

Università degli Studi di Cagliari

Facoltà di Medicina e Chirurgia

Laurea Specialistica in Medicina e Chirurgia

Dipartimento Scienze Mediche Internistiche

Cattedra di Oncologia Medica

*Studio clinico randomizzato di fase III con 5 bracci di trattamento della
sindrome da anoressia-cachessia neoplastica*

Relatore
Prof. Giovanni Mantovani

Tesi di Laurea di
Maria Chiara Cau

Anno Accademico 2008-2009

Indice

Introduzione

Definizione di cachessia neoplastica	Pag. 6
Patogenesi della CACS	10
- Calo ponderale ed aumento del metabolismo energetico basale.....	12
- Anoressia.....	14
<i>Patogenesi dell'anoressia</i>	14
- Alterazioni metaboliche dei nutrienti	
<i>Metabolismo glucidico</i>	20
<i>Metabolismo proteico</i>	22
<i>Metabolismo lipidico</i>	25
- Infiammazione cronica sistemica.....	27
- Attività metabolica delle citochine.....	29
<i>IL-1</i>	30
<i>TNFα</i>	31
<i>IL-6</i>	32
- Stress ossidativo.....	32
Trattamento della CACS	35
<i>Trattamenti efficaci</i>	
- <i>Progestinici</i>	36
- <i>Corticosteroidi</i>	39

Sostanze con un forte razionale che hanno fallito o che finora non hanno mostrato risultati univoci nei trial clinici

- Acidi grassi N-3.....	40
- Cannabinoidi.....	41
- Bortezomib.....	41
- Infliximab.....	42

Sostanze emergenti che hanno dimostrato efficacia ma ancora oggetto di valutazione clinica

- Talidomide.....	42
- Inibitori selettivi della COX-2.....	43
- Grelino-mimetici con attività oressizzante ed anabolica.....	44
- Insulina.....	46
- Aminoacidi a catena ramificata.....	46
- Oxandrolone.....	47
- Olanzapina.....	47

<i>Prospettive future</i>	48
--	----

<i>Approccio combinato della CACS</i>	49
--	----

<u>Scopo del lavoro</u>	52
--------------------------------------	----

<u>Pazienti e metodi</u>	52
---------------------------------------	----

Disegno dello studio	52
-----------------------------------	----

Criteri di eleggibilità	52
--------------------------------------	----

Criteria di esclusione	53
Piano di trattamento	53
Parametri di efficacia	
- <i>Parametri primari di efficacia</i>	54
- <i>Parametri secondari di efficacia</i>	55
Metodiche di valutazione dei principali parametri nutrizionali/funzionali e di laboratorio	
- <i>LBM</i>	57
- <i>Resting Energy Expenditure</i>	59
- <i>Grip strength e forza muscolare diretta</i>	60
- <i>Attività fisica giornaliera</i>	60
- <i>Determinazione dei livelli sierici delle citochine proinfiammatorie</i>	62
- <i>Determinazione dei livelli ematici di ROS e dei livelli eritrocitari di GPx</i>	62
- <i>Glasgow Prognostic Score</i>	63
Sicurezza	63
Analisi statistica	64
<u>Risultati</u>	65
Parametri primari di efficacia	67
Analisi ad interim	68
Confronto dei parametri primari di efficacia tra i bracci di trattamento con il test ANOVA	69
Parametri secondari di efficacia	70

Tossicità	73
<u>Discussione</u>	74
<i>Bibliografia</i>	80

Introduzione

Definizione di cachessia neoplastica

La cachessia è una sindrome che caratterizza diverse patologie croniche, tutte accomunate da una grave compromissione organica del paziente, quasi sempre correlata all'impossibilità di un recupero funzionale.

Il termine "cachessia" deriva dal greco *kakòs*, che significa "cattivo", ed *hexis*, che significa "condizione". Clinicamente essa si manifesta con anoressia, astenia, perdita di peso corporeo con diminuzione sia della massa muscolare che del tessuto adiposo, maggiore suscettibilità alle infezioni, nonché diminuita risposta ai trattamenti. Essa compromette notevolmente la qualità di vita ed è associata ad un aumento della morbilità e della mortalità, essendo responsabile del 20% delle morti per cancro¹.

Sebbene la cachessia sia un'evenienza particolarmente frequente, i meccanismi che la sottendono non sono ancora ben conosciuti e, fino a poco tempo fa, non si era ancora concordi sulla sua definizione. Si è sentita quindi la necessità di riunire i maggiori esperti del settore che nel Dicembre 2008, a Washington DC, hanno dato vita al "Cachexia Consensus Conference". In quest'occasione si è giunti alla formulazione di una definizione precisa ed universalmente accettata della cachessia: essa è descritta come una complessa sindrome metabolica associata ad una malattia cronica e caratterizzata da una perdita di massa muscolare con o senza perdita di massa grassa. La caratteristica principale della cachessia è la perdita di peso negli adulti (corretta per ritenzione idrica) o l'arresto della crescita nei bambini (una volta esclusi disordini endocrini).

Anoressia, infiammazione, insulino-resistenza ed aumentata proteolisi muscolare sono frequentemente associati a tale sindrome² (Figura 1).

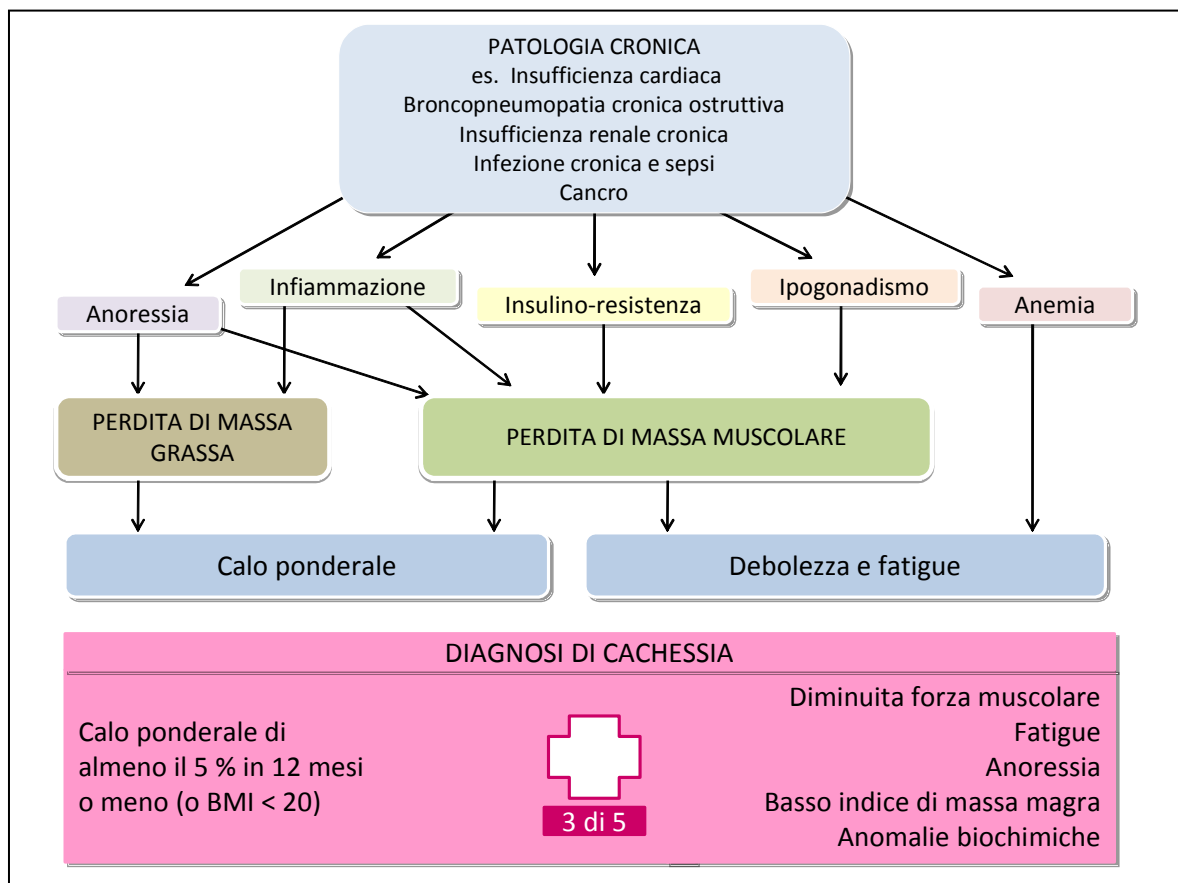


Figura 1. Patogenesi della cachessia.

La cachessia conclamata è preceduta da alterazioni più lievi che vanno sotto il nome di “pre-cachessia”, uno stato in cui il paziente può notare anche solo un leggero calo ponderale; si giunge per gradi al consumo delle riserve energetiche (massa grassa), alla

perdita del trofismo muscolare e ad una compromissione dello stato immunitario (Figura 2). Ove la pre-cachessia è difficile anche da riconoscere, la sindrome cachettica è palesemente responsabile di una compromissione sia della qualità che della quantità della vita³. Pur tuttavia, la cachessia, nel complesso, decorre spesso senza essere identificata o diagnosticata ed è trattata raramente².

Essa può insorgere in numerosi stati patologici e parafisiologici, come lo scompenso cardiaco, la broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO), l'insufficienza renale cronica, la tubercolosi, l'AIDS, l'artrite reumatoide, il diabete mellito, il morbo di Crohn e, non ultimo, il cancro⁴.

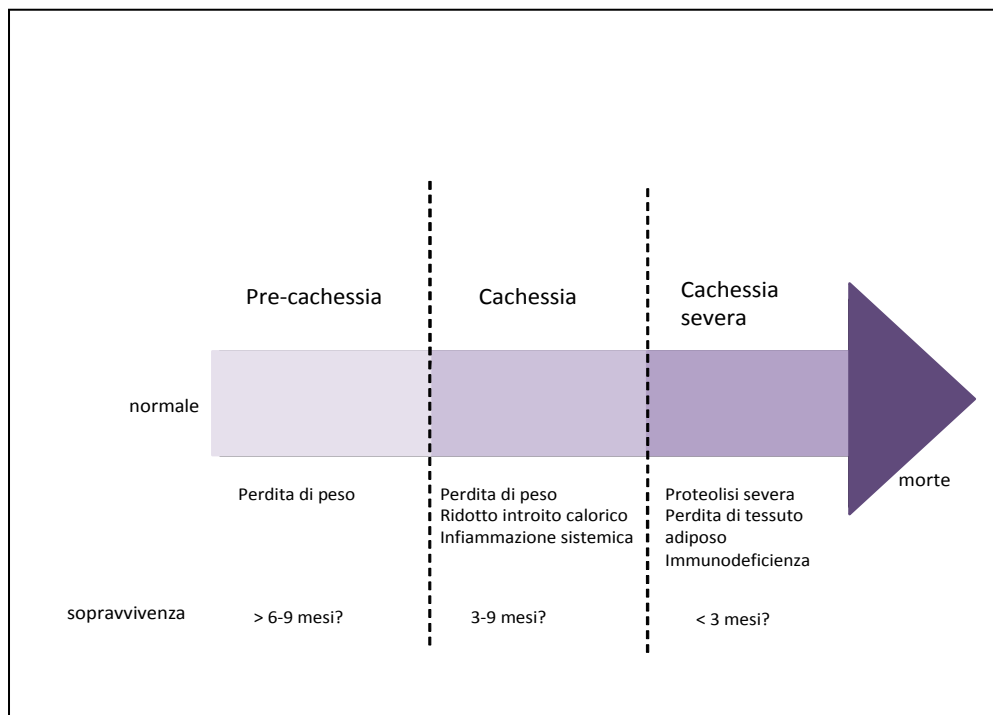


Figura 2. Classificazione della cachessia: la cachessia come uno spettro. Non tutti i pazienti compiono l'intero percorso. (Da: Fearon KC (2008) Cancer cachexia: developing multimodal therapy for a multidimensional problem. Eur J Cancer 44, fig.1) .

La cachessia associata al cancro prende il nome di Sindrome da Anoressia-Cachessia Neoplastica (CACS), ed è comunemente associata alle neoplasie maligne in stadio avanzato, pur essendo frequente già alla diagnosi in tumori di alcune sedi, in particolare del distretto gastroenterico e del polmone.

I pazienti con tumori del tratto gastroenterico sperimentano in misura maggiore il decremento ponderale, in virtù del fatto che queste patologie determinano già di per sé notevoli difficoltà alla nutrizione spontanea: tale perdita di peso si associa con un importante calo della sopravvivenza⁵.

Tabella 1. Frequenza della cachessia ai diversi siti di tumore⁶. (Da: Stewart GD, Skipworth RJ, Fearon KC (2006) Cancer cachexia and fatigue. Clin Med 6(2), tab.2).

Neoplasia maligna	Pazienti con cachessia (%)
Tumore dello stomaco	85
Tumore del pancreas	83
Tumore del polmone non a piccole cellule	61
Tumore del polmone a piccole cellule	57
Tumore della prostata	56
Tumore del colon	54
Linfoma non Hodgkin a prognosi non favorevole	48
Sarcoma	40
Leucemia acuta non linfocitica	39
Tumore della mammella	36
Linfoma di Hodgkin a prognosi favorevole	31

L'instaurarsi della CACS comporta numerose conseguenze negative: essa è una delle singole cause di morte più documentata nel cancro, il più significativo fattore predittivo negativo della risposta ai trattamenti ed ha un importante impatto negativo sulla qualità di vita.

Patogenesi della CACS

La CACS è il risultato dell'interazione tra neoplasia ed ospite: essa si esprime in una serie di modifiche metaboliche, indotte dall'espressione di citochine proinfiammatorie prodotte dal cancro stesso o dal sistema immunitario in risposta al cancro.

Di per sé la presenza nell'organismo ospite di un tessuto neoplastico in continua crescita giustifica l'aumentato fabbisogno energetico associato all'attivazione cronica del sistema immunitario che cerca di contrastare il tumore⁷. Questo sistema richiede un continuo apporto di substrati energetici, in particolare di glucosio.

L'ossidazione del glucosio a CO₂ ed H₂O è la principale fonte d'energia prodotta sotto forma di ATP, NADH e FADH. In più il glucosio è coinvolto nella sintesi, attraverso la via dei pentoso-fosfati, di composti ad alto potere riducente (NADPH e glutazione ridotto), impiegati nella neutralizzazione dei radicali liberi dell'ossigeno (*Reactive Oxygen Species*, ROS) che si generano durante le tappe del metabolismo energetico. I ROS sono prodotti intermedi derivanti dalla riduzione radicalica dell'ossigeno molecolare per opera di elettroni e protoni, particolarmente instabili ed a rischio di interazione con molecole chiave come i lipidi di membrana e gli acidi nucleici, ai quali possono arrecare danni irreversibili nell'architettura e nelle funzioni cellulari. Pertanto, data la loro potenziale tossicità, è necessaria l'efficienza dei sistemi di detossificazione dell'organismo, costituiti dai composti riducenti (antiossidanti naturali).

Nel paziente neoplastico, però, la comparsa di diversi sintomi che accompagnano la progressione della malattia, quali anoressia, nausea e vomito, impedisce il normale apporto nutrizionale e quindi il regolare introito di glucidi, lipidi, proteine e vitamine⁸.

Questo accade ad opera sia dei trattamenti antitumorali che dell'azione di molecole infiammatorie che regolano lo sviluppo del tumore e le funzioni immunitarie dell'ospite⁹. Particolare interesse ha infatti l'osservazione che i pazienti con neoplasie solide in stadio avanzato manifestano un'attivazione aspecifica del sistema immunitario caratterizzata da deficit dell'immunità cellulo-mediata, cui si associa un aumento dei livelli sierici delle citochine macrofagiche (IL-1, IL-6, TNF α) e delle proteine di fase acuta (fibrinogeno e proteina C reattiva)^{10,11}. Tali citochine sono a loro volta responsabili di importanti modificazioni del metabolismo dei principali nutrienti che impediscono di soddisfare le aumentate richieste energetiche.

Riassumendo, la crescita del tumore e l'attivazione del sistema immunitario determinano un quadro metabolico caratterizzato da:

- **aumentato fabbisogno glucidico, lipidico e proteico;**
- **impossibilità di introdurre con gli alimenti questi nutrienti in conseguenza dell'anoressia, della nausea e del vomito;**
- **ricorso alla gluconeogenesi con consumo delle riserve proteiche e lipidiche e conseguente perdita di peso;**
- **difficile utilizzazione del glucosio neofornito per ipoinsulinemia e/o resistenza periferica all'insulina;**
- **danno ossidativo indotto dai ROS sul DNA, sulle lipoproteine di membrana e su enzimi e coenzimi centrali nella regolazione delle principali vie metaboliche cellulari.**

Calo ponderale ed aumento del metabolismo energetico basale

La perdita di peso è un'evenienza frequentissima nei malati di tumore ed è correlata ad una diminuzione della sopravvivenza¹². Diversamente dall'inanizione, nella quale sono perse prevalentemente le riserve adipose, la cachessia neoplastica vede realizzarsi soprattutto una perdita della massa muscolare, ed è caratterizzata dall'incremento del catabolismo muscolare e dal decremento della sintesi proteica¹³.

Il mantenimento di una composizione corporea stabile prevede un equilibrio nel bilancio energetico, dove l'introito, dato dall'apporto di macronutrienti (proteine, grassi e carboidrati) eguaglia la spesa energetica totale. La spesa energetica può essere suddivisa in tre componenti: la spesa energetica a riposo (*Resting Energy Expenditure*, REE), la termogenesi (*Thermic Effect of Food*, TEF), che rappresenta il costo energetico del metabolismo postprandiale, e la spesa energetica correlata all'attività fisica (*Active Energy Expenditure*, AEE). Un bilancio energetico negativo, che porta alla progressiva perdita di peso, può essere attribuito a cambiamenti nell'introito energetico, all'aumento della spesa energetica o ad entrambi, ed è attribuibile ad alcune alterazioni metaboliche ed all'azione di diversi mediatori (Figura 3).

L'anoressia e l'aumento della REE sono eventi comuni nel cancro avanzato; un ipermetabolismo persistente durante un lungo periodo di malattia può contribuire in modo sostanziale al bilancio energetico negativo se non compensato da un aumento dell'introito calorico che, come già accennato, è di per sé difficile nei pazienti neoplastici. L'aumento del metabolismo e il diminuito *intake* energetico dovuto all'anoressia può condurre ad un circolo vizioso nello sviluppo della cachessia neoplastica¹⁴.

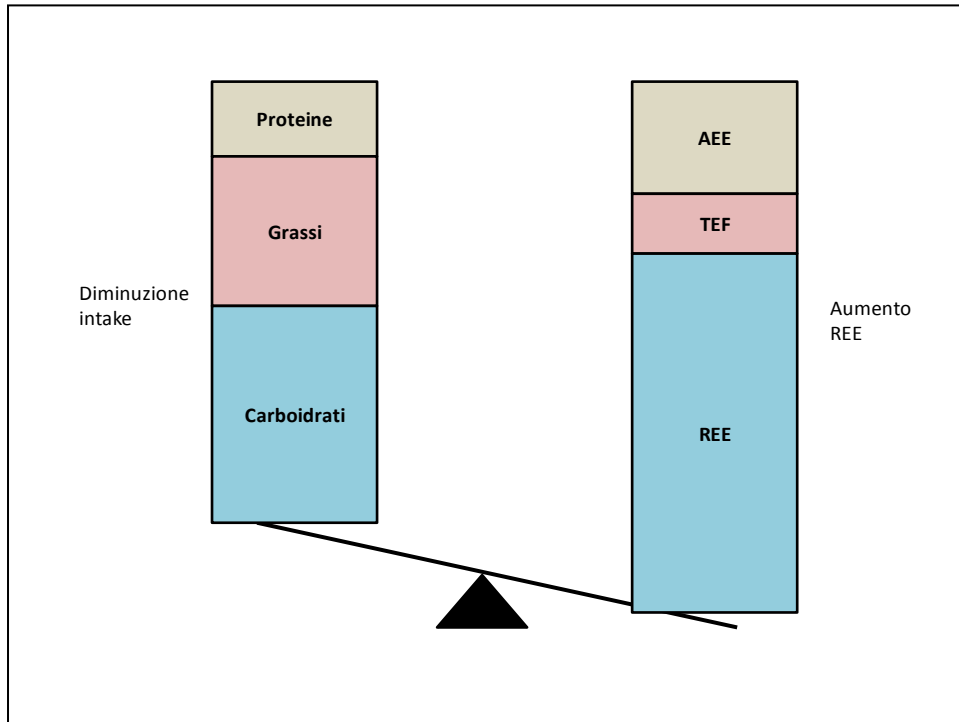


Figura 3. Aumento del metabolismo basale e bilancio energetico negativo. (Da: Mantovani G (Ed), Cachexia and wasting: a modern approach. Springer, Italy.)

L'aumento della REE svolge un ruolo centrale nel determinare il calo ponderale nei pazienti con cancro e potrebbe spiegare l'aumentata ossidazione della massa grassa. A questo aumento della domanda energetica contribuiscono i cicli futili come il ciclo di Cori che consumano un'elevata quantità di substrati energetici (300 kcal/die) a fronte di una scarsa resa. I pazienti con cancro in alcuni distretti corporei come il polmone e il pancreas sembrano essere maggiormente predisposti a sviluppare un aumento del metabolismo basale, nonostante non ci siano correlazioni accertate con il tipo di tumore^{15,16}.

L'aumento della spesa energetica basale nei pazienti neoplastici è significativamente correlata all'infiammazione sistemica: è stata dimostrata una correlazione tra la presenza e l'entità della risposta di fase acuta e l'aumento del metabolismo basale¹⁷.

Anoressia

Con il termine “anoressia” ci riferiamo a quel sintomo clinico caratterizzato da perdita dell'appetito e senso di sazietà precoce.

L'anoressia ha una patogenesi sicuramente multifattoriale, e i meccanismi che ne stanno alla base non sono ancora tutti ben compresi. Essa è conseguenza dell'azione delle citochine proinfiammatorie rilasciate nel contesto dell'infiammazione sistemica che accompagna il processo tumorale, cui si può associare una difficoltà all'alimentazione spontanea provocata in modo diretto dalla patologia (ad esempio nei tumori del tratto gastroenterico), nonché dai trattamenti chemioterapici.

Pur costituendo uno dei sintomi che contribuiscono all'insorgenza della CACS, l'anoressia non può spiegarne da sola le complesse alterazioni organiche; infatti l'integrazione nutrizionale di per sé non è in grado di far regredire il processo¹⁸.

Patogenesi dell'anoressia

La patogenesi dell'anoressia è multifattoriale e correlata all'alterazione dei meccanismi di controllo dell'introito di cibo, ma i segnali neurochimici coinvolti sono ancora oggetto di discussione.

In condizioni fisiologiche, l'introito di nutrienti è controllato dall'ipotalamo attraverso specifiche popolazioni neuronali: queste integrano i segnali periferici che

trasmettono le informazioni sullo stato delle riserve energetiche e adipose (Figura 4). In particolare il nucleo arcuato dell'ipotalamo traduce questi input in risposte neuronali e, successivamente, comportamentali^{19,20}. Si intuisce che l'anoressia potrebbe conseguire a difetti dei segnali che arrivano dalla periferia, dovuti ad errori del processo di trasduzione, o da disturbi dell'attività delle vie neuronali centrali.

