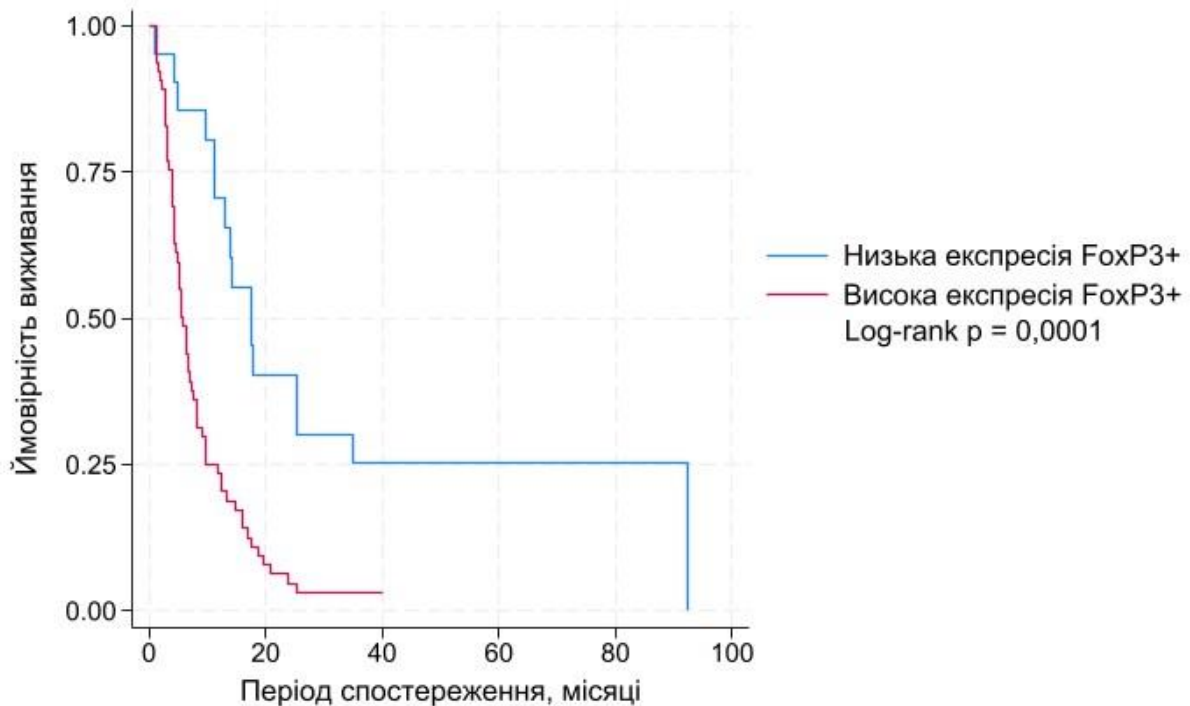


Рисунок 4.8 – Виживаність без прогресування у хворих на метастатичний НДКРЛ з високою та низькою експресією Foxp3<sup>+</sup>

Також проведено аналіз загальної виживаності залежно від рівня експресії Foxp3<sup>+</sup>. У пацієнтів із високою експресією Foxp3<sup>+</sup> медіана загальної виживаності становила 12,2 місяців (міжквартильний інтервал 6,9–23,7 міс.), що було достовірно нижче порівняно з пацієнтами, які мали низьку експресію Foxp3<sup>+</sup>. У них медіана загальної виживаності досягала 30,1 місяця (міжквартильний інтервал 16,8–49,0 міс.). Згідно з результатами лог-ранг тесту, відмінності між кривими загальної виживаності були статистично значущими ( $\chi^2 = 11,28$ ;  $p = 0,0008$ ), що додатково підкреслює негативну прогностичну роль високої експресії Foxp3<sup>+</sup> у цій когорті пацієнтів (рис. 4.9).

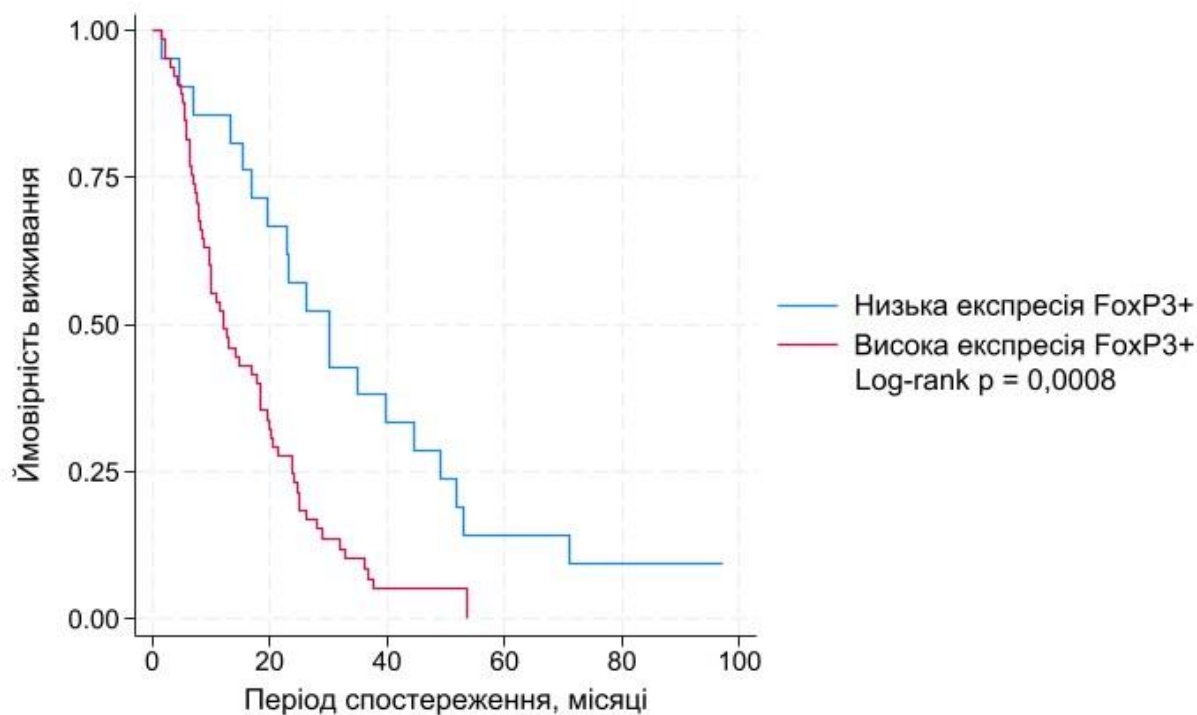


Рисунок 4.9 – Загальна виживаність у хворих на метастатичний НДКРЛ з високою та низькою експресією Foxp3<sup>+</sup>

**Прогностичне значення експресії Foxp3<sup>+</sup>.** Для оцінки прогностичної здатності експресії Foxp3<sup>+</sup> щодо виживаності було проведено ROC-аналіз (рис. 4.10).

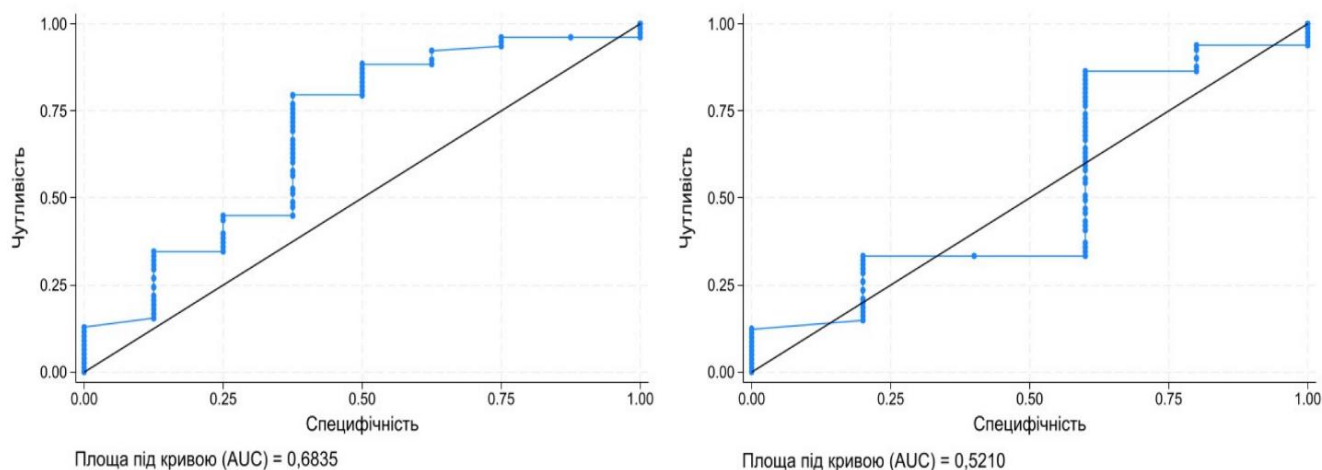


Рисунок 4.10 – ROC-криві для оцінки прогностичної здатності експресії Foxp3<sup>+</sup> щодо виживаності без прогресування (зліва) та загальної виживаності (справа) у пацієнтів з метастатичним НДКРЛ. Лінія діагоналі (чорна) позначає нульовий рівень дискримінації (AUC = 0,5)

У випадку виживаності без прогресування, експресія Foxp3<sup>+</sup> продемонструвала помірну прогностичну точність з площею під кривою 0,6835, що вказує на потенційну клінічну цінність цього маркера. Натомість при оцінюванні загальної виживаності площа під кривою становила лише 0,5210, що не перевищує випадковий рівень, і свідчить про відсутність прогностичної цінності Foxp3<sup>+</sup> у цьому контексті.

Отже, отримані результати вказують на те, що високий рівень інфільтрації Foxp3<sup>+</sup> регуляторними Т-клітинами асоціюється зі зниженою виживаністю у пацієнтів із метастатичним НДКРЛ, які отримують ПКТ. Хоча Foxp3<sup>+</sup> має потенціал як прогностичний біомаркер, його використання в клінічній практиці потребує обережності через функціональну неоднорідність регуляторних Т-клітин та обмеження методології їх оцінки.

#### **4.3. Імуногеномна стратифікація пухлинного мікрооточення при хірургічно пролікованому недрібноклітинному раку легень**

Усього до дослідження було включено 42 пацієнти з хірургічно пролікованим НДКРЛ. Середній вік становив  $58,5 \pm 8,48$  років; більшість пацієнтів були чоловіками (81 %) та мали вік молодше 60 років (52,4 %). Гістологічно переважав плоскоклітинний рак (52,4 %). Усі пацієнти отримали ад'ювантну хіміотерапію, а 35,7 % – додатково імунотерапію; ще 11,9 % хворих проходили променеву терапію.

ІГХ дослідження продемонструвало високу експресію CD8<sup>+</sup> Т-клітин в пухлинних острівцях у 69 % випадків та в стромі – у 52,4 %. Високий рівень регуляторних Т-клітин (Foxp3<sup>+</sup>) виявлено у 57,1 % пацієнтів. Макрофаги M1 переважали як у пухлинних острівцях (61,9 %), так і в стромі (57,1 %). Високу експресію макрофагів M2 у стромі та пухлинних острівцях зафіксовано у 50,0 % та 35,7 % випадків відповідно.

За результатами молекулярно-генетичного аналізу мутації в генах EGFR, ALK, BRAF і KRAS були рідкісними й спостерігалися у 4,8 %, 2,4 %, 2,4 % і 16,7 % пацієнтів відповідно.

**Кластеризація пухлинного мікрооточення.** На основі аналізу головних компонент і кластеризації методом k-середніх було виділено два фенотипово відмінні імунні кластери: імунно активний ( $n = 14$ ) та імуносупресивний ( $n = 28$ ). На рисунку 4.11 представлено розподіл пацієнтів у просторі двох головних компонент, де візуалізовано чітке розділення між кластерами. Пацієнти з імунно активного кластеру демонстрували зосередженість в одній частині діаграми, тоді як пацієнти з імуносупресивним мікрооточенням групувалися окремо, що вказувало на наявність виражених імунних патернів у різних підгрупах.

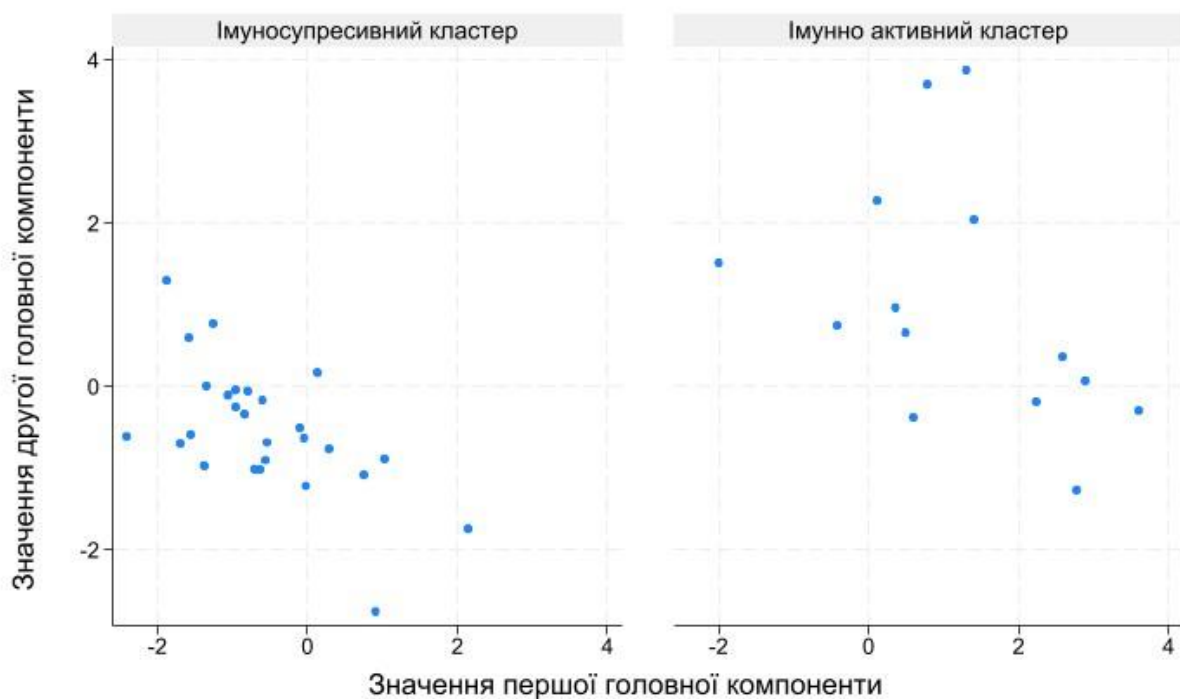


Рисунок 4.11 – Розподіл пацієнтів з НДКРЛ у просторі головних компонент на основі щільності  $CD8^+$  Т-клітин, макрофагів M1/M2 та  $FoxP3^+$  клітин: імуносупресивний кластер (ліворуч) та імунно активний кластер (праворуч)

До імунно активного кластеру належали пацієнти з високою щільністю  $CD8^+$  та M1-клітин в пухлинних острівцях та стромі, низькою експресією  $FoxP3^+$  та M2 в пухлинних острівцях та стромі (рис. 4.12). До імуносупресивного кластеру були включені пацієнти з низькою експресією  $CD8^+$  і M1 в пухлинних острівцях та стромі, високою експресією  $FoxP3^+$  і M2 в пухлинних острівцях та стромі (рис. 4.13).

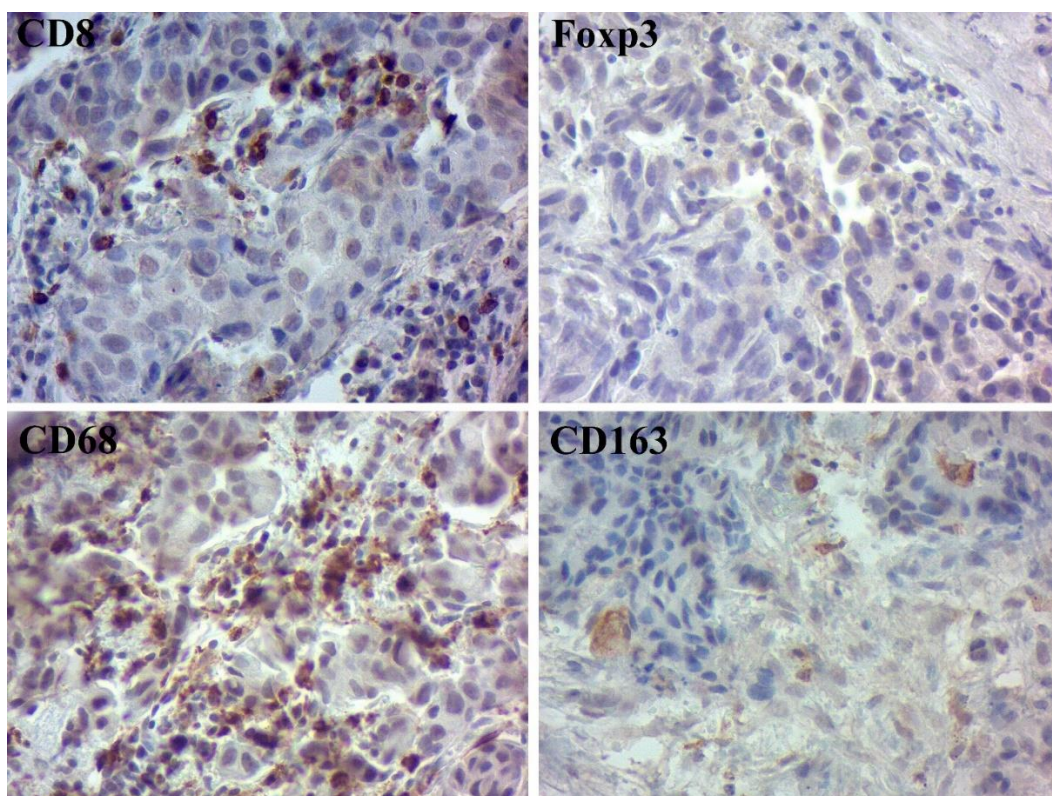


Рисунок 4.12 – Зразок пухлинної тканини хворого з хірургічно пролікованим НДКРЛ, що належить до імунно активного кластеру

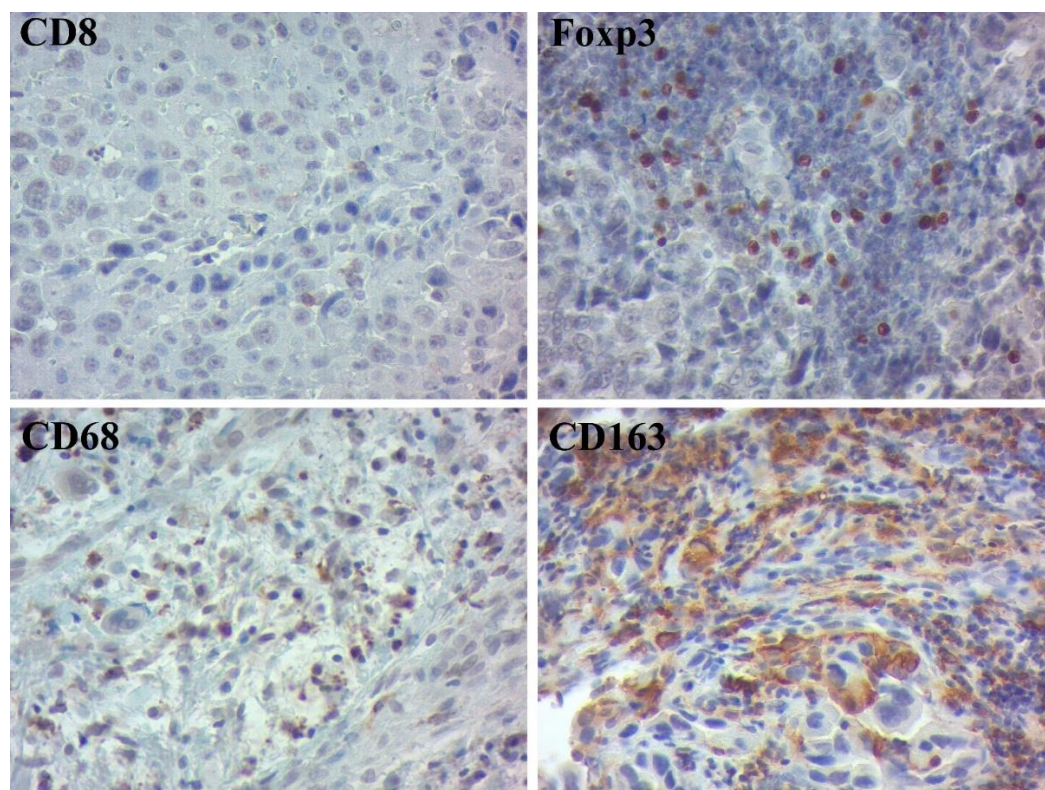


Рисунок 4.13 – Зразок пухлинної тканини хворого з хірургічно пролікованим НДКРЛ, що належить до імуносупресивного кластеру

Таким чином, аналіз головних компонент у поєднанні з кластеризацією дозволив виявити два чітко диференційовані імунні фенотипи серед пацієнтів із НДКРЛ, що може мати прогностичне та предиктивне значення щодо відповіді на імунотерапію.

**Оцінювання виживаності.** Для оцінки прогностичного значення кластерів пухлинного мікрооточення щодо безрецидивної виживаності було проведено аналіз виживаності методом Каплана-Майєра. Виживаність порівнювали між пацієнтами двох кластерів, сформованих на основі імунного профілю пухлини. Медіана безрецидивної виживаності у пацієнтів імунно активного кластеру становила 98,8 місяця проти 27,8 місяця у пацієнтів імуносупресивного кластеру, однак ця різниця не досягла статистичної значущості згідно з Log-rank тестом ( $\chi^2 = 0,37$ ;  $p = 0,5433$ ; рис. 4.14).

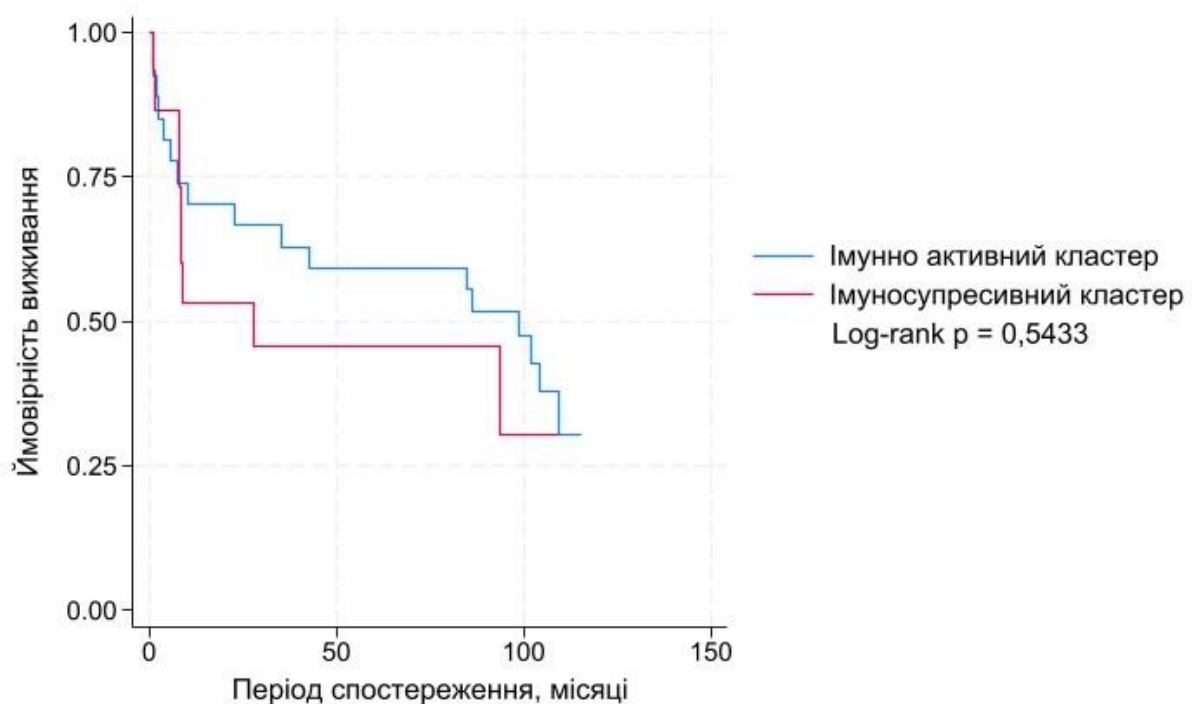


Рисунок 4.14 – Безрецидивна виживаність у хірургічно пролікованих хворих на НДКРЛ у залежності від кластерів пухлинного мікрооточення

Додатково було проведено аналіз загальної виживаності у хірургічно пролікованих пацієнтів із НДКРЛ залежно від кластерної належності за профілем пухлинного мікрооточення. Пацієнти імунно активного кластеру демонстрували

довший період загальної виживаності, ніж пацієнти імуносупресивного кластеру (114,5 місяців проти 38,1 місяців, відповідно). Проте, згідно з тестом log-rank, статистично значущої різниці між кривими не виявлено ( $\chi^2 = 0,61$ ;  $p = 0,4354$ ; рис. 4.15).

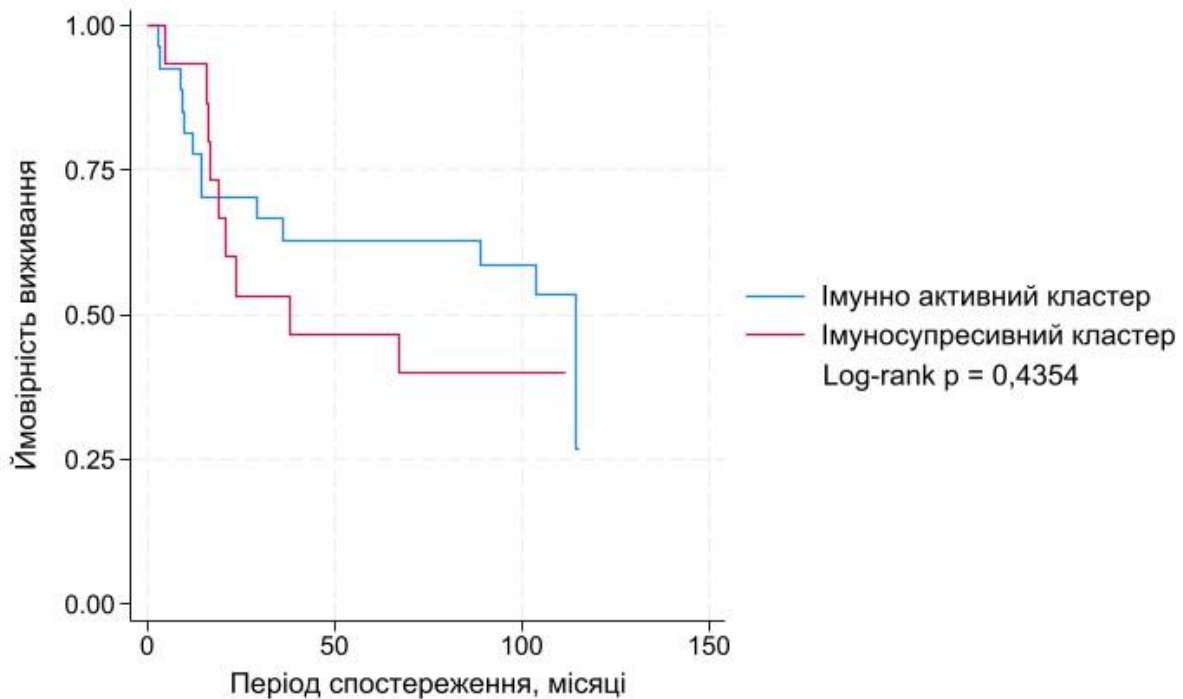


Рисунок 4.15 – Загальна виживаність у хірургічно пролікованих хворих на НДКРЛ у залежності від кластерів пухлинного мікрооточення

Отримані результати свідчать про тенденцію до більш тривалого контролю захворювання у пацієнтів з імуно активним мікрооточенням. Однак, відсутність статистично значущої різниці, ймовірно, зумовлена обмеженим розміром вибірки та кількістю подій.

**Молекулярний профіль пухлин за даними секвенування наступного покоління.** За результатами секвенування нового покоління у 42 зразках пухлинної тканини НДКРЛ загалом було виявлено 11 мутацій. У пацієнтів імуноактивного кластера ( $n = 14$ ) мутації були виявлені у трьох осіб (21,4 %). Серед них – одна мутація EGFR Leu858Arg (с.2573T>G), одна заміна KRAS G12C (с.34G>T) та одна мутація KRAS A146S (с.436G>T).

Серед пацієнтів імуносупресивного кластера ( $n = 28$ ) мутації виявлено у восьми осіб (28,6 %). У цій групі зафіксовано один випадок мутації EGFR Leu858Arg, одну транслокацію ALK (злиття EML4–ALK між екзонами 6 і 20; координати хромосоми chr2:42503838–29447579), а також шість мутацій у гені KRAS: дві G12C (с.34G>T), одну G12A (с.35G>C) та дві G12D (с.35G>A). Крім того, в одному випадку було виявлено мутацію BRAF V600E (с.1799T>A).

Мутацій у генах ROS1, NRAS, RET, ERBB2, MET та PIK3CA не виявлено в жодному з кластерів. Загальна частота мутацій достовірно не відрізнялася між імунними фенотипами (21,4 % проти 28,6 %;  $p = 0,8099$ ), що свідчить про можливу незалежність імунного мікрооточення від наявності поширених онкогенних драйверних змін.

Таким чином, імунний фенотип пухлинного мікрооточення може мати прогностичне та предиктивне значення у хірургічно пролікованих пацієнтів з НДКРЛ. Не зважаючи на відсутність статистичної значущості у показниках загальної та безрецидивної виживаності, пацієнти з імунно активним профілем демонстрували тенденцію до тривалішого виживання.

#### **4.4. Прогностичне значення TP53 та PD-L1 залежно від виду ад'ювантної терапії у хворих на недрібноклітинний рак легень**

У дослідження було включено 42 пацієнти з хірургічно пролікованим НДКРЛ, які отримували лікування у вигляді хіміотерапії ( $n = 27$ ; 64,3 %) або комбінації ПКТ та хіміотерапії ( $n = 15$ ; 35,7 %). Середній вік пацієнтів у групі ПКТ+хіміотерапія становив  $59,7 \pm 5,18$  років (95% ДІ: 56,8–62,6), у той час як у групі хіміотерапії –  $57,7 \pm 9,86$  років (95% ДІ: 53,8–61,6); статистично значущої різниці за віком не виявлено. Переважна більшість пацієнтів у обох групах були чоловіками, курцями. Статистично достовірної відмінності за цими показниками, а також за гістологічними типами пухлин та стадіями захворювання не було помічено.

Мутантний тип p53 частіше спостерігалися у групі ПКТ+хіміотерапія (60,0 %), тоді як дикий тип p53 переважав у групі хіміотерапії (63,0 %), проте ця

різниця не досягла статистичної значущості. Найбільш значущу відмінність виявлено при порівнянні експресії PD-L1: у групі ПКТ+хіміотерапія усі пацієнти (100,0 %) мали позитивну експресію PD-L1, тоді як у групі хіміотерапії позитивну експресію мали лише 55,6 % пацієнтів ( $p = 0,003$ ; табл. 4.4).

Таблиця 4.4 – Базові клініко-патологічні характеристики хірургічно пролікованих хворих на НДКРЛ

Змінні	ПКТ+хіміотерапія 15 (35,7%)	Хіміотерапія 27 (64,3%)	p
Вік, n (%)			0,927
Середній	59,7±1,33	57,7±1,89	
95% довірчий інтервал	56,8–62,6	53,8–61,6	
< 60	8 (53,3)	14 (51,9)	
≥ 60	7 (46,7)	13 (48,1)	
Стать, n (%)			0,689
Жіноча	2 (13,3)	6 (22,2)	
Чоловіча	13 (86,7)	21 (77,8)	
Стадія захворювання, n (%)			0,506
IA–IIA	4 (26,7)	11 (40,7)	
IIIB–IIIB	11 (73,3)	16 (59,3)	
Гістологічний варіант пухлини, n (%)			0,461
Аденокарцинома	6 (40,0)	14 (51,9)	
Плоскоклітинний рак	9 (60,0)	13 (48,1)	
Статус паління, n (%)			0,689
Не палили ніколи	2 (13,3)	6 (22,2)	
Теперішні або колишні курці	13 (86,7)	21 (77,8)	
Статус p53, n (%)			0,152
Дикий тип	6 (40,0)	17 (63,0)	
Мутантний тип	9 (60,0)	10 (37,0)	
Експресія PD-L, n (%)			0,003
Негативна	0 (0,0)	12 (44,4)	
Позитивна	15 (100,0)	15 (55,6)	

**Оцінювання виживаності.** Загальний період спостереження за пацієнтами становив 9,5 років. За цей період часу рецидив НДКРЛ було зареєстровано у 9 із 15 (60 %) хворих, які отримували хіміотерапію + ПКТ та 17

із 27 (63 %) хворих, які отримували хіміотерапію. Ми проаналізували медіани виживаності без прогресування та загальної виживаності у підгрупах хірургічно пролікованих пацієнтів із НДКРЛ залежно від типу p53, експресії PD-L1 та виду медикаментозної терапії (табл. 4.5).

Таблиця 4.5 – Медіани виживаності хірургічно пролікованих хворих на НДКРЛ у залежності від типу p53, експресії PD-L та типу медикаментозної терапії

Статус пацієнтів	Дикий тип p53, міс.	Мутантний тип p53, міс.	Log-rank p
<b>Вживаність без прогресування</b>			
PD-L-негативні пацієнти, що отримували хіміотерапію, n=12	109,4	98,8	0,3595
PD-L-позитивні пацієнти, що отримували хіміотерапію, n=15	7,4	5,7	0,3935
PD-L-позитивні пацієнти, що отримували хіміотерапію та ПКТ, n=15	9,1	93,8	0,0293
<b>Загальна виживаність</b>			
PD-L-негативні пацієнти, що отримували хіміотерапію, n=12	114,5	103,8	0,3189
PD-L-позитивні пацієнти, що отримували хіміотерапію, n=15	14,3	19,1	0,2629
PD-L-позитивні пацієнти, що отримували хіміотерапію та ПКТ, n=15	36,4	Медіана не досягнута	0,4923

Серед PD-L1-негативних пацієнтів, які отримували лише хіміотерапію, не виявлено статистично значущих відмінностей у виживаності без прогресування та у загальній виживаності. У групі PD-L1-позитивних пацієнтів, що отримували хіміотерапію без імунотерапії, виживаність без прогресування та загальна виживаність залишалися низькими як у хворих із диким типом p53, так і у хворих з мутантним типом p53 без суттєвої різниці у виживаності.

Найбільш виразна різниця спостерігалась серед PD-L1-позитивних пацієнтів, які отримували хіміотерапію в комбінації з ПКТ. У цій групі пацієнти

з мутантним типом p53 мали суттєво вищу медіану виживаності без прогресування – 93,8 місяців, порівняно з лише 9,1 місяців у пацієнтів із диким типом p53 ( $p = 0,0293$ ). Це єдина підгрупа, в якій було виявлено статистично значущу різницю (рис. 4.16 та рис. 4.17).

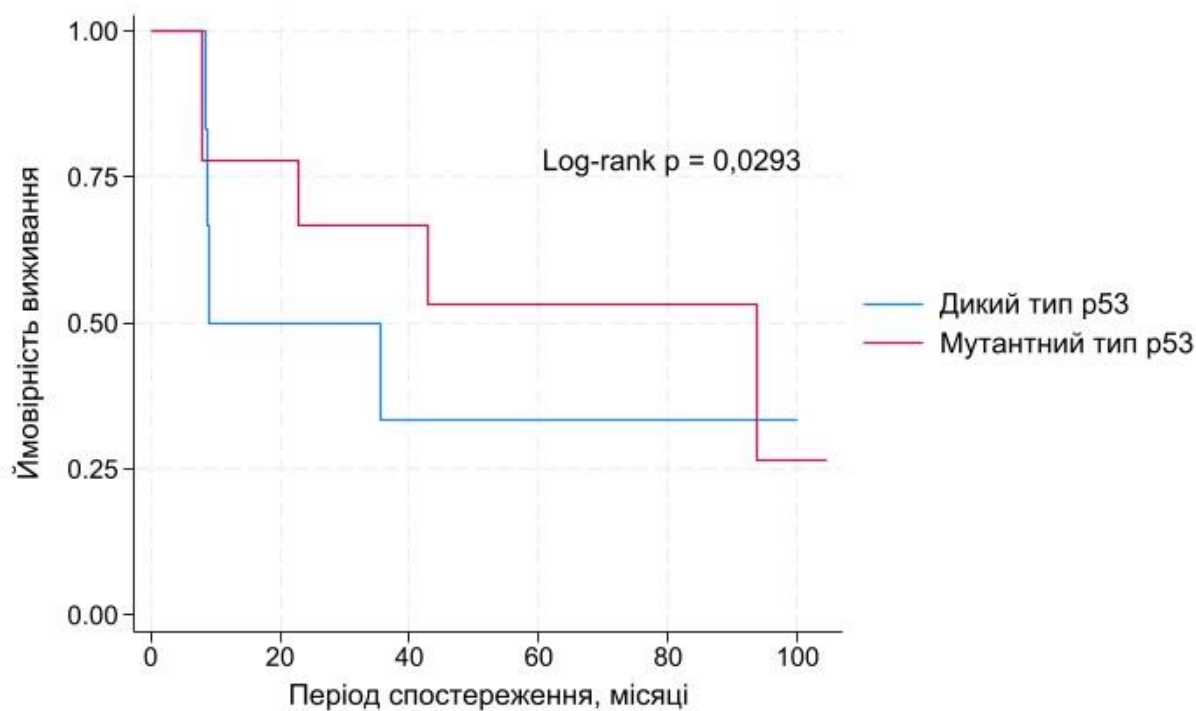


Рисунок 4.16 – Виживаність без прогресування у хірургічно пролікованих PD-L1-позитивних хворих на НДКРЛ, які отримували хіміотерапію в комбінації з ПКТ

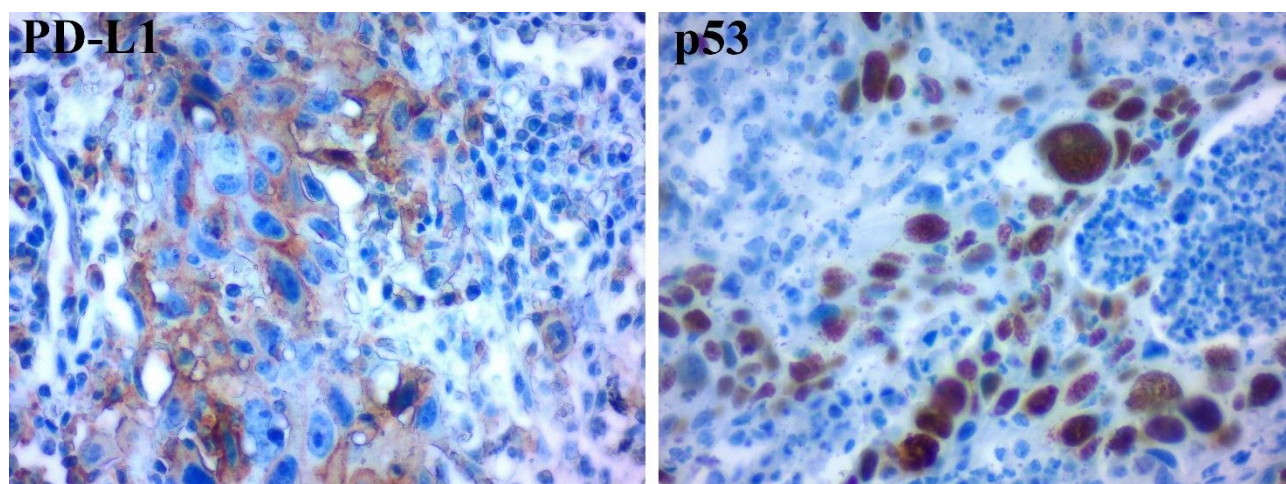


Рисунок 4.17 – Зразок пухлинної тканини НДКРЛ з позитивною експресією PD-L1 та мутантним типом p53 (збільшення  $\times 400$ )

Водночас загальна виживаність у тій же підгрупі була вищою у пацієнтів із мутантним типом p53, але не досягла статистичної значущості: медіана загальної виживаності для пацієнтів з диким типом p53 склала 36,4 місяців, тоді як для пацієнтів з мутантним типом p53 вона не була досягнута, що може вказувати на потенційне покращення виживаності при застосуванні ПКТ саме у хворих із мутаціями в гені TP53 (рис. 4.18).

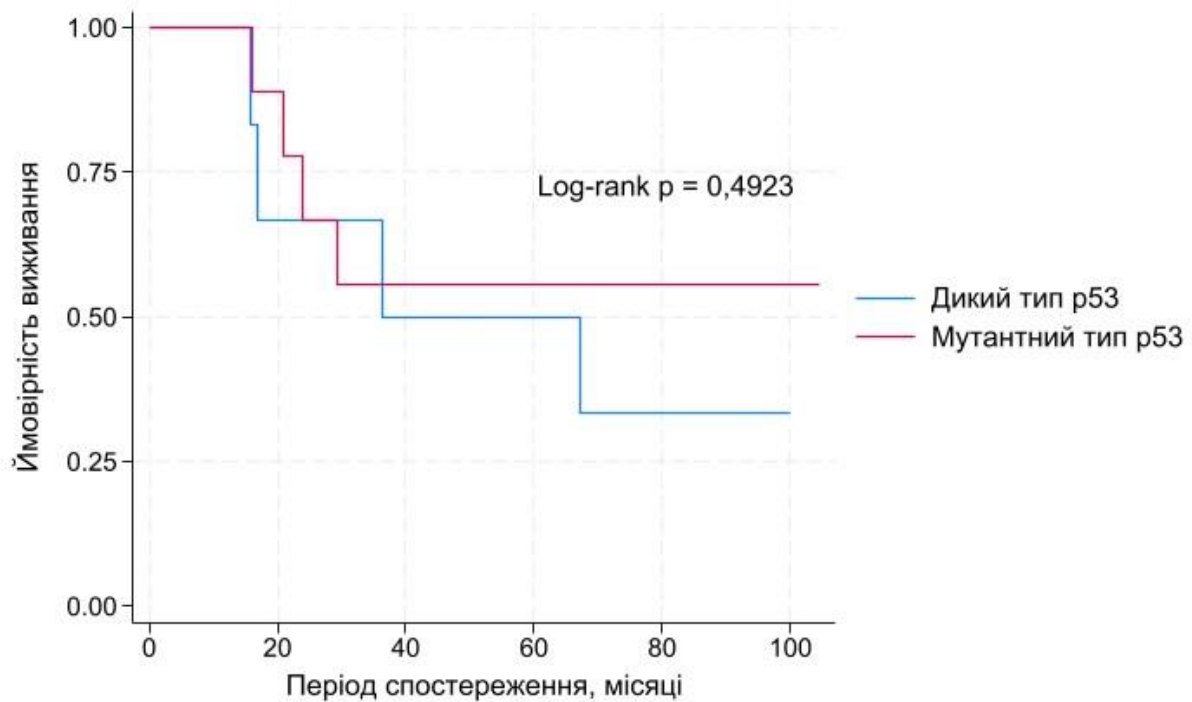


Рисунок 4.18 – Загальна виживаність у хірургічно пролікованих PD-L1-позитивних хворих на НДКРЛ, які отримували хіміотерапію в комбінації з ПКТ

Отже, у хірургічно пролікованих хворих на НДКРЛ з позитивною експресією PD-L1 мутації TP53, визначені імуногістохімічно, асоціюються з достовірно вищою виживаністю без прогресування при застосуванні ад'ювантної хіміо- та імунотерапії. Така асоціація не спостерігалася у PD-L1-негативних пацієнтів, що вказує на значущість взаємодії між TP53 та PD-L1 як предикторів відповіді на імунотерапію.

**Матеріали розділу висвітлені в наступних публікаціях [306–314]:**

– Moskalenko Y, Moskalenko R. Regulatory T cells as predictor of immunotherapy response in patients with metastatic non-small cell lung cancer. *Act. Probl. of the Modern Med.* 2025;25(3):48-3.

– Vynnychenko OI, Moskalenko YV, Moskalenko RA, Dudnichenko OS, Rysovana LM, Hrankina SS. A single-center, cohort study of the mutational profile of Ukrainian patients with non-small cell lung cancer. *Ukr J Radiol Oncol.* 2024; 32(4): 504–517.

– Moskalenko Y, Hyriavenko N, Derevianko T. Immunogenomic stratification of the tumor microenvironment in surgically treated non-small cell lung cancer: A Ukrainian single-center experience. *Regul. Mech. Biosyst.* 2025;16(3):e25136.

– Moskalenko Y, Hyriavenko N. Prognostic significance of TP53 and PD-L1 depending on the type of adjuvant therapy in patients with non-small cell lung cancer. *Buk Med Herald.* 2025;29(3):17–22.

– Romaniuk A., Moskalenko Y., Baryshok A., Moskalenko R. Expression of FOXP3 in the microenvironment of non-small cell lung cancer tissue on the background of the application of immunotherapy. 36-th European Congress of Pathology. 7–11 September 2024, Florence, Italy: *Virchovs Archiv*, 2024; 485 (Suppl 1): 450.

– Москаленко Ю. Поширеність TP53 ко-мутацій у пацієнтів з недрібноклітинним раком легень. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих учених «Медична наука – 2024»: матеріали. 5 грудня 2024 р., м. Полтава. Полтава, 2024: 46.

– Denysenko A., Moskalenko Y., Moskalenko R. Immune phenotypes in patients with non-small cell lung cancer and their association with smoking. 37-th European Congress of Pathology. 6-10 September 2025, Vienna, Austria: *Virchovs Archiv*, 2025; 487 (Suppl 1): PS-26-001.

42. Sulaieva O., Seleznov O., Kozakov D., Koshyk O., Lapsar H., Livshun S., et al. Immune contexture of non-small cell lung cancer with actionable mutations:

deciphering the mechanisms of immune evasion. United States and Canadian Academy of Pathology's 114th Annual Meeting. 22-27 March 2025, Boston, USA: Lab Invest, 2025; Vol. 105, Suppl.1: 48.

– Moskalenko Y, Moskalenko R. Prognostic significance of immune phenotypes in patients with metastatic non-small cell lung cancer. The journal of V. N. Karazin National University. Series Medicine. 2025;33(5):675-689.

## РОЗДІЛ 5

### ВИВЧЕННЯ ПРЕДИКТОРІВ ЕФЕКТИВНОСТІ ІНГІБІТОРІВ ІМУННИХ КОНТРОЛЬНИХ ТОЧОК НА РІВНІ ГЕНОМУ

#### 5.1. Імунний підтип як модератор прогностичної значущості мутацій у хворих на аденокарциному легень: аналіз даних TCGA

У дослідження було включено 390 хворих на аденокарциному легень. Середній вік пацієнтів становив  $65,2 \pm 10,06$  років (інтервал: 39–88), із незначним переважанням жінок (54,1 %). Пацієнтів було поділено на три підгрупи відповідно до імунного підтипу пухлини: високий ( $n = 150$ ), середній ( $n = 150$ ) та низький ( $n = 90$ ).

Між підгрупами спостерігалася статистично значуща різниця у віці: пацієнти з високим імунним підтипом були найстаршими ( $p = 0,0097$ ). Розподіл за статтю та стадією захворювання істотно не відрізнявся між підгрупами. Найвищу частоту мутацій TP53 зафіксовано в групі з середнім імунним підтипом (64,7 %), тоді як у групі з високим імунним підтипом ця частка була найнижчою (30 %) ( $p < 0,0001$ ). Мутації KRAS частіше траплялися у пацієнтів з високим імунним підтипом (39,3 %,  $p = 0,024$ ). Для інших мутацій (STK11, KEAP1, EGFR, BRAF) та ко-мутацій статистично значущих відмінностей не виявлено (табл. 5.1).

Таблиця 5.1 – Клініко-патологічна та молекулярно-генетична характеристика хворих на аденокарциному легень відповідно до категорій імунних підтипів

Змінні	Загалом, $n=390$	Високий імунний підтип, $n=150$	Середній імунний підтип, $n=150$	Низький імунний підтип, $n=90$	$p$
Середній вік (роки, інтервал)	$65,2 \pm 10,06$ (39–88)	$67,0 \pm 9,23$ (41–87)	$60,0 \pm 9,67$ (39–88)	$62,7 \pm 11,4$ (40–87)	0,0097
Стать, $n$ (%)					0,496
Жіноча	211 (54,1)	85 (56,7)	82 (54,7)	44 (48,9)	
Чоловіча	179 (45,9)	65 (43,3)	68 (45,3)	46 (51,1)	

Продовження таблиці 5.1

Змінні	Загалом, n=390	Високий імунний підтип, n=150	Середній імунний підтип, n=150	Низький імунний підтип, n=90	p
Стадія, n (%)					0,228
I	190 (48,7)	84 (56,0)	74 (49,3)	32 (35,6)	
II	76 (19,5)	25 (16,7)	30 (20,0)	21 (23,3)	
III	51 (13,1)	19 (12,7)	18 (12,0)	14 (15,6)	
IV	18 (4,6)	6 (3,9)	6 (4,0)	6 (6,7)	
Невідома	55 (14,1)	16 (10,7)	22 (14,7)	17 (18,9)	
Мутація TP53, n (%)					<0,001
Присутня	194 (49,7)	45 (30,0)	97 (64,7)	52 (57,8)	
Відсутня	196 (50,3)	105 (70,0)	53 (35,3)	38 (42,2)	
Мутація KRAS, n (%)					0,024
Присутня	126 (32,3)	59 (39,3)	37 (24,7)	30 (33,3)	
Відсутня	264 (67,7)	91 (60,7)	113 (75,3)	60 (66,7)	
Мутація STK11, n (%)					0,142
Присутня	62 (15,9)	23 (15,3)	19 (12,7)	20 (22,2)	
Відсутня	328 (84,1)	127 (84,7)	131 (87,3)	70 (77,8)	
Мутація KEAP1, n (%)					0,196
Присутня	71 (18,2)	23 (15,3)	26 (17,3)	22 (24,4)	
Відсутня	319 (81,8)	127 (84,7)	124 (82,7)	68 (75,6)	
Мутація EGFR, n (%)					0,403
Присутня	57 (14,6)	21 (14,0)	26 (17,3)	10 (11,1)	
Відсутня	333 (85,4)	129 (86,0)	124 (82,7)	80 (88,9)	
Мутація BRAF, n (%)					0,651
Присутня	26 (6,7)	8 (5,3)	12 (8,0)	6 (6,7)	
Відсутня	364 (93,3)	142 (94,7)	138 (92,0)	84 (93,3)	
Ко-мутація KRAS+TP53, n (%)					0,115
Присутня	45 (11,5)	11 (8,0)	22 (14,7)	12 (13,3)	
Відсутня	345 (88,5)	138 (92,0)	128 (85,3)	78 (86,7)	
Ко-мутація KRAS+STK11, n (%)					0,103
Присутня	33 (8,5)	16 (10,7)	7 (4,7)	10 (11,1)	
Відсутня	357 (91,5)	134 (89,3)	143 (95,3)	80 (88,9)	

Продовження таблиці 5.1

Змінні	Загалом, n=390	Високий імунний підтип, n=150	Середній імунний підтип, n=150	Низький імунний підтип, n=90	p
Ко-мутація KRAS+KEAP1, n (%)					0,058
Присутня	30 (7,7)	13 (8,7)	6 (4,0)	11 (12,2)	
Відсутня	360 (92,3)	137 (91,3)	144 (96,0)	79 (87,8)	
Ко-мутація STK11+KEAP, n (%)					0,103
Присутня	18 (4,6)	8 (5,3)	3 (2,0)	7 (7,8)	
Відсутня	372 (95,4)	142 (94,7)	147 (98,0)	83 (92,2)	

**Вживаність пацієнтів з різними імунними підтипами.** Для оцінки впливу імунного мікрооточення на перебіг аденокарциноми легень було проведено аналіз загальної виживаності за методом Каплана–Майєра з подальшим порівнянням кривих між визначеними імунними підтипами пухлини. До аналізу були включені пацієнти з доступними клінічними та молекулярно-біологічними характеристиками, що дозволило забезпечити репрезентативність вибірки та коректність стратифікації. На момент завершення спостереження у когорті зафіксовано 204 (52,3%) летальні випадки, що забезпечило достатню кількість подій для статистичного аналізу.

Отримані дані продемонстрували чітку тенденцію до покращення загальної виживаності зі зростанням рівня імунної активності пухлини. Медіана загальної виживаності у пацієнтів із високим імунним підтипом становила 59,7 місяця, що суттєво перевищувало показники групи із середньою імунною активністю (45,2 місяця) та особливо групи з низьким імунним підтипом, де медіана виживаності становила лише 29,9 місяця. Застосований Log-rank тест показав статистично значущі відмінності між трьома групами ( $\chi^2 = 12,76$ ;  $p = 0,0017$ ), що підкреслює силу взаємозв'язку між рівнем імунного підтипу та виживаністю пацієнтів з аденокарциномою легень (рис. 5.1). Аналіз наочно демонструє поступове погіршення прогнозу зі зниженням імунної активності, що

відповідає біологічним уявленням про роль цитотоксичних Т-лімфоцитів, макрофагів та інших компонентів мікрооточення у контролі росту пухлини.

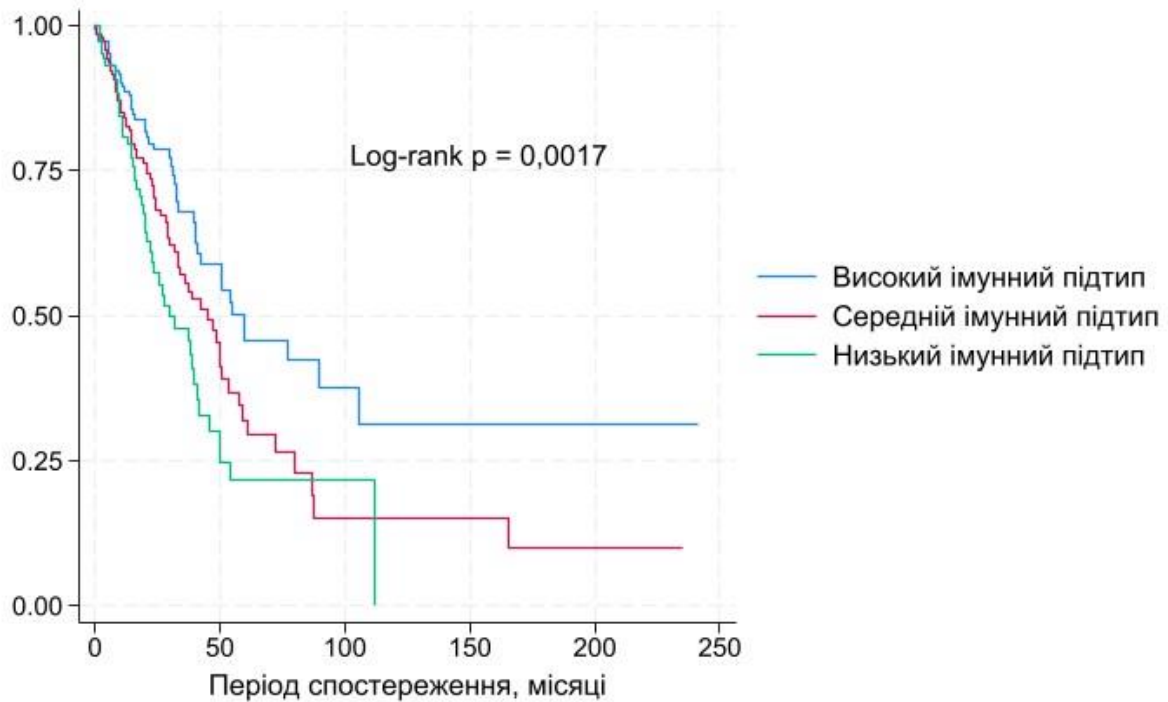


Рисунок 5.1 – Криві загальної виживаності Каплана–Майєра відповідно до імунного підтипу пухлини

***Предиктори виживаності у хворих з різними імунними підтипами.***

Послідовно було проведено багатофакторний регресійний аналіз Кокса для підгруп пацієнтів із високим, середнім та низьким імунними підтипами. У когорті пацієнтів з високим імунним підтипом серед проаналізованих змінних статистично значущу асоціацію з ризиком смерті продемонстрували стадія захворювання, мутація STK11 та ко-мутація KRAS+TP53. Кожне підвищення стадії захворювання асоціювалося зі збільшенням ризику смерті на 46 % (HR = 1,46; 95% ДІ: 1,10–1,95;  $p = 0,010$ ). Мутація STK11 була пов'язана з майже чотириразовим зростанням ризику смерті (HR = 3,89; 95% ДІ: 1,18–12,84;  $p = 0,026$ ). Ко-мутація KRAS+TP53 мала ще вищу прогностичну значущість (HR = 5,14; 95% ДІ: 1,27–20,86;  $p = 0,022$ ). Інші змінні, включаючи вік, стать, поодинокі мутації KRAS, TP53, KEAP1, EGFR або BRAF, а також інші ко-мутації, не продемонстрували достовірного впливу на загальну виживаність (усі  $p > 0,05$ ).

Отримані результати свідчать, що навіть у підгрупі пацієнтів із загальом сприятливим імунним мікрооточенням, мутації STK11 та поєднання мутацій KRAS+TP53 залишаються несприятливими прогностичними факторами, що значно підвищують ризик смерті (рис. 5.2).

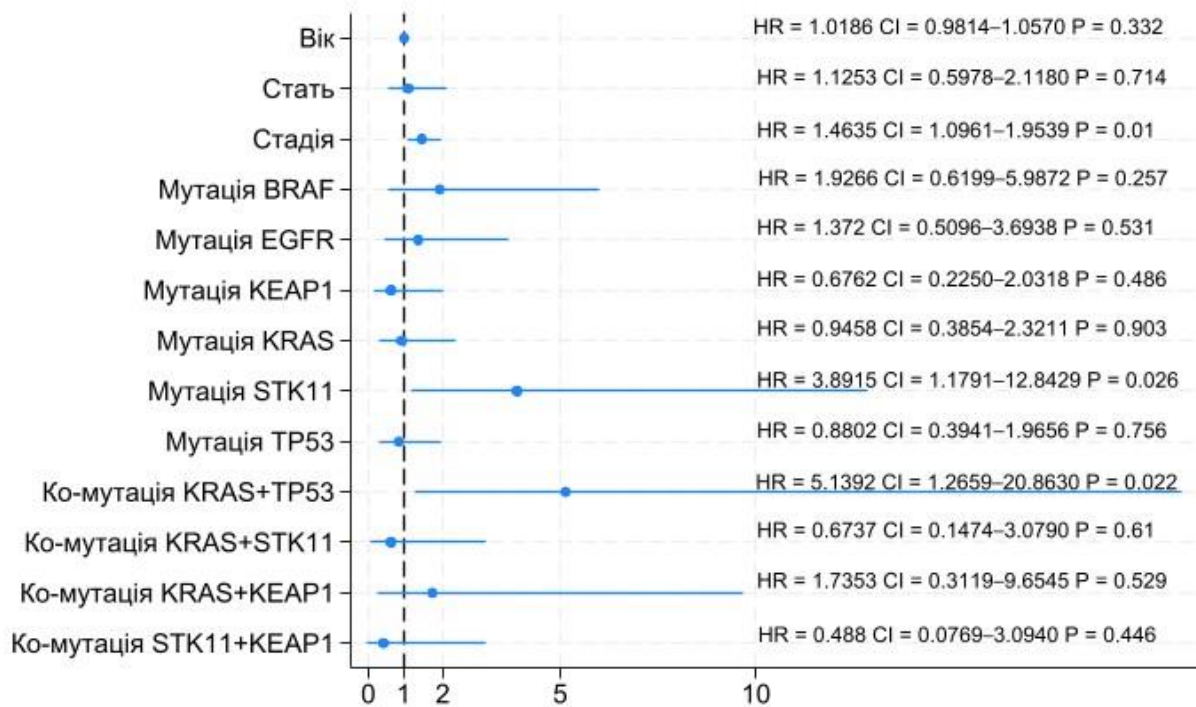


Рисунок 5.2 – Лісовий графік, що демонструє прогностичні фактори виживаності у пацієнтів з високим імунним підтипом за даними регресії Кокса

У хворих із середнім імунним підтипом статистично значущими прогностичними предикторами загальної виживаності були вік, ко-мутація KRAS+STK11, ко-мутація KRAS+KEAP1 та ко-мутація STK11+KEAP1. Ризик смерті зростав на 3,4 % з кожним роком життя (HR = 1,034; 95% CI: 1,01–1,06; p = 0,021). Ко-мутація KRAS+STK11 асоціювалася з понад 10-кратним підвищенням ризику смерті (HR = 10,57; 95% CI: 1,56–71,41; p = 0,016). Ко-мутація KRAS+KEAP1 також мала несприятливий вплив (HR = 6,67; 95% CI: 1,31–33,93; p = 0,022). Проте, найбільш значуще підвищувала ризик смерті, до 16,6 разів (HR = 16,60; 95% CI: 1,94–142,21; p = 0,010) ко-мутація STK11+KEAP1. Інші клініко-генетичні фактори (стать, стадія, окремі мутації BRAF, EGFR,

KRAS, TP53 тощо) не показали достовірного впливу на виживаність у цій підгрупі (усі  $p > 0,05$ ).

Таким чином, хоча пацієнти з середнім імунним підтипом загалом мають помірний прогноз, наявність подвійних мутацій, особливо STK11+KEAP1, значно погіршує виживаність. Це може свідчити про взаємодію мутаційного профілю з імунним мікрооточенням пухлини (рис. 5.3).

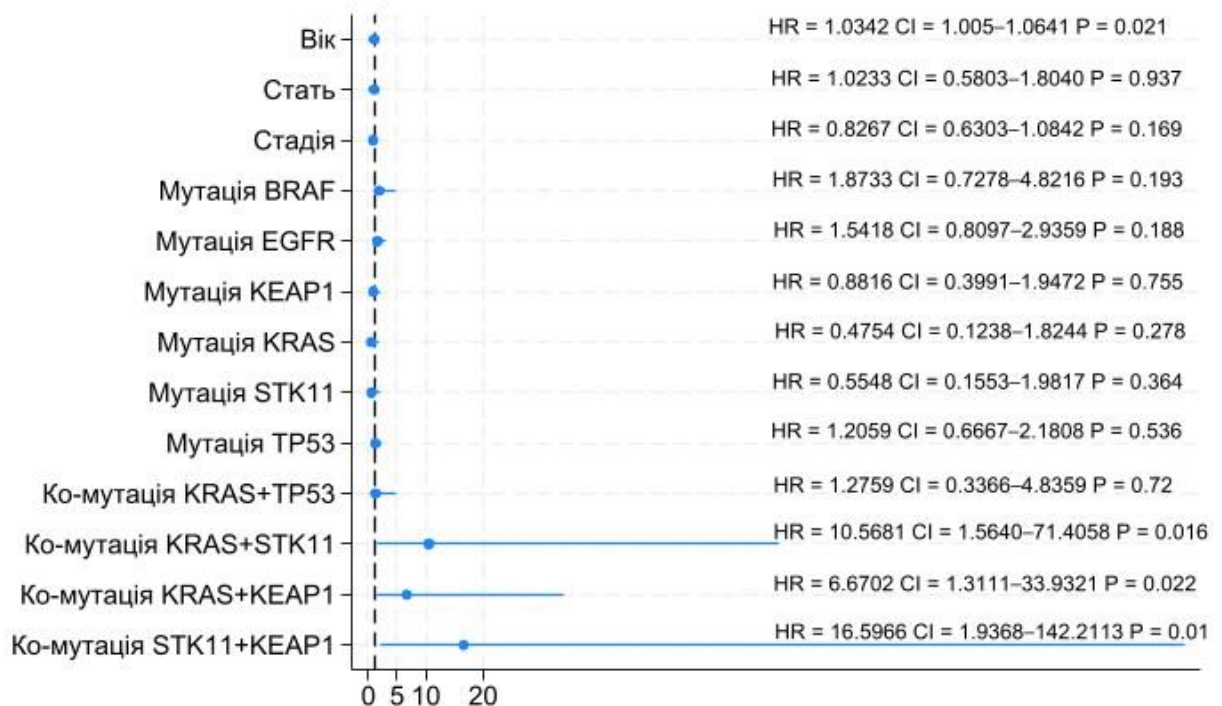


Рисунок 5.3 – Лісовий графік, що демонструє прогностичні фактори виживаності у пацієнтів з середнім імунним підтипом за даними регресії Кокса

У пацієнтів з низьким імунним підтипом жодний із досліджуваних факторів не виявився статистично значущим (усі  $p > 0,05$ ). Водночас спостерігалися тенденції до підвищення ризику смерті для деяких факторів. Зокрема мутація KRAS асоціювалася з підвищенням ризику смерті більш ніж у 3 рази (HR = 3,09; 95% CI: 0,83–11,50;  $p = 0,092$ ). Щодо статі, то чоловіки мали вищий ризик смерті (HR = 1,79; 95% CI: 0,89–3,57;  $p = 0,100$ ), ніж жінки.

