

УРОВЕНЬ РЕЦЕПТОРОВ ЛЕЙКОЦИТОВ И ИХ ЛИГАНДОВ В ДИАГНОСТИКЕ АДЕНОКАРЦИНОМЫ И ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

Мурашко Д. И., Таганович А. Д., Ковганко Н. Н.

*Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь*

Реферат. Существует потребность в поиске информативных биомаркеров аденокарциномы (АК) и плоскоклеточного рака легкого (ПКРЛ), позволяющих судить о распространенности опухоли. В настоящем исследовании обоснована целесообразность определения интенсивности флюоресценции (MFI) CXCR1 в гранулоцитах, доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, и концентрации гиалуроновой кислоты (ГК) при АК и ПКРЛ. Для АК I–II стадии диагностическая эффективность измерения концентрации ГК в крови, доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, и MFI CXCR1 в гранулоцитах составляет 73,5, 85,0, 80,9 %, при III–IV стадиях — 80, 85,8, 75,5 % соответственно. Диагностическая эффективность этих же показателей при I–II стадиях ПКРЛ составила 89,6, 86,6, 77,8 %, а при III–IV стадиях — 81,6, 81,7 и 87,5 % соответственно. Обнаружено существенное увеличение концентрации ГК, доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, MFI CXCR1 в гранулоцитах крови пациентов при II стадии немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) в сравнении с I стадией. Диагностическая чувствительность определения этих показателей в качестве дополнительных критериев, отличающих I стадию от II стадии, составляет при АК 86,2, 77,8, 72,4 %, а при ПКРЛ — 84,1, 70,3, 88,6 % соответственно.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, гиалуроновая кислота, CXCR1, CXCR2.

Введение. Рак легкого занимает второе место в структуре онкологической заболеваемости в мире. Большую часть его (85 %) составляет немелкоклеточный рак (НМРЛ), который в свою очередь включает основные гистологические типы: аденокарциному (АК) и плоскоклеточный рак (ПКРЛ). Имеется ряд существенных различий в морфологии, особенностях течения и закономерностях опухолевого метаболизма при этих формах заболевания [1]. Имеются существенные различия в прогнозе НМРЛ в зависимости от распространенности опухолевого процесса. Пятилетняя выживаемость пациентов с IA стадией (классификация TNM/pTNM) этих НМРЛ составляет около 90 %, а при IV стадии пятилетняя выживаемость не превышает 5 % [1]. Различия в течении морфологических типов и влияние степени распространенности опухолевого процесса

на выживаемость пациентов указывают на необходимость ранней и дифференцированной оценки АК и ПКРЛ.

В настоящее время в качестве дополнительных диагностических тестов при выявлении АК и ПКРЛ в крови пациентов определяется концентрация классических опухолеассоциированных антигенов — CYFRA 21-1 и SCC. Однако данные диагностической ценности измерения концентрации этих белков в крови неоднозначны. По результатам различных исследований, диагностическая чувствительность определения содержания CYFRA 21-1 в крови пациентов с НМРЛ варьирует от 54 до 77 % [2]. Число исследований, посвященных измерению его концентрации в крови при I–II стадиях НМРЛ, крайне невелико.

Определение уровня антигена плоскоклеточной карциномы (SCC) может служить

дополнительным критерием постановки диагноза при ПКРЛ. Однако диагностическая чувствительность его измерения в крови пациентов с этим гистологическим подтипом НМРЛ не превышает 52,7 % [3]. Вместе с тем в литературе отсутствуют данные о диагностической эффективности определения концентрации этих опухолеассоциированных антигенов при ранних (I–II) стадиях АК и ПКРЛ.

Одним из перспективных направлений научных исследований является поиск потенциальных биомаркеров злокачественных новообразований среди компонентов опухолеассоциированного воспаления. Опухолевые клетки продуцируют провоспалительные хемокины, в частности CXCL5 и CXCL8. Взаимодействуя с рецепторами CXCR1 и CXCR2 на поверхности лейкоцитов, клеток паренхимы и стромы опухоли, эти хемокины запускают сигнальные пути, способствующие усилению пролиферации, инвазии и метастазирования злокачественного новообразования [4].

Интенсивная пролиферация опухолевых клеток приводит к гипоксии в опухолевой ткани и усилению синтеза фактора, индуцируемого гипоксией — HIF-1 α . Последний в свою очередь активирует транскрипцию генов, ответственных за жизнеобеспечение опухоли в условиях недостатка кислорода. Одним из продуктов таких генов является рецептор CD44v6. Взаимодействуя со своим основным лигандом (гиалуриновой кислотой), он способствует дальнейшему усилению пролиферации клеток и опухолевой инвазии [5].

Результаты проведенных ранее исследований свидетельствуют, что увеличенная кон-

центрация CXCL5 и CXCL8, их рецепторов CXCR1 и CXCR2 и компонентов сигнального пути HIF-1 α /CD44v6/гиалуриновая кислота (ГК) в опухолевой ткани ассоциирована со степенью распространенности опухолевого процесса, метастазированием и плохим прогнозом заболевания [4, 5]. Результаты определения уровня этих соединений в крови пациентов АК и ПКРЛ немногочисленны. Ранее нами были получены данные, свидетельствующие о существенном росте их концентрации в крови пациентов с НМРЛ безотносительно их гистологического подтипа [6, 7]. Однако детальной оценки их концентрации в зависимости от степени распространенности морфологических типов НМРЛ не проводилось.

Цель работы — оценка диагностической информативности измерения концентрации CXCL5, CXCR2, CXCL8, CXCR1,2, HIF-1 α , CD44v6, ГК в крови пациентов с АК и ПКРЛ для определения показаний к углубленному обследованию (КТ/МРТ) с целью уточнения степени распространенности опухолевого процесса.

Материалы и методы. Обследовано 213 пациентов с НМРЛ (52 женщины и 153 мужчины), находившихся на лечении их в ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова» с 2019 по 2022 г. (таблица 1).