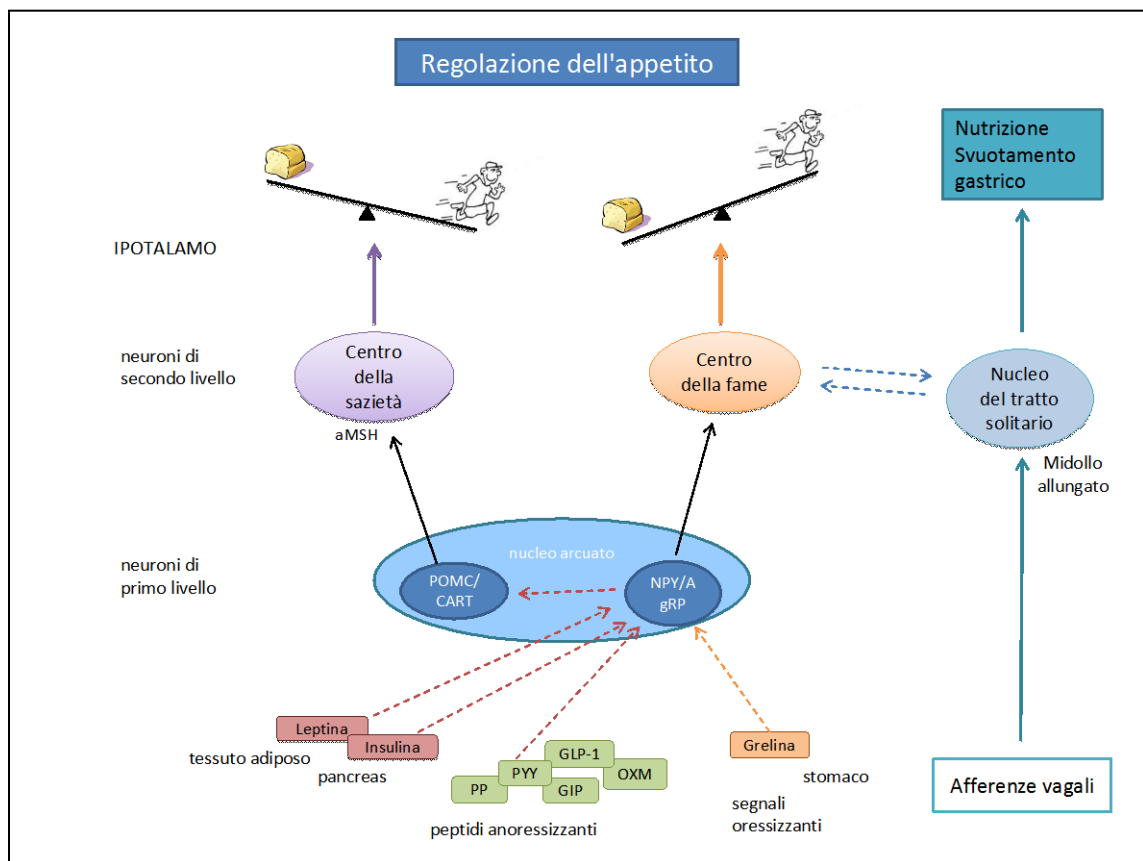


Figura 4. Regolazione del circuito della fame.

Il senso della fame è una funzione complessa risultante da afferenze nervose centrali e periferiche all'ipotalamo ventrale. La stimolazione dei nuclei mediali dell'ipotalamo causa una diminuzione dell'appetito, mentre quella dei nuclei laterali ne causa l'aumento. Tra le afferenze periferiche, la stimolazione orale da parte di sapori piacevoli induce l'aumento dell'appetito, mentre la distensione gastrica lo fa diminuire.

Vi è evidenza che le citochine proinfiammatorie come IL-1, IL-6 e TNF α siano coinvolte nell'anoressia correlata al cancro e causino una diminuzione dell'introito calorico, ma non sembrerebbero essere gli unici mediatori coinvolti. Inui ha proposto che le citochine possano giocare un ruolo centrale nell'inibizione a lungo termine dell'appetito mimando il feedback negativo dell'ipotalamo²¹. Ciò potrebbe realizzarsi tramite l'inibizione del network oreossizzante dell'NPY/AgRP come anche attraverso la stimolazione continua della via anoressizzante del POMC/CART.

Inoltre è ben documentato che le citochine, in particolare IL-1, stimolano il rilascio della serotonina ipotalamica²², che contribuisce all'attivazione persistente dei neuroni POMC/CART, portando allo sviluppo dell'anoressia e alla diminuzione dell'apporto energetico. A sostegno del ruolo della serotonina nella patogenesi dell'anoressia è stato dimostrato che negli animali anoressici con cancro i livelli di serotonina ipotalamica sono aumentati in confronto ai controlli. Dopo la rimozione del tumore i livelli si normalizzano e migliora l'introito calorico²³. Inoltre nei pazienti anoressici con cancro le concentrazioni nel plasma ma soprattutto nel fluido cerebrospinale (CSF) di triptofano, precursore della serotonina²⁴, sono aumentate in confronto ai controlli e ai pazienti non anoressici^{25,26}; dopo la rimozione del tumore i livelli di triptofano si normalizzano e migliora l'introito calorico²⁷.

Tra i segnali periferici coinvolti nella patogenesi dell'anoressia un ruolo centrale è svolto dalla leptina. Fisiologicamente, la perdita di peso è un forte stimolo all'introito di cibo nell'uomo. Viceversa, la comparsa della CACS nei pazienti neoplastici suggerisce un fallimento della risposta adattativa al cibo. Un gran numero di evidenze sono state fornite negli ultimi anni sul ruolo della leptina nella regolazione dell'appetito e del peso corporeo^{28,29}.

La leptina è una proteina di 16 kDa sintetizzata dal gene *ob* e secreta dagli adipociti, che agisce nel controllo dell'apporto di cibo e nella spesa energetica attraverso i neuropeptidi ipotalamici. Studi sulla struttura terziaria della proteina hanno dimostrato che essa ha una conformazione elicoidale molto simile a quella di alcune citochine; il suo recettore, infatti, è una proteina presente sulla superficie cellulare che ha analogie strutturali e funzionali con la famiglia dei recettori delle citochine di classe I.

La funzione della leptina è quella di segnalare la presenza di adeguate riserve energetiche; di conseguenza essa induce il senso di sazietà attraverso l'interazione con specifici recettori ipotalamici. La sintesi della leptina è regolata da un feedback negativo: la sua produzione aumenta quando i trigliceridi sono immagazzinati nelle cellule adipose e diminuisce durante il digiuno, in seguito alla deplezione di trigliceridi (Figura 5). Dagli adipociti la leptina raggiunge l'ipotalamo, dove riduce la sintesi e le concentrazioni del neuropeptide Y (NPY). Viceversa, bassi livelli di leptina aumentano l'attività dei segnali oressizzanti che stimolano l'appetito e sopprimono il dispendio energetico^{28,29,30,31,32}.

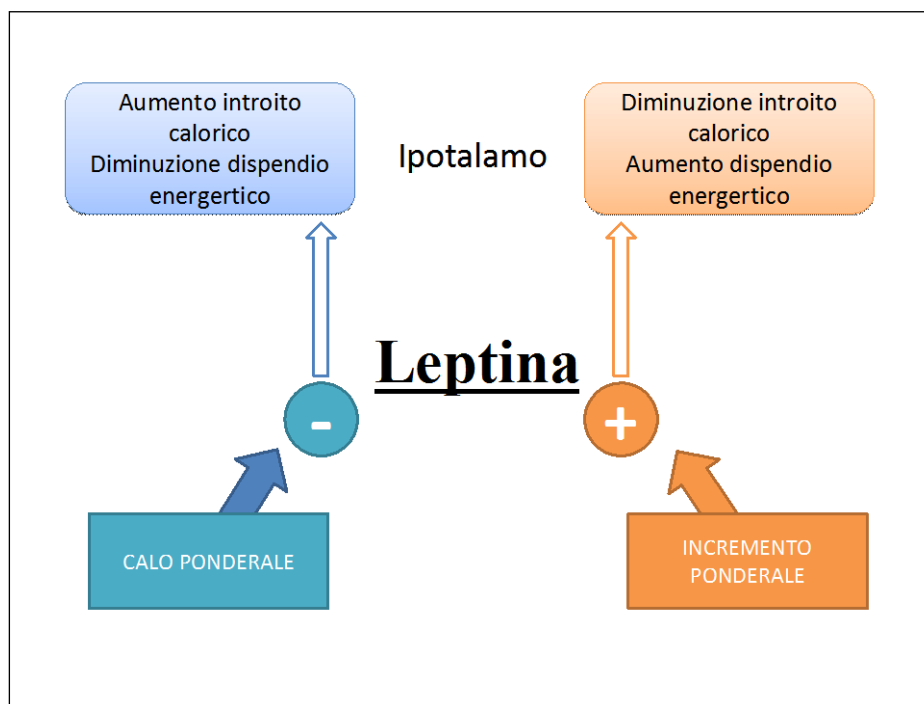


Figura 5. Ruolo fisiologico della leptina nel metabolismo energetico.

Il più potente tra i segnali oressizzanti è il NPY, un peptide ampiamente distribuito a livello cerebrale, ipotalamo compreso, situato a valle del circuito regolatore della leptina^{19,20}. Esso fa parte di un circuito oressizzante che include anche la galanina, i peptidi oppiodi, l'ormone concentrante la melanina (MCH), l'oressina e la "agouti-related peptide" (AgRP). Le sue funzioni fisiologiche sono quelle di indurre l'appetito, ridurre il consumo energetico e stimolare il sistema parasimpatico, e vengono esercitate o in modo diretto o tramite la stimolazione del rilascio di altri peptidi oressizzanti. L'inibizione della sintesi del NPY determina, viceversa, anoressia, perdita di peso, aumento del consumo energetico ed iperattività simpatica³³. Esperimenti condotti sugli animali dimostrano che il sistema del NPY è alterato in presenza di una neoplasia: il NPY iniettato nell'ipotalamo stimola l'appetito in modo meno potente rispetto ai

controlli ed il livello di secrezione del NPY è ridotto nei ratti cachettici con tumore^{34,35}. Viceversa è stato dimostrato che durante il digiuno prolungato i segnali oressizzanti sono iperstimolati; ciò suggerisce che tali segnali svolgano un ruolo fondamentale nel favorire la ripresa del peso corporeo.

I principali mediatori di tali alterazioni del circuito ipotalamico della fame sono le citochine proinfiammatorie^{21,36,37,38}. E' stato ipotizzato che tali citochine possano produrre un'inibizione a lungo termine dell'appetito attraverso la stimolazione dell'espressione e della secrezione di leptina; in realtà studi clinici su pazienti neoplastici in stadio avanzato con cachessia hanno evidenziato la presenza di bassissimi livelli di leptina associati ad alti livelli di citochine infiammatorie³⁹. Pertanto l'ipotesi più plausibile è che le citochine agiscano mimando l'effetto ipotalamico del segnale di feedback negativo svolto dalla leptina e determinando l'inibizione dei meccanismi compensatori in risposta sia al diminuito introito di cibo che alla riduzione del peso corporeo^{21,40,41}. Questo potrebbe aver luogo anche attraverso la stimolazione continua da parte delle citochine di neuropeptidi anoressizzanti come la serotonina e il fattore di rilascio della corticotropina, come anche tramite l'inibizione diretta del circuito oressizzante del NPY.

È da menzionare, infine, il ruolo della melanocortina, il cui segnale aberrante potrebbe contribuire alla genesi dell'anoressia e della cachessia^{42,43,44}. Le melanocortine sono una famiglia di peptidi regolatori che include l'adrenocorticotropina (ACTH) e l'ormone stimolante i melanociti (MSH): essi svolgono un certo ruolo nella regolazione dell'appetito e della temperatura corporea, nonché nel processo della memoria, nel comportamento e nell'immunità^{19,20,45}. Il sistema della melanocortina risulta persistentemente attivato nella cachessia neoplastica, al contrario di ciò che dovrebbe

accadere, in quanto la marcata perdita di peso dovrebbe inibire il segnale anoressizzante della melanocortina in modo da conservare le riserve di energia. Il blocco del recettore della melanocortina da parte dell'AgRP o di altri antagonisti contrasta la progressione a cachessia nei modelli animali, rafforzando l'ipotesi del ruolo patogenetico del sistema della melanocortina nella CACS^{42,43,44}.

Alterazioni metaboliche dei nutrienti

Metabolismo glucidico

Il glucosio è il principale substrato utilizzato dall'organismo per produrre energia. Le cellule neoplastiche metabolizzano preferenzialmente glucosio soprattutto tramite la glicolisi anaerobia, che persiste anche in condizioni di fisiologiche disponibilità di ossigeno. Nei pazienti con tumore, tuttavia, l'apporto di glucosio esogeno è notevolmente ridotto in conseguenza dei sintomi tipici dello stato neoplastico quali l'anoressia, la nausea ed il vomito. Tale ridotta disponibilità di glucosio induce l'attivazione della gluconeogenesi a partire da lattato, aminoacidi muscolari ed acidi grassi liberi, con conseguente depauperamento delle riserve proteiche e lipidiche. Il ciclo che converte il lattato a piruvato e glucosio è chiamato ciclo di Cori (Figura 6). Nei pazienti neoplastici l'attività del ciclo di Cori è aumentata dal normale valore del 20% al 50%⁴⁶. L'utilizzo di lattato e aminoacidi glicogenetici per la sintesi epatica di glucosio comporta un'elevato consumo di energia, perciò l'aumento della gluconeogenesi è stato proposto come causa principale dell'incremento della spesa energetica nei pazienti con cancro.

L'aumento del turnover del glucosio è strettamente correlato all'istotipo, allo stadio della neoplasia ed al grado della cachessia neoplastica. Molti studi hanno analizzato la relazione che intercorre tra metabolismo del glucosio e cambiamenti del peso corporeo.

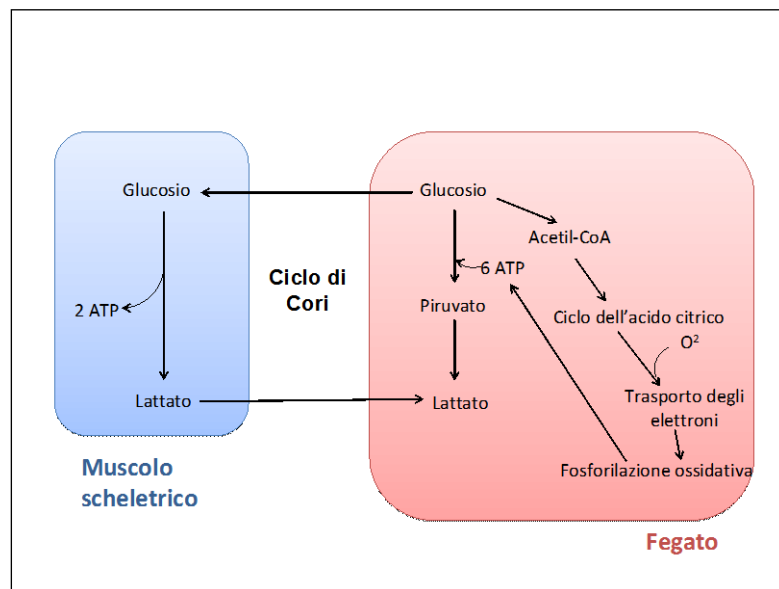


Figura 6. Ciclo di Cori.

I pazienti che non manifestano perdite di peso hanno una normale attività del ciclo di Cori, mentre in quelli con calo ponderale si evidenzia un aumento dell'attività di tale ciclo, associato ad un aumento della produzione di lattato.

L'aumentata gluconeogenesi compensatoria è associata alla ridotta sintesi di insulina e all'insulino-resistenza. Infatti le anomalie metaboliche dei carboidrati osservate nei pazienti neoplastici sono l'aumento della sintesi di glucosio attraverso la gluconeogenesi, l'aumentata attività del ciclo di Cori, l'insulino-resistenza e la diminuita tolleranza al glucosio⁸ (Figura 7).

In questa condizione il glucosio viene portato al fegato e agli altri organi e depleto dal muscolo scheletrico perché la glucochinasi epatica non viene influenzata dall'insulina, diversamente dall'esochinasi dei miociti. La richiesta energetica

muscolare si associa all'ossidazione degli aminoacidi non essenziali, il che contribuisce al bilancio negativo dell'azoto⁹.

Accanto all'aumentata gluconeogenesi, i pazienti neoplastici hanno un'importante resistenza all'insulina che coinvolge il tessuto adiposo, il muscolo scheletrico ed il fegato. L'aumento della produzione epatica di glucosio è a sua volta, in parte, il risultato dell'insulino-resistenza e della conseguente mancata inibizione della gluconeogenesi da parte dell'insulina a livello epatico. In modo analogo, anche l'utilizzo di glucosio da parte del muscolo è ridotto sia nei modelli animali che nei pazienti con cancro⁴⁷. In più sembra essere coinvolto anche un aumento degli ormoni controregolatori, come i glucocorticoidi ed il glucagone⁴⁸. La diminuita stimolazione dell'uptake del glucosio non sembra essere conseguenza di un difetto di legame dell'insulina, ma piuttosto di un'alterazione post-recettoriale. L'insulino-resistenza osservata a livello del muscolo scheletrico coinvolge anche la sintesi di glicogeno, che è ridotta in modo evidente nei pazienti neoplastici⁴⁹.

La resistenza periferica all'insulina è mediata da citochine proinfiammatorie: essa è infatti associata all'aumento del TNF α in una grande varietà di condizioni patologiche come la sepsi, i traumi e il cancro⁵⁰ e la somministrazione di TNF α in controlli sani ha dimostrato di ridurre la sensibilità all'insulina inducendo iperglicemia senza abbassare i livelli di insulina⁵¹.

Metabolismo proteico

Le modifiche del metabolismo proteico sembrano principalmente dipendere dal mancato adattamento dell'organismo alle aumentate richieste energetiche e dall'inadeguato apporto alimentare che determina l'attivazione della gluconeogenesi a

partire soprattutto da substrati proteici. Questa situazione metabolica clinicamente si manifesta con atrofia dei muscoli scheletrici ed ipoalbuminemia, ed è inevitabile anche

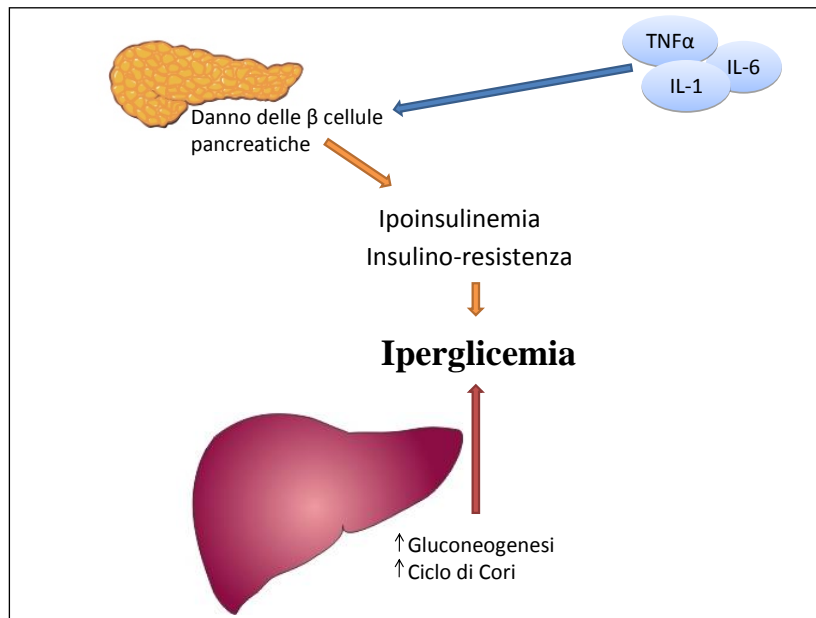


Figura 7. Alterazioni del metabolismo glucidico nella CACS.

in presenza di un adeguato apporto nutritivo. Ciò dimostra che lo stato di malattia neoplastica è il responsabile, a prescindere dall'anoressia, dell'alterato metabolismo energetico. Così come per gli altri problemi metabolici del paziente neoplastico, la severità dell'alterazione del metabolismo proteico è strettamente correlata allo stadio della malattia ed alle caratteristiche prognostiche della stessa. In diversi tumori è stato dimostrato che il turnover proteico è più elevato rispetto ai controlli sani di circa il 30%. E' inoltre tipica una riduzione dei livelli sierici di aminoacidi glicogenetici (alanina, glicina, treonina) ed un'aumentata ossidazione degli aminoacidi a catena ramificata. Questa condizione conferma l'accentuata gluconeogenesi a partire da precursori

aminoacidici che è forse accompagnata da una diminuzione dei processi deaminativi per finalità non glicolitiche (Figura 8).

Riassumendo, il turnover delle proteine totali è aumentato⁵², in dipendenza dall'aumentato catabolismo proteico muscolare⁵³ e dalla diminuzione della sintesi proteica⁵⁴, mentre la sintesi epatica di proteine è incrementata a favore delle proteine della fase acuta ed a scapito della produzione di albumina⁵⁵.

La diminuzione della sintesi proteica potrebbe essere dovuta ai diminuiti livelli plasmatici di insulina ed alla diminuzione della sensibilità all'insulina del muscolo scheletrico, o alla riduzione dell'apporto di amminoacidi richiesti per la produzione delle proteine. Nei pazienti cachettici la diminuzione dell'attività fisica potrebbe inoltre contribuire alla soppressione della sintesi proteica.

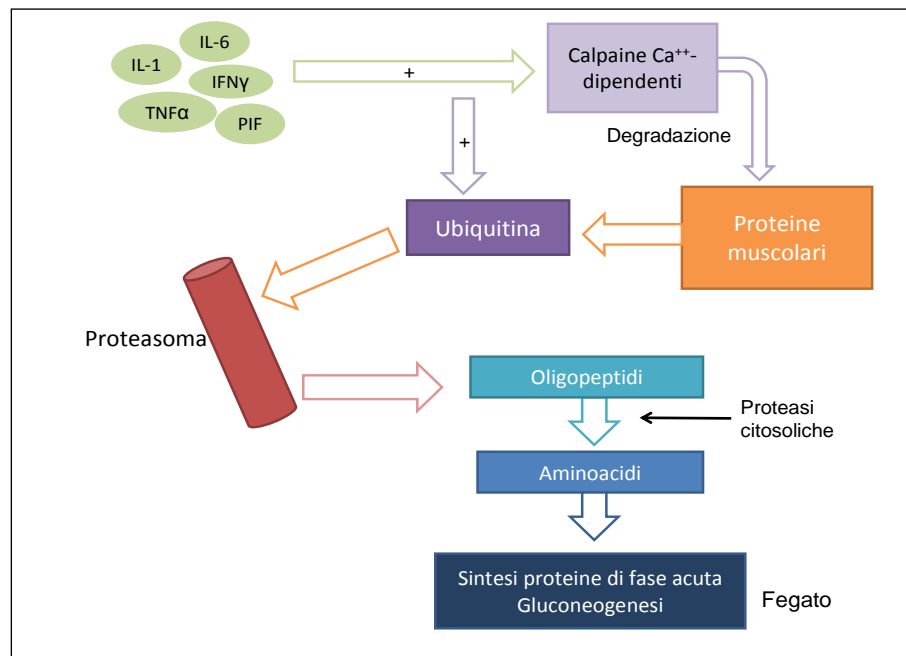


Figura 8. Patogenesi della proteolisi muscolare. (Da: Muscaritoli M, Bossola M, Aversa Z et al (2006) Prevention and treatment of cancer cachexia: new insights into an old problem. Eur J Cancer 42, fig.3).

Ci sono tre principali vie proteolitiche responsabili del catabolismo proteico nel muscolo scheletrico: i sistemi lisosomiali, che sono coinvolti nella lisi delle proteine extracellulari e dei recettori di superficie delle cellule⁵⁶; le calpaine calcio-dipendenti, coinvolte nel danno cellulare, nella necrosi e nell'autolisi⁵⁷; la via proteolitica dell'ATP ubiquitino-dipendente. Di queste tre, la proteolisi ubiquitino-dipendente è considerata la più importante per la degradazione proteica e la conseguente perdita di massa muscolare in una varietà di condizioni cliniche, incluse l'inanizione, la sepsi, l'acidosi metabolica, la perdita di peso, i traumi di severa entità, l'atrofia da denervazione, così come la cachessia neoplastica^{56,58}.

Recenti studi hanno valutato il ruolo della miostatina nella regolazione della massa muscolare in corso di cachessia: essa è, fisiologicamente, un regolatore negativo che agisce inibendo la proliferazione e la differenziazione dei miociti^{58,59} e la sua carenza è correlata ad un aumento marcato della massa muscolare⁵⁹.

Alcuni risultati preliminari hanno dimostrato un marcato incremento della miostatina in pazienti cachettici con tumore⁵⁸: modelli animali suggeriscono che il TNF α ne sia parzialmente responsabile⁶⁰. Come risultato delle alterazioni sopra descritte, i pazienti cachettici sperimentano un consumo progressivo della massa muscolare, mentre le riserve proteiche viscerali sono preservate ed il volume epatico potrebbe addirittura aumentare. La perdita sostanziale del muscolo scheletrico è direttamente correlata all'astenia che accompagna la condizione di cachessia.

Metabolismo lipidico

Come accade per le proteine, la riduzione delle riserve adipose è conseguenza non solo del diminuito apporto alimentare ma anche di specifiche alterazioni metaboliche.