Мутації TP53 (HR = 2,04) та EGFR (HR = 2,36) також показали несприятливі асоціації, однак вони не досягли статистичної значущості ( $p = 0,107$ ). Інші

генетичні зміни, включаючи ко-мутації (KRAS+TP53, STK11+KEAP1 тощо), не мали достовірного впливу на виживаність у цій підгрупі.

Отже, у пацієнтів з аденокарциномами легень, що мають низький імунний підтип жодна змінна не мала статистично значущого зв'язку з виживаністю, однак спостерігалася тенденція до гіршого прогнозу при наявності мутації KRAS. Можливо, невеликий розмір вибірки ( $n = 90$ ) обмежив статистичну потужність моделі (рис. 5.4).

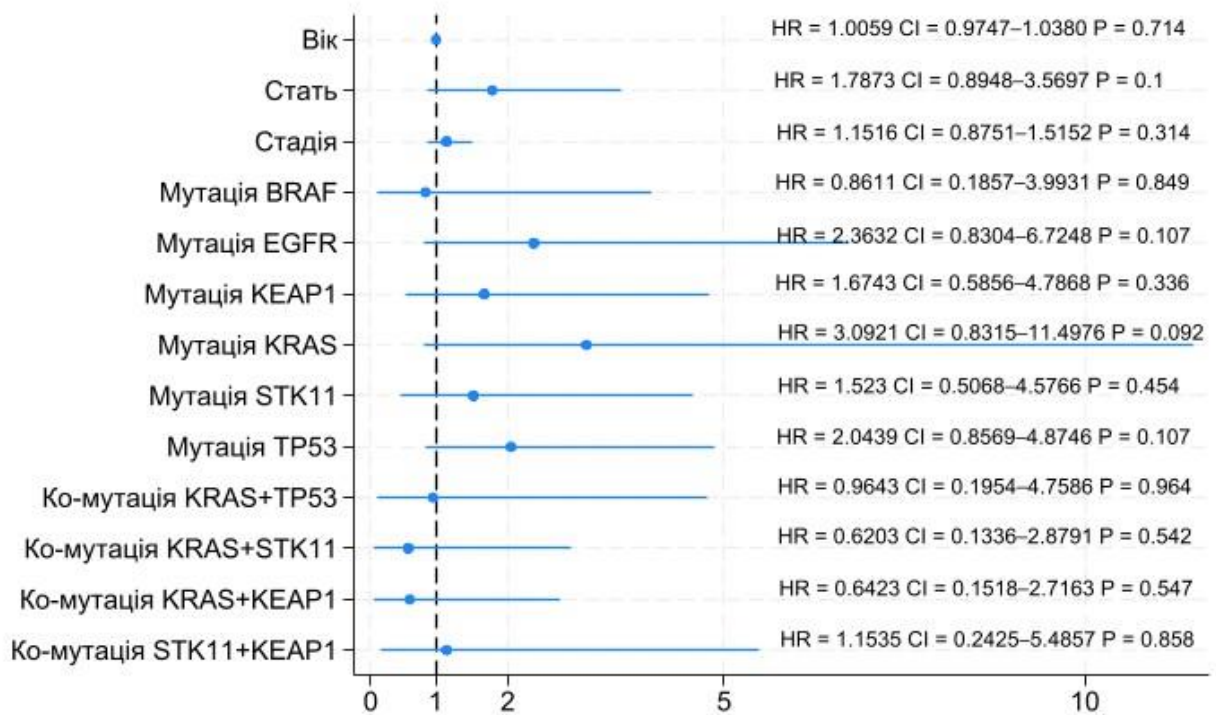


Рисунок 5.4 – Лісовий графік, що демонструє прогностичні фактори виживаності у пацієнтів з низьким імунним підтипом за даними регресії Кокса

Таким чином, взаємодія між мутаційним профілем та імунним мікрооточенням пухлини є ключовим чинником, що впливає на виживаність хворих на аденокарциному легень. Мутації STK11, KEAP1, KRAS та TP53 мають значний прогностичний вплив залежно від імунного підтипу пухлини.

## 5.2. Молекулярні та імунні предиктори виживаності при плоскоклітинній карциномі легень: дослідження на основі даних TCGA

У цьому дослідженні проаналізовано взаємозв'язок між мутаційним статусом, імунним підтипом та загальною виживаністю у 419 пацієнтів із плоскоклітинною карциномою легень. Дослідження було зосереджено на найбільш часто змінених генах (TP53, TTN, PIK3CA та KEAP1/NFE2L2), причому їхній прогностичний вплив оцінювався як окремо, так і в комбінаціях. Підгруповий аналіз проводився з урахуванням класифікації імунних підтипів для визначення потенційної взаємодії між мутаційним та імунологічним профілями.

Середній вік досліджуваної когорти становив  $67,0 \pm 8,53$  року (діапазон: 39–84 роки), причому 74,7% пацієнтів були чоловіками. Переважна більшість випадків була діагностована на ранніх стадіях: 43,2 % – стадія I, 29,6 % – стадія II. За класифікацією імунних підтипів, 41,3 % пацієнтів ( $n = 173$ ) належали до групи з високою або середньою імунною активністю пухлини (C2, C3, C6), тоді як 58,7 % ( $n = 246$ ) були віднесені до підтипу з низькою імунною активністю (C1, C4).

Щодо мутаційного статусу: мутації TP53 виявлено у 90,0 % пацієнтів ( $n = 377$ ), TTN – у 85,0 % ( $n = 356$ ), а PIK3CA – у 13,4 % ( $n = 56$ ). Через функціональну спорідненість та взаємовиключення, мутації KEAP1 і NFE2L2 були об'єднані в єдину змінну, яка виявлялася у 27,9 % випадків ( $n = 117$ ). Найпоширенішою комутацією була TTN+TP53, яка зустрічалась у 76,1 % пацієнтів ( $n = 319$ ), тоді як TP53+PIK3CA – у 11,5% ( $n = 48$ ). Частоти цих мутацій не мали статистично значущої різниці між імунними підтипами, за винятком KEAP1/NFE2L2, які частіше виявлялись у групі з низькою імунною активністю ( $p = 0,012$ ).

### *Асоціації між мутаційним статусом і імунними підтипами.*

Порівняльний аналіз не виявив статистично значущих відмінностей у частотах мутацій TP53 ( $p = 0,910$ ), TTN ( $p = 0,779$ ) або PIK3CA ( $p = 0,584$ ) між групами з високою/середньою та низькою імунною активністю. Натомість мутації KEAP1/NFE2L2 значно частіше зустрічалися в групі з низьким імунним підтипом (32,5 % проти 21,4 %,  $p = 0,012$ ), що може свідчити про їхній зв'язок з

імуносупресивним мікрооточенням пухлини. Ко-мутації TP53+TTN та TP53+PIK3CA були рівномірно розподілені між підтипами ( $p = 0,594$  та  $p = 0,713$  відповідно), що свідчить про відсутність залежності їх виникнення від імунного фенотипу. Отже, серед усіх досліджених мутацій лише статус KEAP1/NFE2L2 виявив потенційний зв'язок з імунологічними характеристиками пухлин (табл. 5.2).

Таблиця 5.2 – Зв'язок між клінічними, молекулярно-генетичними характеристиками та імунними підтипами у пацієнтів з плоскоклітинними карциномами легень

Змінні	Загалом, n=419	Високий/ середній імунний підтип, n=173	Низький імунний підтип, n=246	p
Середній вік (роки, інтервал)	67,0±8,53 (39–84)	66,3±8,68 (40–84)	67,4±8,40 (39–84)	0,2497
Стать, n (%)				0,232
Жіноча	106 (25,3)	49 (28,3)	57 (23,2)	
Чоловіча	313 (74,7)	124 (71,7)	189 (76,8)	
Стадія, n (%)				0,977
I	181 (43,2)	74 (42,8)	107 (43,5)	
II	124 (29,6)	53 (30,6)	71 (28,9)	
III	58 (13,8)	22 (12,7)	36 (14,6)	
IV	5 (1,2)	2 (1,2)	3 (1,2)	
Невідома	51 (12,2)	22 (12,7)	29 (11,8)	
Мутація TTN, n (%)				0,779
Присутня	356 (85,0)	148 (85,5)	208 (84,6)	
Відсутня	63 (15,0)	25 (14,5)	38 (15,4)	
Мутація TP53, n (%)				0,910
Присутня	377 (90,0)	156 (90,2)	221 (89,8)	
Відсутня	42 (10,0)	17 (9,8)	25 (10,2)	
Мутація PIK3CA, n (%)				0,584
Присутня	56 (13,4)	25 (14,5)	31 (12,6)	
Відсутня	363 (86,6)	148 (85,5)	215 (87,4)	

## Продовження таблиці 5.2

Змінні	Загалом, n=419	Високий/ середній імунний підтип, n=173	Низький імунний підтип, n=246	p
Мутація KEAP1/NFE2L2, n (%)				0,012
Присутня	117 (27,9)	37 (21,4)	80 (32,5)	
Відсутня	302 (72,1)	136 (78,6)	166 (67,5)	
Ко-мутація TTN+TP53, n (%)				0,594
Присутня	319 (76,1)	134 (77,5)	185 (75,2)	
Відсутня	100 (23,9)	39 (22,5)	61 (24,8)	
Ко-мутація TP53+PIK3CA, n (%)				0,713
Присутня	48 (11,5)	21 (12,1)	27 (11,0)	
Відсутня	371 (88,5)	152 (87,9)	219 (89,0)	

У підсумку, наш порівняльний аналіз показав, що більшість поодиноких мутацій і ко-мутацій виникали незалежно від класифікації за імунними підтипами. Єдиною статистично значущою відмінністю були мутації KEAP1/NFE2L2, які частіше спостерігалися в пухлинах із низькою імунною активністю. Ці результати вказують на потенційний зв'язок між мутаціями, пов'язаними з оксидативним стресом, і імуносупресивним мікрооточенням пухлини, що потребує подальшого вивчення їхньої біологічної ролі в механізмах уникнення імунної відповіді.

**Аналіз виживаності.** Порівняння виживаності пацієнтів залежно від імунного підтипу показало, що у групі з високою/середньою імунною активністю медіана загальної виживаності була 57,1 місяця, а у групі з низькою імунною активністю – 44,9 місяця. Не зважаючи на тенденцію до кращої виживаності у пацієнтів з вищою імунною активністю, різниця між групами не була статистично значущою (Log-rank test:  $\chi^2(1) = 1,14$ ,  $p = 0,2854$ ). Ці результати свідчать про відсутність достовірного впливу імунного підтипу на загальну

виживаність у даній когорті пацієнтів з плоскоклітинною карциномою легень (рис. 5.5).

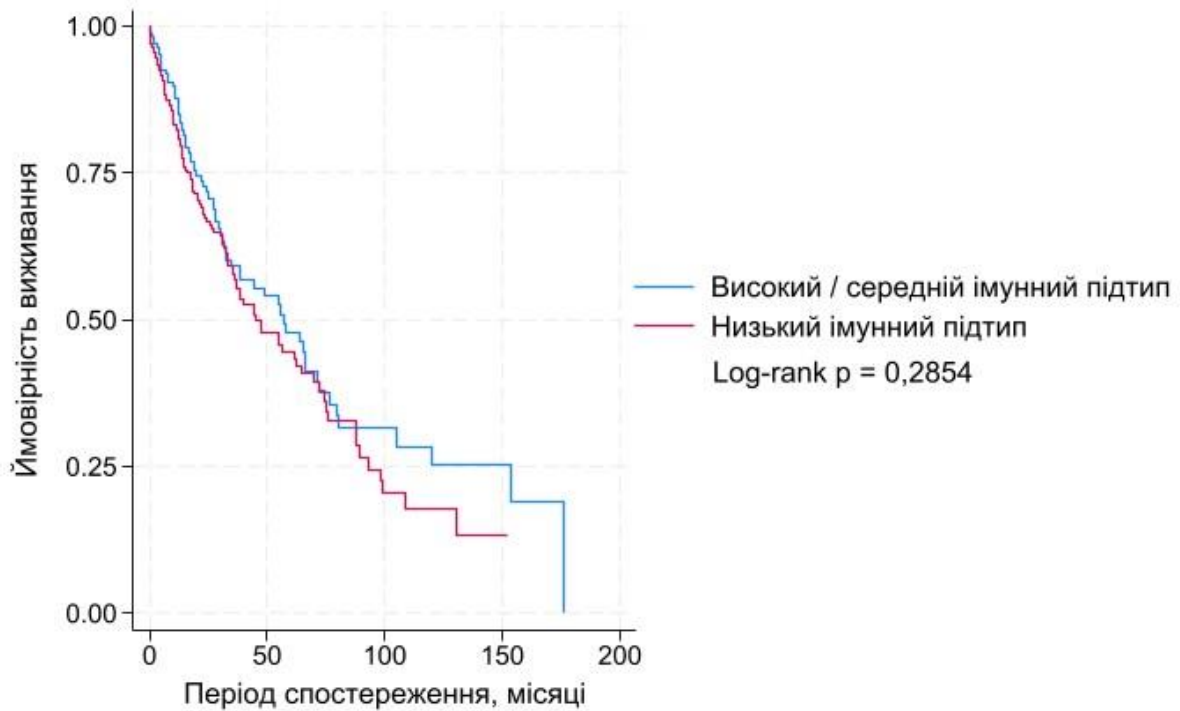


Рисунок 5.5 – Криві виживаності Каплана-Майєра для пацієнтів з плоскоклітинною карциномою легень відповідно до імунного підтипу пухлини

Серед пацієнтів з плоскоклітинною карциномою легень, що мали високий/середній імунний підтип проведено стратифікацію за наявністю мутацій у генах TP53, TTN, PIK3CA, KEAP1/NFE2L2, а також за їх комбінаціями. Аналіз Каплана-Майєра з логарифмічним ранговим тестом не виявив статистично значущих відмінностей у виживаності для мутацій PIK3CA ( $p = 0,2913$ ), KEAP1/NFE2L2 ( $p = 0,3796$ ) або ко-мутації TP53+PIK3CA ( $p = 0,8296$ ).

У той же час, пацієнти з мутацією TP53 мали достовірно кращу загальну виживаність порівняно з тими, у кого вона була відсутня (медіана виживаності 57,9 проти 27,8 місяців,  $p = 0,0141$ ). Подібно, наявність мутації TTN асоціювалася з тенденцією до кращої виживаності (медіана 57,9 проти 27,8 місяців), хоча ця різниця не досягла статистичної значущості ( $p = 0,0582$ ).

Найбільш виражений ефект було виявлено для ко-мутації TTN+TP53, яка була асоційована з достовірно кращою виживаністю у порівнянні з групою без цієї ко-мутації (медіана 63,7 проти 27,8 місяців,  $p = 0,0065$ ; рис. 5.6).

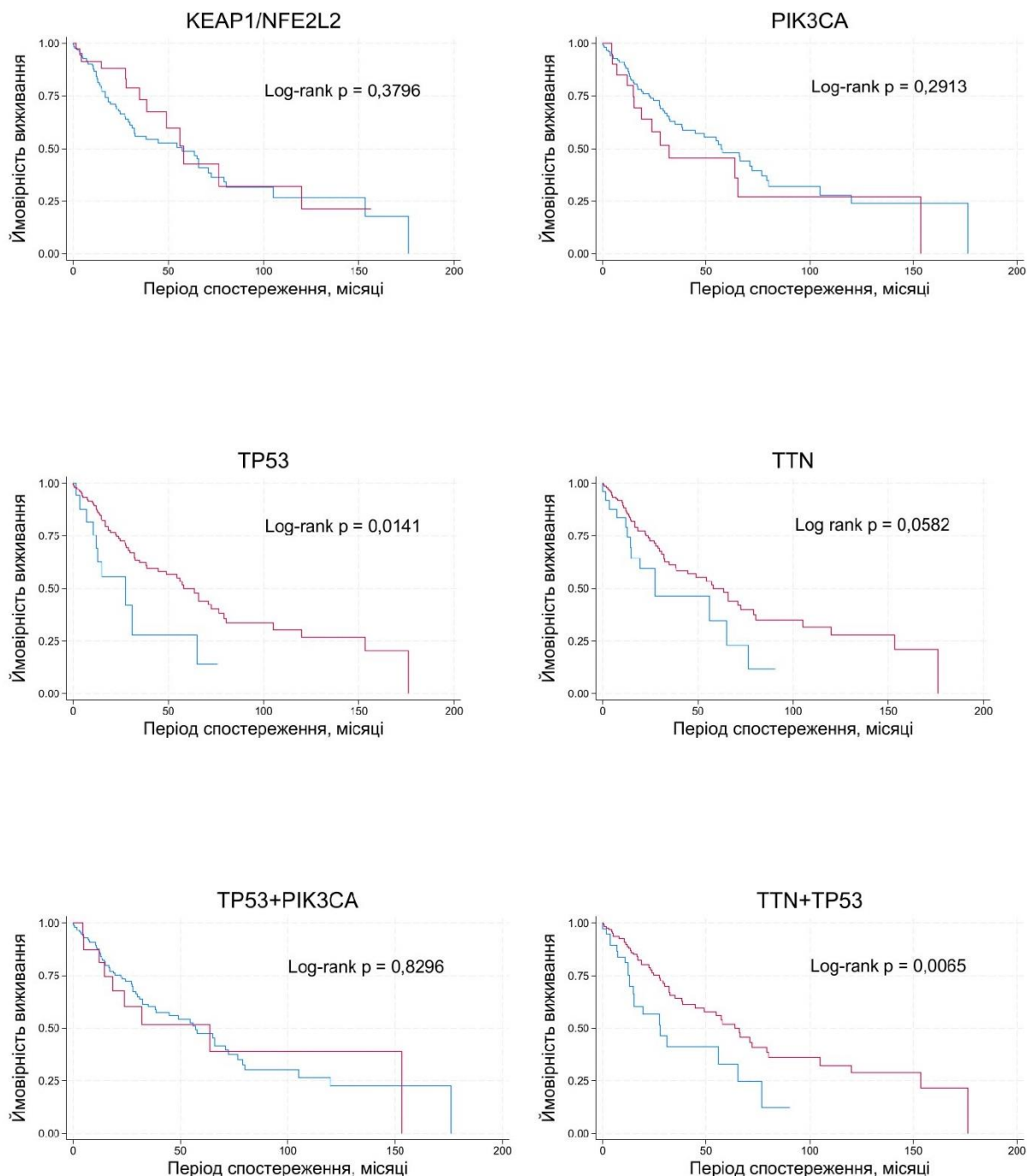


Рисунок 5.6 – Криві виживаності Каплана-Майєра відповідно до статусу мутацій у хворих на плоскоклітинну карциному легень з високим/середнім імунним підтипом

Серед пацієнтів з плоскоклітинною карциномою легень, що мали низький імунний підтип виживаність не відрізнялась достовірно між групами з мутаціями у KEAP1/NFE2L2 ( $p = 0,8091$ ), PIK3CA ( $p = 0,5478$ ) та у ко-мутації PIK3CA+TP53 ( $p = 0,7477$ ), що свідчить про відсутність впливу цих змін на прогноз у даній когорті (рис. 5.7).

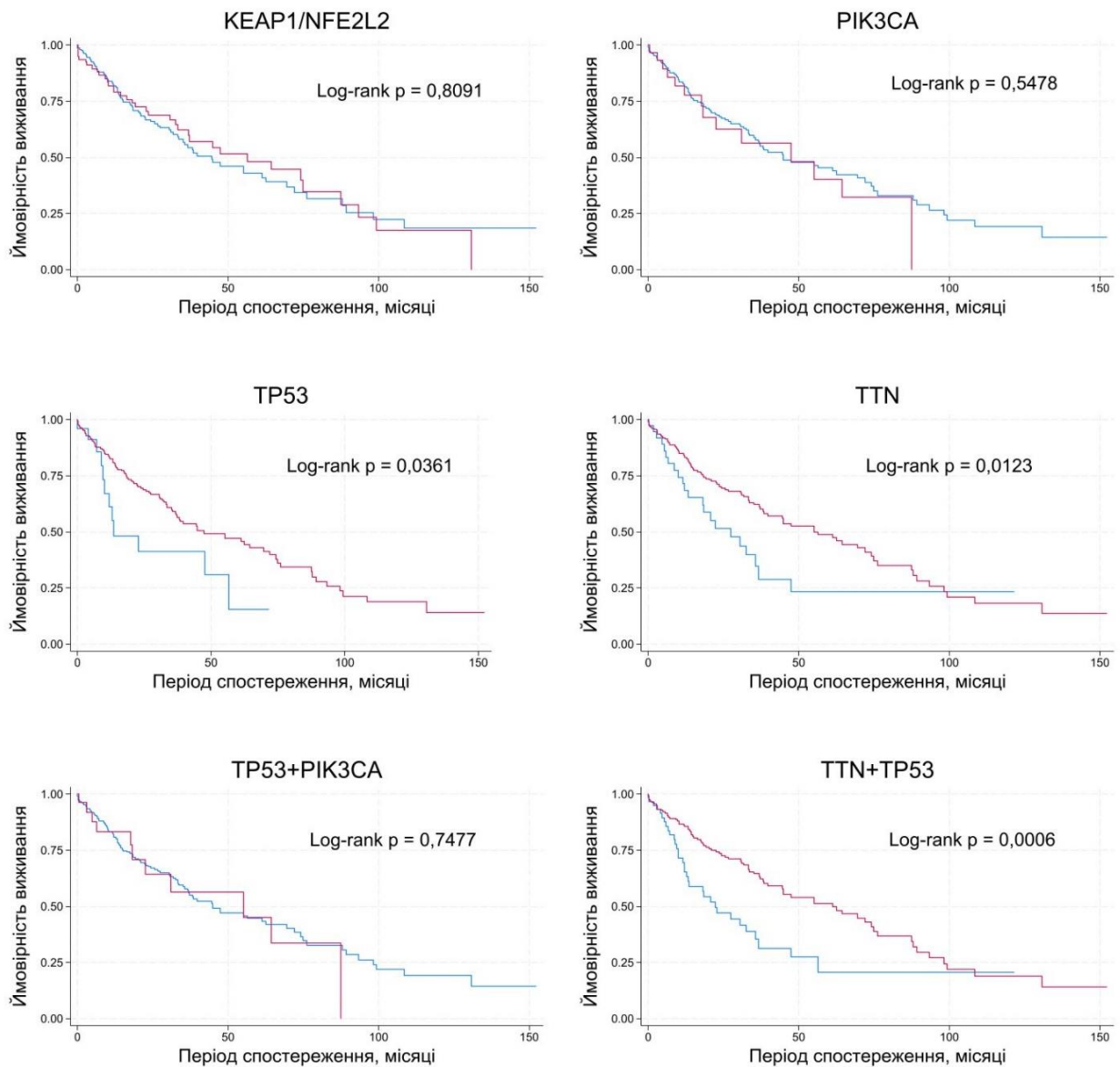


Рисунок 5.7 – Криві виживаності Каплана-Майєра відповідно до статусу мутацій у хворих на плоскоклітинну карциному легень з низьким імунним підтипом

Натомість, наявність мутацій у TP53 була пов'язана зі статистично значущим покращенням загальної виживаності ( $p = 0,0361$ ), як і мутації у TTN ( $p = 0,0123$ ). Найбільш вагомий позитивний прогностичний ефект виявлено у пацієнтів із поєднаними мутаціями в TTN та TP53 ( $p = 0,0006$ ). Загалом, результати вказують на те, що мутації у TP53 та TTN, особливо в поєднанні, можуть мати позитивне прогностичне значення у пацієнтів з плоскоклітинними карциномами легень, на відміну від ізольованих змін у PIK3CA або KEAP1/NFE2L2.

У висновку, аналіз виживаності показав, що окремі мутації, зокрема KEAP1/NFE2L2 та TTN, а також певні профілі ко-мутацій мають прогностичне значення при плоскоклітинному раку легень. Вплив цих мутацій на загальну виживаність додатково модулювався імунним підтипом пухлини, що підкреслює важливість інтеграції молекулярних та імунологічних характеристик при оцінці прогнозу пацієнтів.

***Кластерний аналіз мутаційного профілю для усієї когорти пацієнтів з плоскоклітинними карциномами легень.*** Для дослідження взаємозв'язків між соматичними мутаціями в ключових генах у пацієнтів із плоскоклітинною карциномою легень було побудовано кластеризовану теплову карту з використанням мутацій у генах TTN, TP53, PIK3CA та KEAP1/NFE2L2.

Під час аналізу було виявлено виражену гетерогенність мутаційного ландшафту плоскоклітинного раку легень, що дозволило умовно виділити дві основні групи пацієнтів на основі спільних мутаційних ознак. Найчастішими були мутації в генах TTN та TP53 – вони зустрічалися у понад 76% випадків і часто поєднувалися між собою. Це поєднання, ймовірно, характеризує значну підгрупу пацієнтів із потенційно спільними молекулярними драйверами пухлиногенезу. Натомість мутації в PIK3CA та KEAP1/NFE2L2 мали більш розрізнений характер і проявлялися незалежно одна від одної, без вираженої тенденції до ко-локалізації.

Для оцінки можливого прогностичного значення мутацій пацієнти були закодовані за статусом виживаності (зеленим – ті, хто вижив, червоним –

померлі). Однак теплова карта не продемонструвала чітких просторових кластерів померлих пацієнтів. Особи з несприятливими результатами були рівномірно розподілені в обох кластерах, що свідчить про те, що мутаційний статус сам по собі не є достатнім предиктором прогнозу. Відсутність візуально виражених патернів, які пов'язували б конкретні мутаційні поєднання з виживаністю, підкреслює багатofакторну природу прогресування плоскоклітинної карциноми легень (рис. 5.8).

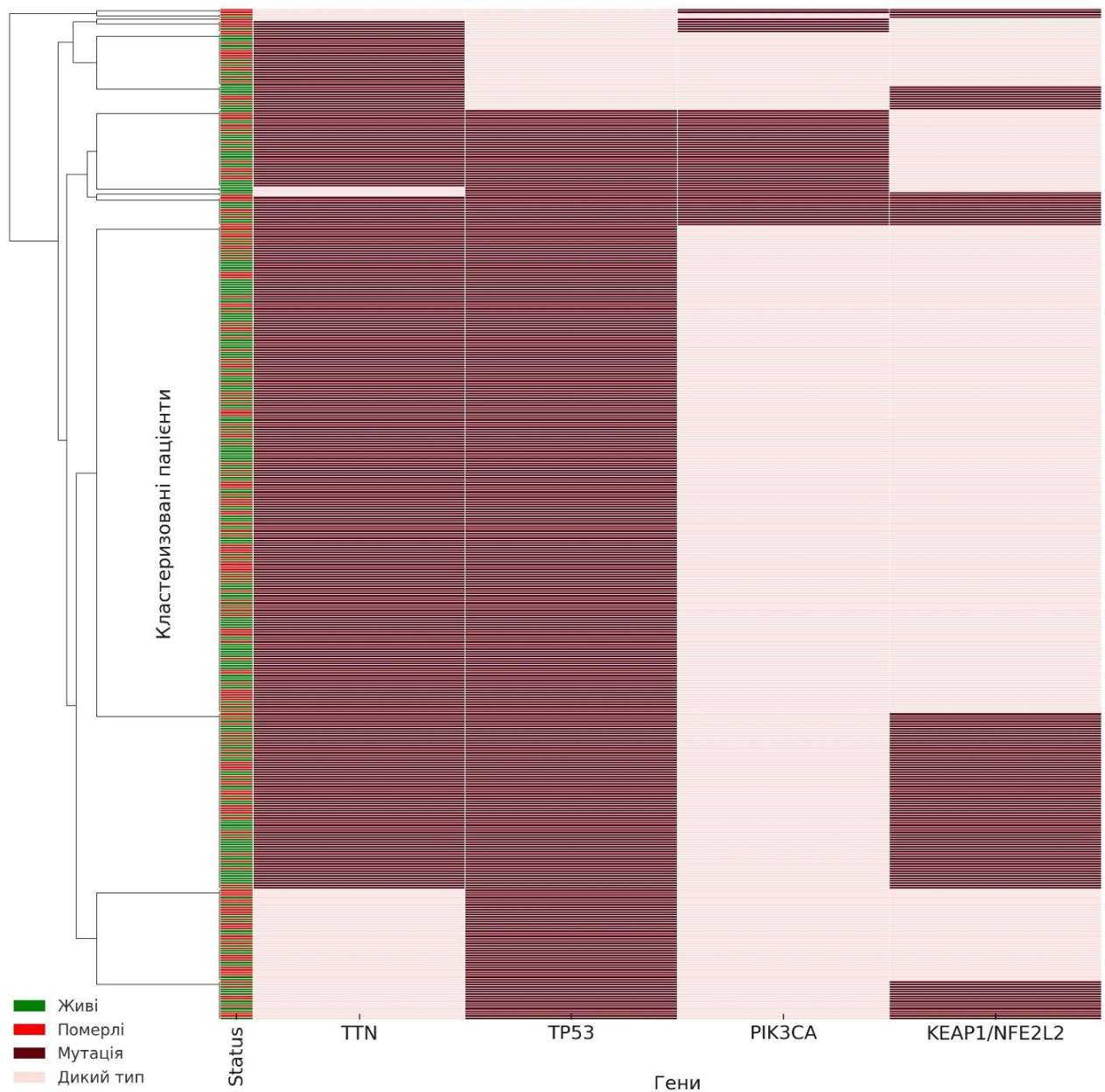


Рисунок 5.8 – Кластеризована теплова карта мутацій у хворих на плоскоклітинну карциному легень

Отримані результати акцентують на структурній складності та індивідуальній варіабельності мутаційних змін при плоскоклітинній карциномі легень. Мутації в TTN і TP53 можуть бути спільними ранніми подіями в розвитку пухлини, тоді як зміни в KEAP1/NFE2L2, які регулюють шляхи антиоксидантного захисту, можуть сприяти формуванню імуносупресивного мікрооточення. Це підкреслює потребу в інтегрованих молекулярно-імунологічних підходах і подальших стратифікованих дослідженнях для точнішої характеристики прогностичних підгруп і розробки персоналізованих терапевтичних стратегій.

### **5.3. Прогностична цінність IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису при аденокарциномі легень: дані TCGA**

У дослідженні було проаналізовано зв'язок між експресією IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису, клінічними й молекулярно-генетичними характеристиками 390 хворих на аденокарциному легень. Пацієнти були поділені на дві групи відповідно до експресії IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису: із низькою ( $n = 201$ ) та високою ( $n = 189$ ) експресією. Вікові характеристики пацієнтів не відрізнялись між групами (середній вік:  $65,0 \pm 9,98$  років у групі з низьким рівнем IFN $\gamma$  та  $65,5 \pm 10,17$  років у групі з високим рівнем;  $p = 0,951$ ). Частка пацієнтів віком  $<60$  років та  $\geq 60$  років також не показала статистично значущої різниці між групами. Натомість, було виявлено статистично значущий зв'язок між експресією IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису та статтю: у групі з високим рівнем IFN $\gamma$  жінки становили 62,4 %, тоді як у групі з низьким рівнем – лише 46,3 % ( $p = 0,001$ ). Аналіз стадії захворювання також виявив відмінності ( $p = 0,034$ ), зокрема більша частка пацієнтів на I стадії мала високий рівень IFN $\gamma$ .

Серед молекулярно-генетичних характеристик, наявність мутації KEAP1 була асоційована з низькою експресією IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису: мутацію виявлено у 23,9 % пацієнтів з низькою експресією IFN $\gamma$ -підпису проти 12,2 % у групі з високою ( $p = 0,003$ ). Подібна тенденція спостерігалась і для мутації EGFR, яка частіше зустрічалась у групі з високою експресією IFN $\gamma$ -

підпису (20,1 % проти 9,5 %,  $p = 0,003$ ). Інші молекулярні змінні, зокрема мутації KRAS, TP53, BRAF та STK11, не показали статистично значущих асоціацій з експресією IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису (табл. 5.3).

Таблиця 5.3 – Зв'язок між показником IFN $\gamma$ , клінічними та молекулярно-генетичними характеристиками хворих на аденокарциному легень

Змінні	Загалом, n=390	Низька експресія IFN $\gamma$ - асоційованого генного підпису, n=201	Висока експресія IFN $\gamma$ - асоційованого генного підпису, n=189	p
Вік (роки), n (%)				0,951
Середній	65,2±10,06	65,0±9,98	65,5±10,17	
<60	112 (28,7)	58 (28,9)	54 (28,6)	
≥60	278 (71,3)	143 (71,1)	135 (71,4)	
Стать, n (%)				0,001
Жіноча	211 (54,1)	93 (46,3)	118 (62,4)	
Чоловіча	179 (45,9)	108 (53,7)	71 (37,6)	
Стадія, n (%)				0,034
I	190 (48,7)	83 (41,3)	107 (56,6)	
II	76 (19,5)	45 (22,4)	31 (16,4)	
III	51 (13,1)	27 (13,4)	24 (12,7)	
IV	18 (4,6)	11 (5,5)	7 (3,7)	
Невідома	55 (14,1)	35 (17,4)	20 (10,6)	
Мутація KRAS, n (%)				0,189
Присутня	126 (32,3)	71 (35,3)	55 (29,1)	
Відсутня	264 (67,7)	130 (64,7)	134 (70,9)	
Мутація TP53, n (%)				0,223
Присутня	194 (49,7)	106 (52,7)	88 (46,6)	
Відсутня	196 (50,3)	95 (47,3)	101 (53,4)	
Мутація KEAP1, n (%)				0,003
Присутня	71 (18,2)	48 (23,9)	23 (12,2)	
Відсутня	319 (81,8)	153 (76,1)	166 (87,8)	
Мутація BRAF, n (%)				0,291
Присутня	26 (6,7)	16 (8,0)	10 (5,3)	
Відсутня	364 (93,3)	185 (92,0)	179 (94,7)	
Мутація EGFR, n (%)				0,003
Присутня	57 (14,6)	19 (9,5)	38 (20,1)	
Відсутня	333 (85,4)	182 (90,5)	151 (79,9)	
Мутація STK11, n (%)				0,990
Присутня	62 (15,9)	32 (16,0)	30 (15,9)	
Відсутня	328 (84,1)	169 (84,0)	159 (84,1)	

**Вживаність пацієнтів.** Для оцінки впливу експресії IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису на загальну виживаність було проведено аналіз виживаності із використанням методу Каплана-Майєра. Пацієнти з високою експресією IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису мали довшу виживаність (медіана 47,4 місяці; міжквартильний діапазон 23,7–165,4) порівняно з групою з низькою експресією IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису (медіана 41,2 місяці; міжквартильний діапазон 16,8–87,2). Порівняння кривих виживаності за допомогою лог-рангового тесту виявило статистично значущу різницю між групами ( $\chi^2(1) = 4,06$ ;  $p = 0,0438$ ), що свідчить про асоціацію між вищою експресією IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису та кращими показниками виживаності (рис. 5.9).

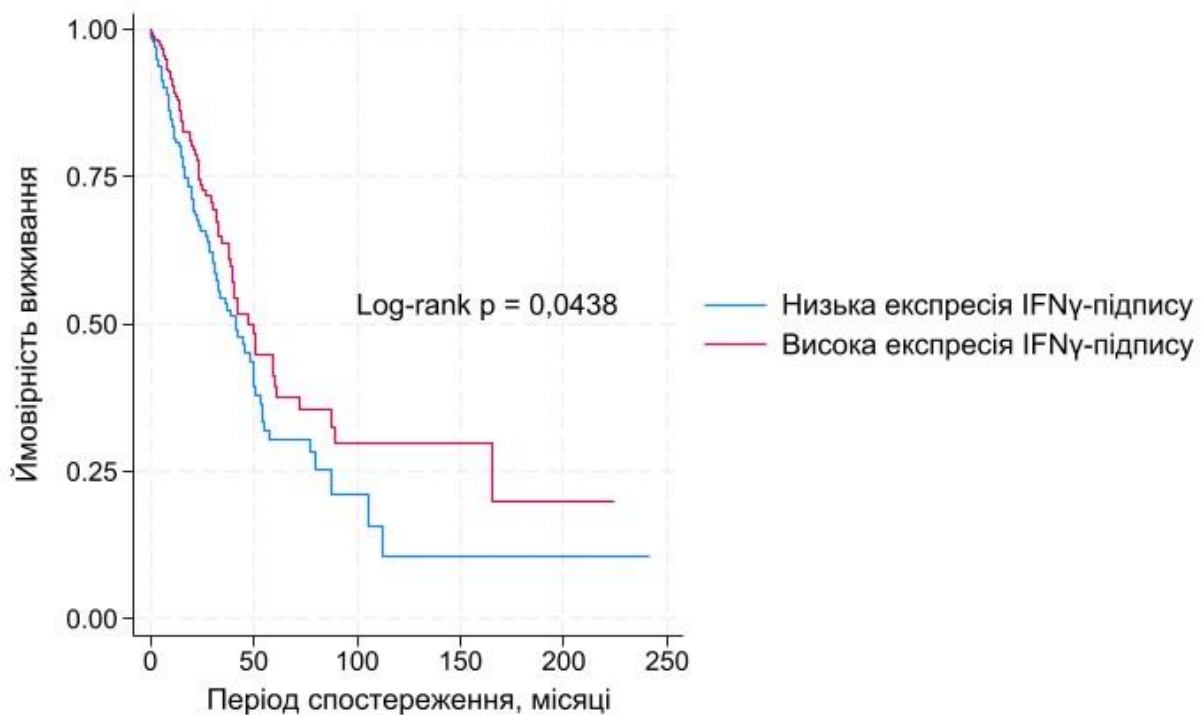


Рисунок 5.9 – Криві Каплана-Майєра, що показують виживаність хворих на аденокарциному легень у залежності від експресії IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису

**Теплова карта експресії IFN $\gamma$ -асоційованих генів.** З метою оцінки імунної активності пухлин для досліджуваної когорти було побудовано теплову карту експресії 10 IFN $\gamma$ -асоційованих генів: CXCL9, CXCL10, CXCL11, IDO1, IRF9,

CCR5, STAT1, PRF1, IFNG та HLA-DRA. Дані впорядковано за результатами ієрархічної кластеризації (рис. 5.10).

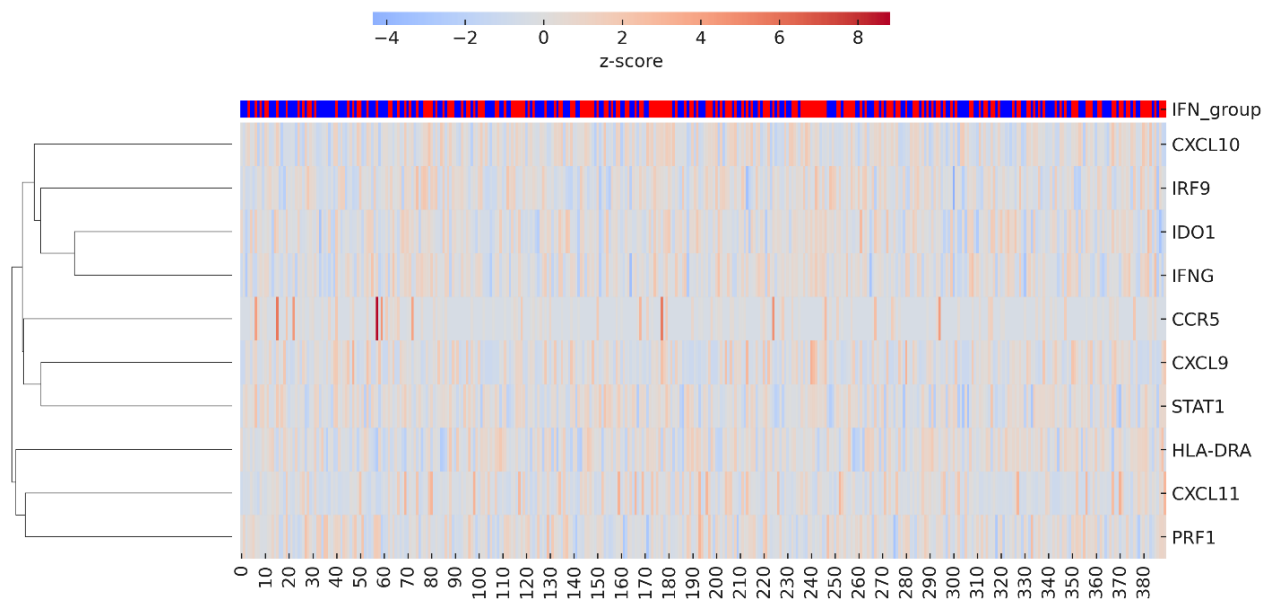


Рисунок 5.10 – Теплова карта експресії IFN $\gamma$ -асоційованих генів у пацієнтів із аденокарциномною легень. ● Негативний Z-score: експресія гена нижча за середню, ● Позитивний Z-score: експресія гена вища за середню, ○ Z-score  $\approx$  0: близько до середнього рівня

Отримані результати свідчать про наявність чітких патернів експресії між окремими пацієнтами. Зокрема, гени CXCL9, CXCL10 та CXCL11 формують компактний кластер, що узгоджується з їхньою функціональною роллю хемоатрактантів CD8<sup>+</sup> Т-клітин. Аналогічно, гени STAT1, IFNG та IRF9, які є ключовими медіаторами відповіді на IFN $\gamma$ , також виявили тісну взаємну кореляцію. Ген HLA-DRA, що кодує компонент МНС класу II, кластеризується разом із імунними генами, підкреслюючи важливість антиген-презентації у високих IFN $\gamma$ -середовищах.

Таким чином, теплова карта дозволяє ідентифікувати підгрупи з потенційною чутливістю до імунотерапії. Це свідчить про те, що навіть без імуногістохімічних даних, IFN $\gamma$ -асоційований генний підпис дозволяє припустити потенційний імунотип пухлини.

*Прогностичне значення експресії IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису.*

Для ідентифікації незалежних факторів, пов'язаних із загальною виживаністю пацієнтів із аденокарциномою легень, було проведено багатофакторний аналіз за допомогою моделі пропорційних ризиків Кокса. До моделі включено клініко-демографічні та молекулярно-генетичні змінні (табл. 5.4).

Таблиця 5.4 – Модель пропорційних ризиків Кокса для визначення незалежних предикторів виживаності у хворих на аденокарциному легень

Змінні	Загальна виживаність		
	HR	95% ДІ	p
Вік (<60 років проти $\geq$ 60 років)	1,16	0,81–1,65	0,404
Стать (чоловіки проти жінок)	1,10	0,80–1,51	0,535
Стадія (перша проти другої проти третьої проти четвертої)	1,07	0,91–1,25	0,374
Експресія IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису (низька проти висока)	0,79	0,57–1,09	0,163
Мутація BRAF (присутня проти відсутня)	1,08	0,59–1,94	0,798
Мутація EGFR (присутня проти відсутня)	1,49	0,96–2,32	0,074
Мутація KEAP1 (присутня проти відсутня)	1,22	0,84–1,79	0,286
Мутація KRAS (присутня проти відсутня)	1,20	0,84–1,71	0,302
Мутація STK11 (присутня проти відсутня)	1,52	1,01–2,30	0,045
Мутація TP53 (присутня проти відсутня)	1,38	0,99–1,93	0,055

За результатами аналізу, вік, стать, стадія захворювання, експресія IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису, а також наявність мутацій у генах BRAF, EGFR, KEAP1, KRAS та TP53 не продемонстрували статистично значущого впливу на загальну виживаність (усі  $p > 0,05$ ). Найближчими до порогу значущості були мутація EGFR (HR = 1,49; 95% ДІ: 0,96–2,32;  $p = 0,074$ ) та TP53 (HR = 1,38; 95% ДІ: 0,99–1,93;  $p = 0,055$ ), що може свідчити про потенційний вплив при більшій

вибірці. Єдиним предиктором, що мав статистично значущий зв'язок із гіршою виживаністю, була мутація гена STK11 (HR = 1,52; 95% ДІ: 1,01–2,30;  $p = 0,045$ ), що узгоджується з попередніми даними про негативний прогностичний вплив цієї мутації.

Таким чином, за результатами багатofакторного аналізу, мутація STK11, але не ступінь експресії IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису, виявилась єдиним незалежним фактором ризику зменшення загальної виживаності у досліджуваній когорті пацієнтів.

#### **5.4. Прогностична цінність IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису при плоскоклітинній карциномі легень: дані TCGA**

З метою оцінки узгодженості експресії генів, що формують IFN $\gamma$ -асоційований генний підпис, було проведено кореляційний аналіз за методом Спірмена. Усі 10 досліджених генів – CXCL9, CXCL10, CXCL11, IDO1, IRF9, CCR5, STAT1, PRF1, IFNG та HLA-DRA – вважаються ключовими компонентами сигнального каскаду, активованого інтерфероном гамма.

Результати візуалізовано у вигляді теплової карти, яка відображає коефіцієнти кореляції  $\rho$  між усіма парами генів, а також їхній зв'язок із сукупним IFN $\gamma$ -підписом. Найвищі рівні позитивної кореляції з IFN $\gamma$ -підписом продемонстрували IDO1 ( $\rho=0,74$ ), CXCL9, CXCL11 та CXCL10 (усі  $\rho=0,40$ ), що вказує на провідну роль цих генів у формуванні загального IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису. Більшість пар генів мали слабку або помірну позитивну кореляцію ( $\rho > 0$ ), хоча деякі поєднання виявилися слабо негативно скорельованими (наприклад, CXCL9 та STAT1:  $\rho = -0,34$ ; IRF9 та CCR5:  $\rho = -0,37$ ).

Загалом, результати підтверджують, що IFN $\gamma$ -підпис ґрунтується на спільному транскрипційному регулюванні низки ключових генів імунної відповіді, зокрема хемокінів, факторів транскрипції та ефекторних молекул. Високий рівень міжгенної узгодженості (особливо серед IDO1 та CXCL-групи)

свідчить про надійність підпису як інтегрального біомаркера активації IFN $\gamma$ -сигнального шляху (рис. 5.11).

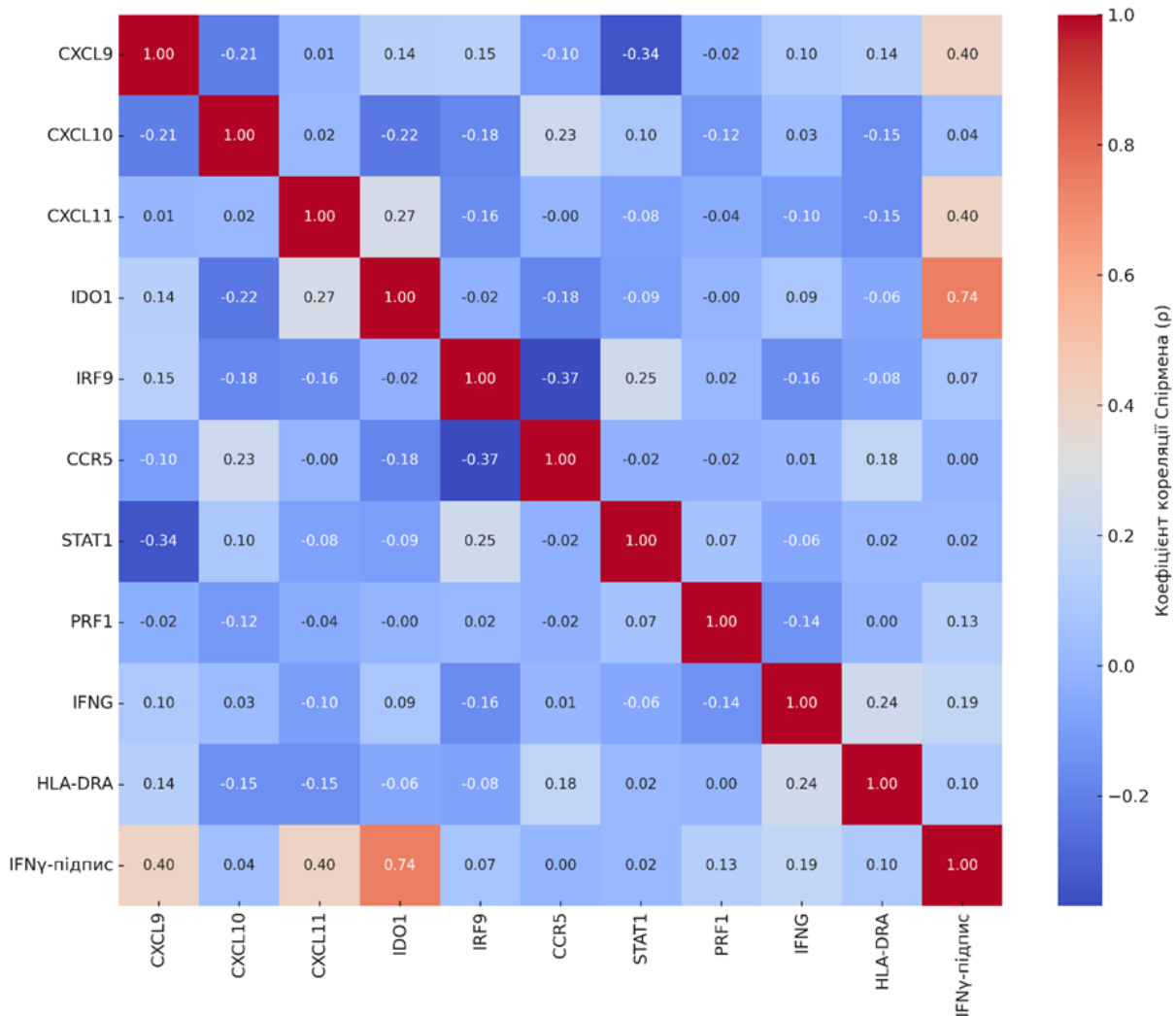


Рисунок 5.11 – Теплова карта, що демонструє кореляцію між генами CXCL9, CXCL10, CXCL11, IDO1, IRF9, CCR5, STAT1, PRF1, IFNG та HLA-DRA

У дослідженні проаналізовано клініко-патологічні та молекулярно-генетичні характеристики 419 пацієнтів у контексті рівня експресії IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису. Пацієнтів було стратифіковано на дві групи: з низькою (n=196) та високою (n=223) експресією IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису (табл. 5.5).

Таблиця 5.5 – Клініко-патологічні та молекулярно генетичні характеристики пацієнтів та їх зв'язок з експресією IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису

Змінні	Загалом, n=419	Низька експресія IFN $\gamma$ - асоційованого генного підпису, n=196	Висока експресія IFN $\gamma$ - асоційованого генного підпису, n=223	p
Вік (роки), n (%)				0,930
Середній	67,0 $\pm$ 8,53	65,0 $\pm$ 9,98	65,5 $\pm$ 10,17	
<60	82 (19,4)	38 (19,4)	44 (19,7)	
$\geq$ 60	337 (80,4)	158 (80,6)	179 (80,3)	
Стать, n (%)				0,750
Жіноча	106 (25,3)	51 (26,0)	55 (24,7)	
Чоловіча	313 (74,7)	145 (74,0)	168 (75,3)	
Стадія, n (%)				0,503
I	181 (43,2)	76 (38,8)	105 (47,1)	
II	124 (29,6)	64 (32,7)	60 (26,9)	
III	58 (13,8)	28 (14,3)	30 (13,5)	
IV	5 (1,2)	3 (1,4)	2 (0,8)	
Невідома	51 (12,2)	25 (12,8)	26 (11,7)	
Мутація TTN, n (%)				0,488
Присутня	356 (85,0)	164 (83,7)	192 (86,1)	
Відсутня	63 (15,0)	32 (16,3)	31 (13,9)	
Мутація TP53, n (%)				0,833
Присутня	377 (90,0)	177 (90,3)	200 (89,7)	
Відсутня	42 (10,0)	19 (9,7)	23 (10,3)	
Мутація KEAP1/NFE2L2, n (%)				<0,0001
Присутня	117 (27,9)	37 (18,9)	80 (35,9)	
Відсутня	302 (72,1)	159 (81,1)	143 (64,1)	
Мутація PIK3CA, n (%)				0,420
Присутня	56 (13,4)	29 (14,8)	27 (12,1)	
Відсутня	363 (86,6)	167 (85,2)	196 (87,0)	

Середній вік пацієнтів становив  $67,0 \pm 8,53$  років, без значущої різниці між групами ( $p = 0,930$ ). Так само, не виявлено статистично значущої асоціації між рівнем експресії IFN $\gamma$ -підпису та статтю ( $p=0,750$ ) чи стадією захворювання ( $p = 0,503$ ). Мутації в генах TTN, TP53 та PIK3CA також не продемонстрували асоціації з рівнем експресії IFN $\gamma$ -асоційованого підпису ( $p>0,05$  для всіх).

Натомість, наявність мутацій у генах KEAP1 або NFE2L2 була достовірно частішою серед пацієнтів з високим рівнем експресії IFN $\gamma$ -підпису (35,9 % проти 18,9 % у групі з низькою експресією,  $p < 0,0001$ ). Цей зв'язок може свідчити про потенційну роль цих мутацій у формуванні імунного мікросередовища пухлини.

**Аналіз виживаності пацієнтів.** У групі пацієнтів з низькою експресією IFN $\gamma$ -підпису медіана виживаності становила 44,8 місяця, тоді як у групі з високою експресією – 55,2 місяця. Незважаючи на спостережувану різницю в медіані виживаності, лог-ранговий тест не виявив статистично значущої відмінності між групами ( $\chi^2(1) = 0,37$ ;  $p = 0,5453$ ), що вказує на відсутність асоціації між експресією IFN $\gamma$ -підпису та загальною виживаністю (рис. 5.12).

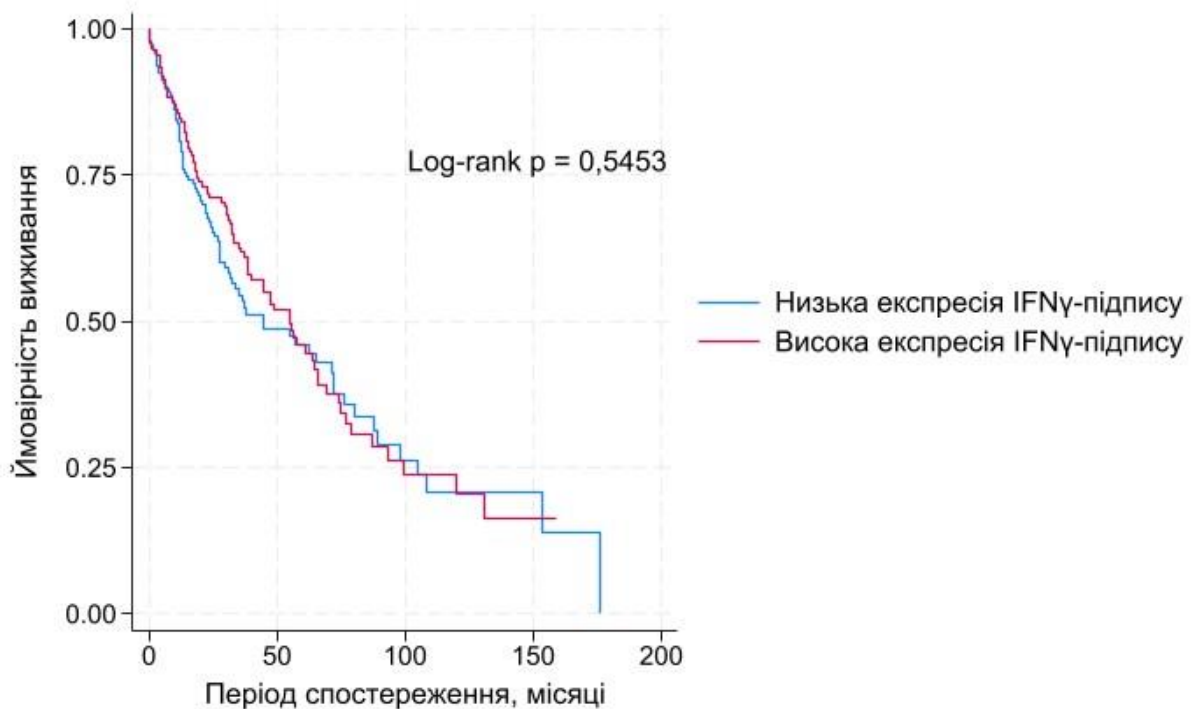


Рисунок 5.12 – Криві виживаності хворих на плоскоклітинну карциному легень в залежності від експресії IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису

Для оцінки незалежного впливу клініко-патологічних та молекулярно-генетичних змінних на загальну виживаність пацієнтів була проведена регресія Кокса з використанням методу Бреслоу (рис. 5.13).

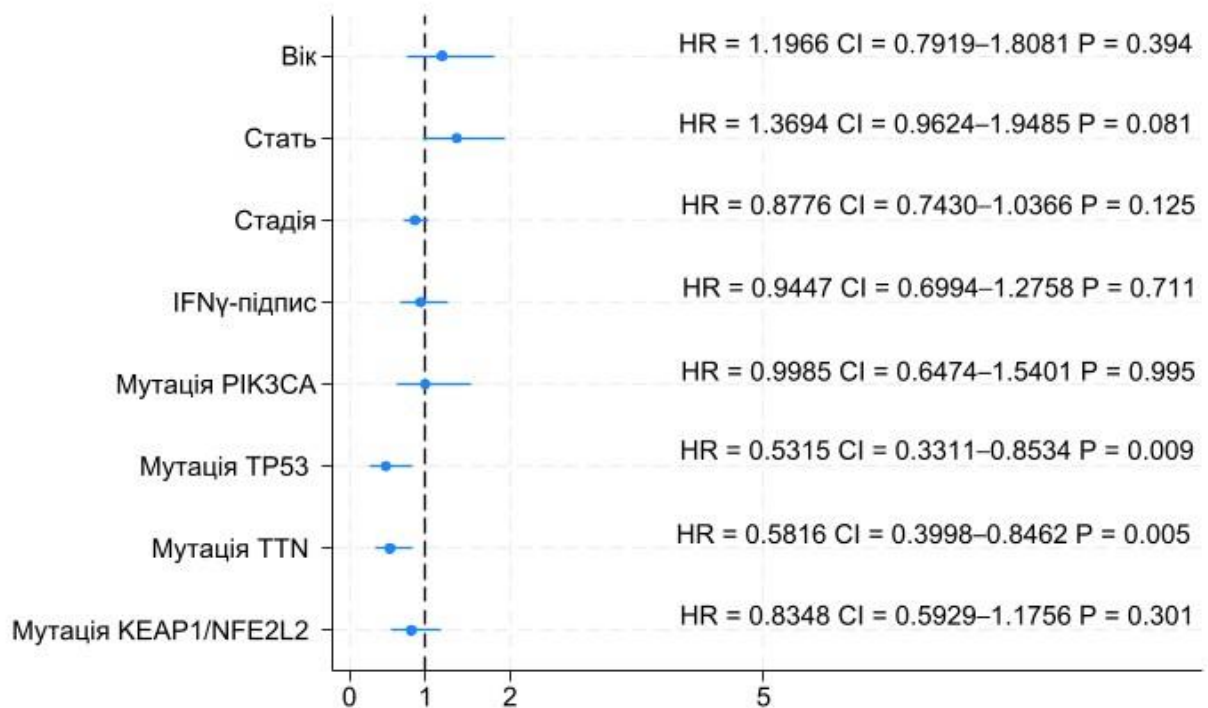


Рисунок 5.13 – Лісовий графік, що показує вплив факторів, асоційованих із загальною виживаністю пацієнтів у моделі регресії Кокса

Найсуттєвішими прогностичними факторами виступили мутації в генах TP53 та TTN. Зокрема, наявність мутації TP53 була асоційована зі зниженням ризику смерті (HR = 0,53; 95% ДІ: 0,33–0,85;  $p = 0,009$ ), як і мутація TTN (HR = 0,58; 95% ДІ: 0,40–0,85;  $p = 0,005$ ), що може свідчити про їхній потенційний захисний ефект у даній когорті. Інші змінні, включаючи вік, стать, стадію хвороби, мутації в генах PIK3CA, KEAP1/NFE2L2, а також рівень IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису, не виявили статистично значущого впливу на загальну виживаність ( $p > 0,05$  для всіх змінних). Зокрема, IFN $\gamma$ -підпис не був незалежним прогностичним фактором. Таким чином, IFN $\gamma$ -підпис відображає імунну активність пухлинного мікросередовища, однак його прогностична цінність у хворих на плоскоклітинну карциному легень залишається обмеженою.

**Матеріали розділу висвітлені в наступних публікаціях [315–320]:**

– Moskalenko YV. Prognostic value of IFN $\gamma$ -associated genes signature in lung squamous cell carcinoma: TCGA-based analysis. *Art of Medicine*. 2025;3(35):58–64.

– Moskalenko Yu, Kovchun V. Molecular and immune predictors of survival in lung squamous cell carcinoma: A TCGA-based analysis. *Bull Med Biol Res*. 2025;7(3):26–36.

– Moskalenko Y, Kovchun V, Gyriavenko N. Immune subtype as a moderator of the prognostic significance of mutations in lung adenocarcinoma: a TCGA data analysis. *Arch. clin. med*. 2025;31(2):16–22.

– Moskalenko YV. IFN $\gamma$ -associated gene signature as a potential prognostic biomarker of survival and immunotherapy response in lung adenocarcinoma. *The journal of V. N. Karazin National University. Series Medicine*. 2025;33(4):510-522.

– Moskalenko Y, Kravets Y. IFN $\gamma$ -associated genes signature as a potential prognostic biomarker of survival and immunotherapy response in lung adenocarcinoma. 12<sup>th</sup> International Black Sea coastline countries scientific research conference. 2025 September 26–28, Trabzon. Black Sea Strategic Research and Application Center, 2025: 9.

– Москаленко Ю. Прогностичне значення імунних фенотипів у хворих на метастатичний недрібноклітинний рак легень. Дев'ята всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології»: матеріали. 6–7 листопада 2025 р., м. Дніпро. Дніпро: ДДМУ, 2025: 146–147.

## РОЗДІЛ 6

### РОЗРОБКА ПРОТОТИПУ ЦИФРОВОЇ ПЛАТФОРМИ ПІДТРИМКИ КЛІНІЧНИХ РІШЕНЬ IMMUN-LUNG

На основі визначених незалежних предикторів ефективності ПКТ у хворих на метастатичний НДКРЛ було здійснено покрокову трансформацію статистичної моделі у прогностичну шкалу, яка лягла в основу прототипу цифрової платформи підтримки клінічних рішень IMMUN-LUNG. Модель включала як клінічні, так і імунологічні, біохімічні та радіологічні характеристики, що відображають багаторівневу біологію пухлини та організму пацієнта.

**Формування прогностичного індексу.** Для кожного незалежного предиктора було визначено відношення ризику (HR) та здійснено його логарифмічне перетворення ( $\beta = \ln(\text{HR})$ ), що дозволило стандартизувати внесок кожної змінної у ризик смерті. Отримані  $\beta$ -коефіцієнти були нормалізовані шляхом поділу на найменший абсолютний  $\beta$  (еталонний), після чого трансформовані у бальну систему. Позитивні бали відповідали факторам, що підвищували ризик смерті, тоді як негативні – предикторам із потенційно захисним ефектом.

До моделі увійшли такі змінні: пізнє введення ПКТ (+2 бали), ECOG 2 (+3), тривалість лікування ПКТ <8 місяців (+3), експресія PD-L1 1–49% та негативна експресія (+2), NLR  $\geq 3,6$  (+2), LEM із трьома факторами (+1), застосування системних кортикостероїдів (+3), радіологічна щільність ПЖК у межах -100...-106 HU (-2), стаж паління  $\geq 28$  пачко-років (-1) та співвідношення CD163+/CD68+  $\geq 0,48$  (+3).

Сумарний індивідуальний бал формувався шляхом додавання бальної ваги всіх релевантних змінних, що дозволило отримати інтегральний прогностичний показник. Діапазон значень охоплював широкий спектр від вираженого сприятливого (-5 балів) до високого негативного прогнозу (+13 балів), що створило підґрунтя для ризикової стратифікації (табл. 6.1).