Группа контроля состояла из 42 человек в возрасте 43 ± 10 лет. В нашем исследовании наблюдаемая и контрольная группы были сопоставимы по полу, возрасту и сопутствующим заболеваниям.

Таблица 1 — Характеристика пациентов с НМРЛ

Показатель	АК	ПКРЛ
	Количество пациентов	
Стадия НМРЛ:		
I	27	24
II	29	44
III	30	35
IV	12	12
Размер опухоли (T):		
T1	27	26
T2	54	52
T3	17	17
T4	—	20
Метастазы в регионарные лимфоузлы (N):		
N0	46	95
N1	18	10
N2	25	15
N3	9	5

Окончание табл. 1

Показатель	АК	ПКРЛ
	Количество пациентов	
Отдаленные метастазы:		
M0	86	103
M1	12	12
Степень дифференцировки опухоли (Grade):		
G1	6	46
G2	48	38
G3	21	18

Концентрация CXCL8, CXCL5, HIF-1 α , ГК (лиганда рецептора CD44v6) и SCC в сыворотке крови пациентов и здоровых людей определялись методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием ИФА-наборов Fine Test (КНР) на автоматическом анализаторе Brio (Seac, Италия) и планшетном фотометре Sirio (Seac, Италия). Концентрация CYFRA 21-1 в сыворотке крови определялась методом иммунохемилюминесцентного анализа (ИХЛА) на ИХЛА-анализаторе Cobas e411 (Roche Diagnostics, США).

Долю гранулоцитов, лимфоцитов и моноцитов, снабженных рецепторами CXCR1, CXCR2, CD44v6, и плотность расположения рецептора в них (MFI) определяли методом проточной цитометрии с использованием цитофлуориметра Navios (Beckman Coulter, США).

Для статистического анализа использовался программный пакет IBM SPSS Statistics 23 (IBM, США). Так как распределение значений уровня показателей ни в одной из выборок не подчинялось нормальному распределению по критерию Колмогорова – Смирнова, использовались методы непараметрической статистики. Рассчитывались медиана (Me) и интерквартильный размах (25–75 %). Для оценки различий уровня определяемых показателей в нескольких независимых группах применяли *H*-критерий Краскела – Уоллиса. Критический уровень статистической значимости критерия принимали равным 5 % ($p = 0,05$). Последующие сравнения в анализируемых группах осуществлялись с применением *U*-критерия Манна – Уитни с поправкой Холма – Бонферрони на множественные сравнения. Силу взаимосвязи между уровнем показателей и степенью распространенности опухолевого процесса оценивали с помощью коэффициента корреляции Спирмена (*R*).

Оценку диагностической информативности биохимических тестов проводили с помощью характеристических кривых (ROC-анализ). О диагностической ценности анализируе-

мых показателей судили на основании расчета диагностической чувствительности (ДЧ), специфичности (ДС) и эффективности теста (ДЭ). Пороговое значение диагностического теста определяли как величину оптимального сочетания чувствительности и специфичности теста при построении ROC-кривых.

Результаты и их обсуждение. При НМРЛ от II до IV стадии уровень CXCL8 более чем в два раза превышал показатель у лиц без злокачественного новообразования ($p < 0,008$; таблица 2). У пациентов с I стадией АК концентрация CXCL8 в крови значительно превышала концентрацию в группе контроля. При I стадии ПКРЛ уровень этого хемокина не отличается от группы контроля. Уровень другого определяемого хемокина (CXCL5) в крови пациентов с НМРЛ вне зависимости от степени распространения опухолевого процесса не отличалась от содержания в контрольной группе.

При I стадии АК доля гранулоцитов, снабженных CXCR1, не отличалась от таковой в контрольной группе. При II стадии этого гистологического подтипа НМРЛ этот показатель был выше в сравнении со здоровыми людьми. У пациентов с III–IV стадиями АК доля гранулоцитов, снабженных CXCR1, была максимальна и превышала таковую у пациентов с I стадией заболевания ($p < 0,008$). Для пациентов с ПКРЛ при любой степени распространения опухоли доля гранулоцитов, снабженных CXCR1, была выше, чем у лиц без злокачественных новообразований ($p < 0,008$).

Показатель, характеризующий плотность расположения рецептора CXCR1 в мембране клеток лейкоцитарного ряда (MFI), в нашем исследовании увеличивался в лимфоцитах пациентов с НМРЛ в сравнении с группой контроля ($p < 0,008$). MFI CXCR1 в гранулоцитах более чем в 1,5 раза выше в сравнении со здоровыми людьми уже на I стадии НМРЛ ($p < 0,008$). Доля лимфоцитов, снабженных CXCR1, демонстрировала сходные изменения. При этом существенных отличий уровня этих

показателей в лимфоцитах крови пациентов в зависимости от распространенности опухолевого процесса не наблюдалось. Вместе с тем MFI CXCR1 в гранулоцитах был более чем в 1,5 раза выше в сравнении со здоровыми людьми уже при I стадии НМРЛ ($p < 0,008$). При II стадии заболевания ее уровень возрастал еще сильнее в сравнении с пациентами с I стадией ($p < 0,008$), а при III–IV стадиях достигал максимальных значений.

Исследование концентрации другого рецептора (CXCR2) показало следующие результаты: доля гранулоцитов и моноцитов с рецептором CXCR2 и MFI CXCR2 в гранулоцитах пациентов с НМРЛ не отличались от группы контроля. Доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, напротив, была в 1,5 раза выше в сравнении с группой контроля уже при I стадии НМРЛ ($p < 0,008$). При II стадии опухолевого процесса этот показатель возрастал еще сильнее. При III–IV стадиях НМРЛ относительное количество лимфоцитов, снабженных CXCR2, в крови пациентов достигло максимума и в 1,2–1,6 раза превышало их количество при II стадии заболевания ($p < 0,008$). MFI CXCR2 в моноцитах пациентов с НМРЛ при всех стадиях была выше, чем у здоровых людей ($p < 0,008$).