La perdita del grasso corporeo che caratterizza la cachessia sembrerebbe scaturire da un aumento della lipolisi più che dal decremento della lipogenesi. Questo avviene perché i pazienti neoplastici con calo ponderale hanno un maggiore turnover sia del glicerolo che degli acidi grassi liberi (free fatty acids, FFA), e l'elevata mobilizzazione dei FFA è spesso già presente prima che sia evidente la perdita di peso⁶¹.

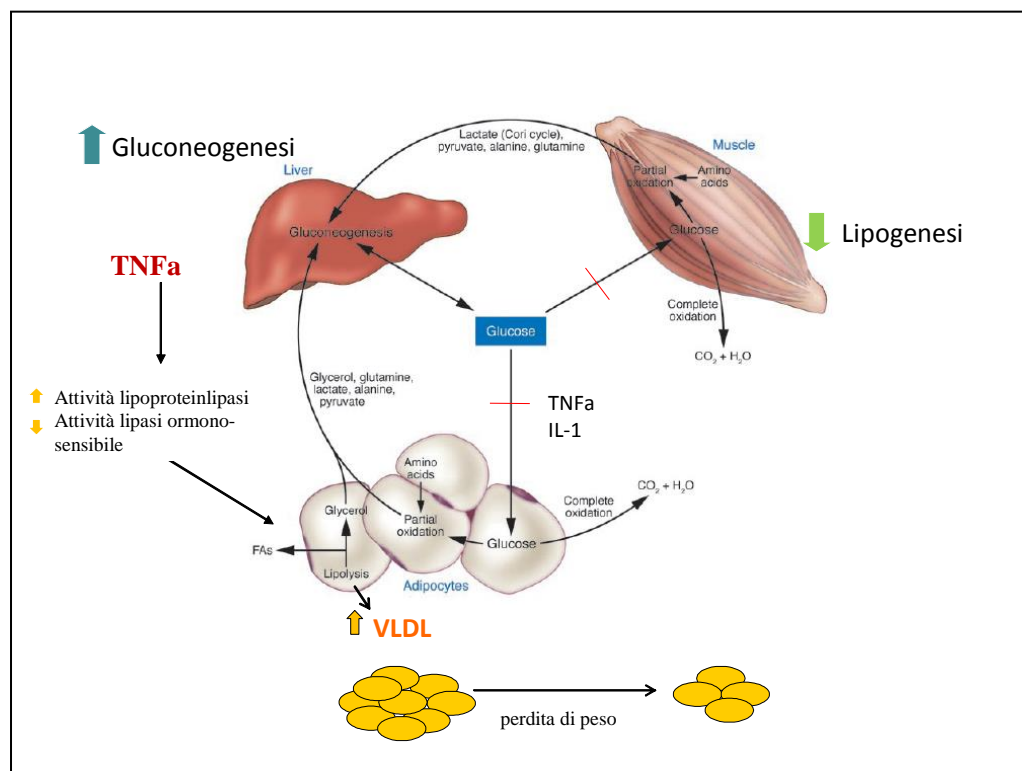


Figura 9. Cambiamenti del metabolismo lipidico nella cachessia neoplastica.

Le concentrazioni plasmatiche di glicerolo durante il digiuno sono più alte nei pazienti tumorali che sperimentano la perdita di peso corporeo, in confronto a quelli con un peso stabile, costituendo un'ulteriore evidenza dell'aumento della lipolisi⁶². Inoltre,

nei pazienti con malattia neoplastica avanzata, sono osservate costantemente ipertrigliceridemia, aumento dei FFA, deplezione delle riserve di grasso e diminuzione delle concentrazioni e dell'attività della lipoprotein lipasi (LPL), con una stretta correlazione tra riduzione dell'attività della LPL e calo ponderale^{63,64} (Figura 9).

Infiammazione cronica sistemica

Un ruolo fondamentale nella patogenesi della CACS è svolto dall'attivazione cronica del sistema immunitario dell'ospite, molto simile alle risposte di fase acuta che si verificano dopo eventi traumatici e shock settico. Tale risposta è caratterizzata da diverse condizioni metaboliche:

- aumentata produzione di citochine^{65,66};
- alti livelli di catecolamine, cortisolo e glucagone^{65,67,68,69};
- aumento della mobilizzazione periferica di aminoacidi e del sequestro epatico degli stessi^{65,70};
- incremento della gluconeogenesi epatica e della produzione di proteine della fase acuta^{65,71,72};
- aumentata mobilizzazione degli acidi grassi liberi ed ipermetabolismo⁷³.

La cosiddetta “risposta di fase acuta” è una reazione sistemica all'insulto tissutale, che si osserva tipicamente durante infiammazioni, infezioni o traumi, e che è caratterizzata dal rilascio di una serie di proteine plasmatiche di derivazione epatica conosciute come “proteine della fase acuta” - la proteina C-reattiva (PCR), il fibrinogeno, i fattori B e C3 del complemento -, e dalla ridotta sintesi di albumina e transferrina.

Le citochine IL-1, IL-6 e TNF α sono considerate i maggiori mediatori della sintesi epatica di proteine della fase acuta (Figura 10).

A conferma del ruolo fondamentale dell'infiammazione cronica nella patogenesi della cachessia, numerosi studi in vitro e in vivo su modelli animali hanno dimostrato che le citochine proinfiammatorie, in particolare il TNF α e l'IL-6, sono capaci di riprodurre le caratteristiche principali della cachessia, come l'anoressia, l'insulino-resistenza e lo stress ossidativo. Inoltre si è evidenziato che la perdita di massa muscolare associata a patologie infiammatorie croniche quali i tumori in stadio avanzato è associata a livelli marcatamente elevati di citochine proinfiammatorie. Il TNF α è stato per lungo tempo considerato il principale mediatore della patogenesi della CACS; studi più recenti dimostrano che anche altre citochine, come IFN γ , IL-1 e IL-6, accelerano la progressione della sindrome, mentre altre, come l'IL-15 e la leptina, inibiscono la cachessia muscolare indotta dal TNF α . Questi studi dimostrano che la genesi della cachessia può raramente essere attribuita ad una qualunque delle citochine, ma è invece associata con un certo numero di esse che lavorano di concerto; queste citochine sembrano giocare un ruolo fondamentale sia nell'infiammazione correlata alla cachessia, sia nelle risposte di fase acuta.

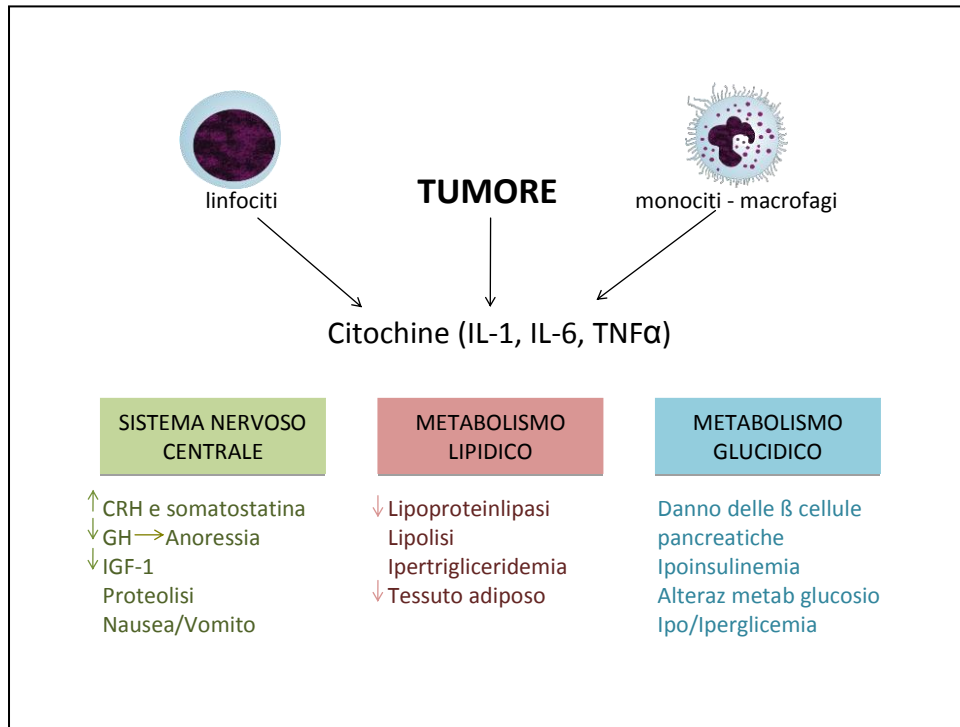


Figura 10. Azione delle citochine proinfiammatorie nel danno metabolico.

Attività metabolica delle citochine

Le citochine sono un gruppo eterogeneo di piccoli polipeptidi solubili o glicoproteine che hanno effetti pleiotropici sulla promozione della crescita, la differenziazione e l'attivazione cellulare⁷⁴. Esse possono esplicare sia un'azione pro- che anti-infiammatoria nonché immunosoppressiva, a seconda dell'ambiente in cui si trovano. Le cellule del sistema immunitario sono la fonte maggiore di citochine; inoltre i loro livelli sierici possono essere elevati a seguito di una specifica produzione da parte delle cellule tumorali⁷⁵.

Le citochine hanno un significato importante, quindi, in tutti gli stati di infiammazione sistemica e, perciò, anche nel cancro e nella cachessia neoplastica. Per quanto quest'acquisizione sia ormai stata raggiunta, molteplici meccanismi sono

implicati nella patogenesi della CACS e non tutti sono ancora ben compresi. Le citochine, infatti, agirebbero a diversi livelli, prima di tutto sullo sviluppo del tumore, e in secondo luogo sul sistema nervoso centrale, sui sintomi fatigue, depressione e decadimento cognitivo, sulla genesi dell'anoressia e sul deperimento muscolare. Un'evidenza diretta del coinvolgimento citochinico è fornita dall'osservazione che la cachessia può essere fatta regredire con la somministrazione di specifici antagonisti delle citochine⁷⁶.

Interleuchina-1 (IL-1)

Il ruolo dell'IL-1 nella patogenesi della CACS è stato chiaramente dimostrato. Essa ha l'effetto specifico di ridurre l'apporto nutrizionale e condiziona la quantità, la durata e la frequenza dei pasti^{77,78}. L'IL-1 esercita un'azione anoressizzante diminuendo direttamente la neurotrasmissione del NPY e secondariamente aumentando il fattore di rilascio della corticotropina (CRF), che a sua volta inibisce l'apporto calorico. Nei modelli murini l'IL-1 inibisce i livelli sierici di ormone della crescita (GH) aumentando i livelli di CRF e somatostatina⁷⁹. La ridotta sintesi di GH porta a una ridotta sintesi di fattori di crescita insulino-simili (IGF) che condizionano il turnover delle proteine muscolari e la crescita della massa muscolare⁸⁰. La somministrazione di IGF in ratti portatori di tumore previene la perdita di peso e di proteine muscolari.

L'IL-1 agisce anche a livello periferico sulle cellule beta pancreatiche, attraverso l'interazione con recettori specifici⁸¹, inibendo il rilascio e la sintesi di insulina⁸².

Aumentati livelli di IL-1 a livello cerebrale sono stati associati con l'anoressia negli animali e le citochine proinfiammatorie potrebbero essere coinvolte nello sviluppo sia

della CACS che della depressione (che coesiste frequentemente) attraverso una via comune.

Tumor Necrosis Factor α (TNF α)

Il TNF α promuove la lipolisi e inibisce la lipogenesi, giocando un ruolo chiave nella deplezione delle riserve adipose. Esso inibisce l'attività della LPL, bloccando la sua trascrizione⁸³. La LPL del tessuto adiposo idrolizza la parte centrale delle lipoproteine ricche in trigliceridi (VLDL) in acidi grassi liberi e monoglicerolo; alla ridotta attività della LPL consegue la mancata clearance plasmatica e il mancato uptake tissutale dei trigliceridi, con conseguente accumulo plasmatico di VLDL e chilomicroni. In tal modo si riduce la disponibilità di acidi grassi liberi, che costituiscono per gli adipociti il maggior substrato per la sintesi dei trigliceridi. Il TNF α inoltre può diminuire l'espressione di alcuni enzimi coinvolti nella lipogenesi, come l'acetil-CoA carbossilasi e l'acido grasso sintasi⁸⁴.

Inoltre il TNF α è implicato nello sviluppo dell'insulino-resistenza, tramite alcuni possibili meccanismi: accelerazione della lipolisi e incremento concomitante dei FFA circolanti, sottoregolazione della sintesi del GLUT-4 e del recettore dell'insulina^{85,86}.

In ultimo, il TNF α svolge un ruolo anche nel metabolismo delle proteine: induce la proteolisi del muscolo scheletrico e l'aumentata espressione di geni che codificano per enzimi della via proteolitica dipendente dall'ubiquitina⁸⁷. Questi cambiamenti molecolari, inclusa l'aumentata attività della via dell'ubiquitina-proteasoma nel muscolo, possono essere riscontrati ancor prima dell'evidenza clinica della perdita di peso; finora però gli studi clinici condotti sull'utilizzo di inibitori del TNF α in pazienti cachettici non hanno dimostrato un beneficio significativo in termini di miglioramento

di peso e aumento della massa magra^{88,89}. Una possibile spiegazione sta nel fatto che non una ma diverse citochine sono coinvolte nell'induzione della CACS.

Interleuchina-6 (IL-6)

L'IL-6 è una delle citochine più spesso deregolate in modo ubiquitario nei pazienti neoplastici⁹⁰ ed alti livelli circolanti di IL-6 costituiscono il principale fattore prognostico negativo^{91,92,93,94,95}. L'IL-6 è in grado di indurre cachessia tramite molteplici meccanismi: la stimolazione della risposta di fase acuta, l'inibizione della LPL nel tessuto adiposo e l'induzione dell'atrofia muscolare⁹⁶. Un recente studio sull'uomo ha dimostrato che l'infusione a basse dosi di IL-6 è in grado di indurre una riduzione drammatica della sintesi proteica nel muscolo scheletrico⁹⁷. Studi *in vitro* hanno inoltre dimostrato che l'IL-6 induce il rilascio ipotalamico di CRF e agisce a livello pancreatico analogamente all'IL-1⁹⁸. Tutti questi dati sono stati recentemente supportati dall'evidenza che la somministrazione di anticorpi anti-IL-6 inibisce la comparsa dei sintomi della CACS nei modelli animali⁹⁹.

Stress ossidativo

Lo squilibrio tra ossidanti e antiossidanti in favore dei primi può condurre potenzialmente al danno cellulare ed è chiamato "stress ossidativo". Questi ossidanti, anche chiamati specie reattive dell'ossigeno (ROS), sono normali prodotti del metabolismo aerobico ma possono essere prodotti in quantità elevate in condizioni patologiche. Essi sono composti intermedi derivati dalla riduzione univalente dell'ossigeno molecolare, caratterizzati dalla presenza di un elettrone spaiato nell'orbitale esterno, il che conferisce loro una particolare instabilità. I principali sono

l'anione superossido (O_2^-), il radicale idrossile (OH^\bullet), l'ossigeno singoletto (O^\bullet) e composti come il perossido di idrogeno (H_2O_2) che reagiscono con gruppi funzionali ossidabili.

Data la loro potenziale tossicità, in condizioni fisiologiche sono presenti adeguati sistemi di difesa antiossidanti: essi possono essere prodotti dall'organismo oppure introdotti con gli alimenti. Quelli endogeni comprendono le difese enzimatiche come la glutazione perossidasi (Se-GSH), la catalasi e la superossido dismutasi (SOD), e quelle non enzimatiche come il glutazione ridotto (GSH), la transferrina, la ferritina ed il coenzima Q10 ridotto¹¹. Il glucosio, attraverso la via dei pentoso-fosfati, gioca un ruolo chiave nella riduzione dei composti come il GSH, che è il principale antiossidante intracellulare, fondamentale per mantenere il normale stato ridotto delle cellule e per contrastare gli effetti dannosi dello stress ossidativo (Figura 11).

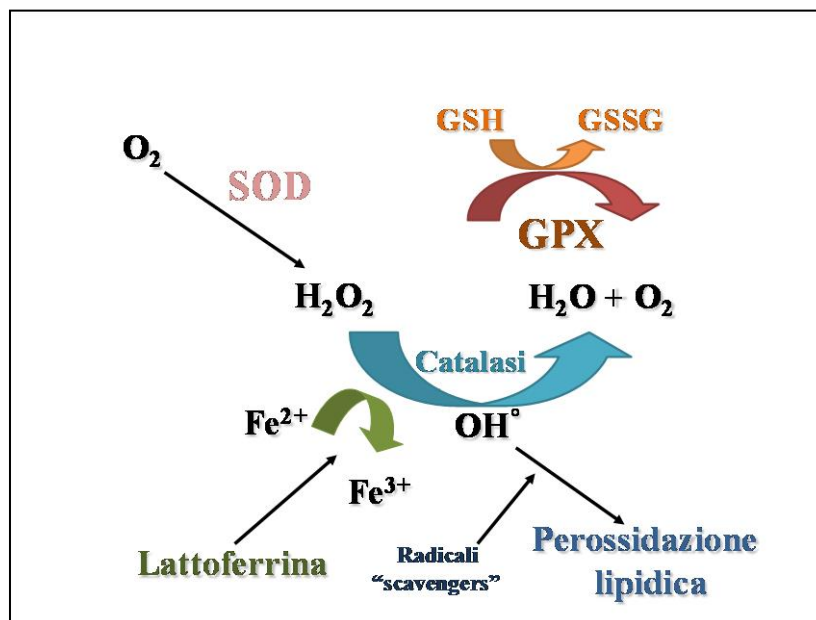


Figura 11. Meccanismi fisiologici di difesa contro i ROS.

Il GSH è sintetizzato a livello cellulare attraverso una complessa via biochimica composta da numerosi enzimi. Durante la reazione di degradazione dell' H_2O_2 , il GSH viene ossidato dal glutatione disulfide (GSSG) attraverso l'enzima GSH perossidasi. La riduzione del GSSG a GSH è catalizzata dalla GSSG reduttasi, che utilizza NADPH: quest'ultimo catalizza la riduzione di H_2O_2 ad H_2O e O_2 . L'NADPH richiesto per la produzione sia di GSH che di catalasi è prodotto attraverso la via dei pentoso-fosfati. Il glucosio 6-fosfato deidrogenasi (G6PD) è il primo enzima e tappa limitante di questa via metabolica e svolge un ruolo di protezione contro i ROS¹⁰⁰.

Se i ROS non vengono detossificati dai sistemi antiossidanti esercitano un'azione tossica su acidi grassi polinsaturi, proteine circolanti, proteine di superficie cellulare, enzimi e DNA, portando al danno irreversibile della struttura e della funzione cellulare. Dunque un'adeguata presenza e funzionalità dei sistemi antiossidanti è fondamentale per il corretto funzionamento delle cellule.

Nella condizione clinica di cachessia lo stress ossidativo è determinato da:

- un'aumentata produzione di ROS dovuta all'ipermetabolismo, all'attivazione persistente del sistema immunitario e all'infiammazione cronica, cui si associa il rilascio di citochine proinfiammatorie, PCR e fibrinogeno;

- un'inadeguata presenza di antiossidanti dovuta all'alterato metabolismo del glucosio; a ciò si aggiungono sintomi come anoressia, nausea e vomito, che impediscono un'alimentazione normale e l'apporto di nutrienti come glucosio, proteine e vitamine, con conseguente accumulo dei ROS¹⁰¹. In una serie di studi^{11,101,102} è stato dimostrato che i pazienti con tumore in stadio avanzato mostravano una condizione di stress ossidativo caratterizzata da alti livelli ematici di ROS e riduzione dell'attività della GSH perossidasi e della SOD eritrocitarie. L'attività degli antiossidanti era

significativamente ridotta nei pazienti in stadio IV e con ECOG PS di 2-3. Inoltre lo stress ossidativo era associato ad alti livelli di IL-6, TNF α e PCR e bassi livelli di leptina¹⁰³. La correlazione inversa tra i livelli di leptina e i parametri dello stress ossidativo suggerisce fortemente che la leptina costituisca un segnale di bilancio energetico negativo e basse riserve energetiche, in particolare di glucosio, di cui lo stress ossidativo è una diretta conseguenza.

Trattamento della CACS

La CACS è un fenomeno complesso che coinvolge una serie di meccanismi fisiopatologici come anomalie metaboliche maggiori, produzione e rilascio anomalo di citochine da parte del tumore e dell'ospite, attivazione cronica aspecifica e funzione difettiva del sistema immunitario. Per questo la gestione della CACS è una sfida difficile che richiede una selezione, da parte dei clinici, del trattamento migliore per ogni singolo paziente sulla base dei fattori causali conosciuti (ad esempio il livello sierico di citochine) o ragionevolmente ipotizzabili. Il trattamento dovrebbe essere focalizzato sui sintomi e sulla qualità di vita, piuttosto che su parametri solo oggettivi (cioè quelli nutrizionali), poiché un aumento della sopravvivenza dei pazienti è molto lontano dalla portata di queste terapie.

La migliore terapia della CACS sarebbe la cura del cancro ma, purtroppo, questo rimane un risultato difficilmente raggiungibile in pazienti con tumori solidi in stadio avanzato. La seconda opzione sarebbe quella di incrementare l'introito nutrizionale, ma in un grande numero di trial randomizzati esso non ha dimostrato un significativo beneficio sul cambiamento di peso o sulla qualità di vita^{104,105}. Questi deludenti risultati hanno portato al tentativo di fermare la progressione della cachessia tramite una grande

varietà di agenti farmacologici, con l'obiettivo principale di migliorarne i sintomi. Ad oggi, tuttavia, nonostante molti anni di sforzi coordinati nella ricerca di base e clinica, mancano ancora linee-guida per un approccio standardizzato di prevenzione e trattamento della CACS¹⁰⁶.

Trattamenti efficaci

Progestinici

I progestinici, in particolare il medrossiprogesterone acetato (MPA) ed il megestrolo acetato (MA) sono stati i primi agenti utilizzati e costituiscono tuttora il trattamento di prima linea nei pazienti con CACS; è disponibile una vasta letteratura a proposito dell'uso sia di MA che di MPA. Entrambi sono progestinici di sintesi che in un primo momento furono utilizzati nel trattamento di tumori ormono-responsivi; dopo l'osservazione di un aumento del peso corporeo e dell'appetito, indipendentemente dalla risposta tumorale, in alcuni dei pazienti sottoposti a tale terapia, negli ultimi tre decenni sono stati condotti numerosi trial clinici che hanno suggerito l'uso dei progestinici per la gestione della CACS.

In Europa sono attualmente gli unici farmaci approvati per il trattamento della cachessia associata al cancro e all'AIDS. Tuttavia essi hanno comunque una capacità limitata di trattare la cachessia neoplastica: meno del 30% dei pazienti trattati con MA hanno sperimentato una stimolazione a breve termine dell'appetito¹⁰⁷ e l'aumento di peso è dovuto principalmente ad un aumento di acqua e massa grassa, mentre non è stato provato alcun effetto sulla LBM, che è ritenuto un obiettivo essenziale nel trattamento della CACS. Per quanto riguarda la qualità di vita e la sopravvivenza, i risultati degli studi clinici sono estremamente contraddittori^{108,109}. Il meccanismo

d'azione dei progestinici nella CACS non è stato ancora completamente chiarito. Esso potrebbe essere legato ad un'attività di tipo glucocorticoide che renderebbe tali sostanze simili ai corticosteroidi. Oltretutto c'è evidenza del fatto che i progestinici stimolano l'appetito inducendo il rilascio dell'NPY nell'ipotalamo ventromediale (CNS). Inoltre essi agiscono regolando negativamente la sintesi ed il rilascio di citochine proinfiammatorie, come dimostrato da molti esperimenti e studi clinici, due dei quali sono stati condotti proprio dal gruppo del prof. Mantovani. Uno di questi¹¹⁰, nonostante coinvolgesse un esiguo numero di pazienti, è stato uno dei primi a dimostrare l'efficacia clinica del MA ed a correlarla all'inibizione della sintesi e del rilascio di citochine proinfiammatorie. Lo studio ha arruolato undici pazienti con cancro del distretto testa-collo in stadio avanzato (III-IV), che hanno ricevuto MA alle dosi di 320 mg/die per due mesi durante gli intervalli dalla chemioterapia. Il peso corporeo, l'appetito e la qualità della vita hanno dimostrato un miglioramento dopo il trattamento con MA, inoltre i livelli sierici di citochine, nonché la produzione di IL-6 *in vitro*, hanno subito una diminuzione. Questi risultati hanno fortemente supportato l'ipotesi che l'effetto benefico del megestrolo nei pazienti cachettici potrebbe essere dovuto in parte alla sua capacità di inibire la sintesi ed il rilascio di citochine chiave coinvolte nella CACS.