Таблиця 6.1 – Трансформація відношення ризику кожного із ідентифікованих незалежних предикторів ефективності ПКТ та виживаності хворих на метастатичний НДКРЛ у бали

Незалежні предиктори ефективності ПКТ	Відношення ризику	Предиктивне значення	$\beta = \ln(HR)$	Бали
Пізнє введення ПКТ	2,07	Негативне	+0,727	+2
ECOG 2	3,543	Негативне	+1,265	+3
Тривалість лікування ПКТ <8 міс	3,637	Негативне	+1,289	+3
Негативна експресія PD-L1 або 1-49%	3,034	Негативне	+1,110	+2
Стаж паління $\geq 28$ пачко-років	0,63	Позитивне	-0,462	-1 (еталон)
Наявність ХОЗЛ	0,17	Позитивне	-1,772	-4
Застосування системних кортикостероїдів	3,94	Негативне	+1,370	+3
$NLR \geq 3,6$	2,33	Негативне	+0,845	+2
3 фактори за шкалою LEM	1,81	Негативне	+0,593	+1
Радіологічна щільність ПЖК у межах -100...-106 HU	0,32	Позитивне	-1,139	-2
Співвідношення $CD163^+/CD68^+ \geq 0,48$	4,34	Негативне	+1,468	+3

**Стратифікація ризику.** ROC-аналіз продемонстрував високе прогностичне значення шкали ( $AUC = 0,9457$ , рис. 6.1), тому на основі індексу Юдена були визначені порогові значення, які в свою чергу дозволили розділити пацієнтів на три прогностичні групи: низького (від -5 до +2 балів), проміжного (від +3 до +6 балів) та високого ризику (від +7 до +13 балів).

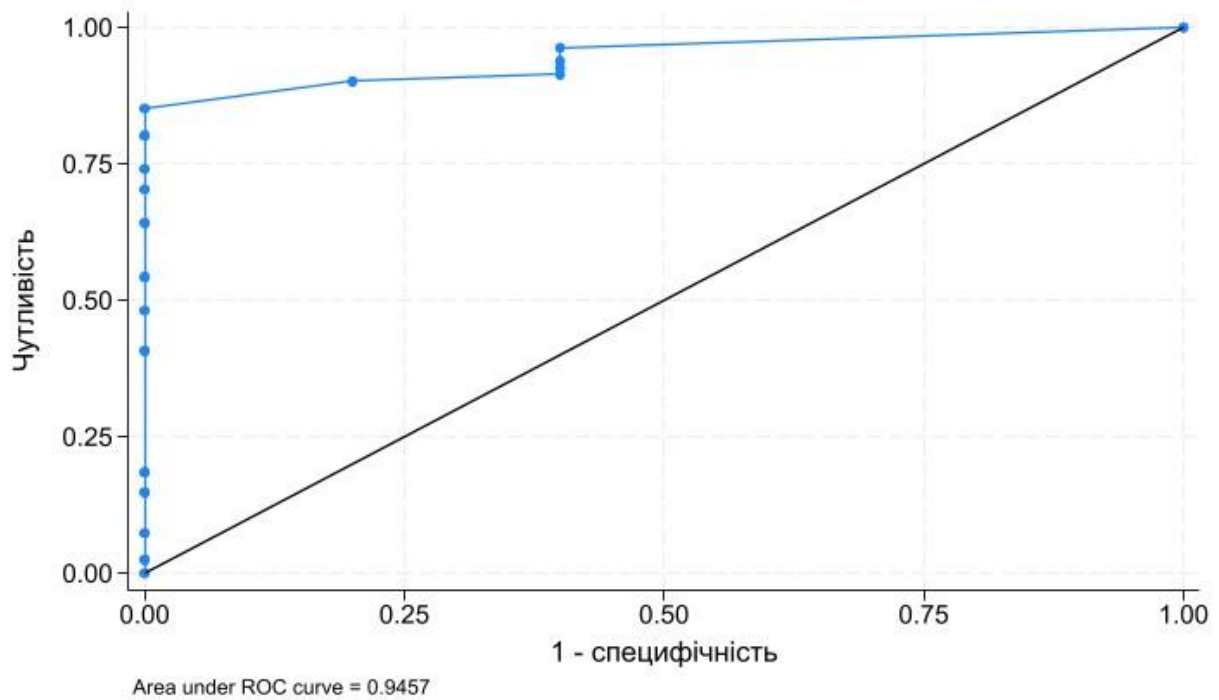


Рисунок 6.1 – ROC-аналіз для визначення прогностичного значення шкали

Для подальшого оцінювання коректності стратифікації пацієнтів за групами ризику було проведено аналіз загальної виживаності методом Каплана-Майєра. Побудовані криві виживаності чітко продемонстрували поступове погіршення прогнозу від групи низького ризику до групи високого ризику, що відображало адитивний характер впливу включених до моделі факторів. Пацієнти з низьким ризиком мали найдовшу тривалість виживаності та повільніше зниження кривої подій у часі, тоді як у групі високого ризику спостерігалось значно більш стрімке накопичення летальних випадків та відповідне зменшення медіани виживаності. Проміжна група посідала чітко визначене середнє положення, підтверджуючи градієнтний характер моделі.

Log-rank тест засвідчив статистично достовірну різницю між усіма трьома кривими ( $p = 0,0001$ ), що підтвердило правильність розрахунку порогових значень та обґрунтованість вибору бальної системи для стратифікації ризику. Отримані результати свідчать про високу дискримінативну здатність моделі та її потенційне застосування у клінічній практиці для прогнозування індивідуальної виживаності пацієнтів та вибору оптимальної тактики терапії (рис. 6.2).

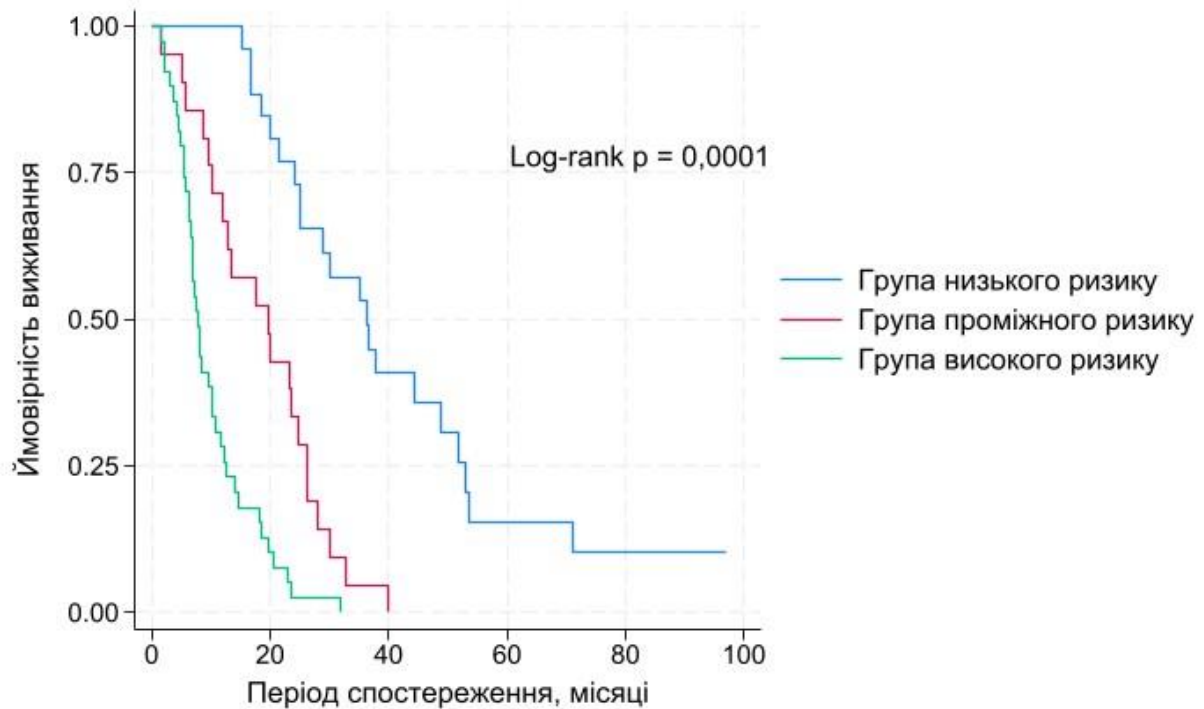


Рисунок 6.2 – Криві Каплана-Майєра, що демонструють загальну виживаність пацієнтів стратифікованих за групами ризику

У групі низького ризику відзначали найбільш сприятливі результати. Імовірність виживаності у хворих на метастатичний НДКРЛ, які отримували ПКТ через 18 місяців становила 0,8846, через 24 місяці – 0,7692, а через 36 місяців – 0,5312. Це свідчить про стійку та тривалу відповідь на ПКТ.

У групі проміжного ризику спостерігали помірне, але стабільне зниження виживаності: 0,7143 на 12-му місяці, 0,5238 на 18-му та 0,3333 на 24-му. На 36-му місяці виживаність становила лише 0,0476, що відображає суттєве виснаження ефекту терапії з часом.

У групі високого ризику фіксували різко несприятливу динаміку: на 12-му місяці виживаність була 0,2821, на 18-му – 0,1795, а на 24-му – лише 0,0256. Після 30 місяців подальше зниження виживаності вже не підлягало статистичній оцінці через малу кількість спостережень. Така динаміка підтверджує обґрунтованість високоризикової категорії та клінічну значущість прогностичної моделі.

Ймовірність виживаності (%) та медіани виживаності для трьох груп ризику у часових точках 6, 12, 18, 24, 30 та 36 місяців представлені у таблиці 6.2.

Таблиця 6.2 – Прогнозування виживаності у хворих на метастатичний НДКРЛ, стратифікованих за групами ризику

Група ризику	Медіана загальної виживаності, міс.	Часові точки, міс	Ймовірність виживання (%)	95% ДІ нижня межа	95% ДІ верхня межа
Група низького ризику	36,3	6	100,0	–	–
		12	100,0	–	–
		18	88,46	68,36	96,13
		24	76,92	55,69	88,91
		30	61,3	40,0	77,0
		36	53,12	32,39	70,13
Група проміжного ризику	19,6	6	85,71	61,97	95,16
		12	71,43	47,15	86,02
		18	52,38	29,67	70,88
		24	33,33	14,88	53,07
		30	14,29	3,57	32,12
		36	4,76	0,33	19,7
Група високого ризику	7,9	6	71,79	54,88	83,28
		12	28,21	15,26	42,65
		18	17,95	7,9	31,28
		24	2,56	0,2	11,53
		30	2,56	0,2	11,53
		36	–	–	–

**Інтеграція результатів у цифрову платформу IMMUN-LUNG.** Отримані результати багаторівневого клініко-біологічного аналізу стали основою для формалізації та алгоритмізації прогностичної моделі, яка була інтегрована у прототип цифрової платформи підтримки клінічних рішень IMMUN-LUNG. Побудована модель характеризується поєднанням клінічних, імунологічних, морфометричних та радіологічних параметрів, що дозволило відтворити складну структуру індивідуальної чутливості до ПКТ у форматі зручної та відтворюваної цифрової системи.

Основою алгоритму стала сумарна бальна шкала, сформована на попередньому етапі дослідження. Для кожного пацієнта алгоритм послідовно:

- 1) зчитує значення усіх релевантних предикторів;
- 2) присвоює їм відповідні бали згідно з трансформацією  $\beta$ -коефіцієнтів;
- 3) розраховує інтегральний прогностичний індекс;
- 4) визначає групу ризику відповідно до встановлених порогових значень;
- 5) виводить ймовірнісні показники виживаності у ключові часові точки.

Алгоритм реалізує повну логіку статистичної моделі: від зважування окремих факторів до віднесення пацієнта до категорії низького, проміжного або високого ризику. При цьому розроблена цифрова система дозволяє відобразити не лише кінцевий сумарний бал, але й структуру внеску окремих факторів, що підвищує інтерпретованість моделі та полегшує клінічне використання.

Особливістю IMMUN-LUNG є те, що алгоритм не лише класифікує пацієнта, а й автоматично генерує прогностичні показники виживаності, засновані на фактичних даних кривих Каплана-Майєра для кожної групи ризику. У такий спосіб цифровий модуль відтворює прогностичні криві у точках 6, 12, 18, 24, 30 та 36 місяців, що дозволяє отримувати персоналізовану оцінку імовірності виживаності. Додатково алгоритм враховує медіану виживаності для відповідної групи (36,3 міс для низького ризику, 19,6 міс – для проміжного, 7,9 міс – для високого), інтегруючи її у фінальну інтерпретацію результатів.

Реалізація алгоритму у цифровому середовищі дала змогу створити інструмент, який поєднує статистичну точність із клінічною зручністю. Прототип дає можливість швидко й стандартизовано проводити індивідуальний прогноз, мінімізуючи суб'єктивну інтерпретацію. Платформа IMMUN-LUNG відображає системну інтеграцію отриманих у дослідженні даних і може розглядатися як завершений етап трансляції наукових результатів у практичний цифровий інструмент для підтримки клінічних рішень. Реалізований прототип доступний у відкритому доступі за стабільною URL-адресою: <https://yuliia-moskalenko.github.io/immu-lung-score/>. Інтерфейс прототипу з прикладом прогнозування для пацієнта представлено на рисунку 6.3.

**IMMU-LUNG: Прототип цифрової платформи підтримки клінічних рішень**

EN

Прогностичний модуль для оцінки відповіді на інгібітори імунних контрольних точок (ІІКТ) у пацієнтів з метастатичним недрібноклітинним раком легень.

[Перейти до NCCN-guidelines](#)

### Клініко-біологічні параметри

1. Який ECOG-показник пацієнта до початку терапії ІІКТ?

0–1 бал  2 бали

2. Чи є у пацієнта хронічне обструктивне захворювання легень?

Немає  Є

3. Який рівень експресії PD-L1 у пухлині?

0%  1–49%  ≥50%

4. Тютюновий стаж пацієнта

Сигарет на день:

Тривалість паління, років:

Розрахований стаж паління: 25.0 пачко-років

Пачко-роки обчислюються автоматично як (сигарет/день + 20) × роки паління.

5. Абсолютна кількість нейтрофілів та лімфоцитів

Нейтрофіли (×10<sup>9</sup>/л):

Лімфоцити (×10<sup>9</sup>/л):

Розрахований NLR: 2.065

Співвідношення NLR = нейтрофіли / лімфоцити. Високим вважається NLR ≥ 3.6.

6. Чи наявні три фактори ризику: абсолютна кількість лімфоцитів <1,5×10<sup>9</sup>/л, ECOG ≥2, метастази у легенях/плеврі?

Ні  Так

7. Чи перебуває радіологічна щільність підшкірної жирової тканини у межах –100...–106 HU?

Ні  Так

8. Показники експресії CD163<sup>+</sup> та CD68<sup>+</sup> в пухлинній тканині

CD163<sup>+</sup> (кількість клітин на мм<sup>2</sup>):

CD68<sup>+</sup> (кількість клітин на мм<sup>2</sup>):

CD163/CD68: 0.542 (високе співвідношення)

Співвідношення CD163/CD68 обчислюється автоматично; високим вважається ≥ 0.48.

9. Яка очікувана тривалість терапії інгібіторами імунних контрольних точок?

< 8 міс.  ≥ 8 міс.

10. Чи планується, що пацієнт отримає понад 80% інфузій ІІКТ у період до 12:00?

Так  Ні

11. Чи наразі для лікування пацієнта застосовуються системні кортикостероїди?

Ні  Так

Розрахувати IMMU-LUNG SCORE

\* Усі поля мають бути заповнені перед розрахунком.

### Результат

**Загальний IMMU-LUNG SCORE:**

9

Високий ризик

**Орієнтовна медіана загальної виживаності:** ≈8 місяців

**Оцінена загальна виживаність для цієї групи ризику**

Час від початку ІІКТ	Ймовірність виживаності	95% довірчий інтервал
6 міс.	≈72%	≈55–83%
12 міс.	≈28%	≈15–43%
18 міс.	≈18%	≈8–31%
24 міс.	≈3%	≈0–12%
30 міс.	≈3%	≈0–12%
36 міс.	≈0%	—

**Клінічні зауваги**

Пацієнт має низьку ймовірність тривалої відповіді на ІІКТ та потребує посиленого моніторингу. Доцільність проведення терапії ІІКТ визначається мультидисциплінарною командою з урахуванням загального стану, супутньої патології та побажань пацієнта. Важливо забезпечити своєчасну верифікацію прогресування захворювання та розгляд альтернативних або комбінованих терапевтичних підходів (зокрема, участі в клінічних дослідженнях) відповідно до клінічних настанов.

**Індивідуальні клінічні підказки**

- Застосування системних кортикостероїдів може знижувати ефективність імунотерапії. За можливості розгляньте варіанти зменшення дози або відміни кортикостероїдів, узгоджуючи зміни зі спеціалістами відповідного профілю.

\* Оцінки базуються на каплан-майєрівських кривих загальної виживаності для відповідних груп ризику; значення подано як приблизні (%).

Рисунок 6.3 – Інтерфейс прототипу цифрової платформи підтримки клінічних рішень для прогнозування відповіді на ІІКТ

Таким чином, у межах цього розділу здійснено завершальний етап дисертаційного дослідження – трансляцію багаторівневих наукових результатів у практичний інструмент підтримки клінічних рішень. На основі незалежних клінічних, імунологічних, морфометричних та радіологічних предикторів було сформовано інтегральну прогностичну шкалу, що продемонструвала високу точність у прогнозуванні виживаності хворих на НДКРЛ, які отримують терапію ПКТ. Створений модуль IMM-U-LUNG є завершеною формою трансляції наукових результатів у практичний цифровий інструмент та може розглядатися як інноваційний компонент сучасної персоналізованої онкологічної практики.

**Матеріали розділу висвітлені в наступних публікаціях:**

Свідоцтво про реєстрацію авторського права на твір комп'ютерна програма "IMMU-LUNG: Прототип цифрової платформи підтримки клінічних рішень" №142937 / Ю. В. Москаленко. // заяв. 28.11.2025; опубл. 19.02.2026.

## РОЗДІЛ 7

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Сучасна імунотерапія при НДКРЛ демонструє високий потенціал, однак ефективність ПКТ істотно відрізняється між пацієнтами, що підкреслює необхідність персоналізованого підходу до лікування. У цьому розділі узагальнено результати власних досліджень, спрямованих на ідентифікацію клінічних, імунологічних, радіологічних та молекулярних детермінант, які формують індивідуальну чутливість до імунотерапії. Аналіз впливу циркадних ритмів, віку, тютюнової експозиції, супутньої патології, системного запалення, складу тіла та генетичних характеристик пухлини дозволяє окреслити ключові механізми гетерогенності відповіді і створює підґрунтя для розробки персоналізованих терапевтичних стратегій у пацієнтів з НДКРЛ.

На ефективність лікування НДКРЛ впливає велика кількість факторів, і серед них особливий інтерес викликають предиктори, пов'язані не лише зі станом пухлини чи організму пацієнта, але й із фундаментальними біоритмами. Одним із таких, досі недостатньо досліджених, є час доби, у який проводиться лікування. В онкології активно вивчається вплив хронотерапії на клінічні наслідки у хворих, що отримують хіміотерапію та променеву терапію [321,322]. Проте ще більш перспективним напрямом є аналіз ролі циркадних ритмів у модифікації ефективності імунотерапії, зокрема ПКТ [323].

Циркадні ритми – це ендогенні біологічні коливання, які повторюються з періодом близько 24 годин та координують функції майже всіх органів і систем, зокрема імунної. Вони призводять до змін на клітинному та організменному рівнях, що клінічно проявляється ритмічністю фізіологічних, біохімічних та поведінкових реакцій людини. Поділ клітини, експресія генів та репарація ДНК також тісно пов'язані з циркадними ритмами, що дозволяє запідозрити їх залученість до канцерогенезу [324].

Циркадні ритми генеруються в клітині за допомогою молекулярного годинника, який складається із 15 специфічних генів. Порушення циркадних

ритмів асоційоване із неефективністю лікування злоякісного новоутворення, прискоренням канцерогенезу та метастазуванням. Дані ефекти обумовлені ухиленням від імунної відповіді через створення імуносупресивного мікрооточення [325].

Імунна система людини, включно з активністю Т-клітин, експресією PD-1/PD-L1 та продукцією цитокінів, демонструє циркадну варіабельність. Зокрема, гени *BMAL1*, *PER1/2* і *CLOCK*, які відповідають за регуляцію циркадного годинника, впливають на проліферацію Т-лімфоцитів та експресію молекул, необхідних для протипухлинної відповіді [326]. Як наслідок, мікрооточення пухлини теж зазнає циркадних змін. В одному з досліджень виявлено, що проникнення CD8<sup>+</sup> Т-клітин у пухлинну тканину є вищим у певні фази добового циклу, що вказує на потенціал хронобіологічного підходу до планування імунотерапії [327].

Ігнорування хронобіології в онкологічній практиці може призводити до субоптимального вибору часу лікування та зниження його ефективності. І навпаки, інтеграція циркадної інформації у планування терапії може сприяти персоналізованому підходу до ведення пацієнтів з НДКРЛ, що потенційно підвищить тривалість та якість їх життя [328].

Ми виконали мета-аналіз 7 досліджень, що повідомляли про вплив часу інфузії ПКТ на загальну виживаність хворих з метастатичним НДКРЛ. Було виявлено статистично значуще покращення загальної виживаності у пацієнтів, що отримували більшу кількість інфузій ПКТ у ранковий час. Ефективність імунотерапії у пацієнтів «ранкової групи» була в два рази вищою.

Отримані нами результати співпадають із результатами дослідження Landre et al. [329], що вивчали вплив часу доби на ефективність імунотерапії метастатичних солідних пухлин. Із 16 статей, включених до мета-аналізу 5 були присвячені метастатичному НДКРЛ. Автори дійшли висновку, що ранні інфузії ПКТ асоційовані із кращою виживаністю без прогресування та загальною виживаністю пацієнтів (коефіцієнт ризику 0,53, 95% ДІ 0,34–0,80).

Fey et al. [330] у метааналізі досліджували, як час застосування ПКТ впливає на її ефективність, зокрема при НДКРЛ. Автори наголосили, що застосування ПКТ на початку дня може покращити результати лікування. Це ґрунтується на розумінні того, що циркадні ритми впливають на активність імунної системи, і узгодження лікування з цими ритмами може підвищити його ефективність. Серед 29 розглянутих досліджень дев'ять були зосереджені виключно на НДКРЛ. Хоча більшість вказували на кращі результати при ранковому застосуванні ПКТ, деякі дослідження не повідомляли про суттєву різницю, що свідчить про варіабельність залежно від індивідуальних факторів пацієнта та дизайну досліджень. Підсумовуючи, автори виступали за більш персоналізовані підходи до лікування, що враховують біологічні ритми пацієнта.

Наше дослідження підтвердило, що циркадні ритми можуть суттєво впливати на ефективність ПКТ. Для пояснення даної закономірності автори висували різні теорії. Одна із них базувалася на соціальному факторі. Було помічено, що заможніші пацієнти отримують інфузії ПКТ здебільшого у ранкові години і мають кращі результати лікування [331]. Проте, навряд чи даний фактор можна вважати таким, від якого залежить загальна виживаність.

Більш обґрунтованою виглядає біологічна теорія. Ефективність ПКТ значною мірою залежить від цитотоксичних Т-клітин (CD8+), які відповідальні за відповідь на вакцинацію [332]. Аналогічно із інфузіями ПКТ, вакцинація є більш ефективною у ранковий час. Hazan et al. [333] дослідили 1515754 пацієнтів старше 12 років, яким виконували вакцинацію проти COVID19. Автори оцінювали частоту ускладнень та ефективність вакцинації у залежності від часу доби, коли виконувалася процедура. Вони дійшли висновку, що вранішня та денна вакцинації мають значні переваги над вечірніми, оскільки асоційовані із меншою кількістю ускладнень та госпіталізацій у зв'язку з COVID19. Покращену відповідь на вакцинацію у ранкові години пояснювали більшою продукцією антитіл, фактору некрозу пухлини- $\alpha$ , інтерферону- $\gamma$ , інтерлейкіну- $1\beta$ , В-клітин пам'яті, які підтримували короточасний та довгостроковий

імунітет. Крім того, було помічено сильнішу відповідь Т-клітин, В-клітин, дендритних клітин та моноцитів [334].

В експериментальних дослідженнях було показано, що клітини пухлинного мікрооточення також чутливі до циркадних ритмів. Час доби впливає на активність дендритних клітин, що, в свою чергу, підвищує ймовірність їх функціональної взаємодії з Т-клітинами. Рецептори PD-1 локалізуються не тільки на Т-клітинах, але і на асоційованих із пухлиною макрофагах, які є найбільш численними клітинами пухлинного мікрооточення. На мишачій моделі було встановлено значні добові коливання кількості асоційованих із пухлиною макрофагів, що експресують PD-1 [335].

Циркадні ритми впливають на імунну систему через регуляцію активності Т-клітин, експресії імунних контрольних точок та секреції цитокінів. Наприклад, активність CD8<sup>+</sup> Т-лімфоцитів, які є основними ефекторами ПКТ, змінюється протягом доби, що може впливати на ефективність лікування. Дослідження показали, що експресія PD-L1 на пухлинних клітинах та PD-1 на Т-клітинах підлягає добовим коливанням, що може впливати на чутливість пухлини до ПКТ [336]. Фактори способу життя, такі як режим сну, фізична активність, дієта та вплив світла, можуть модулювати циркадні ритми та, відповідно, впливати на імунну відповідь. Деякі автори зазначають, що регулярна фізична активність та дотримання середземноморської дієти позитивно впливають на циркадний годинник та можуть покращити ефективність ПКТ [337].

Druzd et al. [338] встановили, що міграція лімфоцитів тісно пов'язана із циркадними ритмами. У період спокою (вночі) значна кількість циркулюючих лімфоцитів крові переміщується в пухлину та лімфатичні вузли. Як наслідок, ранкові інфузії ПКТ є більш ефективними. Залишається незрозумілим вплив циркадних коливань на фармакокінетику ПКТ. Деякі автори зазначають, що періоди напіввиведення препаратів становить від 2 до 3 тижнів і циркадні коливання мають мінімальний вплив на цей процес. Значно більший потенціал можуть мати такі фактори як стать, гормональний статус та інші клініко-патологічні характеристики пацієнтів [331].

Глюкокортикоїди, синтез яких контролюється циркадними ритмами, є важливими регуляторами імунного гомеостазу та здатні модифікувати ефективність інгібіторів імунних контрольних точок. Ранкове підвищення рівня ендогенних глюкокортикоїдів, відповідно до даних Shimba et al. [339], сприяє оптимізації виживання та функціональної активності В- і Т-клітин, що частково може пояснювати вищу результативність ранкових інфузій ПКТ.

Водночас циркадна регуляція є лише одним із компонентів широкого спектра механізмів імунної відповіді, які зазнають значних змін під впливом вікових процесів. Старіння супроводжується накопиченням ушкоджень ДНК, зниженням регенераторного потенціалу та перебудовою ключових імунних популяцій, що лежить в основі феномену імуносенесценції [8,340]. У людей похилого й старечого віку це проявляється зменшенням ефективності адаптивного імунітету та парадоксальним формуванням хронічного низькорівневого запалення, яке частково може бути зумовлене тривалим впливом інфекційних агентів на ослаблену імунну систему [341,342]. Таким чином, для комплексного розуміння індивідуальних відмінностей у відповіді на ПКТ необхідно враховувати поєднаний вплив як тимчасових (циркадних), так і вікових детермінант, що логічно підводить до аналізу ролі імуносенесценції у розвитку злоякісних новоутворень.

Імуносенесценція тісно пов'язана з інволютивними змінами тимуса – імунного органа, що забезпечує формування набутої та вродженої ланок імунітету. Старіння насамперед уражає Т-клітини. Функціонально та морфологічно дефектні Т-лімфоцити не здатні забезпечити надійний протипухлинний імунітет, що підвищує ризик виникнення раку [9,343].

Таким чином, із зростанням кількості людей літнього віку поширеність онкологічних захворювань також збільшується. Лікування онкологічних пацієнтів похилого віку є складним завданням, особливо для хворих із метастатичним перебігом, яким необхідна системна терапія (хіміотерапія, таргетна терапія та імунотерапія) [344]. ПКТ є перспективною альтернативою хіміотерапії, оскільки вони характеризуються меншою токсичністю, кращою

переносимістю та вищою якістю життя пацієнтів [345,346]. Відповідно до концепції імуносенесценції можна було б очікувати зниження ефективності ПКТ у людей старшого віку. З іншого боку, хронічне запалення низького ступеня може потенційно посилювати відповідь на імунотерапію.

Наукова література не містить однозначних даних щодо взаємозв'язку між ефективністю ПКТ та віком пацієнтів із метастатичним НДКРЛ. Частина дослідників не вважає старіння фактором зниження ефективності ПКТ та підтримує доцільність призначення імунотерапії незалежно від віку. Наприклад, Yamaguchi et al. [10] встановили, що лікування ПКТ покращувало виживаність у літніх пацієнтів, забезпечуючи подібні профілі ефективності та безпеки порівняно з молодшими хворими. Натомість Al-Danakh та співавт. [11] дійшли висновку, що пацієнти старечого віку гірше відповідають на терапію ПКТ порівняно з молодшими, що пов'язано з імуносенесценцією та якісними й кількісними змінами у складі пухлин-інфільтруючих імунних клітин. Автори припустили, що вікове порушення регуляції імунної системи спричиняє виснаження імунних клітин і зниження відповіді на терапію ПКТ.

Ми встановили, що пацієнти з найвищого квартиля віку частіше мали плевральні метастази, імунозалежні небажані явища та індекс коморбідності Чарлсона  $\geq 3$ . Однак ми не виявили суттєвих відмінностей в ефективності ПКТ залежно від віку. Наші результати залишалися сталими як при категоріальному аналізі віку (за квартилями), так і при розгляді віку як неперервної змінної. В обох підходах вік не був статистично значущо пов'язаний із загальною виживаністю, що свідчить: хронологічний вік сам по собі не має бути обмежувальним чинником при розгляді питання про призначення ПКТ пацієнтам із метастатичним НДКРЛ. Натомість наші результати свідчать, що вік модифікує вплив статусу за ECOG, експресії PD-L1 та тривалості імунотерапії на загальну виживаність. Ми також встановили, що в осіб старшого віку частіше виникали імунозалежні побічні ефекти, проте цей факт не впливав на ефективність терапії ПКТ.

Взаємодія між пухлиною та імунною системою є надзвичайно складною. У периферичній крові злоякісні клітини зазнають апоптозу, вивільняючи антигени, які потім опрацьовуються антигенпрезентуючими клітинами. Через антигенспецифічну активацію Т-клітин формується адаптивна імунна відповідь [347]. Після проникнення в пухлинне мікросередовище антигенспецифічні Т-клітини розпізнають злоякісні клітини за допомогою своїх рецепторів, ініціюючи пухлиноспецифічну імунну відповідь [348].

На взаємодію між пухлинними та імунними клітинами впливає безліч інгібувальних і стимулювальних факторів, серед яких ключову роль відіграють імунні контрольні точки. Програмований рецептор клітинної смерті 1 (PD-1) є основним інгібувальним рецептором, експресованим на Т-клітинах, і регулює їх проліферацію у відповідь на активацію [349]. Шляхи імунних контрольних точок контролюють імунну відповідь на межі взаємодії антигенпрезентуючих клітин і Т-клітин, а особливо важливу роль виконують на ефektorній фазі в межах пухлинного мікросередовища [350–352].

Старіння пов'язане з функціональними змінами імунної системи, включно зі зменшенням кількості Т- та В-лімфоцитів, збільшенням популяції регуляторних Т-клітин і зниженням активності антигенпрезентуючих клітин [353]. Найбільш виражені зміни стосуються адаптивного імунітету, де зрушення у пулах Т-клітин пам'яті погіршують антигенне розпізнавання та послаблюють загальну імунну відповідь [354].

Такі фізіологічні зміни породжують занепокоєння щодо ефективності ІКТ у людей старшого віку. Метааналіз Sun et al. [355], що включав 2662 пацієнтів віком <65 років та 1971 пацієнта віком  $\geq 65$  років, не виявив суттєвих відмінностей в ефективності ІКТ між віковими групами. Подібно до цього, Agias et al. [356] дослідили застосування ніволумабу в 188 пацієнтів віком  $\geq 70$  років і не зареєстрували відхилень у профілі безпеки та ефективності порівняно із загальною популяцією. Luciani et al. [357], вивчаючи показники виживаності у 86 пацієнтів віком  $\geq 75$  років з місцево-поширеним або метастатичним НДКРЛ, які

отримували ІКТ, також не виявили відмінностей в ефективності чи токсичності між молодшими та старшими пацієнтами.

Натомість Lichtenstein et al. [358] повідомили про вікові відмінності в ефективності та токсичності ІКТ. У їх ретроспективному дослідженні 245 пацієнтів з НДКРЛ, які отримували інгібітори PD-1/PD-L1, хворих поділили на чотири групи: <60, 60–69, 70–79 та  $\geq 80$  років. Найгірші показники виживаності без прогресування (1,64 місяця) та загальної виживаності (3,63 місяця) виявлено у групі пацієнтів віком  $\geq 80$  років. Регресійний аналіз визначив вік  $\geq 80$  років як негативний прогностичний фактор. Xu et al. [359] також повідомили про нижчу ефективність ІКТ у пацієнтів віком  $\geq 75$  років, проте поширеність негематологічних імунозалежних побічних ефектів істотно не відрізнялася між групами.

Більшість досліджень вказує, що профіль токсичності ІКТ суттєво не залежить від віку. Проте літні пацієнти мають вищий ризик припинення лікування та смертності через тяжкі імунозалежні побічні ефекти [360,361]. Їх підвищена частота у пацієнтів старшого віку свідчить про необхідність віково-адаптованих протоколів моніторингу. Раннє розпізнавання та своєчасне лікування цих ускладнень є критично важливими для збереження ефективності терапії та зниження токсичності. У нашому дослідженні пацієнти з найвищого квартиля віку мали більшу частоту імунозалежних побічних ефектів, однак це не вплинуло на загальну виживаність. Подібні результати продемонстрували Ramos et al. [362] і Mebarki et al. [363], які вивчали ефективність і безпеку ІКТ у пацієнтів із метастатичним НДКРЛ.

Ми встановили, що тривалість терапії ІКТ є значущим прогностичним фактором загальної виживаності. Триваліший період лікування у пацієнтів із метастатичним НДКРЛ асоціюється з кращими клінічними результатами, що підкреслює його потенційну роль як маркера ефективності лікування. Це відкриття підтверджує доцільність продовження ІКТ у пацієнтів, які залишаються клінічно стабільними та демонструють відповідь на лікування. З іншого боку, відповідно до наших попередніх даних, визначення мінімальної

ефективної тривалості ПКТ щонайменше 8 місяців має важливі соціально-економічні наслідки для пацієнтів із метастатичним НДКРЛ. У країнах із низьким рівнем доходу, де відсутнє страхове покриття та державні програми забезпечення імунотерапією, фінансовий тягар лікування лягає повністю на родини пацієнтів. Оскільки ПКТ є високовартісною терапією, визначення оптимальної кількості інфузій, необхідної для досягнення сприятливого терапевтичного результату, набуває критичного значення.

Питання оптимальної тривалості імунотерапії підкреслює, наскільки важливо враховувати динамічні аспекти взаємодії між організмом пацієнта та ПКТ. Триваліший курс лікування, як показано в дослідженнях *Vogani et al.* [364] та *Kim et al.* [365], може забезпечувати стійкішу й тривалішу протипухлинну відповідь, проте ефективність імунотерапії визначається не лише тривалістю її застосування. Характер і сила імунної відповіді залежать від низки факторів, які формують індивідуальну біологічну «чутливість» організму до ПКТ. Одним із найбільш значущих серед них є наявність або відсутність тривалих екзогенних впливів, здатних змінювати імунний профіль та мутаційний ландшафт пухлини.

Одним із таких ключових чинників є паління – найпоширеніша причина раку легень. Хронічний вплив тютюнового диму, що містить понад 79 канцерогенів та майже 9500 токсичних хімічних сполук, включно з бензопіреном та нітросоамінокетонами [12], призводить до формування значного спектра соматичних мутацій. Ці мутаційні події зумовлюють високий рівень пухлинного мутаційного тягаря [13] та формування характерного мутаційного підпису паління, для якого типовою є трансверсія C>A. Водночас мутаційний профіль у пацієнтів з НДКРЛ суттєво відрізняється залежно від їхньої тютюнової історії [14], що може впливати як на біологічні властивості пухлини, так і на її сприйнятливості до імунотерапії.

Паління негативно впливає не тільки на стабільність ДНК. Підвищена регуляція PD-L1 призводить до погіршення протипухлинної імунної відповіді [366]. У здорових людей сигнальний шлях PD-1/PD-L1 забезпечує захист від аутоімунних реакцій. Під час канцерогенезу пухлинні клітини активно залучають

цей механізм для уникнення від імунної відповіді. Як наслідок, паління тісно асоційоване із гіперекспресією PD-L1. Чим довший період життя пацієнт палить, тим вищий ризик порушення регуляції експресії цих рецепторів. Механізм, відповідальний за розвиток даного ефекту, полягає у негативному впливі бензопірену на арил-вуглеводневі рецептори (AhR). Експресія PD-L1 та AhR в пухлинній тканині курців вища, ніж у некурців [15].

Таким чином, паління викликає появу високого мутаційного тягаря та гіперекспресію PD-L1. Цікаво, що обидва біомаркери, разом із мікросателітною нестабільністю, є основними прогностичними факторами ефективності терапії ПКТ, схваленими Управлінням із санітарного нагляду за якістю харчових продуктів та медикаментів США (FDA) [51]. Розуміння взаємозв'язку між палінням та імунною системою призвело до широкого дослідження впливу цієї шкідливої звички на ефективність ПКТ. У кількох дослідженнях було підтверджено позитивне прогностичне значення паління [16,17,367]. Проте, не всі автори погоджуються із даним твердженням [18].

У поточному дослідженні ми оцінювали зв'язок між клінічними наслідками та кількісним впливом паління у хворих на метастатичний НДКРЛ у залежності від застосовуваної медикаментозної терапії. Ми спостерігали цікавий факт, коли завязаті курці, що отримували ПКТ мали кращу виживаність без прогресування та загальну виживаність у порівнянні із некурцями та тими, хто палив помірно (<28 пачко-років). В той же час, куріння мало негативний вплив на виживаність пацієнтів, що застосовували хіміотерапію для лікування метастатичного НДКРЛ. Серед завязатих курців ми спостерігали переважання пацієнтів віком 65 років та старше та тих, що мали експресію PD-L1  $\geq 50\%$ . Отримані дані свідчать про те, що крім експресії PD-L1 додатковими прогностичними факторами виживаності можуть бути пачко-роки паління.

Вплив паління на клінічні наслідки у хворих на метастатичний НДКРЛ викликав велику зацікавленість серед науковців. У більшості досліджень пацієнтів було розділено на категорії некурців, колишніх та поточних курців. Деякі дослідження були присвячені вивченню впливу паління на виживаність

пацієнтів, які отримували монотерапію ПКТ. Reck et al. [256] встановили, що пацієнти з гіперекспресією PD-L1, що отримували пембролізумаб мали кращу п'ятирічну виживаність, ніж пацієнти, що отримували хіміотерапію на основі платини (медіани виживаності становили 26,3 місяці проти 13,4 місяців відповідно). Автори спостерігали вищу ефективність ПКТ у колишніх курців, тоді як некурці та поточні курці отримали меншу користь від лікування [368].

Подібні результати було отримано при оцінюванні ефективності монотерапії атезоліумабом у порівнянні з хіміотерапією у попередньо нелікованих пацієнтів з метастатичним НДКРЛ. Було зареєстровано більшу клінічну користь від ПКТ у поточних та колишніх курці, ніж у некурців [369,370]. На відміну від попередніх досліджень, які оцінювали вплив пембролізумаба та атезоліумаба, у дослідженні III фази MYSTIC не було помічено статистично значущого покращення виживаності у пацієнтів, які отримували дурвалумаб. Більш того, статус паління не впливав на ефективність дурвалумаба [371].

У пацієнтів з експресією PD-L1 1–49% ПКТ комбінують з хіміотерапією на основі платини. У дослідженні III фази KEYNOTE-189 було підтверджено, що пацієнти, які отримували пембролізумаб, пеметрексед та цисплатин мали кращу ЗВ, ніж ті, хто отримував плацебо, пеметрексед та цисплатин (медіани загальної виживаності склали 22,0 місяці проти 10,6 місяців відповідно). Більшу користь від лікування отримали поточні та колишні курці, проте різниця була статистично не достовірною [281]. Атезоліумаб також покращив клінічні наслідки у хворих з метастатичний НДКРЛ. Комбінування карбоплатину, наб-паклітакселу (або паклітакселу) та атезоліумаба продемонструвало покращення виживаності без прогресування у порівнянні з тими, хто отримував лише хіміотерапію. Кращі результати лікування мали пацієнти, які були некурцями, але різниця була не суттєвою [372].

У дослідженні IMpower150 поточні та колишні курці отримали кращу відповідь на лікування, ніж некурці. Для проведення дослідженні були залучені 1202 хворих на метастатичний НДКРЛ, які були рандомізовані у групи атезоліумаб + хіміотерапія, атезоліумаб + бевацизумаб + хіміотерапія та

бевацизумаб + хіміотерапія. Кращу загальну виживаність мали пацієнти, що отримували атезолізумаб + бевацизумаб + хіміотерапію. Медіана загальної виживаності у курців, які застосовували атезолізумаб + хіміотерапію становила 19,0 місяців проти 14,1 місяців у тих, хто застосовував бевацизумаб + хіміотерапію [373]. Комбінування цеміплімаба з хіміотерапією на основі платини також покращило виживання у порівнянні з тими, хто лікувався хіміотерапією у комбінації з плацебо. Аналіз за статусом паління показав, що некурці не отримали жодної користі від додавання до лікувальної схеми ПКТ. В той же час, курці мали кращі клінічні наслідки [374].

Подібно до нашого дослідження деякі автори досліджували залежний від дози вплив паління. У дослідженні CarmeL-Sq приймали участь 389 пацієнтів з метастатичним НДКРЛ. Комбінування кармелізумаба з хіміотерапією продемонструвало значні переваги над терапевтичною схемою, що включала плацебо та хіміотерапію. Завзяті курці, що отримували кармелізумаб мали статистично достовірну кращу виживаність, ніж ті, хто палив помірно або був некурцем [375]. Wang et al. [16] спостерігали значний зв'язок між тривалим інтенсивним палінням та покращенням виживаності пацієнтів, що отримували монотерапію ПКТ для лікування метастатичного НДКРЛ. Автори зробили висновок, що пачко-роки можуть бути додатковим предиктором ефективності ПКТ.

Парадоксально покращені результати лікування в курців, ймовірно, відображають складний зв'язок між тютюновим анамнезом, мутаційним тягарем та експресією PD-L1 – ключового предиктора ефективності ПКТ. У нашому дослідженні ми виявили, що гіперекспресія PD-L1 частіше реєструється у пацієнтів із тривалим стажом паління ( $\geq 28$  пачко-років), що узгоджується з уявленнями про індукцію PD-L1 під впливом канцерогенів тютюну. Таким чином, навіть попри загальновідомий негативний вплив паління на перебіг НДКРЛ, у контексті імунотерапії може формуватися так званий «парадокс курця», коли вища імуногенність пухлини забезпечує кращу відповідь на блокаду PD-1/PD-L1. Водночас аналіз когорти хіміотерапії підтвердив, що за відсутності

ІКТ курці демонструють гірші клінічні результати, ймовірно через порушену регуляцію PD-L1 та прогресування пухлини без ефективної імунної модифікації.

Однак навіть попри покращені показники виживаності, застосування ІКТ супроводжується ризиком розвитку імунозалежних побічних ефектів, що відображають надмірну активацію імунної системи. У фізіологічних умовах імунні контрольні точки підтримують толерантність, але їх блокада призводить до появи аутореактивних Т-клітин і розвитку аутоімунних реакцій [376]. За даними літератури, імунозалежні побічні ефекти будь-якого ступеня тяжкості реєструються приблизно у 70% пацієнтів, які отримують інгібітори PD-1/PD-L1, тоді як близько 15% хворих мають побічні ефекти помірного або важкого ступеня [377]. Отже, на тлі потенційно вищої ефективності імунотерапії у курців постає важливе клінічне питання – баланс між отриманою користю та ризиком токсичності, що потребує подальшого вивчення та індивідуалізації терапевтичних підходів.

Для менеджменту ускладнень імунотерапії широко застосовують кортикостероїди, які мають потужні протизапальні властивості. Кортикостероїди пригнічують експресію прозапальних генів та шляхом опосередкованої інтерлейкіном-2 (IL-2) активації Т-клітин та збільшення кількості регуляторних Т-клітин призводять до пригнічення імунної відповіді [378]. Крім того, стероїди впливають на мікробіом, поляризацію макрофагів у пухлинному мікрооточенні, переміщення лімфоцитів, вивільнення пухлинних антигенів та імуноопосередковане знищення пухлинних клітин [379]. Загалом деякі ефекти кортикостероїдів є цілком протилежними ІКТ.

В онкології кортикостероїди застосовують не лише для менеджменту імунозалежних побічних ефектів. Завдяки протинабряковим, протизапальним, протиалергічним та знеболювальним ефектам стероїдні гормони є ефективними при невідкладних онкологічних станах (обструкції верхньої порожнистої вени, внутрішньочерепній гіпертензії) та лікуванні пов'язаних із раком симптомів (симптоматичних метастазів в головному мозку, кахексії, компресії спинного мозку). Крім того, їх з успіхом застосовують у паліативній терапії (больового

синдрому, втомлюваності, задишки) та менеджменті супутньої патології (ревматоїдного артриту, хронічного обструктивного захворювання легень, алергії) [380].

Зростаюче застосування ПКТ у поєднанні з широким використанням стероїдів в онкології підкреслює важливість розуміння їх взаємного впливу. У багатьох дослідженнях було підтверджено негативний вплив системних кортикостероїдів на ефективність імунотерапії у хворих на метастатичний НДКРЛ [34,36]. Проте, вплив інгаляційних кортикостероїдів на виживаність пацієнтів залишається неясним.

У даному дослідженні ми встановили, що системні кортикостероїди зменшують ефективність ПКТ у хворих на метастатичний НДКРЛ. Використання інгаляційних кортикостероїдів, навпаки, було асоційоване покращенням виживаності без прогресування та загальної виживаності, особливо у пацієнтів з ХОЗЛ. Багатофакторний аналіз продемонстрував, що використання системних кортикостероїдів є незалежним предиктором негативного прогнозу. Наявність ХОЗЛ, навпаки, було визначено фактором позитивного прогнозу. Ми оцінили зв'язок між типом стероїдних препаратів та ефективністю ПКТ. Було встановлено, що системні кортикостероїди тривалої дії (дексаметазон), які призначали для лікування пов'язаних із раком симптомів, погіршували ефективність ПКТ. В той же час, системні кортикостероїди середньої тривалості дії, які використовували здебільшого для лікування імунозалежних побічних ефектів, не мали негативного впливу на загальну виживаність.

Вплив ПКТ на імунітет є протилежним тому, який чинять стероїди. Проте, в багатьох випадках практично неможливо уникнути застосування стероїдів в онкологічній практиці. Хворі на метастатичний НДКРЛ мають значну кількість супутніх захворювань, які потребують застосування системних кортикостероїдів. Крім того, стероїди є незамінними препаратами для лікування імунозалежних побічних ефектів та пов'язаних з раком симптомів. Як наслідок, необхідне чітке розуміння впливу системних та інгаляційних кортикостероїдів на ефективність імунотерапії [381,382].

У кількох дослідженнях було продемонстровано негативний вплив системних кортикостероїдів на наслідки лікування НДКРЛ. Ricciuti et al. [383] встановили, що пацієнти, які отримували  $\geq 10$  мг преднізолону на початку імунотерапії мали гірші виживаність без прогресування та загальну виживаність у порівнянні з тими, хто використовував стероїди у дозах від 0 до 10 мг. Scott et al. [384] продемонстрували, що прийом системних кортикостероїдів зменшував клінічну користь та виживаність пацієнтів, що отримували терапію ніволумабом.

В основі негативного впливу системних кортикостероїдів лежить порушення диференціації та проліферації Т-клітин, що призводить до імуносупресії [385]. У поточному дослідженні ми підтвердили негативний вплив системних кортикостероїдів на виживаність. Проте аналіз в групах продемонстрував, що системні кортикостероїди середньої тривалості дії не мали негативного впливу на виживаність. Цей тип стероїдів застосовували здебільшого для лікування імунозалежних побічних ефектів. Отримані результати співпали з даними, які були отримані Skribek et al. [386]. У своєму дослідженні автори дослідили 196 хворих на метастатичний НДКРД, де 46,3% пацієнтів під час імунотерапії отримували стероїди. Було встановлено, що системні кортикостероїди, які призначали для менеджменту імунозалежних побічних ефектів не зменшували ефективність ПКТ. Проте використання стероїдів для полегшення симптомів, пов'язаних із раком негативно впливало на прогноз.

Інгаляційні кортикостероїди досить широко використовують в пульмонології. Pitre et al. [387] у мета-аналізі встановили, що прийом інгаляційних кортикостероїдів асоційований зі зниженням ризику захворюваності на рак легень, особливо у пацієнтів з ХОЗЛ. Аналогічні висновки отримали Tareke et al. [388]. Автори показали, що у пацієнтів з ХОЗЛ, що приймають інгаляційні кортикостероїди ризик захворіти на рак легень зменшується на 31%. Протизапальний ефект інгаляційних кортикостероїдів обумовлений локальним впливом на імунні клітини, зокрема на альвеолярні макрофаги, кількість котрих значно підвищена у пацієнтів з ХОЗЛ. Ці клітини

продукують прозапальні цитокіни та хемокіни, особливе значення серед яких мають хемоатрактант нейтрофілів інтерлейкін-8, інтерлейкін-6 та фактор некрозу пухлини-альфа (TNF- $\alpha$ ). Інгаляційні кортикостероїди пригнічують вивільнення цих речовин та зменшують ступінь локального запалення. Вплив на кількість CD4<sup>+</sup> та CD8<sup>+</sup> є неоднозначним. Не зважаючи на тимчасове зменшення їх кількості, ефект є короткотривалим та локальним і не призводить до системної імуносупресії [389].

Під час літературного пошуку ми не знайшли даних про вплив інгаляційних кортикостероїдів на ефективність ПКТ. Проте існують повідомлення про підвищений ризик розвитку імунозалежних побічних ефектів у пацієнтів, які мають ХОЗЛ та застосовують терапію ПКТ [390]. Li et al. [391] повідомляли, що пацієнти  $\geq 65$  років, що приймали інгаляційні кортикостероїди на початку терапії ПКТ мали дещо вищу частоту аутоімунного пневмоніту. В той же час, інші автори спростовують такі висновки [392].

Позитивний вплив ХОЗЛ на клінічні результати у нашій когорті ймовірно відображає не лише відсутність небажаної взаємодії інгаляційних кортикостероїдів з ПКТ, але й глибший імунологічний зв'язок між хронічним запаленням дихальних шляхів та формуванням прозапального пухлинного мікрооточення. Дані Mark et al. [393] підтверджують, що ХОЗЛ індукує збільшення кількості CD4<sup>+</sup> та CD8<sup>+</sup> Т-клітин і спрямовує імунний профіль пухлини у бік підвищеної імунної активності, що потенціює відповідь на імунотерапію. Узгоджено з цим, численні клінічні спостереження демонструють кращу виживаність без прогресування та загальну виживаність у пацієнтів з раком легень і супутнім ХОЗЛ, які отримують ПКТ [394,395], що дозволяє розглядати ХОЗЛ як можливий прогностичний фактор ефективності імунотерапії [396]. Наші результати, згідно з багатофакторним аналізом, підтверджують цей висновок, а відсутність негативного впливу інгаляційних кортикостероїдів додатково підсилює аргументацію на користь сприятливого імунного середовища у таких пацієнтів.

У той час як ХОЗЛ репрезентує стан хронічного локального запалення дихальних шляхів, інший важливий напрямок досліджень стосується ролі системного запалення як ключового модифікатора ефективності ПКТ. Прогностичні маркери, що відображають системну запальну відповідь, привертають особливу увагу, оскільки системне запалення супроводжується якісними та кількісними змінами клітинного складу як у периферичній крові, так і в пухлинному мікрооточенні [20]. Ефективність імунотерапії значною мірою залежить від цитокінового профілю пацієнта, адже високі рівні TNF- $\alpha$  та IL-6 – цитокінів, характерних для пухлин із вираженим запальним компонентом – стимулюють мієлопоез та призводять до перебудови популяцій імунних клітин. У свою чергу, активовані тромбоцити, нейтрофіли, моноцити, лімфоцити та мієлоїдні супресорні клітини продукують низку прозапальних медіаторів, включно з TGF- $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8 та IFN- $\gamma$ , що сприяє підтриманню системного запалення і формуванню середовища, яке безпосередньо впливає на відповідь на ПКТ [21].

Підходи, зосереджені на оцінюванні співвідношення основних клітин крові, мають значні переваги. По-перше, для аналізу використовують дані клінічного аналізу крові, які завжди застосовують в клінічній практиці. По-друге, ці дослідження дешеві, доступні, малоінвазивні та не мають протипоказань до виконання. По-третє, для підрахунку запальних індексів на основі співвідношенні клітин крові не потрібні спеціальні навички та вміння [397].

Для відображення балансу імунних клітин та стану імунної системи найчастіше застосовують індекс системного запалення (SII) [22], індекс системної запальної відповіді (SIRI) [23], співвідношення нейтрофілів та лімфоцитів (NLR), тромбоцитів та лімфоцитів (PLR), лімфоцитів та моноцитів [24]. Проте, результати досліджень не завжди ясні, оскільки прогностичне значення індексів запалення значною мірою залежить від типу пухлини, стадії захворювання, застосовуваного терапевтичного режиму та лінії імунотерапії.

У цьому дослідженні ми прослідкували взаємозв'язок між співвідношенням нейтрофілів до лімфоцитів (NLR), показниками виживаності та

ефективністю терапії ПКТ у пацієнтів з метастатичним НДКРЛ. Наші результати свідчать про те, що низький базовий рівень NLR достовірно асоціюється з покращеною загальною виживаністю та вищим рівнем об'єктивної відповіді на лікування. Крім того, у багатофакторному аналізі NLR був визнаний незалежним прогностичним фактором загальної виживаності.

NLR є одним із найчастіше досліджуваних і водночас найпростіших для застосування системних запальних біомаркерів, який визначають на основі звичайного клінічного аналізу крові. Його прогностичне значення у НДКРЛ було підтверджено низкою досліджень та метааналізів. Підвищений NLR, ймовірно, відображає про-запальне мікрооточення пухлини, в якому домінують нейтрофіли – клітини, здатні стимулювати ангіогенез, проліферацію пухлинних клітин і уникнення імунної відповіді за рахунок секреції біологічно активних речовин, таких як фактор росту гепатоцитів, епідермальний фактор росту та тромбоцитарний фактор росту [398,399].

Отримані нами результати узгоджуються з попередніми роботами, зокрема з дослідженням Peng et al. [398], де було показано, що NLR <5 асоціюється з кращими показниками виживаності та ефективності терапії у пацієнтів, які отримували інгібітори PD-1. Систематичний огляд Platini et al. [400], а також дослідження Pu et al. [401] аналогічно свідчать про негативний вплив підвищеного NLR на прогноз у пацієнтів із поширеним НДКРЛ.

Окрім раніше отриманих даних, нещодавні результати Zhang et al. [402] підтверджують, що базовий рівень NLR і SII можуть передбачати результати імунотерапії при НДКРЛ: нижчі значення цих індексів асоціюються з кращою виживаністю. Важливо, що Zheng et al. [403] встановили, що навіть у пацієнтів із високою експресією PD-L1 ( $\geq 50\%$ ), низький рівень NLR був пов'язаний із глибшою відповіддю на монотерапію ПКТ у першій лінії, що свідчить про можливу роль системного запального статусу як модифікатора імуноефективності.

He et al. [404] розширили ці спостереження, продемонструвавши прогностичну цінність SII та інших запальних маркерів у пацієнтів з раком

легень із кістковими метастазами – групи, що зазвичай має несприятливий прогноз. Натомість у нашому дослідженні індекси SII, SIRI та LMR не виявили статистично значущого впливу на загальну виживаність або виживаність без прогресування. Можливо, їхнє прогностичне значення залежить від загального пухлинного навантаження, локалізації метастазів або обраної стратегії лікування.

Клінічна значущість отриманих результатів полягає у практичності використання NLR як неінвазивного, недорогого та загальнодоступного маркера для ранньої стратифікації пацієнтів, які отримують ПКТ. Lei et al. [405] підкреслили, що показники NLR, PLR і співвідношення SII/альбумін корелюють з ефективністю імунотерапії, відображаючи не лише біологію пухлини, а й загальний імунно-нутритивний статус організму, що, у свою чергу, впливає на переносимість і відповідь на лікування.

Крім того, Yuan et al. [406] продемонстрували, що поєднання запальних маркерів із моделями глибокого навчання дозволяє покращити раннє прогнозування ефективності імунотерапії у нерезектабельних випадках НДКРЛ. Це відкриває перспективи інтеграції таких індексів, як NLR, у штучно-інтелектуальні системи підтримки клінічного рішення.

Katayama et al. [407] у дослідженні пацієнтів, які отримували монотерапію атезоліумабом, підтвердили, що низький базовий NLR достовірно пов'язаний із довшою виживаністю. Аналогічно, Zhu et al. [408] довели потенціал NLR і PLR для диференціації пацієнтів з раком легень від здорових осіб, що ще раз підкреслює імунологічну значущість цих індексів.

Попри численні докази прогностичної цінності NLR, залишається відкритим питання щодо оптимального граничного значення цього показника. У нашому дослідженні ROC-аналіз дозволив визначити поріг 3,6, тоді як у літературі зустрічаються різні значення – від 2,8 до 5 залежно від досліджуваної популяції, вибору кінцевих точок і статистичного підходу [409–411]. Найчастіше у клінічній практиці використовується поріг 4, що узгоджується з отриманими нами результатами та підкреслює відносну стабільність цього показника як

прогностичного маркера. Водночас варіабельність граничних значень свідчить про те, що NLR відображає лише окремий аспект складної запальної відповіді, яка формується у пацієнтів із НДКРЛ, і не завжди може бути достатньою для повної клінічної оцінки.

Це обмеження NLR як поодинокого маркера зумовило зростаючий інтерес до багатофакторних підходів, що інтегрують показники периферичної крові, біохімічні параметри, характеристики пухлини та клінічні фактори. Наразі комплексні алгоритми прогнозування реакції на ПКТ дедалі частіше включають такі параметри, як співвідношення нейтрофілів до лімфоцитів, тромбоцитів до лімфоцитів, лімфоцитів до моноцитів [412], рівень лактатдегідрогенази [413], локалізацію метастазів [414] та генетичні характеристики пухлини [415]. Однак більшість із цих маркерів лише частково відображають біологічну складність пухлинного процесу і не дозволяють здійснити повноцінну стратифікацію ризику. Враховуючи багатофакторний характер протипухлинної відповіді на ПКТ, виникає необхідність створення сучасних інтегративних систем оцінки ризику, здатних поєднувати клінічні, лабораторні та біологічні параметри – включно зі станом мікробіому, використанням антибіотиків, стероїдів чи особливостями метастатичного процесу – для підвищення точності прогнозування результатів лікування.

У деяких дослідженнях було оцінено системи оцінки ризику для прогнозування ефективності ПКТ у хворих на НДКРЛ. Наприклад, легеневий імунний прогностичний індекс (LPI) оцінює співвідношення похідних NLR та лактатдегідрогенази [416], індекс прогресуючого раку легень (ALI) – індекс маси тіла, рівень альбуміну крові та NLR [417], шкала імунотерапії Patras (PIOS) – загальний статус пацієнта, ІМТ, лінію імунотерапії та вік пацієнта [418], прогностичний індекс харчування (PNI) – рівень альбуміну крові та абсолютне число лімфоцитів (АЧЛ), LEM – абсолютне число лімфоцитів, загальний статус пацієнта та наявність метастазів у легенях та/або плеврі [419]. Кількість досліджень, що базуються на застосуванні систем оцінки ризику, є дуже обмеженою, а отримані результати неоднозначними.

У поточному дослідженні ми встановили, що система оцінки ризику LEM може бути корисною у прогнозуванні ефективності ПКТ. У залежності від кількості факторів ризику, хворі на метастатичний НДКРЛ досягають різної відповіді на лікування. Ті пацієнти, що мають 3 фактори ризику відповідно до системи оцінки ризику LEM значно рідше досягають об'єктивної відповіді на лікування, ступеня контролю над захворюванням та мають гіршу виживаність без прогресування та загальну виживаність.

Запорукою ефективності даної системи оцінки ризику є врахування ключових факторів, від яких залежать клінічні наслідки у хворих на НДКРЛ, таких як абсолютне число лімфоцитів, статус ECOG та наявність метастазів у легенях та/або плеврі. Встановлено, що імунний статус та системне запалення мають значний вплив на ефективність терапії ПКТ. Інгібітори PD-1 посилюють протипухлинні властивості Т-лімфоцитів шляхом блокування рецепторів PD-1, розташованих на їх поверхні. Т-лімфоцити є ключовою ланкою імунної системи, від якої залежить протипухлинна імунна відповідь. Зниження кількості лімфоцитів периферичної крові призводить до зменшення рівня лімфоцитів, що інфільтрують пухлину та порушення балансу фенотипів Th1 та Th2 [419].

Karantanos et al. [420] досліджували прогностичне значення АЧЛ у хворих на НДКРЛ, що отримували терапію ніволумабом. Автори встановили, що високий АЧЛ перед початком імунотерапії та його збільшення через 6 тижнів від початку терапії ніволумабом корелює із кращою загальною виживаністю. Punjabiet al. [421] встановили, що співвідношення нейтрофілів та лімфоцитів та АЧЛ є сурогатними маркерами системного запалення, що мають прогностичне значення у хворих на НДКРЛ.

Крім АЧЛ, системи оцінки ризику LEM враховує загальний статус пацієнта за шкалою ECOG. Yang et al. [422] у своєму дослідженні не виявили зв'язку між загальним статусом пацієнтів та ефективністю ПКТ. Проте, у клінічній практиці саме загальний статус пацієнта є вирішальним при виборі оптимального методу лікування. За результатами кількох досліджень ECOG  $\geq 2$  асоційований із

погіршенням загальної виживаності у хворих на НДКРЛ, що отримували терапію пембролізумабом [423,424].

Наступним важливим фактором ризику неефективності ПКТ, який включає система оцінки ризику LEM є метастазування в легені та/або плевру у хворих на НДКРЛ. Відомо, що в процесі імунотерапії в метастатичних вогнищах формується специфічне пухлинне мікрооточення, яке впливає на клінічні наслідки. Tamiya et al. [425] продемонстрували, що наявність метастазів у печінці, легенях та ECOG  $\geq 2$  є предикторами неефективності ніволумаба у хворих на метастатичний НДКРЛ. Пацієнти з метастазами в плевру також мають обмежену відповідь на терапію ПКТ [426]. НДКРЛ найчастіше метастазує в легені та плевру, особливо у пацієнтів, що несуть найбільш поширені мутації рецептора епідермального фактора росту (EGFR) та перебудови кінази анаплатичної лімфоми (ALK). Ймовірно, це один із важливих факторів, який обумовлює негативне прогностичне значення метастазів у легені та плевру у хворих на НДКРЛ [427].

З огляду на багатофакторну природу відповіді на ПКТ та обмеженість окремих лабораторних або клінічних маркерів, підтвердження прогностичної цінності системи LEM у нашому дослідженні видається цілком закономірним. LEM інтегрує кілька ключових параметрів, доступних у рутинній клінічній практиці, що робить її не лише зручною у застосуванні, але й перспективною для стратифікації пацієнтів, які потенційно отримують найбільшу користь від терапії ПКТ. Такий підхід демонструє цінність алгоритмів, здатних поєднувати різні аспекти системної відповіді організму на пухлину.

Поряд із розвитком комплексних біоінформаційних і клінічних індексів, дедалі більшу увагу привертають радіологічні параметри, що характеризують стан тканин організму. Останнім часом значно зріс інтерес до аналізу складу тіла як джерела прогностичних маркерів, особливо у пацієнтів, які отримують імунотерапію. Одним із таких параметрів є радіологічна щільність ПЖК, що визначається за даними комп'ютерної томографії. Підвищена щільність ПЖК може свідчити про зменшення ліпідного компоненту, розвиток фіброзу або

«бурування» жирової тканини – процеси, характерні для кахексії та часто пов'язані з прогресуванням пухлини й несприятливим прогнозом [25]. Таким чином, на тлі зростання інтересу до інтегрованих підходів оцінки ризику, радіологічні маркери складу тіла постають як перспективне доповнення до існуючих прогностичних систем.

