

## ГЕМАТОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022

Мурашко Д.И.<sup>1</sup>, Таганович А.Д.<sup>1</sup>, Ковганко Н.Н.<sup>1</sup>, Готько О.В.<sup>2</sup>, Прохорова В.И.<sup>2</sup>

### К ВОПРОСУ О ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЯ РЕЦЕПТОРОВ КЛЕТОК КРОВИ И ИХ ЛИГАНДОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ЛЕГКОГО

<sup>1</sup>УО Белорусский государственный медицинский университет Минздрава Республики Беларусь, 220116, г. Минск, Беларусь;

<sup>2</sup>ГУ Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова Минздрава Республики Беларусь, 223040, Минская область, Беларусь

*Немелкоклеточный рак легкого (НМКРЛ) занимает первое место в структуре смертности вследствие онкологических заболеваний. Поздняя диагностика ухудшает эффективность его лечения. Не существует информативных биомаркеров, позволяющих судить о распространенности опухолевого процесса, особенно на ранних стадиях НМКРЛ. Цель – определить уровень CXCL5, CXCL8, CXCR1 и CXCR2 в периферической крови пациентов с НМКРЛ для оценки возможности их использования в диагностике заболевания. Материалом служила кровь 218 пациентов с НМКРЛ, 19 пациентов с гамартомой легкого и 42 здоровых людей. Концентрацию CXCL5, CXCL8, SCC в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа, уровень CYFRA 21-1 – методом иммунохемилюминесцентного анализа. Долю лейкоцитов, снабженных рецепторами CXCR1 и CXCR2, и интенсивность флуоресценции в них комплексов рецепторов с антителами (MFI), измеряли методом проточной цитометрии. MFI CXCR1 в гранулоцитах и доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, возрастали в крови уже при I стадии НМКРЛ и демонстрировали еще более существенный рост на последующих стадиях. Уровень этих показателей был коррелятивно связан со стадиями и характеристиками НМКРЛ. Измерение уровня MFI CXCR1 в сыворотке крови позволяет диагностировать ранние стадии НМКРЛ с чувствительностью 87,4% (специфичность – 73,8%). Определение доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, демонстрирует сопоставимую диагностическую чувствительность (87,2%) и специфичность 66,7% при выявлении I-II стадий НМКРЛ. MFI CXCR1 в гранулоцитах также может использоваться для дифференцирования I и II стадий НМКРЛ (диагностическая чувствительность – 75,3%, специфичность – 69,6%). Чувствительность определения с этой целью доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, составляет 75,0% при специфичности 71,7%. У 89,7% пациентов с III-IV стадиями НМКРЛ MFI CXCR1 в гранулоцитах превышает пороговое значение 47,8 (специфичность – 74,8%). Диагностическая чувствительность определения с этой целью доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, составила 90,7%.*

**Ключевые слова:** немелкоклеточный рак легкого; кровь; CXCL5; CXCL8; CXCR1; CXCR2.

**Для цитирования:** Мурашко Д.И., Таганович А.Д., Ковганко Н.Н., Готько О.В., Прохорова В.И. К вопросу о диагностической ценности определения уровня рецепторов клеток крови и их лигандов в сыворотке крови при немелкоклеточном раке легкого. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2022; 67 (5): 277-285. DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-5-277-285>

**Для корреспонденции:** Мурашко Дарья Игоревна, ассистент каф. биологической химии; e-mail: [dashamurashka@mail.ru](mailto:dashamurashka@mail.ru)

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 01.03.2022

Принята к печати 30.03.2022

Опубликовано 21.05.2022

*Murashka D.I.<sup>1</sup>, Tahanovich A.D.<sup>1</sup>, Kauhanka M.M.<sup>1</sup>, Prokhorova V.I.<sup>2</sup>, Gotko O.V.<sup>2</sup>*

ON THE ISSUE OF DIAGNOSTIC VALUE OF DETERMINING THE LEVEL OF RECEPTORS AND THEIR LIGANDS IN BLOOD IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER

<sup>1</sup>Belarusian stage medical university, Belarusian Ministry of Health, 220116, Minsk, Belarus;

<sup>2</sup>N. N. Alexandrov Republican Scientific- Practical Centre of Oncology and Medical Radiology, Belarusian Ministry of Health, 223040, Lyasnoy, Minsk region, Belarus

*Non-small cell lung cancer (NSCLC) occupies the first place in the structure of mortality due to oncological diseases. Late diagnosis worsens the effectiveness of its treatment. There are no informative biomarkers that allow us to judge the prevalence of the tumor process, especially in the early stages of NSCLC. To determine the level of CXCL5, CXCL8, CXCR1 and CXCR2 in the peripheral blood of patients with NSCLC to assess the possibility of their use in the diagnosis of the disease. The material was the blood of 218 patients with NSCLC, 19 patients with lung hamartoma and 42 healthy people. The concentration of CXCL5, CXCL8, and SCC in blood serum was determined by enzyme immunoassay, the CYFRA 21-1 level was determined by immunochemiluminescence analysis. The proportion of leukocytes equipped with CXCR1 and CXCR2 receptors and the fluorescence intensity of receptor complexes with antibodies (MFI) in them were measured by flow cytometry. MFI CXCR1 in granulocytes and the proportion of lymphocytes supplied CXCR2, increased in the blood already at stage I of NSCLC and showed an even more significant increase in subsequent stages. The level of these indicators was correlatively related to the stages and characteristics of NSCLC. Measuring the level of MFI CXCR1 in the blood serum makes it possible to diagnose the early stages of NSCLC with a sensitivity of 87.4%*

(specificity – 73.8%). Determination of the proportion of lymphocytes equipped with CXCR2 demonstrates comparable diagnostic sensitivity (87.2%) and specificity of 66.7% in the detection of stages I-II of NSCLC. MFI CXCR1 in granulocytes can also be used to differentiate stages I and II of NSCLC (diagnostic sensitivity – 75.3%, specificity – 69.6%). The sensitivity of determining for this purpose the proportion of lymphocytes equipped with CXCR2 is 75.0% with a specificity of 71.7%. In 89.7% of patients with stages III-IV NSCLC, the MFI CXCR1 in granulocytes exceeds the threshold value of 47.8 (specificity – 74.8%). Diagnostic sensitivity of determining the proportion of lymphocytes for this purpose was 90.7%.

**Key words:** non-small cell lung cancer; blood; CXCL5; CXCL8; CXCR1; CXCR2.

**For citation:** Murashka D.I., Tahanovich A.D., Kauhanka M.M., Prokhorova V.I., Gotko O.V. On the issue of diagnostic value of determining the level of receptors and their ligands in blood in non-small cell lung cancer. *Klinicheskaya laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2022; 67 (5): 277-285 (in Russ.). DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-5-277-285>

**For correspondence:** Murashka D.I., assistant of the department of biological chemistry; e-mail: dashamurashka@mail.ru

**Information about authors:**

Murashka D.I., <https://orcid.org/0000-0002-1890-6252>;  
Tahanovich A.D., <https://orcid.org/0000-0002-0668-2888>;  
Kauhanka M.M., <https://orcid.org/0000-0002-3193-5955>;  
Prokhorova V.I., <https://orcid.org/0000-0002-6078-4447>;  
Gotko O.V., <https://orcid.org/0000-0001-8083-0861>.