In uno studio seguente¹¹¹ lo stesso gruppo ha dimostrato che il MPA poteva ridurre significativamente la produzione *in vitro* di citochine (IL-1, IL-6, TNF α) e di serotonina in pazienti con cancro in stadio avanzato. Sono stati analizzati dieci pazienti con tumore di sedi differenti, e la concentrazione di MA utilizzata (0,1,0,2,0,4 mg/L) era compresa nel range dei valori plasmatici riscontrati nei pazienti che assumevano il MPA *per os* alle dosi di 1500-2000 mg/die.

Tra i progestinici, il MA è stato quello più studiato nel trattamento della CACS, essendo stati condotti ad oggi 8 trial randomizzati, in doppio cieco, controllati verso placebo, mentre per il MPA si annoverano 2 studi controllati verso placebo⁸.

Tra questi il più significativo è lo studio clinico controllato randomizzato verso placebo condotto da Simons *et al*¹¹² per esaminare gli effetti del MPA sull'introito calorico, la composizione corporea e la REE in 54 pazienti con tumore non ormono-responsivo. I pazienti hanno ricevuto MPA 500 mg o placebo due volte al giorno per 12 settimane: il trattamento con MPA ha portato ad un aumento dell'introito energetico significativamente associato ad un aumento della massa grassa. La massa magra non è stata significativamente influenzata e la REE è aumentata nel braccio con MPA.

Più recentemente Berenstein ed Ortiz¹¹³ hanno pubblicato una meta-analisi per valutare l'efficacia e la sicurezza del MA nella palliazione della cachessia associata al cancro, all'AIDS e ad altre patologie. Globalmente la meta-analisi ha confrontato più di trenta trial randomizzati e complessivamente ha dimostrato un beneficio del MA *versus* placebo, con particolare riguardo al miglioramento dell'appetito e del peso corporeo nei pazienti neoplastici. A proposito della qualità della vita è stata riscontrata un'eterogeneità clinica e statistica. Non c'erano sufficienti informazioni per definire la dose ottimale di MA. In sostanza, questa meta-analisi ha concluso che il MA migliora l'appetito e l'aumento di peso in pazienti neoplastici, mentre non può essere tratta alcuna conclusione generale a proposito dell'impatto sulla qualità di vita.

Recentemente è stata sviluppata una sospensione orale in nanocristalli per ottimizzare il rilascio del farmaco e migliorarne la biodisponibilità¹¹⁴. È stato dimostrato che, attraverso il veloce aumento delle concentrazioni plasmatiche di MA, questa formulazione potrebbe avere la capacità di dare una risposta clinica più rapida; pertanto

tale formulazione è stata approvata dalla FDA per il trattamento della cachessia associata all'AIDS ed è attualmente in fase di valutazione l'indicazione per la cachessia neoplastica.

Corticosteroidi

Tra gli agenti oressizzanti i corticosteroidi sono largamente utilizzati. Numerosi studi randomizzati comparati con placebo hanno dimostrato che i corticosteroidi, incluso il desametasone, il prednisone e il metilprednisolone, inducono un effetto di solito temporaneo (limitato a qualche settimana) su sintomi come appetito, introito di cibo, sensazione di benessere e performance status, però nessuno di questi studi ha dimostrato un effetto benefico sul peso corporeo^{115,116}.

È altresì vero che i corticosteroidi hanno un'azione antiemetica e sono in grado di ridurre l'astenia e di controllare il dolore. Il loro meccanismo d'azione nella CACS non è ancora ben chiaro, nonostante l'inibizione dell'attività delle prostaglandine e la soppressione di IL-1 e TNF α siano i target meglio riconosciuti¹¹⁷.

I corticosteroidi sembrano avere bersagli d'azione simili ai progestinici, sebbene a lungo termine abbiano più effetti collaterali¹⁰⁸ (proteolisi, insulino-resistenza, ritenzione idrica e soppressione surrenalica). Per questo i corticosteroidi non sono adatti per l'uso a lungo termine e dovrebbero essere utilizzati nella fase pre-terminale di cachessia con l'obiettivo di migliorare la qualità di vita.

Sostanze con un forte razionale che hanno fallito o che finora non hanno mostrato risultati univoci nei trial clinici

Le sostanze capaci di inibire la sintesi e/o il rilascio di citochine (ad esempio l'acido eicosapentenoico - EPA -, la melatonina, ecc.), l'azione delle citochine (anticorpi anticitochine e citochine antinfiammatorie - IL-12 e IL-15 -) e quelle in grado di inibire l'attività del proteasoma (come il bortezomib) sono state testate in modelli sperimentali di cachessia, ottenendo un discreto successo. Sfortunatamente la maggior parte dei trial clinici sull'uomo ha portato a risultati limitati o deludenti.

Acidi grassi N-3

Alcuni studi condotti in passato hanno evidenziato che il supplemento in acidi grassi polinsaturi N-3 è in grado di aumentare il peso corporeo ed inibire la produzione di IL-1 e TNF α attraverso il blocco delle vie della ciclo-ossigenasi e della lipo-ossigenasi in pazienti cachettici con cancro colo-rettale e pancreatico¹¹⁸.

Più recentemente, uno studio di Fearon *et al*¹¹⁹ ha suggerito che, se introdotto in quantità sufficiente, un supplemento orale ad alto contenuto proteico ed energetico, arricchito con acidi grassi omega 3, determina un aumento del peso corporeo e della massa magra ed un miglioramento della qualità di vita. Più tardi, uno studio di Jatoi *et al*¹²⁰ ha dimostrato che l'EPA sia da solo che in combinazione con MA non determina un significativo aumento né del peso corporeo né dell'appetito rispetto al MA da solo. Un terzo studio, condotto da Fearon *et al*¹²¹ ha confrontato l'estere dietilico dell'EPA con il placebo in pazienti con cachessia neoplastica. I risultati del trial non hanno indicato un beneficio statisticamente significativo dall'EPA come agente singolo nel trattamento della CACS.

Una meta-analisi pubblicata nel 2007¹²² ha concluso che non vi erano dati sufficienti per stabilire se la somministrazione orale di EPA fosse migliore del placebo. Oltretutto, l'EPA combinato con un supplemento ad alto contenuto energetico e proteico in confronto allo stesso supplemento senza EPA, in associazione ad un agente oressizzante quale il MA non induce un miglioramento dei sintomi associati alla CACS.

Cannabinoidi

Il principio attivo della marijuana, il dronabinolo (delta-9-tetraidrocannabinolo, THC), è noto per avere un effetto positivo sull'appetito, il peso corporeo e la nausea indotta da chemioterapia¹¹⁷. Il dronabinolo è stato utilizzato prima come antiemetico in pazienti con cancro, tuttavia sono stati riportati significativi effetti avversi neurologici come vertigini, euforia e decadimento delle funzioni cognitive.

I cannabinoidi si possono considerare potenzialmente efficaci contro la CACS, purtroppo però due diversi studi randomizzati^{109,123} non hanno dimostrato una maggiore efficacia dei cannabinoidi rispetto sia al MA che al placebo.

Bortezomib

Il bortezomib, un inibitore dell'NF-kB e del sistema ubiquitina-proteasoma, nonostante il suo meccanismo d'azione lo renda potenzialmente promettente, nei risultati preliminari pubblicati da Jatoi *et al*¹²⁴ ha dimostrato un beneficio trascurabile sulla perdita di peso correlata al tumore in pazienti con tumore del pancreas metastatico.

Infliximab

L'infliximab è un anticorpo monoclonale anti-TNF α , il cui utilizzo nella CACS si è dimostrato inefficace; infatti lo studio clinico di Wiedenmann *et al*⁸⁹ ha evidenziato che l'aggiunta di infliximab alla gemcitabina per il trattamento della cachessia in pazienti con tumore del pancreas in stadio avanzato non ha dimostrato un miglioramento significativo della LBM rispetto al placebo.

Sostanze emergenti che hanno dimostrato efficacia ma ancora oggetto di valutazione clinica

Talidomide

La talidomide è stata inizialmente introdotta nella pratica clinica come sedativo e negli anni '60 è stata ritirata dal commercio per i suoi effetti teratogeni. Negli ultimi quarant'anni è stata scoperta una sua significativa attività antinfiammatoria in un gran numero di disordini come l'artrite reumatoide, il lupus eritematoso cutaneo e la *graft versus host disease* cronica; è stato dimostrato che la talidomide ha un effetto inibitorio sulla produzione di TNF α e IL-6 e proprio a questo potrebbe essere dovuta la sua attività anti-cachettica. Ad oggi questa sostanza è stata utilizzata nel trattamento della cachessia associata all'AIDS, alla tubercolosi e al cancro. Nell'attuale letteratura vi sono alcuni studi che hanno accertato gli effetti anabolici della talidomide nella cachessia da neoplasie gastrointestinali. Gordon *et al*¹²⁵ hanno portato avanti uno studio randomizzato controllato *versus* placebo con lo scopo di stabilire la sicurezza e l'efficacia della talidomide nel contrastare il dimagrimento in pazienti con cachessia secondaria a cancro avanzato del pancreas ed hanno concluso che il farmaco è ben

tollerato ed è capace di attenuare la perdita di peso e di massa magra in questo tipo di pazienti.

Inibitori selettivi della COX-2

I farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS) sono largamente utilizzati nei pazienti con cancro per il trattamento della febbre e del dolore: essi agiscono inibendo la produzione di prostaglandine attraverso gli enzimi noti come ciclo-ossigenasi (COX). Poiché i FANS tradizionali esercitano il loro effetto sia sulla COX-1 che sulla COX-2, essi inducono eventi avversi come tossicità gastrointestinale - che può progredire fino all'ulcera -, riduzione dell'appetito e, conseguentemente, riduzione del peso corporeo; perciò queste sostanze potrebbero essere considerate una potenziale causa di anoressia nei pazienti con cancro. D'altro canto è stato dimostrato che l'ibuprofene, inibitore dell'enzima COX-1, è in grado di diminuire i livelli di PCR, incrementare il peso corporeo e migliorare la sopravvivenza in pazienti con cancro^{126,127}.

La scoperta e l'introduzione nella pratica clinica degli inibitori selettivi della COX-2 - celecoxib e rofecoxib - , che sono quasi completamente privi di tossicità gastrointestinale pur mantenendo un'elevata attività antinfiammatoria, suggerisce che questi agenti possano rappresentare un'alternativa ben tollerata e terapeuticamente efficace ai FANS convenzionali⁸.

Inoltre è interessante l'evidenza che la COX-2 e le prostaglandine da essa derivate giocano un ruolo importante nello sviluppo del cancro attraverso molteplici meccanismi biochimici, inclusa la stimolazione della crescita delle cellule tumorali e la neoangiogenesi e che, attraverso l'inibizione di questi, il celecoxib può esplicare anche un'azione antitumorale¹²⁸.

La ricerca in modelli sperimentali animali ha dimostrato che i FANS, compresi gli inibitori della COX-2, possono contrastare la cachessia attraverso la soppressione dell'infiammazione sistemica^{129,130}. Lai *et al*¹³¹ hanno condotto uno studio controllato *versus* placebo sul celecoxib in undici pazienti con tumore del distretto testa-collo e del tratto gastroenterico: i pazienti trattati con celecoxib hanno mostrato un aumento statisticamente significativo del peso e dell'indice di massa corporea rispetto a quelli che ricevevano placebo. I risultati di questo studio pilota concordano con i precedenti esperimenti sugli animali e dovrebbero stimolare ulteriori e più ampi studi clinici sul ruolo degli inibitori della COX-2 nel trattamento della cachessia neoplastica.

Grelino-mimetici con attività oressizzante ed anabolica

Recentemente grande interesse scientifico è stato focalizzato sulla grelina, un peptide di 28 aminoacidi prodotto dalle cellule P/D1 dello stomaco. La grelina non stimola solo la secrezione dell'ormone della crescita (*Growth Hormone*, GH) attraverso il recettore GH-secretagogo-1a (GHS-1a), ma promuove anche l'introito di cibo attraverso il sistema oressizzante del NPY e diminuisce l'attività del sistema nervoso ortosimpatico. È stato dimostrato che la grelina umana sintetica contrasta l'atrofia muscolare e migliora la capacità funzionale in pazienti con cachessia da patologia cardiopolmonare ed incrementa l'introito energetico in pazienti affetti da anoressia neoplastica. L'utilizzo della grelina nella cachessia umana non ha dimostrato un'efficacia univoca nell'aumento dell'introito calorico con la somministrazione di singole dosi intravenose. In uno studio randomizzato di Strasser *et al*¹³² condotto su 21 pazienti con cachessia neoplastica la grelina, somministrata alle dosi di 2 e 8 mg/kg, è stata ben tollerata ad

entrambi i dosaggi e non ha indotto cambiamenti significativi dell'introito nutrizionale rispetto al placebo.

Neary *et al*¹³³ hanno portato avanti un trial clinico controllato verso placebo in 7 pazienti con anoressia per stabilire se la grelina (5 pmol/kg/min per 180 min i.c.) stimoli l'appetito in pazienti con anoressia neoplastica. Un marcato incremento energetico e dell'introduzione di cibo sono stati osservati con l'infusione di grelina. Il punteggio dato al gradimento del pasto è stato maggiore del 28,8% dopo il trattamento con grelina; non sono stati osservati eventi avversi.

Garcia *et al*¹³⁴ hanno effettuato uno studio sull'agonista del recettore GHS RC-1291, una piccola molecola attiva per via orale. Il composto è stato somministrato nell'ambito di un trial randomizzato controllato *versus* placebo a 81 soggetti cachettici con diversa tipologia di tumore (principalmente polmonare). Nelle 12 settimane di trattamento, l'RC-1291 ha prodotto un miglioramento della massa totale corporea ed una tendenza all'aumento della massa magra. La valutazione della qualità di vita non ha dimostrato differenze tra il gruppo ricevente RC-1291 ed il placebo.

I risultati finora disponibili, basati su studi animali e su piccoli trial di fase I-II a breve termine sull'uomo, sono da considerare con cautela, pur essendo molto promettenti per ulteriori studi che investighino sull'utilizzo della grelina e degli agonisti del recettore GHS per il trattamento della cachessia. Molte domande rimangono senza risposta, tuttavia, prima del suo utilizzo su larga scala, prima tra tutte se i risultati ottenuti con gli agonisti del recettore GHS confermino sicurezza ed efficacia a lungo termine anche sull'uomo: chiaramente è quindi necessaria una ricerca più a lungo termine¹³⁵.

Insulina

Lundholm *et al*¹³⁶ hanno condotto una ricerca per valutare se il trattamento giornaliero con insulina in pazienti neoplastici con perdita di peso possa rallentare la progressione della cachessia da cancro e migliorare il metabolismo e le funzioni fisiche. Centrotrentotto pazienti non selezionati con neoplasie maligne principalmente del tratto gastrointestinale sono stati randomizzati a ricevere la migliore terapia di supporto disponibile in rapporto alle necessità individuali [trattamento antinfiammatorio (indometacina), prevenzione dell'anemia (eritropoietina ricombinante) e supporto nutrizionale (supplemento orale più nutrizione parenterale a domicilio)] più o meno insulina ($0,11 \pm 0,05$ unità/kg/die). Il trattamento insulinico ha stimolato in maniera significativa l'introito di carboidrati, ha diminuito le concentrazioni sieriche di acidi grassi liberi ed ha indotto un aumento della massa grassa totale, particolarmente a livello del tronco e degli arti inferiori, lasciando invece immodificata la massa magra. Inoltre ha migliorato l'efficienza metabolica durante l'esercizio fisico, ma non ha aumentato la capacità massima di esercizio e l'attività fisica spontanea. Gli autori hanno tratto la conclusione che l'insulina può essere considerata un trattamento efficace nella palliazione multimodale della perdita di peso nei pazienti neoplastici.

Aminoacidi a catena ramificata

Gli aminoacidi a catena ramificata (*Branched-chain Amino Acids*, BCAAs) sono aminoacidi neutri con effetti metabolici interessanti e clinicamente rilevanti: essi interferiscono con l'attività serotoninergica cerebrale ed inibiscono la sovraespressione di importanti vie proteolitiche muscolari. Il loro ruolo potenziale come agenti anti-anoressizzanti e anti-cachettici è stato proposto diversi anni fa, ma solo recentemente

studi sperimentali e trial clinici hanno testato la loro capacità di stimolare l'introduzione di cibo e di neutralizzare il deperimento muscolare in pazienti anoressici perdenti peso¹³⁷. Nei modelli sperimentali di cachessia neoplastica, i BCAAs sono in grado di indurre una soppressione significativa della perdita di peso, producendo un aumento significativo della muscolatura scheletrica¹³⁸ come anche della performance muscolare e dell'attività fisica totale giornaliera¹³⁹.

Oxandrolone

Gli androgeni anabolizzanti sono derivati sintetici del testosterone con un maggior effetto anabolizzante e minore attività androgenica rispetto al testosterone.

Recentemente un trial prospettico randomizzato di fase III ha confrontato gli effetti dell'oxandrolone (10 mg 2 volte/die) e del MA (800 mg 1 volta/die) su peso, composizione corporea e qualità di vita in 155 pazienti adulti con tumori solidi e perdita di peso in trattamento chemioterapico ed ha dimostrato che i pazienti trattati con oxandrolone hanno sperimentato un aumento della LBM, una riduzione della massa grassa ed una riduzione dei sintomi soggettivi dell'anoressia¹⁴⁰.

Olanzapina

L'olanzapina è un neurolettico atipico con un'ampia finestra terapeutica che si utilizza per un gran numero di disturbi psichici e che provoca un aumento ponderale significativo ed effetti metabolici positivi. I dati preliminari di uno studio pilota di fase I condotto da Braiteh *et al*¹⁴¹ ha suggerito che basse dosi di olanzapina sono molto ben tollerate, con una promettente azione clinica su peso corporeo e nutrizione in pazienti con cachessia da cancro in stadio avanzato. Il trial è tuttora in corso.

Prospettive future

I farmaci più promettenti in fase di sperimentazione sono i seguenti:

a) L'anticorpo monoclonale umanizzato anti IL-6 sembra in grado di inibire la cachessia in modelli murini⁹⁹;

b) L'IL-15 è una citochina espressa dal muscolo scheletrico; essa è in grado di sopprimere l'aumento della frammentazione del DNA associata alla perdita di massa muscolare nei ratti portatori di tumore¹⁴² ed ha dimostrato di avere un effetto anabolizzante *in vitro* e di rallentare la perdita muscolare in ratti con cachessia neoplastica¹⁴³;

c) Il formoterolo, un beta2 agonista, è un agente molto efficace nella prevenzione della perdita di massa muscolare in ratti portatori di tumore¹⁴⁴;

d) Recentemente sono stati sviluppati degli analoghi degli androgeni molto promettenti, come i modulatori selettivi dei recettori degli androgeni (*Selective Androgen Receptor Modulators*, SARMs), che agiscono in modo preferenziale sul muscolo scheletrico. Essi si legano con alta affinità al recettore degli androgeni (*Androgen Receptor*, AR) ed esercitano una potente azione farmacologica su tessuti specifici (muscolo ed osso), con un meccanismo non ancora del tutto chiarito. Nei modelli cellulari ed animali l'AR attivato regola la proliferazione dei mioblasti, promuove lo sviluppo muscolare e la differenziazione delle fibre muscolari. In ambito clinico, la somministrazione di androgeni anabolizzanti può inibire il processo della cachessia e velocizzare la guarigione delle ferite. Per la cachessia neoplastica è stata creata una nuova classe di SARMs non steroidei. Evans *et al*¹⁴⁵ hanno condotto uno studio pilota di fase II randomizzato sull'ostarina, il capostipite dei SARM, reclutando donne sane in età postmenopausale e maschi anziani, preliminare ad uno studio di fase

Il su pazienti neoplastici. Nell'arco di 3 mesi la LBM, *endpoint* primario dello studio, ha mostrato un miglioramento con l'uso di ostarina, così come anche il rendimento fisico; inoltre l'ostarina non ha dimostrato effetti collaterali di tipo androgenico.

e) La miostatina è implicata in diverse forme di perdita muscolare, inclusa la cachessia neoplastica. Le strategie per contrastare la miostatina sono promettenti e dovrebbero essere prese in considerazione nei futuri trial clinici su pazienti cachettici⁵⁸.

f) Recenti esperimenti hanno mostrato che il blocco del segnale della melanocortina con gli antagonisti del recettore MC4 della melanocortina attenua l'anoressia ed il deperimento in modelli murini di cancro ed insufficienza renale¹⁴⁶.

Approccio combinato della CACS

Da tutti i dati citati si può dedurre che una singola terapia potrebbe non essere del tutto efficace per il trattamento della CACS; da questo punto di vista è più probabile che abbiano maggior successo i trattamenti combinati¹⁴⁷.

Cerchietti *et al*¹⁴⁸ hanno portato avanti uno studio pilota utilizzando una terapia *multitarget* in un gruppo omogeneo di 15 pazienti con adenocarcinoma polmonare ed evidenza di “sindrome immuno-metabolica sistemica” (SIMS) definita dagli autori come una varietà particolare di sindrome da distress sistemico conseguente a disregolazione dell'omeostasi psico-neuro-immuno-endocrina, caratterizzata da perdita di peso, anoressia, *fatigue*, *performance status* ≥ 2 ed attivazione della risposta di fase acuta. I pazienti hanno ricevuto MPA (500 mg 2 volte al giorno) più celecoxib (200 mg 2 volte al giorno) più un supplemento nutrizionale orale per 6 settimane. I risultati suggeriscono che i pazienti trattati con MPA, celecoxib ed intervento dietetico hanno

ottenuto un miglioramento significativo della perdita di peso, di nausea e vomito, senso di sazietà precoce, appetito e fatigue.

In uno studio seguente Cerchietti *et al*¹⁴⁹ hanno formulato l'ipotesi che, modulando l'infiammazione sistemica con un approccio mirato agli eicosanoidi, si potesse controllare qualcuno dei sintomi della SIMS. Dopo uno studio preliminare su 12 pazienti in cui è stata definita la dose massima tollerabile di 6 g/die, gli autori hanno utilizzato tale dose per la conduzione di uno studio clinico randomizzato verso placebo su 22 pazienti con tumore polmonare avanzato e SIMS. I pazienti sono stati randomizzati a ricevere olio di pesce 2 g tre volte al giorno più supplementazione nutrizionale orale, più o meno celecoxib 200 mg due volte al giorno. Dopo 6 settimane di trattamento i pazienti di entrambi i gruppi che ricevevano olio di pesce più placebo od olio di pesce più celecoxib hanno mostrato un significativo aumento dell'appetito, una diminuzione della fatigue e livelli più bassi di PCR rispetto ai valori basali. Inoltre i pazienti trattati con celecoxib hanno avuto anche un aumento ponderale, un miglioramento della forza muscolare ed una diminuzione più significativa della PCR in confronto al gruppo con placebo.

Nell'ambito degli approcci combinati, uno dei più interessanti è stato il nostro studio aperto di fase II^{101,150}. Lo scopo dello studio era di verificare la sicurezza e l'efficacia di un trattamento integrato basato su dieta, supporto farmaco-nutrizionale somministrato *per os* e farmaci in una popolazione di pazienti con tumore in stadio avanzato di diverse sedi. Gli *endpoint* primari erano i seguenti: risposta clinica, variabili nutrizionali e funzionali, variabili di laboratorio (come indicazioni di CACS/OS) e qualità di vita (QoL), in particolare la fatigue.

Il trattamento consisteva in una dieta ad alto contenuto di polifenoli (400 mg), trattamento antiossidante (300 mg/die di acido alfa lipoico + 2,7 g/die di carbocisteina sale di lisina + 400 mg/die di vitamina E + 30000 UI/die di vitamina A + 500 mg/die di vitamina C) e un supporto farmaco nutrizionale ad alto contenuto energetico/proteico arricchito con n-3-PUFA (acidi eicosapentaenoico e docosaenoico) (2 brick/die), 500 mg/die di medrossiprogesterone acetato e 200 mg/die di celecoxib. La durata del trattamento è stata di 4 mesi. Trentanove pazienti hanno completato il trattamento e sono stati considerati valutabili.