Дослідження Sun et al. [26] показало, що у пацієнтів з НДКРЛ вища радіологічна щільність ПЖК асоціюється з підвищеною метаболічною активністю пухлини та зниженою загальною виживаністю. Зокрема, медіана виживаності становила 45,3 місяця у групі з високою щільністю ПЖК порівняно з 50,5 місяця у групі з низькою щільністю ( $p = 0,026$ ). Автори припустили, що пухлини з високою метаболічною активністю можуть індукувати зміни в ПЖК, зокрема посилення фіброзу та зменшення ліпідної щільності.

Інші дослідження також підкреслюють важливість радіологічного оцінювання складу тіла для прогнозування результатів імунотерапії при НДКРЛ. Наприклад, у систематичному огляді Pei et al. [27] було встановлено, що у трьох із шести досліджень більша кількість жирової тканини позитивно корелювала з відповіддю на лікування та виживаністю у пацієнтів з НДКРЛ, які отримували ПКТ. Прогностична цінність ПЖК та ВЖК варіювала, що свідчить: не лише кількість, а й якість жирової тканини може впливати на ефективність імунотерапії [31].

Прогностичне значення ПЖК залишається невизначеним у пацієнтів з метастатичним НДКРЛ, які отримують ПКТ. У ретроспективному дослідженні Porinat et al. [428], що включало 55 пацієнтів із метастатичним НДКРЛ, які отримували ніволумаб, зменшення об'єму ПЖК за даними радіологічної візуалізації було визначено як предиктор низької загальної виживаності. Натомість подібне дослідження за участю 44 пацієнтів із метастатичним НДКРЛ, які отримували пембролізумаб, продемонструвало, що зменшення ПЖК під час імунотерапії не мало статистично значущого впливу на виживаність. Автори припустили, що ПЖК сам по собі може не бути незалежним прогностичним фактором у цьому контексті [30].

Очевидні розбіжності між результатами у пацієнтів, які отримували ніволумаб та пембролізумаб, можуть пояснюватися відмінностями у лінії терапії та вихідних характеристиках пацієнтів. У дослідженні Popinat et al. [428] ніволумаб призначали як терапію другої або наступних ліній, переважно після платинової хіміотерапії. Натомість Baldessari et al. [30] оцінювали пацієнтів, які отримували пембролізумаб у першій лінії, і які, як правило, мали кращий загальний стан та збережений метаболічний резерв. Такі відмінності можуть впливати на прогностичну значущість параметрів жирової тканини, зокрема ПЖК. Крім того, варіації у розмірах вибірки, дизайні досліджень та часі оцінювання складу тіла також можуть спричинити відмінності у висновках.

Беручи до уваги наведені дані, радіологічна оцінка ПЖК може стати перспективним інструментом для стратифікації ризику та прогнозування результатів лікування у пацієнтів із метастатичним НДКРЛ [429]. Важливо зазначити, що більшість наявних досліджень зосереджена на кількості та розподілі жирової тканини, а також на співвідношенні ПЖК/ВЖК. Натомість досліджень, які б комплексно оцінювали роль радіоденситометрії ПЖК у прогнозуванні ефективності ПКТ у метастатичному НДКРЛ, дуже мало. Фактично, лише дослідження Chaunzwa et al. [268] повідомило, що підвищення щільності ПЖК більш ніж на 5% під час імунотерапії асоціювалося з гіршою загальною виживаністю у пацієнтів з НДКРЛ, зокрема серед жінок.

Наскільки нам відомо, жодне дослідження в Україні або Східній Європі не проводило систематичної оцінки радіоденситометрії ПЖК у цій категорії пацієнтів. Зважаючи на ці обнадійливі попередні результати, необхідні подальші дослідження для підтвердження або спростування отриманих даних та для з'ясування зв'язку між щільністю ПЖК і відповіддю на терапію ПКТ. Оскільки показники радіоденситометрії ПЖК можуть бути отримані під час рутинних КТ-досліджень без додаткових витрат, вони мають потенціал стати масштабованим біомаркером у різних клінічних умовах.

У цьому дослідженні ми встановили, що пацієнти з метастатичним НДКРЛ, які отримували терапію ПКТ, мали найкращу загальну виживаність за умови

середнього рівня радіологічної щільності ПЖК (Q2), тоді як як нижчі, так і вищі показники асоціювалися з менш сприятливими результатами. Такий розподіл може відображати дію різних патологічних механізмів на протилежних полюсах якості ПЖК. На високому кінці діапазону (Q4) надмірно підвищена радіологічна щільність, ймовірно, відповідає вираженому ремоделюванню тканини зі зниженням ліпідного вмісту, фіброзом, «буруванням» та інфільтрацією запальних макрофагів – характерними ознаками пізніх стадій пухлинної кахексії, зумовленої цитокінами, зокрема IL-6 [430–432]. Ці зміни можуть знижувати метаболічний резерв і порушувати імунну компетентність, що призводить до гірших клінічних результатів. Натомість Q3 – помірне підвищення щільності – може не досягати цього патологічного порога, що пояснює відсутність значущого погіршення виживаності всупереч деякому зростанню щільності. На нижньому кінці діапазону (Q1) ліпідно багата ПЖК може свідчити про надмірне накопичення енергії, знижену метаболічну гнучкість і хронічне запалення низького ступеня, а також про змінений адипокіновий сигнальний профіль (наприклад, вісь лептин–STAT3–PD-1), що сприяє виснаженню Т-клітин [433,434]. Таким чином, Q2 може являти собою «імунометаболічний оптимум», який поєднує достатні енергетичні резерви з мінімальним ремоделюванням та забезпечує як кращу переносимість лікування, так і більш ефективний протипухлинний імунітет.

У контексті цього дослідження термін «імунометаболічний оптимум» визначено прагматично як діапазон радіологічної щільності ПЖК, що відповідає Q2 і був пов'язаний з найсприятливішими показниками виживаності. Збагачення Q2 пацієнтами з PD-L1  $\geq 50\%$  могло додатково посилити переваги цього квартиля, що підкреслює потенційну взаємодію між метаболічним станом організму та внутрішньопухлинними предикторами відповіді [27,31].

Стратифікування за експресією PD-L1 додатково зміцнило цю інтерпретацію. В обох підгрупах за PD-L1 пацієнти з проміжною радіологічною щільністю ПЖК (Q2) послідовно демонстрували найкращі результати. Хоча різниця у виживаності не досягла статистичної значущості в підгрупі PD-L1 1–

49 %, ймовірно через недостатню статистичну потужність, та сама тенденція була очевидною. Натомість у пухлинах з високою експресією PD-L1 прогностичний ефект ПЖК-щільності проявлявся більш виражено, з чіткою перевагою Q2. Сукупність цих спостережень свідчить про те, що прогностична роль ПЖК-радіоденситометрії може бути особливо значущою в умовах високої імуногенності пухлини, однак стабільна перевага Q2 в обох підгрупах підтверджує ширшу концепцію імунометаболічного оптимуму.

Наш аналіз із використанням обмежених кубічних сплайнів підтримав помірну U-подібну тенденцію між радіологічною щільністю ПЖК та смертністю, однак докази на користь вираженої нелінійності були обмеженими. Лише Q2 продемонстрував статистично значущу перевагу у виживаності; Q3 і Q4 не досягли значущості й мали коефіцієнти ризику нижче 1. У разі істинної U-подібної залежності слід було б очікувати коефіцієнт ризику понад 1 при високих значеннях щільності, чого ми не спостерігали. Крім того, за кривими Каплана–Меєра результати Q3 були ближчими до Q1 та Q4, ніж до ідеалізованої U-подібної моделі. Ці розбіжності можуть бути наслідком відносно невеликого розміру вибірки в кожній групі, широких довірчих інтервалів у більшості діапазону ПЖК і використання квартильних меж, що не обов'язково відображають неперервну природу цього зв'язку. Застосування альтернативних порогів та гнучкіших моделей сплайнів може допомогти уточнити, чи є ця закономірність справжньою чи статистичним артефактом [435].

Хоча квартильна стратифікація не має попередньо визначених біологічних порогів, її було обрано априорі для дослідження внутрішніх патернів виживаності та виявлення потенційних нелінійних залежностей. Для мінімізації цього обмеження ми додатково оцінили ПЖК як неперервну змінну за допомогою багатофакторної регресії Кокса та аналізу з обмеженими кубічними сплайнами. Отримані моделі не продемонстрували значущого лінійного тренду, проте підтримали помірну U-подібну залежність, що підсилює валідність квартильного підходу щодо виявлення клінічно релевантних відмінностей у виживаності.

Поza функцією енергетичного резерву жирова тканина дедалі частіше розглядається як активний ендокринний та імуномодулювальний орган. Через секрецію адипокінів, цитокінів та метаболітів вона формує системний метаболізм, запальний тонус та імунний нагляд. Жирова тканина продукує такі прозапальні медіатори, як TNF- $\alpha$ , лептин та IL-6 [434], які регулюють різні аспекти імунного гомеостазу. Наприклад, лептин сприяє дисфункції CD8<sup>+</sup> Т-клітин шляхом підвищення експресії PD-1 через STAT3-сигналізацію [436].

Підвищена експресія PD-1 стимулює виснаження Т-клітин, але водночас робить їх більш чутливими до терапії ІКТ, оскільки вони є прямими мішенями для блокади контрольних точок [433,437]. Важливо, що загальний вплив жирової тканини залежить від контексту: тоді як крайні стани низької або високої ПЖК-радіоденситометрії асоціюються з імуносупресією, проміжні значення (Q2) можуть формувати імунометаболічний оптимум із кращим балансом між про- та протизапальними сигналами (рис. 7.1).

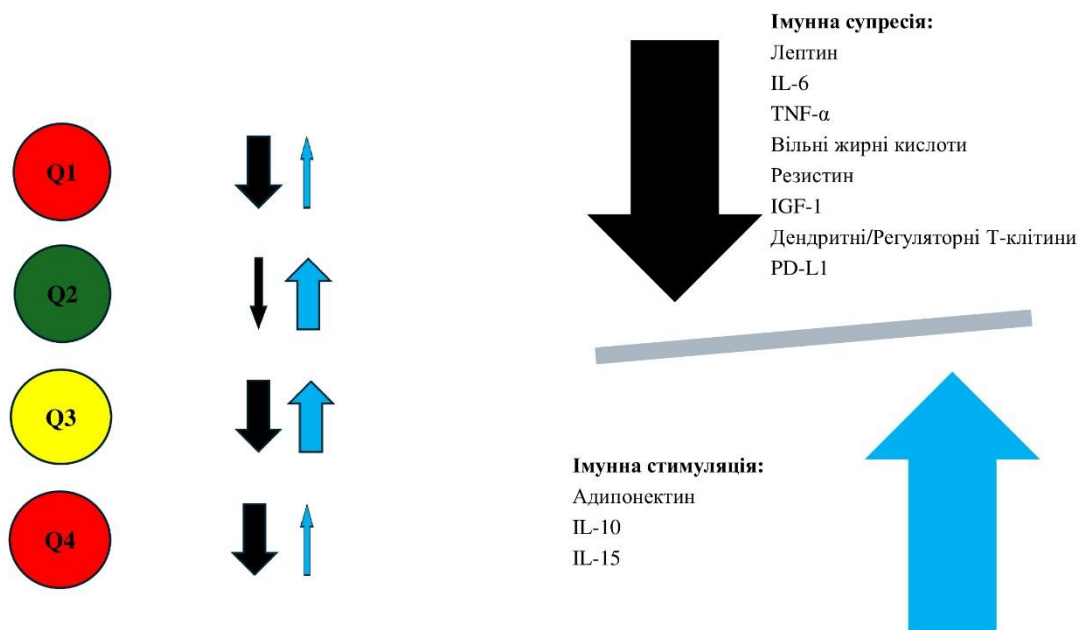


Рисунок 7.1 – Схематичне представлення взаємозв'язку між кuartилями радіодіологічної щільності підшкірної жирової тканини (Q1–Q4) та регуляцією імунної відповіді

Якісні властивості жирової тканини як предикторів терапевтичної ефективності привертають дедалі більше уваги. Прогностичну цінність радіологічної щільності ПЖК було досліджено при колоректальному [438], раку молочної залози [439] та раку сечового міхура [440], проте дані щодо метастатичного НДКРЛ залишалися обмеженими. Ми намагалися окреслити загальні закономірності в межах наявної, хоча й невеликої, доказової бази.

Наші результати узгоджуються з даними Karoor et al. [441], які показали, що підвищення радіоденситометрії ПЖК у хворих на рак корелює зі зниженням виживаності при НДКРЛ. Аналогічно, Zhang et al. [442] встановили, що пацієнти з гепатоцелюлярною карциномою та високою щільністю ПЖК мали гіршу відповідь на терапію ПКТ, незалежно від ІМТ чи загального об'єму жирової тканини. Важливо, що саме якість тканини (тобто її щільність), а не кількість, краще передбачала клінічний результат.

Протилежні висновки було отримано в одному з досліджень [443], де більший об'єм ПЖК асоціювався з кращими результатами ПКТ, зокрема подовженням виживаності без прогресування, загальної виживаності та кращим контролем захворювання. Однак у цьому дослідженні не враховували щільність жирової тканини, що підкреслює потенційну розбіжність між кількісними та якісними характеристиками ПЖК і потребу у подальшому її з'ясуванні. Makrakis et al. [444] досліджували вплив жирової тканини на ефективність ПКТ при метастатичному НДКРЛ, перетворюючи щільність ПЖК у специфічний індекс, нормалізований на площу поверхні тіла. Низький ПЖК-індекс асоціювався зі зниженим рівнем загальної виживаності.

Зниження ризику смертності, яке ми спостерігали у другому квартилі радіологічної щільності ПЖК, залишалось статистично значущим після корекції на ключові клініко-патологічні коваріати, включно з ІМТ. Це підтверджує гіпотезу, що радіоденситометрія ПЖК може виступати незалежним прогностичним біомаркером у пацієнтів з НДКРЛ, які отримують терапію ПКТ. Аналіз підгрупи виявив значущу взаємодію між ПЖК-щільністю та експресією PD-L1, що свідчить про взаємозв'язок між метаболічним статусом пацієнтів і

пухлинною імунною відповіддю [445]. Асоціація між ПЖК-радіоденситометрією та експресією PD-L1 може вказувати на біологічну взаємодію, у межах якої якісний стан жирової тканини впливає на регуляцію імунної відповіді. Прозапальні чинники, що секретуються ПЖК – зокрема IL-6, TNF- $\alpha$  та лептин – здатні спрямовувати міграцію імунних клітин, активувати PD-L1-залежні шляхи та змінювати імуногенність пухлини [446]. Вищі значення радіоденситометрії SAT можуть відображати фібротичне ремоделювання або інтенсивну запальну інфільтрацію жирової тканини, що потенційно впливає на сигнальні шляхи імунних контрольних точок та локальну секрецію цитокінів. Нещодавні експериментальні дані підтверджують цей механістичний зв'язок, демонструючи, що клітинний енергетичний статус здатний безпосередньо регулювати експресію PD-L1 та моделювати протипухлинну імунну відповідь, тим самим впливаючи на ефективність терапії ПКТ [447]. Хоча наведені гіпотези є перспективними, вони потребують подальшої експериментальної верифікації та поглибленого вивчення.

На тлі інтенсивного інтересу до ролі ПЖК логічним є розгляд іншого важливого компоненту жирового компартменту – вісцеральної жирової тканини (ВЖК), яка традиційно пов'язується як із метаболічними порушеннями, так і з онкологічними ризиками. У нашому дослідженні ми оцінили прогностичну цінність радіологічної щільності ВЖК у пацієнтів з метастатичним НДКРЛ, які отримували імунотерапію з використанням ПКТ. Попри вихідну гіпотезу про можливий вплив ВЖК на виживаність, результати не підтвердили статистично значущого зв'язку між її радіоденситометрією та смертністю, специфічною для НДКРЛ, як у некоригованих, так і в багатофакторних моделях.

Водночас важливо враховувати, що збільшені об'єми ВЖК достеменно асоціюються з підвищеним ризиком розвитку різноманітних злоякісних пухлин, включаючи колоректальний рак [448], нирково-клітинний рак [449], рак молочної залози [450], рак підшлункової залози [451], гепатоцелюлярну карциному [452] та рак легень [453]. Крім того, ВЖК впливає на частоту післяопераційних ускладнень, ймовірність рецидиву та ефективність медикаментозного лікування

[454–456], що підкреслює її важливу роль у системній онкологічній патології, навіть якщо її прогностичне значення у контексті ПКТ залишається неоднозначним.

Не зважаючи на те, що жирову тканину часто асоціюють зі збільшенням ризику злоякісних новоутворень, в науковій літературі добре описаний «парадокс ожиріння» - феномен, при якому пацієнти з ожирінням мають кращі клінічні наслідки [457]. Щодо пацієнтів, які отримують лікування ПКТ, нещодавні дослідження підтверджують неоднозначне прогностичне значення ожиріння [458]. Протипухлинні властивості ПКТ можуть посилюватися в опосередкованому ожирінням запальному середовищі. Стан хронічного запалення підтримується підвищеним рівнем вільних жирних кислот, лептину та прозапальних цитокінів. Крім того, з ожирінням пов'язана підвищена експресія PD-1 на поверхні клітин мієлоїдного походження та Т-клітинах [437].

Найбільш простим, проте неефективним сурогатним показником ожиріння, є ІМТ. Його основним недоліком є відсутність відображення композиції тіла та якості жирової тканини [459]. ПЖК та ВЖК мають різні профілі експресії генів, пов'язаних із запаленням, та різний анатомічний розподіл. Для ПЖК більшою мірою, ніж для ВЖК, характерні гени прозапальних цитокінів [460]. Ймовірно, цим обумовлена позитивна кореляція між зменшенням вмісту жиру та смертністю від раку [461]. Отже, не лише кількість, але і якість жирової тканини мають вплив на імунну регуляцію та ефективність ПКТ у хворих на рак.

Отримані результати узгоджуються з низкою попередніх робіт, які підкреслюють складність впливу композиції тіла на ефективність імунотерапії. Зокрема, хоча кількість ВЖК, за даними Park et al. [461], може бути асоційована з кращою виживаністю, у нашому випадку саме радіологічна щільність ВЖК не виявила самостійного прогностичного значення. Це може пояснюватися тим, що щільність жирової тканини, на відміну від її об'єму, відображає переважно фізико-хімічні властивості тканини, які не завжди прямо корелюють із функціональною активністю чи метаболічною роллю жиру.

Отримані нами результати співпадають з результатами Decazes et al. [462], які вивчали вплив композиції тіла на ефективність імунотерапії у хворих на НДКРЛ і підтвердили, що ВЖК не має прогностичного значення. Варто зазначити, що автори оцінювали кількість ВЖК, проте не його радіологічну щільність. Радіологічну щільність ВЖК та її зв'язок із ризиком рецидиву НДКРЛ вивчено у дослідженні Gezer et al. [463]. Було встановлено, що прогностичне значення має об'єм, проте не щільність ВЖК.

Однак найбільш цікавою знахідкою нашого дослідження стала статистично значуща взаємодія між експресією PD-L1 та радіологічною щільністю ВЖК. Високий рівень експресії PD-L1 ( $\geq 50\%$ ) достовірно асоціювався зі зниженим ризиком смерті, що узгоджується з літературними даними [463]. Але в нашій когорті цей захисний ефект виявився модифікованим рівнем щільності ВЖК, що може свідчити про важливу біологічну взаємодію між метаболічним мікрооточенням та імунною відповіддю. Такий ефект потенційно опосередкований ендокринною функцією жирової тканини, включаючи секрецію адипокінів, прозапальних цитокінів та імуномодулювальних факторів, що впливають на інфільтрацію пухлини Т-клітинами та експресію PD-L1.

Хоча більшість інших клініко-патологічних змінних, таких як вік, стать, гістологія, статус паління, режим лікування, індекс коморбідності Чарлсона та ІМТ, не виявили ані незалежного прогностичного значення, ані взаємодії з ВЖК, це не виключає їх ролі в ширшому контексті онкологічного прогнозування. Зокрема, ІМТ продемонстрував значну варіацію між квантилями щільності ВЖК, що підтвердило обмежену надійність цього індексу для характеристики жирового компартменту, як зазначено у попередніх публікаціях [464,465].

Варто підкреслити, що аналіз обмеженого кубічного сплайну не виявив статистично значущого нелінійного зв'язку між щільністю ВЖК та ризиком смерті. Водночас логарифмічний тест правдоподібності продемонстрував, що розширена модель, яка включає клініко-патологічні коваріати, має кращу пояснювальну здатність. Це вказує на те, що хоча сама по собі щільність ВЖК не

є предиктором виживаності, її поєднання з іншими клінічними змінними дозволяє точніше стратифікувати ризик смерті у пацієнтів з НДКРЛ.

Отримані нами результати свідчать, що показники радіологічної щільності ВЖК можуть мати потенційне клінічне значення під час формування персоналізованих стратегій лікування. Враховуючи доступність цього параметра у рутинних КТ-дослідженнях, він може використовуватися як додатковий маркер для стратифікації пацієнтів поряд зі стандартними біомаркерами, такими як PD-L1. У перспективі включення показників композиції тіла до мультифакторних прогностичних моделей може підвищити їх точність, покращити індивідуалізацію лікування та сприяти розробці більш персоналізованих алгоритмів терапії.

У цьому контексті закономірним є перехід до розгляду ще одного важливого компонента композиції тіла – стану скелетних м'язів. Саркопенія, синдром, що характеризується поступовим зменшенням м'язової маси, сили та функціональних можливостей, є надзвичайно поширеним явищем серед онкологічних пацієнтів. У багатьох випадках вона поєднується з раковою кахексією та розглядається як незалежний несприятливий прогностичний фактор [466]. Втрата м'язової маси негативно позначається на функціональному статусі, переносимості лікування, частоті ускладнень та загальній виживаності у хворих із солідними пухлинами, включно з НДКРЛ [32]. Таким чином, оцінка м'язового компонента композиції тіла є невід'ємною частиною комплексного аналізу факторів, що впливають на ефективність лікування та прогноз пацієнтів із метастатичним НДКРЛ.

Незважаючи на наявність різних підходів до оцінки м'язової маси (антропометричні методи, біоімпедансний аналіз), саме КТ стала “золотим стандартом” для кількісного аналізу скелетних м'язів у клінічній онкології завдяки високій точності та можливості ретроспективної оцінки [467]. Індекс скелетних м'язів (ІСМ) та радіологічна щільність скелетних м'язів (РЩСМ) на рівні поперекових хребців або грудного відділу (від T10 до L5) дозволяють об'єктивно характеризувати як кількість, так і якість м'язової тканини [468].

Результати наявних досліджень свідчать про потенційно негативний вплив саркопенії на ефективність ІКТ. Так, у метааналізі Yang et al. [469], що включав 1810 пацієнтів з раком легень, саркопенія асоціювалася зі зниженням загальної виживаності та прогресуванням хвороби. Cortellini et al. [470] у ретроспективному аналізі виявили, що саркопенія асоціюється з нижчою частотою контролю над захворюванням при застосуванні ніволумабу. Wang J et al. [471] у своєму метааналізі підтвердили, що саркопенія значно знижує шанси на досягнення об'єктивної відповіді на лікування та збільшує ризик прогресії захворювання.

Крім того, Naik et al. [472] зазначили, що саркопенічні пацієнти мають гірші показники як ефективності, так і безпеки лікування: серед них частіше реєструвалася токсичність  $\geq 3$  ступеня. Подібні висновки підтвердили Roch et al. [473], які встановили достовірну асоціацію саркопенії та кахексії з нижчою загальною виживаністю (13,1 проти 19,5 міс.,  $p < 0,01$ ) та меншою частотою досягнення контролю над захворюванням (41,2 % проти 67,3 %;  $p = 0,015$ ) у пацієнтів з НДКРЛ, які отримували ІКТ.

Водночас у деяких роботах ефект саркопенії був менш вираженим або зовсім відсутнім. Наприклад, Minami et al. [474] не виявили статистично значущих відмінностей у виживаності залежно від наявності саркопенії ( $p = 0,284$ ), а Volte et al. [475], аналізуючи пацієнтів, які отримували комбіновану хіміоімунотерапію, не зафіксували впливу ІСМ на результати лікування. Feng et al. [476] дійшли висновку, що вплив саркопенії на виживаність був статистично незначущим, натомість суттєве значення мала експресія PD-L1. Окремі автори підкреслюють, що більший прогностичний потенціал має не ІСМ, а комплексний нутритивний статус [477,478].

З огляду на суперечливі результати наявних досліджень, незрозуміло, чи саркопенія справді є незалежним предиктором відповіді на імунотерапію або лише маркером загального клінічного стану. Це підкреслює актуальність подальших досліджень у цьому напрямі, з урахуванням не лише ІСМ, а й

параметрів якості м'язів (РЩСМ), гістологічного підтипу пухлини, ІМТ та експресії PD-L1.

Результати нашого дослідження свідчать, що РЩСМ може відігравати роль у прогнозуванні ефективності імунотерапії у пацієнтів чоловічої статі при метастатичному НДКРЛ. Хоча ІСМ не виявив статистично значущого зв'язку із загальною виживаністю, була відзначена тенденція до її покращення в пацієнтів з вищим ІСМ. Водночас РЩСМ продемонструвала достовірний зв'язок зі ступенем контролю над захворюванням – пацієнти, які досягали стабілізації захворювання, часткової або повної відповіді на лікування, частіше мали вищі значення РЩСМ. Це підкреслює, що якість м'язової тканини, а не лише її кількість, може мати клінічне значення при оцінці потенційної відповіді на імунотерапію.

Біологічні механізми, що лежать в основі такого зв'язку, можуть бути багатогранними. Низький ІСМ відображає зниження м'язової маси, що асоціюється зі зниженням анаболічної активності, дефіцитом білків та мікронутрієнтів, порушенням енергетичного обміну, а також зменшенням загального резерву організму для протидії пухлині [479]. Також саркопенія супроводжується хронічним системним запаленням, що призводить до виснаження Т-клітин, змін у мікробіоті кишечника та підвищеного рівня прозапальних цитокінів, які можуть послаблювати ефективність інгібіторів PD-1/PD-L1 [480].

Зниження РЩСМ відображає інфільтрацію м'язової тканини жиром (міостеатоз), що свідчить про втрату структурної цілісності м'язів, зменшення їх функціональної здатності, зростання локального запалення та оксидативного стресу [481]. Це в свою чергу може погіршити транспортування та метаболізм препаратів, а також знизити ефективність формування імунної відповіді на терапію. Таким чином, РЩСМ може вважатися маркером системного метаболічного та імунного статусу пацієнта [482].

Наші результати частково узгоджуються з даними Wang et al. [483], де вивчали 105 пацієнтів із НДКРЛ, які отримували інгібітори PD-1/PD-L1. У

пацієнтів із саркопенією спостерігалось статистично достовірне зниження загальної виживаності (9,1 проти 21,8 місяців;  $p < 0.001$ ) та виживаності без прогресування (2,6 проти 7,9 місяців;  $p < 0.001$ ). Подібно до нас, автори Ren et al. [484] у своєму метааналізі, що охопив 10 досліджень з понад 1000 пацієнтів, підтвердили, що низькі значення ІСМ і РЩСМ були асоційовані з нижчою частотою відповіді на лікування, однак ступінь цього впливу змінювався залежно від методу оцінки м'язової маси (наприклад, рівень L3 проти альтернативних зрізів) та характеристики популяції (вік, ІМТ, рівень PD-L1).

Крім того, у метааналізі Li et al. [485], який включив 19 досліджень різних онкологічних захворювань, виявлено, що саркопенія пов'язана зі значно нижчими шансами на досягнення об'єктивної відповіді на лікування (OR = 0,46; 95% CI: 0,28–0,74,  $p = 0,001$ ), ступеня контролю над захворюванням (OR 0,44; 95% CI: 0,31–0,64,  $p < 0,0001$ ) та вищим ризиком смерті (HR = 1,73; 95% CI: 1,36–2,19,  $p < 0,0001$ ). Ці дані додатково підкреслюють прогностичне значення м'язових показників, хоча у нашому дослідженні саме радіологічна щільність (а не індекс скелетних м'язів) виявилася більш інформативною щодо контролю над захворюванням, а не виживаності.

Особливо важливо відзначити результати дослідження Cortellini et al. [470], які досліджували пацієнтів із метастатичним НДКРЛ, що отримували ніволумаб. У цій роботі встановлено, що пацієнти з низькою РЩСМ мали значно нижчу частоту досягнення контролю над захворюванням (38,7% проти 62,3%;  $p = 0,03$ ), що узгоджується з нашими результатами, де також саме РЩСМ виявилася вагомим фактором ефективності.

Водночас дослідження Volte et al. [475], в якому аналізували 160 пацієнтів з НДКРЛ, що отримували комбіновану хіміоімунотерапію, не виявило статистично значущого зв'язку між ІСМ і загальною виживаністю (HR 1,12; 95% CI 0,87–1,46;  $p = 0,36$ ). Аналогічні результати отримали Minami et al. [474], де виживаність пацієнтів не залежала ані від ІСМ, ані від наявності вісцерального ожиріння. Це частково узгоджується з нашими висновками, де ІСМ

продемонстрував лише тенденцію до кращого прогнозу, без статистичної достовірності.

Крім того, наші висновки добре корелюють із результатами Feng et al. [476], які в ретроспективному дослідженні пацієнтів з НДКРЛ встановили негативний вплив саркопенії на виживаність. Цікаво, що у їхньому багатофакторному аналізі саме високий рівень PD-L1 ( $\geq 50\%$ ) був єдиним незалежним прогностичним фактором загальної виживаності, тоді як ICM втрачав своє значення. Це повністю узгоджується з нашими даними, де PD-L1 також залишався значущим фактором у моделі, на відміну від ICM або РЦСМ. Така кореляція підкреслює необхідність комплексного підходу до оцінки прогностичних показників при плануванні імунотерапії.

Окрему увагу заслуговує питання імунозалежних побічних ефектів, які є важливим аспектом безпеки імунотерапії. У нашому дослідженні не було виявлено статистично значущого зв'язку між частотою імунозалежних побічних ефектів та значеннями ICM чи РЦСМ. Пацієнти з нижчими м'язовими показниками не мали вищого ризику розвитку побічних реакцій, що свідчить про відсутність прогностичного значення цих параметрів у контексті токсичності. Це узгоджується з висновками Minami et al. [474], які також не виявили впливу саркопенії на частоту імунозалежних побічних ефектів. Натомість Naik et al. [472] повідомляють про вищу частоту токсичних реакцій у саркопенічних пацієнтів. Можливими причинами такої розбіжності є різні підходи до класифікації побічних ефектів, обсяг вибірки, використання моно- чи комбінованої терапії, а також відсутність уніфікованих критеріїв визначення саркопенії [486].

Клінічне значення отриманих нами результатів полягає в тому, що РЦСМ може розглядатися як додатковий біомаркер для прогнозування відповіді на імунотерапію, особливо у тих випадках, коли експресія PD-L1 є недостатньою або не дає змоги точно стратифікувати пацієнтів. Включення оцінки якості м'язової тканини до алгоритму первинного обстеження онкологічного хворого відкриває можливість своєчасної ідентифікації груп високого ризику, а також

впровадження нутритивної чи фізичної підтримки ще до початку лікування [28,487]. Такий підхід підкреслює важливість розширення спектра доступних біомаркерів за межі традиційних показників та інтеграції показників композиції тіла у мультимодальні прогностичні моделі.

Розглядаючи роль РЦСМ як системного маркера, логічним є перехід до аналізу локальних імунологічних характеристик пухлини, які суттєво впливають на ефективність ІКТ. Останні дослідження все переконливіше демонструють, що саме імунне мікрооточення є ключовим детермінантом відповіді на імунотерапію [37,488]. До його основних компонентів належать цитотоксичні Т-лімфоцити CD8<sup>+</sup>, макрофаги різних фенотипів (CD68<sup>+</sup>, CD163<sup>+</sup>), а також транскрипційні фактори, що модулюють баланс між прозапальними та імуносупресивними сигналами, зокрема STAT6 [40,41]. Просторове розташування та кількісне співвідношення цих клітинних елементів визначають рівень імунної активності пухлини та потенційну чутливість до блокади імунних контрольних точок [38,39].

Особливу увагу дослідники приділяють асоційованим з пухлиною макрофагам, які можуть набувати протилежних функцій залежно від свого фенотипу: M1-макрофаги здатні сприяти протипухлинному імунітету, тоді як M2 – підтримують імуносупресію та прогресію пухлини [489,490]. Експресія CD163<sup>+</sup> вважається маркером M2-поляризації, тоді як CD68<sup>+</sup> – маркером загальної макрофагальної популяції. Співвідношення CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup> все частіше розглядається як інтегральний показник імунної регуляції в пухлинному мікрооточенні [42,43].

Попри численні дані, більшість досліджень зосереджуються на окремих маркерах або морфологічній оцінці тканин, тоді як комплексний підхід до аналізу імунного профілю, що включає кількісну оцінку кількох параметрів і кластеризацію пацієнтів, залишається недостатньо розвиненим. Зокрема, бракує досліджень, які б інтегрували рівень інфільтрації CD8<sup>+</sup>, експресію STAT6<sup>+</sup> та баланс макрофагальних фенотипів у прогностичну модель для пацієнтів, що отримують ІКТ.

На цьому тлі ми висунули гіпотезу, що сукупна оцінка імунних маркерів CD8<sup>+</sup>, STAT6<sup>+</sup> та співвідношення CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup> дозволяє виявити імунні фенотипи пухлинного мікрооточення, які мають прогностичне значення для виживаності пацієнтів з метастатичним НДКРЛ, що проходять імунотерапію.

У нашому дослідженні було виявлено три чітко визначені імунні фенотипи пухлинного мікрооточення у пацієнтів з метастатичним НДКРЛ, які отримували імунотерапію: імуноактивний, нейтральний/змішаний та імуносупресивний. Ці фенотипи суттєво відрізнялися за рівнем інфільтрації CD8<sup>+</sup> Т-клітин, експресією STAT6<sup>+</sup> та співвідношенням макрофагальних маркерів CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup>, що підтверджувалося як аналізом головних компонент, так і результатами кластеризації. Імуноактивний фенотип асоціювався з найкращими показниками виживаності без прогресування та загальної виживаності. Навпаки, імуносупресивний фенотип характеризувався найгіршим прогнозом. Хоча фенотип мав прогностичне значення у невідбірковому аналізі, єдиним незалежним фактором у багатовимірній моделі виявилось співвідношення CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup>, що підтверджує вирішальну роль поляризації макрофагів у відповідь на ПКТ.

Результати нашого дослідження добре узгоджуються з сучасними уявленнями про функціональну гетерогенність імунного мікрооточення в НДКРЛ. Зокрема, підвищена інфільтрація CD8<sup>+</sup> Т-лімфоцитів, яка спостерігалася в імуноактивному фенотипі, вже неодноразово визначалася як ключовий фактор відповіді на імунотерапію [491]. Наявність Т-клітин з ефекторними властивостями у мікрооточенні свідчить про "гарячу" імунну природу пухлини, що асоціюється з покращенням виживаності [492].

Однак сама по собі присутність CD8<sup>+</sup> клітин не гарантує ефективної відповіді. Дослідження Kraemer et al. [493] показало, що навіть при значній інфільтрації Т-клітинами, ефект ПКТ може бути обмеженим за рахунок імуносупресивних механізмів, зокрема впливу макрофагів М2-типу. У цьому контексті наше спостереження щодо домінантного прогностичного значення співвідношення CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup> виглядає закономірним, оскільки воно

відображає рівень поляризації асоційованих з пухлиною макрофагів. Як підтверджено в дослідженнях Arora et al. [494] та Liao et al. [495], підвищене співвідношення CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup> вказує на переважання M2-поляризації, яка сприяє ангиогенезу, інвазії та пригніченню Т-клітинного імунітету.

Слід зазначити, що наш підхід до аналізу імунного профілю не обмежувався окремими маркерами, а передбачав інтегральну оцінку фенотипів на основі кількох показників. Така стратегія дозволила виявити складну взаємодію між Т-клітинним компонентом і макрофагальною регуляцією. Наприклад, навіть при високому рівні CD8<sup>+</sup> інфільтрації, що характерно для імуноактивного фенотипу, наявність помірного рівня STAT6 або CD163<sup>+</sup> могла знижувати ефективність відповіді. Це співвідноситься з даними Sedighzadeh et al. [496], який вказував, що імуносупресивна активність асоційованих з пухлиною макрофагів може нейтралізувати протипухлинну дію цитотоксичних клітин.

STAT6 відіграє окрему роль у поляризації макрофагів у напрямку M2, активуючи транскрипцію відповідних генів. Наше спостереження щодо високої експресії STAT6 у пацієнтів з імуносупресивним фенотипом підтримується дослідженнями Shu et al. [40] та Tang et al. [497], які показали, що інгібіція STAT6 або його супресія за допомогою siRNA чи генетичних маніпуляцій може призводити до реполяризації асоційованих з пухлиною макрофагів у напрямку M1 і посилення протипухлинної відповіді.

Окрему увагу заслуговує гетерогенність нейтрального/змішаного фенотипу. Його характеристики були проміжними, а клінічні результати – варіативними. Така гетерогенність, ймовірно, відображає нестабільний баланс між активуючими та супресивними імунними механізмами, що робить цю групу потенційно чутливою до комбінованих терапевтичних підходів. Аналогічні спостереження зроблені Zhou et al. [498] та Fujiwara et al. [499], які підкреслюють, що пацієнти з мікрооточенням "проміжного" типу можуть особливо виграти від поєднання ІКТ з агентами, що змінюють поляризацію асоційованих з пухлиною макрофагів.

Варто також згадати дослідження Li et al. [500] та Zhang et al. [501], які експериментально продемонстрували, що поєднання імунотерапії з агентами, здатними викликати M1-реполяризацію або фагоцитоз пухлинних клітин макрофагами (наприклад, SHISA3 або оксаліплатин), значно підвищує ефективність ПКТ. Це відкриває перспективи застосування подібних підходів у пацієнтів з імуносупресивним фенотипом, що може змінити їхній прогноз.

Ще одним важливим аспектом є роль просторової організації імунних клітин у пухлині. Хоча наше дослідження базувалося на кількісній оцінці, літературні джерела вказують на критичне значення локалізації CD8<sup>+</sup> Т-клітин у безпосередній близькості до пухлинних клітин, що корелює з ефективністю ПКТ [502]. Просторова дезорганізація, обумовлена накопиченням M2-макрофагів на периферії пухлини, може фізично обмежувати контакт Т-клітин з пухлинними клітинами [503].

Запропонована стратифікація пацієнтів за імунними фенотипами відкриває можливості для персоналізації терапії та оптимізації вибору лікувальних стратегій. Імуноактивний фенотип, характеризуючись високою інфільтрацією цитотоксичних клітин та сприятливим співвідношенням імунорегуляторних маркерів, є прогностично позитивним, і пацієнти цієї групи, як правило, демонструють задовільну відповідь на стандартну ПКТ. Натомість імуносупресивний фенотип передбачає домінування клітин та сигнальних шляхів, що підтримують толерантність імунної системи до пухлини, що зумовлює необхідність посилення лікування, наприклад шляхом застосування інгібіторів STAT6 або засобів реполяризації макрофагів M2-подібного фенотипу [504]. Така концепція підкреслює важливість детального аналізу імунної архітектури пухлини для підбору оптимальної терапевтичної стратегії.

Одним із ключових компонентів цієї архітектури є регуляторні Т-клітини (Treg), які експресують транскрипційний фактор Foxp3<sup>+</sup> та відіграють центральну роль у підтриманні імунної толерантності. У пухлинному мікросередовищі їхня активність сприяє імунній втечі пухлини: Treg-клітини інгібують функцію цитотоксичних CD8<sup>+</sup> Т-лімфоцитів і NK-клітин, знижують

продукцію ефекторних цитокінів та обмежують протипухлинну активність ефекторних популяцій [505,506]. Підвищена інфільтрація Foxp3<sup>+</sup> клітин асоціюється з несприятливим прогнозом у низці солідних пухлин, включно з НДКРЛ [507,508]. Проте їх роль як предикторів ефективності імунотерапії залишається предметом дискусій, що пояснюється функціональною пластичністю Treg-клітин та складною багатокомпонентною структурою імунного мікрооточення [509,510].

Окремі дослідження вказують, що кількісне визначення Foxp3<sup>+</sup> Treg у тканині пухлини може слугувати незалежним прогностичним фактором виживаності у пацієнтів, які отримують ПКТ [44,45]. Останні дослідження показують, що наявність Foxp3<sup>+</sup> Treg може впливати на ефективність ПКТ, зокрема через взаємодію з PD-1/PD-L1 сигнальним шляхом [511]. Крім того, Foxp3<sup>+</sup> бере участь у регуляції експресії генів, що відповідають за ангиогенез, інвазивність та метастазування [46].

У цьому дослідженні було проаналізовано зв'язок між рівнем експресії Foxp3<sup>+</sup> регуляторних Т-клітин та виживаністю пацієнтів із метастатичним НДКРЛ, які отримували імунотерапію ПКТ. Основним результатом стала демонстрація статистично значущого зниження виживаності (як виживаності без прогресування, так і загальної виживаності) у пацієнтів з високим рівнем Foxp3<sup>+</sup>, що узгоджується з попередніми даними про негативний прогностичний вплив Treg-клітин у злоякісних пухлинах [512,513].

Медіана загальної виживаності у групі з високою експресією Foxp3<sup>+</sup> становила 12,2 міс., порівняно з 30,1 міс. у групі з низькою експресією ( $p = 0,0008$ ). Аналогічно, медіана виживаності без прогресування становила 5,8 міс. проти 17,4 міс. відповідно ( $p = 0,0001$ ). Отримані дані свідчать про чітку асоціацію між інфільтрацією пухлини Foxp3<sup>+</sup> Treg-клітинами та несприятливим клінічним перебігом, що, ймовірно, зумовлено їхньою імуносупресивною активністю в пухлинному мікросередовищі [514].

Регуляторні Т-клітини, особливо в контексті легеневих пухлин, демонструють високу функціональну пластичність та гетерогенність [515].

Частина Treg-клітин може трансформуватися в прозапальні фенотипи, зберігаючи експресію Foxp3<sup>+</sup>, що ускладнює оцінку їх ролі як унікальних прогностичних маркерів [516]. Проте більшість досліджень вказує саме на їхню роль у пригніченні ефекторних імунних відповідей, зокрема активності CD8<sup>+</sup> Т-клітин, і створенні умов для імунної втечі пухлини [517].

Окрему увагу заслуговує зв'язок між рівнем Foxp3<sup>+</sup> та експресією PD-L1, виявлений у цьому дослідженні. Пацієнти з високим рівнем Foxp3<sup>+</sup> значно частіше мали помірну експресію PD-L1 (1–49%), що може свідчити про взаємодію між імунорегуляторними механізмами в мікросередовищі пухлини. Подібні спостереження були описані також у роботі Shiomi et al. [513], де наголошується на кореляції між Treg-інфільтрацією та рівнем PD-L1 у плоскоклітинному раку легень.

Однак важливо зазначити, що експресія Foxp3<sup>+</sup> не завжди є синонімом стабільної імунорегуляторної функції. Дослідження Miya et al. [518] показало, що Foxp3<sup>+</sup> може транзиторно експресуватись у звичайних CD4<sup>+</sup> Т-клітинах без супровідної супресивної активності. Це підкреслює потенційну помилку у трактуванні Foxp3<sup>+</sup> клітин як однорідної популяції.

У нашому дослідженні ROC-аналіз продемонстрував помірну прогностичну здатність FOXP3<sup>+</sup> клітин щодо виживаності без прогресування (AUC = 0,6835), але не загальної виживаності (AUC = 0,5210). Подібні результати були отримані Zeng et al. [519], які наголошували, що прогностичне значення лімфоцитів, що інфільтрують пухлину, істотно залежить від типу імунних клітин, їх просторової локалізації та функціональної активності. Ця варіабельність підкреслює складність імунної взаємодії у метастатичному НДКРЛ та демонструє, що окремі імунні популяції можуть мати відмінне біологічне та клінічне значення залежно від контексту захворювання.

У цьому зв'язку логічним є перехід до аналізу іншого клінічного сценарію – хірургічно пролікованого НДКРЛ, де роль імунного мікрооточення та ефективність імунотерапії також залишаються предметом активних досліджень. Незважаючи на покращення методів скринінгу НДКРЛ, ранні стадії

захворювання все ще виявляються порівняно рідко, а навіть після радикального хірургічного втручання пацієнти зберігають високий ризик рецидиву [4,5]. Це створює нагальну потребу в пошуку ефективних стратегій ад'ювантного лікування, спрямованих на усунення мінімальної залишкової хвороби та зниження ймовірності повторного виникнення пухлини.

У цьому контексті імунотерапія – зокрема інгібітори PD-1/PD-L1 – відкрила нову еру в лікуванні НДКРЛ і продемонструвала значну ефективність у метастатичному сценарії. Однак в ад'ювантному режимі після хірургічного лікування їх роль залишається недостатньо визначеною, що підтверджується суперечливими результатами клінічних досліджень IMpower010, PEARLS/KEYNOTE-091 та інших [261,520]. Така неоднорідність результатів підкреслює важливість подальшого вивчення факторів, які визначають відповідь на ад'ювантну імунотерапію, включно з характеристиками імунного мікрооточення, імунними фенотипами та потенційними біомаркерами, що вже продемонстрували значення у метастатичному НДКРЛ.

Сучасні статистичні підходи, зокрема аналіз головних компонент і кластеризація, дозволяють виявити приховані патерни в імунних даних та сформувати об'єктивну класифікацію пухлинного мікрооточення, що має потенціал для застосування в клінічній практиці [521,522]. Наскільки нам відомо, ми вперше в Україні виконали дослідження, яке одночасно проводить розширене імуногістохімічне профілювання імунного мікрооточення пухлини та аналіз секвенування наступного покоління у пацієнтів з хірургічно пролікованим НДКРЛ з інтеграцією клінічних результатів.

Гіпотеза дослідження полягала в тому, що імунний фенотип пухлинного мікрооточення асоціюється з виживаністю та молекулярним профілем пухлини. Результати проведеного дослідження підтвердили наявність двох фенотипово відмінних імунних патернів пухлинного мікрооточення у хворих на НДКРЛ після хірургічного лікування. Імунно активний фенотип асоціювався з вищою щільністю CD8<sup>+</sup> Т-клітин та макрофагів M1, тоді як імуносупресивний характеризувався переважанням регуляторних Т-клітин FoxP3<sup>+</sup> і макрофагів M2.

Подібні імунохарактеристики вже були описані у літературі як потенційні предиктори відповіді на імунотерапію [523,524].

Дослідження Tuminello et al. [525] продемонструвало, що висока щільність CD8<sup>+</sup> Т-клітин у пухлинному мікрооточенні раннього НДКРЛ асоціюється зі збільшенням медіани безрецидивної виживаності з 32 до понад 60 місяців. У нашому дослідженні пацієнти з імунно активним пухлинним мікрооточенням мали медіану загальної виживаності 114,5 місяця, порівняно з 38,1 місяця у пацієнтів з імуносупресивним пухлинним мікрооточенням. Проте ця різниця не досягла статистичної значущості (log-rank  $\chi^2 = 0,61$ ;  $p = 0,4354$ ), що, ймовірно, обумовлено обмеженим розміром вибірки.

Аналогічно, медіана безрецидивної виживаності становила 98,8 місяця для імунно активного кластера та 27,8 місяця для імуносупресивного ( $p = 0,5433$ ). Така тенденція узгоджується з аналізами Abdelfatah et al. [526], які показали, що наявність CX3CR1<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> Т-клітин у хворих на НДКРЛ після хіміоімунотерапії асоціюється з вищою виживаністю.

Цікаво, що клініко-патологічні характеристики пацієнтів, такі як вік, стать, стадія та гістологічний тип пухлини, не мали статистично значущих відмінностей між групами лікування. Це свідчить про ключову роль імунного профілю пухлинного мікрооточення у стратифікації ризику та прийнятті терапевтичних рішень. Подібний підхід до переоцінки ролі морфології та стадії на користь імунних класифікацій активно обговорюється в сучасній літературі [527].

Застосування секвенування наступного покоління стало важливою складовою нашого дослідження, яке дозволило глибше охарактеризувати молекулярний ландшафт пухлин. Мутаційний аналіз не виявив значущих відмінностей у частоті мутацій EGFR, ALK, KRAS та BRAF між імунними кластерами. Цей факт узгоджується з даними Hu et al. [528] і Pop-Vica et al. [529], які зазначають, що мутаційне навантаження не завжди корелює з імунним фоном пухлини. Водночас Yadav et al. [530] підкреслюють, що секвенування наступного покоління трансформує підходи до прецизійної онкології, забезпечуючи

виявлення рідкісних драйверних мутацій, рівнів пухлинного тягара та потенційної відповіді на ПКТ.

Наші результати щодо відсутності асоціації між мутаційним статусом і імунними фенотипами також перегукуються з висновками Guo et al. [531], які показали, що PD-L1, мутаційний тягар та профіль мутацій не завжди взаємопов'язані з щільністю CD8<sup>+</sup>-інфільтратів. Це питання набуває особливої ваги у світлі даних Zhang et al. [532], які виявили суттєву варіабельність PD-L1 і мутаційного тягара між первинною пухлиною та метастазами. Отже, простий біомаркер PD-L1 не може повністю відображати складність імунної взаємодії пухлини.

Підхід до стратифікації за імунним фенотипом може мати практичне клінічне значення. Federico et al. [533] і Kanemura et al. [534] підтверджують, що поєднання просторових моделей розташування клітин і молекулярних маркерів забезпечує кращий прогноз рецидиву у пацієнтів після хірургії. У нашому дослідженні просторову організацію було враховано шляхом роздільного аналізу інфільтрації імунних клітин у стромі та пухлинних острівцях, що дозволило точніше охарактеризувати функціональний імунний ландшафт пухлини. Такий підхід є перевагою роботи, оскільки відображає реальні механізми взаємодії між пухлинними клітинами та імунною системою. Імунно активний кластер чітко характеризувався високою інфільтрацією CD8<sup>+</sup> і M1-клітин, що також продемонстрували Sellmer et al. [535] як предиктор сприятливого прогнозу при ранньому НДКРЛ.

З іншого боку, Dell'Amore et al. [536] висловлюють критичну думку, наголошуючи, що у ранніх стадіях аденокарциноми пухлинне мікрооточення не завжди є незалежним прогностичним фактором. Цей контраст у висновках підкреслює гетерогенність пухлинного мікрооточення та потребу в багатофакторній оцінці, яку активно розробляють за допомогою штучного інтелекту, як-от у роботі Terada et al. [537].

Практичні наслідки отриманих нами результатів мають багатогранний характер. Використання багатокомпонентної імунної стратифікації дозволяє не

лише прогнозувати перебіг захворювання, але й персоналізувати терапевтичні підходи, що є особливо важливим у контексті дороговартісної імунотерапії [538]. Така стратифікація на основі імунних маркерів уже демонструє здатність підвищувати точність прогнозування та оптимізувати вибір лікування. Як слушно зазначають Li MSC et al. [539], саме інтеграція імунних та молекулярних маркерів є ключем до справжньої персоналізованої онкології, де терапія узгоджується не лише з клінічним статусом, але й з біологічними особливостями пухлини.

Логічним продовженням цієї концепції є розгляд генетичних детермінант, які можуть посилювати або модифікувати імунну відповідь на ПКТ. Останні дослідження виділяють TP53 – один із найчастіше мutowаних генів у НДКРЛ – як перспективний біомаркер імунного впливу та виживаності. Низка робіт показує, що мутації TP53 асоціюються з покращеною виживаністю у чоловіків, які отримують імунотерапію, хоча цей ефект виявився статево-специфічним і не універсальним [540]. Аналогічні тенденції продемонструвало інше дослідження, у якому ко-мутації TP53 та ZFNХ3 були пов'язані з підвищеною загальною виживаністю у пацієнтів, що отримували ПКТ [541]. Ці дані підкреслюють, що молекулярні характеристики пухлини можуть доповнювати імунні профілі, формуючи більш точну та клінічно значущу систему стратифікації ризику.

TP53 бере участь не лише в регуляції апоптозу, але й впливає на експресію PD-L1 - ключового імунного чекпойнту, що модулює чутливість пухлини до ПКТ. Liu et al. [542] продемонстрували, що мутації TP53 корелюють із підвищеною експресією PD-L1 у пацієнтів без мутацій EGFR/ALK, що теоретично може підвищувати чутливість до імунотерапії. Паралельно, аналіз великої когортної вибірки, що включав 1586 хворих на аденокарциному легень продемонстрував зв'язок експресії PD-L1 із особливостями пухлинного мікрооточення і генетичних мутацій, включаючи TP53 [543]. Водночас Kim et al. [544] навпаки повідомили, що TP53-мutowаний статус асоціюється з гіршою відповіддю на ПКТ у пацієнтів із метастатичними солідними пухлинами, включаючи НДКРЛ, підкреслюючи контекст-залежність впливу цього біомаркера.

Робота Mathiot et al. [544] показала, що TP53 мутації пов'язані з несприятливою виживаністю у пацієнтів із метастатичним не плоскоклітинним НДКРЛ незалежно від лінії терапії. Водночас Assoun et al. [545] виявили протилежний результат - мутації TP53 асоціювались із подовженням виживаності при лікуванні ІСІ, що ще раз підтверджує суперечливість поточних даних.

На цьому фоні особливої уваги заслуговує дослідження Olivares-Hernández et al. [546], в якому було продемонстровано, що імуногістохімічна (ІГХ) оцінка білка p53 може виступати як клінічно прийнятна альтернатива молекулярному тестуванню TP53, дозволяючи стратифікувати пацієнтів за прогнозом і чутливістю до імунотерапії. В роботі підкреслено, що специфічні патерни експресії p53, виявлені за допомогою ІГХ, добре корелюють з мутаційним статусом TP53 і мають прогностичне значення для пацієнтів з НДКРЛ. Імуногістохімічний метод є доступним, рутинно використовуваним в клінічній практиці й може бути легко інтегрований у післяопераційний патоморфологічний аналіз, що робить його особливо привабливим для клінічного застосування [547].

Незважаючи на значну кількість даних про прогностичне значення мутації у гені TP53 у хворих на НДКРЛ, які отримують імунотерапію, більшість з них отримані на пацієнтах із метастатичними формами хвороби [548,549]. Інформація щодо хірургічно пролікованих пацієнтів, які можуть отримувати ад'ювантну імунотерапію залежно від PD-L1 експресії та статусу p53, лишається обмеженою.

У цьому дослідженні було продемонстровано, що мутації TP53, визначені за допомогою ІГХ, мають предиктивне значення щодо виживаності без прогресування у хірургічно пролікованих пацієнтів з НДКРЛ, які отримували ад'ювантну хіміоімунотерапію. Виявлена статистично значуща перевага у медіані виживаності без прогресування серед PD-L1-позитивних пацієнтів із мутантним типом p53 (93,8 проти 9,1 місяців;  $p = 0,0293$ ) свідчить про можливу синергію між порушеним TP53-залежним сигнальним каскадом та механізмами дії інгібіторів контрольних точок.

Наші дані узгоджуються з результатами дослідження Huang et al. [550], яке показало, що у пацієнтів з мутаціями в TP53, які проходили лікування ПКТ у комбінації з хіміотерапією, спостерігалось покращення клінічного контролю хвороби в порівнянні з пацієнтами, які мали тільки драйверні мутації (наприклад, EGFR або ALK). При цьому роль TP53 визнається контекст-залежною, оскільки мутації можуть сприяти підвищенню PD-L1 та створенню сприятливого мікрооточення для відповіді на ПКТ.

Суттєвим доповненням є дані Liu et al. [550], які вказують, що навіть при наявності мутацій у драйверних генах (включаючи TP53) і позитивному PD-L1, відповідь на ПКТ може бути підсилена саме у випадку комбінації з хіміотерапією, що підтверджує ефективність мультимодального підходу в клінічній практиці.

Водночас результати деяких досліджень демонструють, що наявність соматичних мутацій TP53 може асоціюватися з гіршим прогнозом загальної виживаності при імунотерапії, що вказує на складність інтерпретації цього біомаркера в умовах гетерогенного імунного середовища [551].

У нашому дослідженні особливу увагу було приділено хірургічно пролікованим пацієнтам із ранніми або місцево поширеними стадіями НДКРЛ, для яких на сьогодні обмежено доступні дані щодо взаємозв'язку між TP53 та PD-L1 у контексті ад'ювантної імунотерапії. Дійсно, в неoad'ювантному дослідженні NEOMUN, яке включало пацієнтів із стадіями II/IIIА, застосування пембролізумабу не продемонструвало переваг у підгрупі з TP53 мутаціями [552]. Це може свідчити про контекст-залежну роль TP53, зокрема, про те, що його предиктивна цінність може реалізовуватись лише у разі достатньо активного PD-L1-залежного імунного середовища.

Більш того, Saleh et al. [553] акцентують увагу на тому, що прогностична роль TP53 значною мірою залежить від стадії хвороби: у локалізованих формах НДКРЛ мутації KEAP1 і TP53 мали менше негативного впливу на виживаність, ніж у поширених випадках. Це підкреслює важливість аналізу окремих підгруп.

Щодо зв'язку між TP53 і PD-L1, то у деяких дослідженнях було підтверджено, що мутації TP53 прямо корелюють із підвищеною експресією PD-

L1 у НДКРЛ, незалежно від гістологічного підтипу, що теоретично може покращити відповідь на ПКТ [554]. Важливо також враховувати, що не лише наявність TP53, а і його ко-мутації (наприклад з STK11 або KEAP1) формують принципово різні імунофенотипи, які суттєво впливають на відповідь на імунотерапію [555]. Варто підкреслити, що у поточному дослідженні у PD-L1-негативній когорті, яка отримувала лише хіміотерапію, не було виявлено суттєвих відмінностей у виживаності між підгрупами з різним TP53-статусом. Це ще раз підтверджує, що ефект TP53 реалізується саме у присутності активованої PD-L1-опосередкованої імунної відповіді.

Загалом, результати нашого дослідження доповнюють наявні дані щодо предиктивного значення TP53 у НДКРЛ і вперше демонструють його клінічну важливість у хірургічно пролікованих пацієнтів, які отримували ад'ювантну хіміоімунотерапію. Виявлена взаємодія між мутаціями TP53 та PD-L1-позитивністю підкреслює, що саме молекулярно-генетичний контекст пухлини може суттєво змінювати її чутливість до ПКТ. Такий підхід, заснований на комплексному аналізі генетичних та імунних характеристик, стає дедалі важливішим у персоналізації лікування.

У цьому світлі логічним продовженням є перехід до ширшого розгляду молекулярно-генетичних предикторів ефективності імунотерапії в межах гістологічних підтипів НДКРЛ, насамперед аденокарциноми легень – найбільш генетично гетерогенного та поширеного підтипу. Аденокарцинома легень характеризується високою частотою соматичних мутацій у ключових генах, таких як TP53, KRAS, STK11, KEAP1, EGFR та BRAF [556,557], що обумовлює різноманітність клінічних траєкторій та реакцій на лікування.

Хоча розвиток таргетної та імунотерапії суттєво змінив парадигму лікування, значна частина пацієнтів із аденокарциномою демонструє неповну або відсутню відповідь на ПКТ, що значною мірою пов'язано з відмінностями у молекулярному профілі пухлини [558,559]. Саме тому дослідження специфічних мутацій, наприклад, STK11, KRAS чи KEAP1, стає критично важливим для розуміння механізмів резистентності та оптимізації вибору терапії.

Особливу увагу на сучасному етапі привертає аналіз ко-мутацій, які здатні змінювати біологічну поведінку пухлин радикальніше, ніж окремі мутації. Lenahan et al. [47] показали, що втрата STK11 активує транскрипційний фактор YAP1, що посилює проліферацію у клітинних лініях з мутацією KRAS, ілюструючи складну мережу сигнальних взаємодій.

Не менш важливим є імунний ландшафт пухлини. Thorsson et al. [48] в межах Pan-Cancer Atlas проаналізували понад 10 000 пухлинних зразків і виокремили шість імунних підтипів (C1–C6), що розрізняються за ступенем імунної активності, типом клітинного інфільтрату та прогнозом. Ці підтипи мають не лише описовий, але й терапевтичний потенціал, оскільки визначають чутливість до імунотерапії.

Попри стрімке зростання кількості досліджень, питання взаємозв'язку між мутаційним профілем пухлини, імунним фенотипом та клінічними наслідками залишається недостатньо вивченим. Wei et al. [49] вказують, що так званий “Redox<sup>high</sup>” фенотип, обумовлений мутаціями KEAP1 та STK11, значно знижує щільність резидентних CD8<sup>+</sup> Т-клітин і ускладнює ефективність імунотерапії. Аналогічно, Ru et al. [50] продемонстрували, що клітинне старіння і супутня імуносупресія корелюють з певними ко-мутаціями у аденокарциномах легень. З огляду на це, актуальним є дослідження комплексної взаємодії між мутаційним фоном та імунним мікрооточенням пухлин у контексті їх впливу на виживаність.

Результати нашого дослідження підтверджують критичну роль мутацій у генах STK11, KEAP1, KRAS і TP53 як незалежних та комбінованих прогностичних маркерів у хворих на аденокарциному легень, а також демонструють, що їхній вплив на виживаність суттєво залежить від імунного мікрооточення пухлини.

У когорті пацієнтів з високим імунним підтипом, мутація STK11 та ко-мутація KRAS+TP53 були асоційовані зі значним підвищенням ризику смерті. Такий результат узгоджується з роботами Ricciuti et al. [560] та Pons-Tostivint et al. [561], де STK11 описується як негативний предиктор відповіді на імунотерапію, пов'язаний зі зниженням експресії генів відповідальних за

презентацію антигенів і зменшенням інфільтрації пухлини CD8<sup>+</sup> Т-клітинами. Подібним чином, в нашому ж дослідженні ко-мутація KRAS+TP53 в умовах активного імунного мікрооточення продемонструвала несприятливий прогностичний вплив. Ці результати узгоджуються із висновками інших досліджень, де ко-мутація KRAS+TP53 вважається негативним прогностичним фактором виживаності, проте потенційним маркером кращої відповіді на блокаду PD-1/PD-L1 у пацієнтів з високою експресією PD-L1 [562,563], що свідчить про складні механізми взаємодії між генетичним фоном і ефекторною імунною відповіддю.

Найбільш драматичні результати були виявлені у пацієнтів із середнім імунним підтипом, де ко-мутації STK11+KEAP1, KRAS+STK11 та KRAS+KEAP1 виявились сильними негативними прогностичними маркерами, з найбільшим ризиком смерті. Подібні результати описані у дослідженнях Ricciuti et al. [564] та Knetki-Wróblewska et al. [565], де такі поєднання мутацій асоціюються зі зниженою імунною активністю пухлини, редукцією CD8<sup>+</sup> резидентних Т-клітин і підвищеною експресією антиоксидантних генів. Такий стан пухлинного мікрооточення суттєво знижує чутливість до імунотерапії, навіть за наявності помірної імунної активності.

Цікаво, що в групі з низьким імунним підтипом не було виявлено жодного статистично значущого прогностичного фактора. Проте тенденція до гіршої виживаності у пацієнтів з мутацією KRAS, TP53 або EGFR, дозволяє припустити, що у цій когорті прогностична значущість мутацій нівелюється загальною низькою імунною активністю. За даними Cai et al. [566] та van de Haar et al. [567], саме відсутність ефекторних імунних клітин і низький рівень імуногенності пухлини є визначальними факторами низької загальної виживаності та неефективності імунотерапії в таких випадках, незалежно від мутаційного профілю.

Загалом, наші результати демонструють, що прогностичне значення генетичних змін у аденокарциномах легень значною мірою визначається контекстом імунного мікрооточення. Ці висновки узгоджуються з концепцією

мультифакторної стратифікації, запропонованою в нещодавніх публікаціях, де комбіновані моделі, що інтегрують морфологічні, генетичні та імунні характеристики пухлин, забезпечують найвищу точність прогнозування результатів лікування [568,569]. Таким чином, отримані дані підкреслюють доцільність використання комплексних прогностичних алгоритмів, які поєднують мутаційний профіль та імунний статус пухлини, для оптимізації терапевтичної тактики в аденокарциномі легень.

Логічним продовженням цього аналізу є розгляд іншого великого й клінічно значущого підтипу НДКРЛ – плоскоклітинного раку легень. На відміну від аденокарциноми, де молекулярний спектр мутацій частково визначає чутливість до імунотерапії, плоскоклітинний рак характеризується іншими онкогенними драйверами та відмінними механізмами імунної взаємодії. Водночас саме у плоскоклітинній карциномі особливо гостро проявляється проблема гетерогенності відповіді на інгібітори імунних контрольних точок.