Концентрация HIF-1 α в крови пациентов с НМРЛ не отличалась от группы контроля (таблица 2). MFI CD44v6 в гранулоцитах и лимфоцитах пациентов со II–IV стадиями НМРЛ увеличивалась в сравнении с контрольной группой ($p < 0,008$). Доля гранулоцитов, лимфоцитов и моноцитов, снабженных CD44v6, у пациентов с I стадией АК была выше, чем в контрольной группе ($p < 0,008$). MFI CD44v6 в моноцитах пациентов с АК увеличена в сравнении с группой здоровых людей только при III и IV стадиях заболевания ($p < 0,008$). При III–IV стадиях ПКРЛ доля гранулоцитов и моноцитов, снабженных CD44v6, была выше, чем в группе контроля ($p < 0,008$). MFI CD44v6 в моноцитах пациентов с ПКРЛ II стадии была на 20 % выше контрольного уровня. При III–IV стадиях ПКРЛ наблюдалась тенденция к снижению этого показателя в моноцитах.

При I стадии НМРЛ уровень ГК (основного лиганда рецептора CD44v6) в крови пациентов в 1,6 раза больше в сравнении с контрольной группой ($p < 0,008$). При II стадии заболевания концентрация ГК значительно выше, чем у пациентов с I стадией ($p < 0,008$). При стадиях III и IV уровень ГК в крови демонстрировало дальнейший рост и более чем в 3,5 раза превышало ее уровень в контрольной группе.

Концентрация классического опухолеассоциированного антигена CYFRA 21-1 столь же существенно возрастала в крови пациентов с I стадией НМРЛ в сравнении с группой контроля ($p < 0,008$). При II стадии НМРЛ его уровень демонстрировал тенденцию к увеличению, однако не отличался от I стадии (с уровнем статистической значимости $p > 0,008$). При III–IV стадиях НМРЛ концентрация CYFRA 21-1 возрастала и была значительно выше, чем при I и II стадиях (таблица 2).

Концентрация другого опухолеассоциированного антигена SCC у пациентов с АК отличалась от контрольной группы при II стадии заболевания ($p < 0,008$). При III–IV стадиях его уровень в крови пациентов снижался. У пациентов с ПКРЛ концентрация SCC была выше в сравнении с группой контроля как при I–II, так и при III–IV стадиях заболевания. Значительных изменений содержания этого антигена в зависимости от распространенности опухолевого процесса не прослеживалось.

Таким образом, среди всех анализируемых показателей только MFI CXCR1 в гранулоцитах, доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, концентрация ГК и CYFRA 21-1 в крови пациентов в значительной степени изменялись в зависимости от распространения опухолевого процесса как при АК, так и при ПКРЛ. Для определения зависимости концентрации указанных выше показателей от степени распространенности опухолевого процесса в соответствии с TNM/pTNM (7 ed) проведен корреляционный анализ. Коэффициент корреляции ГК и CYFRA 21-1 в сыворотке крови, доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, MFI CXCR1 в гранулоцитах со стадиями АК составил 0,692, 0,477, 0,661 и 0,565. Для ПКРЛ – 0,681, 0,415, 0,610 и 0,578 соответственно.

MFI CXCR1 в гранулоцитах крови возрастала у пациентов с НМРЛ и размером опухоли менее 3 см (T1) в сравнении с группой контроля ($p < 0,008$; таблица 3). Еще больше уровень этого показателя увеличивался у пациентов с размером опухоли 3–5 см (T2). В группах пациентов с НМРЛ и размером опухоли 5–7 см (T3) не наблюдалось увеличения MFI CXCR1 в гранулоцитах в сравнении с T2. У пациентов с ПКРЛ и T4 MFI CXCR1 в гранулоцитах возрастает в сравнении с группами T1-3 ($p < 0,008$).

Доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, также возрастала в крови пациентов с НМРЛ при T1 в сравнении с группой контроля ($p < 0,008$). Она была еще при T2–T3. У пациентов с ПКРЛ при T4 этот показатель был в 1,2 раза выше в сравнении с T2, однако не отличался от пациентов с T3.

Таблица 2 – Концентрация CXCL8, CXCL5, CXCR1, CXCR2, HIF-1 α , ГК в крови пациентов с АК и ПКРЛ в зависимости от распространенности опухоли

