

А.А. Можаява

**ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ УРОВНЯ CD44V6 И
ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ
В ДИАГНОСТИКЕ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО**

Научный руководитель: канд. биол. наук, доц. Е.М. Барабанова

Кафедра биологической химии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

A.A. Mozhayeva

**PERSPECTIVES OF USAGE THE LEVEL OF CD44V6 AND HYALURONIC
ACID IN THE PERIPHERAL PATIENTS BLOOD
IN THE DIAGNOSIS OF NON-SMALL-CELL LUNG CANCER**

Tutor: associate professor E.M. Barabanova

Department of Biological Chemistry

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. В данной статье автор исследует сыворотки крови здоровых и больных НМКРЛ пациентов и путем определения уровня CD44v6 и гиалуроновой кислоты, в том числе изменения значений данных показателей в зависимости от наличия заболевания и его стадии, предлагает использовать данные показатели в диагностике немелкоклеточного рака легкого.

Ключевые слова: рецептор CD44v6, гиалуроновая кислота, рак легкого, диагностика.

Resume. In this article the author examines the blood serum of healthy people and patients with NSCLC and by determining the level of CD44v6 and hyaluronic acid, including changes in the values of these indicators depending on the presence of the disease and its stage, suggests using these indicators in the diagnosis of Non-small Cell Lung Cancer.

Keywords: CD44v6 receptor, hyaluronic acid, lung cancer, diagnostics.

Актуальность. Рак – одна из ведущих причин смерти в мире, от которой в 2020 г. умерло порядка 10 миллионов человек [1]. Наиболее частой формой рака легкого является немелкоклеточный рак легкого (далее – НМКРЛ), для которого характерен плохой прогноз, что обуславливается длительным отсутствием специфических проявлений и поздней диагностикой. Все это обуславливает необходимость поиска новых методов диагностики НМКРЛ.

Цель: изучить уровень CD44v6 и гиалуроновой кислоты в периферической крови пациентов с немелкоклеточным раком легкого (НМКРЛ) с целью оценки целесообразности использования данных показателей в диагностике рака данного типа.

Задачи:

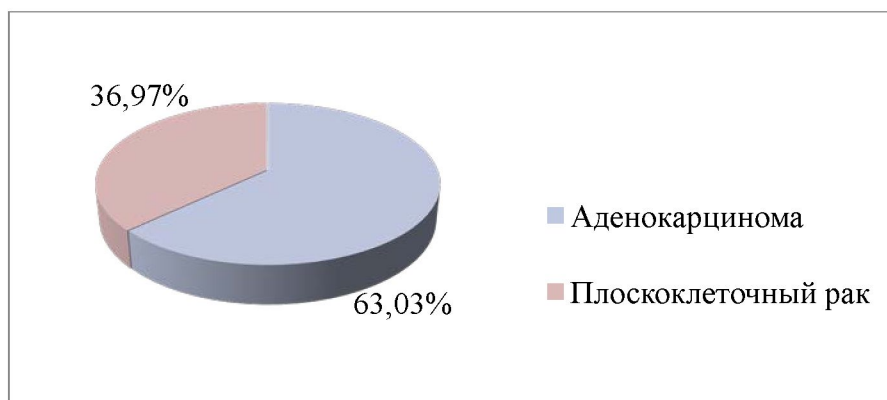
1. Осуществить дифференцировку пациентов с НМКРЛ в соответствии со стадиями, а также гистологическими подтипами данного заболевания.

2. Изучить плотность и количество рецепторов CD44v6 на лейкоцитах, а также концентрацию гиалуроновой кислоты (ГК) в плазме крови у здоровых пациентов и пациентов с НМКРЛ.

3. Сравнить уровень CD44v6 и ГК в крови у здоровых пациентов и пациентов с ранними и поздними стадиями НМКРЛ.

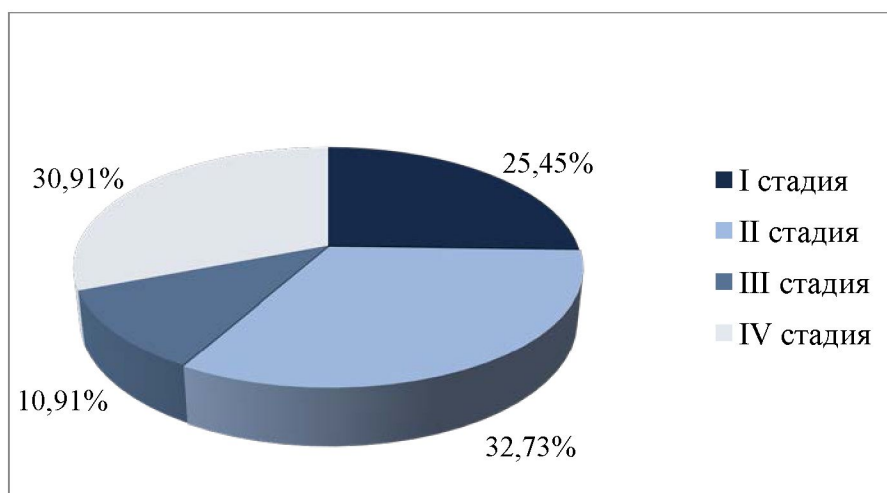
4. Оценить целесообразность использования данных показателей в качестве биомаркеров НМКРЛ.

