

ГЕМАТОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022

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

ДООПЕРАЦИОННЫЕ БИОМАРКЕРЫ В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С III СТАДИЕЙ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЛЕГКОГО ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ БЕЗРЕЦИДИВНОЙ ВЫЖИВАЕМОСТИ ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ

¹УО Белорусский государственный медицинский университет Минздрава Республики Беларусь, 220116, г. Минск, Беларусь;

²ГУ Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова Минздрава Республики Беларусь, 223040, Минская область, п.Лесной, Беларусь

Изучали возможность использования дооперационного уровня 42 показателей, характеризующих клеточный состав и метаболизм в крови пациентов с III стадией аденокарциномы легкого (АК), для прогнозирования их безрецидивной выживаемости.

Обследованы 451 пациент с впервые диагностированной АК III стадии и проведенным хирургическим лечением (объем резекции – R0). Анализировалась длительность безрецидивного периода, клеточный состав крови, концентрация С-реактивного белка (СРБ), альбумина, антигенов Cyfra 21-1, SCC, TPA, хемокинов CXCL5, CXCL8, изофермента пируваткиназы TuM2 PK, HIF-1 α и гиалуроновой кислоты в сыворотке крови; измеряли долю клеток крови лейкоцитарного ряда, снабженных рецепторами CXCR1 и CXCR2, CD44 (вариантная форма б) в сыворотке крови. Для выяснения зависимости длительности безрецидивного периода после проведенного лечения от времени наблюдения строили графики Каплана-Мейера. О взаимосвязи определяемых показателей с выживаемостью судили с помощью одно- и многофакторной моделей пропорциональных рисков Кокса. Сравнение групп с различным риском рецидива АК проводили, используя Log Rank тест и χ^2 (хи-квадрат). Оценку прогностической информативности лабораторных тестов проводили с помощью ROC-анализа.

Показано, что абсолютные показатели концентрации моноцитов, эозинофильных лейкоцитов, относительное количество лимфоцитов с рецептором CXCR1 в крови и уровень Cyfra 21-1 в сыворотке крови до оперативного лечения имеют связь с длительностью безрецидивного периода у пациентов с АК III стадии после резекции опухоли. Составлено регрессионное уравнение, включающее уровень Cyfra 21-1, CXCR1 лимфоциты и величину отношения эозинофилы / моноциты. На основе полученного порогового значения $Y=0,597$ построен график Каплана-Мейера выживаемости пациентов, результаты которого соответствуют TNM-стратификации этих же пациентов.

Ключевые слова: аденокарцинома легкого; рецидив; прогноз; клетки крови; CYFRA 21-1, CXCR1.

Для цитирования: Таганович А.Д., Ковганко Н.Н., Мурашко Д.И., Колб А.В., Прохорова В.И., Готько О.В., Державец Л.А. Дооперационные биомаркеры в крови пациентов с III стадией аденокарциномы легкого для прогнозирования безрецидивной выживаемости после хирургического лечения. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2022; 67 (11): 640-646. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-11-640-646>

Для корреспонденции: Таганович Анатолий Дмитриевич, зав. каф. биологической химии; e-mail: ataganovich@gmail.com

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 08.06.2022

Принята к печати 02.09.2022

Опубликовано 14.11.2022

Tahanovich A.D.¹, Kauhanka N.N.¹, Murashka D.I.¹, Kolb A.V.¹, Prokhorova V.I.², Got'ko O.V.², Derzhavets L.A.²

PREOPERATIVE BLOOD MARKERS FOR PREDICTION OF RECURRENCE-FREE SURVIVAL AFTER SURGICAL TREATMENT OF PATIENTS WITH STAGE III LUNG ADENOCARCINOMA

¹ Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus;

² National Centre of oncology and medical radiology, Minsk region, Lesnoy, Belarus

The possibility of the preoperative level of 42 indicators characterizing the cellular composition and metabolism in blood of patients with stage III lung adenocarcinoma (AC) to predict their relapse-free survival was studied.