**Conflict of interests.** The authors declare absence of conflict of interests.

**Acknowledgment.** The study had no sponsor support.

Received 01.03.2022  
Accepted 30.03.2022  
Published 21.05.2022

**Введение.** Рак легкого – одно из наиболее распространенных в мире злокачественных новообразований, на долю которого ежегодно приходится не менее 18% смертности вследствие онкологических заболеваний [1]. Гистологически рак легкого подразделяется на мелкоклеточную (15%) и немелкоклеточную (85%) формы. Немелкоклеточный рак (НМКРЛ) характеризуется менее агрессивным, но зачастую бессимптомным течением. По этой причине ранняя диагностика этого заболевания чрезвычайно затруднена. Лишь 25% случаев НМКРЛ диагностируется на ранних (I-II) его стадиях [2].

Поздняя диагностика существенно ухудшает прогноз течения и эффективность лечения НМКРЛ. Если при I стадии заболевания пятилетняя выживаемость пациентов составляет 73%, то уже при II стадии она снижается более чем в два раза. На IV стадии НМКРЛ выживаемость пациентов более, чем в пять раз ниже, чем при I стадии (13%) [3, 4]. Столь существенные различия обусловлены характеристиками опухоли: ее размером, наличием метастазов в регионарные лимфоузлы и внутренние органы. Немаловажное значение имеет степень дифференцировки клеток опухоли (Grade), которая отражает степень ее агрессивности [4].

Используемые в настоящее время способы диагностики НМКРЛ не всегда позволяют выявить опухолевый процесс на ранних стадиях заболевания. В связи с этим, наряду с применением общепринятых методов диагностики (компьютерная томография и гистологическое исследование биопсийного материала) активно ведется поиск биомаркеров этого заболевания, в том числе, в крови пациентов. Это в частности, изучаются перспективные определения в сыворотке крови уровня опухолеассоциированных антигенов (CYFRA 21-1, SCC, NSE, CEA и пр.) [5]. Однако данные литературы относительно диагностической эффективности определения их концентрации в крови при НМКРЛ противоречивы. Показатели диагностической чувствительности измерения уровня фрагмента цитокератина 19 (CYFRA 21-1) в сыворотке крови пациентов с этим заболеванием варьируют от 40% до 72% [5–7].

Одной из важнейших составляющих онкогенеза является опухолеассоциированное воспаление. Цитокины и хемокины, будучи неперенными участниками воспалительной реакции, интенсивно экспрессируются клетками растущей опухоли и принимают участие в пролиферации, ангиогенезе и метастазировании.

Основной функцией провоспалительного хемокина CXCL5 является хемотаксис нейтрофилов, в том числе, в зоне онкогенеза. Вместе с тем, взаимодействуя с хемокиновым рецептором CXCR2, он запускает сигнальные пути, приводящие к активации внутриклеточных протеинкиназ и усилению пролиферации опухолевых клеток [8, 9].

Еще один провоспалительный хемокин CXCL8 обладает ангиогенной активностью. Подобно CXCL5, он способен связываться с мембранным рецептором CXCR2. Наряду с этим, он также обладает сродством к более специфичному рецептору – CXCR1. Конечными эффектами оси CXCL8/CXCR1/2 является активация транскрипции гена сосудистого фактора роста (VEGF), усиление пролиферации эндотелиоцитов и опухолевых клеток и поддержание воспалительной реакции в зоне онкогенеза [10].

Данные различных исследователей свидетельствуют о взаимосвязи уровня хемокинов CXCL5 и CXCL8 и их рецепторов CXCR1 и CXCR2 в опухолевой ткани с характеристиками опухоли, стадиями и прогнозом течения различных злокачественных новообразований, в том числе, НМКРЛ [11–17]. Ранее нами был отмечен существенный рост уровня этих соединений и в периферической крови пациентов с этим заболеванием, ассоциация их со стадиями опухолевого процесса, размером и метастазированием опухоли. Однако в этих исследованиях в силу ограниченного количества пациентов не проводилось анализа концентрации CXCL5, CXCL8, CXCR1 и CXCR2 в крови пациентов отдельно, с I и со II стадиями НМКРЛ [18]. В связи с этим, целью настоящего исследования явилась оценка возможности использования компонентов сигнальных систем CXCL8/CXCR1/2, CXCL5/CXCR2 в периферической крови пациентов с НМКРЛ для ранней диагностики этого заболевания.

**Материал и методы.** Для проведения исследования типа «случай-контроль» обследованы 218 пациентов с НМКРЛ (65 женщин и 153 мужчины) при поступлении в стационар РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова в период 2019-2021 гг. У 52 из них была диагностирована I стадия заболевания, 73 имели II стадию, 93 – III-IV стадии. У 160 пациентов размер первичной опухоли не превышал 5 см (T1-2), 58 имели опухоль размером более 5 см (T3-4). 86 пациентов имели метастазы НМКРЛ в регионарные лимфатические узлы, у 24 обнаружены отдаленные метастазы (M1). Высокодифференцированная опухоль (Grade 1) наблюдалась у 53, средненидифференцированная (Grade 2) – у 90 и низкодифференцированная (Grade 3) – у 39 пациентов. Критериями исключения из исследования являлись сопутствующие заболевания органов дыхания, онкологические заболевания в анамнезе, метастатические поражения легких. В качестве группы контроля обследованы 42 человека без проявлений заболевания в возрасте 43 – 67 лет. Дополнительная группа сравнения включала 19 пациентов с гамартомой – доброкачественной опухолью легкого.

Кровь из локтевой вены пациентов и здоровых людей забирали натощак в вакутайнер с ЭДТА-К2 (Improvacuter, КНР). Для получения сыворотки кровь вносили в пробирку с тромбином и разделительным гелем (Improvacuter, КНР).

Определение концентрации CYFRA 21-1 в сыворотке крови проводили методом иммунохемилюминесцентного анализа (ИХЛИА) с помощью наборов реагентов на ИХЛИА-анализаторе Cobas e411 (Roche Diagnostics, США).

Для измерения уровня CXCL5, CXCL8 и SCC в сыворотке крови пациентов и здоровых людей использовали ИФА-наборы Fine Test (КНР), автоматический ИФА-анализатор Brio (Seac, Италия) и планшетный фотометр Sirio (Seac, Италия). Измерение оптической плотности стандартных разведений и образцов проводили при длине волны 450 нм и референсной длине волны 620 нм.

Относительное количество клеток крови, снабженных рецепторами CXCR1 и CXCR2, и интенсивность флуоресценции комплексов антитело-рецептор (MFI), пропорциональную плотности расположения рецепторов в клетках, определяли методом проточной цитометрии с использованием цитофлуориметра Navios (Beckman Coulter, США). В пробирку помещали 100 мкл крови, стабилизированной ЭДТА-К2, и 10 мкл соответствующих антител, содержащих флуоресцентные метки: CXCR1 – PE/Cy5 (BioLegend, США), CXCR2-PE (BioLegend, США), CD45 – Pacific Orange (Exbio, Чехия). Через 15 мин инкубации в темноте к смеси добавляли 1 мл лизирующего раствора VersaLyse (Beckman Coulter, Франция). Фиксацию антител на поверхности клеток проводили с помощью фиксирующего раствора IQTest 3 (Beckman Coulter, Франция).