Показатель	Контроль	АК			ПКРЛ		
		Стадия I	Стадия II	Стадия III–IV	Стадия I	Стадия II	Стадия III–IV
CXCL8, пг/мл	88,7 [47,7;168,2]	198,9 ¹ [139,0;443,0]	199,2 ¹ [90,3;328,7]	240,6 ¹ [148,5;521,9]	115,1 [55,6; 135,0]	183,9 ¹ [91,2; 283,3]	201,6 ¹² [133,9; 404,4]
CXCR1, гранулоциты, %	93,9 [91,9;94,6]	93,9 [90,0; 96,1]	95,0 ¹ [94,5; 95,8]	96,8 ¹² [95,2; 98,0]	96,0 ¹ [93,9; 97,0]	95,4 ¹ [94,6; 96,5]	95,3 ¹ [92,6; 97,5]
MFI CXCR1, гранулоциты	20,1 [9,9; 27,6]	32,1 ¹ [23,9; 44,2]	47,2 ¹² [37,3; 65,1]	54,4 ¹²³ [47,8; 63,9]	32,7 ¹ [18,4; 47,2]	47,1 ¹² [34,9; 48,4]	59,8 ¹²³ [57,3; 86,5]
CXCR1, лимфоциты, %	4,6 [2,2; 8,3]	13,1 ¹ [5,3;21,3]	11,5 ¹ [7,3; 13,4]	15,4 ¹ [8,9; 20,6]	10,2 ¹ [5,8; 17,7]	12,1 ¹ [10,1; 15,4]	14,3 ¹ [4,3; 19,5]
MFI CXCR1, лимфоциты	1,8 [1,6; 2,2]	3,0 ¹ [2,4; 13,2]	3,5 ¹ [2,8; 17,4]	3,5 ¹ [2,6; 6,3]	3,8 ¹ [3,1; 14,8]	3,8 ¹ [3,0; 12,3]	3,5 ¹ [2,2; 15,2]
CXCR1, моноциты, %	91,9 [89,5; 95,5]	92,1 [88,8; 95,0]	93,3 [85,2; 95,8]	93,8 [80,6; 96,5]	89,0 [86,5; 92,2]	91,4 [76,1; 95,4]	92,3 [38,2; 93,1]
MFI CXCR1, моноциты	2,2 [2,0; 2,7]	2,7 ¹ [2,6; 3,3]	2,8 ¹ [2,5;3,3]	4,2 ¹ [2,5;6,5]	2,5 [1,2; 4,8]	2,5 [1,6; 8,0]	3,3 ¹ [2,2; 10,1]
CXCL5, нг/мл	1,1 [0,5; 1,9]	1,3 [1,0; 1,6]	1,6 [1,2; 3,2]	1,3 [0,8; 2,1]	1,2 [0,8; 1,7]	1,1 [0,9; 2,2]	1,5 [0,7; 1,9]
CXCR2, гранулоциты, %	93,0 [90,3; 95,3]	93,8 [86,7; 95,6]	94,8 [93,1; 96,7]	95,9 ² [88,9; 96,5]	95,2 [91,9; 96,5]	95,3 [91,8; 97,9]	95,8 [89,4; 97,2]
MFI CXCR2, гранулоциты	93,1 [79,3; 97,1]	97,4 [88,6; 130,4]	107,1 [85,8; 146,3]	112,1 ¹ [94,7;116,9]	100,6 [74,6; 120,3]	97,8 [73,1; 145,9]	93,8 [79,3;110,0]
CXCR2, лимфоциты, %	9,5 [6,6; 12,6]	16,5 ¹ [10,3; 19,1]	20,9 ¹² [20,0; 34,3]	32,5 ¹²³ [30,7; 34,3]	18,1 ¹ [15,0; 18,9]	25,6 ¹² [17,1; 27,5]	29,8 ¹²³ [27,7; 34,0]
MFI CXCR2, лимфоциты	12,2 [7,2; 17,2]	16,4 [12,0; 21,4]	18,2 [12,9;19,4]	18,9 ¹ [13,1; 19,5]	16,0 [12,6; 18,7]	18,1 ¹ [12,6; 19,4]	18,6 ¹ [11,8; 19,2]
CXCR2, моноциты, %	94,2 [93,4; 95,7]	95,2 [82,0; 97,8]	95,2 [17,1; 97,5]	95,6 ¹ [94,9; 98,2]	95,5 ¹ [89,2; 97,8]	95,8 [91,8; 99,1]	97,5 [87,9; 97,9]
MFI CXCR2, моноциты	13,4 [12,3; 17,1]	23,4 ¹ [15,0; 32,2]	26,5 ¹ [18,0; 39,7]	26,8 ¹ [19,9; 32,0]	23,7 ¹ [21,6; 55,4]	24,3 ¹ [22,5; 39,3]	27,8 ¹ [23,1; 32,2]

CD44v6, гранулоциты, %	3,2 [1,2; 4,1]	3,5 ¹ [2,5; 7,6]	5,0 ¹ [4,0; 5,6]	5,1 ¹ [2,6; 7,5]	3,7 [1,1; 2,7]	3,7 [2,4; 4,2]	4,0 ¹ [2,8; 6,6]
MFI CD44v6, гранулоциты	1,5 [1,1; 2,5]	1,9 [1,4; 3,6]	2,5 ¹ [2,3; 3,4]	2,8 ¹ [1,8; 3,6]	2,5 [1,1; 2,7]	2,6 ¹ [2,2; 2,7]	2,5 ¹ [2,0; 2,6]
CD44v6, лимфоциты, %	1,0 [0,4; 1,9]	1,1 [0,6; 2,1]	1,2 [0,9; 1,3]	1,9 ¹² [1,1; 2,0]	1,6 [0,6; 4,3]	1,5 ¹ [1,2; 1,6]	1,4 [1,1; 1,8]
MFI CD44v6, лимфоциты	2,6 [2,3; 2,8]	2,9 [1,9; 4,7]	2,9 ¹ [2,6; 4,5]	3,9 ¹² [1,9; 4,6]	2,9 [1,6; 5,3]	3,2 ¹² [2,9; 4,1]	3,9 ¹ [1,9; 5,1]
CD44v6, моноциты, %	1,9 [1,6; 2,3]	2,9 ¹ [1,8; 8,5]	3,3 ¹ [1,9; 4,1]	3,9 ¹ [1,4; 9,1]	2,4 [1,6; 9,9]	3,2 ¹ [2,0; 3,7]	4,2 ¹ [2,2; 9,9]
MFI CD44v6, моноциты	5,1 [4,5; 5,8]	5,6 [3,7; 7,8]	6,0 [3,2; 7,2]	6,8 ¹ [4,8; 7,4]	6,1 [2,1; 20,5]	6,2 ¹² [5,6; 7,5]	4,6 ³ [1,9; 6,7]
HIF-1α, нг/мл	2,9 [2,5; 3,9]	2,9 [2,2; 3,6]	3,4 [2,9; 3,5]	3,6 ³ [2,7; 3,9]	2,9 [2,2; 3,4]	3,1 [2,4; 4,2]	3,9 [2,6; 4,4]
ГК, нг/мл	9,0 [7,7; 18,0]	22,4 ¹ [15,1; 24,6]	27,9 ¹² [23,8; 28,7]	30,2 ¹²³⁴ [27,1; 33,2]	14,5 ¹ [12,2; 16,9]	27,3 ¹²³ [21,7; 32,9]	36,3 ¹²³ [31,5; 47,2]
CYFRA 21-1, нг/мл	1,4 [1,3; 2,0]	2,7 ¹ [2,0; 3,7]	2,9 ¹ [2,2; 4,1]	4,4 ¹²³⁴ [3,5; 7,3]	3,0 ¹ [2,0; 4,4]	3,4 ¹² [2,2; 5,6]	5,4 ¹²³ [3,2; 10,1]
SCC, нг/мл	1,5 [1,2; 1,9]	1,2 [1,0; 1,8]	2,1 ¹² [1,5; 2,2]	1,6 [1,1; 2,1]	1,8 ¹ [1,6; 2,7]	2,0 ¹ [1,5; 3,2]	2,0 ¹ [1,5; 4,5]

Примечание — ¹ — достоверные отличия уровня показателей в крови пациентов с НМРЛ по сравнению с группой контроля; ² — достоверные отличия уровня показателей в крови пациентов со II и III–IV стадиями НМРЛ по сравнению с I стадией; ³ — достоверные отличия уровня показателей в крови пациентов с III–IV стадиями НМРЛ по сравнению со II стадией.