Материал и методы. В ходе исследования была проанализирована кровь 195 пациентов, в том числе 30 здоровых (15,38%) и 165 больных НМКРЛ (84,62%). Из них 104 человека (63,03%) имело аденокарциному, а 61 (36,97%) – плоскоклеточный рак легкого (диаграмма 1).



Диагр. 1 – Распределение пациентов с НМКРЛ по гистологическим подтипам

Распределение пациентов с НМКРЛ по стадиям данного заболевания представлено на диаграмме 2.



Диагр. 2 – Распределение пациентов с НМКРЛ по стадиям

Концентрацию ГК в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа. Относительное количество клеток лейкоцитарного ряда, снабженных рецептором CD44v6, и плотность его расположения в них (MFI) измеряли методом проточной цитометрии.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы IBM SPSS Statistics 23,0. Проверку нормальности распределения количественных показателей выполняли с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Количественные данные представлены в виде Me[Q1;Q3], где Me – медиана, [Q1;Q3] – интерквартильный разброс (Q1 – 25 %, Q3 – 75 % квартиль). С

целью выявления различий в группах использовался непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В настоящее время не существует информативных и специфичных биомаркеров, позволяющих диагностировать НМКРЛ и дифференцировать данное заболевание по стадиям. В литературе имеются данные об увеличении таких онкомаркеров при НМКРЛ, как СЕА, СУFRA21-1, NSE и др. Вместе с тем, данные маркеры по отдельности не обладают достаточной чувствительностью и специфичностью для использования их в диагностике НМКРЛ. Существуют данные о возможности использования 33 различных белковых биомаркеров в диагностике ранних стадий НМКРЛ. Однако отсутствуют данные об информативности данного теста на более поздних стадиях данного заболевания, а также возможности использования его для определения стадии НМКРЛ [2].

Рост уровня биомолекул в опухолевой ткани закономерно сопровождается выходом их из опухолевых клеток в кровь. Нельзя отвергнуть и продукцию CD44v6 и ГК клетками крови, которая может претерпевать изменения в условиях формирования и развития опухоли.

В ходе анализа полученных результатов не было обнаружено корреляции между количеством лимфоцитов, снабженных рецептором CD44v6, а также плотностью расположения данного рецептора на моноцитах и наличием заболевания. При сравнении уровня CD44v6 и ГК в крови у здоровых пациентов и пациентов с НМКРЛ было выявлено, что доля гранулоцитов и моноцитов, снабженных рецептором CD44v6, значительно возрастает у пациентов с НМКРЛ в сравнении с контрольной группой; интенсивность флюоресценции комплексов антитело/рецептор (MFI), характеризующая интенсивность экспрессии рецептора CD44v6, имело статистическую значимость только у гранулоцитов (таблица 1).

Табл. 1. Уровень CD44v6 и ГК в крови у здоровых пациентов и пациентов с НМКРЛ

Показатель	Здоровые (n=30)	Больные (n=165)	
CD44v6, гранулоциты, %	3,25 [1,25;4,05]	5 [2,1;7,2]	p=0,006
CD44v6, гранулоциты,	1,65 [1,5;2,6]	2,5 [2;2,7]	p=0,001
CD44v6, лимфоциты, %	1 [0,4;1,825]	1,2 [0,7;1,6]	p=0,363
CD44v6, лимфоциты,	2,6[2,475;2,825]	3,2 [2;4,5]	p=0,078
CD44v6, моноциты, %	2 [1,6;2,325]	3,7 [1,4;8,4]	p=0,013
CD44v6, моноциты, MFI	5,45 [4,875;5,825]	5,8 [3;8,8]	p=0,854
ГК, нг\мл	8,4 [7,2;16,85]	27,52 [23,76;32,2]	p=0,0001

На ранних стадиях НМКРЛ наблюдается постепенное увеличение количества гранулоцитов и моноцитов, снабженных рецептором CD44v6, а также его плотности у гранулоцитов по сравнению с контрольной группой (таблица 2).