Анализ популяций лейкоцитов проводили с помощью программного обеспечения Kaluza Analysis 2.1 (Beckman Coulter, США). Общая популяция лейкоцитов определялась в соответствии с наличием у клеток цельной крови панлейкоцитарного рецептора CD45. На основании показателей интенсивности малоуглового (FS, Forward Scatter) и бокового (SS, Side Scatter) светорассеяния из общей массы клеток лейкоцитарного ряда выделялись популяции лимфоцитов, моноцитов и гранулоцитов. В каждой из популяций лейкоцитов определяли

долю клеток, содержащих рецепторы CXCR1 и CXCR2 и интенсивность флуоресценции комплекса антитело/рецептор, пропорциональную плотности расположения рецепторов в клеточных мембранах. Для этого осуществляли анализ графиков зависимости интенсивности бокового рассеяния клеток соответствующей популяции от интенсивности флуоресценции в каналах с флуоресцентными метками (рис. 1).

Поскольку значения показателей не подчинялись нормальному распределению на основании критерия Колмогорова-Смирнова, анализ проводили методами непараметрической статистики с использованием программного пакета IBM SPSS Statistics 23 (IBM, США). Рассчитывались медиана и интерквартильный размах (25% – 75%). Для оценки различий уровня определяемых показателей в нескольких независимых группах применяли Н-критерий Краскелла-Уоллиса. Критическое значение уровня значимости критерия принимали равным 5% ( $p < 0,05$ ). При наличии статистически значимых различий осуществляли сравнения уровня показателей в анализируемых группах с применением U-критерия Манна-Уитни. В соответствии с поправкой Бонферрони на множественные сравнения, критический уровень его значимости рассчитывали по общепринятой формуле [19].

О характере и силе взаимосвязи между уровнем показателей и степенью распространенности опухолевого процесса судили на основании расчета коэффициента корреляции Спирмена (R). Оценку диагностической информативности показателей биохимических тестов проводили с помощью характеристических кривых (ROC-анализ). В последующем вычисляли площадь под ROC-кривой (AUC, англ. Area Under Curve), на основании которой оценивали надежность определяемого показателя как потенциального биомаркера.

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

**Результаты.** Уровень CXCL8 в крови пациентов с I стадией НМКРЛ не отличается от такового у здоровых людей. На II, III и IV стадиях заболевания он существенно возрастает по сравнению с группой здоровых людей и пациентами с гамартомой легкого. Вместе с тем, концентрация в крови CXCL5 у пациентов с ранними и поздними стадиями НМКРЛ не отличается от таковой в контрольных группах.

Доля гранулоцитов, снабженных рецептором CXCR1, не демонстрирует существенных различий у здоровых людей, пациентов с гамартомой и пациентов с I стадией НМКРЛ. Однако у пациентов со II, III и IV стадиями НМКРЛ она значительно выше, чем в группе контроля. Наряду с этим, относительное количество гранулоцитов, снабженных CXCR2, у пациентов с НМКРЛ не отличается от значений этого показателя в контрольных группах.

Плотность расположения CXCR1 в гранулоцитах пациентов в 1,5 раза выше, чем у здоровых людей и пациентов с гамартомой, уже на I стадии заболевания и демонстрирует дальнейший существенный рост на последующих стадиях. Максимальный уровень MFI CXCR1

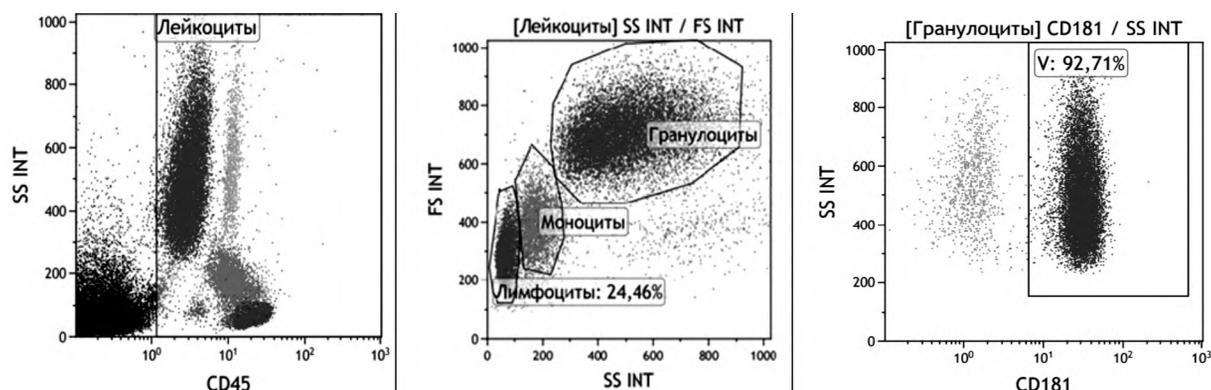


Рис. 1. Демонстрация определения гранулоцитов, содержащих рецептор CXCR1, с помощью программного обеспечения Kaluza Analysis 2.1.

в гранулоцитах (в 3 раза выше, чем в группе контроля) отмечается у пациентов с III-IV стадиями НМКРЛ. Значительно менее существенным изменениям подвергается MFI CXCR2 в гранулоцитах. Уровень этого показателя не отличается в крови здоровых людей и пациентов с ранними и поздними стадиями НМКРЛ. Значительных различий доли моноцитов, содержащих CXCR1 и CXCR2, в крови пациентов с НМКРЛ и здоровых людей также нет.

Относительное количество лимфоцитов, снабженных CXCR1, у пациентов с I стадией заболевания существенно отличается от здоровых людей, но не пациентов с гематомой, однако при II стадии НМКРЛ уровень этого показателя превышает таковой в обеих контрольных группах. Еще более значительно (в два раза по сравнению с пациентами со II стадией НМКРЛ) он возрастает при III-IV стадиях заболевания.

Доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, значительно увеличивается по сравнению со здоровыми людьми и пациентами с гематомой уже при I стадии НМКРЛ. У пациентов со II стадией заболевания она в 1,5 раза выше, чем при I. На III-IV стадиях уровень этого параметра максимален (в 3,4 раза выше по сравнению со здоровыми людьми). MFI CXCR1 и CXCR2 как в лимфоцитах, так и в моноцитах пациентов с НМКРЛ значительно выше, чем у здоровых людей, и не изменяются в зависимости от стадии заболевания.

Уровень CYFRA 21-1 в крови пациентов с I и II стадией заболевания был практически в три раза выше, чем у здоровых людей, и еще более существенно возрастал при III-IV стадиях НМКРЛ. Концентрация другого «классического» опухолеассоциированного антигена SCC не изменяется у пациентов с I стадией заболевания по сравнению со здоровыми людьми, однако значительно возрастает у пациентов с II стадией НМКРЛ. На III-IV стадиях заболевания его уровень в крови пациентов снижается (табл. 1).

