

КОМБИНАЦИЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЯ РЕЦЕПТОРОВ CXCR1, CXCR2 И ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ У ПАЦИЕНТОВ С НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО

Мурашко Д.И.¹, Таганович А.Д.¹, Ковганко Н.Н.¹, Прохорова В.И.²,
Готько О.В.²

¹Белорусский государственный медицинский университет

²РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова

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

Резюме. В настоящее время не существует информативных и специфичных биомаркеров немелкоклеточного рака легкого (НМКРЛ). В статье определена целесообразность комплексного определения уровня CXCR1, CXCR2, гиалуроновой кислоты и CYFRA 21-1 при оценке наличия и степени распространенности этого заболевания.

Resume. Nowadays there are no specific and informative biomarkers of non-small cell lung cancer. In this article we investigate the advisability of determining CXCR1, CXCR2, hyaluronic acid and CYFRA 21-1 levels in NSCLC diagnosis.

Актуальность. В структуре заболеваемости раком легкого большая часть принадлежит немелкоклеточному раку (НМКРЛ). НМКРЛ, в свою очередь, включает в себя два основных гистологических подтипа: аденокарциному (АК, 40% случаев НМКРЛ) и плоскоклеточный рак (ПКРЛ, 30% НМКРЛ) [1].

По сравнению с АК, ПКРЛ протекает более агрессивно. Уже при I стадии ПКРЛ пятилетняя выживаемость пациентов существенно превышает таковую пациентов с АК (47% и 79% соответственно). На II стадии обоих гистологических типов НМКРЛ показатели выживаемости снижаются практически вдвое [1].

Информативных и специфичных биомаркеров, позволяющих выявить АК и ПКРЛ, в настоящее время не существует. С этой целью в сыворотке крови нередко определяется уровень фрагмента цитокератина 19 CYFRA 21-1. Однако диагностическая чувствительность этого теста при НМКРЛ сравнительно невысока (66%) [2].

В последние годы активно обсуждается роль воспаления в процессах канцерогенеза. Клетки воспалительного микроокружения опухоли вырабатывают цитокины и хемокины, принимающие непосредственное участие в росте, ангиогенезе и метастазировании опухоли.

CXCL5 и CXCL8 – провоспалительные хемокины, обладающие ангиогенной активностью. Взаимодействие их с рецепторами CXCR1 и CXCR2 опосредует привлечение иммунных клеток в зону воспаления, индуцирует процессы ангиогенеза и метастазирования [3].

Интенсивная пролиферация опухолевых клеток зачастую приводит к дефициту кислорода в зоне онкогенеза. В этих условиях стимулируется синтез HIF-1 α – фактора транскрипции, индуцируемого гипоксией. Одним из метаболических эффектов HIF-

1 α является усиление экспрессии рецептора CD44v6. Взаимодействуя со своим основным лигандом – гиалуроновой кислотой (ГК) – CD44v6 запускает сигнальные пути, играющие существенную роль в пролиферации клеток [4].

Возможность использования показателей опухолевого метаболизма качестве потенциальных биомаркеров рака, в том числе, НМКРЛ, является предметом многочисленных научных изысканий. [3,5]. Было обнаружено существенное увеличение уровня CXCR1, CXCR2 и ГК в клетках злокачественных новообразований, в том числе, НМКРЛ, по сравнению со здоровыми людьми и его связь с клиническими характеристиками опухоли [3,5]. Однако определение концентрации этих показателей в крови пациентов с НМКРЛ не проводилось.

Цель: установить возможность комплексного определения CXCR1, CXCR2 и ГК в крови при диагностике ПКРЛ и АК, в особенности, на его ранних стадиях.

Задачи: 1. Определить уровень CXCR1, CXCR2, ГК и CYFRA 21-1 в сыворотке крови. 2. Рассчитать диагностическую чувствительность, специфичность и эффективность определения этих показателей у пациентов с АК и ПКРЛ. 3. Разработать диагностические модели, позволяющие максимально повысить диагностическую ценность показателей для выявления НМКРЛ, в особенности, его ранних стадий.

Материал и методы. Обследовано 105 пациентов с ПКРЛ и 88 пациентов 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 42 человека без проявлений заболевания в возрасте 43 - 67 лет.

Определение концентрации CYFRA 21-1 в сыворотке крови пациентов и здоровых людей проводилось методом иммунохемилюминесцентного анализа. Измерение уровня ГК в сыворотке крови пациентов проводилось методом иммуноферментного анализа. Определение рецепторного аппарата клеток крови проводилось методом проточной цитометрии.

Статистический анализ данных проводили методами непараметрической статистики с использованием программного пакета MedCalc (США). Рассчитывались медиана (Me) и интерквартильный размах (25% - 75%). Для оценки различий между двумя независимыми группами применяли U-критерий Манна-Уитни. О взаимосвязи между определяемыми показателями и стадией заболевания судили на основании расчета коэффициента ранговой корреляции Спирмена (R).

