

ДИНАМИКА УРОВНЯ РЕЦЕПТОРА CD44v6 ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РЕЦИДИВА ЗАБОЛЕВАНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО

Ковганко Н.Н., Таганович А.Д., Галуза А.А.

Ковганко Н.Н.

*Кандидат химических наук, доцент, заведующий кафедрой общей химии
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
KauhanKaMM@bsmu.by*

Таганович А.Д.

*Доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой биологической химии УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
ataganovich@gmail.com*

Галуза А.А.

*Студент педиатрического факультета
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь
artemgaluza3@gmail.com*

В работе изучена возможность использования изменений уровня рецептора CD44v6 в клетках периферической крови для раннего выявления послеоперационного рецидива у больных плоскоклеточным раком лёгкого I-II стадии. В исследование включено 32 пациента. Концентрацию CD44v6 определяли до лечения, а также через 3 недели, 3 и 6 месяцев после хирургического вмешательства. Установлено, что при возникновении рецидива уровень CD44v6 на моноцитах в течение первых полугодия постепенно нарастал, тогда как у пациентов без возврата заболевания данный показатель снижался до нормальных значений. Диагностическая точность метода варьирует от 70 до 83 % в зависимости от сроков забора крови. Приведены данные о распределении больных по стадиям, степени дифференцировки опухоли, локализации, а также результаты ROC-анализа.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак лёгкого; рецидив заболевания; биомаркер; CD44v6; кровь; моноциты; ROC-анализ

DYNAMICS OF CD44v6 RECEPTOR LEVELS FOR PREDICTING DISEASE RECURRENCE IN PATIENTS WITH SQUAMOUS CELL LUNG CANCER

Kauhanka M.M.

PhD (Chemistry), Associate Professor, Head of the Department of General Chemistry, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

KauhankaMM@bsmu.by

Tahanovich A.D.

Doctor of Medical Sciences, Professor, Department of Biological Chemistry, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

ataganovich@gmail.com

Galuzza A.A.

student, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

artemgaluzza3@gmail.com

This study investigated whether changes in the CD44v6 receptor level in peripheral blood cells could predict postoperative relapse in patients with stage I–II squamous cell lung carcinoma. A total of 32 individuals were enrolled. CD44v6 concentrations were measured before treatment, as well as at 3 weeks, 3 months and 6 months after surgery. It was found that in relapsing patients, monocytic CD44v6 expression gradually increased during the first six months, whereas in recurrence-free patients this parameter declined to normal values. The diagnostic accuracy of the method ranged from 70 % to 83 % depending on the timing of blood sampling. Data on patient distribution by stage, tumor differentiation grade, localization and ROC analysis results are presented.

Key words: *squamous cell lung cancer; disease recurrence; biomarker; CD44v6; blood; monocytes; ROC-analysis*

По оценкам Всемирной организации здравоохранения, рак лёгкого остаётся одной из основных причин смертности от злокачественных новообразований во всём мире [1]. Примерно 85 % всех случаев приходится на немелкоклеточный рак лёгкого (НМРЛ), среди которых плоскоклеточная гистологическая форма регистрируется почти у 40 % больных. Даже при успешном радикальном удалении опухоли на ранних стадиях сохраняется вероятность возврата заболевания: при I стадии частота рецидивов в течение первого года после операции может достигать 20 %.

Рецептор CD44v6 представляет собой трансмембранный гликопротеин, который участвует в межклеточных взаимодействиях, связывании с внеклеточным матриксом и передаче сигналов факторов роста [2,3]. Усиление экспрессии CD44v6 в опухолевой ткани ассоциировано с прогрессированием заболевания, метастазированием и снижением общей выживаемости. При НМРЛ высокий уровень данного маркера связывают с устойчивостью к химиотерапии и неблагоприятным течением [4]. Однако данные о характере экспрессии CD44v6 при различных формах рака лёгкого противоречивы, а большинство работ выполнено на

тканевом материале [5]. Сведения о динамике этого рецептора в клетках периферической крови после хирургического лечения практически отсутствуют. В связи с этим актуальной задачей является поиск надёжных способов раннего выявления возврата заболевания с использованием минимально инвазивных методов.