Blood samples of 451 patients with newly diagnosed AK stage III after their surgical treatment (resection volume – R0) have been investigated. The duration of the relapse-free period (period of observation – 1 year), cellular composition of the blood, concentration of C-RP, albumin, Cyfra 21-1 antigens, SCC, TPA, chemokines CXCL5, CXCL8, pyruvate kinase TuM2 PK isoenzyme, HIF-1 α and hyaluronic acid in blood serum so as the proportion of blood cells with CXCR1 and CXCR2, CD44V6 receptors in blood serum were measured. To determine the dependence of the duration of the relapse-free period after the treatment on the observation time, Kaplan-Meier graphs were built. The relationship between the determined parameters and survival was judged using single- and multi-factor Cox proportional hazard models. Comparison of groups with different risk of AK recurrence was performed using the Log Rank test and χ^2 . The assessment of the predictive information content of laboratory tests was carried out using ROC analysis. It was shown that the concentration of monocytes, eosinophilic leukocytes, the relative quantity of lymphocytes with CXCR1 receptor, the level of Cyfra 21-1 before surgical treatment were associated with the duration of the

relapse-free period. A regression equation was compiled, which included the level of Cyfra 21-1, relative content of lymphocytes with CXCR1, and the eosinophilic leukocytes / monocytes ratio. Based on the threshold value $Y=0,597$, a Kaplan-Meier plot of patient survival was built and the results of it correspond to the TNM stratification. The prognostic sensitivity of the results of the equation – 85,7%, the specificity – 94,7%.

Key words: lung adenocarcinoma; relapse; prognosis; blood cells; CYFRA 21-1; CXCR1.

For citation: Tahanovich A.D., Kauhanka N.N., Murashka D.I., Kolb A.V., Prokhorova V.I., Got'ko O.V., Derzhavets L.A. Preoperative blood markers for prediction of recurrence-free survival after surgical treatment of patients with stage III lung adenocarcinoma. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2022; 67 (11): 640-646 (in Russ.) DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-11-640-646>

For correspondence: Tahanovich A.D., head of the department of biological chemistry; e-mail: ataganovich@gmail.com

Information about authors:

Tahanovich A.D., <https://orcid.org/0000-0002-0668-2888>;
Kauhanka M.M., <https://orcid.org/0000-0002-3193-5955>;
Kolb A.V., <https://orcid.org/0000-0003-1224-2878>;
Murashka D.I., <https://orcid.org/0000-0002-1890-6252>;
Prokhorova V.I., <https://orcid.org/0000-0002-6078-4447>;
Got'ko O.V., <https://orcid.org/0000-0001-8083-0861>;
Derzhavets L.A., <https://orcid.org/0000-0002-9246-4704>.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 08.06.2022
Accepted 02.09.2022
Published 14.11.2022

Введение. Рак легкого занимает одну из лидирующих позиций в структуре онкологических заболеваний. Ежегодная смертность от него составляет 1,3 млн человек [1]. Более 85% всех случаев рака легкого приходится на немелкоклеточный рак (НМРЛ) [2]. Наиболее частыми гистологическими подтипами его являются аденокарцинома (АК) и плоскоклеточный рак (ПКРЛ), (50% и 30% случаев НМРЛ соответственно) [3].

Приблизительно у 20-25% пациентов с АК диагностируют III стадию, которая характеризуется низкой выживаемостью [3]. Даже после полной резекции и послеоперационной консолидирующей (адьювантной) химиотерапии у 20–40% пациентов сохраняется риск рецидива опухоли [4]. Основными препятствиями в их лечении являются развитие регионарных или отдаленных метастазов и резистентность к химиотерапии [5]. Поэтому имеется необходимость поиска прогностических факторов или биомаркеров, которые могли быть использованы для предсказания безрецидивной выживаемости пациентов и ответа на лечение.

Независимыми маркерами прогноза при НМРЛ являются фрагмент 19 цитокератина (CYFRA 21-1), антиген плоскоклеточного рака (SCC), тканевой полипептидный антиген, присутствующий в протеолитических фрагментах цитокератинов 8, 18 и 19 в качестве компонента цитоскелета неплоского эпителия (ТРА). Агрессивная, быстро растущая опухоль с множественными метастазами продуцирует и секретирует много онкомаркера в сыворотку крови, что указывает на плохой прогноз [6–8]. Общим недостатком этих маркеров является невысокая диагностическая эффективность их определения, обусловленная или низкой специфичностью (чаще), или невысокой чувствительностью [9,10].