Плоскоклітинний рак легень є агресивним гістологічним підтипом недрібноклітинного раку легень, що супроводжується високими показниками смертності та обмеженими можливостями таргетного лікування. Хоча ПКТ суттєво змінили терапевтичний підхід, клінічні результати при цьому підтипі залишаються вкрай варіабельними. Така мінливість частково зумовлена складною взаємодією між молекулярними характеристиками пухлини та її імунним мікрооточенням. Тому ідентифікація надійних прогностичних біомаркерів у плоскоклітинній карциномі легень є ключовою передумовою для вдосконалення стратифікації пацієнтів і розробки персоналізованих терапевтичних стратегій, особливо в умовах резистентності до імунотерапії.

Останніми роками значна увага приділяється вивченню ролі соматичних мутацій у формуванні пухлинного мікрооточення та в визначенні показників виживаності пацієнтів із плоскоклітинною карциномою легень. У дослідженні J. Zhao et al. [570] описано ландшафт імунної інфільтрації при плоскоклітинній карциномі легень та підкреслено вплив ключових онкогенних мутацій на посилення або пригнічення протипухлинної імунної відповіді. Отримані дані

засвідчують тісний взаємозв'язок між генетичними змінами та імунологічною поведінкою пухлини. У порівняльному мутаційному аналізі, проведеному С. Рор-Віса et al. [529], мутації TP53 та TTN (titin) були визначені як домінантні події при плоскоклітинній карциномі легень, що свідчить про їх можливу роль у молекулярному драйві розвитку хвороби. Ці мутації були одними з найчастіших та можуть відігравати центральну роль у ініціації та прогресуванні пухлини.

У. Ху et al. [571] дослідили прогностичне значення геномних варіацій, пухлинного мутаційного навантаження та експресії PD-L1 у пацієнтів із плоскоклітинною карциномою легень, які отримували імунотерапію. Їх результати показали позитивну асоціацію між мутаціями TP53 та сприятливою відповіддю на лікування. Р.К. Paik et al. [572] вивчали мутації KEAP1/NFE2L2 (Kelch-like ECH-associated protein 1 / nuclear factor erythroid 2-related factor 2) як потенційні терапевтичні мішені. Їх клінічне випробування інгібітора ТАК-228, спрямованого на комплекс TORC1/2, продемонструвало лише обмежену клінічну активність, проте підкреслило потребу в комбінованих терапевтичних підходах у цих молекулярних підгрупах. Тим часом D. Wang et al. [573] розробили прогностичну сигнатуру на основі пухлинного мутаційного тягаря, яка корелювала з виживаністю та ефективністю імунотерапії при плоскоклітинній карциномі легень, особливо у пацієнтів із мутаціями TTN.

Х. Deng et al. [574] дослідили гени, пов'язані з піроптозом, і продемонстрували їхній вплив на структуру імунного мікрооточення пухлини. Їх робота підтвердила, що певні геномні зміни можуть формувати унікальні імунні фенотипи при плоскоклітинній карциномі легень. Подібним чином J.A. Hellyer et al. [575] довели, що мутації KEAP1/NFE2L2 асоціюються з «імунологічно мовчазним» мікрооточенням та зниженою відповіддю на PD-1-блокаду. Ці дані підкреслюють імуносупресивний потенціал сигнальних шляхів, опосередкованих NRF2. С. Su et al. [576] ідентифікували циркулюючі мутації TTN у крові як потенційні маркери відповіді на імунотерапію. Автори показали, що мутації TTN підвищують антигенність пухлини та сприяють формуванню імуногенних мікрооточень, тим самим підвищуючи ймовірність терапевтичної

користі. Загалом, міжнародні дослідження підкреслюють прогностичне значення мутацій TP53, TTN, KEAP1/NFE2L2 та PIK3CA (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha) при плоскоклітинній карциномі легень та їх вплив на відповідь на лікування. Однак більшість доступних даних ґрунтуються переважно на мутаційному аналізі або ізольованій оцінці імунного фенотипу, без інтеграції обох аспектів. Це обмежує клінічну застосовність отриманих результатів у реальній практиці.

У поточному дослідженні аналіз мутаційного ландшафту плоскоклітинного раку легень виявив складні взаємодії між генетичними змінами та імунним мікрооточенням пухлини. Важливим результатом стало встановлення асоціації між комутаціями TP53 і TTN та покращеною загальною виживаністю, особливо серед пацієнтів із високим або середнім рівнем імунної інфільтрації. Цей результат узгоджується з даними K. Ying et al. [577], які показали, що ко-мутації TP53+TTN є предикторами покращеної відповіді на імунотерапію при плоскоклітинній карциномі легень, імовірно завдяки підвищеному пухлинному мутаційному навантаженню та збільшеному пулу неоантигенів. S. Zou et al. [578] додатково підтвердили прогностичну цінність мутацій TTN, продемонструвавши їхній зв'язок із подовженою виживаністю та потенціалом для стратифікації пацієнтів для блокади імунних контрольних точок. Ці дані підкреслюють значущість TTN як кандидатного біомаркера прогнозу відповіді на імунотерапію. X. Xie et al. [579] пояснили цю асоціацію здатністю мутацій TTN стимулювати імунну активацію, включно з підвищенням експресії маркерів цитотоксичних Т-клітин та прозапальних хемокінів. Такі імуногенні зміни можуть пояснювати підвищену чутливість пухлин з мутаціями TTN до інгібіторів імунних контрольних точок, зафіксовану в клінічній практиці. Узгоджено з наведеними дослідженнями, наш аналіз продемонстрував, що мутації TTN, особливо у поєднанні з TP53, асоціювалися зі значно кращою загальною виживаністю, що ще раз підтверджує їх потенційну роль у стратифікації пацієнтів. Ці імуностимулювальні ефекти можуть сприяти перебудові пухлинного мікрооточення, збільшуючи ймовірність тривалої

відповіді на блокаду імунних контрольних точок у пацієнтів із такими генетичними змінами.

TP53, канонічний ген-супресор пухлин, відіграє ключову роль у підтриманні геномної стабільності. За даними Z. Fan et al. [580], пухлини з мутаціями TP53 характеризуються специфічними транскрипційними програмами, пов'язаними з імунною активацією, зокрема з інтерфероновим сигналюванням. Ці молекулярні особливості можуть частково пояснювати, чому пацієнти з мутаціями TP53 демонструють кращі результати імунотерапії. Крім того, J. Yu et al. [581] наголосили на значущості ко-статусу TP53 та LRP1B, зазначивши, що відсутність мутацій у цих двох генах асоціюється зі сприятливим прогнозом у пацієнтів з плоскоклітинною карциномою легень, які отримують PD-L1-інгібітори. Сукупність цих даних підтверджує, що мутаційний фон пухлини безпосередньо впливає на ефективність імунотерапії. Ці результати також вказують на необхідність урахування не лише ізольованих генетичних змін, але й певних комбінацій мутацій під час стратифікації пацієнтів.

Важливо, що клінічна користь ко-мутацій TP53+TTN поширювалася, хоча й меншою мірою, і на пацієнтів із низьким рівнем імунної інфільтрації. Це вказує на те, що навіть у «імунологічно холодних» пухлинах геномна архітектура може надавати певний ступінь імуногенності. L. Yang et al. [582] підкреслили важливість інтеграції профілів імунної інфільтрації із молекулярною субтипизацією для більш точного прогнозування відповіді на терапію, підтверджуючи, що і імунні, і генетичні параметри необхідно розглядати в комплексі. Подібний підхід запропонували D. Wang et al. [583], які вказали, що специфічні сигнатури генів, пов'язаних з аутофагією, модулюють імунну інфільтрацію та можуть бути відповідальними за відмінності у виживаності між молекулярними субтипами плоскоклітинного раку легень. Сукупно ці спостереження свідчать про необхідність інтеграції мутаційних та імунологічних параметрів у прогностичні моделі ефективності імунотерапії.

На відміну від TP53 та TTN, мутації у сигнальному шляху KEAP1/NFE2L2 переважали в пухлинах із низькою імунною активністю. У дослідженні P.K. Paik

et al. [572] було показано, що зміни в цій осі сприяють резистентності до TORC1/2-інгібіторів та стимулюють прогресування пухлини шляхом пригнічення відповідей на оксидативний стрес. Ці результати підкреслюють складність редокс-сигналювання при НДКРЛ та проблемність таргетування цього шляху. J.A. Hellyer et al. [575] дослідили клінічну значущість мутацій KEAP1–NFE2L2 та пов'язали їх з імунним пригніченням і зниженою ефективністю блокади PD-1. Це додатково підкреслює імуносупресивну роль шляху KEAP1/NRF2. Аналогічно, M. Sánchez-Ortega et al. [584] встановили, що пухлини з диким типом NRF2/KEAP1 мають підвищену чутливість до оксидативного стресу, що створює потенційне терапевтичне «вікно», яке відсутнє у випадку мутантних пухлин. Це відкриття підкреслює клінічну значущість дисбалансу редокс-системи та важливість молекулярної субтипизації при розробці таргетних стратегій. У нашій когорті більша поширеність цих мутацій серед пацієнтів із низьким імунним субтипом узгоджується з моделлю імунної втечі, опосередкованої порушенням антиоксидантної регуляції. Таким чином, мутації KEAP1/NFE2L2 впливають не лише на пухлинний метаболізм, але й на динаміку імунної втечі.

Мутації PIK3CA, хоча й не досягли статистичної значущості у цьому дослідженні, активно вивчаються у світовій літературі. Q. Huang et al. [585] охарактеризували мутаційний ландшафт PIK3CA у пацієнтів у Китаї та виявили значну гетерогенність патернів супутніх мутацій. S. Sokrinar et al. [586] також продемонстрували варіабельність прогностичної ролі PIK3CA, підкресливши, що її клінічне значення може залежати від наявності ко-мутацій, таких як TP53. У нашому дослідженні мутації PIK3CA мали розподіл між імунними субтипами та не асоціювалися з показниками виживаності. Проте їхня роль як модифікаторів у полігенних контекстах потребує подальшого дослідження. Взаємодія між PIK3CA та імунними сигнальними шляхами залишається відкритим питанням, важливим як для резистентності до терапії, так і для імунної модуляції.

Кластерний аналіз мутаційного профілю та теплова карта надали додаткову інформацію. Було виділено два основних кластери пацієнтів, що відображали різні комбінації мутацій і частково корелювали зі статусом виживаності. C. Su et al. [576] показали, що циркулюючі мутації TTN можуть бути динамічними маркерами відповіді на імунотерапію при поширеному НДКРЛ. Ці дані підтверджують концепцію, згідно з якою мутаційний склад пухлини формує імунну взаємодію та може бути основою для стратифікації пацієнтів. Вони також підкреслюють необхідність застосування геномних кластерних підходів для інтерпретації імунних фенотипів.

У ширшому контексті взаємодія між імунним контекстом та геномними змінами при плоскоклітинній карциномі легень відображає багатофакторний і динамічний ландшафт. У знаковому дослідженні V. Thorsson et al. [48] було запропоновано шість панракових імунних субтипів на основі транскриптомних характеристик, які відрізнялися за інфільтрацією лейкоцитів, презентацією антигенів та експресією імунних контрольних точок. Отримані результати узгоджуються з цією концепцією, зокрема відзначеною гетерогенністю між пухлинами з однаковим мутаційним навантаженням, але різними патернами імунної інфільтрації. Інтеграція таких імунних класифікацій у геномний профіль може підвищити точність персоналізованих терапій. Це особливо важливо для пухлин, які не мають традиційних предикторів, але демонструють нетипову імунну поведінку [278].

Кілька додаткових досліджень із переліку літератури пропонують важливі доповнення. Наприклад, X. Deng et al. [574] використали гени, пов'язані з піроптозом, для моделювання ефективності імунотерапії, продемонструвавши перетин між шляхами загибелі клітин та імунними сигналами при плоскоклітинній карциномі легень. Їх модель підкреслила значущість патернів імунної інфільтрації у формуванні терапевтичної відповіді. D. Wang et al. [573] застосували мультиомний підхід для створення прогностичної сигнатури, що поєднувала пухлинний мутаційний тягар та експресію генів, підтримуючи доцільність інтеграції багатьох шарів даних. Це дослідження уваги на

необхідність поєднання геномних та транскриптомних параметрів для підвищення точності прогнозування. W. Tao et al. [587] у своєму огляді проаналізували прогностичну цінність omics-маркерів при імунотерапії та рекомендували комбіновані предиктивні моделі, які є стійкішими у реальних клінічних умовах. Наші результати узгоджуються з таким інтегративним підходом, оскільки ми продемонстрували, що поєднання мутаційних та імунних характеристик покращує ідентифікацію прогностично значущих підгруп при плоскоклітинній карциномі легень.

У контексті клінічної трансляції ці дані свідчать про те, що відбір пацієнтів для імунотерапії при плоскоклітинній карциномі легень має виходити за межі оцінки PD-L1 та включати геномні характеристики, зокрема мутації TTN і TP53, статус KEAP1/NFE2L2, а також багатопараметричний імунний профіль. C. Por-Vica et al. [529] наголосили на важливості комплексного геномного аналізу за допомогою секвенування наступного покоління як у НДКРЛ, так і у дрібноклітинному раку легень, підкресливши, що відмінності у мутаційних профілях потребують індивідуалізованих терапевтичних підходів. Їхні дані також показали потенціал геномного профілювання для прийняття гістологічно специфічних терапевтичних рішень.

Y. Xu et al. [571] довели, що експресія PD-L1 сама по собі не відображає всієї складності імунної відповіді, підкреслюючи необхідність інтегрованих біомаркерів. Крім того, їхні дані показали, що поєднання високого пухлинного мутаційного тягара і мутації TP53 асоціюється з кращими клінічними результатами в пацієнтів, які отримують імунотерапію. Ці спостереження узгоджуються з нашими результатами, які свідчать, що ко-мутації TP53, особливо у поєднанні з TTN, можуть підвищувати виживаність у пацієнтів з імунно-запальними фенотипами пухлин. Загалом розширення панелі біомаркерів за межі PD-L1 може покращити результати лікування шляхом точнішої ідентифікації підгруп, які найбільше виграють від імунотерапії.

Попри значний прогрес у вивченні геномних та імунологічних характеристик плоскоклітинної карциноми легень, наразі існує небагато

досліджень, які комплексно інтегрують ці параметри в аналіз на основі показників виживаності. На відміну від попередніх робіт, що зосереджувалися переважно або на частоті мутацій, або на класифікації імунних субтипів, наше дослідження вперше оцінює прогностичний вплив як окремих, так і ко-зустрічаючихся генетичних змін у взаємозв'язку з імунним профілем пухлини. Такий інтегрований підхід забезпечує ширше розуміння того, як комбінації мутацій взаємодіють із імунним контекстом та формують клінічні результати, що особливо важливо з урахуванням значної біологічної гетерогенності НДКРЛ.

Однак сучасні тенденції в онкологічних дослідженнях свідчать, що лише геномного рівня вже недостатньо для повного відображення імунної поведінки пухлин. Генетичні зміни створюють передумови для імунного ремоделювання, але саме транскриптомні сигнатури дозволяють оцінити реальну функціональну активність імунних шляхів. Це особливо стосується аденокарциноми легень, де значна міжпухлинна варіабельність часто проявляється не лише у спектрі мутацій, але й у відмінностях транскриптомних профілів, які відображають стан імунної активації або супресії.

Одним із найбільш інформативних транскриптомних маркерів є інтерферон-гамма ( $IFN\gamma$ ) – ключовий цитокін, що запускає протипухлинні імунні механізми.  $IFN\gamma$  індукує експресію широкого спектра генів, відповідальних за посилення антиген-презентації (HLA-DRA), рекрутування  $CD8^+$  Т-клітин (CXCL9, CXCL10, CXCL11) та активацію цитотоксичних ефektorів (PRF1, STAT1, IRF9) [588]. Сукупність цих транскрипційно активованих генів формує  $IFN\gamma$ -асоційований генний підпис – інтегральний молекулярний індикатор рівня активації  $IFN\gamma$ -сигнального каскаду в пухлині.

Цей підпис дедалі частіше розглядають як стандартизований маркер «імуноактивності» пухлинного мікрооточення, оскільки його високі значення корелюють зі збільшеною інфільтрацією імунокомпетентних клітин і підвищеною чутливістю до імунотерапії. Саме тому  $IFN\gamma$ -асоційований підпис асоціюється з так званим «гарячим» імунним фенотипом – станом, за якого

ймовірність відповіді на інгібітори імунних контрольних точок істотно зростає [589,590].

Таким чином, перехід від геномних мутаційних патернів до функціональних транскриптомних сигнатур дає змогу глибше зрозуміти механізми імунної відповіді як в аденокарциномі, так і в плоскоклітинному раку легень. Надалі це створює основу для розширеної стратифікації пацієнтів та оптимізації персоналізованої імунотерапії з урахуванням уже не лише мутаційного, але й транскриптомного профілю пухлини.

Дослідження показали, що високий рівень експресії IFN $\gamma$ -асоційованих генів корелює з підвищеною чутливістю до блокади PD-1, завдяки активації осі IFN $\gamma$ –STAT1–IRF1, яка відіграє вирішальну роль у створенні імуногенних умов у мікрооточенні пухлини [591,592]. Водночас, IFN $\gamma$  може опосередковувати апоптоз пухлинних клітин, індукуючи ендоплазматичний стрес [593], та сприяти нормалізації судинного русла пухлини, підвищуючи доступність імунних клітин [594].

Однак, у частини пацієнтів імунний вплив IFN $\gamma$  викликає зворотні ефекти, включаючи активацію регуляторних Т-клітин або фібробластів, що пригнічують презентацію антигенів і знижують ефективність імунотерапії [595]. Мутації в ключових онкогенах (наприклад, STK11, EGFR) можуть додатково порушувати IFN $\gamma$ -сигнальний шлях, погіршуючи прогноз [596,597].

Беручи до уваги цей подвійний ефект, ми висували гіпотезу, що високий рівень експресії IFN $\gamma$ -асоційованих генів пов'язаний з покращеною загальною виживаністю хворих на аденокарциному легень завдяки формуванню більш активного протипухлинного імунного середовища. Більше того, цей показник може слугувати прогностичним біомаркером чутливості до імунотерапії.

У цьому дослідженні було проаналізовано вплив експресії IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису на клінічні характеристики та виживаність пацієнтів із аденокарциномою легень. Ми показали, що вищий рівень експресії IFN $\gamma$ -асоційованих генів пов'язаний із кращими показниками загальної виживаності, хоча не виявився незалежним прогностичним фактором у

багатофакторному аналізі. Це узгоджується з попередніми роботами, які демонструють роль IFN $\gamma$  як ключового регулятора протипухлинного імунітету.

Згідно з отриманими даними, підвищена експресія IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису спостерігалася переважно серед жінок та пацієнтів з I стадією хвороби. Таке розподілення може відображати більш активне вроджене та адаптивне імунне середовище в жіночій популяції, що раніше описувалось у контексті кращих імунологічних відповідей на лікування [598].

Аналіз теплової карти показав, що гени CXCL9, CXCL10 і CXCL11 формують чіткий кластер, що відповідає їхній хемоатрактантній ролі щодо CD8+ T-клітин. Це узгоджується з роботами, які підтверджують значення цих хемокінів у створенні "гарячого" пухлинного мікрооточення [599]. Водночас, коекспресія STAT1, IRF9 та IFNG вказує на активність осі IFN $\gamma$ -STAT1-IRF1, яка є центральною для реалізації ефektorних функцій IFN $\gamma$  [600].

Визначення високого показника IFN $\gamma$  як потенційного біомаркера чутливості до імунотерапії відповідає сучасним тенденціям у пошуку предикторів успішності лікування інгібіторами контрольних точок [601]. Однак наші результати свідчать, що сам по собі IFN $\gamma$ -асоційований генний підпис не є незалежним фактором ризику, а його прогностична цінність може бути модифікована іншими генетичними або імунологічними чинниками.

Наприклад, у нашому дослідженні мутація STK11 виявилася єдиним незалежним фактором ризику гіршої виживаності. Ця мутація традиційно асоціюється з "холодним" імунним фенотипом та нечутливістю до імунотерапії, що підтверджується іншими роботами *Vi et al.* [602]. Її присутність може блокувати IFN $\gamma$ -залежну активацію макрофагів і антиген-презентувальних клітин, що послаблює відповідь на терапію [603].

Цікаво, що мутація EGFR була статистично частішою в групі з високою експресією IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису, але не мала прогностичного значення. Це відображає складну взаємодію між онкогенними драйверами та імунним мікрооточенням. Попередні дослідження показували, що пухлини з мутацією EGFR можуть демонструвати підвищену експресію IFN $\gamma$ -асоційованих

генів, але водночас бути резистентними до імунотерапії через інші супресивні механізми [604].

У роботах, присвячених взаємозв'язку між цитокиновим профілем і побічними ефектами імунотерапії, IFN $\gamma$  також фігурує як прогностичний маркер імуніопосередкованих токсичностей [605,606]. Це означає, що високий рівень IFN $\gamma$  не лише визначає більш активну імунну відповідь, але й асоціюється з ризиком аутоімунних реакцій, що варто враховувати у клінічній практиці.

Наше дослідження підкреслює потенційну цінність IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису як стратифікаційного інструменту для підбору імунотерапії. На відміну від ізольованої оцінки окремих геномних або імуногістохімічних маркерів, IFN $\gamma$ -підпис відображає функціональну активність імунної системи, інтегруючи інформацію про антиген-презентацію, хемотаксис Т-клітин та активацію цитотоксичних механізмів. З огляду на це, найбільш перспективним видається його використання у складі багатофакторних моделей, що поєднують мутаційний статус, щільність інфільтрації імунних клітин та інші транскриптомні маркери [607,608]. Така інтеграція дозволяє значно точніше оцінювати «імунноактивність» пухлини та прогнозувати відповідь на терапію інгібіторами імунних контрольних точок.

Водночас роль IFN $\gamma$ -підпису в плоскоклітинній карциномі легень залишається менш вивченою порівняно з аденокарциномою. Зокрема, достеменно невідомо, наскільки рівень його експресії пов'язаний із ключовими мутаційними подіями (TTN, TP53, PIK3CA, KEAP1/NFE2L2), характеристиками імунного мікросередовища та довгостроковими показниками виживаності [609,610]. З огляду на те, що плоскоклітинна карцинома легень демонструє інший спектр онкогенних драйверів та імунних фенотипів, ніж аденокарцинома, транскриптомні маркери можуть поводитися інакше, що потребує окремої оцінки.

У цьому дослідженні ми проаналізували взаємозв'язок між експресією IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису та клініко-молекулярними характеристиками у хворих на плоскоклітинну карциному легень,

використовуючи дані TCGA-LUSC. Попри те, що IFN $\gamma$ -підпис продемонстрував певну кореляцію з мутаційним статусом KEAP1/NFE2L2 – відомого маркера імунної «мовчазності» – він не виявився незалежним прогностичним фактором виживаності. Ці результати свідчать про те, що транскриптомний сигнал IFN $\gamma$  у плоскоклітинній карциномі легень може модулюватися іншими, наразі недостатньо дослідженими регуляторними механізмами.

Наші результати узгоджуються з попередніми дослідженнями, які демонструють, що IFN $\gamma$ -асоційовані гени (CXCL9, CXCL10, IDO1 тощо) є ключовими медіаторами протипухлинної відповіді, активуючи рекрутування Т-клітин та формуючи сприятливий імунний контекст для терапії ПКТ. Зокрема, Paralexi et al. [611] виявили, що ці гени активно регулюють інгібіторні контрольні точки і можуть впливати на відповідь на імунотерапію шляхом формування «високоімунного» фенотипу пухлин. У нашому дослідженні високий рівень експресії CXCL9, CXCL10 та IDO1 був найбільш тісно пов'язаний із сукупним IFN $\gamma$ -підписом, що підтверджує важливість саме цих компонентів.

Інтригуючим є спостереження, що мутації KEAP1/NFE2L2 частіше зустрічалися серед пацієнтів з високим IFN $\gamma$ -підписом. Це відповідає гіпотезі про метаболічно-імунні взаємодії, висвітлені в роботі Xu et al. [612], які показали, що KEAP1-мутовані пухлини часто мають оксидативний стрес, що стимулює антивірусні сигнальні каскади, включаючи IFN $\gamma$ . Таким чином, мутації в KEAP1/NFE2L2 можуть не лише сприяти імуноінфільтрації, але й підвищувати IFN $\gamma$ -опосередковану відповідь. У контексті плоскоклітинної карциноми легень, де KEAP1/NFE2L2 мутації є частими, ці дані можуть мати практичне значення для прогнозування відповіді на імунотерапію.

Попри це, IFN $\gamma$ -підпис не виявився незалежним прогностичним фактором у нашій когорті. Це відрізняється від результатів, отриманих в інших типах раку легень, зокрема аденокарциномі, де високий рівень цього підпису асоціюється з подовженою виживаністю [613,614]. Можливо, у плоскоклітинній карциномі легень визначальну роль відіграють інші імунорегуляторні механізми.

Наприклад, Shi et al. [615] виявили, що на відповідь на ПКТ суттєво впливають рівні МАІТ-клітин, які можуть бути незалежними від IFN $\gamma$ -сигналіngu.

Ще одним потенційним чинником, що може пояснити відсутність прогностичного значення IFN $\gamma$ -підпису, є гіпоксія. Robles-Oteíza et al. [616] продемонстрували, що гіпоксичні умови здатні модулювати сигнальні шляхи IFN $\gamma$  та сприяти набутій резистентності до ПКТ, навіть при наявності імунноактивного мікросередовища. Враховуючи часту гіпоксію в плоскоклітинних карциномах легень, особливо в центральних масах пухлин, це може частково пояснити слабку асоціацію між IFN $\gamma$ -підписом та виживаністю.

З клінічної точки зору, цікаво, що мутації в TP53 та TTN, на відміну від IFN $\gamma$ -підпису, були незалежно асоційовані з кращою виживаністю у моделі Кокса. Ці результати частково узгоджуються з даними Liu et al. [617], які показали, що мутація TTN формує особливий транскриптомний ландшафт, асоційований з імунною активацією. Також варто згадати дослідження Qi et al. [618], у якому підкреслювалася роль довгих некодуючих РНК, асоційованих з TTN, у регуляції пухлинного прогресу та імунного мікросередовища. У нашій когорті TTN-мутації могли корелювати з вищим імунним тиском, що сприяє кращій виживаності.

Щодо практичного застосування, важливо відзначити, що IFN $\gamma$ -підпис не повинен розглядатися як ізольований біомаркер. Його ефективність, ймовірно, залежить від поєднання з іншими характеристиками пухлини — мутаційним статусом, гіпоксією, наявністю Т-клітинних підтипів або зрілих третинних лімфоїдних структур [613]. Комплексні підходи, включаючи мультимодальні одноклітинні аналізи [611], можуть дати глибше розуміння біології відповіді на ПКТ у ПЛКЛ.

Нарешті, варто згадати про новітні терапевтичні стратегії, орієнтовані на активацію IFN $\gamma$ -шляху або його модуляцію. Зокрема, CAR-T-клітинні екзосоми, описані Zheng et al. [619], можуть одночасно транспортувати цитотоксичні препарати та індукувати місцеву імунну відповідь через IFN $\gamma$ -активацію. Такі комбіновані підходи потенційно можуть бути особливо ефективними для

пацієнтів з високим IFN $\gamma$ -підписом, але без відповіді на стандартну імунотерапію.

Проведене нами дослідження доповнює існуючі дані про складну роль IFN $\gamma$ -асоційованого генного підпису в плоскоклітинних карциномах легень. Попри те, що він не виявився незалежним прогностичним фактором, його зв'язок з KEAP1/NFE2L2 мутаціями та ключовими імунними генами свідчить про потенційну роль у формуванні імунного мікросередовища.

Отже, у сукупності проведений аналіз демонструє, що відповідь на імунотерапію при НДКРЛ визначається складною взаємодією клінічних характеристик пацієнта, параметрів системної та локальної імунної відповіді, морфометричних показників складу тіла та генетичних змін пухлини. Отримані дані підтверджують переваги комплексного підходу до оцінки ефективності ПКТ, який забезпечує суттєво точнішу стратифікацію пацієнтів та формує підґрунтя для персоналізованих терапевтичних стратегій у сучасній імуноонкології.

Логічним продовженням цього багаторівневого аналізу стало узагальнення виявлених предикторів у єдину прогностичну модель та її подальша інтеграція у перший в Україні прототип цифрової платформи підтримки клінічних рішень IMMUN-LUNG. Створений інструмент є практичним втіленням комплексної моделі ризику, що об'єднує ключові клінічні, імунологічні, радіологічні та поведінкові предиктори, виявлені в межах цього дисертаційного дослідження. Розробка IMMUN-LUNG ґрунтується на принципах доказової медицини та узгоджується з глобальними тенденціями впровадження інтелектуальних цифрових систем для персоналізації протипухлинної терапії.

На відміну від існуючих прогностичних шкал, таких як Паліативна прогностична шкала [620], гласговський прогностичний індекс mGPS [621,622] чи Lung Immune Prognostic Index [623], створена система не обмежується однією групою біомаркерів, а включає широкий спектр детермінант відповіді на ПКТ, що були ретельно відібрані на основі власного дослідження. Такий підхід відповідає рекомендаціям сучасних системних оглядів, які наголошують на

необхідності мультикомпонентних моделей для підвищення точності прогнозування ефективності ПКТ [624].

Новизною запропонованого прототипу є також включення факторів, що традиційно не враховуються в жодній з існуючих шкал, зокрема часу доби інфузії, типів кортикостероїдної терапії, кількісної оцінки тютюнової експозиції, радіологічних параметрів підшкірної жирової тканини, а також тривалості терапії ПКТ, що в нашому дослідженні продемонстрували незалежне прогностичне значення. Поєднання цих предикторів у єдиній моделі є унікальним та не описаним у науковій літературі.

У сучасних публікаціях активно розвивається напрямок застосування штучного інтелекту в прогнозуванні ефективності протипухлинної імунотерапії. Моделі на основі глибокого навчання, такі як роботи Wang et al. [54] та Rakaee et al. [55], демонструють перспективність інтеграції клінічних та радіологічних даних для індивідуальної оцінки відповіді на ПКТ. Однак більшість таких моделей є закритими, недоступними для клініцистів та вимагають великих масивів даних, високопродуктивних обчислювальних ресурсів і спеціалізованого програмного забезпечення. Ця проблема особливо актуальна для країн із обмеженими ресурсами, включно з Україною.

На цьому тлі IMM-U-LUNG вирізняється простотою інтеграції в клінічні процеси, адже створений прототип реалізовано у вигляді веборієнтованої платформи, що не потребує встановлення спеціальних модулів чи роботи зі складними алгоритмами. Інтерфейс доступний українською та англійською мовами, а логіка розрахунку базується на прозорих та клінічно обґрунтованих правилах. Прототип забезпечує автоматичний розрахунок групи ризику (низький, проміжний, високий), генерацію пояснень та пряме посилення на відповідні рекомендації NCCN, що уможливорює використання інструмента не лише для досліджень, але й у реальному клінічному прийомі.

Важливою перевагою для українських умов є можливість застосування моделі без дорогих біомаркерів або складного молекулярного профілювання. На відміну від концепцій "systems biomarkers" [53], IMM-U-LUNG ґрунтується на

рутинних клінічних та лабораторних показниках, доступних у всіх онкологічних закладах України. У країні з обмеженим доступом до високовартісних діагностичних технологій це критично важливо, тому ідентифіковані у поточному дослідженні незалежні геномні/транскриптомні предиктори спеціально не були внесені до прогностичного модулю, оскільки це значно обмежувало б клінічне застосування IMMUN-LUNG. Український контекст воєнного часу характеризується різким обмеженням фінансових та кадрових ресурсів, що робить потребу у швидких, простих та точних алгоритмах підтримки прийняття рішень особливо гострою.

Міжнародні дослідження [58,625] підкреслюють, що найефективніші системи клінічної підтримки – це саме ті, що створені на основі локальних даних і адаптовані до конкретної популяції пацієнтів. IMMUN-LUNG відповідає цим критеріям, оскільки він базується на аналізі реальної української когорти хворих, що підвищує його валідність у локальному контексті.

Особливо цінним компонентом моделі є включення факторів, характерних саме для України, зокрема:

- обмежений доступ до ПЕТ/КТ та розширених генетичних панелей;
- часте застосування системних кортикостероїдів у зв'язку з пізнім зверненням;
- висока поширеність ХОЗЛ;
- нерівномірний доступ до імунотерапії;
- значна варіабельність часу інфузій у державних онкоцентрах;
- фінансові обмеження, що роблять критично важливим прогноз тривалості терапії ПКТ.

У цьому контексті IMMUN-LUNG є не лише науковою розробкою, але й інструментом медичної рівності, який надає пацієнтам з будь-якого регіону країни доступ до персоналізованої оцінки ризику.

Додатковою перевагою є можливість масштабування моделі та її подальшої інтеграції у складніші системи штучного інтелекту. Сучасні огляди [57,626] наголошують, що найефективнішим шляхом розвитку штучного інтелекту в

онкології є поєднання традиційних клінічних змінних із машинним навчанням. Створений прототип може стати базовим модулем для майбутньої ШІ-системи підтримки рішень у лікуванні НДКРЛ в Україні.

На даному етапі прототип вже доступний за адресою: <https://yuliia-moskalenko.github.io/immu-lung-score/>. Таким чином, IMMU-LUNG є унікальним інноваційним продуктом, який інтегрує клінічні відкриття, отримані в межах цього дисертаційного дослідження, у практично застосовний цифровий інструмент. Він поєднує наукову новизну, доступність, клінічну цінність та технологічну адаптивність, що робить його перспективною платформою для трансформації підходів до персоналізованої імунотерапії раку легень в Україні.

**Матеріали розділу висвітлені в наступних публікаціях [282–286,294–301,306–313,315–320,627–634]:**

– Moskalenko Y. Biological mechanisms of resistance to immune checkpoint inhibitors and overcoming this resistance: Challenges in medical oncology. *Regul. Mech. Biosyst.* 2024 Feb 17;15(1):83-91.

– Moskalenko Y, Yazykov O, Vasylieva O, Smiian K, Ivakhniuk T, Budko H, Moskalenko R. The Impact of Age on the Effectiveness of Immune Checkpoint Inhibitors Therapy in Patients with Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer. *Geriatrics (Basel)*. 2025 Jun 27;10(4):85.

– Moskalenko Y, Kovchun V, Bohdanov A, Budko V, Yazykov O. Visceral Adipose Tissue Radiodensity as a Potential Biomarker of Immunotherapy Efficacy in Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer Patients. *Galician med. j.* 2025;32(3):e-GMJ2025-A21.

– Moskalenko Y., Kravets O., Kovchun V. Clinical outcomes of concurrent use of corticosteroids and immune checkpoint inhibitors in oncology. *Regul Mech Biosyst.* 2025;16(2):e25062.

- Moskalenko YV. The role of novel risk-scoring systems in predicting the efficacy of immunotherapy. The journal of V. N. Karazin National University. 2025;33(1):59–68.
- Moskalenko YV. IFN $\gamma$ -associated gene signature as a potential prognostic biomarker of survival and immunotherapy response in lung adenocarcinoma. The journal of V. N. Karazin National University. Series Medicine. 2025;33(4):510-522.
- Moskalenko Y, Hyriavenko N, Derevianko T. Immunogenomic stratification of the tumor microenvironment in surgically treated non-small cell lung cancer: A Ukrainian single-center experience. Regul. Mech. Biosyst. 2025;16(3):e25136.
- Moskalenko Y, Kovchun V, Vynnychenko I, Moskalenko R. Association of skeletal muscle radiodensity and skeletal muscle index with immunotherapy response in metastatic non-small cell lung cancer. Muscles 2025; 4(4):51.
- Vynnychenko OI, Moskalenko YV, Moskalenko RA, Dudnichenko OS, Rysovana LM, Hrankina SS. A single-center, cohort study of the mutational profile of Ukrainian patients with non-small cell lung cancer. Ukr J Radiol Oncol. 2024; 32(4): 504–517.
- Винниченко ІО, Москаленко ЮВ, Винниченко ОІ, Москаленко РА, Піддубний АМ. Бульозний пемфігоїд Левера у хворого на метастатичний рак легені після лікування атезоліумабом. Клінічна онкологія. 2019;9(1):55–57.
- Moskalenko YV, Vynnychenko IO, Smorodska OM, Vynnychenko OI, Moskalenko RA. PD-L1 testing as a way of personalizing the treatment of non-small cell lung cancer. Likars'ka sprava. 2019;5-6:40-45.
- Moskalenko YV. Prognostic value of IFN $\gamma$ -associated genes signature in lung squamous cell carcinoma: TCGA-based analysis. Art of Medicine. 2025;3(35):58–64.
- Moskalenko Y, Hyriavenko N. Prognostic significance of TP53 and PD-L1 depending on the type of adjuvant therapy in patients with non-small cell lung cancer. Buk Med Herald. 2025;29(3):17–22.
- Moskalenko Yu, Kovchun V. Molecular and immune predictors of survival in lung squamous cell carcinoma: A TCGA-based analysis. Bull Med Biol Res. 2025;7(3):26–36.

– Moskalenko Y, Moskalenko R. Regulatory T cells as predictor of immunotherapy response in patients with metastatic non-small cell lung cancer. *Act. Probl. of the Modern Med.* 2025;25(3):48-3.

– Moskalenko Y, Kovchun V, Gyriavenko N. Immune subtype as a moderator of the prognostic significance of mutations in lung adenocarcinoma: a TCGA data analysis. *Arch. clin. med.* 2025;31(2):16–22.

– Moskalenko Y, Smorodska O. Lung cancer biomarkers. Theoretical and practical aspects of the development of modern scientific research: monograph/ed. Anita Jankovska. Riga : Izdevniecība “Baltija Publishing”, 2022. p. 212–233.

– Moskalenko Y. Immune-related toxicity of checkpoint inhibitors. *Medicine and psychology: modern problems, new technologies and ways of developing outdated theories: collective monograph /ed. Hennadii Slabkyi.* Boston: Primedia eLaunch, 2024. p. 124-145. doi: 10.46299/ISG.2024.MONO.MED.1

– Romaniuk A., Moskalenko Y., Baryshok A., Moskalenko R. Expression of FOXP3 in the microenvironment of non-small cell lung cancer tissue on the background of the application of immunotherapy. 36-th European Congress of Pathology. 7–11 September 2024, Florence, Italy: *Virchovs Archiv*, 2024; 485 (Suppl 1): 450.

– Москаленко Ю. Поширеність TP53 ко-мутацій у пацієнтів з недрібноклітинним раком легень. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих учених «Медична наука – 2024»: матеріали. 5 грудня 2024 р., м. Полтава. Полтава, 2024: 46.

– Denysenko A., Moskalenko Y., Moskalenko R. Immune phenotypes in patients with non-small cell lung cancer and their association with smoking. 37-th European Congress of Pathology. 6-10 September 2025, Vienna, Austria: *Virchovs Archiv*, 2025; 487 (Suppl 1): PS-26-001.

– Sulaieva O., Seleznov O., Kozakov D., Koshyk O., Lapsar H., Livshun S., et al. Immune contexture of non-small cell lung cancer with actionable mutations: deciphering the mechanisms of immune evasion. United States and Canadian Academy

of Pathology's 114th Annual Meeting. 22-27 March 2025, Boston, USA: Lab Invest, 2025; Vol. 105, Suppl.1: 48.

– Москаленко Ю. Індекс маси тіла як предиктор ефективності терапії інгібіторами імунних контрольних точок. X науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів»: матеріали. 17–18 жовтня 2024 р., м. Тернопіль: ТНМУ. 2024: 225–226.

– Москаленко Ю. Вплив кортикостероїдів на ефективність інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на недрібноклітинний рак легень. XXIX конгрес студентів та молодих учених «Майбутнє за наукою»: матеріали. 9–11 квітня 2025 р., м. Тернопіль: ТНМУ. 2025: 44.

– Москаленко Ю. Вплив віку на ефективність інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на метастатичний недрібноклітинний рак легень. VIII науково-практична internet-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів та хвороб та їх фармакологічна корекція»: матеріали. 20 жовтня 2025 р., м. Харків. Харків: НФаУ, 2025: 175–176.

– Москаленко Ю. Прогностичне значення імунних фенотипів у хворих на метастатичний недрібноклітинний рак легень. Дев'ята всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології»: матеріали. 6–7 листопада 2025 р., м. Дніпро. Дніпро: ДДМУ, 2025: 146–147.

– Moskalenko Y, Kravets Y. IFN $\gamma$ -associated genes signature as a potential prognostic biomarker of survival and immunotherapy response in lung adenocarcinoma. 12<sup>th</sup> International Black Sea coastline countries scientific research conference. 2025 September 26–28, Trabzon. Black Sea Strategic Research and Application Center, 2025: 9.

– Kozakov D, Kobylak N, Livshun S, Seleznov O, Koshyk O, Matvieieva A, Shparyk Y, Kolesnik O, Moskalenko Y, Vynnychenko O, Moskalenko R, Kropyvko S, Khmel A, Shkarupii B, Sulaieva O. Genetic alterations affect immune contexture of

non-small cell lung cancer: Ukrainian study. *Front Med (Lausanne)*. 2025 Jul 30;12:1558016.

– Moskalenko YuV, Vynnychenko OI, Sulaieva OM, Moskalenko RA. The role of next-generation sequencing in lung cancer diagnosis. *EUMJ*. 2023; 11(3): 214–223.

– Moskalenko Y, Smorodska O, Deineka V, Kravets O, Moskalenko R. Prognostic factors for recurrence in patients with surgically resected non-small cell lung cancer. *Contemporary Oncology/Współczesna Onkologia*. 2022;26(3):239-246.

– Smorodska O, Moskalenko Y, Kononenko M, Ivanov S. Inflammation indexes as predictors of disease recurrence in patients with surgically resected non-small cell lung cancer. *East Ukr Med J*. 2022;10(4):379-388.

– Moskalenko YV, Kozakov DS, Livshun SS, Panko MI, Sulaieva OM. Association of genetic alterations in the EGFR and ALK genes with PD-L1 expression in non-small cell lung cancer. *BioGENext: Next Generation Therapy Conference. Biopolym Cell*. 2024; 40(3): 199.

– Москаленко Ю, Погорелов М. Прогностична роль STAT6 у пацієнтів з недрібноклітинним раком легень. Восьма всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології»: матеріали. 6–8 листопада 2024 р., м. Дніпро. Дніпро: ДДМУ, 2024: 100–102.

– Москаленко Ю, Смородська О, Бондаренко Л, Кадурін М. Онїхолісис як наслідок токсичного впливу інгібіторів імунних контрольних точок. XIV з'їзд онкологів та радіологів України: матеріали. 30 вересня–2 жовтня 2021р., м. Київ: Національний інститут раку, 2021: 282–284.

– Смородська О, Москаленко Ю. Індекси системної запальної реакції як фактор прогнозу рецидиву раку легень. Міжнародна науково-практична конференція «Молодіжна наука заради миру та розвитку»: матеріали. 9–11 листопада 2022 р., м. Чернівці: ЧНУ ім. Ю. Федьковича, 2022: 62–64.

## ВИСНОВКИ

НДКРЛ залишається провідною причиною онкологічної смертності у світі, включно з Україною. Попри досягнення сучасної імунотерапії, відповідь на лікування ПКТ є гетерогенною, що зумовлює потребу в глибшому розумінні біологічних детермінант ефективності терапії. У дисертаційному дослідженні проаналізовано прогностичне значення клінічних, біохімічних, морфометричних, імунологічних та молекулярно-генетичних характеристик на рівні організму, пухлини та її мікрооточення. Робота спрямована на виявлення незалежних факторів, асоційованих із виживаністю пацієнтів, та формування персоналізованого підходу до прогнозування ефективності ПКТ при метастатичному НДКРЛ. Отримані результати стали основою для побудови цифрового інструменту підтримки клінічних рішень, що інтегрує багаторівневі біомаркери у зручну прогностичну систему.

1. Ранкове введення інгібіторів імунних контрольних точок асоціюється з достовірним подовженням загальної виживаності порівняно з вечірніми інфузіями (експонований розмір ефекту 2,07;  $p < 0,001$ ), що підтверджує клінічну доцільність циркадного підходу до імунотерапії пацієнтів з метастатичним НДКРЛ.

2. У пацієнтів віком понад 70 років під час терапії інгібіторами імунних контрольних точок частіше трапляються імуноопосередковані побічні ефекти ( $p = 0,046$ ), однак загальна виживаність та частота об'єктивної відповіді не відрізняються від показників у молодших пацієнтів, що підкреслює важливість віково-орієнтованого моніторингу токсичності без обмеження доступу до інгібіторів імунних контрольних точок. Водночас суттєве прогностичне значення має тривалість терапії інгібіторами імунних контрольних точок: лікування менш ніж 8 місяців підвищує ризик неефективності терапії більш ніж утричі ( $HR = 3,637$ ;  $p = 0,0001$ ), що визначає мінімально необхідну тривалість лікування для досягнення оптимального клінічного ефекту.

3. У пацієнтів з метастатичним недрібноклітинним раком легень та стажем паління  $\geq 28$  пачко-років, які отримували інгібітори імунних контрольних точок,

спостерігається достовірно вища загальна виживаність (HR = 0,63; p = 0,013), гіперекспресія PD-L1 (p = 0,0001) та значно краща об'єктивна відповідь на лікування порівняно з аналогічною підгрупою, яка отримувала хіміотерапію (75,6% проти 27,5%; p = 0,0045), що свідчить про доцільність урахування статусу паління під час планування імунотерапії.

4. Супутнє призначення системних кортикостероїдів під час терапії інгібіторами імунних контрольних точок достовірно погіршує як виживаність без прогресування (HR = 3,94; p = 0,0001), так і загальну виживаність (HR = 6,53; p = 0,0001), особливо при використанні стероїдів тривалої дії з паліативною метою. Натомість інгаляційні кортикостероїди не знижують ефективність імунотерапії, демонструючи найвищу об'єктивну відповідь на лікування (87,5%; p = 0,0001), а супутня ХОЗЛ асоціюється з достовірно кращою загальною виживаністю (HR = 0,17; p = 0,004).

5. Індекс співвідношення нейтрофілів до лімфоцитів (NLR) та система оцінки ризику LEM є значущими прогностичними інструментами для хворих на метастатичний НДКРЛ, що отримують інгібіторів імунних контрольних точок. Високий NLR ( $\geq 3,6$ ) є незалежним негативним прогностичним фактором загальної виживаності (HR = 2,33; p = 0,015), тоді як низький NLR асоціюється з вищою об'єктивною відповіддю на лікування (57,1% проти 32,8%; p = 0,0213). Система LEM забезпечує ефективну стратифікацію ризику: наявність трьох факторів ризику (ECOG  $\geq 2$ , абсолютна кількість лімфоцитів  $< 1,5 \times 10^9/\text{л}$  та метастази в легені та/або плевру) пов'язана з найгіршою загальною виживаністю (медіана 4,2 міс; HR = 1,81; p = 0,0001).

6. Радіологічна щільність підшкірної жирової тканини є перспективним маркером ефективності інгібіторів імунних контрольних точок при метастатичному НДКРЛ. Помірна щільність (-106...-100 HU) асоціюється з найкращою загальною виживаністю (HR = 0,32; p = 0,002) порівняно з нижчими та вищими значеннями. Виявлена U-подібна нелінійна залежність свідчить про зв'язок між метаболічним статусом і відповіддю на інгібітори імунних контрольних точок. Натомість радіологічна щільність вісцеральної жирової

клітковини не демонструє достовірного впливу на загальну виживаність, однак модифікує ефект експресії PD-L1 ( $p < 0,0001$ ).

7. У чоловіків із метастатичним НДКРЛ індекс скелетних м'язів та їх радіологічна щільність не асоціюються із загальною чи безпрогресійною виживаністю. Водночас вищий індекс скелетних м'язів ( $\geq 39,0 \text{ см}^2/\text{м}^2$  для ІМТ  $< 24,9$  та  $\geq 60 \text{ см}^2/\text{м}^2$  для ІМТ  $\geq 25,0$ ) та більша щільність м'язів ( $\geq 40,0 \text{ HU}$  для ІМТ  $< 24,9$  та  $\geq 53,0 \text{ HU}$  для  $\geq 25,0$ ) корелюють з кращою клінічною відповіддю на імунотерапію, причому щільність скелетної мускулатури достовірно впливає на досягнення контролю над захворюванням ( $p = 0,031$ ). Ізольованим незалежним предиктором тривалішої виживаності є експресія PD-L1  $\geq 50\%$  (HR = 0,29;  $p = 0,001$ ), проте існує статистично значуща взаємодія між експресією PD-L1 та індексом скелетних м'язів ( $p$  для взаємодії = 0,027), що вказує на потенційну модифікаторну роль саркопенії в реалізації імунної відповіді.

8. Незважаючи на суттєві відмінності в тривалості виживаності між імунноактивним, імуносупресивним і нейтральним/змішаним імунними фенотипами пухлинного мікрооточення (Log-rank  $p = 0,0001$ ), жоден із них не має незалежного прогностичного значення. Єдиним достовірним предиктором загальної виживаності є високе співвідношення CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup>, яке відображає переважання M2-орієнтованого макрофагального середовища (HR = 4,34;  $p < 0,001$ ). Висока інфільтрація пухлини Foxp3<sup>+</sup> регуляторними Т-клітинами також асоціюється зі зниженням виживаності, однак не має незалежного прогностичного значення, що обмежує її застосування як клінічного біомаркера.

9. У хірургічно пролікованих хворих на НДКРЛ ідентифіковано два імунні фенотипи пухлинного мікрооточення – імунно активний та імуносупресивний, що різняться щільністю CD8<sup>+</sup> Т-клітин, макрофагів M1/M2 і регуляторних Т-клітин FoxP3<sup>+</sup>. Пацієнти з імунно активним фенотипом демонструють вищу медіану загальної (114,5 проти 38,1 місяця) та безрецидивної виживаності (98,8 проти 27,8 місяця), проте ці відмінності не досягають статистичної значущості (log-rank  $p = 0,4354$  та  $p = 0,5433$  відповідно), що свідчить про обмежену прогностичну цінність стратифікації пухлинного мікрооточення в цій когорті.

Водночас у PD-L1-позитивних пацієнтів, які отримують ад'ювантну хіміотерапію +імунотерапію, мутації TP53 асоціюються з достовірно вищою виживаністю без прогресування (медіана 93,8 проти 9,1 міс.;  $p = 0,029$ ), що вказує на потенційну предиктивну роль TP53 у поєднанні з PD-L1 при оцінці відповіді на імунотерапію.

10. Імунний підтип пухлинного мікрооточення модифікує прогностичне значення соматичних мутацій при недрібноклітинному раку легень. У пацієнтів з аденокарциномою несприятливий прогноз асоціюється з мутацією STK11 (HR = 3,89;  $p = 0,026$ ), ко-мутаціями KRAS+TP53 (HR = 5,14;  $p = 0,022$ ), KRAS+KEAP1 (HR = 6,67;  $p = 0,022$ ) та STK11+KEAP1 (HR = 16,60;  $p = 0,010$ ), однак цей ефект залежить від імунного підтипу пухлини. Натомість у плоскоклітинній карциномі мутації TTN і TP53, особливо їх поєднання, асоціюються з достовірно кращою виживаністю (медіана 63,7 міс. проти 27,8 міс.;  $p = 0,0065$ ), переважно в підгрупі з високою та середньою імунною активністю. Отримані результати підтверджують, що поєднаний аналіз імунного та мутаційного профілю має вирішальне значення для точнішої оцінки прогнозу пацієнтів.

11. IFN $\gamma$ -асоційований генний підпис відображає рівень імунної активності пухлинного мікрооточення при НДКРЛ, однак має обмежене прогностичне значення. У хворих на аденокарциному легень високий рівень IFN $\gamma$ -підпису асоціюється зі статистично достовірно довшою загальною виживаністю (медіани: 47,4 проти 41,2 міс.; Log-rank  $p = 0,0438$ ), проте не являється незалежним предиктором у багатофакторному аналізі. Натомість єдиним достовірним фактором ризику виступає мутація STK11 (HR = 1,52;  $p = 0,045$ ). У плоскоклітинному підтипі IFN $\gamma$ -підпис не асоціюється із тривалістю виживаності, тоді як прогностичну значущість демонструють мутації TP53 (HR = 0,53;  $p = 0,009$ ) і TTN (HR = 0,58;  $p = 0,005$ ), що асоціюються із покращенням прогнозу. Отримані результати підтверджують важливість урахування гістологічного варіанту пухлини при інтерпретації імуногенних сигнатур.

12. На основі незалежних клінічних, імунологічних, морфометричних та радіологічних предикторів ефективності ПКТ розроблено інтегральну прогностичну шкалу, що лягла в основу цифрової платформи підтримки клінічних рішень IMMUN-LUNG. Побудована модель відтворює складну біологію відповіді на імунотерапію при метастатичному НДКРЛ та дозволяє стратифікувати пацієнтів за рівнем ризику з високою точністю прогнозування (AUC = 0,9457). Реалізований цифровий прототип забезпечує автоматизоване персоналізоване прогнозування та доступний для використання за посиланням: <https://yuliia-moskalenko.github.io/immu-lung-score/>.

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. За умови контрольованої токсичності та відсутності ознак прогресування захворювання, терапію ПКТ доцільно продовжувати щонайменше протягом 8 місяців, що асоціюється з покращенням загальної виживаності пацієнтів з метастатичним НДКРЛ.

2. При плануванні лікування пацієнтів з метастатичним НДКРЛ доцільно враховувати час доби введення ПКТ. Ранкові інфузії пов'язані з достовірно вищою загальною виживаністю та можуть підвищити ефективність імунотерапії.

3. Імуноопосередковані побічні ефекти частіше виникають у хворих старшого віку ( $\geq 70$  років), однак їхня виживаність і відповідь на інгібітори імунних контрольних точок не поступаються показникам молодших пацієнтів. Це обґрунтовує необхідність віково-орієнтованого підходу до нагляду за токсичністю, але не є підставою для обмеження доступу літніх пацієнтів до ПКТ.

4. Тривалий анамнез паління ( $\geq 28$  пачко-років) асоціюється з більшою чутливістю до ПКТ, зокрема порівняно з хіміотерапією. Цей фактор варто враховувати при виборі лікувальної тактики.

5. Супутнє призначення системних кортикостероїдів пов'язане з достовірним зниженням ефективності ПКТ. За можливості, слід уникати їх використання до та під час активної імунотерапії або ретельно контролювати дозування.

6. Високе нейтрофільно-лімфоцитарне співвідношення ( $NLR \geq 3,6$ ) та наявність трьох критеріїв за шкалою LEM ( $ECOG \geq 2$ , абсолютна кількість лімфоцитів  $< 1,5 \times 10^9/\text{л}$  та метастази в легені та/або плевру) є несприятливими факторами та вказують на низьку ймовірність тривалої відповіді на ПКТ.

7. Радіоморфометричні характеристики, зокрема щільність підшкірної жирової клітковини в діапазоні  $-106 \dots -100$  HU, можуть слугувати орієнтиром для оцінки метаболічного статусу перед початком ПКТ. З огляду на виявлену U-подібну залежність, пацієнтам із вищою або нижчою щільністю підшкірної жирової тканини рекомендовано індивідуальну нутритивну корекцію з метою оптимізації метаболічного профілю та покращення прогнозу.

8. Імуногістохімічне визначення співвідношення CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup> макрофагів у зразках пухлини слід розглядати як незалежний прогностичний маркер, що може сприяти стратифікації ризику та індивідуалізації лікувальної тактики пацієнтів, які отримують ПКТ. З огляду на асоціацію високого співвідношення CD163<sup>+</sup>/CD68<sup>+</sup> з несприятливими результатами лікування, доцільно розглянути питання про включення пацієнтів із таким імунним профілем до клінічних досліджень, спрямованих на терапевтичну реполяризацію макрофагів пухлинного мікрооточення.

9. При виконанні молекулярно-генетичного профілювання пухлини доцільно враховувати не лише наявність специфічних мутацій, але й гістологічний варіант пухлини та імунний фенотип пухлинного мікрооточення, оскільки прогностичне значення мутацій (зокрема TP53, TTN, STK11) суттєво залежить від морфологічного типу новоутворення та характеру імунної інфільтрації.

10. З метою підвищення точності прийняття клінічних рішень у пацієнтів з метастатичним НДКРЛ, які планують отримувати ПКТ, доцільно використовувати прототип цифрової платформи IMMU-LUNG. Інструмент забезпечує персоналізовану оцінку ризику на основі багаторівневих клініко-біологічних параметрів і може служити ефективним доповненням до стандартної клінічної практики.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Tang FH, Wong HYT, Tsang PSW, Yau M, Tam SY, Law L, et al. Recent advancements in lung cancer research: a narrative review. *Transl Lung Cancer Res.* 2025 Mar;14(3):975–90.
2. De Lucia A, Mazzotti L, Gaimari A, Zurlo M, Maltoni R, Cerchione C, et al. Non-small cell lung cancer and the tumor microenvironment: making headway from targeted therapies to advanced immunotherapy. *Front Immunol.* 2025 Feb 10;16:1515748.
3. Reck M, Remon J, Hellmann MD. First-Line Immunotherapy for Non–Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol.* 2022 Feb 20;40(6):586–97.
4. Nagasaka M, Ou SI. Stage as the Sole “Biomarker” for Adjuvant Pembrolizumab in Resected Stage IB to IIIA NSCLC without Considerations for PD-L1 Expression Level, ALK/EGFR Mutational Status, and Prior Adjuvant Chemotherapy per FDA Approval Indications of PEARLS/Keynote-091? *Lung Cancer Targets Ther.* 2023 Dec;Volume 14:101–9.
5. Rajaram R, Huang Q, Li RZ, Chandran U, Zhang Y, Amos TB, et al. Recurrence-Free Survival in Patients With Surgically Resected Non-Small Cell Lung Cancer. *CHEST.* 2024 May;165(5):1260–70.
6. Mucherino S, Lorenzoni V, Triulzi I, Del Re M, Orlando V, Capuano A, et al. Cost-Effectiveness of Treatment Optimisation with Biomarkers for Immunotherapy in Solid Tumours: A Systematic Review. *Cancers.* 2024 Feb 29;16(5):995.
7. Ding H, Xin W, Tong Y, Sun J, Xu G, Ye Z, et al. Cost effectiveness of immune checkpoint inhibitors for treatment of non-small cell lung cancer: A systematic review. Durand-Zaleski I, editor. *PLOS ONE.* 2020 Sept 2;15(9):e0238536.
8. Liu Z, Liang Q, Ren Y, Guo C, Ge X, Wang L, et al. Immunosenescence: molecular mechanisms and diseases. *Signal Transduct Target Ther.* 2023 May 13;8(1):200.
9. Gulla S, Reddy MC, Reddy VC, Chitta S, Bhanoori M, Lomada D. Role of thymus in health and disease. *Int Rev Immunol.* 2023 Sept 3;42(5):347–63.

10. Yamaguchi O, Imai H, Minemura H, Suzuki K, Wasamoto S, Umeda Y, et al. Efficacy and safety of immune checkpoint inhibitor monotherapy in pretreated elderly patients with non-small cell lung cancer. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2020 Apr;85(4):761–71.
11. Al-Danakh A, Safi M, Jian Y, Yang L, Zhu X, Chen Q, et al. Aging-related biomarker discovery in the era of immune checkpoint inhibitors for cancer patients. *Front Immunol*. 2024 Mar 15;15:1348189.
12. Li Y, Hecht SS. Carcinogenic components of tobacco and tobacco smoke: A 2022 update. *Food Chem Toxicol*. 2022 July;165:113179.
13. Wang X, Ricciuti B, Nguyen T, Li X, Rabin MS, Awad MM, et al. Association between Smoking History and Tumor Mutation Burden in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancer Res*. 2021 May 1;81(9):2566–73.
14. Ernst SM, Mankor JM, Van Riet J, Von Der Thüsen JH, Dubbink HJ, Aerts JGJV, et al. Tobacco Smoking-Related Mutational Signatures in Classifying Smoking-Associated and Nonsmoking-Associated NSCLC. *J Thorac Oncol*. 2023 Apr;18(4):487–98.
15. Wang GZ, Zhang L, Zhao XC, Gao SH, Qu LW, Yu H, et al. The Aryl hydrocarbon receptor mediates tobacco-induced PD-L1 expression and is associated with response to immunotherapy. *Nat Commun*. 2019 Mar 8;10(1):1125.
16. Wang X, Ricciuti B, Alessi JV, Nguyen T, Awad MM, Lin X, et al. Smoking History as a Potential Predictor of Immune Checkpoint Inhibitor Efficacy in Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 2021 Nov 29;113(12):1761–9.
17. Xiao Q, Yu X, Shuai Z, Yao T, Yang X, Zhang Y. The influence of baseline characteristics on the efficacy of immune checkpoint inhibitors for advanced lung cancer: A systematic review and meta-analysis. *Front Pharmacol*. 2022 Sept 9;13:956788.
18. Herbst RS, Garon EB, Kim DW, Cho BC, Gervais R, Perez-Gracia JL, et al. Five Year Survival Update From KEYNOTE-010: Pembrolizumab Versus

Docetaxel for Previously Treated, Programmed Death-Ligand 1–Positive Advanced NSCLC. *J Thorac Oncol.* 2021 Oct;16(10):1718–32.

19. Yoo SK, Fitzgerald CW, Cho BA, Fitzgerald BG, Han C, Koh ES, et al. Prediction of checkpoint inhibitor immunotherapy efficacy for cancer using routine blood tests and clinical data. *Nat Med.* 2025 Mar;31(3):869–80.

20. Fang Q, Yu J, Li W, Luo J, Deng Q, Chen B, et al. Prognostic value of inflammatory and nutritional indexes among advanced NSCLC patients receiving PD-1 inhibitor therapy. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2023 Feb;50(2):178–90.

21. Kaisar-Iluz N, Arpinati L, Shaul ME, Mahroum S, Qaisi M, Tidhar E, et al. The Bilateral Interplay between Cancer Immunotherapies and Neutrophils' Phenotypes and Sub-Populations. *Cells.* 2022 Feb 23;11(5):783.

22. Miao S, Rodriguez BL, Gibbons DL. The Multifaceted Role of Neutrophils in NSCLC in the Era of Immune Checkpoint Inhibitors. *Cancers.* 2024 July 10;16(14):2507.

23. Nguyen CTT, Van TNK, Huong PT. Predictability of Neutrophile to Lymphocyte Ratio and Platelet to Lymphocyte Ratio on the Effectiveness of Immune Checkpoint Inhibitors in Non-small Cell Lung Cancer patients: A Meta-Analysis. *Cancer Control.* 2024 Jan;31:10732748241285474.

24. Pan Y, Fu Y, Zeng Y, Liu X, Peng Y, Hu C, et al. The key to immunotherapy: how to choose better therapeutic biomarkers for patients with non-small cell lung cancer. *Biomark Res.* 2022 Dec;10(1):9.

25. Han J, Meng Q, Shen L, Wu G. Interleukin-6 induces fat loss in cancer cachexia by promoting white adipose tissue lipolysis and browning. *Lipids Health Dis.* 2018 Dec;17(1):14.

26. Sun Y, Deng M, Gevaert O, Aberle M, Olde Damink SW, Van Dijk DPJ, et al. Tumor metabolic activity is associated with subcutaneous adipose tissue radiodensity and survival in non-small cell lung cancer. *Clin Nutr.* 2024 July;43(7):1809–15.

27. Pei X, Xie Y, Liu Y, Cai X, Hong L, Yang X, et al. Imaging-based adipose biomarkers for predicting clinical outcomes of cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors: a systematic review. *Front Oncol.* 2023 Oct 17;13:1198723.
28. Huang Y, Cun H, Mou Z, Yu Z, Du C, Luo L, et al. Multiparameter body composition analysis on chest CT predicts clinical outcomes in resectable non-small cell lung cancer. *Insights Imaging.* 2025 Feb 6;16(1):32.
29. Gezer NS, Bandos AI, Beeche CA, Leader JK, Dhupar R, Pu J. CT-derived body composition associated with lung cancer recurrence after surgery. *Lung Cancer.* 2023 May;179:107189.
30. Baldessari C, Pecchi A, Marcheselli R, Guitoli G, Bonacini R, Valoriani F, et al. Body Composition and Inflammation Impact in Non-Small-Cell Lung Cancer Patients Treated by First-line Immunotherapy. *Immunotherapy.* 2021 Dec;13(18):1501–19.
31. Trestini I, Caldart A, Dodi A, Avancini A, Tregnago D, Sartori G, et al. Body composition as a modulator of response to immunotherapy in lung cancer: time to deal with it. *ESMO Open.* 2021 Apr;6(2):100095.
32. 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. *Discov Oncol.* 2022 Oct 28;13(1):115.
33. Degens JHRJ, Dingemans AC, Willemsen ACH, Gietema HA, Hurkmans DP, Aerts JG, et al. The prognostic value of weight and body composition changes in patients with non-small-cell lung cancer treated with nivolumab. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2021 June;12(3):657–64.
34. Li N, Zheng X, Gan J, Zhuo T, Li X, Yang C, et al. Effects of glucocorticoid use on survival of advanced non-small-cell lung cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors. *Chin Med J (Engl).* 2023 Nov 5;136(21):2562–72.
35. De Giglio A, Aprile M, Di Federico A, Sperandi F, Melotti B, Gelsomino F, et al. Impact of Baseline Versus Intercurrent Steroids Administration on Upfront Chemo-Immunotherapy for Advanced Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC). *Int J Mol Sci.* 2022 Sept 7;23(18):10292.