Il peso corporeo è aumentato significativamente, come anche la LBM e l'appetito, mentre le citochine proinfiammatorie (IL-6 e TNF α) sono diminuite significativamente. È importante sottolineare il riscontro di una correlazione negativa degna di nota tra le modificazioni di LBM e IL-6. Inoltre il trattamento ha determinato un miglioramento significativo della qualità di vita globale, ed in particolare della fatigue.

Sulla base della modificazione degli *endpoint* primari, ventidue pazienti su trentanove sono stati considerati "responders" e pertanto, in accordo col disegno statistico di Simon a due fasi per lo studio di fase II, il trattamento si è dimostrato efficace. Inoltre non sono stati riscontrati eventi avversi severi.

È da tenere a mente che questi trial basati su un approccio combinato, sebbene supportati da un buon razionale, sono tutti studi di fase II che hanno reclutato un piccolo numero di pazienti e quindi sono da considerare studi preliminari e richiedono una conferma in successivi studi di fase III.

Sulla base di queste evidenze abbiamo iniziato un trial clinico randomizzato di fase III con 5 bracci di trattamento per stabilire quale sia l'approccio più efficace e sicuro nei confronti della CACS.

Scopo del lavoro

Lo studio è stato condotto con lo scopo di stabilire quale fosse il trattamento più efficace e sicuro in grado di indurre un miglioramento dei parametri primari della CACS (aumento della LBM, diminuzione della REE, miglioramento della fatigue) e di alcuni parametri secondari come il miglioramento dell'appetito, della qualità di vita (EORTC QLQ C30 e EQ 5D), l'aumento della forza muscolare, la diminuzione del *Glasgow Prognostic Score* (GPS) e delle citochine proinfiammatorie.

Pazienti e metodi

Disegno dello studio

Lo studio è un trial randomizzato di fase III che è stato attivato nel 2005 presso il Dipartimento di Oncologia Medica I dell'Azienda Ospedaliera Universitaria di Cagliari. Il protocollo è stato approvato dal Comitato Etico dell'Azienda Ospedaliera Universitaria di Cagliari. Tutti i pazienti hanno fornito il consenso informato ed il lavoro è stato condotto secondo i principi della Buona Pratica Clinica e in accordo con la Dichiarazione di Helsinki.

Criteri di eleggibilità

- Pazienti di età ≥ 18 anni con tumore di qualsiasi distretto in stadio avanzato accertato istologicamente;
- Perdita di $> 5\%$ del peso corporeo ideale o pre-malattia nei precedenti 3 mesi e valori patologici di citochine proinfiammatorie predittivi dell'insorgenza di cachessia clinica;

- Aspettativa di vita \geq 4 mesi.

I pazienti potevano essere sottoposti a concomitanti chemio od ormonoterapie antineoplastiche con intento palliativo o esclusivamente a trattamenti di supporto.

Criteri di esclusione

- Donne in età fertile;
- Ostruzione meccanica all'alimentazione;
- Trattamenti medici che potessero indurre un cambiamento significativo del metabolismo o del peso corporeo;
- Storia di tromboembolismo.

Piano di trattamento

A tutti i pazienti inclusi nello studio è stato somministrato un trattamento di base con polifenoli (300 mg/die), ottenuti dalla dieta (cipolle, mele, arance, vino rosso 150 ml, the verde) o supplementati tramite compresse (Quercetix, Elbea Pharma, 1 cp 300 mg/die) più acido lipoico 300 mg/die più carbocisteina 2,7 g/die (Fluifort, Dompè, 1 bustina/die) più vitamina E 400 mg/die (Sursum, Abiogen, 1 pastiglia/die) più vitamina A 30000 UI/die e vitamina C 500 mg/die (Trocaflu, Laborest, 2 bustine/die), il tutto somministrato *per os*.

I pazienti sono stati poi randomizzati verso uno dei seguenti bracci:

Braccio 1. Progestinico di sintesi: medrossiprogesterone acetato 500 mg/die (MPA) (Provera, Pfizer) o megestrolo acetato 320 mg/die (MA) (Megace, Bristol-Myers o Megestil, Teofarma), somministrati *per os*;

Braccio 2. Supporto farmaco-nutrizionale contenente EPA + Acido Docosaesaenoico (DHA), ad elevato contenuto calorico e proteico (proteine 9 gr/100 ml e 155-160 Kcal/100 ml) (Prosure, Abott, 2 brick/die o Resource Support, Novartis, 2 brick/die o Forticare, Nutricia, 3 brick/die);

Braccio 3. L-carnitina (Carnitene, SigmaTau) 4 g/die (2 flaconcini 2 g/die) *per os*;

Braccio 4. Talidomide (Thalidomide, Pharmion) 200 mg/die;

Braccio 5. MPA o MA più supplemento nutrizionale arricchito con EPA più L-carnitina più talidomide.

La durata del trattamento è stata di 4 mesi. Non è stato incluso un braccio placebo in quanto ritenuto non etico visti i risultati del precedente studio di fase II¹⁰¹ ed essendo attualmente disponibili dei farmaci approvati, ossia i progestinici di sintesi, per il trattamento della cachessia neoplastica.

Parametri di efficacia

Parametri primari di efficacia

I parametri primari erano i seguenti:

1) variazione della LBM, valutata attraverso i seguenti metodi:

- con analisi bioimpedenziometrica (Analisi Impedenza Bioelettrica, BIA, 101, Akern SpA, Firenze, Italia) in tutti i pazienti;

- con il Dual Energy X-ray Absorptiometry (DEXA), utilizzando uno scanner Hologic Delphi W in 144 pazienti (Hologic Inc., Bedford, MA);

- inoltre, in 25 pazienti, è stata utilizzata la tomografia computerizzata regionale a livello di L3 (TC-L3), considerata attualmente il metodo più preciso nella valutazione degli indici di massa magra e muscolare nel paziente con cachessia da cancro¹⁵¹.

2) Variazioni della REE, valutata con la calorimetria indiretta (Medgem, SensorMedics Italia Srl, Milano, Italia). Questa metodica è basata sulla misura del consumo di O₂ (VO₂) e della produzione di CO₂ (VCO₂) del paziente, parametri che sono direttamente legati al quoziente respiratorio (RQ) e quindi al tasso metabolico. Questo è stato ottenuto in condizioni basali ed espresso in Kcal/24h.

3) variazioni del sintomo fatigue, tramite il questionario MFSI-SF (*Multidimensional Fatigue Symptom Inventory-Short Form*)^{152,153}.

Parametri secondari di efficacia

I parametri secondari valutati sono stati:

- 1) L'appetito, valutato mediante scala analogico-visiva (VAS).
- 2) La forza muscolare diretta, o "grip strength", misurata con il dinamometro ed espressione della capacità muscolare dell'arto superiore dominante.
- 3) La qualità di vita, valutata mediante i questionari autosomministrati EORTC-QLQ-C30, EuroQol (EQ-5D) index e EQ-5DVAS.
- 4) I livelli sierici delle citochine IL-6 e TNF α , determinate mediante metodiche ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent Assays*) (Immunotech, Marseille, France).
- 5) Il Glasgow Prognostic Score (GPS), considerato attualmente un indice predittivo altamente significativo della sopravvivenza in pazienti con neoplasie in stadio avanzato^{154,155}.

6) I livelli ematici di ROS (FORT test, Callegari SpA, Italy) e di Glutazione perossidasi (GPX) (Randox, Crumlin, UK), valutati attraverso metodiche di tipo cinetico-fotometriche.

7) L'attività fisica totale giornaliera e la spesa energetica associata determinata attraverso un monitor metabolico computerizzato portatile (SenseWear PRO2, Armband, SensorMedics Italia, Milano, Italia) il quale è in grado di misurare la spesa energetica totale (*Total Energy Expenditure*, TEE), ossia la somma di REE ed energia consumata durante l'attività fisica (*Active Energy Expenditure*, AEE). Inoltre questo strumento riesce a identificare il tipo di attività fisica compiuta, come la corsa, la camminata tranquilla, il riposo a letto o il sonno, ed in tal modo può attribuirle una "qualità funzionale"¹⁵⁶.

8) Il Performance Status (PS) in accordo alla scala ECOG (*Eastern Cooperative Oncology Group*) PS¹⁵⁷.

9) La risposta clinica oggettiva di fine trattamento, attraverso i criteri RECIST¹⁵⁸:

- Risposta completa (*Complete Response*, CR);
- Risposta parziale (*Partial Response*, PR);
- Malattia stabile (*Stable Disease*, SD);
- Progressione di malattia (*Progressive Disease*, PD).

10) La sopravvivenza libera da progressione (*Progression-Free Survival*, PFS) e la sopravvivenza complessiva (*Overall Survival*, OS) alla fine dello studio.

Tutti i parametri sono stati valutati prima del trattamento e dopo 4, 8 e 16 settimane dall'inizio del trattamento.

Metodiche di valutazione dei principali parametri nutrizionali/funzionali e di laboratorio

LBM

La misura dell'LBM è stata effettuata con un analizzatore bioelettrico di impedenza serie STA/BIA 101, utilizzando il posizionamento standard di 4 elettrodi sui due arti di un emisoma del paziente ed induzione di una corrente elettrica alternata variabile tra i 400 e gli 800 microA ed alla frequenza standard di 50 kHz (monofrequenza): tale corrente in questo modo attraversa tutto l'emisoma. I dati di composizione corporea ricavati dall'analizzatore di impedenza bioelettrica sono stati derivati dal rapporto tra resistenza e reattanza. La prima si può definire come la capacità di un tessuto di resistere al passaggio della corrente elettrica indotta, la seconda come la capacità delle cellule di trattenere la stessa corrente. Durante la misurazione con l'impedenziometro il paziente giaceva supino con le braccia e le gambe leggermente abdotte in modo che la superficie mediale delle cosce non toccasse il resto del corpo. Per una misurazione standard gli elettrodi sono stati posizionati tra le mani ed i piedi dell'emisoma dominante. I dati ottenuti venivano poi immagazzinati ed elaborati in modo computerizzato.

A partire dal Gennaio 2007 la valutazione della LBM è stata effettuata anche tramite la Dual Energy X-ray Absorptiometry (DEXA). La DEXA si basa sul principio dell'attenuazione differenziale di un fascio di raggi X al passaggio attraverso i tessuti: questa attenuazione è registrabile ed è correlata alla composizione corporea del soggetto esaminato. L'apparecchio emette un fascio collimato con assenza di dispersione nell'ambiente. La dose di raggi X per singolo esame è minima (1 mRem): vi è quindi assenza di rischi sia per il paziente che per l'operatore ed è possibile ripetere l'esame a

distanza di tempo ravvicinata. L'esame DEXA fornisce un'accurata misurazione del contenuto minerale osseo corporeo totale, della LBM e della massa grassa¹⁵⁹. La caratteristica peculiare di questa metodologia analitica è che la valutazione risulta "diretta", cioè non ottenuta in modo analogico né per correlazione con altri parametri, e quindi assolutamente veritiera ed oggettiva.

Un'emergente tecnica di valutazione della composizione corporea è lo studio del grasso addominale attraverso analisi d'immagine TC computerizzata. In particolare questa metodica consiste nel porre in relazione dimensionale le componenti grasse viscerale e sottocutanea e la massa magra della stessa regione, rappresentata principalmente dai muscoli paravertebrali.

È stata infatti osservata in molti lavori la modificazione del rapporto tra questi tre tipi di tessuti durante l'evoluzione di disordini metabolici severi, come la cachessia da cancro.

La tecnica analitica è basata sull'acquisizione d'immagini mediante Tomografia Computerizzata (TC) o Risonanza Magnetica (RM) della regione addominale a livello delle vertebre L2-L3, registrando le immagini come files DICOM e procedendo all'analisi grafica per la definitiva discriminazione tra i differenti tre tessuti. La discriminazione tra i tessuti è basata principalmente sulle caratteristiche di qualità dei pixels componenti le immagini, in forza del fatto che differenti tessuti hanno ben specifici *ranges* di intensità luminosa. Nel caso del nostro studio si è proceduto all'analisi delle immagini ottenute dalle TAC effettuate presso il servizio di Radiologia dell'Azienda Ospedaliera Universitaria di Cagliari attraverso un software specifico (Tomovision SliceOmatic, Montreal, Canada). Tale analisi è stata eseguita in modalità semiautomatica, e con la tecnica della "segmentazione" si sono potute selezionare le

aree di tessuto grasso viscerale, grasso sottocutaneo e tessuto muscolare, dandone infine una valutazione numerica oggettiva di superficie tessuto / superficie totale (mm^2). La LBM stimata è stata invece calcolata utilizzando la seguente formula: $\text{LBM} = [(\text{area della superficie muscolare rilevata con TC-L3} (\text{mm}^2) + 1,0704)] / 3,142^{160}$.

Resting Energy Expenditure

Per la misurazione del dispendio energetico a riposo (Resting Energy Expenditure, REE) si è proceduto alla valutazione dei pazienti attraverso la metodica della Calorimetria Indiretta, che consiste nella valutazione della spesa energetica attraverso la misurazione delle concentrazioni di O_2 e CO_2 presenti nei gas respiratori.

Specificatamente, la metodica utilizzata è quella detta a “circuito aperto”, dove l’espriato del paziente viene raccolto attraverso una serie di tubi ed in questi misurato il flusso nell’unità di tempo e contemporaneamente misurate le concentrazioni di CO_2 e O_2 . Da questi dati vengono calcolati il consumo di O_2 e la produzione della CO_2 stessi.

I moderni apparecchi utilizzati a questo scopo, in base al tipo di sistema analitico possono rilevare entrambi i parametri (O_2 e CO_2) o semplicemente uno solo dei due. In quest’ultimo caso, attraverso la Trasformazione di Haldane, tali apparecchi forniscono un corretto valore di REE partendo dalla lettura della concentrazione di O_2 . L’apparecchio da noi utilizzato è un calorimetro indiretto con rilevatore di O_2 a quattro sensori (Healthetech Medgem, Golden, CO, USA). Le valutazioni della REE dei pazienti arruolati nel presente studio sono state condotte portando i pazienti nella condizione massima di rilassamento possibile, sdraiati in ambiente con illuminazione e temperatura controllata e assicurandosi dello stato di digiuno da ameno tre ore. I valori ottenuti dal calorimetro indiretto sono stati registrati e valutati attraverso un software

analitico specifico. I risultati di REE sono stati tutti espressi in Kcal/24h e il flusso di O₂ (vO₂) in ml/min.

Grip Strength e forza muscolare diretta

La forza muscolare dei pazienti è stata valutata tramite dinamometria. Essi sono stati valutati in posizione seduta con l'avambraccio dominante flesso di 90° sul braccio ed invitati a stringere con la mano lo strumento per tre volte consecutive. Le misurazioni sono espresse in kg.

Attività fisica giornaliera

La valutazione della spesa energetica attiva (AEE, Active Energy Expenditure), effettuato in questo studio, rappresenta un importante parametro di qualità funzionale e della qualità di vita dei pazienti in trattamento.

Infatti l'aumento del dispendio energetico attivo e la diminuzione del dispendio energetico a riposo (REE) sono indicatori del miglioramento della capacità prestazionale ed indici indiretti ma significativi del miglioramento della qualità di vita.

La valutazione della spesa energetica attiva è estremamente complicata da effettuarsi; tuttavia i moderni ritrovati della tecnica consentono delle registrazioni dinamiche dei parametri metabolici e di spesa energetica piuttosto accurate anche quando confrontati con metodologie classiche. In particolare gli strumenti basati su accelerometri misurano l'intensità dei movimenti corporei su tre piani (antero-posteriore, laterale e verticale). L'elaborazione dei dati misurati dallo strumento consente di stimare l'intensità relativa, così come la durata, delle varie attività fisiche. Poiché gli studi di laboratorio hanno dimostrato una correlazione lineare tra i valori

dell'accelerometro e il consumo energetico durante le attività fisiche quali camminare e correre¹⁶¹, la spesa energetica di tali attività può essere ottenuta dai dati forniti dall'accelerometro.

Differenti attività possono essere classificate in base all'intensità ed espresse in livelli di MET (Equivalenti Metabolici). L'utilizzo di questi strumenti, di piccole dimensioni, presenta molteplici vantaggi, tra cui l'estrema comodità d'uso, senza nessuna interferenza con i normali movimenti e la capacità di registrare i dati continuamente per periodi di giorni, settimane e anche mesi¹⁶⁰.

La loro accuratezza è limitata alla misura della spesa energetica del lavoro dinamico e pertanto essi dimostrano una migliore sensibilità nel rilevare attività come camminare piuttosto che altre attività domestiche comuni quali pulizie di casa o attività ricreative, come ad esempio giocare a golf¹⁶⁰.

Nel presente studio è stato utilizzato un Holter metabolico computerizzato (Sensewear Armband, Bodymedia, Pittsburg, PA, USA), applicato al braccio dominante dei pazienti e capace di registrare continuamente fino a dodici giorni il dispendio energetico totale, valutando separatamente quello attivo da quello a riposo. Più nel dettaglio, tale strumento registra, attraverso degli accelerometri, la postura ed i movimenti che il paziente esegue, discriminando quindi i periodi di allettamento dai periodi di attività fisica. Inoltre, attraverso dei sensori a contatto con la pelle, lo strumento registra temperatura, scambio termico e correnti galvaniche cutanee, attraverso cui riesce a dare una lettura calorimetrica della spesa energetica corporea nel corso del tempo. Un appropriato software analizza tali misurazioni ricavando i seguenti parametri:

- Dispendio energetico totale (TEE) espresso in Kcal e dato dalla somma di tre fattori:

a) spesa energetica per il metabolismo di base;

b) spesa energetica per l'attività fisica,

c) spesa di energia derivante dalla introduzione degli alimenti (termogenesi alimentare).

- Durata dell'attività fisica (espressa in minuti) corrispondente al tempo in cui il paziente svolge un'attività fisica superiore ai 3.0 Mets. Il termine MET (Metabolic Equivalent) è un multiplo del consumo energetico in condizioni basali, e il valore di 1 MET equivale ad una 1Kcal/kg/h.

- Numero totale dei passi

- Tempo durante il quale il paziente rimane sdraiato

Determinazione dei livelli sierici delle citochine proinfiammatorie

Le citochine proinfiammatorie IL-6 e TNF α sono state valutate tramite metodiche ELISA utilizzando anticorpi monoclonali diretti verso specifici epitopi delle citochine in esame (Diacclone per IL-6; Immunotech per TNF α). L'assorbanza è stata misurata con uno spettrofotometro a 450 nm. I risultati sono stati espressi in pg/ml.

Determinazione di livelli ematici di ROS e dei livelli eritrocitari di GPx

I livelli ematici di ROS sono stati determinati utilizzando il FORT test: le specie radicaliche prodotte durante la reazione e direttamente proporzionali alla quantità di lipoperossidi presenti nel campione analizzato interagiscono con un additivo (derivato della fenilendiamina) formando una molecola radicalica valutabile allo spettrofotometro

a 505 nm (Form CR 2000, Callegari SpA, Parma, Italia). I risultati sono stati espressi in Unità FORT laddove 1 Unità corrisponde a 0.26 mg/l di H₂O₂.

La GPx e la SOD intraeritrocitarie sono state misurate secondo metodo cinetico e rilevamento spettrofotometrico utilizzando un kit in commercio (Ransel e Ransod, Randox Lab, Crumlin, United Kingdom).

Glasgow Prognostic Score

Esso è un indice prognostico basato sul grado di infiammazione sistemica, il cui punteggio viene ottenuto dai valori di PCR ed albumina; è predittivo della sopravvivenza dei pazienti con tumori solidi, indipendentemente dallo stadio del tumore, dal performance status e dal fatto che sia in corso o meno un trattamento antineoplastico¹⁵⁵.

Il GPS si ottiene nel modo seguente:

- Ai pazienti che hanno alterati sia i valori della PCR (>10 mg/l) che dell'albumina (<35 g/l) viene dato un punteggio di 2;
- Ai pazienti in cui uno solo dei valori è alterato viene attribuito un punteggio di 1;
- Se non è presente nessuna delle due alterazioni biochimiche il punteggio è di 0.

Come si deduce dalla descrizione, questa scala si rivela un ottimo metodo di valutazione, in quanto ha un valore prognostico indipendente da altri indici, è semplice da ottenere, si può utilizzare nella routine ed è ben standardizzato.

Sicurezza

Gli eventi avversi sono stati classificati secondo i criteri CTCAE (Common Terminology Criteria for Adverse Events) del National Cancer Institute (NCI).

Analisi statistica

Ipotizzando una differenza tra bracci del 20%, considerando un errore di tipo alfa di 0,05 e un errore di tipo beta di 0,20, per ciascun braccio devono essere arruolati 95 pazienti.

I bracci sono stati confrontati l'un l'altro in relazione ai parametri primari utilizzando il test ANOVA e la correzione di Bonferroni per multipli confronti. Le differenze tra i gruppi al basale sono state analizzate con il test χ^2 per le variabili categoriche e con il t-test di Student (o il Wilcoxon Signed Rank test se appropriato) per le variabili continue. I cambiamenti tra i valori di base e quelli dopo il trattamento sia per i parametri primari che per quelli secondari in ogni braccio sono stati ugualmente stabiliti usando il t-test di Student o il Wilcoxon Signed Rank test ove appropriato. La sopravvivenza è stata valutata a partire dalla data di randomizzazione fino alla prima evidenza di PD per la PFS e fino alla morte del paziente o all'ultima visita del follow-up per quanto riguarda l'OS. Le analisi sono state eseguite sulla base dell'"*intent to treat*". È stata programmata un'analisi *ad interim* ogni 100 pazienti randomizzati per testare l'efficacia (parametri primari di efficacia) e la tossicità dei diversi bracci secondo le "early stopping rules": il braccio/i in cui i parametri di efficacia fossero risultati significativamente inferiori con il t-test ($p < 0,05$) rispetto agli altri bracci sarebbero stati interrotti; allo stesso modo i bracci in cui le tossicità di grado 3-4 fossero risultate significativamente superiori ($p < 0,05$) sarebbero stati ugualmente interrotti. Tutte le analisi sono state condotte con i test a due code usando una percentuale di errore del 5%. È stato utilizzato il SPSS versione 15.0.

Risultati

Tra Aprile 2005 e Dicembre 2008 sono stati reclutati 332 pazienti e tutti sono stati ritenuti valutabili. Più del 90% sono stati reclutati presso il Dipartimento di Oncologia Medica I dell'Università di Cagliari. I 5 bracci di trattamento sono sovrapponibili per quanto riguarda le principali caratteristiche cliniche. Dodici pazienti sono usciti dallo studio prima di completare il trattamento in seguito a decesso dovuto a progressione di malattia, in percentuale simile nei diversi bracci (3,4 - 4,6%).

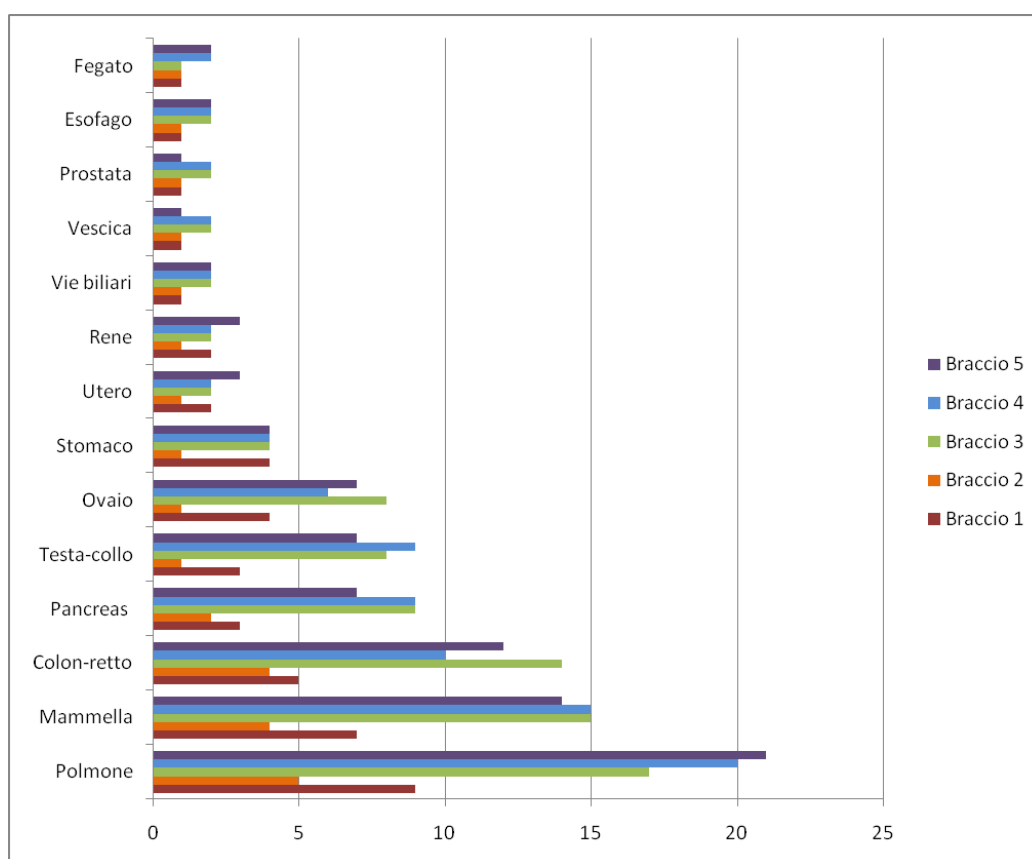


Gráfico 1. Distribuzione dei siti di tumore nei pazienti in studio.