Есть сведения, что выраженность системного воспаления, о котором судят на основании отношения концентрации нейтрофилов к уровню лимфоцитов, тромбоцитов к лимфоцитам, прогностического нутриционного индекса, имеет корреляционную связь с неблагопри-

ятным прогнозом при НМРЛ [11]. Сообщается, что у пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой после хирургического лечения независимым прогностическим значением обладает системный иммуновоспалительный индекс (SII) [12], а высокий уровень С-реактивного белка (СРБ) может быть связан с плохим прогнозом на ранних стадиях НМРЛ [13].

В процессе трансформации клетки эпителиального или мезенхимного происхождения начинают экспрессировать рецепторы хемокинов, используя их для миграции и выживания в сайтах, удаленных от первичной опухоли. В частности, активация сигнального пути посредством взаимодействия хемокинов CXCL5 или CXCL8 с рецепторами CXCR1/2 в микроокружении опухоли разных видов рака усиливает ее прогрессирование и коррелирует с ухудшением выживаемости пациентов [14].

Повышенная экспрессия компонентов оси гиалуроновая кислота/рецептор CD44 (вариантная форма 6)/ индуцируемый гипоксией фактор-1 альфа (HIF-1 α) была связана со степенью дифференцировки и гистологическим типом НМРЛ [15]. Положительной экспрессии HIF-1 α в опухолевых тканях пациентов с НМРЛ и мелкоклеточным раком легкого сопутствовала более низкая общая выживаемость [16].

Несмотря на актуальность и мотивированность исследователей, маркеры рака легкого до сих пор остаются спорными. Прогностический эффект их, как выяснилось, зависит от гистологического типа опухоли, стадии, проведенного лечения [17-19]. Следовательно, чтобы получить более точные результаты оценки прогностического значения онкомаркеров, необходимо проведение когортных исследований пациентов с относительно однородными характеристиками и отдельными гистологическими подтипами НМРЛ.

Поэтому в настоящем исследовании изучалась возможность использования дооперационного уровня ряда вышеперечисленных показателей, характеризующих

клеточный состав и метаболизм в крови пациентов с III стадией аденокарциномы легкого, для прогнозирования их безрецидивной выживаемости и принятия решения о терапевтической стратегии. Необходимым условием отбора таких показателей было сопоставление прогностической ценности их определения с известными маркерами Cyfra 21-1, SCC, TPA.

Материал и методы. В исследовании участвовали 451 пациент (табл. 1) с впервые диагностированной аденокарциномой легкого III стадии при поступлении в стационар ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова» в период с 01.01.2015 г. по 31.12.2021 г. Средний возраст пациентов составил 59±26 лет. После проведенного им хирургического лечения (объем резекции соответствовал R0), анализировали длительность безрецидивного периода по результатам наблюдения в течение одного года.

Все обследованные дали письменное добровольное согласие на участие в исследовании, проведение которого было одобрено решением Комитета по биомедицинской этике учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Образцы крови собирали в вакутайнер с ЭДТА-К2 в качестве антикоагулянта из локтевой вены натощак. Для получения сыворотки кровь собирали в пробирку с тромбином и разделительным гелем. В образцах крови определяли концентрацию клеток на гематологическом анализаторе Sysmex ХЕ-5000 (Sysmex Group, Япония), уровень альбуминов и С-реактивного белка – на биохимическом анализаторе AU680 (Beckman Coulter, США) с использованием оригинальных наборов реагентов. Рассчитывали системный индекс воспалительного ответа (SII) ($[ТЦ] \times [НФ] / [ЛФ]$, где [ТЦ] – абсолютный показатель концентрации тромбоцитов, [НФ] – абсолютный показатель концентрации нейтрофильных лейкоцитов, [ЛФ] – абсолютный показатель концентрации лимфоцитов), воспалительный прогностический индекс (PI) ($[С-РБ] \times [НФ] / ([ЛФ] \times [альбумин])$) [20,21] и системный воспалительный индекс ответа (SIRI) ($[НФ] \times [МЦ] / [ЛФ]$, где [МЦ] – абсолютный показатель концентрации моноцитов) [22].

У 40 пациентов в образцах сыворотки крови определяли концентрацию CYFRA 21-1, SCC, TPA на автоматическом анализаторе Cobas e411 (Roche Diagnostics GmbH, Германия), использующем принцип электрохемилюминесценции. Измерение концентрации CXCL5, CXCL8, TuM2 РК, HIF-1 α и гиалуроновой кислоты проводили с помощью ИФА-наборов FineTest (КНР) на

автоматическом ИФА-анализаторе Brio (Seac, Италия). Оптическую плотность оценивали при длине волны 450 нм и референсной длине волны 620 нм на планшетном фотометре Sirio (Seac, Италия).