Табл. 2. Уровень CD44v6 и ГК в крови у здоровых пациентов и пациентов с ранними стадиями НМКРЛ

Показатель	Здоровые (n=30)	I и II стадия (n=96)	
гранулоциты, %	3,25 [1,25;4,05]	7,9 [2,5;5,5]	p=0,012
гранулоциты, MFI	1,65 [1,5;2,6]	2,7 [2,35;3,4]	p=0,0001
лимфоциты, %	1 [0,4;1,825]	1,3 [0,6;1,5]	p=0,292
лимфоциты, MFI	2,6[2,475;2,825]	3,4 [2,375;4,5]	p=0,036
CD44v6, моноциты,	2 [1,6;2,325]	3,6 [1,4;5,375]	p=0,021
моноциты, MFI	5,45 [4,875;5,825]	7,2 [4,175;9,5]	p=0,344
ГК, нг\мл	8,4 [7,2;16,85]	24,38 [20,38;28,74]	p=0,0001

На III и IV стадиях у пациентов с НМКРЛ по сравнению с контрольной группой отмечается рост таких показателей, как доля гранулоцитов и моноцитов, снабженных рецептором CD44v6, а также уровня экспрессии данного рецептора у гранулоцитов (таблица 3).

Табл. 3. Уровень CD44v6 и ГК в крови у здоровых пациентов и пациентов с поздними стадиями НМКРЛ

Показатель	Здоровые (n=30)	III и IV стадия (n=69)	
CD44v6, гранулоциты, %	3,25 [1,25;4,05]	5,1 [1,8;7,2]	p=0,009
гранулоциты, MFI	1,65 [1,5;2,6]	2,1 [1,9;2,5]	p=0,014
CD44v6, лимфоциты,	1 [0,4;1,825]	0,8 [0,7;2,4]	p=0,515
CD44v6, лимфоциты,	2,6[2,475;2,825]	3 [1,9;4,6]	p=0,226
CD44v6, моноциты,	2 [1,6;2,325]	5,2 [1,3;9,4]	p=0,020
CD44v6, моноциты,	5,45 [4,875;5,825]	4 [2,7;7,9]	p=0,553
ГК, нг\мл	8,4 [7,2;16,85]	31,78 [29,08;36,25]	p=0,0001

На поздних стадиях НМКРЛ отмечался рост интенсивности флюоресценции комплексов антитело/рецептор (MFI) у гранулоцитов и моноцитов в сравнении с I и II стадиями (таблица 4).

Табл. 4. Уровень CD44v6 и ГК в крови у пациентов с ранними и поздними стадиями НМКРЛ

Показатель	I и II стадия (n=96)	III и IV стадия (n=69)	
CD44v6, гранулоциты, %			p
CD44v6, гранулоциты, MFI			p=0,0001
CD44v6, лимфоциты, %		,	p=0,932
CD44v6, лимфоциты, MFI	,	3	p=0,373
CD44v6, моноциты, %	1	,	p=0,160
CD44v6, моноциты, MFI	,	,	p=0,010
ГК, нг\мл	,	,	p=0,0001

Следует также отметить отсутствие корреляции между количеством лейкоцитов, снабженных рецептором CD44v6 и стадией заболевания, а также постепенный рост уровня концентрации ГК в плазме крови у пациентов на всех стадиях НМКРЛ (данный показатель имел наибольшую статистическую значимость во всех группах сравнения).

Выводы:

1. По данным литературы для диагностики ранних стадий НМКРЛ можно использовать 33 различных белковых биомаркера (наиболее информативными из которых являются СЕА, CYFRA21-1, NSE и др.), однако не имеется данных об информативности данного теста на более поздних стадиях данного заболевания, а также возможности использования его для определения стадии НМКРЛ.

2. В соответствии с данными, полученными в ходе исследования, можно утверждать, что для диагностики НМКРЛ можно использовать такие показатели, как количество гранулоцитов и моноцитов, снабженных рецептором CD44v6, а также MFI для гранулоцитов.

3. На ранних и поздних стадиях НМКРЛ различий в количестве лейкоцитов, имеющих рецептор CD44v6, выявлено не было, однако показатель плотности данных рецепторов у гранулоцитов и моноцитов был значительно выше у пациентов с III и IV стадиями данного заболевания по сравнению с ранними, что подтверждает целесообразность использования данных показателей в качестве маркеров для ранжирования данного процесса по стадиям.

4. Наибольшую статистическую значимость в ходе исследования имел показатель содержания ГК в сыворотке крови ($p < 0,001$), что означает наибольшую чувствительность данного показателя и целесообразность использования его не только для выявления заболевания, но и для определения стадии заболевания.

Литература

1. Cancer [Электронный ресурс] // World Health Organization. – Режим доступа: [//www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer](http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer). (дата обращения: 09.05.22).
2. Diagnosis of Non-small Cell Lung Cancer for Early Stage Asymptomatic Patients [Электронный ресурс] // National Center for Biotechnology information. – Режим доступа: [//www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6609262/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6609262/). (дата обращения: 09.05.22).