Уровень ГК в сыворотке крови пациентов с НМРЛ и размером опухоли до 3 см была значительно выше в сравнении с группой контроля. При T2–T4 концентрация этого показателя возрастала еще сильнее и была выше, чем у пациентов с T1. Нами прослеживалась тенденция к увеличению содержания ГК в крови по мере роста первичной опухоли, однако статистически значимых различий ее концентрации в группах пациентов с T2, T3 и T4 не наблюдалось.

Концентрация опухолеассоциированного антигена CYFRA 21-1 возрастала в зависимости от размера опухоли только при АК. Так, в крови пациентов с T2 уровень CYFRA 21-1 демонстрировало тенденцию к увеличению по сравнению с T1, а при T3 — достигало максимальных значений и значительно превышало такое при T1 ($p < 0,008$).

Доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, и концентрация ГК в крови пациентов с НМРЛ изменялись не только в зависимости от размера первичной опухоли, но и при распространении ее метастазов в регионарные лимфоузлы. У пациентов с АК и N1–N3 уровень этих показателей было значительно выше в сравнении с контрольной группой и пациентами без метастазов в регионарные лимфоузлы ($p < 0,008$). Доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, в крови пациентов с ПКРЛ также возрастала в крови пациентов с N1–N2 в сравнении с N0, однако при дальнейшем распространении метастазов опухоли (N3), напротив, демонстрировала тенденцию к снижению. Концентрация ГК в крови пациентов с N1 при ПКРЛ не отличалась от

таковой при N0. Наряду с этим отмечался значительный рост содержания этого показателя в крови пациентов в более поздний период ПКРЛ (N2–N3) в сравнении с пациентами без метастазов ($p < 0,008$).

MFI CXCR1 в гранулоцитах и концентрация CYFRA 21-1 в крови пациентов изменялись в зависимости от метастазирования опухоли лишь при АК. MFI CXCR1 в гранулоцитах при N2 превышает таковой при N0 ($p < 0,008$), однако у пациентов с N3 вновь снижается. Концентрация CYFRA 21-1 не отличалась у пациентов без метастазов АК по сравнению с N1, однако при N2-3 она возрастала и была в 1,5 раза выше по сравнению с пациентами без метастазов в регионарные лимфоузлы.

У пациентов с отдаленными метастазами (M1) АК доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, и MFI CXCR1 в гранулоцитах в 1,3–1,5 раз выше, чем при M0 ($p < 0,017$). Уровень ГК в сыворотке крови возрастает при наличии отдаленных метастазов НМРЛ в сравнении с пациентами без метастазов ($p < 0,008$).

Значительный рост ГК и CYFRA 21-1 наблюдается у пациентов с отдаленными метастазами НМРЛ (IV стадия заболевания; $p < 0,008$). Доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, и MFI CXCR1 в гранулоцитах возрастали в крови пациентов с отдаленными метастазами АК ($p < 0,017$). Концентрация CXCL8 и доля моноцитов, снабженных CXCR1, в крови при IV стадии ПКРЛ была выше по сравнению с пациентами без отдаленных метастазов (таблицы 3, 4).

Таблица 3 – Концентрация CXCL8, CXCR1, CXCR2, ГК в крови пациентов с АК в зависимости от дескрипторов опухоли

Показатель	Размер опухоли			Коэффициент корреляции Спирмена R	
	T1	T2	T3		
CXCR1, гранулоциты, MFI	32,1 ¹ [23,9; 44,2]	50,9 ^{1,2} [42,7; 64,7]	50,3 ^{1,2} [43,9; 60,9]	0,430	
CXCR2, лимфоциты, %	16,5 ¹ [10,3; 19,1]	26,8 ^{1,2} [20,9; 34,3]	32,5 ^{1,2} [31,8; 41,3]	0,613	
ГК, нг/мл	22,4 ¹ [15,1; 24,6]	28,7 ^{1,2} [26,0; 30,2]	33,1 ^{1,2} [27,0; 46,6]	0,657	
CYFRA 21-1	2,7 ¹ [2,0; 3,7]	3,8 ¹ [2,6; 6,4]	3,9 ^{1,2} [3,2; 5,8]	0,311	
Метастазы в регионарные лимфоузлы					
CXCR1, гранулоциты, MFI	N0	N1	N2	N3	0,451
	37,3 ¹ [28,4; 50,7]	47,2 ¹ [41,8; 56,9]	55,2 ^{1,3} [49,9; 54,4]	53,2 ¹ [46,4; 60,7]	
CXCR2, лимфоциты, %	16,8 ¹ [14,6; 21,4]	24,9 ^{1,3} [20,2; 34,2]	32,5 ^{1,3} [32,3; 34,3]	32,5 ^{1,3} [29,2; 32,5]	0,587
	ГК, нг/мл	23,8 ¹ [21,4; 26,0]	28,7 ^{1,3} [26,7; 30,2]	30,2 ^{1,3} [30,1; 33,3]	
CYFRA 21-1 нг/мл	2,7 ¹ [2,1; 3,3]	4,1 ¹ [2,6; 7,4]	4,4 ^{1,3} [3,3; 7,4]	4,1 ^{1,3} [3,2; 5,8]	0,478

Окончание табл. 3

Показатель	Отдаленные метастазы	
	M0	M1
CXCR1, гранулоциты, MFI	47,2 ¹ [32,9; 56,9]	62,5 ^{1,4} [51,0; 67,3]
CXCR2, лимфоциты, %	21,5 ¹ [16,5; 32,5]	32,5 ^{1,4} [32,1; 33,9]
CYFRA 21-1, нг/мл	3,1 ¹ [2,4; 4,5]	5,5 ^{1,4} [3,6; 9,8]
ГК, нг/мл	26,2 ¹ [23,8; 30,2]	30,2 ^{1,4} [27,9; 31,6]

Примечание – ¹ – достоверные отличия по сравнению со здоровыми людьми; ² – достоверные отличия по сравнению с T1; ³ – достоверные отличия по сравнению с N0; ⁴ – достоверные отличия по сравнению с M0.