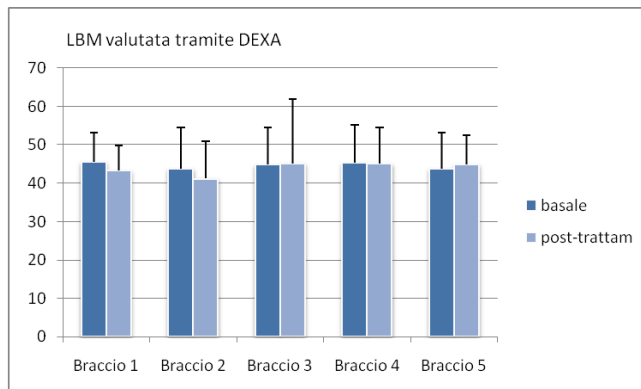
Tabella 2. Caratteristiche dei pazienti al basale.

	Braccio 1 (n=44)	Braccio 2 (n=25)	Braccio 3 (n=88)	Braccio 4 (n=87)	Braccio 5 (n=88)	P (χ^2 test)
Maschi/Femmine	25/19	15/10	47/41	48/39	46/42	0,959
Età (anni)	61.5±9.7	60.6±13.5	62.8±11.5	62.4±11.9	62.4±9.4	0.866
Peso (Kg)	56.2±11.1	53±9.1	56.9±12.2	58.8±12.4	56.4±10.8	0.547
	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)	
BMI						
<18.5	8 (18.2)	6 (24)	15 (17)	14 (16.1)	11 (12.5)	
18.5-25	35 (79.5)	18 (72)	66 (75)	67 (77)	71 (80.7)	
>25	1 (2.3)	1 (4)	7 (8)	6 (6.9)	6 (6.8)	0.863
Calo ponderale						
<5%	9 (20.5)	5 (20)	20 (22.7)	20 (23)	22 (25)	
5-10% (3-6 mesi)	26 (59)	16 (64)	50 (56.8)	49 (56.3)	47 (53.4)	
>10% (3-6 mesi)	9 (20.5)	4 (16)	18 (20.5)	18 (20.7)	19 (21.6)	0.997
Sito tumore						
Polmone	9 (20.4)	5 (20)	17 (19.3)	20 (22.9)	21 (23.9)	
Mammella	7 (15.9)	4 (16)	15 (17)	15 (17.2)	14 (15.9)	
Colon-retto	5 (11.4)	4 (16)	14 (15.9)	10 (11.5)	12 (13.6)	
Pancreas	3 (6.8)	2 (8)	9 (10.2)	9 (10.4)	9 (10.2)	
Testa-collo	3 (6.8)	1 (4)	8 (9.1)	9 (10.4)	7 (8)	
Ovaio	4 (9.1)	1 (4)	8 (9.1)	6 (6.9)	7 (8)	
Stomaco	4 (9.1)	1 (4)	4 (4.5)	4 (4.6)	4 (4.5)	
Utero	2 (4.5)	1 (4)	2 (2.3)	2 (2.3)	3 (3.4)	
Rene	2 (4.5)	1 (4)	2 (2.3)	2 (2.3)	3 (3.4)	
Vie biliari	1 (2.3)	1 (4)	2 (2.3)	2 (2.3)	2 (2.3)	
Vescica	1 (2.3)	1 (4)	2 (2.3)	2 (2.3)	1 (1.1)	
Prostata	1 (2.3)	1 (4)	2 (2.3)	2 (2.3)	1 (1.1)	
Esofago	1 (2.3)	1 (4)	2 (2.3)	2 (2.3)	2 (2.3)	
Fegato	1 (2.3)	1 (4)	1 (1.1)	2 (2.3)	2 (2.3)	1.000
Stadio						
III	2 (4.5)	1 (4)	4 (4.5)	4 (4.6)	4 (4.5)	
IV	42 (95.5)	24 (96)	84 (95.5)	83 (95.4)	84 (95.5)	1.00
ECOG PS						
0	1 (2.3)	1 (4)	3 (3.4)	2 (2.3)	3 (3.4)	
1	17 (38.6)	10 (40)	41 (46.6)	44 (50.6)	44 (50)	
2	23 (52.3)	12 (48)	37 (42)	34 (39.1)	35 (39.8)	
3	3 (6.8)	2 (8)	7 (8)	7 (8)	6 (6.8)	0.992
Glasgow Prognostic Score						
0	7 (15.9)	5 (20)	13 (14.8)	14 (16.1)	12 (13.6)	
1-albumina<32 g/l	5 (11.4)	2 (8)	11 (12.5)	11 (12.6)	9 (10.2)	
1-PCR>10 mg/l	12 (27.3)	8 (32)	28 (31.8)	29 (33.4)	30 (34.1)	
2	20 (45.4)	10 (40)	36 (40.9)	33 (37.9)	37 (42.1)	0.999
Chemioterapia palliativa concomitante						
Si	36 (81.8)	20 (80)	69 (77.1)	67 (77.1)	68 (77.3)	
No	8 (18.2)	5 (20)	19 (21.6)	20 (22.9)	20 (22.7)	0.973

Parametri primari di efficacia

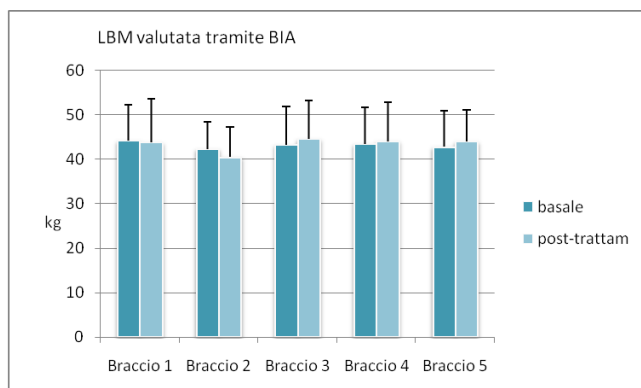
La LBM, analizzata attraverso la DEXA, è aumentata in maniera significativa

($p=0,015$) nel braccio 5.



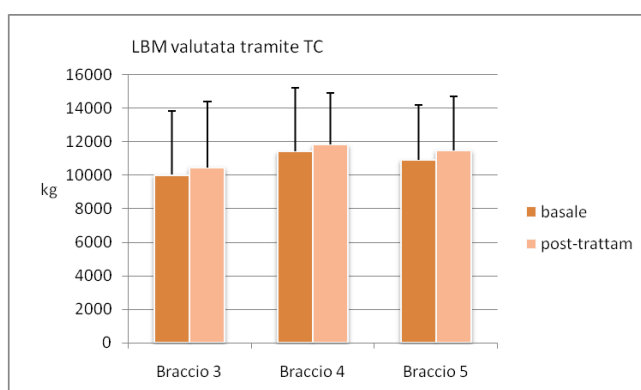
Viceversa l'analisi BIA non ha dimostrato delle differenze statisticamente

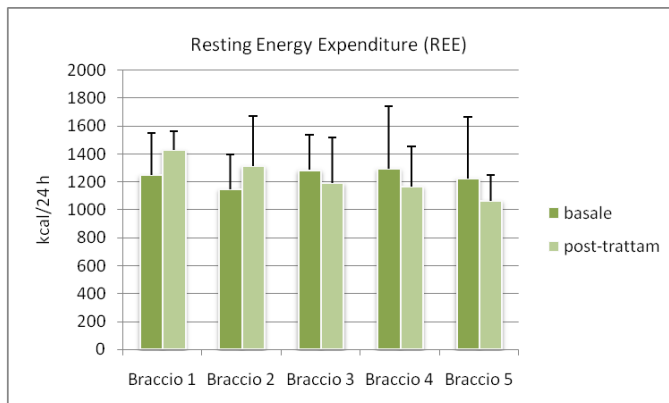
significative.



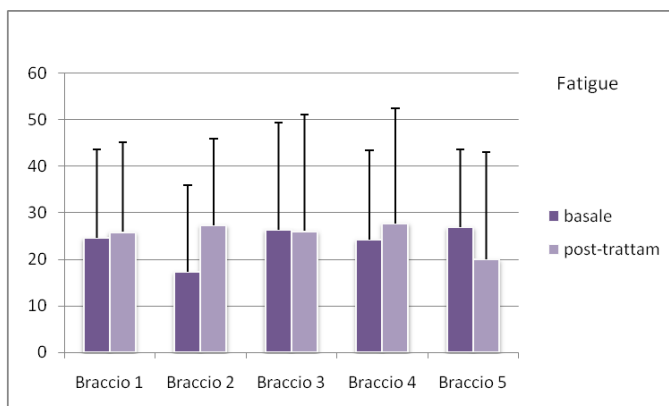
L'analisi TC-L3 ha mostrato un miglioramento significativo della LBM stimata

($p=0.001$) ed una tendenza all'incremento della superficie della massa muscolare nel braccio 5.





La REE è diminuita significativamente ($p=0.044$) nel braccio 5.



La fatigue è migliorata significativamente ($p=0.047$) nel braccio 5.

Analisi ad interim

Nella prima analisi *ad interim* su 125 pazienti randomizzati è stata osservata un'inferiorità significativa del braccio 2 per i parametri primari LBM ($p<0,05$ *versus* bracci 4 e 5), REE ($p<0,001$ *versus* bracci 1,3 e 5) e fatigue ($p=0,002$ *versus* bracci 1, $p<0,001$ *versus* bracci 3, 4 e 5): perciò il braccio 2 è stato eliminato dallo studio in accordo con le “*early stopping rules*”.

Una seconda analisi *ad interim* su 204 pazienti ha mostrato che il braccio 1 era inferiore agli altri in relazione ai parametri primari LBM ($p=0,02$ *versus* braccio 5), REE ($p=0,03$ *versus* braccio 5) e fatigue ($p=0,02$ *versus* braccio 4 e $p=0,002$ *versus*

braccio 5), quindi è stato anch'esso escluso dallo studio in accordo alle “*early stopping rules*”¹⁶².

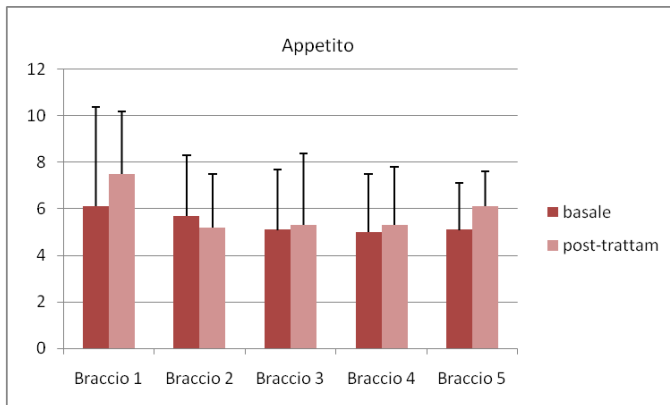
Confronto dei parametri primari di efficacia tra i bracci di trattamento con il test ANOVA

Il test ANOVA ha mostrato una significativa differenza tra i bracci 3, 4 e 5, rimasti attivi in seguito alle analisi *ad interim*; l'analisi “post-hoc” ha dimostrato una superiorità del braccio 5 rispetto agli altri per quanto riguarda tutti gli *endpoint* primari (Tabella 3).

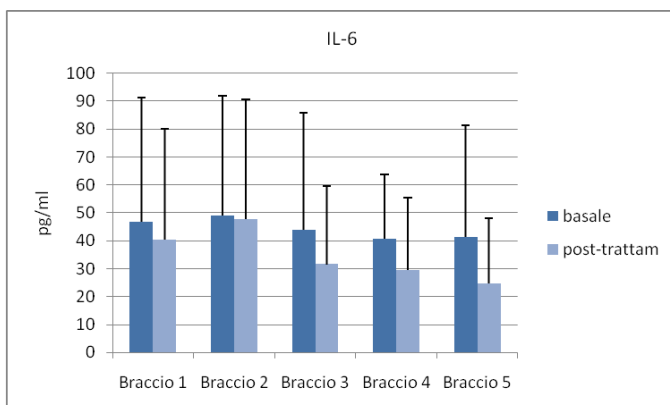
Tabella 3. Confronto dei parametri primari tramite test ANOVA.

Parametri primari	Braccio 3	Braccio 4	Braccio 5	P*
LBM				
BIA	-0.52±3.14 (-1.2 to 0.18)	-0.02±3.34 (-0.8 to 0.8)	0.44±3.1 (-0.16 to 1.04)	0.144
DEXA	-0.7±2.2 (-1.2 to -0.2)	-0.8±2.6 (-1.5 to -0.2)	2.1±2.1 (1.6 to 2.7)	0.007
REE	12.08±246 (-47.9 to 72.08)	-21.8±241.9 (-90.6 to 46.9)	-133±259 (-200 to -65.4)	0.028
Fatigue	0.85±19.5 (-3.6 to 5.3)	-1.55±15.4 (-5.4 to 2.3)	-7.5±12.8 (-10.4 to -4.6)	0.035

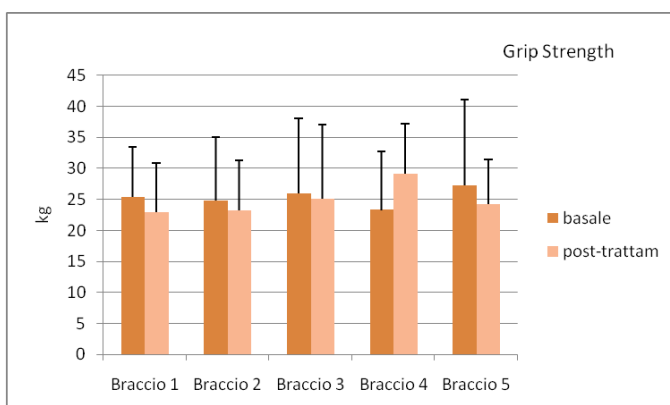
Parametri secondari di efficacia



L'appetito è aumentato significativamente ($p=0.0003$) nel braccio 5.

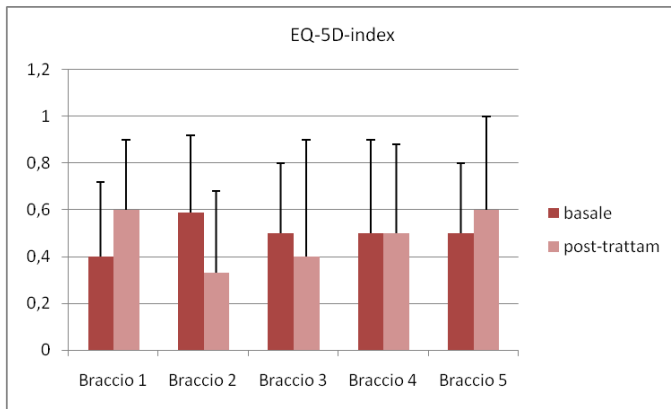


I livelli di IL-6 sono diminuiti in modo significativo nei bracci 5 e 4.

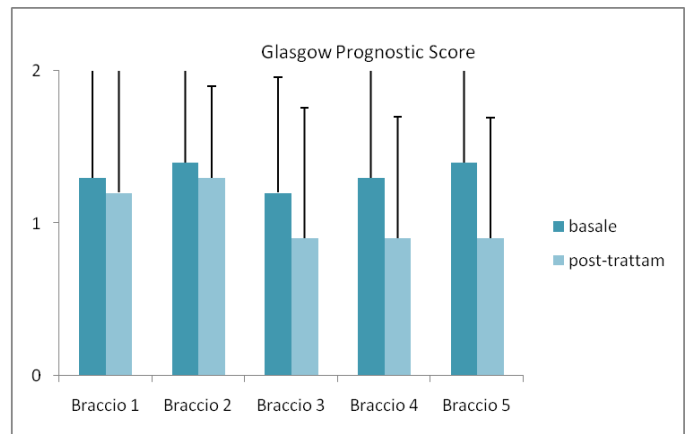


È stata osservata una tendenza all'incremento della forza muscolare valutata col

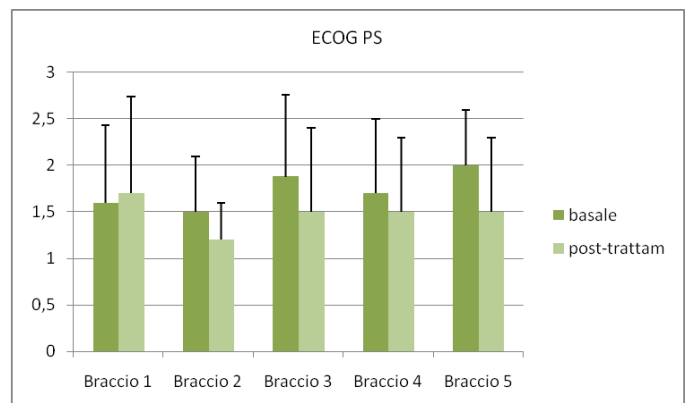
dinamometro nel braccio 4 ($p=0.08$) e dell'indice EQ-5D nel braccio 5 ($p=0.09$).



Il GPS è diminuito significativamente nei bracci 5, 4 e 3.

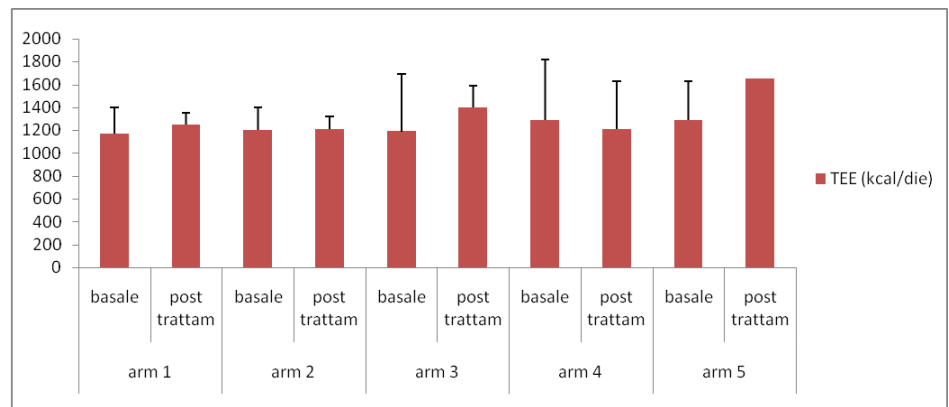


L'ECOG-PS è diminuito significativamente nei bracci 5, 4 e 3.



La TEE e l'AEE (kcal/die e min/die) sono aumentate notevolmente nel braccio 5

(p=0.05).



La risposta clinica oggettiva alla fine del trattamento non è risultata significativamente

differente nei diversi

bracci: ciò suggerisce

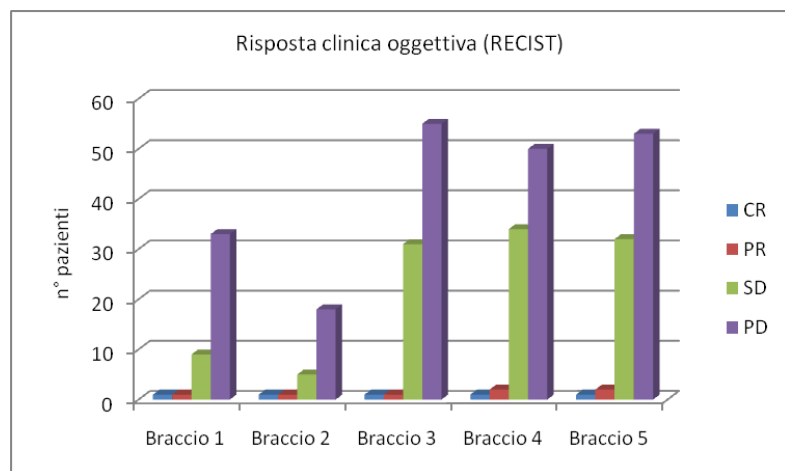
che il singolo

trattamento

antineoplastico

somministrato non ha

avuto un diverso impatto sui bracci di trattamento.

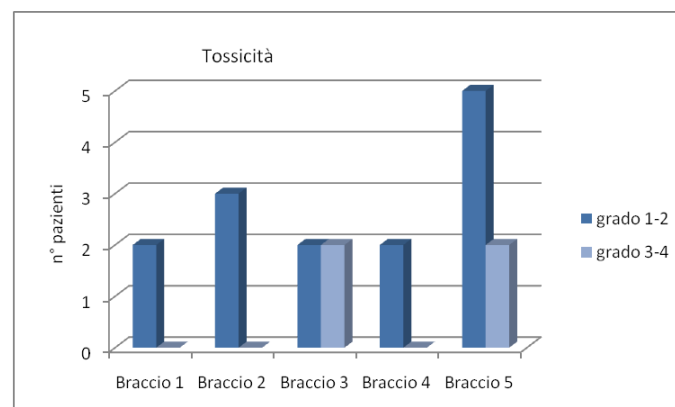


Allo stesso modo la PFS mediana e la OS mediana non si sono dimostrate differenti tra i 5 bracci. La PFS mediana è stata di 4 ± 2.6 mesi (range 1-12) nel braccio 1; 4 ± 2.9 (range 3-12) nel braccio 2; 4 ± 1.8 (range 2-14) nel braccio 3; 4 ± 2.3 (range 1-16) nel braccio 4; 4 ± 3.9 (range 1-13) nel braccio 5.

L'OS media è stata di 6 ± 5.7 mesi (range 4-18+) nel braccio 1; 6 ± 6.1 (range 3-24+) nel braccio 2; 6 ± 5.4 (range 4-24+) nel braccio 3; 6 ± 6.4 (range 4-28+) nel braccio 4; 9 ± 5.5 (range 4-23+) nel braccio 5.

Tossicità

La tossicità è stata in linea di massima trascurabile e simile nei diversi bracci. Solo 2 pazienti nei bracci 3 e 5 hanno presentato diarrea di grado 3-4.



È da sottolineare soprattutto l'ottima compliance dei pazienti.

Discussione

Lo scopo del nostro studio era la ricerca di un trattamento potenzialmente efficace per la CACS, il che rappresenta un obiettivo di prioritaria importanza nell'ambito delle problematiche oncologiche ad alto impatto che ancora non dispongono di una terapia valida e consolidata.

Tra i parametri di efficacia selezionati abbiamo valorizzato LBM, REE e fatigue, considerati i sintomi cardine della CACS e, tra quelli secondari, appetito, citochine proinfiammatorie ed un sistema di punteggio basato sull'infiammazione sistemica (GPS)^{163,164,165}.

Fin qui i tentativi di approccio alla CACS con una varietà di interventi singoli hanno avuto un successo limitato. Le caratteristiche dominanti, quali la perdita progressiva di massa muscolare e delle capacità prestazionali, hanno dimostrato di essere poco influenzate dai supporti nutrizionali e farmacologici attualmente disponibili. Viceversa, la combinazione di approcci dietetici, nutrizionali e farmacologici volti a normalizzare l'assetto metabolico potrebbe essere potenzialmente in grado di determinare una regressione della CACS e di indurre un miglioramento dei sintomi associati che compromettono la qualità di vita^{166,167}.