36. Goodman RS, Johnson DB, Balko JM. Corticosteroids and Cancer Immunotherapy. *Clin Cancer Res.* 2023 July 14;29(14):2580–7.
37. Desharnais L, Sorin M, Rezanejad M, Liu B, Karimi E, Atallah A, et al. Spatially mapping the tumour immune microenvironments of non-small cell lung cancer. *Nat Commun.* 2025 Feb 4;16(1):1345.
38. Paolini L, Tran T, Corgnac S, Villemin JP, Wislez M, Arrondeau J, et al. Differential predictive value of resident memory CD8<sup>+</sup> T cell subpopulations in patients with non-small-cell lung cancer treated by immunotherapy. *J Immunother Cancer.* 2024 Dec;12(12):e009440.
39. Coulton A, Murai J, Qian D, Thakkar K, Lewis CE, Litchfield K. Using a pan-cancer atlas to investigate tumour associated macrophages as regulators of immunotherapy response. *Nat Commun.* 2024 July 6;15(1):5665.
40. Shu H, Lv W, Ren Z jian, Li H, Dong T, Zhang Y, et al. Ultrasound-mediated PLGA-PEI Nanobubbles Carrying STAT6 SiRNA Enhances NSCLC Treatment via Repolarizing Tumor-associated Macrophages from M2 to M1 Phenotypes. *Curr Drug Deliv.* 2024 Oct;21(8):1114–27.
41. He K, Barsoumian HB, Puebla-Osorio N, Hu Y, Sezen D, Wasley MD, et al. Inhibition of STAT6 with Antisense Oligonucleotides Enhances the Systemic Antitumor Effects of Radiotherapy and Anti-PD-1 in Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancer Immunol Res.* 2023 Apr 3;11(4):486–500.
42. Sun J, Guo H, Nie Y, Zhou S, Zeng Y, Sun Y. Deciphering the heterogeneity dominated by tumor-associated macrophages for survival prognostication and prediction of immunotherapy response in lung adenocarcinoma. *Sci Rep.* 2024 Apr 23;14(1):9276.
43. Wang C, Gao Q, Wu J, Lu M, Wang J, Ma T. The Biological Role of Macrophage in Lung and Its Implications in Lung Cancer Immunotherapy. *Adv Biol.* 2024 June;8(6):2400119.
44. Kang DH, Chung C, Sun P, Lee DH, Lee SI, Park D, et al. Circulating regulatory T cells predict efficacy and atypical responses in lung cancer patients treated with PD-1/PD-L1 inhibitors. *Cancer Immunol Immunother.* 2022 Mar;71(3):579–88.

45. Grell P, Borilova S, Fabian P, Selingerova I, Novak D, Muller P, et al. FoxP3 Expression in Tumor-Infiltrating Lymphocytes as Potential Predictor of Response to Immune Checkpoint Inhibitors in Patients with Advanced Melanoma and Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancers*. 2023 Mar 22;15(6):1901.
46. Li C, Wang H, Fang H, He C, Pei Y, Gai X. FOXP3 facilitates the invasion and metastasis of non-small cell lung cancer cells through regulating VEGF, EMT and the Notch1/Hes1 pathway. *Exp Ther Med*. 2021 July 6;22(3):958.
47. Lenahan SM, Sarausky HM, Deming P, Seward DJ. STK11 loss leads to YAP1-mediated transcriptional activation in human KRAS-driven lung adenocarcinoma cell lines. *Cancer Gene Ther*. 2024 Jan;31(1):1–8.
48. Thorsson V, Gibbs DL, Brown SD, Wolf D, Bortone DS, Ou Yang TH, et al. The Immune Landscape of Cancer. *Immunity*. 2018 Apr;48(4):812-830.e14.
49. Wei XW, Lu C, Zhang YC, Fan X, Xu CR, Chen ZH, et al. Redox<sup>high</sup> phenotype mediated by KEAP1/STK11/SMARCA4/NRF2 mutations diminishes tissue-resident memory CD8<sup>+</sup> T cells and attenuates the efficacy of immunotherapy in lung adenocarcinoma. *OncoImmunology*. 2024 Dec 31;13(1):2340154.
50. Ru K, Cui L, Wu C, Tan XX, An WT, Wu Q, et al. Exploring the molecular and immune landscape of cellular senescence in lung adenocarcinoma. *Front Immunol*. 2024 Aug 29;15:1347770.
51. Wang Y, Tong Z, Zhang W, Zhang W, Buzdin A, Mu X, et al. FDA-Approved and Emerging Next Generation Predictive Biomarkers for Immune Checkpoint Inhibitors in Cancer Patients. *Front Oncol*. 2021 June 7;11:683419.
52. Li X, Li Q, Jin SH, Chen X, Shen J, Ma H, et al. Association between pretreatment emotional distress and survival outcomes in patients with advanced non-small-cell lung cancer: an individual patient data meta-analysis of 4632 patients in seven trials. *Ther Adv Med Oncol*. 2025 Sept;17:17588359251371826.
53. Lapuente-Santana Ó, Van Genderen M, Hilbers PAJ, Finotello F, Eduati F. Interpretable systems biomarkers predict response to immune-checkpoint inhibitors. *Patterns*. 2021 Aug;2(8):100293.

54. Wang X, Jiang Y, Chen H, Zhang T, Han Z, Chen C, et al. Cancer immunotherapy response prediction from multi-modal clinical and image data using semi-supervised deep learning. *Radiother Oncol*. 2023 Sept;186:109793.
55. Rakaee M, Tafavvoghi M, Ricciuti B, Alessi JV, Cortellini A, Citarella F, et al. Deep Learning Model for Predicting Immunotherapy Response in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *JAMA Oncol*. 2025 Feb 1;11(2):109.
56. Zhao J, Wang L, Zhou A, Wen S, Fang W, Zhang L, et al. Decision model for durable clinical benefit from front- or late-line immunotherapy alone or with chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Med*. 2024 Aug;5(8):981-997.e4.
57. Sinha T, Khan A, Awan M, Bokhari SFH, Ali K, Amir M, et al. Artificial Intelligence and Machine Learning in Predicting the Response to Immunotherapy in Non-small Cell Lung Carcinoma: A Systematic Review. *Cureus [Internet]*. 2024 May 28 [cited 2025 Nov 27]; Available from: <https://www.cureus.com/articles/256635-artificial-intelligence-and-machine-learning-in-predicting-the-response-to-immunotherapy-in-non-small-cell-lung-carcinoma-a-systematic-review>
58. Oehring R, Ramasetti N, Ng S, Roller R, Thomas P, Winter A, et al. Use and accuracy of decision support systems using artificial intelligence for tumor diseases: a systematic review and meta-analysis. *Front Oncol*. 2023 Oct 4;13:1224347.
59. Ma F, Vayalil J, Lee G, Wang Y, Peng G. Emerging role of tumor-derived extracellular vesicles in T cell suppression and dysfunction in the tumor microenvironment. *J Immunother Cancer*. 2021 Oct;9(10):e003217.
60. Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, Sharpe AH. PD-1 and Its Ligands in Tolerance and Immunity. *Annu Rev Immunol*. 2008 Apr 1;26(1):677–704.
61. Dai Y wei, Wang W ming, Zhou X. Development of a CD8+ T cell-based molecular classification for predicting prognosis and heterogeneity in triple-negative breast cancer by integrated analysis of single-cell and bulk RNA-sequencing. *Heliyon*. 2023 Sept;9(9):e19798.
62. Zhao J, Chen AX, Gartrell RD, Silverman AM, Aparicio L, Chu T, et al. Immune and genomic correlates of response to anti-PD-1 immunotherapy in glioblastoma. *Nat Med*. 2019 Mar;25(3):462–9.

63. Su Z, Dhusia K, Wu Y. A computational study of co-inhibitory immune complex assembly at the interface between T cells and antigen presenting cells. Wei G, editor. *PLOS Comput Biol*. 2021 Mar 8;17(3):e1008825.
64. Zhao Y, Harrison DL, Song Y, Ji J, Huang J, Hui E. Antigen-Presenting Cell-Intrinsic PD-1 Neutralizes PD-L1 in cis to Attenuate PD-1 Signaling in T Cells. *Cell Rep*. 2018 July;24(2):379-390.e6.
65. Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM. Immune Checkpoint Blockade: A Common Denominator Approach to Cancer Therapy. *Cancer Cell*. 2015 Apr;27(4):450–61.
66. Brunner-Weinzierl MC, Rudd CE. CTLA-4 and PD-1 Control of T-Cell Motility and Migration: Implications for Tumor Immunotherapy. *Front Immunol*. 2018 Nov 27;9:2737.
67. Boisgerault N, Bertrand P. Inside PD-1/PD-L1,2 with their inhibitors. *Eur J Med Chem*. 2023 Aug;256:115465.
68. Martin AS, Molloy M, Ugolkov A, Von Roemeling RW, Noelle RJ, Lewis LD, et al. VISTA expression and patient selection for immune-based anticancer therapy. *Front Immunol*. 2023 Feb 20;14:1086102.
69. Gulhati P, Schalck A, Jiang S, Shang X, Wu CJ, Hou P, et al. Targeting T cell checkpoints 41BB and LAG3 and myeloid cell CXCR1/CXCR2 results in antitumor immunity and durable response in pancreatic cancer. *Nat Cancer* [Internet]. 2022 Dec 30 [cited 2025 Nov 2]; Available from: <https://www.nature.com/articles/s43018-022-00500-z>
70. Jiang KY, Qi LL, Liu XB, Wang Y, Wang L. Prognostic value of Siglec-15 expression in patients with solid tumors: A meta-analysis. *Front Oncol*. 2023 Jan 11;12:1073932.
71. Tao J, Han D, Gao S, Zhang W, Yu H, Liu P, et al. CD8<sup>+</sup> T cells exhaustion induced by myeloid-derived suppressor cells in myelodysplastic syndromes patients might be through TIM3/Gal-9 pathway. *J Cell Mol Med*. 2020 Jan;24(1):1046–58.
72. Mortezaee K. B7x in cancer immunity and immunotherapy. *Int Immunopharmacol*. 2023 May;118:110133.

73. Chen H, Yumoto K, Kashizaki F, Koizumi H, Ikeda I, Horita N, et al. KEYNOTE-407: an effective and safe first-line treatment option for metastatic squamous non-small cell lung cancer. *Transl Lung Cancer Res.* 2023 Aug;12(8):1830–3.
74. Patel SP, Othus M, Chen Y, Wright GP, Yost KJ, Hyngstrom JR, et al. Neoadjuvant–Adjuvant or Adjuvant-Only Pembrolizumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med.* 2023 Mar 2;388(9):813–23.
75. Hirose T, Yamamoto S, Kato K. Pembrolizumab for first-line treatment of advanced unresectable or metastatic esophageal or gastroesophageal junction cancer. *Ther Adv Gastroenterol.* 2023 Jan;16:17562848221148250.
76. Chau I. Pembrolizumab as a first-line treatment for advanced gastric cancer. *Lancet Oncol.* 2023 Nov;24(11):1158–9.
77. Harrington KJ, Burtness B, Greil R, Soulières D, Tahara M, De Castro G, et al. Pembrolizumab With or Without Chemotherapy in Recurrent or Metastatic Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: Updated Results of the Phase III KEYNOTE-048 Study. *J Clin Oncol.* 2023 Feb 1;41(4):790–802.
78. Eskander RN, Sill MW, Beffa L, Moore RG, Hope JM, Musa FB, et al. Pembrolizumab plus Chemotherapy in Advanced Endometrial Cancer. *N Engl J Med.* 2023 June 8;388(23):2159–70.
79. Chen YH, Tsai CH, Chen YY, Wang CC, Wang JH, Hung CH, et al. Real-world comparison of pembrolizumab and nivolumab in advanced hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer.* 2023 Aug 29;23(1):810.
80. Siqueira SOM, Campos-do-Carmo G, Dos Santos ALS, Martins C, De Melo AC. Merkel cell carcinoma: epidemiology, clinical features, diagnosis and treatment of a rare disease. *An Bras Dermatol.* 2023 May;98(3):277–86.
81. Balar AV, Castellano DE, Grivas P, Vaughn DJ, Powles T, Vuky J, et al. Efficacy and safety of pembrolizumab in metastatic urothelial carcinoma: results from KEYNOTE-045 and KEYNOTE-052 after up to 5 years of follow-up. *Ann Oncol.* 2023 Mar;34(3):289–99.

82. Plimack ER, Powles T, Stus V, Gafanov R, Nosov D, Waddell T, et al. Pembrolizumab Plus Axitinib Versus Sunitinib as First-line Treatment of Advanced Renal Cell Carcinoma: 43-month Follow-up of the Phase 3 KEYNOTE-426 Study. *Eur Urol*. 2023 Nov;84(5):449–54.
83. Armand P, Zinzani PL, Lee HJ, Johnson NA, Brice P, Radford J, et al. Five-year follow-up of KEYNOTE-087: pembrolizumab monotherapy for relapsed/refractory classical Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2023 Sept 7;142(10):878–86.
84. Provencio M, Nadal E, González-Larriba JL, Martínez-Martí A, Bernabé R, Bosch-Barrera J, et al. Perioperative Nivolumab and Chemotherapy in Stage III Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2023 Aug 10;389(6):504–13.
85. Weber JS, Schadendorf D, Del Vecchio M, Larkin J, Atkinson V, Schenker M, et al. Adjuvant Therapy of Nivolumab Combined With Ipilimumab Versus Nivolumab Alone in Patients With Resected Stage IIIB-D or Stage IV Melanoma (CheckMate 915). *J Clin Oncol*. 2023 Jan 20;41(3):517–27.
86. Van Der Heijden MS, Sonpavde G, Powles T, Necchi A, Burotto M, Schenker M, et al. Nivolumab plus Gemcitabine–Cisplatin in Advanced Urothelial Carcinoma. *N Engl J Med*. 2023 Nov 9;389(19):1778–89.
87. Cabozantinib plus Nivolumab and Ipilimumab in Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med*. 2023 Aug 3;389(5):476–8.
88. Burtneß B. First-Line Nivolumab Plus Ipilimumab in Recurrent/Metastatic Head and Neck Cancer—What Happened? *J Clin Oncol*. 2023 Apr 20;41(12):2134–7.
89. Harker-Murray P, Mauz-Körholz C, Leblanc TM, Mascarin M, Michel G, Cooper S, et al. Nivolumab, Brentuximab Vedotin, +/- Bendamustine For R/R Hodgkin Lymphoma in Children, Adolescents, and Young Adults. *Blood*. 2022 Dec 23;blood.2022017118.
90. Felip E, Altorki N, Zhou C, Vallières E, Martínez-Martí A, Rittmeyer A, et al. Overall survival with adjuvant atezolizumab after chemotherapy in resected stage II-IIIa non-small-cell lung cancer (IMpower010): a randomised, multicentre, open-label, phase III trial. *Ann Oncol*. 2023 Oct;34(10):907–19.

91. Garly R, Knoop A, Jensen MB, Berg T, Nielsen HM, Kümler I. Atezolizumab and nab-paclitaxel for advanced breast cancer in Danish real-world patients. *Dan Med J*. 2023 Aug 23;70(9):A01230034.
92. Drakaki A, Powles T, Bamias A, Martin-Liberal J, Shin SJ, Friedlander T, et al. Atezolizumab plus Magrolimab, Niraparib, or Tocilizumab versus Atezolizumab Monotherapy in Platinum-Refractory Metastatic Urothelial Carcinoma: A Phase Ib/II Open-Label, Multicenter, Randomized Umbrella Study (MORPHEUS Urothelial Carcinoma). *Clin Cancer Res*. 2023 Nov 1;29(21):4373–84.
93. Heymach JV, Harpole D, Mitsudomi T, Taube JM, Galffy G, Hochmair M, et al. Perioperative Durvalumab for Resectable Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2023 Nov 2;389(18):1672–84.
94. Alt M, Stecca C, Lin Y, Kazeem G, Goluboff ET, Sridhar SS. Identification of characteristics predictive of long-term survival with durvalumab or durvalumab plus tremelimumab in metastatic urothelial carcinoma. *BMC Cancer*. 2023 Sept 29;23(1):919.
95. Powles T, Park SH, Caserta C, Valderrama BP, Gurney H, Ullén A, et al. Avelumab First-Line Maintenance for Advanced Urothelial Carcinoma: Results From the JAVELIN Bladder 100 Trial After  $\geq 2$  Years of Follow-Up. *J Clin Oncol*. 2023 July 1;41(19):3486–92.
96. Lohray R, Verma K, Wang L, Haynes D, Lewis D. Avelumab for Advanced Merkel Cell Carcinoma: Global Real-World Data on Patient Response and Survival. *Pragmatic Obs Res*. 2023 Nov;Volume 14:149–54.
97. Tomita Y, Motzer RJ, Choueiri TK, Rini BI, Miyake H, Oya M, et al. Efficacy of avelumab plus axitinib versus sunitinib by numbers of IMDC risk factors and target tumor sites at baseline in advanced renal cell carcinoma: long-term follow-up results from JAVELIN Renal 101. *ESMO Open*. 2023 Dec;8(6):102034.
98. Borghaei H, Ciuleanu TE, Lee JS, Pluzanski A, Caro RB, Gutierrez M, et al. Long-term survival with first-line nivolumab plus ipilimumab in patients with advanced non-small-cell lung cancer: a pooled analysis. *Ann Oncol*. 2023 Feb;34(2):173–85.

99. Han S, Shi T, Liao Y, Chen D, Yang F, Wang M, et al. Tumor immune contexture predicts recurrence after prostatectomy and efficacy of androgen deprivation and immunotherapy in prostate cancer. *J Transl Med.* 2023 Mar 14;21(1):194.
100. Zamarin D, Burger RA, Sill MW, Powell DJ, Lankes HA, Feldman MD, et al. Randomized Phase II Trial of Nivolumab Versus Nivolumab and Ipilimumab for Recurrent or Persistent Ovarian Cancer: An NRG Oncology Study. *J Clin Oncol.* 2020 June 1;38(16):1814–23.
101. Overman MJ, Lonardi S, Wong KYM, Lenz HJ, Gelsomino F, Aglietta M, et al. Durable Clinical Benefit With Nivolumab Plus Ipilimumab in DNA Mismatch Repair–Deficient/Microsatellite Instability–High Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol.* 2018 Mar 10;36(8):773–9.
102. Albiges L, Tannir NM, Burotto M, McDermott D, Plimack ER, Barthélémy P, et al. Nivolumab plus ipilimumab versus sunitinib for first-line treatment of advanced renal cell carcinoma: extended 4-year follow-up of the phase III CheckMate 214 trial. *ESMO Open.* 2020;5(6):e001079.
103. Paz-Ares L, Chen Y, Reinmuth N, Hotta K, Trukhin D, Statsenko G, et al. Durvalumab, with or without tremelimumab, plus platinum-etoposide in first-line treatment of extensive-stage small-cell lung cancer: 3-year overall survival update from CASPIAN. *ESMO Open.* 2022 Apr;7(2):100408.
104. De Castria TB, Khalil DN, Harding JJ, O'Reilly EM, Abou-Alfa GK. Tremelimumab and Durvalumab in the Treatment of Unresectable, Advanced Hepatocellular Carcinoma. *Future Oncol.* 2022 Oct;18(33):3769–82.
105. Ziogas DC, Theocharopoulos C, Koutouratsas T, Haanen J, Gogas H. Mechanisms of resistance to immune checkpoint inhibitors in melanoma: What we have to overcome? *Cancer Treat Rev.* 2023 Feb;113:102499.
106. Baghy K, KI Ladányi A, Reszegi A. Insights into the Tumor Microenvironment-Components, Functions and Therapeutics. *Int J Mol Sci.* 2023;24(24).

107. Lu M, Xing H, Shao W, Wu P, Fan Y, He H, et al. Antitumor synergism between PAK4 silencing and immunogenic phototherapy of engineered extracellular vesicles. *Acta Pharm Sin B*. 2023 Sept;13(9):3945–55.
108. Moeckel C, Bakhil K, Georgakopoulos-Soares I, Zaravinos A. The Efficacy of Tumor Mutation Burden as a Biomarker of Response to Immune Checkpoint Inhibitors. *Int J Mol Sci*. 2023 Apr 4;24(7):6710.
109. Tian T, Li Z. Targeting Tim-3 in Cancer With Resistance to PD-1/PD-L1 Blockade. *Front Oncol*. 2021 Sept 22;11:731175.
110. Chaudagar K, Hieromnimon HM, Kelley A, Labadie B, Shafran J, Rameshbabu S, et al. Suppression of Tumor Cell Lactate-generating Signaling Pathways Eradicates Murine PTEN/p53-deficient Aggressive-variant Prostate Cancer via Macrophage Phagocytosis. *Clin Cancer Res*. 2023 Dec 1;29(23):4930–40.
111. Vryza P, Fischer T, Mistakidi E, Zaravinos A. Tumor mutation burden in the prognosis and response of lung cancer patients to immune-checkpoint inhibition therapies. *Transl Oncol*. 2023 Dec;38:101788.
112. Turajlic S, Litchfield K, Xu H, Rosenthal R, McGranahan N, Reading JL, et al. Insertion-and-deletion-derived tumour-specific neoantigens and the immunogenic phenotype: a pan-cancer analysis. *Lancet Oncol*. 2017 Aug;18(8):1009–21.
113. Luo X, Qiu Y, Fitzsimonds ZR, Wang Q, Chen Q, Lei YL. Immune escape of head and neck cancer mediated by the impaired MHC-I antigen presentation pathway. *Oncogene*. 2024 Feb;43(6):388–94.
114. Looi CK MC, Foong LC, Chung FF, Khoo AS, Loo EM, Leong CO. Targeting the crosstalk of epigenetic modifications and immune evasion in nasopharyngeal cancer. *Cell Biol Toxicol*. 2023;39(6):2501–26.
115. Topper MJ, Vaz M, Marrone KA, Brahmer JR, Baylin SB. The emerging role of epigenetic therapeutics in immuno-oncology. *Nat Rev Clin Oncol*. 2020 Feb;17(2):75–90.

116. DuCote TJ, Song X, Naughton KJ, Chen F, Plaughter DR, Childress AR, et al. EZH2 Inhibition Promotes Tumor Immunogenicity in Lung Squamous Cell Carcinomas. *Cancer Res Commun.* 2024 Feb;4(2):388–403.
117. McKean WB, Moser JC, Rimm D, Hu-Lieskovan S. Biomarkers in Precision Cancer Immunotherapy: Promise and Challenges. *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* 2020 May;(40):e275–91.
118. Lebedev T, Kousar R, Patrick B, Usama M, Lee MK, Tan M, et al. Targeting ARID1A-Deficient Cancers: An Immune-Metabolic Perspective. *Cells.* 2023 Mar;12(6):952.
119. Xie L, Liu M, Cai M, Huang W, Guo Y, Liang L, et al. Regorafenib enhances anti-tumor efficacy of immune checkpoint inhibitor by regulating IFN- $\gamma$ /NSDHL/SREBP1/TGF- $\beta$ 1 axis in hepatocellular carcinoma. *Biomed Pharmacother.* 2023 Mar;159:114254.
120. Manolakos P, Ward LD. A Critical Review of the Prognostic and Predictive Implications of KRAS and STK11 Mutations and Co-Mutations in Metastatic Non-Small Lung Cancer. *J Pers Med.* 2023 June;13(6):1010.
121. Sriramadasu K, Ravichandran S, Li YH, Lai MT, Chiang AJ, Li CJ, et al. Molecular evolution of driver mutations in cancer with microsatellite instability and their impact on tumor progression: Implications for precision medicine in patients with UCEC. *Comput Biol Med.* 2025 June;192:110275.
122. Persa OD, Mauch C. Outcomes After Retreatment with MAPK Inhibitors and Immune Checkpoint Inhibitors in Melanoma Patients. *Future Oncol.* 2021 Oct;17(29):3809–17.
123. Morita M, Nishida N, Aoki T, Chishina H, Takita M, Ida H, et al. Role of  $\beta$ -Catenin Activation in the Tumor Immune Microenvironment and Immunotherapy of Hepatocellular Carcinoma. *Cancers.* 2023 Apr;15(8):2311.
124. Salewski I, Henne J, Engster L, Krone P, Schneider B, Redwanz C, et al. CDK4/6 blockade provides an alternative approach for treatment of mismatch-repair deficient tumors. *OncoImmunology.* 2022 Dec;11(1):2094583.

125. O’Leary KA, Bates AM, Jin WJ, Burkel BM, Sriramaneni RN, Emma SE, et al. Estrogen receptor blockade and radiation therapy cooperate to enhance the response of immunologically cold ER+ breast cancer to immunotherapy. *Breast Cancer Res.* 2023 June;25(1):68.
126. Galon J, Bruni D. Approaches to treat immune hot, altered and cold tumours with combination immunotherapies. *Nat Rev Drug Discov.* 2019 Mar;18(3):197–218.
127. Heller S, Glaeske S, Gluske K, Paul J, Böhme A, Janzer A, et al. Pan-PI3K inhibition with copanlisib overcomes Treg- and M2-TAM-mediated immune suppression and promotes anti-tumor immune responses. *Clin Exp Med.* 2023 Nov;23(8):5445–61.
128. Li Y, Shen Z, Chai Z, Zhan Y, Zhang Y, Liu Z, et al. Targeting MS4A4A on tumour-associated macrophages restores CD8+ T-cell-mediated antitumour immunity. *Gut.* 2023 Dec;72(12):2307–20.
129. Fischer A, Alsina-Sanchis E. Disturbed endothelial cell signaling in tumor progression and therapy resistance. *Curr Opin Cell Biol.* 2024 Feb;86:102287.
130. Salehi-Rad R, Lim RJ, Du Y, Tran LM, Li R, Ong SL, et al. CCL21-DC in situ vaccination in murine NSCLC overcomes resistance to immunotherapy and generates systemic tumor-specific immunity. *J Immunother Cancer.* 2023 Sept;11(9):e006896.
131. Chhabra Y, Weeraratna AT. Fibroblasts in cancer: Unity in heterogeneity. *Cell.* 2023 Apr;186(8):1580–609.
132. Krieger T, RP Pearson I, Bell J, Doherty J. Targeted literature review on use of tumor mutational burden status and programmed cell death ligand 1 expression to predict outcomes of checkpoint inhibitor treatment. *Diagn Pathol.* 2020;15(1):020–0927.
133. Zhang C, Zhang G, Xue L, Zhang Z, Zeng Q, Wu P, et al. Patterns and prognostic values of programmed cell death-ligand 1 expression and CD8+ T-cell infiltration in small cell carcinoma of the esophagus: a retrospective analysis of 34 years of National Cancer Center data in China. *Int J Surg.* 2024 July;110(7):4297–309.

134. Vigano S, Alatzoglou D, Irving M, Ménétrier-Caux C, Caux C, Romero P, et al. Targeting Adenosine in Cancer Immunotherapy to Enhance T-Cell Function. *Front Immunol*. 2019;10:925.

135. Yang L, Chu Z, Liu M, Zou Q, Li J, Liu Q, et al. Amino acid metabolism in immune cells: essential regulators of the effector functions, and promising opportunities to enhance cancer immunotherapy. *J Hematol Oncol* *J Hematol Oncol*. 2023 June;16(1):59.

136. Chen Z, Han F, Du Y, Shi H, Zhou W. Hypoxic microenvironment in cancer: molecular mechanisms and therapeutic interventions. *Signal Transduct Target Ther*. 2023 Feb;8(1):70.

137. Kiousi DE, Kouroutzidou AZ, Neanidis K, Karavanis E, Matthaios D, Pappa A, et al. The Role of the Gut Microbiome in Cancer Immunotherapy: Current Knowledge and Future Directions. *Cancers*. 2023 Mar;15(7):2101.

138. Wu Y JM Ju Q, Jia K, Yu J, Shi H, Wu H. Correlation between sex and efficacy of immune checkpoint inhibitors (PD-1 and CTLA-4 inhibitors). *Int J Cancer*. 2018;143(1):45–51.

139. Rodriguez-Lara V, Soca-Chafre G, Avila-Costa MR, Whaley JJV, Rodriguez-Cid JR, Ordoñez-Librado JL, et al. Role of sex and sex hormones in PD-L1 expression in NSCLC: clinical and therapeutic implications. *Front Oncol*. 2023 Oct;13:1210297.

140. Cuppens K, Baas P, Geerdens E, Cruys B, Froyen G, Decoster L, et al. HLA-I diversity and tumor mutational burden by comprehensive next-generation sequencing as predictive biomarkers for the treatment of non-small cell lung cancer with PD-(L)1 inhibitors. *Lung Cancer*. 2022 Aug;170:1–10.

141. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob JJ, Rutkowski P, Lao CD, et al. Five-Year Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med*. 2019 Oct;381(16):1535–46.

142. O'Rourke K. CheckMate-214 trial results show longer treatment-free survival with immunotherapy. *Cancer*. 2022 Mar 15;128(6):1156–1156.

143. Borghaei H, O'Byrne KJ, Paz-Ares L, Ciuleanu TE, Yu X, Pluzanski A, et al. Nivolumab plus chemotherapy in first-line metastatic non-small-cell lung cancer: results of the phase III CheckMate 227 Part 2 trial. *ESMO Open*. 2023 Dec;8(6):102065.
144. Kato K, Doki Y, Ogata T, Motoyama S, Kawakami H, Ueno M, et al. First-line nivolumab plus ipilimumab or chemotherapy versus chemotherapy alone in advanced esophageal squamous cell carcinoma: a Japanese subgroup analysis of open-label, phase 3 trial (CheckMate 648/ONO-4538-50). *Esophagus*. 2023 Apr;20(2):291–301.
145. Alden SL, Lim M, Kao C, Shu D, Singal AG, Noonan A, et al. Salvage Ipilimumab plus Nivolumab after Anti-PD-1/PD-L1 Therapy in Advanced Hepatocellular Carcinoma. *Cancer Res Commun*. 2023 July;3(7):1312–7.
146. Touati R, Cohen R. Nouvelles AMMs : nivolumab plus ipilimumab dans le cancer colorectal métastatique MSI ou dMMR après échec d'une chimiothérapie. *Bull Cancer (Paris)*. 2022 Jan;109(1):3–4.
147. Gonzalez Z, Carlsen L, El-Deiry WS. Temozolomide combined with ipilimumab plus nivolumab enhances T cell killing of MGMT-expressing, MSS colorectal cancer cells. *Am J Cancer Res*. 2023;13(1):216–26.
148. Peters S, Scherpereel A, Cornelissen R, Oulkhair Y, Greillier L, Kaplan MA, et al. First-line nivolumab plus ipilimumab versus chemotherapy in patients with unresectable malignant pleural mesothelioma: 3-year outcomes from CheckMate 743. *Ann Oncol*. 2022 May;33(5):488–99.
149. Shoda K, Kawaguchi Y, Maruyama S, Ichikawa D. Essential Updates 2023/2024: Recent Advances of Multimodal Approach in Patients for Gastric Cancer. *Ann Gastroenterol Surg*. 2025 Nov;9(6):1119–27.
150. Garon EB, Cho BC, Luft A, Alatorre-Alexander J, Geater SL, Kim SW, et al. Patient-reported outcomes with durvalumab, with or without tremelimumab, plus chemotherapy as first-line treatment for metastatic non-small-cell lung cancer (POSEIDON). *Lung Cancer*. 2023 Dec;186:107422.

151. Cortiula F, Reymen B, Peters S, Van Mol P, Wauters E, Vansteenkiste J, et al. Immunotherapy in unresectable stage III non-small-cell lung cancer: state of the art and novel therapeutic approaches. *Ann Oncol*. 2022 Sept;33(9):893–908.
152. Abou-Alfa GK, Lau G, Kudo M, Chan SL, Kelley RK, Furuse J, et al. Plain language summary of the HIMALAYA study: tremelimumab and durvalumab for unresectable hepatocellular carcinoma (liver cancer). *Future Oncol*. 2023 Dec;19(38):2505–16.
153. Chen EX, Loree JM, Titmuss E, Jonker DJ, Kennecke HF, Berry S, et al. Liver Metastases and Immune Checkpoint Inhibitor Efficacy in Patients With Refractory Metastatic Colorectal Cancer: A Secondary Analysis of a Randomized Clinical Trial. *JAMA Netw Open*. 2023 Dec;6(12):e2346094.
154. Ahluwalia M, Parmar A, Loree JM, O’Callaghan CJ, Tu D, Chan KKW, et al. Cost-Utility Analysis of Durvalumab and Tremelimumab Versus Best Supportive Care in Refractory Metastatic Colorectal Cancer. *Value Health*. 2025 July;28(7):1001–8.
155. Zhang H CQ Dai Z, Wu W, Wang Z, Zhang N, Zhang L, Zeng WJ, Liu Z. Regulatory mechanisms of immune checkpoints PD-L1 and CTLA-4 in cancer. *J Exp Clin Cancer Res*. 2021;40(1).
156. Ziogas DC, Theocharopoulos C, Lialios PP, Foteinou D, Koumprentziotis IA, Xynos G, et al. Beyond CTLA-4 and PD-1 Inhibition: Novel Immune Checkpoint Molecules for Melanoma Treatment. *Cancers*. 2023 May;15(10):2718.
157. Cillo AR, Cardello C, Shan F, Karapetyan L, Kunning S, Sander C, et al. Blockade of LAG-3 and PD-1 leads to co-expression of cytotoxic and exhaustion gene modules in CD8<sup>+</sup> T cells to promote antitumor immunity. *Cell*. 2024 Aug;187(16):4373-4388.e15.
158. Chu X, Tian W, Wang Z, Zhang J, Zhou R. Co-inhibition of TIGIT and PD-1/PD-L1 in Cancer Immunotherapy: Mechanisms and Clinical Trials. *Mol Cancer*. 2023 June;22(1):93.
159. Zhang XS, Zhou HC, Wei P, Chen L, Ma WH, Ding L, et al. Combined TIM-3 and PD-1 blockade restrains hepatocellular carcinoma development by

facilitating CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cell-mediated antitumor immune responses. *World J Gastrointest Oncol.* 2023 Dec;15(12):2138–49.

160. Iadonato S, Ovechkina Y, Lustig K, Cross J, Eyde N, Frazier E, et al. A highly potent anti-VISTA antibody KVA12123 - a new immune checkpoint inhibitor and a promising therapy against poorly immunogenic tumors. *Front Immunol.* 2023 Dec;14:1311658.

161. Zhao Y, Chen G, Chen J, Zhuang L, Du Y, Yu Q, et al. AK112, a novel PD-1/VEGF bispecific antibody, in combination with chemotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): an open-label, multicenter, phase II trial. *eClinicalMedicine.* 2023 Aug;62:102106.

162. Tomita Y, Motzer RJ, Choueiri TK, Rini BI, Miyake H, Uemura H, et al. Efficacy and safety of avelumab plus axitinib in elderly patients with advanced renal cell carcinoma: extended follow-up results from JAVELIN Renal 101. *ESMO Open.* 2022 Apr;7(2):100450.

163. Dizman N, Austin M, Considine B, Jessel S, Schoenfeld D, Merl MY, et al. Outcomes With Combination Pembrolizumab and Axitinib in Second and Further Line Treatment of Metastatic Renal Cell Carcinoma. *Clin Genitourin Cancer.* 2023 Apr;21(2):221–9.

164. Liu J, Yang L, Wei S, Li J, Yi P. Efficacy and safety of atezolizumab plus bevacizumab versus lenvatinib for unresectable hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2023 Nov;149(17):16191–201.

165. Shalata W, Maimon Rabinovich N, Agbarya A, Yakobson A, Dudnik Y, Abu Jama A, et al. Efficacy of Pembrolizumab vs. Nivolumab Plus Ipilimumab in Metastatic NSCLC in Relation to PD-L1 and TMB Status. *Cancers.* 2024 May 10;16(10):1825.

166. Liu Q, Li R, Li L, Wang G, Ji S, Zheng X, et al. Efficacy and safety of anti-PD-1 monotherapy *versus* anti-PD-1 antibodies plus lenvatinib in patients with advanced hepatocellular carcinoma: a real-world experience. *Ther Adv Med Oncol.* 2023 Jan;15:17588359231206274.

167. Novello S PAL Kowalski DM, Luft A, Gümüş M, Vicente D, Mazières J, Rodríguez Cid J, Tafreshi A, Cheng Y, Lee KH, Golf A, Sugawara S, Robinson AG, Halmos B, Jensen E, Schwarzenberger P, Pietanza MC. Pembrolizumab Plus Chemotherapy in Squamous Non-Small-Cell Lung Cancer: 5-Year Update of the Phase III KEYNOTE-407 Study. *J Clin Oncol*. 2023;41(11):1999–2006.

168. Rha SY, Oh DY, Yañez P, Bai Y, Ryu MH, Lee J, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy versus placebo plus chemotherapy for HER2-negative advanced gastric cancer (KEYNOTE-859): a multicentre, randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2023 Nov;24(11):1181–95.

169. Kim YM, Nishio S, Kim SI, Hasegawa K, Dubot C, Cáceres MV, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy with or without bevacizumab in East Asian participants with persistent, recurrent, or metastatic cervical cancer: results from KEYNOTE-826 final analysis. *J Gynecol Oncol*. 2025;36(4):e110.

170. Chu Q, Perrone F, Greillier L, Tu W, Piccirillo MC, Grosso F, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy versus chemotherapy in untreated advanced pleural mesothelioma in Canada, Italy, and France: a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *The Lancet*. 2023 Dec;402(10419):2295–306.

171. Morizane C, Ueno M, Ikeda M, Okusaka T, Ishii H, Furuse J. Update for: New developments in systemic therapy for advanced biliary tract cancer. *Jpn J Clin Oncol*. 2025 Mar 5;55(3):210–8.

172. Cortes J, Rugo HS, Cescon DW, Im SA, Yusof MM, Gallardo C, et al. Pembrolizumab plus Chemotherapy in Advanced Triple-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2022 July 21;387(3):217–26.

173. Marshall HT, Djamgoz MBA. Immuno-Oncology: Emerging Targets and Combination Therapies. *Front Oncol*. 2018 Aug;8:315.

174. Kononenko M, Duzhiy I, Moskalenko Y. Targeted therapy of anaplastic thyroid cancer. *East Ukr Med J*. 2023;11(2):113–20.

175. Hamidi S, Iyer PC, Dadu R, Gule-Monroe MK, Maniakas A, Zafereo ME, et al. Checkpoint Inhibition in Addition to Dabrafenib/Trametinib for

BRAF<sup>V600E</sup>-Mutated Anaplastic Thyroid Carcinoma. *Thyroid*. 2024 Mar;34(3):336–46.

176. Wang H, Cheng L, Zhao C, Zhou F, Jiang T, Guo H, et al. Efficacy of immune checkpoint inhibitors in advanced non-small cell lung cancer harboring BRAF mutations. *Transl Lung Cancer Res*. 2023 Feb;12(2):219–29.

177. Ascierto PA, Stroyakovskiy D, Gogas H, Robert C, Lewis K, Protsenko S, et al. Overall survival with first-line atezolizumab in combination with vemurafenib and cobimetinib in BRAFV600 mutation-positive advanced melanoma (IMspire150): second interim analysis of a multicentre, randomised, phase 3 study. *Lancet Oncol*. 2023 Jan;24(1):33–44.

178. Ragusa F, Ferrari SM, Elia G, Paparo SR, Balestri E, Botrini C, et al. Combination Strategies Involving Immune Checkpoint Inhibitors and Tyrosine Kinase or BRAF Inhibitors in Aggressive Thyroid Cancer. *Int J Mol Sci*. 2022 May;23(10):5731.

179. Yan C RA Yang J, Saleh N, Chen SC, Ayers GD, Abramson VG, Mayer IA. Inhibition of the PI3K/mTOR Pathway in Breast Cancer to Enhance Response to Immune Checkpoint Inhibitors in Breast Cancer. *Int J Mol Sci*. 2021;22(10).

180. Lin A, Gu T, Hu X, Zhang J, Luo P. Comprehensive Analysis Identifies PI3K/Akt Pathway Alternations as an Immune-Related Prognostic Biomarker in Colon Adenocarcinoma Patients Receiving Immune Checkpoint Inhibitor Treatment. Tang B, editor. *J Immunol Res*. 2022 June;2022:1–14.

181. Egelston C, Guo W, Yost S, Lee JS, Rose D, Avalos C, et al. Pre-existing effector T-cell levels and augmented myeloid cell composition denote response to CDK4/6 inhibitor palbociclib and pembrolizumab in hormone receptor-positive metastatic breast cancer. *J Immunother Cancer*. 2021 Mar;9(3):e002084.

182. Jagirdar K, Portuallo ME, Wei M, Wilhide M, Bravo Narula JA, Robertson BM, et al. ERK hyperactivation serves as a unified mechanism of escape in intrinsic and acquired CDK4/6 inhibitor resistance in acral lentiginous melanoma. *Oncogene*. 2024 Feb;43(6):395–405.

183. Zhang Z, Richmond A, Yan C. Immunomodulatory Properties of PI3K/AKT/mTOR and MAPK/MEK/ERK Inhibition Augment Response to Immune Checkpoint Blockade in Melanoma and Triple-Negative Breast Cancer. *Int J Mol Sci.* 2022 July;23(13):7353.
184. Jang HJ, Truong CY, Lo EM, Holmes HM, Ramos D, Ramineni M, et al. Inhibition of Cyclin Dependent Kinase 4/6 Overcomes Primary Resistance to Programmed Cell Death 1 Blockade in Malignant Mesothelioma. *Ann Thorac Surg.* 2022 Nov;114(5):1842–52.
185. Baretta M, Murphy AG, Zahurak M, Gianino N, Parkinson R, Walker R, et al. A study of using epigenetic modulators to enhance response to pembrolizumab (MK-3475) in microsatellite stable advanced colorectal cancer. *Clin Epigenetics.* 2023 Apr;15(1):74.
186. Penter L, Liu Y, Wolff JO, Yang L, Taing L, Jhaveri A, et al. Mechanisms of response and resistance to combined decitabine and ipilimumab for advanced myeloid disease. *Blood.* 2023 Apr;141(15):1817–30.
187. Noviello TMR, Di Giacomo AM, Caruso FP, Covre A, Mortarini R, Scala G, et al. Guadecitabine plus ipilimumab in unresectable melanoma: five-year follow-up and integrated multi-omic analysis in the phase 1b NIBIT-M4 trial. *Nat Commun.* 2023 Sept;14(1):5914.
188. Mei M, Chen L, Godfrey J, Song J, Egelston C, Puvrel S, et al. Pembrolizumab plus vorinostat induces responses in patients with Hodgkin lymphoma refractory to prior PD-1 blockade. *Blood.* 2023 Oct;142(16):1359–70.
189. Ny L, Jespersen H, Karlsson J, Alsén S, Filges S, All-Eriksson C, et al. The PEMDAC phase 2 study of pembrolizumab and entinostat in patients with metastatic uveal melanoma. *Nat Commun.* 2021 Aug;12(1):5155.
190. Jo DH, Kaczmarek S, Khan AUH, Pervin J, Clark DM, Gadde S, et al. Entinostat, a histone deacetylase inhibitor, enhances CAR-NK cell anti-tumor activity by sustaining CAR expression. *Front Immunol.* 2025 Mar 7;16:1533044.
191. Bewersdorf JP, Shallis RM, Sharon E, Park S, Ramaswamy R, Roe CE, et al. A multicenter phase Ib trial of the histone deacetylase inhibitor entinostat in

combination with pembrolizumab in patients with myelodysplastic syndromes/neoplasms or acute myeloid leukemia refractory to hypomethylating agents. *Ann Hematol.* 2024 Jan;103(1):105–16.

192. Moutafi M, Koliou GA, Papaxoinis G, Economopoulou P, Kotsantis I, Gkatzamanidou M, et al. Phase II Window Study of Olaparib Alone or with Cisplatin or Durvalumab in Operable Head and Neck Cancer. *Cancer Res Commun.* 2023 Aug;3(8):1514–23.

193. Maiorano BA, Lorusso D, Maiorano MFP, Ciardiello D, Parrella P, Petracca A, et al. The Interplay between PARP Inhibitors and Immunotherapy in Ovarian Cancer: The Rationale behind a New Combination Therapy. *Int J Mol Sci.* 2022 Mar;23(7):3871.

194. Grdović N, Tolić A, Jovanović M, Rajić J, Đorđević M, Stojanović M, et al. PARP inhibition increases sensitivity to cisplatin in non-small-cell lung carcinoma via the induction of TET-dependent hydroxymethylation. *Front Cell Dev Biol.* 2025 Oct 24;13:1677261.

195. Vinayak S, Tolaney SM, Schwartzberg L, Mita M, McCann G, Tan AR, et al. Open-label Clinical Trial of Niraparib Combined With Pembrolizumab for Treatment of Advanced or Metastatic Triple-Negative Breast Cancer. *JAMA Oncol.* 2019 Aug;5(8):1132.

196. Fernandes MP, Oliveira C, Sousa H, Oliveira J. New Approaches in Early-Stage NSCL Management: Potential Use of PARP Inhibitors and Immunotherapy Combination. *Int J Mol Sci.* 2023 Feb;24(4):4044.

197. Matsuda S, Revandkar A, Dubash TD, Ravi A, Wittner BS, Lin M, et al. TGF- $\beta$  in the microenvironment induces a physiologically occurring immune-suppressive senescent state. *Cell Rep.* 2023 Mar;42(3):112129.

198. Melisi D, Oh DY, Hollebecque A, Calvo E, Varghese A, Borazanci E, et al. Safety and activity of the TGF $\beta$  receptor I kinase inhibitor galunisertib plus the anti-PD-L1 antibody durvalumab in metastatic pancreatic cancer. *J Immunother Cancer.* 2021 Mar;9(3):e002068.

199. Freites-Martinez A, Santana N, Arias-Santiago S, Viera A. CTCAE versión 5.0. Evaluación de la gravedad de los eventos adversos dermatológicos de las terapias antineoplásicas. *Actas Dermo-Sifiliográficas*. 2021 Jan;112(1):90–2.
200. Johnson DB, Nebhan CA, Moslehi JJ, Balko JM. Immune-checkpoint inhibitors: long-term implications of toxicity. *Nat Rev Clin Oncol*. 2022 Apr;19(4):254–67.
201. Blum SM, Rouhani SJ, Sullivan RJ. Effects of immune-related adverse events ( IRAES ) and their treatment on antitumor immune responses. *Immunol Rev*. 2023 Sept;318(1):167–78.
202. Simand PF, Baudoux N, Kössler T. Immunotherapy and Gastrointestinal Toxicities. *Praxis*. 2023 Mar;112(3):172–7.
203. Berner F, Flatz L. Autoimmunity in immune checkpoint inhibitor-induced immune-related adverse events: A focus on autoimmune skin toxicity and pneumonitis. *Immunol Rev*. 2023 Sept;318(1):37–50.
204. Hu Q, Wang S, Ma L, Sun Z, Liu Z, Deng S, et al. Radiological assessment of immunotherapy effects and immune checkpoint-related pneumonitis for lung cancer. *J Cell Mol Med*. 2024 Mar;28(5):e17895.
205. Miah A, Tinoco G, Zhao S, Wei L, Johns A, Patel S, et al. Immune checkpoint inhibitor-induced hepatitis injury: risk factors, outcomes, and impact on survival. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2023 May;149(5):2235–42.
206. Rossi S, Gelsomino F, Rinaldi R, Muccioli L, Comito F, Di Federico A, et al. Peripheral nervous system adverse events associated with immune checkpoint inhibitors. *J Neurol*. 2023 June;270(6):2975–86.
207. Alonso F, Martín De Francisco ÁLM, Auñón P, García-Carro C, García P, Gutiérrez E, et al. Adverse renal effects of check-point inhibitors (ICI) in cancer patients: Recommendations of the Onco-nephrology Working Group of the Spanish Society of Nephrology. *Nefrol Engl Ed*. 2023 Sept;43(5):622–35.
208. Trevisani V, Iughetti L, Lucaccioni L, Predieri B. Endocrine immune-related adverse effects of immune-checkpoint inhibitors. *Expert Rev Endocrinol Metab*. 2023 Sept 3;18(5):441–51.

209. Giannakis P, Malik M, Rashid S, Vrizedou E. Unilateral Posterior Uveitis in a Patient Receiving Nivolumab for Malignant Melanoma. *Cureus*. 2023 Aug 10;10(15):e43311.
210. Gergely TG, Kucsera D, Tóth VE, Kovács T, Sayour NV, Drobni ZD, et al. Characterization of immune checkpoint inhibitor-induced cardiotoxicity reveals interleukin-17A as a driver of cardiac dysfunction after anti-PD-1 treatment. *Br J Pharmacol*. 2023 Mar;180(6):740–61.
211. Waqas A, Zaffar J, Jalil A, Butt S. Nivolumab-Induced Isolated Neutropenia. *Cureus*. 2023 Sept 21;21(15):e45675.
212. Ghosh N, Couette N, Van Binsbergen WH, Weinmann SC, Jivanelli B, Shea B, et al. Identification of outcome domains in immune checkpoint inhibitor-induced inflammatory arthritis and polymyalgia rheumatica: A scoping review by the OMERACT irAE working group. *Semin Arthritis Rheum*. 2023 Feb;58:152110.
213. Wang PF, Chen Y, Song SY, Wang TJ, Ji WJ, Li SW, et al. Immune-Related Adverse Events Associated with Anti-PD-1/PD-L1 Treatment for Malignancies: A Meta-Analysis. *Front Pharmacol*. 2017 Oct 18;8:730.
214. Gupta A, De Felice KM, Loftus EV, Khanna S. Systematic review: colitis associated with anti-CTLA-4 therapy. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015 Aug;42(4):406–17.
215. Cappello G, Molea F, Campanella D, Galioto F, Russo F, Regge D. Gastrointestinal adverse events of immunotherapy. *BJR|Open*. 2021 Jan;3(1):20210027.
216. Berz AM, Boughdad S, Vietti-Violi N, Digkila A, Dromain C, Dunet V, et al. Imaging assessment of toxicity related to immune checkpoint inhibitors. *Front Immunol*. 2023 Feb 23;14:1133207.
217. Terrin M, Migliorisi G, Dal Buono A, Gabbiadini R, Mastrococco E, Quadarella A, et al. Checkpoint Inhibitor-Induced Colitis: From Pathogenesis to Management. *Int J Mol Sci*. 2023 July 15;24(14):11504.

218. Radulescu L, Crisan D, Grapa C, Radulescu D. Digestive Toxicities Secondary to Immune Checkpoint Inhibition Therapy – Reports of Rare Events. A Systematic Review. *J Gastrointest Liver Dis.* 2021 Dec 21;30(4):506–16.
219. Kalisz KR, Ramaiya NH, Laukamp KR, Gupta A. Immune Checkpoint Inhibitor Therapy–related Pneumonitis: Patterns and Management. *RadioGraphics.* 2019 Nov;39(7):1923–37.
220. Li C, Faiz SA, Boysen-Osborn M, Sheshadri A, Wattana MK. Immune Checkpoint Inhibitor-associated Pneumonitis: A Narrative Review. *West J Emerg Med.* 2025 Feb 7;26(2):210–8.
221. Guo X, Chen S, Wang X, Liu X. Immune-related pulmonary toxicities of checkpoint inhibitors in non-small cell lung cancer: Diagnosis, mechanism, and treatment strategies. *Front Immunol.* 2023 Apr 4;14:1138483.
222. Thompson JA, Schneider BJ, Brahmer J, Andrews S, Armand P, Bhatia S, et al. NCCN Guidelines Insights: Management of Immunotherapy-Related Toxicities, Version 1.2020. *J Natl Compr Canc Netw.* 2020 Mar;18(3):230–41.
223. Chitnis SD, Mortazavi A. Clinical guideline highlights for the hospitalist: Management of immune-related adverse events in patients treated with immune checkpoint inhibitor therapy. *J Hosp Med.* 2023 Nov;18(11):1013–6.
224. Peeraphatdit T (Bee), Wang J, Odenwald MA, Hu S, Hart J, Charlton MR. Hepatotoxicity From Immune Checkpoint Inhibitors: A Systematic Review and Management Recommendation. *Hepatology.* 2020 July;72(1):315–29.
225. Porcu M, Solinas C, Migali C, Battaglia A, Schena M, Mannelli L, et al. Immune Checkpoint Inhibitor-Induced Pancreatic Injury: Imaging Findings and Literature Review. *Target Oncol.* 2020 Feb;15(1):25–35.
226. Townsend MJ, Liu M, Giobbie-Hurder A, Sack JS, LeBoeuf NR, Hodi FS, et al. Pancreatitis and Hyperlipasemia in the Setting of Immune Checkpoint Inhibitor Therapy. *J Natl Compr Canc Netw.* 2023 Aug;21(8):831-840.e3.
227. Das JP, Postow MA, Friedman CF, Do RK, Halpenny DF. Imaging findings of immune checkpoint inhibitor associated pancreatitis. *Eur J Radiol.* 2020 Oct;131:109250.

228. Liu F, Wang Z, Li X, Zhang Z, Yang Y, Chen J, et al. Comparative risk of acute kidney injury among cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors. *Cancer Commun.* 2023 Feb;43(2):214–24.
229. Mikami T, Liaw B, Asada M, Niimura T, Zamami Y, Green-LaRoche D, et al. Neuroimmunological adverse events associated with immune checkpoint inhibitor: a retrospective, pharmacovigilance study using FAERS database. *J Neurooncol.* 2021 Mar;152(1):135–44.
230. Hundsberger T, Schreiner B, Roth P. Immune checkpoint inhibitors induced side effects of the peripheral nervous system. *Curr Opin Neurol.* 2023 Oct;36(5):427–31.
231. Wright JJ, Powers AC, Johnson DB. Endocrine toxicities of immune checkpoint inhibitors. *Nat Rev Endocrinol.* 2021 July;17(7):389–99.
232. Abdel-Rahman O, ElHalawani H, Fouad M. Risk of Endocrine Complications in Cancer Patients Treated with Immune Check Point Inhibitors: A Meta-Analysis. *Future Oncol.* 2016 Feb 28;12(3):413–25.
233. Iwamoto Y, Kimura T, Iwamoto H, Sanada J, Fushimi Y, Katakura Y, et al. Incidence of endocrine-related immune-related adverse events in Japanese subjects with various types of cancer. *Front Endocrinol.* 2023 Jan 23;14:1079074.
234. Sakakida T, Ishikawa T, Uchino J, Chihara Y, Komori S, Asai J, et al. Clinical features of immune-related thyroid dysfunction and its association with outcomes in patients with advanced malignancies treated by PD-1 blockade. *Oncol Lett.* 2019 June 12;18(2):2140–7.
235. Muir CA, Clifton-Bligh RJ, Long GV, Scolyer RA, Lo SN, Carlino MS, et al. Thyroid Immune-related Adverse Events Following Immune Checkpoint Inhibitor Treatment. *J Clin Endocrinol Metab.* 2021 Aug 18;106(9):e3704–13.
236. Bai X, Chen X, Wu X, Huang Y, Zhuang Y, Chen Y, et al. Immune checkpoint inhibitor-associated pituitary adverse events: an observational, retrospective, disproportionality study. *J Endocrinol Invest.* 2020 Oct;43(10):1473–83.
237. Jacques JP, Valadares LP, Moura AC, Oliveira MRF, Naves LA. Frequency and clinical characteristics of hypophysitis and hypopituitarism in patients

undergoing immunotherapy – A systematic review. *Front Endocrinol.* 2023 Feb 15;14:1091185.

238. Tsoli M, Kaltsas G, Angelousi A, Alexandraki K, Randeve H, Kassi E. Managing Ipilimumab-Induced Hypophysitis: Challenges and Current Therapeutic Strategies. *Cancer Manag Res.* 2020 Oct;Volume 12:9551–61.

239. Grouthier V, Lebrun-Vignes B, Moey M, Johnson DB, Moslehi JJ, Salem JE, et al. Immune Checkpoint Inhibitor-Associated Primary Adrenal Insufficiency: WHO VigiBase Report Analysis. *The Oncologist.* 2020 Aug 1;25(8):696–701.

240. Vemulapalli V, Natha C, Shirwaikar Thomas A. Autoimmune Pancreatitis: A Review. *J Clin Med.* 2025 Apr 29;14(9):3076.

241. Liu J, Shi Y, Liu X, Zhang D, Zhang H, Chen M, et al. Clinical characteristics and outcomes of immune checkpoint inhibitor-induced diabetes mellitus. *Transl Oncol.* 2022 Oct;24:101473.

242. Moslehi J, Lichtman AH, Sharpe AH, Galluzzi L, Kitsis RN. Immune checkpoint inhibitor-associated myocarditis: manifestations and mechanisms. *J Clin Invest.* 2021 Mar 1;131(5):e145186.

243. Cozma A, Sporis ND, Lazar AL, Buruiana A, Ganea AM, Malinescu TV, et al. Cardiac Toxicity Associated with Immune Checkpoint Inhibitors: A Systematic Review. *Int J Mol Sci.* 2022 Sept 19;23(18):10948.

244. Power JR, Dolladille C, Ozbay B, Procureur A, Ederhy S, Palaskas NL, et al. Immune checkpoint inhibitor-associated myocarditis: a novel risk score. *Eur Heart J.* 2025 June 18;ehaf315.

245. Patel RP, Parikh R, Gunturu KS, Tariq RZ, Dani SS, Ganatra S, et al. Cardiotoxicity of Immune Checkpoint Inhibitors. *Curr Oncol Rep.* 2021 July;23(7):79.

246. Quach HT, Johnson DB, LeBoeuf NR, Zwerner JP, Dewan AK. Cutaneous adverse events caused by immune checkpoint inhibitors. *J Am Acad Dermatol.* 2021 Oct;85(4):956–66.

247. Watanabe T, Yamaguchi Y. Cutaneous manifestations associated with immune checkpoint inhibitors. *Front Immunol.* 2023 Feb 20;14:1071983.

248. Eshaq AM, Flanagan TW, Ba Abbad AA, Makarem ZAA, Bokir MS, Alasheq AK, et al. Immune Checkpoint Inhibitor-Associated Cutaneous Adverse Events: Mechanisms of Occurrence. *Int J Mol Sci.* 2024 Dec 26;26(1):88.
249. Bhardwaj M, Chiu MN, Pilkhwal Sah S. Adverse cutaneous toxicities by PD-1/PD-L1 immune checkpoint inhibitors: pathogenesis, treatment, and surveillance. *Cutan Ocul Toxicol.* 2022 Jan 2;41(1):73–90.
250. Smolarz B, Łukasiewicz H, Samulak D, Piekarska E, Kołaciński R, Romanowicz H. Lung Cancer—Epidemiology, Pathogenesis, Treatment and Molecular Aspect (Review of Literature). *Int J Mol Sci.* 2025 Feb 26;26(5):2049.
251. Zhou J, Xu Y, Liu J, Feng L, Yu J, Chen D. Global burden of lung cancer in 2022 and projections to 2050: Incidence and mortality estimates from GLOBOCAN. *Cancer Epidemiol.* 2024 Dec;93:102693.
252. Sun D, Liu J, Zhou H, Shi M, Sun J, Zhao S, et al. Classification of Tumor Immune Microenvironment According to Programmed Death-Ligand 1 Expression and Immune Infiltration Predicts Response to Immunotherapy Plus Chemotherapy in Advanced Patients With NSCLC. *J Thorac Oncol.* 2023 July;18(7):869–81.
253. Desai A, Peters S. Immunotherapy-based combinations in metastatic NSCLC. *Cancer Treat Rev.* 2023 May;116:102545.
254. Lazzari C, Spagnolo CC, Ciappina G, Di Pietro M, Squeri A, Passalacqua MI, et al. Immunotherapy in Early-Stage Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC): Current Evidence and Perspectives. *Curr Oncol.* 2023 Mar 27;30(4):3684–96.
255. Cascone T, Fradette J, Pradhan M, Gibbons DL. Tumor Immunology and Immunotherapy of Non-Small-Cell Lung Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2022 May;12(5):a037895.
256. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csőszi T, Fülöp A, et al. Five-Year Outcomes With Pembrolizumab Versus Chemotherapy for Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer With PD-L1 Tumor Proportion Score  $\geq$  50%. *J Clin Oncol.* 2021 July 20;39(21):2339–49.

257. Zhou C, Dong X, Chen G, Wang Z, Wu X, Yao Y, et al. Atezolizumab plus bevacizumab and chemotherapy in metastatic nonsquamous NSCLC: the randomized double-blind phase 3 IMpower151 trial. *Nat Med*. 2025 July;31(7):2375–84.
258. Moradi S, Sarikhani P, Albadr RJ, Taher WM, Alwan M, Jawad MJ, et al. PD-1/PD-L1 blockade therapy with atezolizumab: a new paradigm in the treatment of non-small cell lung cancer (NSCLC). *Discov Oncol*. 2025 Mar 26;16(1):407.
259. Saxena P, Singh PK, Malik PS, Singh N. Correction to: Immunotherapy Alone or in Combination with Chemotherapy as First-Line Treatment of Non-Small Cell Lung Cancer. *Curr Treat Options Oncol*. 2020 Nov;21(11):91.
260. Peters S, Regan MM, Paz-Ares LG, Reck M, Borghaei H, O’Byrne KJ, et al. Treatment-Free Survival Over 6 Years of Follow-up in Patients With Metastatic NSCLC Treated With First-Line Nivolumab Plus Ipilimumab Versus Chemotherapy in CheckMate 227 Part 1. *J Thorac Oncol*. 2025 Oct;20(10):1505–16.
261. Lieber A, Makai A, Orosz Z, Kardos T, Isaac SJ, Tornyi I, et al. The role of immunotherapy in early-stage and metastatic NSCLC. *Pathol Oncol Res*. 2024 July 4;30:1611713.
262. Cook S, Samuel V, Meyers DE, Stukalin I, Litt I, Sangha R, et al. Immune-Related Adverse Events and Survival Among Patients With Metastatic NSCLC Treated With Immune Checkpoint Inhibitors. *JAMA Netw Open*. 2024 Jan 18;7(1):e2352302.
263. Huang W, Zhu X, Weng JH, Xu K, Wang YF, Chen ZJ, et al. Financial Toxicity for Pembrolizumab and Atezolizumab for Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer: A Pooled Analysis of Cost-Effectiveness Analyses. *Risk Manag Healthc Policy*. 2025 Mar;18:987–98.
264. Rahal Z, El Darzi R, Moghaddam SJ, Cascone T, Kadara H. Tumour and microenvironment crosstalk in NSCLC progression and response to therapy. *Nat Rev Clin Oncol*. 2025 July;22(7):463–82.
265. Mamdani H, Matosevic S, Khalid AB, Durm G, Jalal SI. Immunotherapy in Lung Cancer: Current Landscape and Future Directions. *Front Immunol*. 2022 Feb 9;13:823618.

266. Peters S, Dziadziuszko R, Morabito A, Felip E, Gadgeel SM, Cheema P, et al. Atezolizumab versus chemotherapy in advanced or metastatic NSCLC with high blood-based tumor mutational burden: primary analysis of BFAST cohort C randomized phase 3 trial. *Nat Med*. 2022 Sept;28(9):1831–9.

267. Zhou S, Yang H. Immunotherapy resistance in non-small-cell lung cancer: From mechanism to clinical strategies. *Front Immunol*. 2023 Apr 6;14:1129465.

268. Chaunzwa TL, Qian JM, Li Q, Ricciuti B, Nuernberg L, Johnson JW, et al. Body Composition in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Treated With Immunotherapy. *JAMA Oncol*. 2024 June 1;10(6):773.

269. Cortellini A, Ricciuti B, Borghaei H, Naqash AR, D'Alessio A, Fulgenzi CAM, et al. Differential prognostic effect of systemic inflammation in patients with non-small cell lung cancer treated with immunotherapy or chemotherapy: A post hoc analysis of the phase 3 OAK trial. *Cancer*. 2022 Aug 15;128(16):3067–79.

270. Passiglia F, Cetoretta V, De Filippis M, Napoli V, Novello S. Exploring the immune-checkpoint inhibitors' efficacy/tolerability in special non-small cell lung cancer (NSCLC) populations: focus on steroids and autoimmune disease. *Transl Lung Cancer Res*. 2021 June;10(6):2876–89.