Результаты корреляционного анализа свидетельствуют о наличии связи доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, MFI CXCR1 в гранулоцитах и уровня CYFRA 21-1 в сыворотке крови со стадиями НМКРЛ ( $R = 0,652$  ( $p < 0,001$ , 95% ДИ 0,636 – 0,750),  $0,572$  ( $p < 0,001$ , 95% ДИ 0,553 – 0,719) и  $0,453$  ( $p < 0,001$ , 95% ДИ 0,419 – 0,653), соответственно).

MFI CXCR1 в гранулоцитах пациентов с размером опухоли менее 3 см (T1) существенно превышает таковой в группе здоровых людей (табл. 2). У пациентов

с опухолью размером 3-5 см (T2) уровень этого показателя на 33,6% выше по сравнению с пациентами T1. Максимальный уровень этого показателя отмечается в крови пациентов с T4. Он более, чем в 4 раза превышает таковой в группе контроля.

Доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, в 1,6 раза увеличена у пациентов с T2 по сравнению с T1. В крови пациентов с T3-4 относительное количество лимфоцитов, снабженных CXCR2, демонстрирует дальнейший существенный рост и практически вдвое превышает таковое у пациентов с T1.

Уровень CYFRA 21-1 в крови пациентов с T1 практически втрое выше, чем у здоровых людей. В крови пациентов с размером опухоли 3-7 см (T2-3) он существенно больше, чем в группе T1. Наряду с этим, у пациентов с T4 концентрация этого показателя снижается.

Доля лимфоцитов, снабженных рецептором CXCR2, и концентрация CYFRA 21-1 в крови пациентов, не имеющих метастазы в регионарные лимфоузлы (N0), существенно выше, чем здоровых людей. Ни один из упомянутых показателей существенно не отличается у пациентов N1 по сравнению с N0. Наряду с этим, отмечается существенный рост уровня этих показателей у пациентов N2 по сравнению с группой N1. Уровень CYFRA 21-1 в крови пациентов N3 демонстрирует дальнейший рост и в 1,7 раза превышает таковой пациентов, не имеющих метастазы в регионарные лимфоузлы, в то время как относительное количество лимфоцитов, снабженных CXCR2, у пациентов N3 не отличается от такового при N0-N2.

Уровень CXCL8 в крови пациентов без отдаленных метастазов (M0) вдвое превышает таковой в контрольной группе. Отмечается существенный рост его концентрации в крови пациентов, имеющих метастазы (M1): он вдвое выше, чем у пациентов M0. Сходные изменения демонстрирует уровень CYFRA 21-1 в сыворотке крови. Менее значительным изменениям подвергается MFI CXCR1 в гранулоцитах и доля лимфоцитов, снабженных CXCR2. Уровень этих показателей в крови пациентов с отдаленными метастазами увеличивается в 1,2 раза по сравнению с не имеющими таковых.

Доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, у пациентов с высокодифференцированной опухолью (G1) не демонстрирует существенных отличий от таковой при среднедифференцированном НМКРЛ (G2). В то же время, у пациентов с низкодифференцированной опухолью (G3)

Таблица 1

Уровень CXCL5, CXCL8, CXCR1 и CXCR2 в крови пациентов с НМКРЛ

Показатель	Контроль	Гамартома	Стадия I	Стадия II	Стадия III-IV
CXCL8, пг/мл	88,8 [47,7;168,2]	90,5 [54,8;98,9]	139,0 [75,6;260,2]	188,2 <sup>1,2</sup> [91,2;320,8]	216,0 <sup>1,2</sup> [136,2;414,4]
CXCR1, гранулоциты, %	93,9 [91,9;94,6]	94,0 [91,1;95,8]	95,6 [91,6;96,5]	95,2 <sup>1,2</sup> [94,6;96,1]	96,2 <sup>1,2</sup> [93,9;97,6]
CXCR1, гранулоциты, MFI	20,1 [9,9;27,6]	19,9 [17,6;22,1]	32,1 <sup>1,2</sup> [22,3;47,2]	47,2 <sup>1,2,3</sup> [36,5;51,7]	57,9 <sup>1,2,3,4</sup> [54,3;66,8]
CXCR1, лимфоциты, %	4,6 [2,2;8,3]	6,5 [3,3;10,0]	12,6 <sup>1</sup> [5,7;19,7]	12,1 <sup>1,2</sup> [8,4;15,4]	15,0 <sup>1,2</sup> [7,1;20,0]
CXCR1, лимфоциты, MFI	1,8 [1,6;2,2]	3,2 [1,9;3,2]	3,5 <sup>1</sup> [2,8;13,7]	3,5 <sup>1,2</sup> [2,8;12,9]	3,5 <sup>1,2</sup> [2,5;6,4]
CXCR1, моноциты, %	91,9 [89,5;95,5]	92,9 [78,0;93,8]	92,1 [87,0;93,2]	93,3 [80,8;95,8]	93,1 [49,9;96,5]
CXCR1, моноциты, MFI	2,2 [1,9;2,6]	2,5 [2,1;3,6]	2,7 <sup>1</sup> [2,5;4,4]	2,8 <sup>1</sup> [2,3;3,5]	3,9 <sup>1</sup> [2,5;9,5]
CXCL5, нг/мл	1,1 [0,5;1,9]	1,2 [0,9;1,4]	1,3 [0,9;1,7]	1,6 [1,0;3,0]	1,5 [0,8;2,1]
CXCR2, гранулоциты, %	93,0 [90,3;95,3]	94,3 [91,3; 96,7]	94,5 [91,2;95,7]	94,8 [93,1;96,7]	95,9 [89,4;96,7]
CXCR2, гранулоциты, MFI	93,1 [79,3;97,1]	97,2 [69,7;100,2]	97,4 [86,8;120,2]	99,3 [73,9;145,9]	98,1 [80,4;116,9]
CXCR2, лимфоциты, %	9,5 [6,6;12,6]	11,4 [10,2; 12,9]	16,6 <sup>1,2</sup> [12,2;18,7]	25,1 <sup>1,2,3</sup> [17,7;28,3]	32,1 <sup>1,2,3,4</sup> [27,8;34,3]
CXCR2, лимфоциты, MFI	12,2 [7,2;17,2]	13,1 [10,4; 16,5]	16,4 [12,0;19,6]	18,1 <sup>1,2</sup> [12,9;19,4]	18,9 <sup>1,2</sup> [13,1;19,4]
CXCR2, моноциты, %	94,2 [93,4;95,7]	95,5 [93,1; 97,2]	95,5 [87,7;97,8]	95,4 [91,2;97,8]	95,6 [94,4;97,9]
CXCR2, моноциты, MFI	13,4 [12,3;17,1]	21,5 <sup>1</sup> [19,9; 23,6]	23,4 <sup>1</sup> [21,3;32,3]	24,7 <sup>1,2</sup> [22,5;39,3]	26,9 <sup>1,2</sup> [21,5;32,1]
CYFRA 21-1, нг/мл	1,1 [1,2;2,0]	1,3 [1,2;2,9]	2,7 <sup>1,2</sup> [1,9;3,7]	3,1 <sup>1,2</sup> [2,2;5,0]	4,9 <sup>1,2,3,4</sup> [3,3;7,4]
SCC, пг/мл	1,5 [1,2;1,9]	1,9 [1,2;2,9]	1,7 [2,2;2,7]	2,1 <sup>1,3</sup> [1,5;3,2]	1,8 <sup>1</sup> [1,4;3,1]

Примечание. <sup>1</sup> – достоверность разницы у пациентов с различными стадиями НМКРЛ и гамартомой по сравнению со здоровыми людьми ( $p < 0,005$ ); <sup>2</sup> – достоверность разницы у пациентов с гамартомой по сравнению с НМКРЛ ( $p < 0,005$ ); <sup>3</sup> – достоверность разницы у пациентов с I стадией НМКРЛ по сравнению с другими стадиями ( $p < 0,005$ ); <sup>4</sup> – достоверность разницы у пациентов с III-IV стадиями НМКРЛ по сравнению со II стадией ( $p < 0,005$ ).