Оценку диагностической информативности биохимических тестов проводили с помощью ROC-анализа. Построение диагностических моделей осуществляли с помощью метода бинарной логистической регрессии. Оценку интегральной диагностической информативности лабораторных тестов также проводили с помощью построения ROC-кривых. При всех видах статистического анализа критическое значение уровня значимости принимали равным 5%.

Результаты и их обсуждение. Плотность расположения CXCR1 в гранулоцитах (MFI), доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, и концентрация ГК и 1 в крови пациентов значительно превышают таковые здоровых людей, уже на I стадии АК и ПКРЛ. Уровень этих показателей у пациентов со II стадией обоих

гистологических типов НМКРЛ возрастает более, чем на 20%, по сравнению с I и демонстрирует дальнейший существенный рост в поздний период заболевания.

Концентрация CYFRA 21-1 в крови пациентов с ранними стадиями АК и ПКРЛ также существенно выше по сравнению с контрольной группой. При этом, уровень этого антигена у пациентов со II стадией обоих гистологических типов существенно не отличается от такового при I стадии. Для поздних стадий заболевания характерен существенный рост концентрации CYFRA 21-1 в крови пациентов по сравнению с ранними стадиями (таблица 1).

Результаты ROC-анализа указывают на сравнительно высокую диагностическую чувствительность, специфичность и эффективность определения MFI CXCR1 в гранулоцитах, доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, и уровня ГК в крови при АК и ПКРЛ. Они сопоставимы с таковыми или даже превосходят диагностические параметры определения в сыворотке крови пациентов CYFRA 21-1. Однако ни один из перечисленных показателей не обладает одновременно высокими диагностической чувствительностью и специфичностью при данном заболевании. Одним из общеизвестных подходов к повышению диагностической ценности показателей является комбинированное определение нескольких маркеров. На основании полученных результатов были созданы регрессионные модели, включающие уровень CXCR1, CXCR2, ГК и CYFRA 21-1 в крови обследуемых пациентов и здоровых людей. Из всех предполагаемых факторных признаков в регрессионное уравнение были отобраны лишь те, которые оказывают существенное влияние на результат уравнения.

Доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, уровень ГК в сыворотке крови, а также плотность расположения CXCR1 в гранулоцитах оказались наиболее значимыми факторами, указывающими на наличие у пациента ранних стадий ПКРЛ (Y1).

$$Y_1 = \frac{\exp(-31,4 + 0,29 * [ГК] + 1,45 * [CXCR2, \text{лимфоциты, \%}] + 0,09 * [MFI CXCR1(\text{гранулоциты})])}{1 + \exp(-31,4 + 0,29 * [ГК] + 1,45 * [CXCR2, \text{лимфоциты, \%}] + 0,09 * [MFI CXCR1(\text{гранулоциты})])}$$

Для оценки эффективности регрессионной модели проведен ROC-анализ. С его помощью установлено оптимальное значение порога бинарной классификации (0,59). У 95,7% пациентов, имеющих ранние стадии ПКРЛ, значение результативной переменной превышало оптимум порога классификации (чувствительность). Среди всех здоровых людей у 93,7% результат регрессионного уравнения меньше, чем 0,59 (специфичность). Диагностическая эффективность созданной модели составила 94,2%.

Для диагностики III-IV стадий ПКРЛ в регрессионное уравнение были отобраны те же показатели (Y2).

$$Y_2 = \frac{\exp(-41,9 + 0,14 * [ГК] + 1,35 * [CXCR2, \text{лимфоциты, \%}] + 0,06 * [MFI CXCR1(\text{гранулоциты})])}{1 + \exp(-41,9 + 0,14 * [ГК] + 1,35 * [CXCR2, \text{лимфоциты, \%}] + 0,06 * [MFI CXCR1(\text{гранулоциты})])}$$

Оптимальное пороговое значение бинарной классификации (Y_2), равно 0,64. У 93,1% пациентов с результатом уравнения $Y_2 > 0,64$ диагностируются III-IV стадии ПКРЛ (специфичность - 93,3%).

Ввиду важности отличия I стадии ПКРЛ от II, создана регрессионная модель в виде уравнения 3. В нее был отобран уровень ГК в сыворотке крови и относительное содержание лимфоцитов, снабженных CXCR2 (Y_3).

$$Y_3 = \frac{\exp(-23,2 + 0,21 * [ГК] + 0,87 * [CXCR2, \text{лимфоциты, \%}])}{1 + \exp(-23,2 + 0,21 * [ГК] + 0,87 * [CXCR2, \text{лимфоциты, \%}])}$$

У 94,4% пациентов со II стадией заболевания результаты регрессионного уравнения Y_3 превышают пороговое значение 0,34, а у 87,5% обследуемых с $Y_3 < 0,44$ II стадия ПКРЛ отсутствует. Таким образом, диагностическая модель позволяет различить I и II стадию заболевания с эффективностью 90,2%.

