

**ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЯ
ХЕМОКИНА CXCL8 И ЕГО РЕЦЕПТОРА CXCR1 В КРОВИ
ПАЦИЕНТОВ С НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО**

Мурашко Д. И.,

*ассистент кафедры биологической химии,
УО «Белорусский государственный медицинский
университет»,*

Таганович А.Д.,

*д.м.н., профессор, зав. кафедрой биологической химии,
УО «Белорусский государственный медицинский
университет»,*

*УО «Белорусский государственный медицинский
университет»,*

Ковганко Н. Н.,

*к.х.н., доцент кафедры биологической химии,
УО «Белорусский государственный медицинский
университет»*

Аркадьев К.А.,

*студент 3-го курса,
УО «Белорусский государственный медицинский
университет», г. Минск
dashaturashka@mail.ru*

Немелкоклеточный рак легкого (НМКРЛ) включает в себя два основных гистологических подтипа: аденокарциному (АК) и плоскоклеточный рак (ПКРЛ). В настоящее время отсутствуют информативные показатели в крови, которые позволили бы судить о наличии и распространенности АК и ПКРЛ. Целью исследования явилось изучение количественных взаимоотношений концентрации хемокина CXCL8 и его рецептора CXCR1 в крови пациентов с АК и ПКРЛ с тем, чтобы на основании полученных результатов оценить целесообразность их использования в диагностике этого заболевания. В результате исследования получены доказательства диагностической ценности определения плотности расположения (MFI) CXCR1 в гранулоцитах у пациентов с I-II стадиями НМКРЛ (диагностическая чувствительность для рассчитанного порогового значения - 98,7%, специфичность – 71,1%) и с III-IV стадиями (чувствительность - 87,5%, специфичность – 93,3%). Пороговое значение уровня показателя 23,9 позволяет выявить II стадию НМКРЛ с чувствительностью 96,6% и специфичностью 57,1%.

Ключевые слова: *немелкоклеточный рак легкого; аденокарцинома; плоскоклеточный рак; кровь; CXCR1; CXCL8*

**DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF DETERMINING THE LEVEL OF
THE CHEMOKINE CXCL8 AND ITS RECEPTOR CXCR1 IN THE BLOOD
OF THE PATIENTS WITH NON-SMALL CELL LUNG CANCER**

Murashka D.I.,

*assistant of the department of biological chemistry,
Belarusian State Medical University,*

Tahanovich A. D.,

*doctor of medical sciences., professor,
head of the department of biological chemistry?*

Belarusian State Medical University,

Kauhanka M. M.,

*candidate of chemical sciences,
associate professor of the department of biological chemistry,
Belarusian State Medical University,*

Arkadyev K. A.,

3rd year student

Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

dashamurashka@mail.ru

Non-small cell lung cancer (NSCLC) includes two main histological types: adenocarcinoma (AC) and squamous cell carcinoma (SCC). Currently, there are no informative blood indicators that would allow us to estimate the presence and prevalence of NSCLC. The aim of the study was to estimate quantitative relationship between blood levels of chemokine CXCL8 and its receptor CXCR1 in AC and SCC patients in order to assess the possibility of its use in NSCLC diagnosis. As the result, there is evidence of high diagnostic value of determining MFI CXCR1 (granulocytes) in patients with stages I-II NSCLC (sensitivity for calculated cutoff value – 98,7%, specificity – 71,1%) and stages III-IV (sensitivity – 87,5%, specificity – 93,3%). Cutoff value of MFI CXCR1 in granulocytes 23,9 can be used to differentiate I and II stages NSCLC.

Key words: *non-small cell lung cancer; adenocarcinoma; squamous cell carcinoma; blood; CXCL8; CXCR1*

В структуре заболеваемости раком легкого 85% принадлежит немелкоклеточному раку (НМКРЛ), который подразделяется на два основных гистологических подтипа: аденокарциному (АК, 40% случаев рака легкого) и плоскоклеточный рак легкого (ПКРЛ, 30% случаев).

По сравнению с АК, ПКРЛ протекает более агрессивно. Пятилетняя выживаемость пациентов с I стадией АК и ПКРЛ составляет 79% и 47% соответственно, и уже на II стадии она снижается более, чем на треть. При IV стадии АК и ПКРЛ выживаемость составляет лишь 6% и 2% соответственно [1].

До настоящего времени нет информативных лабораторных показателей, позволяющих выявить АК и ПКРЛ на ранних стадиях. Чаще других с этой целью определяется концентрация фрагмента цитокератина 19 (CYFRA 21-1). Однако

его диагностическая чувствительность при диагностике НМКРЛ безотносительно гистологического типа составляет лишь 59% [2].