уровень этого показателя в крови увеличивается и в 1,5 раза превышает таковой пациентов с G2.

Корреляционный анализ показателей, существенно измененных в зависимости от характеристик НМКРЛ, демонстрирует связь MFI CXCR1 в гранулоцитах с размером опухоли; уровня CYFRA 21-1 и доли лимфоцитов, снабженных CXCR2 в крови – с размером опухоли и метастазированием опухоли.

Те показатели, уровень которых значительно увеличился в крови пациентов уже на I и II стадии НМКРЛ, и еще больше возрастал в поздний период заболевания, демонстрируя при этом коррелятивную связь со стадиями и дескрипторами опухоли, вовлекались в последующий ROC-анализ. Его результаты показывают, что определение MFI CXCR1 в гранулоцитах пациентов позволяет выявить ранние стадии НМКРЛ с диагностической чувствительностью 87,4% и специфичностью 73,8% (пороговое значение 26,6). Использование с этой же целью измерения доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, обладает более высокой диагностической чувствительностью (91,8%) при соответствующем пороговом значении (табл. 3, рис.2, а, б, в). Уровень CYFRA 21-1 в сыворотке крови, превышающий пороговое значение 1,6 нг/мл, отмечен у 87,5% пациентов с ранними стадиями НМКРЛ (специфичность – 66,7%).

Указанные выше параметры (доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, MFI CXCR1 в гранулоцитах, уровень CYFRA 21-1 в сыворотке крови) демонстрируют существенные отличия у пациентов с III-IV стадиями НМКРЛ по сравнению как с I, так и со II его стадией. У 89,7% пациентов с уровнем MFI CXCR1 в гранулоцитах выше 47,8 диагностируются поздние стадии заболевания. Определение доли лимфоцитов, снабженных

CXCR2, позволяет выявить III-IV стадии НМКРЛ с еще более высокой диагностической чувствительностью (90,7% при пороговом значении 22,8%). Соответствующий параметр измерения с этой целью концентрации CYFRA 21-1 в сыворотке крови составляет 61,4% (пороговое значение – 4,2 нг/мл) при вероятности истинно отрицательного результата 74,3%.

В попытке дифференцировать I и II стадии заболевания те показатели, уровень которых существенно отличался в крови пациентов со II стадией НМКРЛ по сравнению с I стадией (MFI CXCR1 в гранулоцитах и доля лимфоцитов, снабженных CXCR2), вовлекались в ROC-анализ. У 75,3% пациентов со II стадией НМКРЛ MFI CXCR1 в гранулоцитах превышает пороговое значение 36,6, а у 69,6% пациентов с уровнем этого показателя меньше 36,6 диагностируется I стадия НМКРЛ. Пороговое значение доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, 18,3% позволяет дифференцировать I и II стадии НМКРЛ с сопоставимой диагностической чувствительностью (75,0%) и несколько большей специфичностью (71,7%).

**Обсуждение.** Результаты проведенного исследования указывают на существенные изменения уровня CXCL5, CXCL8, CXCR2, и CXCR1 в крови пациентов с НМКРЛ. Все они являются участниками формирования воспаления, неизменно сопровождающего рост злокачественного новообразования. В связи с этим, следовало бы ожидать закономерное увеличение их уровня в крови пациентов по мере распространения опухолевого процесса. Результаты настоящего исследования убедительно свидетельствуют о существенном росте уровня CXCL8 в сыворотке крови, доли гранулоцитов, лимфоцитов и моноцитов, снабженных CXCR1 и CXCR2, а

Таблица 2

**Изменение уровня ГК и CYFRA 21-1 в крови пациентов с НМКРЛ в зависимости от дескрипторов опухоли**

Показатели	T1	T2	T3	T4	R	95% ДИ
CXCR1, гранулоциты, MFI	32,1 <sup>1</sup> [22,3;47,2]	48,2 <sup>1,2</sup> [40,0;61,8]	55,9 <sup>1,2</sup> [47,2;59,3]	87,0 <sup>1,2,3,4</sup> [59,4;136,5]	0,519	0,519-0,684
CXCR2, лимфоциты, %	16,6 <sup>1</sup> [12,2; 18,7]	26,3 <sup>1,2</sup> [20,8;32,2]	32,3 <sup>1,2,3</sup> [27,9;37,5]	32,1 <sup>1,2,3</sup> [28,4;37,4]	0,625	0,621-0,669
CYFRA 21-1, нг/мл	2,7 <sup>1</sup> [2,0;3,6]	3,8 <sup>1,2</sup> [2,5;6,4]	4,2 <sup>1,2</sup> [3,2;5,9]	3,9 <sup>1</sup> [2,7;7,9]	0,279	0,009-0,524
Примечание. <sup>1</sup> – достоверность разницы у пациентов с T1-4 по сравнению со здоровыми ( $p < 0,005$ ); <sup>2</sup> – достоверность разницы у пациентов с T < 3 см по сравнению с T > 3 см ( $p < 0,005$ ); <sup>3</sup> – достоверность разницы у пациентов с T 3-5 см по сравнению с T > 5 см ( $p < 0,005$ ); <sup>4</sup> – достоверность разницы у пациентов с T 5-7 см по сравнению с T4 ( $p < 0,005$ ).						
	N0	N1	N2	N3		
CXCR2, лимфоциты, %	20,9 <sup>1</sup> [16,4; 27,6]	30,3 <sup>1</sup> [21,3;34,3]	32,5 <sup>1,2</sup> [27,3;34,3]	32,0 <sup>1</sup> [25,9;32,5]	0,476	0,462-0,662
CYFRA 21-1, нг/мл	3,0 <sup>1</sup> [2,1;4,6]	4,3 <sup>1</sup> [3,2;7,4]	4,4 <sup>1,2</sup> [3,3;8,0]	5,1 <sup>1,2</sup> [3,7;7,5]	0,374	0,288-0,599
Примечание. <sup>1</sup> – достоверность разницы у пациентов с N1-3 по сравнению со здоровыми ( $p < 0,005$ ); <sup>2</sup> – достоверность разницы у пациентов с N2-3 по сравнению с N0 ( $p < 0,005$ ).						
	M0		M1			
CXCL8, пг/мл	178,4 <sup>1</sup> [91,2;295,0]		393,3 <sup>1,2</sup> [181,3;691,6]		-	-
CXCR2, лимфоциты, %	25,1 <sup>1</sup> [16,9;32,1]		29,8 <sup>1,2</sup> [23,7;32,5]		-	-
CYFRA 21-1, нг/мл	3,3 <sup>1</sup> [2,3;5,3]		6,2 <sup>1,2</sup> [4,0;10,8]		-	-
CXCR1, лимфоциты, %	12,2 <sup>1</sup> [7,3;16,4]		19,4 <sup>1,2</sup> [9,6;28,4]		-	-
MFI CXCR1, гранулоциты	47,3 <sup>1</sup> [34,9;61,7]		58,3 <sup>1,2</sup> [57,0;63,1]		-	-
Примечание. <sup>1</sup> – достоверность разницы у пациентов с M0-1 по сравнению со здоровыми людьми ( $p < 0,005$ ); <sup>2</sup> – достоверность разницы у пациентов с M1 по сравнению с M0 ( $p < 0,017$ ).						
Показатель	G1	G2	G3			
CXCR2, лимфоциты, %	26,1 <sup>1</sup> [19,5;29,3]	20,6 <sup>1</sup> [15,8;30,0]	31,2 <sup>1,2</sup> [21,3;32,5]	-	-	-
Примечание. <sup>1</sup> – достоверность разницы у пациентов с G1-3 по сравнению со здоровыми людьми ( $p < 0,008$ ); <sup>2</sup> – достоверность разницы у пациентов с G3 по сравнению с G2 ( $p < 0,008$ ).						