Таблица 4 – Концентрация CXCL8, CXCR1, CXCR2, ГК в крови пациентов с ПКРЛ в зависимости от дескрипторов опухоли

Показатель	Размер опухоли				Коэффициент корреляции Спирмена R
	T1	T2	T3	T4	
CXCR1, гранулоциты, MFI	32,7 ¹ [18,5; 47,2]	47,4 ^{1,2} [36,4; 58,9]	57,9 ^{1,2} [47,3; 59,8]	82,4 ^{1,2,3,4} [57,6; 136,3]	0,549
CXCR2, лимфоциты, %	18,1 ¹ [15,0; 18,8]	25,9 ^{1,2} [19,0; 29,5]	30,0 ^{1,2} [25,1; 36,5]	31,8 ^{1,2,3} [27,7; 36,7]	0,654
ГК, нг/мл	15,1 ¹ [12,3; 21,9]	28,2 ^{1,2} [22,6; 39,6]	34,7 ^{1,2} [31,0; 47,5]	37,9 ^{1,2} [31,3; 46,4]	0,618
Метастазы в регионарные лимфоузлы					
CXCR2, лимфоциты, %	N0	N1	N2	N3	0,359
	25,1 ¹ [17,6; 28,9]	30,3 ^{1,5} [29,7; 34,2]	29,6 ^{1,5} [24,4; 31,8]	27,8 ¹ [20,7; 38,0]	
ГК, нг/мл	26,5 ¹ [16,4; 35,5]	31,7 ¹ [26,5; 35,3]	41,7 ^{1,5} [31,2; 52,7]	50,6 ^{1,5} [34,7; 53,5]	0,400
Отдаленные метастазы					
CYFRA 21-1, нг/мл	M0		M1		
	3,6 ¹ [2,2; 5,8]		8,6 ^{1,6} [4,7; 17,4]		
ГК, нг/мл	28,2 ¹ [20,3; 37,1]		46,7 ^{1,6} [32,1; 53,8]		
CXCR1, моноциты, %	2,5 ¹ [1,6; 8,0]		3,3 ^{1,6} [2,2; 10,1]		
CXCL8, пг/мл	178,4 ¹ [91,2; 295,0]		393,3 ^{1,6} [181,3; 691,6]		

Примечание – ¹ – достоверные отличия по сравнению со здоровыми людьми; ² – достоверные отличия по сравнению с T1; ³ – достоверные отличия по сравнению с T2; ⁴ – достоверные отличия по сравнению с T3; ⁵ – достоверные отличия по сравнению с N0; ⁶ – достоверные отличия по сравнению с M0.

Результаты ROC-анализа свидетельствуют, что 98,2 % пациентов с концентрацией ГК в крови выше 13,6 нг/мл имеют I–II стадии АК (специфичность — 71,1 %). У 77,8 % пациентов с ранними стадиями АК MFI CXCR1 в гранулоцитах превышает пороговое значение (30,5, специфичность — 97,6 %). У 76,9 % пациентов с I–II стадиями АК доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, в крови превышает пороговое значение (14,4 %, специфичность — 85,7 %).

У 89,7 % пациентов концентрация ГК в крови превышает пороговое значение (13,6 нг/мл), а у 71,1 % пациентов с уровнем этого показателя меньше ПКРЛ отсутствует. Диагно-

стические параметры определения MFI CXCR1 в гранулоцитах пациентов с I–II стадиями ПКРЛ превышают таковые при АК (диагностическая чувствительность — 78,5 %, специфичность — 97,6 % для порогового значения 30,0). Диагностическая чувствительность измерения относительного количества лимфоцитов, снабженных CXCR2, у пациентов с I–II стадиями ПКРЛ составила 77,6 %, а специфичность этого теста — 92,9 %, что значительно больше, чем при выявлении ранних стадий АК.

Эти же показатели возрастают в крови пациентов при III–IV стадиях НМРЛ и потому

могут использоваться с целью дифференцирования ранних и поздних стадий заболевания. Так, в крови 88,1 % пациентов с поздними стадиями АК концентрация ГК выше, чем 26,7 нг/мл (специфичность — 73,2 %). Определение MFI CXCR1 в гранулоцитах с этой целью обладает меньшей чувствительностью (77,5 %), но специфичность этого теста, напротив, выше (74,1 %, при пороговом значении 47,5). 95,0 % пациентов с поздними стадиями АК имеют уровень доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, выше порогового значения 22,8 % (специфичность — 78,8 %).

В крови 80,4 % пациентов с III и IV стадиями ПКРЛ концентрация ГК выше порогового значения 31,2 нг/мл (специфичность — 77,9 %), что превышает соответствующие параметры этого теста при АК. Определение MFI CXCR1 в гранулоцитах с целью дифференцирования ранних и поздних стадий ПКРЛ обладает более высокой диагностической эффективностью в сравнении с АК. Так, в гранулоцитах 91,5 % пациентов с III и IV стадиями ПКРЛ этот показатель выше порогового значения 54,4 (специфичность — 83,1 %). Диагностическая чувствительность измерения относительного количества лимфоцитов, снабженных CXCR2, у пациентов с поздними стадиями ПКРЛ уступает таковой при АК и составляет 78,3 %, однако и специфичность этого теста выше (84,5 % при пороговом значении 27,4 %).