Одной из центральных составляющих онкогенеза является опухолеассоциированное воспаление, оказывающее существенное влияние на рост и метастазирование опухоли. Иммунные клетки микроокружения опухоли продуцируют хемокины, которые принимают участие в пролиферации клеток, ангиогенезе и метастазировании [3].

Интерлейкин-8 (CXCL8) принадлежит к семейству СХС-хемокинов, ответственных за привлечение иммунных клеток в зону воспаления. Взаимодействие CXCL8 с его рецептором CXCR1 усиливает опухолевый рост [4]. Высокая экспрессия CXCR1 в опухолевой ткани ассоциирована с плохим прогнозом у пациентов с НМКРЛ [5].

Синтез провоспалительных хемокинов и их рецепторов клетками характерен не только для опухоли, но и для крови. Логично предположить, что рост их уровня в опухолевой ткани влияет на их концентрацию в крови. Однако в литературе отсутствуют данные об определении уровня CXCL8 и CXCR1 в крови с целью диагностики АК и ПКРЛ.

Целью настоящего исследования явилась оценка уровня CXCL8 и CXCR1 в периферической крови пациентов с АК и ПКРЛ и выяснение целесообразности их определения у пациентов с целью диагностики НМКРЛ.

Материалы и методы. Обследовано 109 пациентов с ПКРЛ и 94 пациента с АК при первом поступлении их в стационар РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова в период 2019-2021 гг. В качестве группы контроля обследовано 40 человек без проявлений заболевания в возрасте 43 – 67 лет. Уровень CXCL8 в сыворотке крови пациентов и здоровых людей определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) на автоматическом ИФА-анализаторе Brio (Seac, Италия) и планшетном фотометре Sirio (Seac, Италия) при длине волны 450 нм и референсной длине волны 620 нм. Определение рецептора CXCR1 в клетках крови осуществляли на проточном цитофлуориметре Navios (Beckman Coulter, США).

Для всех выборок проверяли гипотезу нормальности распределения по критериям Колмогорова-Смирнова. Анализ проводили методами непараметрической статистики с использованием программных пакетов IBM SPSS Statistics 23 (IBM, США) и MedCalc (США). Рассчитывались медиана и интерквартильный размах (25% - 75%). Для оценки различий между двумя независимыми группами применяли U-критерий Манна-Уитни. О взаимосвязи между определяемыми показателями и стадиями АК и ПКРЛ судили на основании расчета коэффициента ранговой корреляции Спирмена (R).

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

О диагностической ценности анализируемых 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. У пациентов с АК и ПКРЛ уровень CYFRA 21-1 был в 2 раза выше, чем в контрольной группе уже на I стадии заболевания (таблица 2). Доля лимфоцитов с CXCR1 при аналогичном сравнении увеличилась примерно на 20%. Уровень CXCL8 в сыворотке крови пациентов со II стадией АК и ПКРЛ возрастал более чем в два раза. Имелось значительное увеличение интенсивности флуоресценции комплексов антитело/рецептор (MFI), отражающей плотность расположения CXCR1 в мембранах лимфоцитов и гранулоцитов на I-II стадиях АК и ПКРЛ. При III-IV стадиях увеличение MFI было еще более выраженным. В то же время, доля моноцитов, несущих рецептор CXCR1, существенно увеличивалась лишь на поздних стадиях заболевания. Сходным изменениям подвергалась и плотность расположения в них CXCR1, но лишь при ПКРЛ.

Имел место существенный подъем уровня SCC в сыворотке крови пациентов с ПКРЛ, но не АК. Уровень CYFRA 21-1 в сыворотке крови увеличивался на ранних стадиях и в поздний период АК и ПКРЛ.

Для показателей, продемонстрировавших существенное изменение уровня по сравнению со здоровыми людьми и пациентами с гамартомой на ранних стадиях АК и ПКРЛ и еще более – в поздний период, был рассчитан коэффициент корреляции Спирмена (R). Он подтвердил наличие связи со стадиями ПКРЛ и АК уровня CYFRA 21-1 (величина R для ПКРЛ и АК составила 0,469 и 0,329 соответственно), MFI CXCR1 (лимфоциты) (R=0.524 и 0.526 соответственно) и доли лимфоцитов, снабженных CXCR1 (R=0.558 и 0.662, соответственно).

Схожесть изменений уровня компонентов оси CXCL8/CXCR1 при АК и ПКРЛ указывают на возможность дальнейшей оценки их диагностической значимости в общей группе пациентов с НМКРЛ. Результаты ROC-анализа показывают, что 98,1% пациентов с НМКРЛ со значением MFI CXCR1 в гранулоцитах более 10,9 имеют ранние стадии НМКРЛ (специфичность 71,1%, диагностическая эффективность – 82,9%). В то же время, значение этого показателя >44, 2 соответствует поздним стадиям НМКРЛ с чувствительностью 87,5% и специфичностью 93,3% (таблица 4).