Долю клеток крови, снабженных CXCR1 и CXCR2, CD44v6 и плотность этих рецепторов на их поверхности определяли, используя проточный цитофлуориметр Navios (Beckman Coulter, США). Для этого в пробирку помещали 100 мкл крови и раствор, содержащий смесь антител с флуоресцентными метками: CD181(CXCR1)-PE-Cy5 (BioLegend, США), CD182(CXCR2)-PE (BioLegend, США) и CD45-Pacific Orange (Exbio, Чехия), CD44v6-FITC (Invitrogen, США). Через 15 мин инкубации в темноте с антителами к смеси добавляли 1 мл лизирующего раствора VersaLyse (Beckman Coulter, Франция). Фиксацию антител на поверхности клеток проводили с помощью раствора IQTest 3 (Beckman Coulter, Франция).

Для выяснения зависимости длительности безрецидивного периода после проведенного лечения от времени наблюдения строили графики Каплана-Майера. Оценку взаимосвязи определяемых показателей с выживаемостью осуществляли с помощью одно- и многофакторной моделей пропорциональных рисков Кокса. Сравнение групп с различным риском рецидива АК проводили, используя Log Rank тест и χ^2 (хи-квадрат). Для всех имеющихся выборок данных проверяли гипотезу нормальности распределения по критериям Колмогорова-Смирнова, а также путем построения гистограмм распределения. Поскольку количественные значения показателей не подчинялись нормальному распределению, анализ проводили методами непараметрической статистики с использованием программы статистического анализа данных MedCalc («MedCalc Software», Бельгия). Рассчитывались медиана и интерквартильный размах (25%-75%). Для оценки различий между двумя независимыми группами применяли U-критерий Манна-Уитни. Оценку интегральной прогностической информативности лабораторных тестов проводили с помощью метода построения характеристических ROC-кривых с последующим вычислением площади под ROC-кривой (AUC). О прогностической ценности анализируемых показателей судили на основании расчета чувствительности, специфичности, предсказательной ценности положительного и отрицательного результатов и диагностической эффективности теста. Пороговое значение определяли, как величину оптимального соче-

Таблица 1

Обследованные пациенты с III стадией АК

TNM	Число пациентов	Мужчины	Женщины	Grade 1	Grade 2	Grade 3
T1N2M0	50	41	9	17	20	13
T2N2M0	72	61	11	28	27	17
T3N1M0	72	47	25	24	34	14
T4N0M0	53	38	15	20	20	13
T4N1M0	55	35	20	23	21	11
T3N2M0	84	58	26	33	36	15
T4N2M0	65	49	16	23	26	16

тания чувствительности и специфичности теста при построении кривых зависимости чувствительности от вероятности ложноположительных результатов. При всех видах статистического анализа критическое значение уровня значимости принимали как равное 5%.

Результаты и обсуждение. Результаты графического анализа Каплана-Майера демонстрируют зависимость безрецидивной выживаемости пациентов с III стадией АК от размера опухоли (Т) по результатам наблюдения в течение 1 года после оперативного лечения. При Т4 она составила 54%. Меньшему размеру опухоли (Т1-3) соответствовала более высокая безрецидивная выживаемость пациентов (78%-83%).

У пациентов с III стадией АК и отсутствием регионарных метастазов (N0) полученные данные демонстрируют более высокую безрецидивную выживаемость, чем у пациентов с регионарными метастазами (N1-2). К концу первого года разница в выживаемости достигает 11%. Однако величина χ^2 составила 2,98 и характеризует разницу между N1 и N3 как статистически недостоверную ($p = 0,062$).

Стадия III АК неоднородна и разделяется на IIIA, IIIB и IIIC стадии [1]. Каждая из них включает несколько сочетаний дескрипторов, различающихся размером опухоли и степенью распространенности регионарных метастазов (табл. 2). Поскольку пациенты с поражением лимфоузлов в контралатеральном легком (N3) не подвергаются хирургическому лечению (все они относятся к IIIC стадии и частично к IIIB), для оценки влияния на выживаемость использовались данные пациентов с IIIA и IIIB стадиями АК. Согласно графику Каплана-Майера, начиная с 1 месяца и до года после оперативного лечения прослеживаются два типа безрецидивной выживаемости: высокая – для IIIA стадии и низкая – для IIIB стадии. Разница между ними составляет 19%. Она существенна и статистически достоверна, о чем свидетельствуют результаты Log Rank теста ($\chi^2 = 5,11$; $p = 0,042$).