271. Hwang M, Canzoniero JV, Rosner S, Zhang G, White JR, Belcaid Z, et al. Peripheral blood immune cell dynamics reflect antitumor immune responses and predict clinical response to immunotherapy. *J Immunother Cancer*. 2022 June;10(6):e004688.

272. Uruga H, Mino-Kenudson M. Predictive biomarkers for response to immune checkpoint inhibitors in lung cancer: PD-L1 and beyond. *Virchows Arch*. 2021 Jan;478(1):31–44.

273. Chae YK, Pan A, Davis AA, Raparia K, Mohindra NA, Matsangou M, et al. Biomarkers for PD-1/PD-L1 Blockade Therapy in Non-Small-cell Lung Cancer: Is PD-L1 Expression a Good Marker for Patient Selection? *Clin Lung Cancer*. 2016 Sept;17(5):350–61.

274. Hijazi A, Antoniotti C, Cremolini C, Galon J. Light on life: immunoscore immune-checkpoint, a predictor of immunotherapy response. *OncoImmunology*. 2023 Dec 31;12(1):2243169.

275. Dai Y, Tian X, Ye X, Gong Y, Xu L, Jiao L. Role of the TME in immune checkpoint blockade resistance of non-small cell lung cancer. *Cancer Drug Resist* [Internet]. 2024 Dec 16 [cited 2025 Nov 3]; Available from: <https://www.oaepublish.com/articles/cdr.2024.166>

276. Ikeda H, Kawase K, Nishi T, Watanabe T, Takenaga K, Inozume T, et al. Immune evasion through mitochondrial transfer in the tumour microenvironment. *Nature*. 2025 Feb 6;638(8049):225–36.

277. Longueville E, Dewolf M, Dalstein V, Durlach A, Vivien A, Nawrocki-Raby B, et al. Comparing neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR), absolute neutrophil count (ANC) and derived NLR as predictive biomarkers in first-line immunotherapy for non-small cell lung cancer: a retrospective study. *Transl Lung Cancer Res*. 2025 Apr;14(4):1212–30.

278. Rocha P, Bach R, Masfarré L, Hernandez S, Navarro-Gorro N, Rossell A, et al. Molecular and immunological features associated with long-term benefits in metastatic NSCLC patients undergoing immune checkpoint blockade. *OncoImmunology*. 2025 Dec 31;14(1):2469377.

279. Gadgeel SM, Rodríguez-Abreu D, Halmos B, Garassino MC, Kurata T, Cheng Y, et al. Pembrolizumab Plus Chemotherapy for Metastatic NSCLC With Programmed Cell Death Ligand 1 Tumor Proportion Score Less Than 1%: Pooled Analysis of Outcomes After Five Years of Follow-Up. *J Thorac Oncol*. 2024 Aug;19(8):1228–41.

280. Reinmuth N, Geßner C, Schichtl T, Schütte W, Hammerschmidt S, Schulz H, et al. Effectiveness and safety of Atezolizumab in patients with locally-advanced or metastatic non-small cell lung cancer after prior chemotherapy under real-life conditions in Germany: The Non-interventional Study HYPERION. *Cancer Treat Res Commun*. 2025;43:100878.

281. Rodríguez-Abreu D, Powell SF, Hochmair MJ, Gadgeel S, Esteban E, Felip E, et al. Pemetrexed plus platinum with or without pembrolizumab in patients with previously untreated metastatic nonsquamous NSCLC: protocol-specified final analysis from KEYNOTE-189. *Ann Oncol*. 2021 July;32(7):881–95.

282. Moskalenko Y. Biological mechanisms of resistance to immune checkpoint inhibitors and overcoming this resistance: Challenges in medical oncology. *Regul Mech Biosyst*. 2024;15(1):83–91.

283. Винниченко ІО, Москаленко ЮВ, Винниченко ОІ, Москаленко РА, Піддубний АМ. Бульозний пемфігоїд Левера у хворого на метастатичний рак легені після лікування атезолізумабом. *Клінічна Онкологія*. 2019;9(1):1–3.

284. Moskalenko YuV, Vynnychenko IO, Smorodska OM, Vynnychenko OI, Moskalenko RA. PD-L1 testing as a way of personalizing the treatment of non-small cell lung cancer. *Lik Sprava*. 2019;5–6:40–5.

285. Moskalenko Y., Smorodska O. Lung cancer biomarkers. In: *Theoretical and practical aspects of the development of modern scientific research: monograph/ed Anita Jankovska*. Riga: Baltija Publishing; 2022. p. 212–33.

286. Moskalenko Y. Immune-related toxicity of checkpoint inhibitors. In: *Medicine and psychology: modern problems, new technologies and ways of developing outdated theories: collective monograph /ed Hennadii Slabkyi*. Boston: Primedia eLaunch; 2024. p. 124–45.

287. Gomez-Randulfe I, Pearce M, Netto D, Ward R, Califano R. Association between immunotherapy timing and efficacy in non-small cell lung cancer: a comprehensive analysis at a high-volume specialist centre. *Transl Lung Cancer Res*. 2025 Jan;14(1):72–80.

288. Catozzi S, Assaad S, Delrieu L, Favier B, Dumas E, Hamy AS, et al. Early morning immune checkpoint blockade and overall survival of patients with metastatic cancer: An In-depth chronotherapeutic study. *Eur J Cancer*. 2024 Mar;199:113571.

289. Rousseau A, Tagliamento M, Auclin E, Aldea M, Frelaut M, Levy A, et al. Clinical outcomes by infusion timing of immune checkpoint inhibitors in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Eur J Cancer*. 2023 Mar;182:107–14.

290. Karaboué A, Collon T, Pavese I, Bodiguel V, Cucherousset J, Zakine E, et al. Time-Dependent Efficacy of Checkpoint Inhibitor Nivolumab: Results from a Pilot Study in Patients with Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer. *Cancers*. 2022 Feb 11;14(4):896.

291. Cortellini A, Barrichello APC, Alessi JV, Ricciuti B, Vaz VR, Newsom-Davis T, et al. A multicentre study of pembrolizumab time-of-day infusion patterns and clinical outcomes in non-small-cell lung cancer: too soon to promote morning infusions. *Ann Oncol*. 2022 Nov;33(11):1202–4.

292. Barrios CH, Montella TC, Ferreira CGM, De Marchi P, Coutinho LF, Lemos Duarte I, et al. Time-of-day infusion of immunotherapy may impact outcomes in advanced non-small cell lung cancer patients (NSCLC). *J Clin Oncol*. 2022 June 1;40(16\_suppl):e21126–e21126.

293. Vilalta A, Arasanz H, Rodriguez-Remirez M, Lopez I, Puyalto A, Lecumberri A, et al. 967P The time of anti-PD-1 infusion improves survival outcomes by fasting conditions simulation in non-small cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2021;32:S835.

294. Moskalenko Y, Yazykov O, Vasylieva O, Smiiian K, Ivakhniuk T, Budko H, et al. The Impact of Age on the Effectiveness of Immune Checkpoint Inhibitors Therapy in Patients with Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer. *Geriatrics*. 2025;10(4):85.

295. Moskalenko Y, Kovchun V, Bohdanov A, Budko V, Yazykov O. Visceral Adipose Tissue Radiodensity as a Potential Biomarker of Immunotherapy Efficacy in Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer Patients. *Galician Med J*. 2025;32(3):e-GMJ2025-A21.

296. Moskalenko Y, Kravets O, Kovchun V. Clinical outcomes of concurrent use of corticosteroids and immune checkpoint inhibitors in oncology. *Regul Mech Biosyst*. 2025;16(2):e25062.

297. Moskalenko YuV. The role of novel risk-scoring systems in predicting the efficacy of immunotherapy. *J V N Karazin Kharkiv Natl Univ Ser Med*. 2025;(52):59–68.

298. Moskalenko Y, Kovchun V, Vynnychenko I, Moskalenko R. Association of Skeletal Muscle Radiodensity and Skeletal Muscle Index with Immunotherapy Response in Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer. *Muscles*. 2025;4(4):51.

299. Москаленко Ю. Індекс маси тіла як предиктор ефективності терапії інгібіторами імунних контрольних точок. In: X науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів»: матеріали. 17–18 жовтня 2024 р., м. Тернопіль: ТНМУ, 2024; р. 225–6.

300. Москаленко Ю. Вплив кортикостероїдів на ефективність інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на недрібноклітинний рак легень. In: XXIX конгрес студентів та молодих учених «Майбутнє за наукою»: матеріали. 9–11 квітня 2025 р., м. Тернопіль: ТНМУ, 2025; р. 44.

301. Москаленко Ю. Вплив віку на ефективність інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на метастатичний недрібноклітинний рак легень. In: VIII науково-практична internet-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів та хвороб та їх фармакологічна корекція»: матеріали. 20 жовтня 2025 р., м. Харків: НФаУ, 2025; р. 175–6.

302. Moskalenko YuV., Bohdanov AM., Budko VV. Smoking as a predictor of immune checkpoint inhibitor efficacy in metastatic non-small cell lung cancer patients. *East Ukr Med J*. 2025;13(4):1168–76.

303. Moskalenko Y, Hyriavenko N. Timing of infusion and immunotherapy efficacy in metastatic non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Bukovinian Med Her*. 2025 Dec 24;29(4 (116)):89–94.

304. Moskalenko YV. Blood count test for predicting the efficacy of immune checkpoint inhibitors. *Art Med*. 2025 Dec 24;26–32.

305. Moskalenko Y, Kovchun V, Bohdanov A, Budko A. Subcutaneous adipose tissue radiodensity as a prognostic marker in metastatic non-small cell lung cancer treated with immune checkpoint inhibitors. *Contemp Oncol Onkol*. 2026;30(1).

306. Moskalenko YV, Moskalenko RA. Regulatory T cells as predictors of immunotherapy response in patients with metastatic non-small cell lung cancer. *Acta Probl Mod Med.* 2025;25(3):48–53.

307. Vynnychenko OI, Moskalenko YV, Moskalenko RA, Dudnichenko OS, Rysovana LM, Hrankina SS. A single-center, cohort study of the mutational profile of Ukrainian patients with non-small cell lung cancer. *Ukr J Radiol Oncol.* 2024 Dec 3;32(4):504–17.

308. Moskalenko Y, Hyriavenko N, Derevianko T. Immunogenomic stratification of the tumor microenvironment in surgically treated non-small cell lung cancer: A Ukrainian single-center experience. *Regul Mech Biosyst.* 2025;16(3):e25136.

309. Moskalenko YV, Hyriavenko NI. Prognostic significance of TP53 and PD-L1 depending on the type of adjuvant therapy in patients with non-small cell lung cancer. *Bukovinian Med Her.* 2025;29(3):17–22.

310. Romaniuk A., Moskalenko Y., Baryshok A., Moskalenko R. Expression of FOXP3 in the microenvironment of non-small cell lung cancer tissue on the background of the application of immunotherapy. In: 36-th European Congress of Pathology. 7–11 September 2024, Florence, Italy: Springer, 2025; p. 450.

311. Москаленко Ю. Поширеність TP53 ко-мутацій у пацієнтів з недрібноклітинним раком легень. In: Всеукраїнська науково-практична конференція молодих учених «Медична наука – 2024»: матеріали. 5 грудня 2024 р., м. Полтава: Полтава, 2024; p. 46.

312. Denysenko A., Moskalenko Y., Moskalenko R. Immune phenotypes in patients with non-small cell lung cancer and their association with smoking. In: 37-th European Congress of Pathology. 6-10 September 2025, Vienna, Austria: Springer, 2025; p. PS-26-001.

313. Sulaieva O., Seleznov O., Kozakov D., Koshyk O., Lapsar H., Livshun S., et al. Immune contexture of non-small cell lung cancer with actionable mutations: deciphering the mechanisms of immune evasion. In: United States and Canadian

Academy of Pathology's 114th Annual Meeting. 22-27 March 2025, Boston, USA: Lab Invest, 2025; p. 48.

314. Moskalenko Y., Moskalenko R. Prognostic significance of immune phenotypes in patients with metastatic non-small cell lung cancer. *The journal of V N Karazin National University Series Medicine*. 2025;33(5):689–702.

315. Moskalenko YV. Prognostic value of IFN $\gamma$ -associated genes signature in lung squamous cell carcinoma: TCGA-based analysis. *Art Med*. 2025;58–65.

316. Moskalenko Y, Kovchun V. Molecular and immune predictors of survival in lung squamous cell carcinoma: A TCGA-based analysis. *Bull Med Biol Res*. 2025;7(3):26–36.

317. Moskalenko Y, Kovchun, V, Gyriavenko, N. Immune subtype as a moderator of the prognostic significance of mutations in lung adenocarcinoma: a TCGA data analysis. *Arch Clin Med [Internet]*. 2025; Available from: <https://ifnmujournal.com/acm/article/view/acm202521>

318. Moskalenko YuV. IFN $\gamma$ -associated gene signature as a potential prognostic biomarker of survival and immunotherapy response in lung adenocarcinoma. *J V N Karazin Kharkiv Natl Univ Ser Med*. 2025;33(4):510–22.

319. Moskalenko Y., Kravets Y. IFN $\gamma$ -associated genes signature as a potential prognostic biomarker of survival and immunotherapy response in lung adenocarcinoma. In: 12th International Black Sea coastline countries scientific research conference. 26–28 September 2025, Trabzon, Turkey: Black Sea Strategic Research and Application Center, 2025; p. 9.

320. Москаленко Ю. Прогностичне значення імунних фенотипів у хворих на метастатичний недрібноклітинний рак легень. In: Дев'ята всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології»: матеріали. 6–7 листопада 2025 р., м. Дніпро: ДДМУ, 2025; p. 146–7.

321. Shuboni-Mulligan DD, Breton G, Smart D, Gilbert M, Armstrong TS. Radiation chronotherapy—clinical impact of treatment time-of-day: a systematic review. *J Neurooncol*. 2019 Dec;145(3):415–27.

322. Printezi MI, Kilgallen AB, Bond MJG, Štibler U, Putker M, Teske AJ, et al. Toxicity and efficacy of chronomodulated chemotherapy: a systematic review. *Lancet Oncol.* 2022 Mar;23(3):e129–43.
323. Tsuruta A, Shiiba Y, Matsunaga N, Fujimoto M, Yoshida Y, Koyanagi S, et al. Diurnal Expression of PD-1 on Tumor-Associated Macrophages Underlies the Dosing Time-Dependent Antitumor Effects of the PD-1/PD-L1 Inhibitor BMS-1 in B16/BL6 Melanoma-Bearing Mice. *Mol Cancer Res.* 2022 June 3;20(6):972–82.
324. Sancar A, Van Gelder RN. Clocks, cancer, and chronochemotherapy. *Science.* 2021 Jan;371(6524):eabb0738.
325. Karaboué A, Innominato PF, Wreglesworth NI, Duchemann B, Adam R, Lévi FA. Why does circadian timing of administration matter for immune checkpoint inhibitors' efficacy? *Br J Cancer.* 2024 Sept 21;131(5):783–96.
326. Guo X, Qin L, Wang X, Geng Q, Li D, Lu Y, et al. Chronological Effects of Immune Checkpoint Inhibitors in Non-Small Cell Lung Cancer. *Immunology.* 2025 Apr;174(4):402–10.
327. Ma T, Gu J, Wen H, Xu F, Ge D. BIRC5 Modulates PD-L1 Expression and Immune Infiltration in Lung Adenocarcinoma. *J Cancer.* 2022;13(10):3140–50.
328. Fortin BM, Mahieu AL, Fellows RC, Kang Y, Lewis AN, Ead AS, et al. The diverse roles of the circadian clock in cancer. *Nat Cancer.* 2025 May 26;6(5):753–67.
329. Landré T, Karaboué A, Buchwald ZS, Innominato PF, Qian DC, Assié JB, et al. Effect of immunotherapy-infusion time of day on survival of patients with advanced cancers: a study-level meta-analysis. *ESMO Open.* 2024 Feb;9(2):102220.
330. Fey RM, Billo A, Clister T, Doan KL, Berry EG, Tibbitts DC, et al. Personalization of Cancer Treatment: Exploring the Role of Chronotherapy in Immune Checkpoint Inhibitor Efficacy. *Cancers.* 2025 Feb 21;17(5):732.
331. O'Brien T, Dolan L. Immune checkpoint inhibitors and timing of administration. *Lancet Oncol.* 2022 Feb;23(2):e55.
332. Wang C, Lutes LK, Barnoud C, Scheiermann C. The circadian immune system. *Sci Immunol.* 2022 June 24;7(72):eabm2465.

333. Hazan G, Duek OA, Alapi H, Mok H, Ganninger A, Ostendorf E, et al. Biological rhythms in COVID-19 vaccine effectiveness in an observational cohort study of 1.5 million patients. *J Clin Invest*. 2023 June 1;133(11):e167339.

334. Zhang H, Liu Y, Liu D, Zeng Q, Li L, Zhou Q, et al. Time of day influences immune response to an inactivated vaccine against SARS-CoV-2. *Cell Res*. 2021 Nov;31(11):1215–7.

335. Ince LM, Barnoud C, Lutes LK, Pick R, Wang C, Sinturel F, et al. Influence of circadian clocks on adaptive immunity and vaccination responses. *Nat Commun*. 2023 Jan 30;14(1):476.

336. El-Tanani M, Rabbani SA, Ali AA, Alfaouri IGA, Al Nsairat H, Al-Ani IH, et al. Circadian rhythms and cancer: implications for timing in therapy. *Discov Oncol*. 2024 Dec 18;15(1):767.

337. Hughes BR, Shanaz S, Ismail-Sutton S, Wreglesworth NI, Subbe CP, Innominato PF. Circadian lifestyle determinants of immune checkpoint inhibitor efficacy. *Front Oncol*. 2023 Dec 4;13:1284089.

338. Druzd D, Matveeva O, Ince L, Harrison U, He W, Schmal C, et al. Lymphocyte Circadian Clocks Control Lymph Node Trafficking and Adaptive Immune Responses. *Immunity*. 2017 Jan;46(1):120–32.

339. Shimba A, Ejima A, Ikuta K. Pleiotropic Effects of Glucocorticoids on the Immune System in Circadian Rhythm and Stress. *Front Immunol*. 2021 Oct 8;12:706951.

340. Kudlova N, De Sanctis JB, Hajduch M. Cellular Senescence: Molecular Targets, Biomarkers, and Senolytic Drugs. *Int J Mol Sci*. 2022 Apr 10;23(8):4168.

341. Santoro A, Bientinesi E, Monti D. Immunosenescence and inflammaging in the aging process: age-related diseases or longevity? *Ageing Res Rev*. 2021 Nov;71:101422.

342. Franceschi C, Bonafè M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, Ottaviani E, et al. Inflamm-aging: An Evolutionary Perspective on Immunosenescence. *Ann N Y Acad Sci*. 2000 June;908(1):244–54.

343. Goronzy JJ, Weng N ping. The immunology and cell biology of T cell aging. *Semin Immunol.* 2023 Nov;70:101843.
344. Dale W, Klepin HD, Williams GR, Alibhai SMH, Bergerot C, Brintzenhofeszoc K, et al. Practical Assessment and Management of Vulnerabilities in Older Patients Receiving Systemic Cancer Therapy: ASCO Guideline Update. *J Clin Oncol.* 2023 Sept 10;41(26):4293–312.
345. Choucair K, Naqash AR, Nebhan CA, Nipp R, Johnson DB, Saeed A. Immune Checkpoint Inhibitors: The Unexplored Landscape of Geriatric Oncology. *The Oncologist.* 2022 Sept 2;27(9):778–89.
346. Kim SY, Halmos B. Choosing the best first-line therapy: NSCLC with no actionable oncogenic driver. *Lung Cancer Manag.* 2020 Sept;9(3):LMT36.
347. Shanmugam G, Das S, Paul S, Rakshit S, Sarkar K. Clinical relevance and therapeutic aspects of professional antigen-presenting cells in lung cancer. *Med Oncol.* 2022 Sept 29;39(12):237.
348. Wang C, Chen L, Fu D, Liu W, Puri A, Kellis M, et al. Antigen presenting cells in cancer immunity and mediation of immune checkpoint blockade. *Clin Exp Metastasis.* 2024 Aug;41(4):333–49.
349. Granier C, Gey A, Roncelin S, Weiss L, Paillaud E, Tartour E. Immunotherapy in older patients with cancer. *Biomed J.* 2021 June;44(3):260–71.
350. Yang YN, Wang LS, Dang YQ, Ji G. Evaluating the efficacy of immunotherapy in gastric cancer: Insights from immune checkpoint inhibitors. *World J Gastroenterol.* 2024 Aug 28;30(32):3726–9.
351. Fasano M, Corte CMD, Liello RD, Viscardi G, Sparano F, Iacovino ML, et al. Immunotherapy for head and neck cancer: Present and future. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2022 June;174:103679.
352. Tang S, Qin C, Hu H, Liu T, He Y, Guo H, et al. Immune Checkpoint Inhibitors in Non-Small Cell Lung Cancer: Progress, Challenges, and Prospects. *Cells.* 2022 Jan 19;11(3):320.
353. Li H, Lin S, Wang Y, Shi Y, Fang X, Wang J, et al. Immunosenescence: A new direction in anti-aging research. *Int Immunopharmacol.* 2024 Nov;141:112900.

354. Smith A, Boby J, Benny S, Ghazali N, Vermeulen E, George M. Immunotherapy in Older Patients with Cancer: A Narrative Review. *Int J Gen Med*. 2024 Jan;Volume 17:305–13.

355. Sun YM, Wang Y, Sun XX, Chen J, Gong ZP, Meng HY. Clinical Efficacy of Immune Checkpoint Inhibitors in Older Non-small-Cell Lung Cancer Patients: A Meta-Analysis. *Front Oncol*. 2020 Sept 23;10:558454.

356. Arias Ron D, Areses Manrique MC, Mosquera Martínez J, García González J, Afonso Afonso FJ, Lázaro Quintela M, et al. Efficacy and safety of Nivolumab in older patients with pretreated lung cancer: A subgroup analysis of the Galician lung cancer group. *J Geriatr Oncol*. 2021 Apr;12(3):410–5.

357. Luciani A, Marra A, Toschi L, Cortinovis D, Fava S, Filipazzi V, et al. Efficacy and Safety of Anti-PD-1 Immunotherapy in Patients Aged  $\geq 75$  Years With Non–small-cell Lung Cancer (NSCLC): An Italian, Multicenter, Retrospective Study. *Clin Lung Cancer*. 2020 Nov;21(6):e567–71.

358. Lichtenstein MRL, Nipp RD, Muzikansky A, Goodwin K, Anderson D, Newcomb RA, et al. Impact of Age on Outcomes with Immunotherapy in Patients with Non–Small Cell Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2019 Mar;14(3):547–52.

359. Xu Y, Wang Q, Xie J, Chen M, Liu H, Zhan P, et al. The Predictive Value of Clinical and Molecular Characteristics or Immunotherapy in Non-Small Cell Lung Cancer: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Front Oncol*. 2021 Sept 7;11:732214.

360. Huang X, Wu S, Chen S, Qiu M, Zhao Y, Wei J, et al. Prognostic impact of age in advanced non-small cell lung cancer patients undergoing first-line checkpoint inhibitor immunotherapy and chemotherapy treatment. *Int Immunopharmacol*. 2024 May;132:111901.

361. Tagliamento M, Frelaut M, Baldini C, Naigeon M, Nencioni A, Chaput N, et al. The use of immunotherapy in older patients with advanced non-small cell lung cancer. *Cancer Treat Rev*. 2022 May;106:102394.

362. Ramos MJ, Mendes AS, Romão R, Febra J, Araújo A. Immunotherapy in Elderly Patients—Single-Center Experience. *Cancers*. 2023 Dec 27;16(1):145.

363. Mebarki S, Pamoukdjian F, Pierro M, Poisson J, Baldini C, Widad Lahlou, et al. Safety and efficacy of immunotherapy according to the age threshold of 80 years. *Bull Cancer (Paris)*. 2023 May;110(5):570–80.

364. Bogani G, Cinquini M, Signorelli D, Pizzutilo EG, Romanò R, Bersanelli M, et al. A systematic review and meta-analysis on the optimal treatment duration of checkpoint inhibitors in solid tumors: The OTHERS study. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2023 July;187:104016.

365. Kim H, Kim D, Kim M, Lee Y, Ahn HK, Cho JH, et al. Long-term outcomes in patients with advanced and/or metastatic non-small cell lung cancer who completed 2 years of immune checkpoint inhibitors or achieved a durable response after discontinuation without disease progression: Multicenter, real-world data (KCSG LU20-11). *Cancer*. 2022 Feb 15;128(4):778–87.

366. Stabile LP, Kumar V, Gaither-Davis A, Huang EH, Vendetti FP, Devadassan P, et al. Syngeneic tobacco carcinogen-induced mouse lung adenocarcinoma model exhibits PD-L1 expression and high tumor mutational burden. *JCI Insight*. 2021 Feb 8;6(3):e145307.

367. Hu D, Pang X, Luo J, Zhou J, Wang N, Tang H, et al. The correlation between the influencing factors and efficacy of immune checkpoint inhibitor therapy: an umbrella meta-analysis of randomized controlled trials. *Ann Med*. 2023 Dec 12;55(1):2215543.

368. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csőszi T, Fülöp A, et al. Updated Analysis of KEYNOTE-024: Pembrolizumab Versus Platinum-Based Chemotherapy for Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer With PD-L1 Tumor Proportion Score of 50% or Greater. *J Clin Oncol*. 2019 Mar 1;37(7):537–46.

369. Jassem J, De Marinis F, Giaccone G, Vergnenegre A, Barrios CH, Morise M, et al. Updated Overall Survival Analysis From IMpower110: Atezolizumab Versus Platinum-Based Chemotherapy in Treatment-Naive Programmed Death-Ligand 1-Selected NSCLC. *J Thorac Oncol*. 2021 Nov;16(11):1872–82.

370. Herbst RS, Giaccone G, De Marinis F, Reinmuth N, Vergnenegre A, Barrios CH, et al. Atezolizumab for First-Line Treatment of PD-L1–Selected Patients with NSCLC. *N Engl J Med*. 2020 Oct;383(14):1328–39.

371. Garon EB, Cho BC, Reinmuth N, Lee KH, Luft A, Ahn MJ, et al. Patient-Reported Outcomes with Durvalumab With or Without Tremelimumab Versus Standard Chemotherapy as First-Line Treatment of Metastatic Non–Small-Cell Lung Cancer (MYSTIC). *Clin Lung Cancer*. 2021 July;22(4):301-312.e8.

372. Jotte R, Cappuzzo F, Vynnychenko I, Stroyakovskiy D, Rodríguez-Abreu D, Hussein M, et al. Atezolizumab in Combination With Carboplatin and Nab-Paclitaxel in Advanced Squamous NSCLC (IMpower131): Results From a Randomized Phase III Trial. *J Thorac Oncol*. 2020 Aug;15(8):1351–60.

373. Socinski MA, Nishio M, Jotte RM, Cappuzzo F, Orlandi F, Stroyakovskiy D, et al. IMpower150 Final Overall Survival Analyses for Atezolizumab Plus Bevacizumab and Chemotherapy in First-Line Metastatic Nonsquamous NSCLC. *J Thorac Oncol*. 2021 Nov;16(11):1909–24.

374. Gogishvili M, Melkadze T, Makharadze T, Giorgadze D, Dvorkin M, Penkov KD, et al. LBA51 EMPOWER-Lung 3: Cemiplimab in combination with platinum doublet chemotherapy for first-line (1L) treatment of advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). *Ann Oncol*. 2021 Sept;32:S1328.

375. Ren S, Chen J, Xu X, Jiang T, Cheng Y, Chen G, et al. Camrelizumab Plus Carboplatin and Paclitaxel as First-Line Treatment for Advanced Squamous NSCLC (CameL-Sq): A Phase 3 Trial. *J Thorac Oncol*. 2022 Apr;17(4):544–57.

376. Weinmann SC, Pisetsky DS. Mechanisms of immune-related adverse events during the treatment of cancer with immune checkpoint inhibitors. *Rheumatology*. 2019 Dec 1;58(Supplement\_7):vii59–67.

377. Huang J, Xiong L, Tang S, Zhao J, Zuo L. Balancing Tumor Immunotherapy and Immune-Related Adverse Events: Unveiling the Key Regulators. *Int J Mol Sci*. 2024 Oct 10;25(20):10919.

378. Bruera S, Suarez-Almazor ME. The effects of glucocorticoids and immunosuppressants on cancer outcomes in checkpoint inhibitor therapy. *Front Oncol*. 2022 Aug 23;12:928390.

379. Jove M, Vilariño N, Nadal E. Impact of baseline steroids on efficacy of programmed cell death-1 (PD-1) and programmed death-ligand 1 (PD-L1) blockade in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Transl Lung Cancer Res*. 2019 Dec;8(S4):S364–8.

380. Kalfeist L, Galland L, Ledys F, Ghiringhelli F, Limagne E, Ladoire S. Impact of Glucocorticoid Use in Oncology in the Immunotherapy Era. *Cells*. 2022 Feb 22;11(5):770.

381. Cortellini A, Tucci M, Adamo V, Stucci LS, Russo A, Tanda ET, et al. Integrated analysis of concomitant medications and oncological outcomes from PD-1/PD-L1 checkpoint inhibitors in clinical practice. *J Immunother Cancer*. 2020 Nov;8(2):e001361.

382. Hong S, Lee JH, Heo JY, Suh KJ, Kim SH, Kim YJ, et al. Impact of concurrent medications on clinical outcomes of cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors: analysis of Health Insurance Review and Assessment data. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2024 Apr 10;150(4):186.

383. Ricciuti B, Dahlberg SE, Adeni A, Sholl LM, Nishino M, Awad MM. Immune Checkpoint Inhibitor Outcomes for Patients With Non–Small-Cell Lung Cancer Receiving Baseline Corticosteroids for Palliative Versus Nonpalliative Indications. *J Clin Oncol*. 2019 Aug 1;37(22):1927–34.

384. Scott SC, Pennell NA. Early Use of Systemic Corticosteroids in Patients with Advanced NSCLC Treated with Nivolumab. *J Thorac Oncol*. 2018 Nov;13(11):1771–5.

385. Giles AJ, Hutchinson MKND, Sonnemann HM, Jung J, Fecci PE, Ratnam NM, et al. Dexamethasone-induced immunosuppression: mechanisms and implications for immunotherapy. *J Immunother Cancer*. 2018 Dec;6(1):51.

386. Skribek M, Rounis K, Afshar S, Grundberg O, Friesland S, Tsakonas G, et al. Effect of corticosteroids on the outcome of patients with advanced non–small cell

lung cancer treated with immune-checkpoint inhibitors. *Eur J Cancer*. 2021 Mar;145:245–54.

387. Pitre T, Kiflen M, Ho T, Seijo LM, Zeraatkar D, De Torres JP. Inhaled corticosteroids, COPD, and the incidence of lung cancer: a systematic review and dose response meta-analysis. *BMC Pulm Med*. 2022 Dec;22(1):275.

388. Tareke AA, Debebe W, Alem A, Bayileyegn NS, Zerfu TA, Ayana AM. Inhaled Corticosteroids and the Risk of Lung Cancer in Chronic Obstructive Pulmonary Disease Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. Kuwano K, editor. *Pulm Med*. 2022 Aug 21;2022:1–11.

389. Lea S, Higham A, Beech A, Singh D. How inhaled corticosteroids target inflammation in COPD. *Eur Respir Rev*. 2023 Dec 31;32(170):230084.

390. Zhang K, Zhou C, Gao J, Yu P, Lin X, Xie X, et al. Treatment response and safety of immunotherapy for advanced non-small cell lung cancer with comorbid chronic obstructive pulmonary disease: a retrospective cohort study. *Transl Lung Cancer Res*. 2022 Nov;11(11):2306–17.

391. Li M, Spakowicz D, Zhao S, Patel SH, Johns A, Grogan M, et al. Brief report: inhaled corticosteroid use and the risk of checkpoint inhibitor pneumonitis in patients with advanced cancer. *Cancer Immunol Immunother*. 2020 Nov;69(11):2403–8.

392. Zeng Z, Qu J, Yao Y, Xu F, Lu S, Zhang P, et al. Clinical outcomes and risk factor of immune checkpoint inhibitors-related pneumonitis in non-small cell lung cancer patients with chronic obstructive pulmonary disease. *BMC Pulm Med*. 2022 Dec 1;22(1):458.

393. Mark NM, Kargl J, Busch SE, Yang GHY, Metz HE, Zhang H, et al. Chronic Obstructive Pulmonary Disease Alters Immune Cell Composition and Immune Checkpoint Inhibitor Efficacy in Non–Small Cell Lung Cancer. *Am J Respir Crit Care Med*. 2018 Feb 1;197(3):325–36.

394. Qi C, Sun SW, Xiong XZ. From COPD to Lung Cancer: Mechanisms Linking, Diagnosis, Treatment, and Prognosis. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2022 Oct;Volume 17:2603–21.

395. Shin SH, Park HY, Im Y, Jung HA, Sun J, Ahn JS, et al. Improved treatment outcome of pembrolizumab in patients with nonsmall cell lung cancer and chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Cancer*. 2019 Nov;145(9):2433–9.

396. Zhou J, Chao Y, Yao D, Ding N, Li J, Gao L, et al. Impact of chronic obstructive pulmonary disease on immune checkpoint inhibitor efficacy in advanced lung cancer and the potential prognostic factors. *Transl Lung Cancer Res*. 2021 May;10(5):2148–62.

397. Lim JU, Yoon HK. Potential predictive value of change in inflammatory cytokines levels subsequent to initiation of immune checkpoint inhibitor in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Cytokine*. 2021 Feb;138:155363.

398. Peng L, Wang Y, Liu F, Qiu X, Zhang X, Fang C, et al. Peripheral blood markers predictive of outcome and immune-related adverse events in advanced non-small cell lung cancer treated with PD-1 inhibitors. *Cancer Immunol Immunother*. 2020 Sept;69(9):1813–22.

399. Patil PD, Khunger M, Rakshit S, Stevenson J, Pennell NA, Elson P, et al. Pre-treatment hematological markers as a predictive biomarker for survival in patients with non-small cell lung cancer treated with nivolumab. *J Clin Oncol*. 2017 May 20;35(15\_suppl):11547–11547.

400. Platini H, Ferdinand E, Kohar K, Prayogo S, Amirah S, Komariah M, et al. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio and Platelet-to-Lymphocyte Ratio as Prognostic Markers for Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer Treated with Immunotherapy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Medicina (Mex)*. 2022 Aug 8;58(8):1069.

401. Pu D, Xu Q, Zhou L, Zhou Y, Liu J, Ma X. Inflammation-nutritional markers of peripheral blood could predict survival in advanced non-small-cell lung cancer patients treated with PD -1 inhibitors. *Thorac Cancer*. 2021 Nov;12(21):2914–23.

402. Zhang Y, Yan N, Feng Y, Wu Y, Sun Y, Gao X, et al. Inflammatory markers predict efficacy of immunotherapy in advanced non-small cell lung cancer: a preliminary exploratory study. *Discov Oncol*. 2025 Jan 4;16(1):8.

403. Zheng X, Zhou L, Shi H, An J, Xu W, Ding X, et al. Immune-inflammatory markers and clinical characteristics as predictors of the depth of response and prognosis of patients with PD - L1  $\geq$ 50% metastatic non-small cell lung cancer receiving first-line immunotherapy. *Thorac Cancer*. 2024 Oct;15(28):2029–37.

404. He J, Liang G, Yu H, Lin C, Shen W. Evaluating the predictive significance of systemic immune-inflammatory index and tumor markers in lung cancer patients with bone metastases. *Front Oncol*. 2024 Jan 9;13:1338809.

405. Lei Y, Cao C, Tang R, Liu Y. Peripheral blood inflammatory biomarkers neutrophil/ lymphocyte ratio, platelet/lymphocyte ratio and systemic immune-inflammation index/albumin ratio predict prognosis and efficacy in non-small cell lung cancer patients receiving immunotherapy and opioids. *BMC Cancer*. 2025 Apr 10;25(1):664.

406. Yuan L, Wang Q, Sun F, Shi H. Deep learning and inflammatory markers predict early response to immunotherapy in unresectable NSCLC: A multicenter study. *Biomol Biomed*. 2025 June 10;25(10):2252–68.

407. Katayama Y, Yamada T, Chihara Y, Tanaka S, Tanimura K, Okura N, et al. Significance of inflammatory indexes in atezolizumab monotherapy outcomes in previously treated non-small-cell lung cancer patients. *Sci Rep*. 2020 Oct 15;10(1):17495.

408. Zhu X, Song H, Chen Y, Han F, Wang Q, Cui Y. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio and Platelet-to-Lymphocyte Ratio in Blood to Distinguish Lung Cancer Patients from Healthy Subjects. Foddis R, editor. *Dis Markers*. 2020 Oct 16;2020:1–5.

409. Ye X, Dai M, Xiang Z. Prognostic role of systemic inflammation response index in patients with non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *BMJ Open*. 2024 Nov;14(11):e087841.

410. Song P, Yang D, Cui X, Wang H, Si X, Zhang X, et al. NLCIPS: Non-Small Cell Lung Cancer Immunotherapy Prognosis Score. *Cancer Manag Res*. 2020 July;Volume 12:5975–85.

411. Tian BW, Yang YF, Yang CC, Yan LJ, Ding ZN, Liu H, et al. Systemic Immune–Inflammation Index Predicts Prognosis of Cancer Immunotherapy: Systemic Review and Meta-Analysis. *Immunotherapy*. 2022 Dec;14(18):1481–96.
412. Liu N, Mao J, Tao P, Chi H, Jia W, Dong C. The relationship between NLR/PLR/LMR levels and survival prognosis in patients with non-small cell lung carcinoma treated with immune checkpoint inhibitors. *Medicine (Baltimore)*. 2022 Jan 21;101(3):e28617.
413. Zhang Y, Liu B, Kotenko S, Li W. Prognostic value of neutrophil-lymphocyte ratio and lactate dehydrogenase in melanoma patients treated with immune checkpoint inhibitors: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2022 Aug 12;101(32):e29536.
414. Asano Y, Yamamoto N, Demura S, Hayashi K, Takeuchi A, Kato S, et al. Novel predictors of immune checkpoint inhibitor response and prognosis in advanced non-small-cell lung cancer with bone metastasis. *Cancer Med*. 2023 June;12(11):12425–37.
415. Keenan TE, Burke KP, Van Allen EM. Genomic correlates of response to immune checkpoint blockade. *Nat Med*. 2019 Mar;25(3):389–402.
416. Nelli F, Fabbri A, Virtuoso A, Giannarelli D, Giron Berrios JR, Marrucci E, et al. Early Changes in LIPI Score Predict Immune-Related Adverse Events: A Propensity Score Matched Analysis in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Patients on Immune Checkpoint Blockade. *Cancers*. 2024 Jan 20;16(2):453.
417. Jiang H, Li B, Wu M, Wang Q, Li Y. Association of the Advanced Lung Cancer Inflammation Index (ALI) and Gustave Roussy Immune (GRIm) score with immune checkpoint inhibitor efficacy in patients with gastrointestinal and lung cancer. *BMC Cancer*. 2024 Apr 8;24(1):428.
418. Dimitrakopoulos FI, Nikolakopoulos A, Kottorou A, Kalofonou F, Liolis E, Frantzi T, et al. PIOS (Patras Immunotherapy Score) Score Is Associated with Best Overall Response, Progression-Free Survival, and Post-Immunotherapy Overall Survival in Patients with Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer (NSCLC) Treated with Anti-Program Cell Death-1 (PD-1) Inhibitors. *Cancers*. 2020 May 16;12(5):1257.

419. Radens CM, Blake D, Jewell P, Barash Y, Lynch KW. Meta-analysis of transcriptomic variation in T-cell populations reveals both variable and consistent signatures of gene expression and splicing. *RNA*. 2020 Oct;26(10):1320–33.

420. Karantanos T, Karanika S, Seth B, Gignac G. The absolute lymphocyte count can predict the overall survival of patients with non-small cell lung cancer on nivolumab: a clinical study. *Clin Transl Oncol*. 2019 Feb;21(2):206–12.

421. Punjabi A, Barrett E, Cheng A, Mulla A, Walls G, Johnston D, et al. Neutrophil–Lymphocyte Ratio and Absolute Lymphocyte Count as Prognostic Markers in Patients Treated with Curative-intent Radiotherapy for Non-small Cell Lung Cancer. *Clin Oncol*. 2021 Aug;33(8):e331–8.

422. Yang F, Markovic SN, Molina JR, Halfdanarson TR, Pagliaro LC, Chintakuntlawar AV, et al. Association of Sex, Age, and Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status With Survival Benefit of Cancer Immunotherapy in Randomized Clinical Trials: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Netw Open*. 2020 Aug 7;3(8):e2012534.

423. Sehgal K, Gill RR, Widick P, Bindal P, McDonald DC, Shea M, et al. Association of Performance Status With Survival in Patients With Advanced Non–Small Cell Lung Cancer Treated With Pembrolizumab Monotherapy. *JAMA Netw Open*. 2021 Feb 11;4(2):e2037120.

424. Mojsak D, Kuklińska B, Dębczyński M, Marek Mróz R. Immunotherapy in patients with non-small cell lung cancer with ECOG PS 2. *Współczesna Onkol*. 2021;25(1):53–6.

425. 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. Ahmad A, editor. *PLOS ONE*. 2018 Feb 22;13(2):e0192227.

426. Kang DH, Chung C, Kim J, Jung SS, Park HS, Park DI, et al. Pleural or pericardial metastasis: A significant factor affecting efficacy and adverse events in lung cancer patients treated with PD-1/PD-L1 inhibitors. *Thorac Cancer*. 2018 Nov;9(11):1500–8.

427. Kuijpers CCHJ, Hendriks LEL, Derks JL, Dingemans AMC, Van Lindert ASR, Van Den Heuvel MM, et al. Association of molecular status and metastatic organs at diagnosis in patients with stage IV non-squamous non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2018 July;121:76–81.

428. Popinat G, Cousse S, Goldfarb L, Becker S, Gardin I, Salaün M, et al. Sub-cutaneous Fat Mass measured on multislice computed tomography of pretreatment PET/CT is a prognostic factor of stage IV non-small cell lung cancer treated by nivolumab. *OncoImmunology*. 2019 May 4;8(5):e1580128.

429. Greco F, Piccolo CL, D'Andrea V, Scardapane A, Beomonte Zobel B, Mallio CA. Fat Matters: Exploring Cancer Risk through the Lens of Computed Tomography and Visceral Adiposity. *J Clin Med*. 2024 Jan 14;13(2):453.

430. Strand K, Stiglund N, Haugstøyl ME, Kamyab Z, Langhelle V, Lawrence-Archer L, et al. Subtype-Specific Surface Proteins on Adipose Tissue Macrophages and Their Association to Obesity-Induced Insulin Resistance. *Front Endocrinol*. 2022 Apr 11;13:856530.

431. Petruzzelli M, Schweiger M, Schreiber R, Campos-Olivas R, Tsoli M, Allen J, et al. A Switch from White to Brown Fat Increases Energy Expenditure in Cancer-Associated Cachexia. *Cell Metab*. 2014 Sept;20(3):433–47.

432. 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.

433. Wang Z, Aguilar EG, Luna JI, Dunai C, Khuat LT, Le CT, et al. Paradoxical effects of obesity on T cell function during tumor progression and PD-1 checkpoint blockade. *Nat Med*. 2019 Jan;25(1):141–51.

434. Mojibi Y, Seif F, Mojibi N, Aghamajidi A, Mohsenzadegan M, Torang HA. Efficacy of immunotherapy in obese patients with cancer. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2022 July 4;44(4):471–83.

435. Liu XS, Pompey KT. Bootstrap Estimate of Bias for Intraclass Correlation. *J Appl Meas*. 2020;21(1):101–8.

436. Bu LL, Yu GT, Wu L, Mao L, Deng WW, Liu JF, et al. STAT3 Induces Immunosuppression by Upregulating PD-1/PD-L1 in HNSCC. *J Dent Res*. 2017 Aug;96(9):1027–34.
437. Woodall MJ, Neumann S, Campbell K, Pattison ST, Young SL. The Effects of Obesity on Anti-Cancer Immunity and Cancer Immunotherapy. *Cancers*. 2020 May 14;12(5):1230.
438. Pellegrini M, Besutti G, Ottone M, Canovi S, Bonelli E, Venturelli F, et al. Abdominal Fat Characteristics and Mortality in Rectal Cancer: A Retrospective Study. *Nutrients*. 2023 Jan 11;15(2):374.
439. Yaacobi Peretz S, Kessner R, Bar Y, Sonnenblick A, Lerner S, Deutsch-Lukatsky A, et al. Body composition metrics as a determinant of trastuzumab deruxtecan related toxicity and response. *Npj Breast Cancer*. 2025 Apr 25;11(1):38.
440. Huang LK, Lin YC, Chuang HH, Chuang CK, Pang ST, Wu CT, et al. Body composition as a predictor of oncological outcome in patients with non-muscle-invasive bladder cancer receiving intravesical instillation after transurethral resection of bladder tumor. *Front Oncol*. 2023 Aug 10;13:1180888.
441. Kapoor ND, Twining PK, Groot OQ, Pielkenrood BJ, Bongers MER, Newman ET, et al. Adipose tissue density on CT as a prognostic factor in patients with cancer: a systematic review. *Acta Oncol*. 2020 Dec 1;59(12):1488–95.
442. Zhang J, Yang X, Yang X, Xu J, Wang Y, Wang Y, et al. Prognostic value of SAT volume and density for predicting the outcome of patients with unresectable HCC treated with lenvatinib plus anti-PD-1 antibodies. *Am J Cancer Res*. 2023;13(3):912–21.
443. Li Y, Yu Y, Lv K, Ge R, Xie X. Prognostic value of body adipose tissue parameters in cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors. *Front Immunol*. 2025 Feb 12;16:1557726.
444. Makrakis D, Rounis K, Tsigkas AP, Georgiou A, Galanakis N, Tsakonas G, et al. Effect of body tissue composition on the outcome of patients with metastatic non-small cell lung cancer treated with PD-1/PD-L1 inhibitors. Bauckneht M, editor. *PLOS ONE*. 2023 Feb 10;18(2):e0277708.

445. Qiu Y, Su Y, Xie E, Cheng H, Du J, Xu Y, et al. Mannose metabolism reshapes T cell differentiation to enhance anti-tumor immunity. *Cancer Cell*. 2025 Jan;43(1):103-121.e8.
446. Vita E, Stefani A, Piro G, Mastrantoni L, Cintoni M, Cicchetti G, et al. Leptin-mediated meta-inflammation may provide survival benefit in patients receiving maintenance immunotherapy for extensive-stage small cell lung cancer (ES-SCLC). *Cancer Immunol Immunother*. 2023 Nov;72(11):3803–12.
447. Dai X, Bu X, Gao Y, Guo J, Hu J, Jiang C, et al. Energy status dictates PD-L1 protein abundance and anti-tumor immunity to enable checkpoint blockade. *Mol Cell*. 2021 June;81(11):2317-2331.e6.
448. Christakoudi S, Tsilidis KK, Evangelou E, Riboli E. Association of body-shape phenotypes with imaging measures of body composition in the UK Biobank cohort: relevance to colon cancer risk. *BMC Cancer*. 2021 Dec;21(1):1106.
449. Maurits JSF, Sedelaar JPM, Aben KKH, Kiemeny LALM, Vrieling A. Association of visceral and subcutaneous adiposity with tumor stage and Fuhrman grade in renal cell carcinoma. *Sci Rep*. 2022 Oct 6;12(1):16718.
450. Bea JW, Ochs-Balcom HM, Valencia CI, Chen Z, Blew RM, Lind KE, et al. Abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue associations with postmenopausal breast cancer incidence. *JNCI Cancer Spectr*. 2025 Jan 3;9(1):pkaf007.
451. Gündoğdu E, Emekli E, Kebapçı M. Relationship among CT-based abdominal adipose tissue areas and pancreatic ductal adenocarcinoma in male. *Aging Male*. 2020 Dec 4;23(5):1455–9.
452. Imai K, Takai K, Miwa T, Maeda T, Hanai T, Shirakami Y, et al. Higher Accumulation of Visceral Adipose Tissue Is an Independent Risk Factor for Hepatocellular Carcinoma among Viral Hepatitis Patients with Non-Cirrhotic Livers. *Cancers*. 2021 Nov 28;13(23):5980.
453. Lu Y, Tang H, Huang P, Wang J, Deng P, Li Y, et al. Assessment of causal effects of visceral adipose tissue on risk of cancers: a Mendelian randomization study. *Int J Epidemiol*. 2022 Aug 10;51(4):1204–18.

454. Chen Y, Jia H, Ye R, Zhou Z, Chen W, Zheng M, et al. Low Visceral Adipose Tissue Predicts the Outcome of Neoadjuvant Chemotherapy for Colorectal Liver Metastases: A Multicentre Real-World Study. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2025 Apr;16(2):e13785.

455. Song GJ, Ahn H, Son MW, Yun JH, Lee MS, Lee SM. Adipose Tissue Quantification Improves the Prognostic Value of GLIM Criteria in Advanced Gastric Cancer Patients. *Nutrients*. 2024 Mar 2;16(5):728.

456. Tan H, Ma M, Huang J, Dong Y, Liu J, Mi Z, et al. Preoperative Body Composition Combined with Tumor Metabolism Analysis by PET/CT Is Associated with Disease-Free Survival in Patients with NSCLC. Quartuccio N, editor. *Contrast Media Mol Imaging*. 2022 Jan;2022(1):7429319.

457. Lee DH, Giovannucci EL. The Obesity Paradox in Cancer: Epidemiologic Insights and Perspectives. *Curr Nutr Rep*. 2019 Sept;8(3):175–81.

458. Assumpção JAF, Pasquarelli-do-Nascimento G, Duarte MSV, Bonamino MH, Magalhães KG. The ambiguous role of obesity in oncology by promoting cancer but boosting antitumor immunotherapy. *J Biomed Sci*. 2022 Dec;29(1):12.

459. Khan A, Welman CJ, Abed A, O'Hanlon S, Redfern A, Azim S, et al. Association of Computed Tomography Measures of Muscle and Adipose Tissue and Progressive Changes throughout Treatment with Clinical Endpoints in Patients with Advanced Lung Cancer Treated with Immune Checkpoint Inhibitors. *Cancers*. 2023 Feb 22;15(5):1382.

460. Spoto B, Di Betta E, Mattace-Raso F, Sijbrands E, Vilardi A, Parlongo RM, et al. Pro- and anti-inflammatory cytokine gene expression in subcutaneous and visceral fat in severe obesity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2014 Oct;24(10):1137–43.

461. Park JE, Jo J, Youk J, Kim M, Yoon SH, Keam B, et al. Prognostic utility of body composition parameters based on computed tomography analysis of advanced non-small cell lung cancer treated with immune checkpoint inhibitors. *Insights Imaging*. 2023 Oct 26;14(1):182.

462. Decazes P, Ammari S, Belkouchi Y, Mottay L, Lawrance L, De Prévia A, et al. Synergic prognostic value of 3D CT scan subcutaneous fat and muscle masses for immunotherapy-treated cancer. *J Immunother Cancer*. 2023 Sept;11(9):e007315.
463. Shien K, Papadimitrakopoulou VA, Wistuba II. Predictive biomarkers of response to PD-1/PD-L1 immune checkpoint inhibitors in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2016 Sept;99:79–87.
464. Khan I, Chong M, Le A, Mohammadi-Shemirani P, Morton R, Brinza C, et al. Surrogate Adiposity Markers and Mortality. *JAMA Netw Open*. 2023 Sept 20;6(9):e2334836.
465. Potter AW, Chin GC, Looney DP, Friedl KE. Defining Overweight and Obesity by Percent Body Fat Instead of Body Mass Index. *J Clin Endocrinol Metab*. 2025 Mar 17;110(4):e1103–7.
466. Williams GR, Dunne RF, Giri S, Shachar SS, Caan BJ. Sarcopenia in the Older Adult With Cancer. *J Clin Oncol*. 2021 July 1;39(19):2068–78.
467. Vangelov B, Bauer J, Kotevski D, Smee RI. The use of alternate vertebral levels to L3 in computed tomography scans for skeletal muscle mass evaluation and sarcopenia assessment in patients with cancer: a systematic review. *Br J Nutr*. 2022 Mar 14;127(5):722–35.
468. Derstine BA, Holcombe SA, Wang NC, Ross BE, Sullivan JA, Wang SC, et al. Relative muscle indices and healthy reference values for sarcopenia assessment using T10 through L5 computed tomography skeletal muscle area. *Sci Rep*. 2024 Sept 18;14(1):21799.
469. Yang M, Shen Y, Tan L, Li W. Prognostic Value of Sarcopenia in Lung Cancer. *Chest*. 2019 July;156(1):101–11.
470. 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*. 2019 Feb;10(2):347–51.

471. 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.

472. 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 Oncol*. 2021 Dec 2;60(12):1597–603.

473. Roch B, Coffy A, Jean-Baptiste S, Palaysi E, Daures JP, Pujol JL, et al. Cachexia - sarcopenia as a determinant of disease control rate and survival in non-small lung cancer patients receiving immune-checkpoint inhibitors. *Lung Cancer*. 2020 May;143:19–26.

474. Minami S, Ihara S, Tanaka T, Komuta K. Sarcopenia and Visceral Adiposity Did Not Affect Efficacy of Immune-Checkpoint Inhibitor Monotherapy for Pretreated Patients With Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *World J Oncol*. 2020;11(1):9–22.

475. Bolte FJ, McTavish S, Wakefield N, Shantzer L, Hubbard C, Krishnaraj A, et al. Association of sarcopenia with survival in advanced NSCLC patients receiving concurrent immunotherapy and chemotherapy. *Front Oncol*. 2022 Sept 23;12:986236.

476. Feng Y, Wang L, Guo F, Zhu F, Shi J, Wang Y, et al. Predictive impact of sarcopenia in advanced non-small cell lung cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors: A retrospective study. *Heliyon*. 2024 Mar;10(5):e27282.

477. Petrova MP, Donev IS, Radanova MA, Eneva MI, Dimitrova EG, Valchev GN, et al. Sarcopenia and high NLR are associated with the development of hyperprogressive disease after second-line pembrolizumab in patients with non-small-cell lung cancer. *Clin Exp Immunol*. 2020 Nov 16;202(3):353–62.

478. Casirati A, Vandoni G, Della Valle S, Greco G, Platania M, Colatruglio S, et al. Nutritional status and body composition assessment in patients with a new diagnosis of advanced solid tumour: Exploratory comparison of computed tomography and bioelectrical impedance analysis. *Clin Nutr*. 2021 Mar;40(3):1268–73.

479. Mele MC, Rinninella E, Cintoni M, Pulcini G, Di Donato A, Grassi F, et al. Nutritional Support in Lung Cancer Patients: The State of the Art. *Clin Lung Cancer*. 2021 July;22(4):e584–94.
480. Deng Y, Zhao L, Huang X, Zeng Y, Xiong Z, Zuo M. Contribution of skeletal muscle to cancer immunotherapy: A focus on muscle function, inflammation, and microbiota. *Nutrition*. 2023 Jan;105:111829.
481. Liu Z, Lei T, Guo Y, Zheng C. The impact of sarcopenia on the efficacy of PD-1 inhibitors in non-small cell lung cancer and potential strategies to overcome resistance. *Front Pharmacol*. 2024 July 19;15:1377666.
482. Cortellini A, Bozzetti F, Palumbo P, Brocco D, Di Marino P, Tinari N, et al. Weighing the role of skeletal muscle mass and muscle density in cancer patients receiving PD-1/PD-L1 checkpoint inhibitors: a multicenter real-life study. *Sci Rep*. 2020 Jan 29;10(1):1456.
483. Wang Y, Chen P, Huang J, Liu M, Peng D, Li Z, et al. Assessment of sarcopenia as a predictor of poor overall survival for advanced non-small-cell lung cancer patients receiving salvage anti-PD-1 immunotherapy. *Ann Transl Med*. 2021 Dec;9(24):1801–1801.
484. Ren B, Shen J, Qian Y, Zhou T. Sarcopenia as a Determinant of the Efficacy of Immune Checkpoint Inhibitors in Non-Small Cell Lung Cancer: A Meta-Analysis. *Nutr Cancer*. 2023 Feb 7;75(2):685–95.
485. Li S, Wang T, Tong G, Li X, You D, Cong M. Prognostic Impact of Sarcopenia on Clinical Outcomes in Malignancies Treated With Immune Checkpoint Inhibitors: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Oncol*. 2021 Aug 26;11:726257.
486. Wang M, Yang P, Zhou L, Feng Z. Thoracic Sarcopenia was a Poor Prognostic Predictor in Patients Receiving Immunotherapy for Advanced Non-small-cell Lung Cancer. *Acad Radiol*. 2025 Jan;32(1):526–32.
487. Sahin TK, Guven DC, Ozbay Y, Atak F, Arslan S, İcli MC, et al. Albumin-myosteatosis gauge as a prognostic biomarker in patients treated with immune checkpoint inhibitors. *Immunotherapy*. 2025 June 13;17(9):657–65.

488. Backman M, Strell C, Lindberg A, Mattsson JSM, Elfving H, Brunnström H, et al. Spatial immunophenotyping of the tumour microenvironment in non-small cell lung cancer. *Eur J Cancer*. 2023 May;185:40–52.

489. Lv T, Fan R, Wu J, Gong H, Gao X, Liu X, et al. Tumor-Associated Macrophages: Key Players in the Non-Small Cell Lung Cancer Tumor Microenvironment. *Cancer Med*. 2025 Feb;14(3):e70670.

490. Rakaee M, Busund LTR, Jamaly S, Paulsen EE, Richardsen E, Andersen S, et al. Prognostic Value of Macrophage Phenotypes in Resectable Non-Small Cell Lung Cancer Assessed by Multiplex Immunohistochemistry. *Neoplasia*. 2019 Mar;21(3):282–93.

491. Wu Y, Yuan M, Wang C, Chen Y, Zhang Y, Zhang J. Corrigendum: T lymphocyte cell: A pivotal player in lung cancer. *Front Immunol*. 2023 Feb 21;14:1166352.

492. Pai JA, Hellmann MD, Sauter JL, Mattar M, Rizvi H, Woo HJ, et al. Lineage tracing reveals clonal progenitors and long-term persistence of tumor-specific T cells during immune checkpoint blockade. *Cancer Cell*. 2023 Apr;41(4):776-790.e7.

493. Kraemer AI, Chong C, Huber F, Pak H, Stevenson BJ, Müller M, et al. The immunopeptidome landscape associated with T cell infiltration, inflammation and immune editing in lung cancer. *Nat Cancer*. 2023 May 1;4(5):608–28.

494. Arora S, Singh P, Ahmad S, Ahmad T, Dohare R, Almatroodi SA, et al. Comprehensive Integrative Analysis Reveals the Association of KLF4 with Macrophage Infiltration and Polarization in Lung Cancer Microenvironment. *Cells*. 2021 Aug 14;10(8):2091.

495. Liao L, Wang YX, Fan SS, Hu YY, Wang XC, Zhang X. The role and clinical significance of tumor-associated macrophages in the epithelial–mesenchymal transition of lung cancer. *Front Oncol*. 2025 Apr 15;15:1571583.

496. Sedighzadeh SS, Khoshbin AP, Razi S, Keshavarz-Fathi M, Rezaei N. A narrative review of tumor-associated macrophages in lung cancer: regulation of macrophage polarization and therapeutic implications. *Transl Lung Cancer Res*. 2021 Apr;10(4):1889–916.

497. Tang B, Wang Y, Xu W, Zhu J, Weng Q, Chen W, et al. Macrophage xCT deficiency drives immune activation and boosts responses to immune checkpoint blockade in lung cancer. *Cancer Lett.* 2023 Feb;554:216021.
498. Zhou Y, Qian M, Li J, Ruan L, Wang Y, Cai C, et al. The role of tumor-associated macrophages in lung cancer: From mechanism to small molecule therapy. *Biomed Pharmacother.* 2024 Jan;170:116014.
499. Fujiwara Y, Yano H, Pan C, Shiota T, Komohara Y. Anticancer immune reaction and lymph node sinus macrophages: a review from human and animal studies. *J Clin Exp Hematop.* 2024;64(2):71–8.
500. Li F, Zheng X, Wang X, Xu J, Zhang Q. Macrophage polarization synergizes with oxaliplatin in lung cancer immunotherapy via enhanced tumor cell phagocytosis. *Transl Oncol.* 2021 Nov;14(11):101202.
501. Zhang S, Yu B, Sheng C, Yao C, Liu Y, Wang J, et al. SHISA3 Reprograms Tumor-Associated Macrophages Toward an Antitumoral Phenotype and Enhances Cancer Immunotherapy. *Adv Sci.* 2024 Sept;11(36):2403019.
502. Mildner F, Sopper S, Amann A, Pircher A, Pall G, Köck S, et al. Systematic review: Soluble immunological biomarkers in advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC). *Crit Rev Oncol Hematol.* 2020 Sept;153:102948.
503. Zhao L, Zhang H, Liu X, Xue S, Chen D, Zou J, et al. TGR5 deficiency activates antitumor immunity in non-small cell lung cancer via restraining M2 macrophage polarization. *Acta Pharm Sin B.* 2022 Feb;12(2):787–800.
504. Cao J, Liu C. Mechanistic studies of tumor-associated macrophage immunotherapy. *Front Immunol.* 2024 Sept 30;15:1476565.
505. Dees S, Ganesan R, Singh S, Grewal IS. Regulatory T cell targeting in cancer: Emerging strategies in immunotherapy. *Eur J Immunol.* 2021 Feb;51(2):280–91.
506. Saleh R, Elkord E. FoxP3<sup>+</sup> T regulatory cells in cancer: Prognostic biomarkers and therapeutic targets. *Cancer Lett.* 2020 Oct;490:174–85.

507. O'Callaghan DS, Rexhepaj E, Gately K, Coate L, Delaney D, O'Donnell DM, et al. Tumour islet Foxp3<sup>+</sup> T-cell infiltration predicts poor outcome in nonsmall cell lung cancer. *Eur Respir J*. 2015 Dec;46(6):1762–72.
508. Shang B, Liu Y, Jiang S, Liu Y. Prognostic value of tumor-infiltrating FoxP3<sup>+</sup> regulatory T cells in cancers: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*. 2015 Oct 14;5(1):15179.
509. Wing JB, Tanaka A, Sakaguchi S. Human FOXP3<sup>+</sup> Regulatory T Cell Heterogeneity and Function in Autoimmunity and Cancer. *Immunity*. 2019 Feb;50(2):302–16.
510. Amblard E, Soumelis V. Context-Dependent Effects Explain Divergent Prognostic Roles of Tregs in Cancer. *Cancers*. 2022 June 17;14(12):2991.
511. Shan F, Somasundaram A, Bruno TC, Workman CJ, Vignali DAA. Therapeutic targeting of regulatory T cells in cancer. *Trends Cancer*. 2022 Nov;8(11):944–61.
512. Qiu Y, Ke S, Chen J, Qin Z, Zhang W, Yuan Y, et al. FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells and the immune escape in solid tumours. *Front Immunol*. 2022 Oct 13;13:982986.
513. Shiomi K, Ichinoe M, Ushiwata A, Eshima K, Nagashio R, Hayashi S, et al. Insight into the significance of Foxp3<sup>+</sup> tumor-infiltrating lymphocytes in squamous cell lung cancer. *Clin Transl Oncol*. 2024 Feb 25;26(7):1708–15.
514. Li C, Jiang P, Wei S, Xu X, Wang J. Regulatory T cells in tumor microenvironment: new mechanisms, potential therapeutic strategies and future prospects. *Mol Cancer*. 2020 Dec;19(1):116.
515. Muñoz-Rojas AR, Mathis D. Tissue regulatory T cells: regulatory chameleons. *Nat Rev Immunol*. 2021 Sept;21(9):597–611.
516. Borna Š, Lee E, Nideffer J, Ramachandran A, Wang B, Baker J, et al. Identification of unstable regulatory and autoreactive effector T cells that are expanded in patients with *FOXP3* mutations. *Sci Transl Med*. 2023 Dec 20;15(727):eadg6822.

517. Phillips JD, Knab LM, Blatner NR, Haghi L, DeCamp MM, Meyerson SL, et al. Preferential expansion of pro-inflammatory Tregs in human non-small cell lung cancer. *Cancer Immunol Immunother*. 2015 Sept;64(9):1185–91.

518. Miyao T, Floess S, Setoguchi R, Luche H, Fehling HJ, Waldmann H, et al. Plasticity of Foxp3<sup>+</sup> T Cells Reflects Promiscuous Foxp3 Expression in Conventional T Cells but Not Reprogramming of Regulatory T Cells. *Immunity*. 2012 Feb;36(2):262–75.

519. Zeng DQ, Yu YF, Ou QY, Li XY, Zhong RZ, Xie CM, et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes for clinical therapeutic research in patients with non-small cell lung cancer. *Oncotarget*. 2016 Mar 22;7(12):13765–81.