Превышение порогового значения (>2,8 нг/мл) CYFRA 21-1 позволяет верно выявить ранние стадии НМКРЛ только в 68,4% случаев с вероятностью истинно отрицательного результата 96,8%. С другой стороны, для отличия поздних стадий от ранних расчетная величина пограничного значения этого показателя составила 4,1 нг/мл (чувствительность 79,2%, специфичность 68,4%).

Уровень CYFRA 21-1 не отличался в группах пациентов с I стадией НМКРЛ по сравнению со II стадией, в то время как MFI CXCR1 (гранулоциты) при значениях этого показателя >23,9 соответствовал II стадии заболевания с чувствительностью 96,6%, но низкой специфичностью (57,1%).

Заключение. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о существенном увеличении концентрации CYFRA 21-1 у пациентов с ПКРЛ и АК

по сравнению со здоровыми людьми уже на I стадии заболевания и ее возрастание в последующих стадиях. Обнаружена коррелятивная связь средней силы для этого параметра со стадиями заболевания.

Уровень CXCL8 в крови пациентов с НМКРЛ существенно отличался от контрольных значений лишь на поздних стадиях заболевания и по этой причине не был избран для дальнейшей оценки диагностических параметров. Вместе с тем, получены доказательства значительного повышения MFI CXCR1 в гранулоцитах и доли лимфоцитов, снабженных этим рецептором, на I стадии АК и ПКРЛ по сравнению со здоровыми людьми. Рецептор CXCR1 способен связываться не только с CXCL8, но и с другими провоспалительными хемокинами (ИЛ-6). Это может послужить причиной более выраженного изменения его уровня в крови пациентов по сравнению с таковым его лиганда CXCL8.

Отсутствие существенных различий изменения концентрации CXCR1 в клетках периферической крови пациентов с АК и ПКРЛ привели к заключению о возможности проведения анализа диагностической ценности анализируемых параметров безотносительно гистологического типа НМКРЛ.

Согласно результатам ROC-анализа, отсутствует информативность определения CYFRA 21-1 с целью дифференциальной диагностики I и II стадий заболевания, в то время как рассчитанное пороговое значение повышения MFI CXCR1 в гранулоцитах позволяет сделать это с высокой чувствительностью (96,6%), хотя и относительно низкой специфичностью (57,1%). Определение этого показателя также позволяет отличить ранние стадии НМКРЛ от здоровых людей с высокой диагностической чувствительностью (98,7%), значительно превосходящей таковую для измерения концентрации в крови CYFRA 21-1 (68,4%). Однако специфичность теста, напротив, уступала таковой определения уровня CYFRA 21-1 (96,8%).

Наличие значительной разницы уровня CYFRA 21-1 и MFI CXCR1 в гранулоцитах у пациентов с ранними и поздними стадиями НМКРЛ, а также обнаружение коррелятивной связи этих показателей со стадиями заболевания дали основание проанализировать возможность их использования в этом случае с диагностической целью. Эффективность их измерения для отличия ранних стадий от поздних составила 80,6% - для CYFRA 21-1 и 90,0% - для MFI CXCR1 в гранулоцитах.

Список литературы

1. Wang B. The comparison between adenocarcinoma and squamous cell carcinoma in lung cancer patients / B. Wang // J Cancer Res Clin Oncol. – 2020. - Vol. 146, №1. - P. 43 – 52.
2. Wieskopf B. CYFRA 21-1 as a biologic marker of non-small cell lung cancer. Evaluation of sensitivity, specificity and prognostic role / B. Wieskopf [et al] // Chest. – 1995. - Vol. 108, №1. - P. 163–169.

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ БИОХИМИИ,
Минск, 25 января 2022 г.

3. Knight S. B. Progress and prospects of early detection of lung cancer / S. B. Knight [et al] // *Open Biol.* – 2017. - Vol. 7, №9. - P. 170070.
4. Lui Q. The CXCR1/CXCR2 pathways in cancer / Q. Lui [et al] // *Cytokine Growth Factor Rev.* – 2016. - Vol. 31. – P. 61–71.
5. Yang F. CXCR1 correlates to poor outcomes of EGFR-TKI against advanced non-small cell lung cancer by activating chemokine and JAK-STAT pathway / F. Yang [et al] // *Plum Pharmacol Ther.* – 2021. - Vol 67. - P. 102001.