Таблица 3

**Результаты ROC-анализа для существенно измененных показателей, коррелятивно связанных с характеристиками НМКРЛ**

Показатель/Indicator	I-II стадия НМКРЛ / здоровые люди					
	ПЗ	ДЧ, %	ДС, %	AUC	ДЭ, %	95% ДИ
MFI CXCR1, гранулоциты	26,6	87,4	73,8	0,909	83,8	0,866 – 0,952
CXCR2 лимфоциты, %	11,7	91,8	64,3	0,916	84,2	0,872 – 0,961
CYFRA 21-1, нг/мл	1,6	87,2	66,7	0,818	81,4	0,741 – 0,896
I-II стадия НМКРЛ / III-IV стадия НМКРЛ						
MFI CXCR1, гранулоциты	47,8	89,7	74,8	0,818	81,0	0,759 – 0,878
CXCR2 лимфоциты, %	22,8	90,7	69,1	0,863	78,5	0,811 – 0,914
CYFRA 21-1, нг/мл	4,2	61,4	74,3	0,750	68,7	0,681 – 0,818
I стадия НМКРЛ / II стадия НМКРЛ						
MFI CXCR1, гранулоциты	36,6	75,3	69,6	0,728	73,6	0,627 – 0,828
CXCR2 лимфоциты, %	18,3	75,0	71,7	0,794	74,1	0,712 – 0,876

Примечание. ПЗ – пороговое значение, ДЧ – диагностическая чувствительность, ДС – диагностическая специфичность, ДЭ – диагностическая эффективность, AUC – площадь под ROC-кривой.

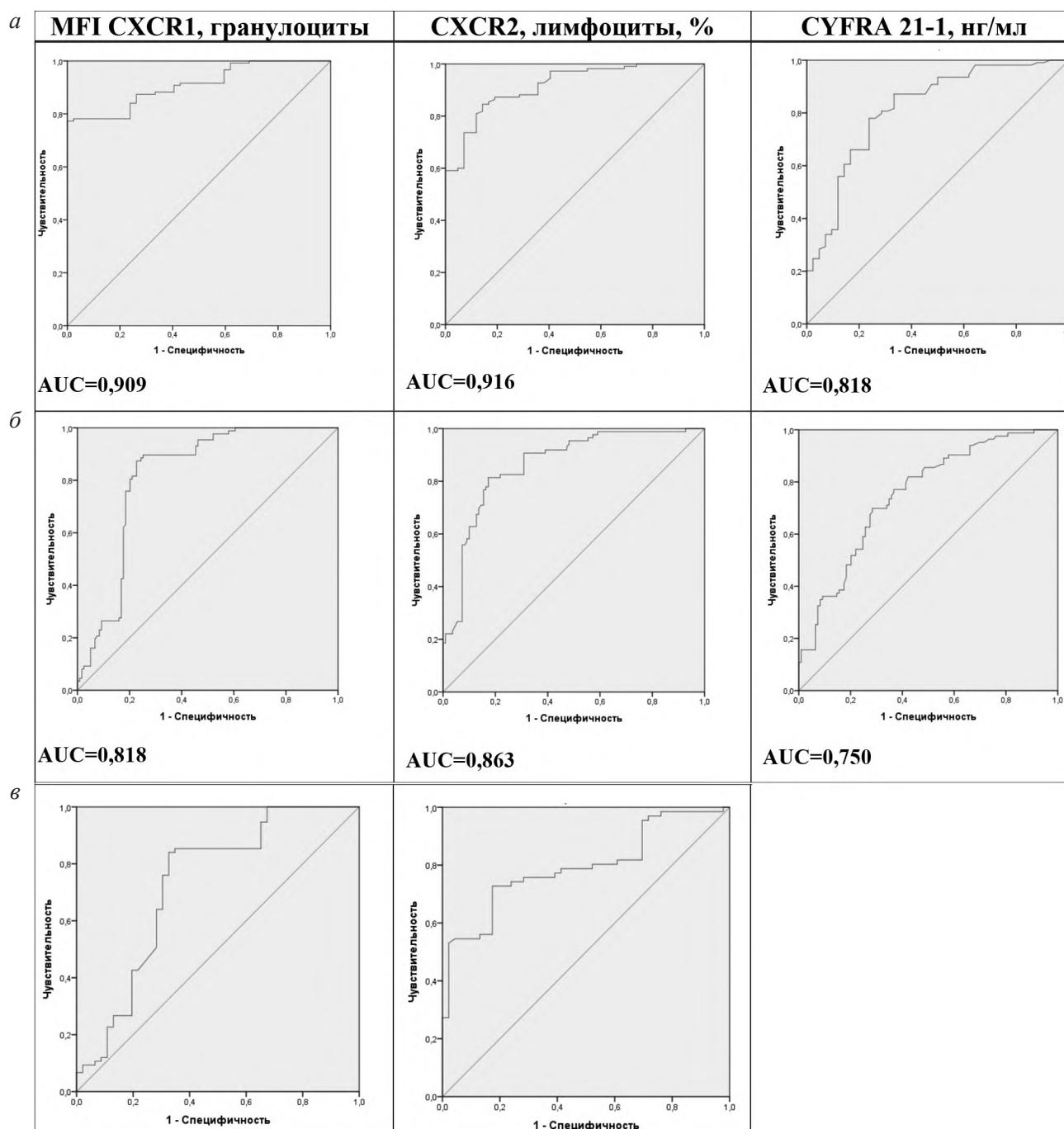


Рис. 2. Графики ROC-кривых для оценки диагностической эффективности определения уровня в крови CYFRA 21-1, MFI CXCR1 в гранулоцитах, доли лимфоцитов, снабженных CXCR2.

*a* – I-II стадии НМКРЛ/здоровые люди; *б* – I-II стадии НМКРЛ/III-IV стадии НМКРЛ; *в* – I стадия НМКРЛ/II стадия НМКРЛ.