520. Girard N. In Patients With Early Stage NSCLC Without Driver Mutation After Surgical Resection and Chemotherapy: Adjuvant Atezolizumab Should Only Be Given for Patients With Programmed Death-Ligand 1 Greater Than or Equal to 50%. *J Thorac Oncol*. 2023 Mar;18(3):268–70.

521. Gaiffe E, Colladant M, Desmaret M, Bamoulid J, Leroux F, Laheurte C, et al. Pre-transplant immune profile defined by principal component analysis predicts acute rejection after kidney transplantation. *Front Immunol*. 2023 July 11;14:1192440.

522. Teshima T, Kobayashi Y, Kawai T, Kushihara Y, Nagaoka K, Miyakawa J, et al. Principal component analysis of early immune cell dynamics during pembrolizumab treatment of advanced urothelial carcinoma. *Oncol Lett*. 2022 June 16;24(2):265.

523. Gurevičienė G, Matulionė J, Poškienė L, Miliauskas S, Žemaitis M. PD-L1 Expression and Tumour Microenvironment Patterns in Resected Non-Small-Cell Lung Cancer. *Medicina (Mex)*. 2024 Mar 14;60(3):482.

524. Pirlog R, Chiroi P, Rusu I, Jurj AM, Budisan L, Pop-Bica C, et al. Cellular and Molecular Profiling of Tumor Microenvironment and Early-Stage Lung Cancer. *Int J Mol Sci*. 2022 May 11;23(10):5346.

525. Tuminello S, Petralia F, Veluswamy R, Wang P, Flores R, Taioli E. Prognostic Value of the Tumor Immune Microenvironment for Early-stage, Non-Small Cell Lung Cancer. *Am J Clin Oncol*. 2021 July;44(7):350–5.

526. Abdelfatah E, Long MD, Kajihara R, Oba T, Yamauchi T, Chen H, et al. Predictive and Prognostic Implications of Circulating CX3CR1+ CD8+ T Cells in Non-Small Cell Lung Cancer Patients Treated with Chemo-Immunotherapy. *Cancer Res Commun*. 2023 Mar 30;3(3):510–20.

527. Yang L, Zhang W, Sun J, Yang G, Cai S, Sun F, et al. Functional status and spatial interaction of T cell subsets driven by specific tumor microenvironment correlate with recurrence of non-small cell lung cancer. *Front Immunol*. 2023 Jan 4;13:1022638.

528. Hu C, Zhao L, Liu W, Fan S, Liu J, Liu Y, et al. Genomic profiles and their associations with TMB, PD-L1 expression, and immune cell infiltration landscapes in synchronous multiple primary lung cancers. *J Immunother Cancer*. 2021 Dec;9(12):e003773.

529. Pop-Bica C, Ciocan CA, Braicu C, Haranguş A, Simon M, Nutu A, et al. Next-Generation Sequencing in Lung Cancer Patients: A Comparative Approach in NSCLC and SCLC Mutational Landscapes. *J Pers Med*. 2022 Mar 13;12(3):453.

530. Yadav D, Patil-Takbhate B, Khandagale A, Bhawalkar J, Tripathy S, Khopkar-Kale P. Next-Generation sequencing transforming clinical practice and precision medicine. *Clin Chim Acta*. 2023 Nov;551:117568.

531. Guo G, Li G, Liu Y, Li H, Guo Q, Liu J, et al. Next-Generation Sequencing Reveals High Uncommon EGFR Mutations and Tumour Mutation Burden in a Subgroup of Lung Cancer Patients. *Front Oncol*. 2021 Apr 6;11:621422.

532. Zhang Y, Cheng R, Ding T, Wu J. Discrepancies in PD-L1 expression, lymphocyte infiltration, and tumor mutational burden in non-small cell lung cancer and matched brain metastases. *Transl Lung Cancer Res*. 2024 Dec;13(12):3590–602.

533. Federico L, McGrail DJ, Bentebibel SE, Haymaker C, Ravelli A, Forget MA, et al. Distinct tumor-infiltrating lymphocyte landscapes are associated with clinical outcomes in localized non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2022 Jan;33(1):42–56.

534. Kanemura H, Yokoyama T, Nakajima R, Nakamura A, Kuroda H, Kitamura Y, et al. The Tumor Immune Microenvironment Is Associated With

Recurrence in Early-Stage Lung Adenocarcinoma. *JTO Clin Res Rep*. 2024 Apr;5(4):100658.

535. Sellmer L, Kovács J, Walter J, Kumbrink J, Neumann J, Kauffmann-Guerrero D, et al. Markers of Immune Cell Exhaustion as Predictor of Survival in Surgically-Treated Early-Stage NSCLC. *Front Immunol*. 2022 June 27;13:858212.

536. Dell'Amore A, Bonis A, Melan L, Silvestrin S, Cannone G, Shamshoum F, et al. Microscopical Variables and Tumor Inflammatory Microenvironment Do Not Modify Survival or Recurrence in Stage I-IIA Lung Adenocarcinomas. *Cancers*. 2023 Sept 13;15(18):4542.

537. Terada Y, Isaka M, Ono A, Kawata T, Serizawa M, Mori K, et al. Prognostic significance of tumor microenvironment assessed by machine learning algorithm in surgically resected non-small cell lung cancer. *Cancer Rep*. 2023 Oct 30;e1926.

538. Escudero-Vilaplana V, Collado-Borrell R, De Castro J, Insa A, Martínez A, Fernández E, et al. Cost-effectiveness of adjuvant atezolizumab versus best supportive care in the treatment of patients with resectable early-stage non-small cell lung cancer and overexpression of PD-L1. *J Med Econ*. 2023 Dec 31;26(1):445–53.

539. Li MSC, Mok KKS, Mok TSK. Developments in targeted therapy & immunotherapy—how non-small cell lung cancer management will change in the next decade: a narrative review. *Ann Transl Med*. 2023 Aug;11(10):358–358.

540. Choi S, Kim SH, Lee S, Seo J, Kang M, Jung EH, et al. Association of TP53 Mutation Status and Sex with Clinical Outcome in Non–Small Cell Lung Cancer Treated with Immune Checkpoint Inhibitors: A Retrospective Cohort Study. *Cancer Res Treat*. 2025 Jan 15;57(1):70–82.

541. Zhang L, Zhang T, Shang B, Li Y, Cao Z, Wang H. Prognostic effect of coexisting TP53 and ZFH3 mutations in non-small cell lung cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors. *Scand J Immunol*. 2021 Sept;94(3):e13087.

542. Liu F, Zhang X, Lu M, Liu C, Zhang X, Chu Q, et al. The association of genomic alterations with PD-L1 expression in Chinese patients with EGFR / ALK

wild-type lung adenocarcinoma and potential predictive value of Hippo pathway mutations to immunotherapy. *Cancer Med.* 2024 Feb;13(3):e7038.

543. 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.

544. Mathiot L, Nigen B, Goronflot T, Huret S, Doucet L, Pons-Tostivint E, et al. Prognostic Impact of TP53 Mutations in Metastatic Nonsquamous Non-small-cell Lung Cancer. *Clin Lung Cancer.* 2024 May;25(3):244-253.e2.

545. Assoun S, Theou-Anton N, Nguenang M, Cazes A, Danel C, Abbar B, et al. Association of TP53 mutations with response and longer survival under immune checkpoint inhibitors in advanced non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer.* 2019 June;132:65–71.

546. Olivares-Hernández A, Del Barco Morillo E, Miramontes-González JP, Figuero-Pérez L, Pérez-Belmonte L, Martín-Vallejo J, et al. Immunohistochemical Assessment of the P53 Protein as a Predictor of Non-Small Cell Lung Cancer Response to Immunotherapy. *Front Biosci-Landmark.* 2022 Mar 8;27(3):88.

547. Mitsudomi T, Oyama T, Nishida K, Ogami A, Osaki T, Nakanishi R, et al. p53 nuclear immunostaining and gene mutations in non-small-cell lung cancer and their effects on patient survival. *Ann Oncol.* 1995;6:S9–13.

548. De Giglio A, De Biase D, Favorito V, Maloberti T, Di Federico A, Zacchini F, et al. STK11 mutations correlate with poor prognosis for advanced NSCLC treated with first-line immunotherapy or chemo-immunotherapy according to KRAS, TP53, KEAP1, and SMARCA4 status. *Lung Cancer.* 2025 Jan;199:108058.

549. Provencio-Pulla M, Pérez-Parente D, Olson S, Hasan H, Balea BC, Rodríguez-Abreu D, et al. Identification of non-actionable mutations with prognostic and predictive value in patients with advanced or metastatic non-small cell lung cancer. *Clin Transl Oncol.* 2024 Jan 6;26(6):1384–94.

550. Liu L, Li F, Zhao J, Zhuo X, Lai J, Wang J, et al. The Real-world Therapeutic Analysis of First-line Immunotherapy in Chinese Patients with Drive Gene Positive for Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *J Cancer.* 2023;14(6):952–65.

551. Zhao L, Qu X, Wu Z, Li Y, Zhang X, Guo W. TP53 somatic mutations are associated with poor survival in non-small cell lung cancer patients who undergo immunotherapy. *Aging*. 2020 July 22;12(14):14556–68.

552. Eichhorn F, Klotz LV, Bischoff H, Thomas M, Lasitschka F, Winter H, et al. Neoadjuvant anti-programmed Death-1 immunotherapy by Pembrolizumab in resectable nodal positive stage II/IIIa non-small-cell lung cancer (NSCLC): the NEOMUN trial. *BMC Cancer*. 2019 Dec;19(1):413.

553. Saleh MM, Scheffler M, Merkelbach-Bruse S, Scheel AH, Ulmer B, Wolf J, et al. Comprehensive Analysis of TP53 and KEAP1 Mutations and Their Impact on Survival in Localized- and Advanced-Stage NSCLC. *J Thorac Oncol*. 2022 Jan;17(1):76–88.

554. Li Y, Li C, Jiang Y, Han X, Liu S, Xu X, et al. Correlation of PD-L1 Expression with Clinicopathological and Genomic Features in Chinese Non-Small-Cell Lung Cancer. Lee G, editor. *J Oncol*. 2022 Apr 11;2022:1–10.

555. Wang S, Jiang M, Yang Z, Huang X, Li N. The role of distinct co-mutation patterns with TP53 mutation in immunotherapy for NSCLC. *Genes Dis*. 2022 Jan;9(1):245–51.

556. Tomita N, Tafe LJ, Suriawinata AA, Tsongalis GJ, Nasir-Moin M, Dragnev K, et al. Predicting oncogene mutations of lung cancer using deep learning and histopathologic features on whole-slide images. *Transl Oncol*. 2022 Oct;24:101494.

557. Zhou RX, Liao HJ, Hu JJ, Xiong H, Cai XY, Ye DW. Global Burden of Lung Cancer Attributable to Household Fine Particulate Matter Pollution in 204 Countries and Territories, 1990 to 2019. *J Thorac Oncol*. 2024 June;19(6):883–97.

558. Lin H, Zhang X, Feng Y, Gong Z, Li J, Wang W, et al. Advancing lung adenocarcinoma prognosis and immunotherapy prediction with a multi-omics consensus machine learning approach. *J Cell Mol Med*. 2024 July;28(13):e18520.

559. Liu Y, Zhang X, Pang Z, Wang Y, Zheng H, Wang G, et al. Prediction of prognosis and immunotherapy efficacy based on metabolic landscape in lung

adenocarcinoma by bulk, single-cell RNA sequencing and Mendelian randomization analyses. *Aging*. 2024 May 30;16(10):8772–809.

560. Ricciuti B, Arbour KC, Lin JJ, Vajdi A, Vokes N, Hong L, et al. Diminished Efficacy of Programmed Death-(Ligand)1 Inhibition in STK11- and KEAP1-Mutant Lung Adenocarcinoma Is Affected by KRAS Mutation Status. *J Thorac Oncol*. 2022 Mar;17(3):399–410.

561. Pons-Tostivint E, Lugat A, Fontenau JF, Denis MG, Bennouna J. STK11/LKB1 Modulation of the Immune Response in Lung Cancer: From Biology to Therapeutic Impact. *Cells*. 2021 Nov 11;10(11):3129.

562. Liu J, Gao J. Efficacy of immunotherapy as second-line or later-line therapy and prognostic significance of KRAS or TP53 mutations in advanced non-small cell lung cancer patients. *Eur J Cancer Prev*. 2023 Nov;32(6):590–9.

563. Budczies J, Romanovsky E, Kirchner M, Neumann O, Blasi M, Schnorbach J, et al. KRAS and TP53 co-mutation predicts benefit of immune checkpoint blockade in lung adenocarcinoma. *Br J Cancer*. 2024 Aug 24;131(3):524–33.

564. Ricciuti B, Lamberti G, Puchala SR, Mahadevan NR, Lin JR, Alessi JV, et al. Genomic and Immunophenotypic Landscape of Acquired Resistance to PD-(L)1 Blockade in Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol*. 2024 Apr 10;42(11):1311–21.

565. Knetki-Wróblewska M, Wojas-Krawczyk K, Krawczyk P, Krzakowski M. Emerging insights into STK11, KEAP1 and KRAS mutations: implications for immunotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Transl Lung Cancer Res*. 2024 Dec;13(12):3718–30.

566. 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*. 2023 Sept;149(12):10027–40.

567. Van De Haar J, Mankor JM, Hummelink K, Monkhorst K, Smit EF, Wessels LFA, et al. Combining Genomic Biomarkers to Guide Immunotherapy in Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res*. 2024 Apr 1;30(7):1307–18.

568. Lin H, Hua J, Wang Y, Chen M, Liang Y, Yan L, et al. Prognostic and predictive values of a multimodal nomogram incorporating tumor and peritumor morphology with immune status in resectable lung adenocarcinoma. *J Immunother Cancer*. 2025 Mar;13(3):e010723.

569. Lui K, Cheung KK, Ng WWM, Wang Y, Au DWH, Cho WC. The Impact of Genetic Mutations on the Efficacy of Immunotherapies in Lung Cancer. *Int J Mol Sci*. 2024 Nov 7;25(22):11954.

570. Zhao J, Bao W, Cai W. Immune Infiltration Landscape in Lung Squamous Cell Carcinoma Implications. Huang T, editor. *BioMed Res Int*. 2020 Jan;2020(1):5981870.

571. Xu Y, Li H, Huang Z, Chen K, Yu X, Sheng J, et al. Predictive values of genomic variation, tumor mutational burden, and PD-L1 expression in advanced lung squamous cell carcinoma treated with immunotherapy. *Transl Lung Cancer Res*. 2020 Dec;9(6):2367–2367.

572. Paik PK, Fan PD, Qeriqi B, Namakydoust A, Daly B, Ahn L, et al. Targeting NFE2L2/KEAP1 Mutations in Advanced NSCLC With the TORC1/2 Inhibitor TAK-228. *J Thorac Oncol*. 2023 Apr;18(4):516–26.

573. Wang D, Wang Y, Peng Y, Peng L. Utilizing multi-omics analysis, a new signature has been identified and validated for predicting prognosis and response to immunotherapy in lung squamous cell carcinoma, which is based on tumor mutation burden. *Discov Oncol*. 2025 Apr 16;16(1):539.

574. Deng X, Wang Z, Luo Y, Li Z, Chen L. Prediction of lung squamous cell carcinoma immune microenvironment and immunotherapy efficiency with pyroptosis-derived genes. *Medicine (Baltimore)*. 2022 Sept 16;101(37):e30304.

575. Hellyer JA, Padda SK, Diehn M, Wakelee HA. Clinical Implications of KEAP1-NFE2L2 Mutations in NSCLC. *J Thorac Oncol*. 2021 Mar;16(3):395–403.

576. Su C, Wang X, Zhou J, Zhao J, Zhou F, Zhao G, et al. Titin mutation in circulatory tumor DNA is associated with efficacy to immune checkpoint blockade in advanced non-small cell lung cancer. *Transl Lung Cancer Res*. 2021 Mar;10(3):1256–65.

577. Ying K, Zou L, Wang D, Wang R, Qian J. Co-mutation of TP53 and TTN is Correlated with the Efficacy of Immunotherapy in Lung Squamous Cell Carcinoma. *Comb Chem High Throughput Screen*. 2024 Nov;27(18):2699–711.

578. Zou S, Ye J, Hu S, Wei Y, Xu J. Mutations in the TTN Gene are a Prognostic Factor for Patients with Lung Squamous Cell Carcinomas. *Int J Gen Med*. 2022 Jan;Volume 15:19–31.

579. Xie X, Tang Y, Sheng J, Shu P, Zhu X, Cai X, et al. Titin Mutation Is Associated With Tumor Mutation Burden and Promotes Antitumor Immunity in Lung Squamous Cell Carcinoma. *Front Cell Dev Biol*. 2021 Oct 21;9:761758.

580. Fan Z, Zhang Q, Feng L, Wang L, Zhou X, Han J, et al. Genomic landscape and prognosis of patients with TP53-mutated non-small cell lung cancer. *Ann Transl Med*. 2022 Feb;10(4):188–188.

581. Yu J, Fan Z, Zhou Z, Zhang P, Bai J, Li X, et al. TP53 and LRP1B Co-Wild Predicts Improved Survival for Patients with LUSC Receiving Anti-PD-L1 Immunotherapy. *Cancers*. 2022 July 12;14(14):3382.

582. Yang L, Wei S, Zhang J, Hu Q, Hu W, Cao M, et al. Construction of a predictive model for immunotherapy efficacy in lung squamous cell carcinoma based on the degree of tumor-infiltrating immune cells and molecular typing. *J Transl Med*. 2022 Aug 12;20(1):364.

583. Wang J, Zhu J, Tang Y, Zhang A, Zhou T, Zhou Y, et al. Characteristic of Molecular Subtypes in Lung Squamous Cell Carcinoma Based on Autophagy-Related Genes and Tumor Microenvironment Infiltration. Liu X, editor. *J Oncol*. 2022 Sept 13;2022:1–18.

584. Sánchez-Ortega M, Garrido A, Cirauqui C, Sanz-Gonzalez L, Hernández MC, González-García A, et al. A potential therapeutic strategy based on acute oxidative stress induction for wild-type NRF2/KEAP1 lung squamous cell carcinoma. *Redox Biol*. 2024 Sept;75:103305.

585. Huang Q, Zhou Y, Wang B, Zhao Y, Zhang F, Ding B. Mutational landscape of pan-cancer patients with PIK3CA alterations in Chinese population. *BMC Med Genomics*. 2022 Dec;15(1):146.

586. Cokpinar S, Erdogdu IH, Orenay-Boyacioglu S, Boyacioglu O, Kahraman-Cetin N, Meteoglu I. PIK3CA Mutations and Co-Mutations in Operated Non-Small Cell Lung Carcinoma. *J Clin Med*. 2024 Dec 8;13(23):7472.
587. Tao W, Sun Q, Xu B, Wang R. Towards the Prediction of Responses to Cancer Immunotherapy: A Multi-Omics Review. *Life*. 2025 Feb 12;15(2):283.
588. Wei X, Ruan H, Zhang Y, Qin T, Zhang Y, Qin Y, et al. Pan-cancer analysis of IFN- $\gamma$  with possible immunotherapeutic significance: a verification of single-cell sequencing and bulk omics research. *Front Immunol*. 2023 Aug 14;14:1202150.
589. Yuan Z, Yu T, Wang X, Meng K, Wang T, Wang B, et al. Glutamine deprivation confers immunotherapy resistance by inhibiting IFN- $\gamma$  signaling in cancer cells. *Pharmacol Res*. 2025 Mar;213:107643.
590. Ayers M, Lunceford J, Nebozhyn M, Murphy E, Loboda A, Kaufman DR, et al. IFN- $\gamma$ -related mRNA profile predicts clinical response to PD-1 blockade. *J Clin Invest*. 2017 June 26;127(8):2930–40.
591. Zagorulya M, Yim L, Morgan DM, Edwards A, Torres-Mejia E, Momin N, et al. Tissue-specific abundance of interferon-gamma drives regulatory T cells to restrain DC1-mediated priming of cytotoxic T cells against lung cancer. *Immunity*. 2023 Feb;56(2):386-405.e10.
592. Tao Q, Liu N, Wu J, Chen J, Chen X, Peng C. Mefloquine enhances the efficacy of anti-PD-1 immunotherapy via IFN- $\gamma$ -STAT1-IRF1-LPCAT3-induced ferroptosis in tumors. *J Immunother Cancer*. 2024 Mar;12(3):e008554.
593. Fang C, Weng T, Hu S, Yuan Z, Xiong H, Huang B, et al. IFN- $\gamma$ -induced ER stress impairs autophagy and triggers apoptosis in lung cancer cells. *OncoImmunology*. 2021 Jan;10(1):1962591.
594. Cai Z, Meng K, Yu T, Xi Y, Yuan Z, Wang X, et al. IFN- $\gamma$ -mediated suppression of ANGPT2-Tie2 in endothelial cells facilitates tumor vascular normalization during immunotherapy. *Front Immunol*. 2025 Apr 30;16:1551322.
595. Cao Z, Meng Z, Li J, Tian Y, Lu L, Wang A, et al. Interferon- $\gamma$ -stimulated antigen-presenting cancer-associated fibroblasts hinder neoadjuvant chemoimmunotherapy efficacy in lung cancer. *Cell Rep Med*. 2025 Mar;6(3):102017.

596. Sun H, Liu SY, Zhou JY, Xu JT, Zhang HK, Yan HH, et al. Specific TP53 subtype as biomarker for immune checkpoint inhibitors in lung adenocarcinoma. *EBioMedicine*. 2020 Oct;60:102990.
597. Madeddu C, Donisi C, Liscia N, Lai E, Scartozzi M, Macciò A. EGFR-Mutated Non-Small Cell Lung Cancer and Resistance to Immunotherapy: Role of the Tumor Microenvironment. *Int J Mol Sci*. 2022 June 10;23(12):6489.
598. Hu WT, Zhang Q, Zhang Z, He X, Zhou M, Guo Y, et al. Eosinophil and IFN- $\gamma$  associated with immune-related adverse events as prognostic markers in patients with non-small cell lung cancer treated with immunotherapy. *Front Immunol*. 2023 Mar 6;14:1112409.
599. De Marchi P, Leal LF, Da Silva LS, Cavagna RDO, Da Silva FAF, Da Silva VD, et al. Gene expression profiles (GEPs) of immuno-oncologic pathways as predictors of response to checkpoint inhibitors in advanced NSCLC. *Transl Oncol*. 2024 Jan;39:101818.
600. Tanagala KKK, Morin-Baxter J, Carvajal R, Cheema M, Dubey S, Nakagawa H, et al. SP140 inhibits STAT1 signaling, induces IFN- $\gamma$  in tumor-associated macrophages, and is a predictive biomarker of immunotherapy response. *J Immunother Cancer*. 2022 Dec;10(12):e005088.
601. Wojas-Krawczyk K, Kubiowski T. Imperfect Predictors for Lung Cancer Immunotherapy—A Field for Further Research. *Front Oncol*. 2020 Nov 30;10:568174.
602. Bi G, Chen Z, Yang X, Liang J, Hu Z, Bian Y, et al. Identification and validation of tumor environment phenotypes in lung adenocarcinoma by integrative genome-scale analysis. *Cancer Immunol Immunother*. 2020 July;69(7):1293–305.
603. Dai X, Lu L, Deng S, Meng J, Wan C, Huang J, et al. USP7 targeting modulates anti-tumor immune response by reprogramming Tumor-associated Macrophages in Lung Cancer. *Theranostics*. 2020;10(20):9332–47.
604. Xu Z, Qin F, Yuan L, Wei J, Sun Y, Qin J, et al. EGFR DNA Methylation Correlates With EGFR Expression, Immune Cell Infiltration, and Overall Survival in Lung Adenocarcinoma. *Front Oncol*. 2021 Aug 10;11:691915.

605. Zhao N, Yi Y, Cao W, Fu X, Mei N, Li C. Serum cytokine levels for predicting immune-related adverse events and the clinical response in lung cancer treated with immunotherapy. *Front Oncol.* 2022 Aug 24;12:923531.
606. Nuñez NG, Berner F, Friebel E, Unger S, Wyss N, Gomez JM, et al. Immune signatures predict development of autoimmune toxicity in patients with cancer treated with immune checkpoint inhibitors. *Med.* 2023 Feb;4(2):113-129.e7.
607. Ren YF, Ma Q, Zeng X, Huang CX, Ren JL, Li F, et al. Single-cell RNA sequencing reveals immune microenvironment niche transitions during the invasive and metastatic processes of ground-glass nodules and part-solid nodules in lung adenocarcinoma. *Mol Cancer.* 2024 Nov 23;23(1):263.
608. Han T, Liu Y, Wu J, Bai Y, Zhou J, Hu C, et al. An immune indicator based on BTK and DPEP2 identifies hot and cold tumors and clinical treatment outcomes in lung adenocarcinoma. *Sci Rep.* 2023 Mar 29;13(1):5153.
609. Härkönen J, Pölönen P, Deen AJ, Selvarajan I, Teppo HR, Dimova EY, et al. A pan-cancer analysis shows immunoevasive characteristics in NRF2 hyperactive squamous malignancies. *Redox Biol.* 2023 May;61:102644.
610. Alburquerque-Bejar JJ, Navajas-Chocarro P, Saigi M, Ferrero-Andres A, Morillas JM, Vilarrubi A, et al. MYC activation impairs cell-intrinsic IFN $\gamma$  signaling and confers resistance to anti-PD1/PD-L1 therapy in lung cancer. *Cell Rep Med.* 2023 Apr;4(4):101006.
611. Papalexli E, Mimitou EP, Butler AW, Foster S, Bracken B, Mauck WM, et al. Characterizing the molecular regulation of inhibitory immune checkpoints with multimodal single-cell screens. *Nat Genet.* 2021 Mar;53(3):322–31.
612. Xu K, Ma J, Hall SRR, Peng RW, Yang H, Yao F. Battles against aberrant KEAP1-NRF2 signaling in lung cancer: intertwined metabolic and immune networks. *Theranostics.* 2023;13(2):704–23.
613. He M, He Q, Cai X, Liu J, Deng H, Li F, et al. Intratumoral tertiary lymphoid structure (TLS) maturation is influenced by draining lymph nodes of lung cancer. *J Immunother Cancer.* 2023 Apr;11(4):e005539.

614. Yin S, Yu Y, Wu N, Zhuo M, Wang Y, Niu Y, et al. Patient-derived tumor-like cell clusters for personalized chemo- and immunotherapies in non-small cell lung cancer. *Cell Stem Cell*. 2024 May;31(5):717-733.e8.
615. Shi L, Lu J, Zhong D, Song M, Liu J, You W, et al. Clinicopathological and predictive value of MAIT cells in non-small cell lung cancer for immunotherapy. *J Immunother Cancer*. 2023 Jan;11(1):e005902.
616. Robles-Oteíza C, Hastings K, Choi J, Sirois I, Ravi A, Expósito F, et al. Hypoxia is linked to acquired resistance to immune checkpoint inhibitors in lung cancer. *J Exp Med*. 2025 Jan 6;222(1):e20231106.
617. Liu Z, Zhao X, Wang R, Tang X, Zhao Y, Zhong G, et al. Heterogeneous pattern of gene expression driven by TTN mutation is involved in the construction of a prognosis model of lung squamous cell carcinoma. *Front Oncol*. 2023 Mar 23;13:916568.
618. Qi G, Li L. LncRNA TTN-AS1 Promotes Progression of Non-Small Cell Lung Cancer via Regulating miR-491-5p/ZNF503 Axis. *OncoTargets Ther*. 2020 July;Volume 13:6361–71.
619. Zheng W, Zhu T, Tang L, Li Z, Jiang G, Huang X. Inhalable CAR-T cell-derived exosomes as paclitaxel carriers for treating lung cancer. *J Transl Med*. 2023 June 12;21(1):383.
620. De Giglio A, Tassinari E, Zappi A, Di Federico A, Lenzi B, Sperandi F, et al. The Palliative Prognostic (PaP) Score without Clinical Evaluation Predicts Early Mortality among Advanced NSCLC Patients Treated with Immunotherapy. *Cancers*. 2022 Nov 27;14(23):5845.
621. Saal J, Eckstein M, Ritter M, Brossart P, Hölzel M, Grünwald V, et al. The modified Glasgow Prognostic Score (mGPS) can guide decisions for immunotherapy treatment beyond progression. *Eur J Cancer*. 2025 Jan;215:115163.
622. Kasajima M, Igawa S, Manaka H, Yamada K, Akazawa Y, Manabe H, et al. The Glasgow Prognostic Score Predicts Outcomes of Pembrolizumab or Atezolizumab Monotherapy in Patients with Pretreated Non-Small Cell Lung Cancer. *Oncology*. 2023;101(1):69–76.

623. Tanaka S, Uchino J, Yokoi T, Kijima T, Goto Y, Suga Y, et al. Prognostic Nutritional Index and Lung Immune Prognostic Index as Prognostic Predictors for Combination Therapies of Immune Checkpoint Inhibitors and Cytotoxic Anticancer Chemotherapy for Patients with Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *Diagnostics*. 2022 Feb 6;12(2):423.

624. Veccia A, Dipasquale M, Kinspergher S, Caffo O. Prognostic Role of Inflammatory and Nutritional Biomarkers in Non-Small-Cell Lung Cancer Patients Treated with Immune Checkpoint Inhibitors Alone or in Combination with Chemotherapy as First-Line. *Cancers*. 2024 Nov 19;16(22):3871.

625. Chitoran E, Rotaru V, Gelal A, Ionescu SO, Gullo G, Stefan DC, et al. Using Artificial Intelligence to Develop Clinical Decision Support Systems—The Evolving Road of Personalized Oncologic Therapy. *Diagnostics*. 2025 Sept 19;15(18):2391.

626. Kotoulas SC, Spyratos D, Porpodis K, Domvri K, Boutou A, Kaimakamis E, et al. A Thorough Review of the Clinical Applications of Artificial Intelligence in Lung Cancer. *Cancers*. 2025 Mar 4;17(5):882.

627. Kozakov D, Kobylak N, Livshun S, Seleznov O, Koshyk O, Matvieieva A, et al. Genetic alterations affect immune contexture of non-small cell lung cancer: Ukrainian study. *Front Med*. 2025 July 30;12:1558016.

628. Moskalenko J, Vynnychenko O, Sulaieva O, Moskalenko R. The role of next-generation sequencing in lung cancer diagnosis. *East Ukr Med J*. 2023;11(3):214–23.

629. Moskalenko Y, Smorodska O, Deineka V, Kravets O, Moskalenko R. Prognostic factors for recurrence in patients with surgically resected non-small cell lung cancer. *Współczesna Onkol*. 2022;26(3):239–46.

630. Smorodska O, Moskalenko Y, Kononenko M, Ivanov S. Inflammation indexes as predictors of recurrence in patients with surgically resected non-small cell lung cancer. *East Ukr Med J*. 2022;10(4):379–88.

631. Moskalenko YuV, Kozakov DS, Livshun SS, Panko MI, Sulaieva OM. Association of genetic alterations in the EGFR and ALK genes with PD-L1 expression in non-small cell lung cancer. *Biopolym Cell*. 2024;40(3):199.

632. Москаленко Ю., Погорєлов М. Прогностична роль STAT6 у пацієнтів з недрібноклітинним раком легень. In: Восьма всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології»: матеріали. 6–8 листопада 2024 р., м. Дніпро: ДДМУ, 2024; р. 100–2.

633. Москаленко Ю., Смородська О., Бондаренко Л., Кадурін М. Оніхолізіс як наслідок токсичного впливу інгібіторів імунних контрольних точок. In: XIV з'їзд онкологів та радіологів України: матеріали. 30 вересня–2 жовтня 2021р., м. Київ: Національний інститут раку, 2021; р. 282–4.

634. Смородська О., Москаленко Ю. Індекси системної запальної реакції як фактор прогнозу рецидиву раку легень. In: Міжнародна науково-практична конференція «Молодіжна наука заради миру та розвитку»: матеріали. 9–11 листопада 2022 р., м. Чернівці: ЧНУ ім. Ю. Федьковича, 2022; р. 62–4.

**ДОДАТОК А**  
**СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ**  
**ДИСЕРТАЦІЇ**

**Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:**

*Статті, опубліковані в наукових журналах, внесених до наукометричних баз Scopus або Web of Science*

1. Moskalenko Y, Kovchun V, Bohdanov A, Budko V. Subcutaneous adipose tissue radiodensity as a prognostic marker in metastatic non-small cell lung cancer treated with immune checkpoint inhibitors. *Contemporary Oncology/Współczesna Onkologia*. 2026;30(1): 1-9. <https://doi.org/10.5114/wo.2026.159311>. *(Особистий внесок здобувача: розробка дизайну дослідження, відбір КТ-сканів для проведення дослідження, статистична обробка результатів візуалізаційних досліджень, написання тексту статті, формулювання висновків).*

2. Moskalenko YuV, Bohdanov AM, Budko VV. Smoking as a predictor of immune checkpoint inhibitor efficacy in metastatic non-small cell lung cancer patients. *East Ukr Med J*. 2025; 13(4): 1168–1176. [https://doi.org/10.21272/eumj.2025;13\(4\):1168-1176](https://doi.org/10.21272/eumj.2025;13(4):1168-1176). *(Особистий внесок здобувача: розробка дизайну дослідження, опрацювання даних первинної медичної документації, збір клінічних даних, літературний пошук, статистичний аналіз, підготовка статті до публікації).*

3. Moskalenko Y, Kovchun V, Vynnychenko I, Moskalenko R. Association of skeletal muscle radiodensity and skeletal muscle index with immunotherapy response in metastatic non-small cell lung cancer. *Muscles* 2025; 4(4):51. <https://doi.org/10.3390/muscles4040051>. *(Особистий внесок здобувача: формування досліджуваної когорти пацієнтів, розробка дизайну дослідження, відбір КТ-сканів, статистична обробка результатів візуалізаційних досліджень, аналіз літературних джерел, написання тексту статті та формулювання висновків).*

4. Moskalenko Y, Moskalenko R. Prognostic significance of immune phenotypes in patients with metastatic non-small cell lung cancer. The journal of V. N. Karazin National University. Series Medicine. 2025;33(5):689-702. (*Особистий внесок здобувача: розробка дизайну дослідження, формування досліджуваної когорти, аналіз результатів морфологічного та імуногістохімічного дослідження, статистична обробка та узагальнення отриманих результатів, написання тексту статті*).

5. Moskalenko Y, Yazykov O, Vasylieva O, Smiiian K, Ivakhniuk T, Budko H, Moskalenko R. The Impact of Age on the Effectiveness of Immune Checkpoint Inhibitors Therapy in Patients with Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer. Geriatrics (Basel). 2025;10(4):85. doi: 10.3390/geriatrics10040085. (*Особистий внесок здобувача: формування досліджуваної когорти пацієнтів, розробка дизайну дослідження, статистична обробка отриманих даних, аналіз літературних джерел та написання тексту статті*).

6. Moskalenko YV. IFN $\gamma$ -associated gene signature as a potential prognostic biomarker of survival and immunotherapy response in lung adenocarcinoma. The journal of V. N. Karazin National University. Series Medicine. 2025;33(4):510-522. <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-55-02>.

7. Moskalenko Y, Hyriavenko N, Derevianko T. Immunogenomic stratification of the tumor microenvironment in surgically treated non-small cell lung cancer: A Ukrainian single-center experience. Regul. Mech. Biosyst. 2025;16(3):e25136. <https://doi.org/10.15421/0225136>. (*Особистий внесок здобувача: розробка дизайну дослідження, статистичний аналіз результатів імуногістохімічного дослідження, формулювання висновків, підготовка статті до публікації*).

8. Moskalenko Y, Kovchun V, Bohdanov A, Budko V, Yazykov O. Visceral Adipose Tissue Radiodensity as a Potential Biomarker of Immunotherapy Efficacy in Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer Patients. Galician med. j. 2025;32(3):e-GMJ2025-A21. <https://doi.org/10.21802/e-GMJ2025-A21>. (*Особистий внесок здобувача: добір пацієнтів для участі у дослідженні, розробка дизайну*

дослідження, відбір КТ-сканів, статистична обробка результатів візуалізаційних досліджень, аналіз літературних джерел та написання тексту статті).

9. Kozakov D, Kobyliak N, Livshun S, Seleznov O, Koshyk O, Matvieieva A, Shparyk Y, Kolesnik O, Moskalenko Y, Vynnychenko O, Moskalenko R, Kropyvko S, Khmel A, Shkarupii B, Sulaieva O. Genetic alterations affect immune contexture of non-small cell lung cancer: Ukrainian study. *Front Med (Lausanne)*. 2025;12:1558016. doi: 10.3389/fmed.2025.1558016. *(Особистий внесок здобувача: збір зразків пухлинної тканини для молекулярно-генетичного аналізу, написання підрозділу статті)*.

10. Moskalenko Y., Kravets O., Kovchun V. Clinical outcomes of concurrent use of corticosteroids and immune checkpoint inhibitors in oncology. *Regul Mech Biosyst*. 2025;16(2):e25062. <https://doi.org/10.15421/0225062>. *(Особистий внесок здобувача: формування досліджуваної когорти пацієнтів, опрацювання первинної медичної документації, розробка дизайну дослідження, аналіз отриманих даних, підготовка статті до публікації)*.

11. Moskalenko YV. The role of novel risk-scoring systems in predicting the efficacy of immunotherapy. *The journal of V. N. Karazin National University. Series Medicine*. 2025;33(1):59–68. <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-52-05>.

12. Vynnychenko OI, Moskalenko YV, Moskalenko RA, Dudnichenko OS, Rysovana LM, Hrankina SS. A single-center, cohort study of the mutational profile of Ukrainian patients with non-small cell lung cancer. *Ukr J Radiol Oncol*. 2024; 32(4): 504–517. doi: <https://doi.org/10.46879/ukroj.4.2024.504-517>. *(Особистий внесок здобувача: розробка дизайну дослідження, участь у проведенні молекулярно-генетичного дослідження та написанні тексту статті)*.

13. Moskalenko Y. Biological mechanisms of resistance to immune checkpoint inhibitors and overcoming this resistance: Challenges in medical oncology. *Regul. Mech. Biosyst*. 2024;15(1):83-91. <https://doi.org/10.15421/022412>.

14. Moskalenko YuV, Vynnychenko OI, Sulaieva OM, Moskalenko RA. The role of next-generation sequencing in lung cancer diagnosis. *EUMJ*. 2023; 11(3): 214–

223. doi: [https://doi.org/10.21272/eumj.2023;11\(3\):214-223](https://doi.org/10.21272/eumj.2023;11(3):214-223) (*Особистий внесок здобувача: аналіз літературних джерел, написання підрозділів статті*).

15. Smorodska O, Moskalenko Y, Kononenko M, Ivanov S. Inflammation indexes as predictors of disease recurrence in patients with surgically resected non-small cell lung cancer. *East Ukr Med J.* 2022;10(4):379-388 doi: [https://doi.org/10.21272/eumj.2022;10\(4\):379-388](https://doi.org/10.21272/eumj.2022;10(4):379-388). (*Особистий внесок здобувача: аналіз результатів лабораторних досліджень, узагальнення отриманих результатів, підготовка рукопису до публікації*).

16. Moskalenko Y, Smorodska O, Deineka V, Kravets O, Moskalenko R. Prognostic factors for recurrence in patients with surgically resected non-small cell lung cancer. *Contemporary Oncology/Współczesna Onkologia.* 2022;26(3):239-246. doi:10.5114/wo.2022.120638. (*Особистий внесок здобувача: розробка дизайну дослідження, формування когорти пацієнтів, написання тексту статті, формулювання висновків*).

*Статті, опубліковані в наукових фахових виданнях, затверджених Міністерством освіти і науки України:*

17. Moskalenko Y, Hyriavenko N. Timing of infusion and immunotherapy efficacy in metastatic non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Buk Med Herald.* 2025;29(4):89–94. doi:10.24061/2413-0737.29.4.116.2025.15. (*Особистий внесок здобувача: відбір публікацій для проведення мета-аналізу, статистична обробка та аналіз отриманих результатів, підготовка статті до друку*).

18. Moskalenko YV. Blood count test for predicting the efficacy of immune checkpoint inhibitors. *Art of Med.* 2025;4(36):26–32. doi:10.21802/artm.2025.4.36.26.

19. Moskalenko YV. Prognostic value of IFN $\gamma$ -associated genes signature in lung squamous cell carcinoma: TCGA-based analysis. *Art of Med.* 2025;3(35):58–64. doi:10.21802/artm.2025.3.35.58.

20. Moskalenko Y, Hyriavenko N. Prognostic significance of TP53 and PD-L1 depending on the type of adjuvant therapy in patients with non-small cell lung cancer.

Buk Med Herald. 2025;29(3):17–22. doi:10.24061/2413-0737.29.3.115.2025.3. *(Особистий внесок здобувача: формування досліджуваної когорти, відбір зразків пухлинної тканини для проведення імуногістохімічного дослідження, статистична обробка та аналіз отриманих результатів, підготовка статті до друку).*

21. Moskalenko Yu, Kovchun V. Molecular and immune predictors of survival in lung squamous cell carcinoma: A TCGA-based analysis. Bull Med Biol Res. 2025;7(3):26–36. doi:10.63341/bmbr/3.2025.26. *(Особистий внесок здобувача: формування досліджуваної когорти, збір даних з відкритих онкологічних репозиторіїв, статистична обробка та аналіз отриманих результатів, написання тексту статті).*

22. Moskalenko Y, Moskalenko R. Regulatory T cells as predictor of immunotherapy response in patients with metastatic non-small cell lung cancer. Act. Probl. of the Modern Med. 2025;25(3):48-3. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.25.3.48>. *(Особистий внесок здобувача: формування досліджуваної когорти, відбір зразків пухлинної тканини для проведення імуногістохімічного дослідження, статистична обробка та аналіз отриманих результатів, формулювання висновків та написання тексту статті).*

23. Moskalenko Y, Kovchun V, Gyriavenko N. Immune subtype as a moderator of the prognostic significance of mutations in lung adenocarcinoma: a TCGA data analysis. Arch. clin. med. 2025;31(2):16–22. <https://doi.org/10.21802/acm.2025.2.1>. *(Особистий внесок здобувача: формування досліджуваної когорти, збір даних з відкритих онкологічних репозиторіїв, статистичний аналіз отриманих результатів, написання тексту статті).*

24. Moskalenko YV, Vynnychenko IO, Smorodska OM, Vynnychenko OI, Moskalenko RA. PD-L1 testing as a way of personalizing the treatment of non-small cell lung cancer. Likars'ka sprava. 2019;5-6:40-45. doi: [https://doi.org/10.31640/JVD.5-6.2019\(4\)](https://doi.org/10.31640/JVD.5-6.2019(4)). *(Особистий внесок здобувача: аналіз літературних джерел, написання тексту статті та формулювання висновків).*

25. Винниченко ІО, Москаленко ІОВ, Винниченко ОІ, Москаленко РА, Піддубний АМ. Бульозний пемфігоїд Левера у хворого на метастатичний рак легені після лікування атезолізумабом. Клінічна онкологія. 2019;9(1):55–57. doi: 10.32471/clinicaloncology.2663-466X.38.22146. *(Особистий внесок здобувача: лікування пацієнта, збір зразків шкіри для проведення імуногістохімічного дослідження, аналіз отриманих результатів, написання тексту статті).*

*Розділи монографій, опубліковані у закордонних виданнях:*

26. Moskalenko Y. Immune-related toxicity of checkpoint inhibitors. Medicine and psychology: modern problems, new technologies and ways of developing outdated theories: collective monograph /ed. Hennadii Slabkyi. Boston: Primedia eLaunch, 2024. p. 124-145. doi: 10.46299/ISG.2024.MONO.MED.1 *(Особистий внесок здобувача: літературний пошук, узагальнення отриманих даних, написання тексту статті та формулювання висновків).*

27. Moskalenko Y, Smorodska O. Lung cancer biomarkers. Theoretical and practical aspects of the development of modern scientific research: monograph/ed. Anita Jankovska. Riga: Izdevniecība "Baltija Publishing", 2022. p. 212–233. doi: <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-195-4-23>. *(Особистий внесок здобувача: узагальнення результатів літературного пошуку, написання тексту підрозділів, формулювання висновків).*

*Опубліковані праці, які додатково відображають наукові результати:*

28. Свідоцтво про реєстрацію авторського права на твір комп'ютерна програма "IMMU-LUNG: Прототип цифрової платформи підтримки клінічних рішень" №142937 / Ю. В. Москаленко. // заяв. 28.11.2025; опубл. 19.02.2026.

**Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:**

29. Москаленко Ю. Прогностичне значення імунних фенотипів у хворих на метастатичний недрібноклітинний рак легень. Дев'ята всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної

морфології»: матеріали. 6–7 листопада 2025 р., м. Дніпро. Дніпро: ДДМУ, 2025: 146–147.

30. Москаленко Ю. Вплив віку на ефективність інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на метастатичний недрібноклітинний рак легень. VIII науково-практична internet-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів та хвороб та їх фармакологічна корекція»: матеріали. 20 жовтня 2025 р., м. Харків. Харків: НФаУ, 2025: 175–176.

31. Moskalenko Y, Kravets Y. IFN $\gamma$ -associated genes signature as a potential prognostic biomarker of survival and immunotherapy response in lung adenocarcinoma. 12<sup>th</sup> International Black Sea coastline countries scientific research conference. 2025 September 26–28, Trabzon. Black Sea Strategic Research and Application Center, 2025: 9.

32. Denysenko A., Moskalenko Y., Moskalenko R. Immune phenotypes in patients with non-small cell lung cancer and their association with smoking. 37-th European Congress of Pathology. 6-10 September 2025, Vienna, Austria: Virchows Archiv, 2025; 487 (Suppl 1): PS-26-001.

33. Москаленко Ю. Вплив кортикостероїдів на ефективність інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на недрібноклітинний рак легень. XXIX конгрес студентів та молодих учених «Майбутнє за наукою»: матеріали. 9–11 квітня 2025 р., м. Тернопіль: ТНМУ. 2025: 44.

34. Sulaieva O., Seleznov O., Kozakov D., Koshyk O., Lapsar H., Livshun S., et al. Immune contexture of non-small cell lung cancer with actionable mutations: deciphering the mechanisms of immune evasion. United States and Canadian Academy of Pathology's 114th Annual Meeting. 22-27 March 2025, Boston, USA: Lab Invest, 2025; Vol. 105, Suppl.1: 48.

35. Москаленко Ю. Поширеність TP53 ко-мутацій у пацієнтів з недрібноклітинним раком легень. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих учених «Медична наука – 2024»: матеріали. 5 грудня 2024 р., м. Полтава. Полтава, 2024: 46.

36. Москаленко Ю, Погорелов М. Прогностична роль STAT6 у пацієнтів з недрібноклітинним раком легень. Восьма всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології»: матеріали. 6–8 листопада 2024 р., м. Дніпро. Дніпро: ДДМУ, 2024: 100–102.

37. Москаленко Ю. Індекс маси тіла як предиктор ефективності терапії інгібіторами імунних контрольних точок. X науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів»: матеріали. 17–18 жовтня 2024 р., м. Тернопіль: ТНМУ. 2024: 225–226.

38. Moskalenko YV, Kozakov DS, Livshun SS, Panko MI, Sulaieva OM. Association of genetic alterations in the EGFR and ALK genes with PD-L1 expression in non-small cell lung cancer. BioGENext: Next Generation Therapy Conference. Biopolym Cell. 2024; 40(3): 199. <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000AC8>.

39. Romaniuk A., Moskalenko Y., Baryshok A., Moskalenko R. Expression of FOXP3 in the microenvironment of non-small cell lung cancer tissue on the background of the application of immunotherapy. 36-th European Congress of Pathology. 7–11 September 2024, Florence, Italy: Virchovs Archiv, 2024; 485 (Suppl 1): 450.

40. Смородська О, Москаленко Ю. Індeksi системної запальної реакції як фактор прогнозу рецидиву раку легень. Міжнародна науково-практична конференція «Молодіжна наука заради миру та розвитку»: матеріали. 9–11 листопада 2022 р., м. Чернівці: ЧНУ ім. Ю. Федьковича, 2022: 62–64.

41. Москаленко Ю, Смородська О, Бондаренко Л, Кадурін М. Онїхолізіс як наслідок токсичного впливу інгібіторів імунних контрольних точок. XIV з'їзд онкологів та радіологів України: матеріали. 30 вересня–2 жовтня 2021р., м. Київ: Національний інститут раку, 2021: 282–284.

## ДОДАТОК Б

### АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. XIV з'їзд онкологів та радіологів України (30 вересня–2 жовтня 2021 року, м. Київ, Україна) – публікація тез.
2. Міжнародна науково-практична конференція «Молодіжна наука заради миру та розвитку» (9–11 листопада 2022 року, м. Чернівці, Україна) – публікація тез.
3. 36-й Європейський конгрес патології (7–11 вересня 2024 року, м. Флоренція, Італія) – постерна доповідь.
4. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих учених «Медична наука – 2024» (5 грудня 2024 року, м. Полтава, Україна) – публікація тез.
5. Міжнародна наукова конференція «BioGENext: Next Generation Therapy Conference» (17–20 вересня 2024 року, м. Київ, Україна) – публікація тез.
6. X науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (17–18 жовтня 2024 року, м. Тернопіль, Україна) – публікація тез.
7. Восьма всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології» (6–8 листопада 2024 року, м. Дніпро. Дніпро, Україна) – публікація тез.
8. 37-й Європейський конгрес патології (6–10 вересня 2025 року, м. Відень, Австрія) – постерна доповідь.
9. 114-та щорічна зустріч Американської та Канадської академії патології (22–27 березня 2025 року, м. Бостон, США) – постерна доповідь.
10. ХХІХ конгрес студентів та молодих учених «Майбутнє за наукою» (9–11 квітня 2025 року, м. Тернопіль, Україна) – публікація тез.
11. VIII науково-практична internet-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів та хвороб та їх фармакологічна корекція» (20 жовтня 2025 року, м. Харків, Україна) – публікація тез.

12. 12-та Міжнародна науково-дослідна конференція країн узбережжя Чорного моря (26–28 вересня 2025 року, м. Трабзон, Туреччина) – усна доповідь, публікація тез.

13. Дев'ята всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології» (6–7 листопада 2025 року, м. Дніпро, Україна) – публікація тез.

## ДОДАТОК В

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор КНП СОР Сумський  
обласний клінічний онкологічний  
центр  
Шевченко В.В.

2025р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): діагностичний алгоритм щодо прогнозування ефективності інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на недрібноклітинний рак легень.
2. **Ким запропонований**: Сумський державний університет, науково-навчальний медичний інститут, Центр біомедичних досліджень, д.мед.н. Погорелов М.В., докторант Москаленко Ю.В., протягом вересня-листопада 2025 року
3. **Джерела інформації** (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): Moskalenko Y, Yazykov O, Vasylieva O, Smiiian K, Ivakhniuk T, Budko H, Moskalenko R. The Impact of Age on the Effectiveness of Immune Checkpoint Inhibitors Therapy in Patients with Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer. *Geriatrics (Basel)*. 2025 Jun 27;10(4):85. doi: 10.3390/geriatrics10040085.  
Moskalenko Y, Kovchun V, Bohdanov A, Budko V, Yazykov O. Visceral Adipose Tissue Radiodensity as a Potential Biomarker of Immunotherapy Efficacy in Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer Patients. *Galician med. j.* 2025;32(3):e-GMJ2025-A21. <https://doi.org/10.21802/e-GMJ2025-A21>.
4. **Впроваджено**: у діагностичну та клінічну роботу СОКОЦ.
5. **Включено**: у практичну роботу торакального та хіміотерапевтичного відділення СОКОЦ.
6. **Результати впровадження**: введено у роботу торакального та хіміотерапевтичного відділення СОКОЦ.
7. **Термін впровадження**: вересень-листопад 2025 року.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження**: КНП СОР Сумський обласний клінічний онкологічний центр.
9. **Зауваження, пропозиції**: не має.

Пропозиція обговорена і затверджена на нараді лікарів КНП СОР Сумський обласний клінічний онкологічний диспансер (протокол № 5 від «03» 12 2025 року).

Відповідальний за впровадження  
завідувачка хіміотерапевтичного  
відділення  
КНП СОР СОКОЦ

Л.М. Бондаренко



ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ  
«СІ ЕС ДІ ЛАБ»  
ТОВ «СІ ЕС ДІ ЛАБ»

вул. Васильківська, 45, м. Київ, Україна, 03022, тел. 0 800 33 0075, www.csdlab.ua  
Код ЄДРПОУ 42519264

ЗАТВЕРДЖУЮ  
ТОВ «СІ ЕС ДІ ЛАБ»  
Віктор ГОЛОВКО

« \_\_\_ » \_\_\_\_\_



**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. **Пропозиція для впровадження** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): діагностичний алгоритм щодо прогнозування ефективності інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на недрібноклітинний рак легень.
2. **Ким запропонований**: Сумський державний університет, навчально-науковий медичний інститут, Центр біомедичних досліджень, д.мед.н. Погорелов М.В., докторант Москаленко Ю.В., протягом вересня-листопада 2025 року
3. **Джерела інформації** (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): Moskalenko Y, Yazykov O, Vasylieva O, Smilian K, Ivakhniuk T, Budko H, Moskalenko R. The Impact of Age on the Effectiveness of Immune Checkpoint Inhibitors Therapy in Patients with Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer. Geriatrics (Basel). 2025 Jun 27;10(4):85. doi: 10.3390/geriatrics10040085. Moskalenko Y, Kovchun V, Bohdanov A, Budko V, Yazykov O. Visceral Adipose Tissue Radiodensity as a Potential Biomarker of Immunotherapy Efficacy in Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer Patients. Galician med. j. 2025;32(3):e-GMJ2025-A21. <https://doi.org/10.21802/e-GMJ2025-A21>.
4. **Впроваджено**: у діагностичну роботу патологоанатомічного відділення медичної лабораторії CSD (ТОВ «СІ ЕС ДІ ЛАБ»).
5. **Включено**: у практичну роботу патологоанатомічного відділення медичної лабораторії CSD (ТОВ «СІ ЕС ДІ ЛАБ»).
6. **Результати впровадження**: введено у роботу патологоанатомічного відділення медичної лабораторії CSD (ТОВ «СІ ЕС ДІ ЛАБ»).
7. **Термін впровадження**: вересень-листопад 2025 року.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження**: патологоанатомічне відділення медичної лабораторії CSD (ТОВ «СІ ЕС ДІ ЛАБ»).
9. **Зауваження, пропозиції**: не має.

Медичний директор  
ТОВ «СІ ЕС ДІ ЛАБ»  
Доктор медичних наук, професор  
Член ASCP



Оксана СУЛАСВА



ЗАТВЕРДЖУЮ  
Директор Медичного центру  
хірургічного профілю «НАДІЯ»  
Курочкін А.В.

« 19 » 11 / 2025р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): діагностичний алгоритм щодо прогнозування ефективності інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на недрібноклітинний рак легень.
2. **Ким запропонований:** Сумський державний університет, науково-навчальний медичний інститут, Центр біомедичних досліджень, д.мед.н. Погорелов М.В., докторант Москаленко Ю.В., протягом вересня-листопада 2025 року
3. **Джерела інформації** (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): Moskalenko Y, Yazykov O, Vasylieva O, Smiiian K, Ivakhniuk T, Budko H, Moskalenko R. The Impact of Age on the Effectiveness of Immune Checkpoint Inhibitors Therapy in Patients with Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer. Geriatrics (Basel). 2025 Jun 27;10(4):85. doi: 10.3390/geriatrics10040085.  
Moskalenko Y, Kovchun V, Bohdanov A, Budko V, Yazykov O. Visceral Adipose Tissue Radiodensity as a Potential Biomarker of Immunotherapy Efficacy in Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer Patients. Galician med. j. 2025;32(3):e-GMJ2025-A21. <https://doi.org/10.21802/e-GMJ2025-A21>.
4. **Впроваджено:** у діагностичну та клінічну роботу медичного центру хірургічного профілю «НАДІЯ».
5. **Включено:** у практичну роботу медичного центру хірургічного профілю «НАДІЯ».
6. **Результати впровадження:** введено у роботу медичного центру хірургічного профілю «НАДІЯ».
7. **Термін впровадження:** вересень-листопад 2025 року.
8. **Базова установа, яка проводить впровадження:** медичний центр хірургічного профілю «НАДІЯ»
9. **Зауваження, пропозиції:** не має.

Відповідальний за впровадження  
завідувач хірургічного відділення



Д.В. Муравський

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової роботи  
Харківського національного  
медичного університету  
професор Оксана НАКОНЕЧНА



2025р.

## АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Найменування пропозиція** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): діагностичний алгоритм щодо прогнозування ефективності інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на недрібноклітинний рак легень.

**2. Ким і коли запропонований:** Сумський державний університет, навчально-науковий медичний інститут, Центр біомедичних досліджень, д.мед.н. Погорелов М.В., докторант Москаленко Ю.В., протягом вересня-листопада 2025 року

**3. Джерела інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.):** Moskalenko Y, Yazykov O, Vasylieva O, Smiian K, Ivakhniuk T, Budko H, Moskalenko R. The Impact of Age on the Effectiveness of Immune Checkpoint Inhibitors Therapy in Patients with Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer. *Geriatrics (Basel)*. 2025 Jun 27;10(4):85. doi: 10.3390/geriatrics10040085. Moskalenko Y, Kovchun V, Bohdanov A, Budko V, Yazykov O. Visceral Adipose Tissue Radiodensity as a Potential Biomarker of Immunotherapy Efficacy in Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer Patients. *Galician med. j.* 2025;32(3):e-GMJ2025-A21. <https://doi.org/10.21802/e-GMJ2025-A21>.

**4. Де і коли впроваджено:** кафедра онкології Харківського національного медичного університету.

**5. Результати застосування методу за період з вересня 2025 року по листопад 2025 року:** Впровадження у навчальний процес на кафедрі онкології Харківського національного медичного університету в лекційному курсі, при проведенні практичних занять зі студентами, лікарями-інтернами, клінічними ординаторами та аспірантами, а також у науково-дослідну роботу кафедри.

**6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3):** Поглиблення знань студентів, лікарів-інтернів, клінічних ординаторів та аспірантів з питань прогнозування ефективності інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на недрібноклітинний рак легень.

**7. Зауваження, пропозиції:** не має.

Пропозиція обговорена і затверджена на методичному семінарі кафедри онкології Харківського національного медичного університету (протокол № 9 від 12 грудня 2025 р.)

Відповідальний за впровадження  
завідувач кафедри онкології  
д.мед.н, професор

Олексій МУЖИЧУК

Шаблон за версією 02  
Затверджено наказом ректора СумДУ  
№ 0817-І від 05.12.2022 р.



ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректорка

Інна ШКОЛЬНИК

01 2026 р.

АКТ

**впровадження (використання) результатів  
дисертаційної роботи у навчальний процес**

**Предиктори ефективності інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на недрібноклітинний рак легень**

(номер держреєстрації НДР, назва теми, етапу; назва теми дисертації)

яка виконана в період з 1 жовтня 2024 р. по 1 грудня 2025 р.

У ході виконання дисертаційної роботи було розроблено діагностичний алгоритм та прототип цифрової платформи підтримки клінічних рішень, що забезпечують прогнозування ефективності імунотерапії у хворих на недрібноклітинний рак легень.

Здобувач наукового ступеня (доктора медичних наук)

Москаленко Ю.В.

Комісія в складі:

**Голова комісії:** голова ради з якості ННМІ

Вікторія ПЕТРАШЕНКО

**Члени комісії:**

- гарант освітньої програми «Медицина» другого (магістерського) рівня вищої освіти
- завідувач кафедри онкології та радіології СумДУ
- завідувач кафедри хірургії, ортопедії, травматології та фіззіатрії

Людмила ПРИСТУПА

Ігор ВИННИЧЕНКО

Ігор ДУЖИЙ

Встановила, що результати дисертаційної роботи використовуються в навчальному процесі за освітньою програмою «Медицина» другого (магістерського) рівня вищої освіти спеціальності 222, І2 Медицина шляхом реалізації наступного: оновлення змісту дисципліни «Онкологія» за темою «Рак легень», акцентовано увагу на діагностичних заходах, що дозволяють прогнозувати ефективність імунотерапії та впроваджувати персоніфікований підхід до лікування та моніторингу пацієнтів.

“01” грудня 2025 р.

Голова комісії:  Вікторія ПЕТРАШЕНКО

Члени комісії:  Людмила ПРИСТУПА

Ігор ВИННИЧЕНКО

Ігор ДУЖИЙ

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з науково-педагогічної  
роботи закладу вищої освіти  
Буковинського державного  
медичного університету  
доц. Володимир ХОЛІВОВСЬКИЙ

« 04 » 12

## АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиція** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): діагностичний алгоритм щодо прогнозування ефективності інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на недрібноклітинний рак легень.
  2. **Ким і коли запропонований:** Сумський державний університет, науково-навчальний медичний інститут, Центр біомедичних досліджень, д.мед.н. Погорелов М.В., докторант Москаленко Ю.В., протягом вересня-листопада 2025 року
  3. **Джерела інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.):** Moskalenko Y, Yazykov O, Vasylieva O, Smiian K, Ivakhniuk T, Budko H, Moskalenko R. The Impact of Age on the Effectiveness of Immune Checkpoint Inhibitors Therapy in Patients with Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer. *Geriatrics (Basel)*. 2025 Jun 27;10(4):85. doi: 10.3390/geriatrics10040085. Moskalenko Y, Kovchun V, Bohdanov A, Budko V, Yazykov O. Visceral Adipose Tissue Radiodensity as a Potential Biomarker of Immunotherapy Efficacy in Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer Patients. *Galician med. j.* 2025;32(3):e-GMJ2025-A21. <https://doi.org/10.21802/e-GMJ2025-A21>
  4. **Де і коли впроваджено:** кафедра онкології та радіології Буковинського державного медичного університету.
  5. **Результати застосування методу за період з вересня 2025 року по листопад 2025 року:** Впровадження у навчальний процес на кафедрі онкології та радіології Буковинського державного медичного університету в лекційному курсі, при проведенні практичних занять зі студентами, лікарями-інтернами та аспірантами, а також у науково-дослідну роботу кафедри.
  6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3):** Поглиблення знань студентів, лікарів-інтернів, клінічних ординаторів та аспірантів з питань прогнозування ефективності інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на недрібноклітинний рак легень.
  7. **Зауваження, пропозиції:** не має.
- Пропозиція обговорена і затверджена на засіданні кафедри онкології та радіології (протокол № 6 від 04 грудня 2025 року).

Відповідальний за впровадження  
завідувач кафедри онкології та  
радіології



д.мед.н, доц. В.Ю. Бодяка

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової роботи Івано-Франківського національного медичного університету  
Наталя КОВАЛЬ

« 31 » жовтня 2025р.



## АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): діагностичний алгоритм щодо прогнозування ефективності інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на недрібноклітинний рак легень.
  2. **Ким і коли запропонований:** Сумський державний університет, науково-навчальний медичний інститут, Центр біомедичних досліджень, д.мед.н. Погорелов М.В., докторант Москаленко Ю.В., протягом вересня-листопада 2025 року
  3. **Джерела інформації (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.):** Moskalenko Y, Yazykov O, Vasylieva O, Smiian K, Ivakhniuk T, Budko H, Moskalenko R. The Impact of Age on the Effectiveness of Immune Checkpoint Inhibitors Therapy in Patients with Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer. *Geriatrics (Basel)*. 2025 Jun 27;10(4):85. doi: 10.3390/geriatrics10040085. Moskalenko Y, Kovchun V, Bohdanov A, Budko V, Yazykov O. Visceral Adipose Tissue Radiodensity as a Potential Biomarker of Immunotherapy Efficacy in Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer Patients. *Galician med. j.* 2025;32(3):e-GMJ2025-A21. <https://doi.org/10.21802/e-GMJ2025-A21>.
  4. **Де і коли впроваджено:** кафедра онкології Івано-Франківського національного медичного університету.
  5. **Результати застосування методу за період з вересня 2025 року по листопад 2025 року:** Впровадження у навчальний процес на кафедрі онкології Івано-Франківського національного медичного університету в лекційному курсі, при проведенні практичних занять зі студентами, лікарями-інтернами, клінічними ординаторами та аспірантами, а також у науково-дослідну роботу кафедри.
  6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3):** Поглиблення знань студентів, лікарів-інтернів, клінічних ординаторів та аспірантів з питань прогнозування ефективності інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на недрібноклітинний рак легень.
  7. **Зауваження, пропозиції:** не має.
- Пропозиція обговорена і затверджена на методичному семінарі кафедри онкології Івано-Франківського національного медичного університету (протокол № 4 від «3» жовтня 2025 року).

Відповідальний за впровадження  
завідувачка кафедри онкології

д.мед.н, проф. Анна КРИЖАНІВСЬКА