Поскольку уровень всех упомянутых показателей существенно отличается в крови пациентов со II стадией в сравнении с I как при АК, так и при ПКРЛ, была предпринята попытка использовать их в качестве дополнительных критериев дифференцирования этих стадий. Так, MFI CXCR1 в гранулоцитах 86,2 % пациентов со II стадией АК превышает пороговое значение 36,6 (специфичность — 72,0 %). Диагностическая чувствительность и специфичность определения этого показателя с той же целью у пациентов со II стадией ПКРЛ ниже (84,1 и 66,7 %, соответственно при пороговом значении 32,9).

Диагностическая чувствительность определения доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, у пациентов со II стадией АК (77,8 %) превышает таковую при II стадии ПКРЛ (70,3 %) при сопоставимой диагностической специфичности (76,0 и 76,2 % соответственно; пороговые значения — 18,4 и 18,6 % соответственно).

У 72,4 % пациентов с уровнем ГК в крови выше 25,6 нг/мл диагностирована II стадия АК. При ПКРЛ диагностическая чувствительность

этого теста на 14 % выше (88,6 %, пороговое значение — 18,6 нг/мл), однако специфичность снижена в сравнении с таковой при АК (92,6 и 79,2 % соответственно).

Концентрация в крови антигена CYFRA 21-1 существенно возросла в крови пациентов безотносительно гистологического подтипа НМРЛ уже при I–II стадии заболевания. У 88,9 % пациентов с ранними стадиями АК и 85,2 % пациентов с ранними стадиями ПКРЛ его уровень превышало пороговые значения (1,6 и 1,7 нг/мл, специфичность — 66,7 %). При выявлении III–IV стадий АК чувствительность и специфичность определения концентрации CYFRA 21-1 в крови оказались выше, чем при ПКРЛ. Так, доля пациентов с III–IV стадиями АК и уровнем CYFRA 21-1 в сыворотке крови >3,1 нг/мл, составляет 87,2 %. У пациентов с III–IV стадиями ПКРЛ диагностическая чувствительность определения этого маркера составила 67,5 % при пороговом значении 3,8 нг/мл. Специфичность этого теста при поздних стадиях АК составила 70,4 %, а при ПКРЛ — 64,8 %.

Таким образом, концентрация ГК в крови, MFI CXCR1 в гранулоцитах и доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, возрастали в крови пациентов с АК и ПКРЛ уже при I стадии опухолевого процесса ($p < 0,008$). Отмечен значительный рост содержания этих показателей в крови пациентов со II стадией АК и ПКРЛ в сравнении с I стадией и еще более существенное их увеличение при III–IV стадиях. Результаты корреляционного анализа свидетельствуют о взаимосвязи средней силы между MFI CXCR1 в гранулоцитах, долей лимфоцитов, снабженных CXCR2, концентрацией ГК в крови и стадиями АК ($R = 0,565, 0,661, 0,692$ соответственно) и ПКРЛ ($R = 0,578, 0,610$ и $0,681$ соответственно). Данные литературы, посвященные определению содержания этих показателей в крови пациентов со злокачественными новообразованиями, немногочисленны. Тем не менее, можно встретить указания на значительное увеличение концентрации ГК в крови пациентов с НМРЛ безотносительно гистологического подтипа опухоли, что согласуется с полученными нами результатами [8]. Сведения об определении уровня рецепторов CXCR1 и CXCR2 в клетках крови пациентов с НМРЛ в литературе отсутствуют, хотя ранее сообщалось о заметном увеличении их концентрации в опухолевой ткани при этом заболевании [4].

Согласно результатам ROC-анализа чувствительность и специфичность определения

доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, у пациентов с I и II стадиями ПКРЛ составили 77,6 и 92,9 % соответственно, что значительно выше, чем при АК (76,9 и 85,7 % соответственно). Диагностические параметры определения уровня ГК в крови при ранних стадиях АК, напротив, выше, чем при ПКРЛ. Диагностическая чувствительность определения MFI CXCR1 в гранулоцитах пациентов с ранними стадиями АК и ПКРЛ сопоставима (77,8 и 78,5 % соответственно), однако специфичность этого теста при ПКРЛ (92,9 %) больше, чем при АК (85,7 %). Диагностическая чувствительность измерения концентрации CYFRA 21-1 при выявлении ранних стадий АК составляет 88,9 %, а специфичность — 66,7 %. При I–II стадиях ПКРЛ соответствующие параметры составили 85,2 и 66,7 %. Диагностические параметры измерения концентрации ГК в крови пациентов с целью выявления III и IV стадий АК существенно не отличаются от таковой при ПКРЛ. Определение MFI CXCR1 в гранулоцитах пациентов с III–IV стадиями ПКРЛ, напротив, обладает большей эффективностью при ПКРЛ в сравнении с АК. Измерение относительного количества лимфоцитов, снабженных CXCR2, позволяет выявить III и IV стадии АК с вероятностью истинно положительного результата, существенно превосходящей таковую при ПКРЛ (95,0 и 78,3 %), однако специфичность этого теста при АК ниже, чем при ПКРЛ (78,8 и 84,5 % соответственно).

Концентрация классического опухолеассоциированного антигена CYFRA 21-1 в крови пациентов с АК и ПКРЛ возрастает в сравнении с контрольной группой уже при I–II стадиях опухолевого процесса и еще более значительно увеличивается в поздний период заболевания. Диагностическая чувствительность определения классического опухолеассоциированного антигена CYFRA 21-1 в крови пациентов с I–II и III–IV стадиями АК и ПКРЛ, в большинстве случаев не уступает таковой концентрации ГК в крови, MFI CXCR1 в гранулоцитах, доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, однако специфичность измерения содержания CYFRA 21-1 в крови при НМРЛ ниже, чем у названных выше показателей. Наряду с этим нами не обнаружено существенных различий концентрации этого антигена в крови пациен-

тов со II стадией АК и ПКРЛ по сравнению с I стадией. В литературе отсутствуют сведения о диагностических параметрах определения CYFRA 21-1 при ранних и поздних стадиях АК и ПКРЛ в отдельности, однако диагностическая эффективность его измерения в крови пациентов с ранними стадиями НМРЛ безотносительно гистологического подтипа составляет около 77,3 % [9].