также плотности расположения этих рецепторов в клетках крови пациентов с НМКРЛ. В то же время, уровень CXCL5 в сыворотке крови не отличался от такового в обеих контрольных группах. В настоящее время трудно судить о причинах этого явления, однако данные других исследований также указывают на отсутствие существенных изменений уровня этого хемокина в крови при НМКРЛ [20].

Увеличение концентрации рецепторов CXCR1, CXCR2 и хемокина CXCL8 в крови пациентов по мере ро-

ста опухоли, вероятно, отражает усиление сопровождающего его опухолеассоциированного воспаления. Для CXCL8, доли гранулоцитов и лимфоцитов, снабженных CXCR1, MFI CXCR1 и CXCR2 в лимфоцитах оно прослеживается по сравнению со здоровыми людьми и пациентами с гамартомой, начиная со II стадии заболевания и становится еще большим при III-IV стадиях. Уровень этих показателей существенно повышен в крови пациентов уже при I стадии НМКРЛ, однако только по сравнению со здоровыми людьми. По сравнению с

гамартомой легкого такого повышения нет. Отсутствие различий, вероятно, обусловлено не столь значительным инвазивным ростом опухоли при I стадии НМКРЛ. Тем самым, обнаруженные изменения при I стадии имеют, скорее, низкую специфичность.

Теми показателями, которые демонстрируют существенный рост по сравнению с обеими контрольными группами уже на I стадии НМКРЛ, были MFI CXCR1 в гранулоцитах и доля лимфоцитов, снабженных CXCR2. Косвенным подтверждением наблюдаемых нами изменений являются полученные другими исследователями данные об увеличении уровня гранулоцитов и лимфоцитов (но не моноцитов) в крови пациентов с НМКРЛ по сравнению с доброкачественной опухолью легкого [21].

Обнаруженное повышение MFI CXCR1 в гранулоцитах и доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, в крови пациентов со II стадией НМКРЛ по сравнению с I, вероятно, обусловлено взаимосвязью величины этих показателей с размером опухоли и ее метастазированием в регионарные лимфоузлы. Об этом свидетельствует коррелятивная связь с данными характеристиками опухоли, что было продемонстрировано в предыдущих наших исследованиях [18]. Другими авторами также была обнаружена связь уровня экспрессии CXCR1 и CXCR2 в опухолевой ткани с теми же характеристиками опухоли [22 – 24].

Уровень CXCL8, доля гранулоцитов и лимфоцитов, снабженных рецептором CXCR1, плотность расположения этого рецептора в них (MFI) и доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, наиболее существенно возрастали в крови пациентов в поздний период заболевания. Эти показатели также продемонстрировали существенный рост в крови пациентов с метастазами опухоли во внутренние органы (IV стадией НМКРЛ). В литературе отсутствуют сведения о взаимосвязи содержания в крови CXCR1 и CXCR2 с наличием отдаленных метастазов НМКРЛ, однако информация об увеличенной концентрации CXCL8 в сыворотке крови пациентов M1 имеется [25].

Данные проведенного исследования демонстрируют существенное изменение доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, у пациентов в зависимости от степени дифференцировки опухоли. Уровень этого показателя был максимален в крови пациентов с G3. Он имел слабую коррелятивную связь со степенью дифференцировки опухолевых клеток. Полученные другими исследователями результаты определения концентрации CXCR2 в клетках НМКРЛ также свидетельствуют о ее взаимосвязи с этим дескриптором [25].

В задачи этой работы входило сравнение обнаруженных изменений с уровнем опухолеассоциированного антигена CYFRA 21-1. Этот биомаркер широко используется в диагностике злокачественных образований самой разной локализации, в том числе, при НМКРЛ [26 – 29]. Его уровень в крови, как и других измеряемых нами показателей, существенно превысил контрольный (как по сравнению со здоровыми людьми, так и с пациентами с гамартомой легкого) уже на I стадии НМКРЛ. Наряду с этим, он не отличался у пациентов с I и II стадиями НМКРЛ, а в поздний период развития опухоли (III-IV стадии) опять вырос. При этом, его уровень зависел от размера и метастазирования опухоли, хотя величина коэффициента корреляции была меньше, чем для MFI CXCR1 в гранулоцитах и доли лимфоцитов, снабженных CXCR2.

Результаты исследования дали основание для вовлечения в ROC-анализ тех показателей, которые показали значительные изменения в крови при НМКРЛ, в особенности, на ранних стадиях его развития. Оказалось, что определение MFI CXCR1 в гранулоцитах и доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, имеет сравнительно высокую диагностическую информативность. Их диагностическая эффективность для выявления ранних и поздних стадий заболевания превышает таковую определения CYFRA 21-1. Кроме того, в отличие от CYFRA 21-1, использование MFI CXCR1 в гранулоцитах и доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, позволяет различать I и II стадии НМКРЛ со сравнительно высокой диагностической чувствительностью (75,3% и 75,0%, соответственно) и специфичностью (69,6% и 71,7%, соответственно) при соответствующих пороговых значениях.

Следует отметить, что ни один из определяемых показателей не продемонстрировал одновременно высокой диагностической чувствительности и специфичности при НМКРЛ. Это ограничивает их практическое использование и мотивирует к поиску путей повышения их диагностических параметров. Один из подходов к решению такой проблемы видится в создании диагностической панели с участием MFI CXCR1 в гранулоцитах и доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, в том числе, и в комбинации с CYFRA 21-1. В настоящее время накоплен большой опыт в создании подобных моделей, которые позволили улучшить диагностику целого ряда заболеваний [30, 31].

С другой стороны, НМКРЛ является неоднородным заболеванием и подразделяется на гистологические подтипы (аденокарцинома, плоскоклеточный рак и крупноклеточный рак легкого), которые имеют характерологические особенности течения и метаболических сдвигов в организме [3]. Есть основания предполагать, что изучение динамики изменений избранных нами кандидатов в биомаркеры у пациентов с учетом гистологического подтипа НМКРЛ позволит повысить их диагностическую ценность.

#### ЛИТЕРАТУРА ( пп. 1-17, 20-31 см. REFERENCES )

18. Таганович А. Д., Ковганко Н. Н., Прохорова В. И., Готько О. В., Державец Л. А., Мурашко Д. И. Хемокины CXCL5, CXCL8 и их рецепторы CXCR1 CXCR2 – потенциальные биомаркеры немелкоклеточного рака легкого. *Лабораторная диагностика. Восточная Европа*. 2020; 9(3): 252-71.
19. Грижбовский А. М. Анализ трех и более групп количественных данных. *Экология человека*. 2008; 3: 50-8.

#### REFERENCES

1. Sung H., Ferlay J., Siegel R. L., Laversanne M., Soerjomatram I., Jemal A., Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2021; 71(3): 209-49.
2. Aciti A. G., Erkan L., Findik S., Uzin O., Kandemir B. Clinical features of non-small cell lung cancer cases. *Tuberk. Toraks*. 2004; 150-8.
3. Woodard G., Jones K., Jablons D. Lung cancer staging and prognosis. *Cancer Treat. Res.* 2016; 170: 47-75.
4. Wisnivesky J., Henschke C., McGinn T., Iannuzzi M. Prognosis of stage II non-small cell lung cancer according to tumor and nodal status at diagnosis. *Lung Cancer*. 2005; 49 (2): 181-6.
5. Barlési F., Gimenez C., Torre J., Doddoli C., Mancini J., Greillier L., Roux F., Kleisbauer J. Prognostic value of combination of CYFRA 21-1, CEA and NSE in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Respir. Med.* 2004; 98(4): 357-62.