I diversi agenti utilizzati nel presente studio sono stati selezionati in base al seguente razionale:

a) Gli agenti antiossidanti si sono dimostrati efficaci nei nostri studi precedenti^{102,168,169}: i polifenoli, in particolare la quercetina, sono stati inclusi per la loro elevata attività antiossidante¹⁷⁰;

b) I progestinici di sintesi (MA e MPA) sono attualmente le uniche sostanze approvate in Europa con indicazione per il trattamento della CACS: il loro meccanismo

d'azione potrebbe essere in parte legato alla loro attività glucocorticoide e alla capacità di regolare negativamente la sintesi delle citochine proinfiammatorie¹¹¹ e, inoltre, di incrementare l'introito nutrizionale mediante il rilascio di neuropeptide Y¹⁷¹. Ad oggi, più di 15 studi controllati randomizzati in pazienti con cancro che perdevano peso hanno dimostrato che MA e MPA migliorano significativamente l'appetito, l'apporto di cibo, il peso corporeo e talvolta la nausea e l'emesi, mentre non è stato raggiunto un risultato univoco in termini di miglioramento della qualità di vita globale^{107,172,173,174,175}

L'aumento ponderale osservato coi progestinici consiste prevalentemente in acqua e massa grassa¹¹² e sembra non influenzare la LBM e l'attività funzionale²¹. In accordo con gli studi precedenti, il presente studio non conferma l'efficacia del MPA 500/die e del MA 320 mg/die somministrati come singoli agenti;

c) Gli acidi grassi polinsaturi omega 3 (EPA e acido docosaenoico) inibiscono la produzione di citochine proinfiammatorie ed agiscono positivamente sulla cachessia neoplastica sia nei modelli sperimentali che nell'uomo¹⁷⁶. Uno studio randomizzato in doppio cieco¹¹⁹ su 200 pazienti con tumore del pancreas ha dimostrato una correlazione significativamente positiva tra l'assunzione di supplemento arricchito con EPA nella quantità di almeno $\geq 1,5$ cartoni/die e l'aumento di peso e di LBM. Nel presente studio la supplementazione nutrizionale arricchita con EPA da sola non ha dimostrato nessun beneficio sugli *endpoint* primari, in accordo con quanto evidenziato da due importanti studi clinici^{120,121} e cioè che la supplementazione non induce cambiamenti del peso corporeo, della sopravvivenza o della QL. Inoltre, una recente meta-analisi¹²² ha concluso che “non ci sono dati sufficienti per stabilire se gli EPA *per os* siano migliori del placebo”;

d) La carnitina è un cofattore necessario per la trasformazione degli acidi grassi liberi a catena lunga in acil-carnitina e per il loro seguente trasporto nella matrice mitocondriale per la produzione di acetil-coenzima A attraverso la via della beta-ossidazione. Il rapporto tra coenzima A e carnitina è cruciale nel metabolismo energetico cellulare: il coenzima A è richiesto per la beta-ossidazione, il metabolismo di diversi amminoacidi, la sintesi della piruvato-deidrogenasi e quindi per avviare il ciclo degli acidi tricarbossilici^{177,178}. I pazienti neoplastici sono particolarmente a rischio di un deficit di carnitina: essi infatti presentano spesso un ridotto introito calorico, per di più molti farmaci antineoplastici possono interferire con l'assorbimento e la sintesi di questa sostanza. La carnitina può essere considerata una sostanza molto interessante: infatti abbiamo recentemente osservato che la somministrazione di L-carnitina (6 g/die per 30 giorni) si è rivelata efficace nel migliorare i sintomi della fatigue ed aumentare LBM ed appetito in 12 pazienti con cancro in stadio avanzato¹⁷⁹. Tuttavia, malgrado questi promettenti risultati, nello studio in esame la L-carnitina non ha avuto alcun impatto sui parametri primari di efficacia ed ha indotto solo un miglioramento dei parametri secondari GPS ed ECOG PS;

e) La talidomide ha molte proprietà immunomodulatorie ed antinfiammatorie, principalmente attraverso la sottoregolazione di TNF α e IL-6, ed è utilizzata nel trattamento della cachessia associata al cancro e all'AIDS. Mentre Bruera¹⁸⁰ e Gordon¹²⁵ hanno dimostrato che la talidomide può solo attenuare la perdita di peso e di LBM nei pazienti cachettici, Khan¹⁸¹ ha dimostrato un aumento della LBM in 10 pazienti cachettici con cancro avanzato dell'esofago dopo un breve trattamento alle dosi di 200 mg/die. In un nostro trial clinico¹⁸² sull'uso di talidomide alla dose di 300 mg/die per 3 mesi in 18 pazienti con tumori di diversi distretti in progressione di malattia

abbiamo evidenziato che il peso non ha subito variazioni, laddove invece l'appetito è migliorato e i valori di IL-6 e il TNF α sono calati significativamente. Nello studio corrente la talidomide si è dimostrata efficace per i parametri secondari IL-6, GPS ed ECOG PS. Non sono stati osservati eventi avversi rilevanti: solo due pazienti hanno riportato sonnolenza di grado 1, senza neuropatia sensoriale.

Nello studio presente il trattamento più efficace sia per i parametri primari che per i secondari è stato il regime di combinazione: ciò è perfettamente in accordo con l'assunto che la CACS è un processo multifattoriale e che quindi un approccio efficace dovrebbe essere multitarget.

Nella selezione degli agenti da utilizzare avevamo pensato in un primo momento di includere il celecoxib, sulla base dei risultati ottenuti dallo studio di fase II¹⁵⁰ e in alcuni studi di altri Autori^{131, 148, 149}; tuttavia abbiamo deciso di non includere questo farmaco per la sua cardiotoxicità che è emersa nel 2005 e ha condotto al ritiro dal commercio del rofecoxib e a delle restrizioni nell'utilizzo del celecoxib. Allo stesso modo non abbiamo incluso altri agenti potenzialmente promettenti, come l'infliximab che in seguito si è dimostrato inefficace in un trial clinico sulla cachessia neoplastica, come anche la grelina ed i greli-no-mimetici^{132, 133}. Non abbiamo incluso ovviamente agenti o trattamenti che sono stati presi in considerazione per il loro effetto anti-cachessia solo più tardi, come la terapia insulinica¹³⁶, l'oxandrolone¹⁴⁰ e l'olanzapina¹⁴¹.

Lo studio presente, stando alle nostre conoscenze, è il primo trial randomizzato con un così alto numero di pazienti ed un'ampia varietà di opzioni di trattamento per la CACS.

I risultati richiedono qualche considerazione:

1) I parametri primari di efficacia sono stati selezionati in modo appropriato: infatti il braccio di combinazione si è rivelato appropriato alla valutazione mirata sia di questi che di quelli secondari;

2) L'efficacia del trattamento combinato sui sintomi dell'infiammazione (citochine, GPS) e sui parametri primari di efficacia aggiunge un'ulteriore prova del fatto che i sintomi chiave della cachessia sono indotti dall'infiammazione sistemica;

3) Non conosciamo il motivo per cui i singoli agenti, da soli non efficaci o poco efficaci, lo diventano quando combinati tra loro: si potrebbe ipotizzare un effetto additivo o sinergico;

4) Il trattamento combinato consiste principalmente in un supporto nutrizionale e farmacologico a basso costo; si ha così un favorevole rapporto costo-beneficio e, di conseguenza, anche una migliore compliance dei pazienti.

Questi risultati promettenti dovrebbero suggerire un'ampia applicazione clinica del trattamento combinato: tuttavia siamo consapevoli delle difficoltà che incontrerebbe una loro introduzione nella pratica corrente, dal momento che inizialmente potrebbe apparire non troppo semplice sia gestire il trattamento sia ottenere la compliance da parte di pazienti cachettici che spesso hanno già un enorme carico farmacologico. Per superare questi problemi sono essenziali una corretta comunicazione con i pazienti ed una buona spinta motivazionale.

Un aspetto da tenere in considerazione nella ricerca futura sulla terapia della CACS è rappresentato dallo sviluppo di biomarcatori predittivi o precoci di cachessia, che potrebbero permettere una più accurata selezione dei pazienti per un intervento

terapeutico precoce nonché mirato¹⁸³. Le caratteristiche chiave della cachessia nell'uomo (calo ponderale, anoressia, aumentato dispendio energetico a riposo, infiammazione sistemica, fatigue) oggi non forniscono solo un sistema per la classificazione, ma anche un razionale nella ricerca degli obiettivi terapeutici. Il ruolo dell'immobilizzazione prolungata nella perdita di tessuto muscolare fornisce anche un razionale per la scelta di un'adeguata terapia riabilitativa basata sull'esercizio fisico. Gli approcci multimodali diretti a questi elementi possono stabilizzare e addirittura migliorare lo stato nutrizionale, le prestazioni e la qualità di vita dei pazienti con cachessia neoplastica. Le evidenze emergenti giustificano l'entusiasmo per la progettazione di complessi studi di intervento multimodale nella gestione della CACS¹⁸⁴.

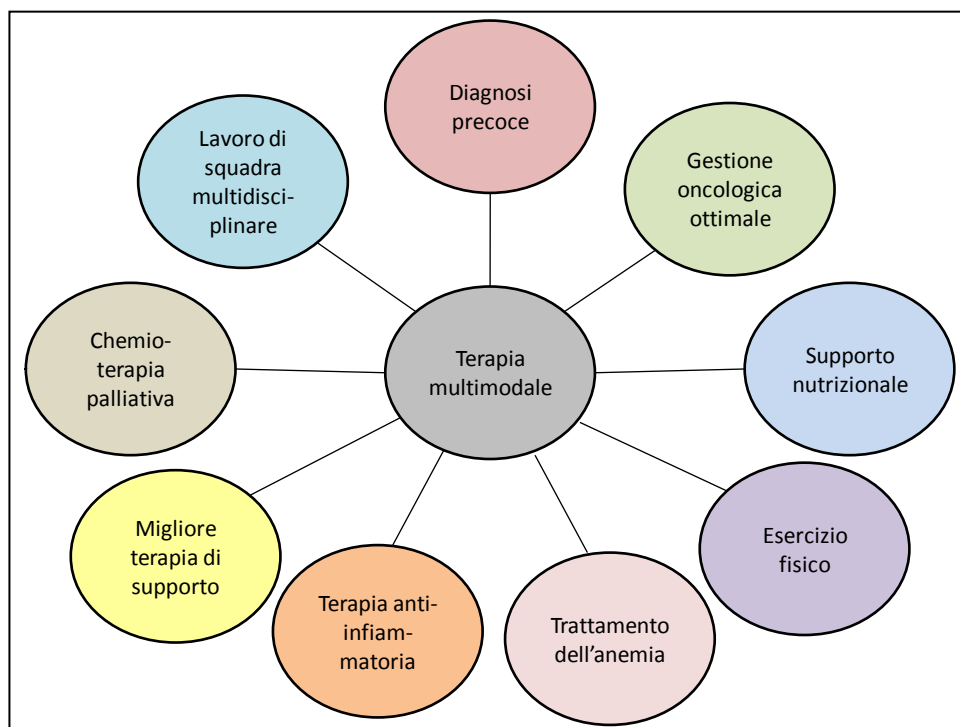


Figura 12. Intervento multimodale nella cachessia neoplastica. (Da: Fearon KC (2008) Cancer cachexia: developing multimodal therapy for a multidimensional problem. Eur J Cancer 44, fig.5).

Bibliografia

- ¹ Skipworth RJ, Stewart GD, Dejong CH, et al (2007) Pathophysiology of cancer cachexia: much more than host–tumour interaction? *Clin Nutr* 26:667–676.
- ² Evans WJ, Morley JE, Argilés J, Bales C, Baracos V, Guttridge D, Jatoi A, Kalantar-Zadeh K, Lochs H, Mantovani G, Marks D, Mitch WE, Muscaritoli M, Najand A, Ponikowski P, Rossi Fanelli F, Schambelan M, Schols A, Schuster M, Thomas D, Wolfe R, Anker SD (2008) Cachexia: a new definition. *Clin Nutr* 27(6):793-9.
- ³ Tan BH, Fearon KC (2008) Cachexia: prevalence and impact in medicine. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 11(4):400-7.
- ⁴ Morley JE, Thomas DR, Wilson MM (2006) Cachexia: pathophysiology and clinical relevance. *Am J Clin Nutr* 83(4):735-43.)
- ⁵ Rossi Fanelli F, Muscaritoli M, Cangiano C et al (1999) The basis for a rational nutritional approach to patients with cancer. In: Abraham NG, Tabilio A, Martelli M et al (eds) *Molecular biology of hematopoiesis*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, pp 229-234.
- ⁶ Stewart GD, Skipworth RJ, Fearon KC (2006) Cancer cachexia and fatigue. *Clin Med* 6(2):140-3.
- ⁷ Mantovani G, Macciò A, Lai P et al (1998) Cytokine activity in cancer-related anorexia/cachexia: role of megestrol acetate and medroxyprogesterone acetate. *Semin Oncol* 25(Suppl 6):45-52.
- ⁸ Mantovani G, Macciò A, Massa E, Madeddu C (2001) Managing cancer-related anorexia/cachexia. *Drugs* 61:499-514.

-
- ⁹ Kotler DP (2000) Cachexia. *Ann Intern Med* 133:622-634.
- ¹⁰ Macciò A, Lai P, Santona MC et al (1998) High serum levels of soluble IL-2 receptor, cytokines and C reactive protein correlate with impairment of T cell responses in patients with advanced epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 69:248-252.
- ¹¹ Mantovani G, Macciò A, Madeddu C et al (2002) Quantitative evaluation of oxydative stress, chronic inflammatory indices and leptin in cancer patients: correlation with stage and performance status. *Int J Cancer* 98:84-91.
- ¹² Dewys WD, Begg C, Lavin PT et al (1980) Prognostic effect of weight loss prior to chemotherapy in cancer patients. Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Med* 69:491-497.
- ¹³ Cohn SH, Gartenhaus W, Vartsky D et al (1981) Body composition and dietary intake in neoplastic disease. *Am J Clin Nutr* 34:1997-2004.
- ¹⁴ Baracos VE (2002) Hypercatabolism and hypermetabolism in wasting states. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 5:237-239.
- ¹⁵ Barber MD, Ross JA, Fearon KC (1999) Cancer cachexia. *Surg Oncol* 8:133-141.
- ¹⁶ Tisdale MJ (2002) Cachexia in cancer patients. *Nat Rev Cancer* 2:862-871.
- ¹⁷ McMillian DC et al (1998) Longitudinal study of body cell mass depletion and the inflammatory response in cancer patients. *Nutr Cancer* 31:101-105.
- ¹⁸ Frankenfield DC, Smith JS, Cooney RN (1997) Accelerated nitrogen loss after traumatic injury is not attenuated by achievement of energy balance. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 21(6):324-329.
- ¹⁹ Kalra SP, Dube MG, Pu S, et al (1999) Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endocr Rev* 20:68-100.

-
- ²⁰ Inui A (2000) Transgenic approach to the study of body weight regulation. *Pharmacol Rev* 52:35-61.
- ²¹ Inui A (1999) Cancer cachexia-anorexia syndrome: are neuropeptides the key? *Cancer Res* 59:4493-4501.
- ²² Shintani F, Kanba S, Nakaki T et al (1993) Interleukin-1beta augments release of norepinephrine, dopamine and serotonin in the rat anterior hypothalamus. *J Neurosci* 13:3574-3581.
- ²³ Blaha V, Yang ZJ, Meguid MM et al (1998) Ventromedial nucleus of hypothalamus is related to the development of cancer-induced anorexia: in vivo microdialysis study. *Acta Medica (Hradec Kralove)* 41:3-11.
- ²⁴ Diksic M, Young SN (2001) Study of the brain serotonergic system with labelled α -methyl-L-tryptophan. *J Neurochem* 78:1185-1200.
- ²⁵ Rossi Fanelli F, Cangiano C, Ceci F et al (1986) Plasma tryptophan and anorexia in human cancer. *Eur J Cancer Clin Oncol* 22:89-95.
- ²⁶ Cangiano C, Cascino A, Ceci F et al (1990) Plasma and CSF tryptophan in cancer anorexia. *J Neural Transm (Gen Sect)* 81:225-233.
- ²⁷ Cangiano C, Testa U, Muscaritoli M et al (1994) Cytokines, tryptophan and anorexia in cancer patients before and after surgical tumor ablation. *Anticancer Res* 14:1451-1456
- ²⁸ Inui A (1999) Feeding and body-weight regulation by hypothalamic neuropeptides - mediation of the actions of leptin. *Trends Neurosci* 22:62-67.
- ²⁹ Schwartz MW, Seeley RJ (1997) Neuroendocrine responses to starvation and weight loss. *N Engl J Med* 336:1802-1811.

-
- ³⁰ Flier JS. Clinical review 94 (1998) What's in a name? In search of leptin's physiologic role. *J Clin Endocrinol Metab* 83:1407-1413.
- ³¹ Schwartz MW, Dallman MF, Woods SC (1995) Hypothalamic response to starvation: implications for the study of wasting disorders. *Am J Physiol* 269:949-957.
- ³² Friedman JM, Halaas JL (1998) Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 395:763-770.
- ³³ Wang Q, Bing C, Al-Barazanji K, et al (1997) Interactions Between Leptin and Hypothalamic NPY Neurons in the Control of Food Intake and Energy Homeostasis in the Rat. *Diabetes* 46: 335- 341.
- ³⁴ Chance WT, Balasubramaniam A, Dayal R et al (1994) Hypothalamic concentration and release of neuropeptide Y into microdialysates is reduced in anorectic tumor-bearing rats. *Life Sci* 54:1869-1874.
- ³⁵ McCarthy HD, McKibbin PE, Perkins AV et al (1993) Alterations in hypothalamic NPY and CRF in anorexic tumor-bearing rats. *Am J Physiol* 264:638-643.
- ³⁶ Moldawer LL, Rogy MA, Lowry SF (1992) The role of cytokines in cancer cachexia. *JPEN Parenter Enteral Nutr* 16:43-49.
- ³⁷ Noguchi Y, Yoshikawa T, Matsumoto A et al (1996) Are cytokines possible mediators of cancer cachexia? *Surg Today* 26:467-475.
- ³⁸ Matthys P, Billiau A (1997) Cytokines and cachexia. *Nutrition* 13:763-770.
- ³⁹ Mantovani G, Macciò A, Madeddu C et al (2001) Serum values of proinflammatory cytokines are inversely correlated with serum leptin levels in patients with advanced stage cancer at different sites. *J Mol Med* 79:406-414.

-
- ⁴⁰ Wigmore SJ, Plester CE, Ross JA et al (1997) Contribution of anorexia and hypermetabolism to weight loss in anorectic patients with pancreatic cancer. *Br J Surg* 84:196-197.
- ⁴¹ Inui A (1999) Neuropeptide Y: a key molecule in anorexia and cachexia in wasting disorders? *Mol Med Today* 5:79-85.
- ⁴² Marks DL, Ling N, Cone RD (2001) Role of the central melanocortin system in cachexia. *Cancer Res* 61:1432-1438.
- ⁴³ Wisse BE, Frayo RS, Schwartz MW et al (2001) Reversal of cancer anorexia by blockade of central melanocortin receptors in the rats. *Endocrinology* 142:3292-3301.
- ⁴⁴ Lechan RM, Tatro JB (2001) Hypothalamic melanocortin signaling in cachexia. *Endocrinology* 142:3288-3291.
- ⁴⁵ Schwartz MW, Woods SC, Porte D et al (2000) Central nervous system control of food intake. *Nature* 404:661-671.
- ⁴⁶ Macciò A, Madeddu C, Mantovani G (2006) Glucose Metabolism. In: Mantovani G (Ed), *Cachexia and wasting: a modern approach*. Springer, Italy.
- ⁴⁷ Glicksman AS, Rawson RW (1956) Diabetes and altered carbohydrate metabolism in patients with cancer. *Cancer* 9:1127-1134.
- ⁴⁸ Werk EE Jr, Macgee J, Sholiton IJ (1964) Altered cortisol metabolism in advanced cancer and other terminal illnesses: excretion of 6-hydroxycortisol. *Metabolism* 13:1425-1438.
- ⁴⁹ Lundholm K, Holm G, Schersten T (1978) Insulin resistance in patients with cancer. *Cancer Res* 38:4665-4670.

-
- ⁵⁰ Argiles JM, Lopez-Soriano FJ (1999) The role of cytokines in cancer cachexia. *Med Res Rev* 19:223-248.
- ⁵¹ Van der Poll T, Romijn JA, Endert E et al (1991) Tumor necrosis factor mimics the metabolic response to acute infection in healthy humans. *Am J Physiol* 261:E457-E465.
- ⁵² Norton JA, Stein TP, Brennan MF (1981) Whole body protein synthesis and turnover in normal man and malnourished patients with and without cancer. *Ann Surg* 194:123-128.
- ⁵³ Lundholm K, Bennegard K, Eden E, Rennie MJ (1982) Efflux of 3-methylhistidine from the leg of cancer patients who experience weight loss. *Cancer Res* 42:4809-4818.
- ⁵⁴ Lundholm K, Bylund AC, Holm J, Schersten T (1976) Skeletal muscle metabolism in patients with malignant tumour. *Eur J Cancer* 12:465-473.
- ⁵⁵ Warren RS, Jeevanandam M, Brennan MF (1985) Protein synthesis in the tumor-influenced hepatocyte. *Surgery* 98:275-281.
- ⁵⁶ Lecker SV, Solomon V, Mitch WE, Goldberg AL (1999) Muscle protein breakdown and critical role of the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states. *J Nutr* 129:227S-237S.
- ⁵⁷ Goll DE, Thompson VF, Taylor RG, Christiansen JA (1992) Role of the calpain system in muscle growth. *Biochimie* 74:225-237.
- ⁵⁸ Acharyya S, Guttridge DC (2007) Cancer cachexia signaling pathways continue to emerge yet much still points to the proteasome. *Clin Cancer Res* 13:1356-1361.
- ⁵⁹ McFarlane C, Sharma M, Kambadur R (2008) Myostatin is a procachectic growth factor during postnatal myogenesis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 11:422-427.

-
- ⁶⁰ Costelli P, Muscaritoli M, Bonetto A, et al (2008) Muscle myostatin signaling is enhanced in experimental cancer cachexia. *Eur J Clin Invest* 38:531–538.
- ⁶¹ Kaibara A et al (1998) Leptin produces anorexia and weight loss without inducing an acute phase response or protein wasting. *Am J Physiol* 274:R1518-R1525.
- ⁶² Drott C, Perrson H, Lundholm K (1989) Cardiovascular and metabolic response to adrenaline infusion in weight-losing patients with and without cancer. *Clin Physiol* 9:427-439.
- ⁶³ Obeid OA, Emery PW (1993) Lipid metabolism in cachectic tumor-bearing rats at different stages of tumor growth. *Nutr Cancer* 19: 87-98.
- ⁶⁴ Lopez-Soriano J, Llovera M, Carbo N, et al (1997) Lipid metabolism in tumour-bearing mice: studies with knockout mice for tumour necrosis factor receptor 1 protein. *Mol Cell Endocrinol* 132: 93-99.
- ⁶⁵ Byerley LO, Alcock NW, Starnes HF (1992) Sepsis-induced cascade of cytokine mRNA expression: correlation with metabolic changes. *Am J Physiol* 261:E728-E735.
- ⁶⁶ Waage A, Brandtzaeg P, Halstensen A et al (1989) The complex pattern of cytokines in serum from patients with meningococcal septic shock. *J Exp Med* 169:333-338.
- ⁶⁷ Wilmore DW, Long JM, Mason AD et al (1974) Catecholamines: mediator of the hypermetabolic response to thermal injury. *Ann Surg* 180:653-668.
- ⁶⁸ Stoner HB, Barton RN, Little RA et al (1977) Measuring the severity of injury. *BMJ* 2:1247-1249.
- ⁶⁹ Wilmore DW, Moylan JA, Pruitt Bam Lindsey CA et al (1974) Hyperglucagonaemia after burns. *Lancet* 1:73-75.

-
- ⁷⁰ Rosenblatt S, Clowes GH Jr, George BC et al (1983) Exchange of amino acids by muscle and liver in sepsis. *Arch Surg* 118:167-175.
- ⁷¹ Long CL (1977) Energy balance and carbohydrate metabolism in infection and sepsis. *Am J Clin Nutr* 30:1301-1310.
- ⁷² Baumann H, Gauldie J (1994) The acute phase response. *Immunol Today* 15:74-80.
- ⁷³ Oliff A, Defeo-Jones D, Boyer M et al (1987) Tumor secreting human TNF/cachectin induce cachexia in mice. *Cell* 50:555-563.
- ⁷⁴ Borish LC, Steinke JW (2003) Cytokines and chemokines. *J Allergy Clin Immunol* 111:S460-S475.
- ⁷⁵ Nash MA, Ferrandina G, Gordinier M et al (1999) The role of cytokines in both the normal and the malignant ovary. *Endocr Relat Cancer* 6:93-107.
- ⁷⁶ Mantovani G, Macciò A, Versace R, et al (1996) Cytokine release profile of tumor-associated lymphomonocytes from patients with neoplastic pleural and peritoneal effusions. *Tumor Targeting* 2:7-16.
- ⁷⁷ Laviano A, Russo M, Freda F, Rossi Fanelli F (2002) Neurochemical mechanisms for cancer anorexia. *Nutrition* 18:100-105.
- ⁷⁸ Plata-Salaman CR (1998) Cytokine-induced anorexia. Behavioural, cellular, and molecular mechanisms. *Ann NY Acad Sci* 856:160-170.
- ⁷⁹ Morley JE, Silver AJ, Miller DK, Rubenstein LZ (1989) The anorexia of the elderly. *Ann NY Acad Sci* 575:50-58.
- ⁸⁰ Jennische E, Skottner A, Hansson HA (1987) Satellite cells express the trophic factor IGF-1 in regenerating skeletal muscle. *Acta Physiol Scand* 129:9-15.