Материалы и методы исследования. В проспективное исследование включено 32 пациента (21 мужчина и 11 женщин) с впервые установленным диагнозом плоскоклеточного рака лёгкого I–II стадии, которые проходили лечение в РНПЦ онкологии и медицинской радиации имени Н.Н. Александрова (п. Лесной). Все участники подписали информированное согласие. Данные о возникновении рецидива получали из базы данных Канцер-регистра Республики Беларусь. Средний возраст больных составил $58 \pm 20,5$ года. На I стадии заболевания находилось 11 человек (34,4 %), на II стадии — 21 пациент (65,6 %). По распространённости первичной опухоли распределение выглядело следующим образом: стадия T1 выявлена у 7 пациентов (23,4 %), T2a — у 12 (34,8 %), T2b — у 10 (28,8 %), T3 — у 3 (9,4 %). Регионарные лимфатические узлы не были поражены (N0) у 11 пациентов (34,4 %), тогда как поражение N1 отмечено у 21 больного (65,6 %). Оценка степени дифференцировки опухоли показала, что высокодифференцированные (G1) опухоли встречались у 3 пациентов (9,4 %), умеренно дифференцированные (G2) — у 19 (59,4 %), низкодифференцированные (G3) — у 9 (28,1 %). По локализации: рак правого лёгкого диагностирован у 11 человек (34,4 %), левого лёгкого — у 21 (65,6 %).

Измерение уровня рецептора CD44v6 в клетках крови проводили в четыре временных точки: до начала лечения, через 3 недели после операции, через 3 месяца и через 6 месяцев после хирургического вмешательства. Использовали проточный цитофлуориметр Perlong 2060 (КНР). Кровь объёмом 100 мкл обрабатывали смесью моноклональных антител CD45-APC и CD44v6-FITC (по 5 мкл), инкубировали 15 минут в темноте, после чего добавляли лизирующий раствор для удаления эритроцитов.

Статистическую обработку результатов выполняли с помощью пакета программ «MedCalc» (Бельгия). Применяли ROC-анализ с вычислением площади под ROC-кривой (AUC) и определением пороговых значений. Различия считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

Результаты исследования. У обследованных больных плоскоклеточным раком лёгкого уровень CD44v6 на лимфоцитах и гранулоцитах не претерпевал существенных изменений в зависимости от времени наблюдения или исхода лечения. Динамика, связанная с развитием рецидива, выявлена исключительно на моноцитах.

У пациентов, у которых впоследствии был зарегистрирован возврат заболевания, после кратковременного снижения уровня CD44v6 в раннем послеоперационном периоде отмечался постепенный рост этого показателя. В противоположность этому, у пациентов без рецидива уровень CD44v6 на моноцитах снижался и в дальнейшем оставался ниже порогового значения 2,2 %.

Для количественной оценки изменений была рассчитана разница процентного содержания CD44v6-положительных моноцитов между соседними временными интервалами: от 3 недель до 3 месяцев, от 3 месяцев до 6 месяцев, а также суммарно от 3 недель до 6 месяцев (таблица 1).

Таблица 1

Разность послеоперационных уровней процентного содержания CD44v6 в моноцитах крови у пациентов с рецидивом опухоли

Временной интервал	3 недели – 3 месяца	3 месяца – 6 месяцев	3 недели – 6 месяцев
Разница, %	0,40 [0,37; 0,51]	0,60 [0,55; 0,65] ¹	1,08 [0,98; 1,15] ^{1,2}

Примечание: ¹достоверные отличия между показателями через 3 недели и через 3 месяца; ²достоверные отличия между показателями через 3 недели и через 6 месяцев.