6. Nikliński J., Furman M., Chyczewski E., Chyczewska E., Rogowski F., Jaroszewicz E. CYFRA 21-1 new marker for non-small cell lung cancer. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 1994; 62(5-6): 227-32.
7. Lei F., Rong W., Ling Y., Xiaopu S., Runtong Z., Pengjun Z. CYFRA21-1 tests in the diagnosis of non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *The Int. J. Biol. Markers.* 2019; 34(3): 251-61.
8. Krishna M. S., Krishna M. P., Krishna R. Solution structure of CXCL5 – a novel chemokine and adipokine implicated in inflammation and obesity. *PLOS One.* 2014; 9(4): e93228.
9. Kuo P., Chen Y., Chen T., Shen K., Hsu Y. CXCL5/ENA78 increased cell migration and epithelial-to-mesenchymal transition of hormone-independent prostate cancer by early growth response-1/snail signaling pathway. *J. Cell Physiol.* 2011 May; 226(5): 1224-31.
10. Schalper K., Carleton M., Zhou M., Chen T., Feng Y., Huang S. et al. Elevated serum interleukin-8 is associated with enhanced intratumor neutrophils and reduced clinical benefit of immune-checkpoint inhibitors. *Nat. Med.* 2020; 26(5): 688-92.
11. Ha H., Debnath B., Neamati N. Role of the CXCL8-CXCR1/2 axis in cancer and inflammatory diseases. *Theranostics.* 2017; 7(6): 1543-88.
12. Casilli F., Bianchini A., Gloaguen I., Biordi L., Alesse E., Festuccia C. et al. Inhibition of interleukin-8 (CXCL8/IL-8) responses by repertaxin, a new inhibitor of the chemokine receptors CXCR1 and CXCR2. *Biochem. Pharmacol.* 2005; 69(3): 385-94.
13. Smith D., Polverini P., Kunkel S., Orringer M., Whyte R., Burdick M.D. et al. Inhibition of interleukin 8 attenuates angiogenesis in bronchogenic carcinoma. *J. Exp. Med.* 1994; 179(5): 1409-15.
14. Arenberg D., Kunkel S., Polverini P., Glass M., Burdick M., Strieter R. Inhibition of interleukin-8 reduces tumorigenesis of human non-small cell lung cancer in SCID mice. *J. Clin. Invest.* 1996; 97(12): 2792-802.
15. Wu K., Yu S., Liu Q., Bai X., Zheng X., Wu K. The clinical significance of CXCL5 in non-small cell lung cancer. *Oncotargets Ther.* 2017; 10: 5561-73.
16. Chu H., Li W., Li H. C-X-C motif chemokine receptor type 2 correlates with higher disease stages and predicts worse prognosis, and its downregulation enhances chemotherapy sensitivity in triple-negative breast cancer. *Transl. Cancer Res.* 2020; 9(2): 840-8.
17. Bi H., Zhang Y., Wang S., Fang W., He W., Yin L. [et al]. Interleukin-8 promotes cell migration via CXCR1 and CXCR2 in liver cancer. *Oncol. Lett.* 2019; 18(4): 4176-84.
18. Tahanovich A. D., Kauhanka M. M., Prokhorova V. I., Gotko O. V., Derzhavets L. A., Murashka D. I. Chemokines CXCL5, CXCL8 and their receptors CXCR1, CXCR2 as potential biomarkers of non-small cell lung cancer. *Laboratornaya diagnostika. Vostochnaya Evropa.* 2020; 9(3): 252-71. (in Russian)
19. Grizhbovskiy A. M. Analysis of three or more groups of quantitative data. *Ekologiya cheloveka.* 2008; 3: 50-8. (in Russian)
20. Binwu H., Fan S., Lv X., Chen S., Shao Z. Prognostic significance of CXCL5 expression in cancer patients: a meta-analysis. *Cancer Cell Int.* 2018; 18: 68.
21. Thomson S, Kessler J, Miller T. Leukocyte concentrations in discrimination of benign from malignant lung lesions. *Am. J. Med.* 1986; 80(6): 1035-40.
22. Saintigny P, Massarelli E., Lin S., Ahn Y. H., Chen Y., Goswami S. [et al]. CXCR2 expression in tumor cells is a poor prognostic factor and promotes invasion and metastasis in lung adenocarcinoma. *Cancer Res.* 2013; 73(2): 571-82.
23. Cong L., Qiu Z.Y., Zhao Y., Wang W. B., Wang C. X., Shen H. C., Han J.Q. Loss of  $\beta$ -arrestin-2 and activation of CXCR2 correlate with lymph node metastasis in non-small cell lung cancer. *J. Cancer.* 2017; 8(14): 2785-92.
24. Orditura M., De Vita F., Catalano F., Infusino S., Lieto E., Martinelli E. Elevated serum levels of interleukin-8 in advanced non-small cell lung cancer patients: relationship with prognosis. *J. Interferon Cytokine Res.* 2004; 22 (11): 1129-35.
25. Liu Y., Wu B. Q., Geng H., Xu M. L., Zhong H. H. Association of chemokine and chemokine receptor expression with the invasion and metastasis of lung carcinoma. *Oncol. Lett.* 2015; 10(3): 1315-22.
26. Chapman M.H., Sandanayake N.S., Andreola F., Dhar D.K., Webster G.J., Dooley J.S., Pereira S.P. Circulating CYFRA 21-1 is a specific diagnostic and prognostic biomarker in biliary tract cancer. *J. Clin. Exp. Hepatol.* 2011; 1(1): 6-12.
27. Sone K., Oguri T., Nakao M., Kagawa Y., Kurowaka R., Furuta H., Fukuda S. et al. CYFRA 21-1 as a predictive marker for non-small cell lung cancer treated with pemetrexed-based chemotherapy. *Anticancer Res.* 2017; 37(2): 935-9.
28. Shiiya H., Ujiiie H., Hida Y., Kato T., Kaga K., Wakasa S. [et al]. Elevated serum CYFRA 21-1 level as a diagnostic marker for thymic carcinoma. *Thorac. Cancer.* 2021; 12(21): 2933-42.
29. Rastel D., Ramaioli A., Cornillie F., Thirion B. CYFRA 21-1, a sensitive and specific new tumor marker for squamous cell lung cancer. Report of the first European multicentre evaluation. CYFRA 21-1 multicentre study group. *Eur. J. Cancer.* 1994; 30A (5): 601-6.
30. Meisner A., Parikh C.R., Kerr K.F. Biomarker combinations for diagnosis and prognosis in multicenter studies: principles and methods. *Stat. Methods Med. Res.* 2019; 28(4): 969-85.
31. Chen Z., Liu X., Shang X., Qi K., Zhang S. The diagnostic value of the combination of carcinoembryonic antigen, squamous cell carcinoma-related antigen, CYFRA 21-1, neuron-specific enolase, tissue polypeptide antigen, and progastrin-releasing peptide in small cell lung cancer discrimination. *Int. J. Biol. Markers.* 2021; 36(4): 36-44.