-
- ⁸¹ Ng EH, Rock CS, Lazarus DD et al (1992) Insulin-like growth factor I preserves host lean tissue mass in cancer cachexia. *Am J Physiol* 262:R426-R431.
- ⁸² Barbosa J, Bach FH (1987) Cell-mediated autoimmunità in type I diabetes. *Diabetes Metab Rev* 3:981-1004.
- ⁸³ Hauner H, Petruschke T, Russ M et al (1995) Effects of tumour necrosis factor alpha (TNF alpha) on glucose transport and lipid metabolism of newly-differentiated human fat cells in cell culture. *Diabetologia* 38:764-771.
- ⁸⁴ Sethi JK, Hotamisligil GS (1999) The role of TNF alpha in adipocyte metabolism. *Semin Cell Dev Biol* 10:19-29.
- ⁸⁵ Hotamisligil GS (1999) Mechanisms of TNF-alpha-induced insulin resistance. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 107(2):119-125.
- ⁸⁶ Moller DE (2000) Potential role of TNF-alpha in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Trends Endocrinol Metab* 11:212-217.
- ⁸⁷ Bossola M et al (2001) Increased muscle ubiquitin mRNA levels in gastric cancer patients. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 280:R1518-R1523.
- ⁸⁸ Jatoi A et al (2007) A placebo-controlled double blind trial of etanercept for the cancer anorexia/weight loss syndrome: results from N00C1 from the North Central Cancer Treatment Group. *Cancer* 110:1396-1403.
- ⁸⁹ Wiedenmann B, Malfertheiner P, Friess H et al (2008) A multicenter, phase II study of infliximab plus gemcitabine in pancreatic cancer cachexia. *J Support Oncol* 6:18-25.
- ⁹⁰ Hong DS, Angelo LS, Kurzrock R (2007) Interleukin-6 and its receptor in cancer: implications for Translational Therapeutics. *Cancer* 110:1911-1928.

-
- ⁹¹ Ebrahimi B, Tucker SL, Li D, Abruzzese JL, Kurzrock R (2004) Cytokines in pancreatic carcinoma: correlation with phenotypic characteristics and prognosis. *Cancer* 101:2727-2736.
- ⁹² Liao WC et al (2008) Serum interleukin-6 level but not genotype predicts survival after resection in stages II and III gastric carcinoma. *Clin Cancer Res* 14:428-434.
- ⁹³ Salgado R et al (2003) Circulating interleukin-6 predicts survival in patients with metastatic breast cancer. *Int J Cancer* 103:642-646.
- ⁹⁴ Negrier S et al (2004) Interleukin-6, interleukin-10, and vascular endothelial growth factor in metastatic renal cell carcinoma: prognostic value of interleukin-6 – from the Groupe Francais d’Immunotherapie. *J Clin Oncol* 22:2371-2378.
- ⁹⁵ Shariat SF et al (2008) External validation of a biomarker-based preoperative nomogram predicts biochemical recurrence after radical prostatectomy. *J Clin Oncol* 26:1526-1531.
- ⁹⁶ Tisdale MJ (1997) Biology of cachexia. *J Natl Cancer Inst* 89:1763-1773.
- ⁹⁷ Van Hall G, Steensburg A, Fischer C, et al (2008) Interleukin-6 markedly decreases skeletal muscle protein turnover and increases nonmuscle amino acid utilization in healthy individuals. *J Clin Endocrinol Metab* 93:2851–2858.
- ⁹⁸ Navarra P, Pozzoli G, Brunetti L et al (1992) Interleukin-1 beta and interleukin-6 specifically increase the release of prostaglandin E2 from rat hypothalamic explants in vitro. *Neuroendocrinology* 56:61-68.
- ⁹⁹ Trikha M, Corringham R, Klein B, Rossi JF (2003) Targeted anti-interleukin-6 monoclonal antibody therapy for cancer: a review of the rationale and clinical evidence. *Clin Cancer Res* 9:4653-4665.

-
- ¹⁰⁰ Salvemini F, Franze A, Iervolino A et al (1999) Enhanced glutathione levels and oxidoresistance mediated by increased glucose 6-phosphate dehydrogenase expression. *J Biol Chem* 274:2750-2757.
- ¹⁰¹ Mantovani G, Madeddu C, Macciò A et al (2004) Cancer-related anorexia/cachexia syndrome and oxidative stress: an innovative approach beyond current treatment. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 13:1651-1659.
- ¹⁰² Mantovani G, Macciò A, Madeddu C et al (2003) The impact of different antioxidant agents alone or in combination on reactive oxygen species, antioxidant enzymes and cytokines in a series of advanced cancer patients at different sites: correlation with disease progression. *Free Radic Res* 37:213-223.
- ¹⁰³ Mueller WM, Stanhope KL, Gregoire F et al (2000) Effects of metformin and vanadium on leptin secretion from cultured rat adipocytes. *Obes Res* 8:530-539.
- ¹⁰⁴ Evans WK, Nixon DW, Daly JM, et al (1987) A randomized trial of oral nutritional support versus ad lib nutritional intake during chemotherapy for advanced colorectal cancer and non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 5:113–124.
- ¹⁰⁵ Ovesen L, Allingstrup L, Hannibal J, et al (1993) Effect of dietary counseling on food intake, body weight, response rate, survival and quality of life in cancer patients undergoing chemotherapy: a prospective randomized study. *J Clin Oncol* 11:2043–2049.
- ¹⁰⁶ Muscaritoli M, Bossola M, Aversa Z, et al (2006) Prevention and treatment of cancer cachexia: new insights into an old problem. *Eur J Cancer* 42:31–41.
- ¹⁰⁷ Loprinzi CL, Ellison NM, Schaid DJ et al (1990) Controlled trial of megestrol acetate for the treatment of cancer anorexia and cachexia. *J Natl Cancer Inst* 82:1127-1132.

-
- ¹⁰⁸ Loprinzi CL, Kugler JW, Sloan JA et al (1999) Randomized comparison of megestrol acetate versus dexamethasone versus fluoxymesterone for the treatment of cancer anorexia/cachexia. *J Clin Oncol* 17:3299-3306.
- ¹⁰⁹ Jatoi A, Windschitl HE, Loprinzi CL et al (2002) Dronabinol Versus Megestrol Acetate Versus Combination Therapy for Cancer-Associated Anorexia: A North Central Cancer Treatment Group Study. *J Clin Oncol* 20:567-573.
- ¹¹⁰ Mantovani G, Macciò A, Bianchi A et al (1995) Megestrol acetate in neoplastic anorexia/cachexia: clinical evaluation and comparison with cytokine levels in patients with head and neck carcinoma treated with neoadjuvant chemotherapy. *Int J Clin Lab Res* 25:135-141.
- ¹¹¹ Mantovani G, Macciò A, Esu S et al (1997) Medroxyprogesterone acetate reduces the in vitro production of cytokines and serotonin involved in anorexia/cachexia and emesis by peripheral blood mononuclear cells of cancer patients. *Eur J Cancer* 33:602-607.
- ¹¹² Simons JP, Schols AM, Hoefnagels JM, Westerterp KR, ten Velde GP, Wouters EF (1998) Effects of medroxyprogesterone acetate on food intake, body composition, and resting energy expenditure in patients with advanced, nonhormone-sensitive cancer: a randomized, placebo-controlled trial. *Cancer* 82:553-560.
- ¹¹³ Berenstein EG, Ortiz Z (2005) Megestrol acetate for the treatment of anorexia-cachexia syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* CD004310.
- ¹¹⁴ Femia RA, Goyette RE (2005) The science of megestrol acetate delivery: potential to improve outcomes in cachexia. *BioDrugs* 19:179-187.
- ¹¹⁵ Moertel CG, Schutt AJ, Reitemeier RJ, Hahn RG (1974) Corticosteroid therapy of preterminal gastrointestinal cancer. *Cancer* 33:1607-1609.

-
- ¹¹⁶ Willox JC, Corr J, Shaw J et al (1984). Prednisolone a san appetite stimulant in patients with cancer. *Br Med J (Clin Res Ed)* 288:27.
- ¹¹⁷ Faisinger R (1996) Pharmacological approach to cancer anorexia and cachexia. In: *Cachexia-anorexia in cancer patients*. Bruera E, Higginson I (eds). Oxford University Press, Oxford, UK, 128-140.
- ¹¹⁸ Wigmore SJ, Ross JA, Falconer JS et al (1996) The effect of polyunsaturated fatty acids on the progress of cachexia in patients with pancreatic cancer. *Nutrition* 12(1 Suppl):S27-30.
- ¹¹⁹ Fearon KC, Von Meyenfeldt MF, Moses AG (2003) Effect of a protein and energy dense N-3 fatty acid enriched oral supplement on loss of weight and lean tissue in cancer cachexia: a randomised double blind trial. *Gut* 52:1479-1486.
- ¹²⁰ Jatoi A, Rowland K, Loprinzi CL et al (2004) An eicosapentaenoic acid supplement versus megestrol acetate versus both for patients with cancer-associated wasting: a North Central Cancer Treatment Group and National Cancer Institute of Canada collaborative effort. *J Clin Oncol* 22:2469-2476.
- ¹²¹ Fearon KC, Barber MD, Moses AG et al (2006) Double-blind, placebo-controlled, randomized study of eicosapentaenoic acid diester in patients with cancer cachexia. *J Clin Oncol* 24:3401-3407.
- ¹²² Dewey A, Baughan C, Dean T, Higgins B, Johnson I (2007) Eicosapentaenoic acid (EPA, an omega-3 fatty acid from fish oils) for the treatment of cancer cachexia. *Cochrane Database Syst Rev* CD004597.
- ¹²³ Strasser F, Luftner D, Possinger K et al (2006) Comparison of orally administered cannabis extract and delta-9-tetrahydrocannabinol in treating patients with cancer-related

anorexia-cachexia syndrome: a multicenter, phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial from the Cannabis-In-Cachexia-Study-Group. *J Clin Oncol* 24:3394-3400.

¹²⁴ Jatoi A, Alberts SR, Foster N et al (2005) Is bortezomib, a proteasome inhibitor, effective in treating cancer-associated weight loss? Preliminary results from the North Central Cancer Treatment Group. *Support Care Cancer* 13:381-386.

¹²⁵ Gordon JN, Trebble TM, Ellis RD, Duncan HD, Johns T, Goggin PM (2005) Thalidomide in the treatment of cancer cachexia: a randomised placebo controlled trial. *Gut* 54:540-545.

¹²⁶ Wigmore SJ, Falconer JS, Plester CE, Ross JA, Maingay, JP, Carter DC, Fearon KC (1995) Ibuprofen reduces energy expenditure and acute-phase protein production compared with placebo in pancreatic cancer patients. *Br J Cancer* 72:185–188.

¹²⁷ McMillan DC, Wigmore SJ, Fearon KC, O’Gorman P, Wright CE, McArdle CS (1999) A prospective randomized study of megestrol acetate and ibuprofen in gastrointestinal cancer patients with weight loss. *Br J Cancer* 79:495–500.

¹²⁸ Masferrer JL, Leahy KM, Koki AT et al (2000) Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors. *Cancer Res* 60: 1306-11.

¹²⁹ Davis TW, Zweifel BS, O’Neal JM, et al (2004) Inhibition of cyclooxygenase-2 by celecoxib reverses tumor-induced wasting. *J Pharmacol Exp Ther* 308:929–934.

¹³⁰ Hussey HJ, Tisdale MJ (2000) Effect of the specific cyclooxygenase-2 inhibitor meloxicam on tumour growth and cachexia in a murine model. *Int J Cancer* 87:95–100.

-
- ¹³¹ Lai V, George J, Richey L et al (2008) Results of a pilot study of the effects of celecoxib on cancer cachexia in patients with cancer of the head, neck, and gastrointestinal tract. *Head Neck* 30:67-74.
- ¹³² Strasser F, Lutz TA, Maeder MT et al (2008) Safety, tolerability and pharmacokinetics of intravenous ghrelin for cancer-related anorexia/cachexia: a randomised, placebo-controlled, double-blind, double-crossover study. *Br J Cancer* 98:300-308.
- ¹³³ Neary NM, Small CJ, Wren AM et al (2004) Ghrelin increases energy intake in cancer patients with impaired appetite: acute, randomized, placebo-controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 89:2832-2836.
- ¹³⁴ Garcia J (2007) A phase II randomized, placebo-controlled, double-blind study of the efficacy and safety of RC-1291 (RC) for the treatment of cancer cachexia. *J Clin Oncol* 25:abstr # 9133.
- ¹³⁵ De Boer MD (2008) Emergence of ghrelin as a treatment for cachexia syndrome. *Nutrition* 24:806-814.
- ¹³⁶ Lundholm K, Korner U, Gunnebo L et al (2007) Insulin treatment in cancer cachexia: effects on survival, metabolism, and physical functioning. *Clin Cancer Res* 13:2699-2706.
- ¹³⁷ Laviano A, Muscaritoli M, Cascino A et al (2005) Branched-chain amino acids: the best compromise to achieve anabolism? *Curr Opin Nutr Metab Care* 8:408-414.
- ¹³⁸ Eley HL, Russell ST, Tisdale MJ (2007) Effect of branched-chain amino acids on muscle atrophy in cancer cachexia. *Biochem J* 407:113-120.

-
- ¹³⁹ Van Norren K, Kegler D, Argiles JM et al (2009) Dietary supplementation with a specific combination of high protein, leucine, and fish oil improves muscle function and daily activity in tumour-bearing cachectic mice. *Br J Cancer* 100:713-722.
- ¹⁴⁰ Lesser G, Case D, Ottery F et al (2008) ASCO Meeting. A phase III randomized study comparing the effects of oxandrolone (Ox) and megestrol acetate (Meg) on lean body mass (LBM), weight (wt) and quality of life (QOL) in patients with solid tumors and weight loss receiving chemotherapy. *Proc Am Soc Clin Onc* 26 (15S):505s.
- ¹⁴¹ Braiteh F, Dalal S, Khuwaja A, David H, Bruera E, Kurzrock R (2008) Phase I pilot study of the safety and tolerability of olanzapine (OZA) for the treatment of cachexia in patients with advanced cancer. *J Clin Oncol* 26: May 20 suppl; abstr # 20529.
- ¹⁴² Figueras M, Busquets S, Carbo N et al (2004) Interleukin-15 is able to suppress the increased DNA fragmentation associated with muscle wasting in tumour-bearing rats. *FEBS Lett* 569:201-206.
- ¹⁴³ Harcourt LJ, Holmes AG, Gregorevic P et al (2005) Interleukin-15 administration improves diaphragm muscle pathology and function in dystrophic mdx mice. *Am J Pathol* 166:1131-1141.
- ¹⁴⁴ Fuster G, Busquets S, Ametller E et al (2007) Are peroxisome proliferator-activated receptors involved in skeletal muscle wasting during experimental cancer cachexia? Role of beta2-adrenergic agonists. *Cancer Res* 67:6512-6519.
- ¹⁴⁵ Evans W, Smith S, Morley J et al (2007) Ostarine increases lean body mass and improves physical performance in healthy elderly subjects: implications for cancer cachexia patients. *J Clin Oncol* 25:abstr # 9119.

-
- ¹⁴⁶ Deboer MD, Marks DL (2006) Cachexia: lessons from melanocortin antagonism. *Trends Endocrinol Metab* 17:199-204.
- ¹⁴⁷ Argiles JM, Lopez-Soriano FJ, Busquets S (2008) Novel approaches to the treatment of cachexia. *Drug Discov Today* 13:73-78.
- ¹⁴⁸ Cerchietti LC, Navigante AH, Peluffo GD et al (2004) Effects of celecoxib, medroxyprogesterone, and dietary intervention on systemic syndromes in patients with advanced lung adenocarcinoma: a pilot study. *J Pain Symptom Manage* 27:85-95.
- ¹⁴⁹ Cerchietti LC, Navigante AH, Castro MA (2007) Effects of eicosapentaenoic and docosahexaenoic n-3 fatty acids from fish oil and preferential Cox-2 inhibition on systemic syndromes in patients with advanced lung cancer. *Nutr Cancer* 59:14-20.
- ¹⁵⁰ Mantovani G, Macciò A, Madeddu C et al (2006) A phase II study with antioxidants, both in the diet and supplemented, pharmaconutritional support, progestagen, and anti-cyclooxygenase-2 showing efficacy and safety in patients with cancer-related anorexia/cachexia and oxidative stress. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 15:1030-1034.
- ¹⁵¹ Mourtzakis M, Prado CM, Lieffers JR et al (2008) A practical and precise approach to quantification of body composition in cancer patients using computed tomography images acquired during routine care. *Appl Physiol Nutr Metab* 33:997-1006.
- ¹⁵² Stein KD, Martin SC, Hann DM, Jacobsen PB (1998) A multidimensional measure of fatigue for use with cancer patients. *Cancer Pract* 6: 143-152.
- ¹⁵³ Prue G, Rankin J, Cramp F et al (2006) Fatigue in gynaecological cancer patients: a pilot stud. *Support Care Cancer* 14: 78-83.

-
- ¹⁵⁴ Forrest LM, McMillan DC, McArdle CS et al (2005) A prospective longitudinal study of performance status, an inflammation-based score (GPS) and survival in patients with inoperable non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer* 92:1834-1836.
- ¹⁵⁵ McMillan DC (2008) An inflammation-based prognostic score and its role in the nutrition-based management of patients with cancer. *Proc Nutr Soc* 67:257-262.
- ¹⁵⁶ Dahele M, Skipworth RJ, Wall L et al (2007) Objective physical activity and self-reported quality of life in patients receiving palliative chemotherapy. *J Pain Symptom Manage* 33:676-685.
- ¹⁵⁷ Oken MM, Creech RH, Tormey DC et al (1982) Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol* 5:649-655.
- ¹⁵⁸ Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA et al (2000) New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. *J Nat Cancer Inst* 92:205-216.
- ¹⁵⁹ Muller M.J, Bosy-Westphal A., Kutzner D., Heller M (2002) Metabolically active components of fat free mass and resting energy expenditure in humans: recent lessons from imaging technologies. *Obesity Reviews* 3: 113-122.
- ¹⁶⁰ Shen W, Punyanitya M, Wang Z et al (2004) Total body skeletal muscle and adipose tissue volumes: estimation from a single abdominal cross-sectional image. *J Appl Physiol* 97:2333-2338.).
- ¹⁶¹ Schutz Y, Weinsier RL, Hunter GR (2001) Assessment of free-living physical activity in humans: an overview of currently available and proposed new measures. *Obesity Research* 9: 368-379.

¹⁶² Mantovani G, Madeddu C, Serpe R et al (2009) Randomized phase III clinical trial of 5 different arms of treatment for patients with cancer-related anorexia/cachexia syndrome (CACS). Proceedings of the 100th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research. 2009 Apr 18-22; Denver, CO. Philadelphia (PA): AACR. Abstract nr {1676}.

¹⁶³ Ramsey S, Lamb GW, Aitchison M et al (2007) Evaluation of an inflammation-based prognostic score in patients with metastatic renal cancer. *Cancer* 109:205-212.

¹⁶⁴ LM, DC, McArdle CS et al (2004) Comparison of an inflammation-based prognostic score (GPS) with performance status (ECOG) in patients receiving platinum-based chemotherapy for inoperable non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer* 90:1704-1706.

¹⁶⁵ Crumley AB, DC, McKernan M et al (2006) Evaluation of an inflammation-based prognostic score in patients with inoperable gastro-oesophageal cancer. *Br J Cancer* 94:637-641.

¹⁶⁶ NIH guide. Cachexia: research into biobehavioral management and quality of life. June 11, 2001.

¹⁶⁷ Bossola M, Pacelli F, Tortorelli A et al (2007) Cancer cachexia: it's time for more clinical trials. *Ann Surg Oncol* 14:276-285.

¹⁶⁸ Mantovani G, Macciò A, Madeddu C et al (2003) Antioxidant agents are effective in inducing lymphocyte progression through cell cycle in advanced cancer patients: assessment of the most important laboratory indexes of cachexia and oxidative stress. *J Mol Med* 81:664-673.

-
- ¹⁶⁹ Mantovani G, Macciò A, Madeddu C et al (2003) Reactive oxygen species, antioxidant mechanisms, and serum cytokine levels in cancer patients: impact of an antioxidant treatment. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 22(1):17-28.
- ¹⁷⁰ Higdon JV, Frei B (2003) tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. *Crit Rev Food Sci Nutr* 43:89-143.
- ¹⁷¹ McCarthy HD, Crowder RE, Dryden S et al (1994) Megestrol acetate stimulates food and water intake in the rat: effects on regional hypothalamic neuropeptide Y concentrations. *Eur J Pharmacol* 265:9-102.
- ¹⁷² Beller E, Trattersall M, Lumley T et al (1997) Improved quality of life with megestrol acetate in patients with endocrine-insensitive advanced cancer: a randomised placebo controlled trial. Australasian Megestrol Acetate Cooperative Study Group. *Ann Oncol* 8: 277-283.
- ¹⁷³ Bruera E, Macmillan K, Kuehn N et al (1990) A controlled trial of megestrol acetate on appetite, caloric intake, nutritional status, and other symptoms in patients with advanced cancer. *Cancer* 66: 1279-1282.
- ¹⁷⁴ Tchekmedyian NS, Hickman M, Siau J et al (1992) Megestrol acetate in cancer anorexia and weight loss. *Cancer* 69: 1268-1274.
- ¹⁷⁵ Loprinzi CL, Michalak JC, Schaid DJ et al (1993) Phase III evaluation of four doses of megestrol acetate as therapy for patients with cancer anorexia and/or cachexia. *J Clin Oncol* 11: 762-767.
- ¹⁷⁶ Barber MD, Ross JA, Voss AC et al (1999) The effect of an oral nutritional supplement enriched with fish oil on weight loss in patients with pancreatic cancer. *Br J Cancer* 81:80-86.

-
- ¹⁷⁷ Pettegrew JW, Levine J, McClure RJ (2000) Acetyl-L-carnitine physical-chemical, metabolic, and therapeutic properties: relevance for its mode of action in Alzheimer's disease and geriatric depression. *Mol Psychiatry* 5:616-632.
- ¹⁷⁸ Kelly GS (1998) L-carnitine: therapeutic applications of a conditionally-essential amino acid. *Altern Med Rev* 3:345-360.
- ¹⁷⁹ Gramignano G, Lusso MR, Madeddu C et al (2006) Efficacy of L-carnitine administration on fatigue, nutritional status, oxidative stress, and related quality of life in 12 advanced cancer patients undergoing anticancer therapy. *Nutrition* 22:136-145.
- ¹⁸⁰ Bruera E, Neumann CM, Pituskin E et al (1999) Thalidomide in patients with cachexia due to terminal cancer: preliminary report. *Ann Oncol* 10:857-859.
- ¹⁸¹ Khan ZH, Simpson EJ, Cole A et al (2003) Oesophageal cancer and cachexia: the effect of short-term treatment with thalidomide on weight loss and lean body mass. *Aliment Pharmacol Ther* 17:677-682.
- ¹⁸² Massa E, Madeddu C, G et al (2004) Clinical trial with Thalidomide in patients with tumors at different sites in progression of disease after previous treatments. Effects on clinical response and cachexia. *Supportive and Palliative Cancer Care* 1:21-28.
- ¹⁸³ Tan BH, Deans DA, Skipworth RJ, Ross JA, Fearon KC (2008) Biomarkers for cancer cachexia: is there also a genetic component to cachexia? *Support Care Cancer* 16:229-234.
- ¹⁸⁴ Fearon KC (2008) Cancer cachexia: developing multimodal therapy for a multidimensional problem. *Eur J Cancer* 44:1124-1132.