Для повышения эффективности диагностики АК также разработаны 3 диагностические модели. В регрессионное уравнение, позволяющее выявить у обследуемых I-II стадии АК, была включена доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, плотность расположения CXCR1 в гранулоцитах и уровень CYFRA 21-1 в сыворотке крови (Y_4).

$$Y_4 = \frac{\exp(-22,2 + 4,9 * [CYFRA 21 - 1] + 0,66 * [CXCR2, \text{лимфоциты, \%}] + 0,15 * [MFI CXCR1(\text{гранулоциты})])}{1 + \exp(-22,2 + 4,9 * [CYFRA 21 - 1] + 0,66 * [CXCR2, \text{лимфоциты, \%}] + 0,15 * [MFI CXCR1(\text{гранулоциты})])}$$

ROC-анализ позволил определить пороговое значение результатов регрессионного уравнения - 0,61. У 91,3% пациентов с ранними стадиями АК значение результирующей переменной превысило 0,61 (специфичность - 94,7%). Диагностическая эффективность регрессионной модели Y_4 равна 93,5%.

Для дифференцирования ранних и поздних стадий АК высокую диагностическую эффективность продемонстрировала комбинация уровня CYFRA 21-1 в сыворотке крови и доли лимфоцитов, снабженных CXCR2 (Y_5).

$$Y_5 = \frac{\exp(-12,3 + 0,37 * [CYFRA 21 - 1] + 0,39 * [CXCR2, \text{лимфоциты, \%}])}{1 + \exp(-12,3 + 0,37 * [CYFRA 21 - 1] + 0,39 * [CXCR2, \text{лимфоциты, \%}])}$$

Значение порога бинарной классификации регрессионной модели Y_5 составило 0,15. Превышение этой величины было у 98,3% пациентов с диагностированными у них по результатам клинического обследования III-IV стадиями АК (специфичность - 91,3%). Регрессионная модель позволяет выявить поздние стадии АК с эффективностью 95,4%.

Для дифференцирования II стадии АК с I, в регрессионное уравнение были включены те же предикторы, что использовались с той же целью при ПКРЛ (доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, и уровень ГК в сыворотке крови). Оптимальное значение порога бинарной классификации при дифференцировании I от II стадии АК оказалось большим (0,46), чем при ПКРЛ (0,44) (Y_6).

$$Y_6 = \frac{\exp(-27,3 + 0,88 * [ГК] + 0,30 * [CXCR2, \text{лимфоциты, \%}])}{1 + \exp(-27,3 + 0,88 * [ГК] + 0,30 * [CXCR2, \text{лимфоциты, \%}])}$$

У 88,2% со II стадией АК значение Y_6 превышает пограничное. В то же время, у пациентов с I стадией заболевания величина Y_6 была меньше 0,46 в 91,2% случаев. Диагностическая эффективность модели Y_6 составила 90,2%.

Выводы: полученные результаты свидетельствуют о сравнительно высокой диагностической ценности определения CXCR1, CXCR2 и ГК в крови пациентов при НМКРЛ. Однако использование комбинации их определения в крови, согласно результатам настоящего исследования, позволило достичь более, чем 90% эффективности для оценки распространенности этого заболевания. Данные проведенного исследования позволяют предложить порядок измерения показателей в крови пациентов для оценки распространенности у них НМКРЛ. Прежде всего, у пациента при обследовании целесообразно определить MFI CXCR1 в гранулоцитах, долю лимфоцитов, имеющих CXCR2, уровень ГК и CYFRA 21-1 в сыворотке крови. Для каждого гистологического подтипа рассчитываются результивные переменные трех предложенных регрессионных уравнений. Зная пограничные значения для каждого из них, можно судить о наличии у пациента АК или ПКРЛ и распространенности опухолевого процесса.

Литература

1. The comparison between adenocarcinoma and squamous cell carcinoma in lung cancer patients / Bing-Yen Wang [et al] // J Cancer Res Clin Oncol. – 2020. – Vol. 146, №1. – P. 43 – 52.
2. Carcinoembryonic antigen, squamous cell carcinoma antigen, CYFRA 21-1 and NSE in squamous cell lung cancer patients / Kulpa J [et al] // Clin. Chem. – 2002. – Vol. 48, №.11. – P. 1931 – 1937.
3. Role of the CXCL8-CXCR1/2 Axis in Cancer and Inflammatory Diseases/ Ha H., Debnath B., Neamati N. // Theranostics. – 2017. – Vol. 7, №6. – P. 1543 – 1588.
4. MMP-2, TIMP-2 and CD44v6 expression in non-small-cell lung carcinomas / Bulent Eren [et al.] // Ann Acad Med Singap. – 2008. – Vol.37, №1. – p.32-39.
5. The expression of the CD44 variant exon 6 is associated with lymph node metastasis in non-small cell lung cancer / T Miyoshi [et al.] // Clin Cancer Res. – 1997. - Vol. 3, №8. – p. 1289-1297.