MFI CXCR1 в гранулоцитах, доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, и уровня ГК в крови, в отличие от CYFRA 21-1, могут использоваться с целью дифференцирования I стадии АК и ПКРЛ от II. Диагностические параметры определения MFI CXCR1 в гранулоцитах пациентов со II стадией АК превышает таковые при ПКРЛ и оптимальных пороговых значениях. Чувствительность измерения уровня ГК в крови пациентов со II стадией АК, напротив, ниже, чем при ПКРЛ (72,4 % и 88,6 %, соответственно), а специфичность — выше (96,3 и 79,2 % соответственно). Определение доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, демонстрирует большую вероятность верно выявленной II стадии АК в сравнении с ПКРЛ (77,5 и 70,3 %) при сопоставимой диагностической специфичности.

Заключение. Несмотря на сравнительно высокие диагностические параметры определения названных выше показателей у пациентов с АК и ПКРЛ, ни один из них не обладает одновременно высокой диагностической чувствительностью и специфичностью при выявлении как ранних, так и поздних стадий АК и ПКРЛ. Ввиду этого задача достижения высоких диагностических параметров для этих показателей остается актуальной. Одним из подходов для решения этой задачи является комбинация лабораторных тестов [3]. Полученные нами данные убеждают в целесообразности использования различных комбинаций для АК и ПКРЛ. Перспективой для дальнейшего исследования является создание комбинаций, включающих концентрацию ГК и CYFRA 21-1 в сыворотке крови, MFI CXCR1 в гранулоцитах и долю лимфоцитов, снабженных CXCR2, для определения I, II и III–IV стадий АК и ПКРЛ с тем, чтобы максимально повысить эффективность использования лабораторных тестов для диагностики этого заболевания.

Список цитированных источников

1. Lung squamous cell lung carcinoma and lung adenocarcinoma differential gene expression regulation through pathways of Notch, Hedgehog, Wnt and ErbB signaling / D. Anusewitz [et al.] // Scientific reports. — 2020. — Vol. 10. — P. 21128.

2. CYFRA 21-1 tests in the diagnosis of non-small cell lung cancer: a meta-analysis / Lei Fu [et al.] // Int. J. of Biological Markers. — 2019. — Vol. 34, № 3. — P. 251–261.
3. Assessment of seven clinical tumor markers in diagnosis of non-small cell lung cancer / C. Zhong-qing [et al.] // Disease Markers. — 2018. Dec. 11. — P. 9845123.
4. CXCL8-CXCR1/2 pathways in cancer / Qian L. [et al.] // Cytokine and Growth Factor Rev. — 2016. — Vol. 31. — P. 61–71.
5. Expression of CD44 variants in lung cancer and its relationship to hyaluronan binding / Y. Matsubara [et al.] // J. Int. Med. Res. — 2000. — Vol. 28, № 13. — P. 78–90.
6. Хемокины CXCL5, CXCL8 и их рецепторы CXCR1, CXCR2 — потенциальные биомаркеры немелкоклеточного рака легкого // А. Д. Таганович [и др.] // Лабораторная диагностика: Восточная Европа. — 2020. — Т. 9, № 3. — С. 252–271.
7. Взаимосвязь количественных характеристик CD44 в клетках крови с дескрипторами немелкоклеточного рака легкого / А. Д. Таганович [и др.] // Онкологический журнал. — 2020. — Т. 14, № 4. — С. 16–27.
8. Clinical utility of hyaluronic acid values in serum and bronchoalveolar lavage fluid as tumor marker of bronchogenic carcinoma / J. Hernandez [et al.] // Int. J. of Biological Markers. — 1995. — Vol. 10, № 3. — P. 149–155.
9. CYFRA 21-1 new marker for non-small cell lung cancer / J. Niklinski [et al.] // Pneumonol Alergol Pol. — 1994. — Vol. 62, № 5–6. — P. 227–232.

The level of blood cell receptors and its ligands in blood serum in the diagnosis of lung adenocarcinoma and squamous cell lung carcinoma

Murashka D. I., Tahanovich A. D., Kauhanka M. M.

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

There is a need to search for informative biomarkers of adenocarcinoma (AC) and squamous cell lung cancer (SCC) that allow one to judge the extent of the tumor. The study substantiates the expediency of determining the fluorescence intensity (MFI) of CXCR1 in granulocytes, the proportion of lymphocytes equipped with CXCR2, and the concentration of hyaluronic acid (HA) in AC and SCC. For AC I and II stages, the diagnostic efficiency of measuring the concentration of HA in the blood, the proportion of lymphocytes supplied with CXCR2, and MFI CXCR1 in granulocytes is 87,2 %, 80,8, 86,5 %, at III and IV stages — 79,6 %, 84,8, 75,5 %, respectively. The diagnostic efficiency of the same indicators in stages I and II of SCC was 83,0 %, 84,0 %, 85,9 % and in stages III–IV — 78,9 %, 81,7, 86,6 %, respectively. The diagnostic efficiency of the same indicators in stages I–II of SCLC was 89.6 %, 86.6, 77.8 %, and in stages III–IV — 81.6 %, 81.7 % and 87.5 %, respectively. A significant increase in the concentration of HA, the proportion of lymphocytes supplied with CXCR2, MFI CXCR1 in the blood granulocytes of patients with stage II non-small cell lung cancer in comparison with stage I was found. The diagnostic sensitivity of determining these indicators as additional criteria that distinguish stage I from stage II is 82,1 %, 76,9, 79.6 % for AC, and 86,8 %, 72,4, 78,4 %, respectively, for SCC.

Keywords: non-small cell lung cancer, hyaluronic acid, CXCR1, CXCR2.

Поступила 06.09.2022