Далее был выполнен ROC-анализ для оценки диагностической ценности вычисленных разностей. Полученные параметры (пороговое значение, чувствительность, специфичность и общая эффективность) приведены в таблице 2.

Таблица 2

Диагностическая информативность определения разницы уровня процентного содержания CD44v6 в моноцитах для прогнозирования послеоперационного рецидива при плоскоклеточном раке лёгкого

Период взятия крови	Пороговое значение	Чувствительность (%)	Специфичность (%)	Эффективность (%)
3 недели – 3 месяца	0,38	58,3	73,3	70,2
3 месяца – 6 месяцев	0,58	66,7	75,6	73,7
3 недели – 6 месяцев	1,01	75,0	84,4	82,5

Максимальная диагностическая эффективность (82,5 %) достигнута при сопоставлении результатов, полученных через 3 недели и через 6 месяцев после операции.

Обсуждение. В настоящей работе впервые для плоскоклеточного рака лёгкого показано, что отслеживание динамики CD44v6 именно на моноцитах крови, а не на лимфоцитах или гранулоцитах, имеет прогностическое значение. Моноциты являются ключевыми эффекторами врождённого иммунитета и активно мигрируют в опухолевое микроокружение, где могут приобретать ассоциированный с опухолью фенотип. Повышение экспрессии CD44v6 на поверхности этих клеток при развитии рецидива может отражать системный воспалительный и проонкогенный ответ.

Полученные данные согласуются с литературными сведениями о том, что в лейкоцитах периферической крови CD44v6 наиболее активно экспрессируется на CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитах, моноцитах и гранулоцитах. Однако, в отличие от моноцитов, два последних типа клеток не показали значимой динамики в нашем исследовании. Это может быть связано с различной скоростью обновления популяций или разной чувствительностью к сигналам, исходящим от остаточной опухоли.

Клинически значимым результатом является то, что уже через 3 месяца после лечения (когда доступны результаты анализов через 3 недели и 3 месяца) эффективность предсказания рецидива достигает 70 %, что превышает сроки первого планового врачебного осмотра, обычно проводимого через 6 месяцев. Таким образом, предлагаемый метод может позволить начать более раннее инструментальное обследование или адаптировать тактику ведения пациента при выявлении неблагоприятной динамики.

Заключение. Совокупность полученных результатов позволяет сделать следующие выводы:

1. Уровень процентного содержания CD44v6 в моноцитах периферической крови может служить дополнительным лабораторным критерием для выявления послеоперационного рецидива у пациентов с плоскоклеточным раком лёгкого I–II стадии.

2. Диагностическая эффективность данного метода в зависимости от сроков исследования варьирует от 70 до 83 %, что является приемлемым для клинического использования на этапе раннего наблюдения.

Список литературы

1. Travis, W.D. Diagnosis of lung cancer in small biopsies and cytology: implications of the 2015 World Health Organization classification / W.D. Travis, E. Brambilla, A.G. Nicholson // *Eur. Respir. Rev.* – 2016. – Vol. 25, № 140. – P. 130–141.
2. CD44v6: a potential marker of aggressive behavior in non-small cell lung cancer / M. Tolnay [et al.] // *Virchows Arch.* – 1998. – Vol. 432, № 5. – P. 443–447.
3. Ponassi, M. Expression of CD44 standard and variant isoforms in non-small cell lung carcinomas / M. Ponassi, L. Zardi, A. Poggi // *Eur. J. Cancer.* – 1999. – Vol. 35, № 7. – P. 1108–1113.
4. Рецептор CD44v6 как маркер прогрессирования плоскоклеточного рака легкого / Д.В. Козловский [и др.] // *Онкологический журнал.* – 2021. – Т. 45, № 3. – С. 210–217.
5. Flow cytometric analysis of CD44 expression in peripheral blood of patients with lung cancer / S. H. Lee [et al.] // *Korean J. Intern. Med.* – 2005. – Vol. 20, № 4. – P. 305–310.