Различной дифференцированности клеток опухоли (G1-3) соответствовала разная безрецидивная выживаемость. Наиболее высокой она была при G1. У 90% пациентов к концу первого года после оперативного лечения рецидива не было. Соответственно при G2 эта величина составила 85% и при G3 – 73%. Однако различия в выживаемости, судя по величине χ^2 , были несущественны.

Grade характеризует степень злокачественности опухоли. Чем менее она дифференцирована, тем более злокачественна. Поэтому логично было предполагать разную безрецидивную выживаемость пациентов, опухоль легкого у которых характеризуется разным Grade. Действительно, исследование 531 пациента с HMPJ приве-

ло к заключению о том, что степень дифференцировки опухолевых клеток может служить в качестве критерия оценки риска рецидива заболевания после хирургического лечения, но, главным образом, на I-II стадиях [23]. В проведенном нами ранее исследовании мы также наблюдали разницу безрецидивной выживаемости пациентов с I-II стадиями аденокарциномы и плоскоклеточного рака легкого [24]. Особенностью III стадии является то обстоятельство, что заболевание уже имеет выраженный характер. Можно допустить, что на этом этапе Grade теряет влияние на вероятность рецидива. Поэтому мы не наблюдали существенной разницы в безрецидивной выживаемости пациентов с III стадией АК в зависимости от дифференцированности клеток опухоли.

У пациентов с T4N1M0 (IIIA стадия АК), безрецидивная выживаемость после проведенного лечения меньше, чем у пациентов с другими вариантами Т и N стадии IIIA (табл. 2). А у пациентов с T3N2M0 (IIIB стадия) рецидив заболевания развивается медленнее, чем при других TN-комбинациях этой же стадии. Соответственно построенному графику Каплана-Майера (рис. 1, а), пациенты через год после проведенного лечения разделяются на две группы. Одна характеризуется сравнительно высокой выживаемостью и включает пациентов с T1N2M0, T3N1M0, T2N2M0, T4N0M0, T3N2M0. В другую группу входят пациенты с более коротким безрецидивным периодом. Она включает T4N1M0 и T4N2M0. Разница выживаемости между этими группами весьма значительна, если судить по результатам Log Rank теста ($\chi^2 = 8,35$, $p=0,039$).

Полученные данные служили основанием для объединения пациентов с вышеперечисленными характеристиками в группы медленного и быстрого риска рецидива заболевания после проведенного лечения. Результаты построения графика Каплана-Майера (рис. 1, б) в объединенных группах демонстрируют различие, которое значительно превышает приведенные выше разницу выживаемости в зависимости только от размера опухоли Т или от наличия регионарных метастазов N, или от степени дифференцировки G, или от стадии А-В. Особенно отчетливо оно проявляется через 3 месяца после проведенного лечения, все время нарастая. Величина χ^2 , характеризующая различия кривых безрецидивной выживаемости для этих групп пациентов с III стадией АК, самая большая и составила 10,31 ($p=0,025$).

В группе высокого риска рецидива опухоли из 42 лабораторных показателей только абсолютные показатели концентрации моноцитов, эозинофильных лейкоцитов ([ЭФ]), отношение [ЭФ]/[МЦ], доля лимфоцитов с рецептором CXCR1 и уровень Sufra 21-1 были существенно выше, чем в группе низкого риска. (табл. 3). Остальные показатели (индексы SII, IPI, SIRI, уровень HIF-1 α , CXCL5, CXCL8, TuM2 PK, CXCR1 и др.) были неинформативными.

Поэтому только эти параметры использованы в моделях пропорциональных рисков Кокса, которые показывают одинаковую значимость их для выживаемости пациентов (табл. 4). Одновременно, результаты многофакторного анализа подтверждают результаты однофакторного анализа о наличии связи, на сей раз, совокупности этих же параметров с безрецидивной выживаемостью.

Таблица 2

Деление III стадии рака легкого в зависимости от размера опухоли (Т) и распространенности регионарных метастазов (N)

Стадия	Комбинация Т и N
IIIA	T1N2M0, T2N2M0, T3N1M0, T4N0M0, T4N1M0
IIIB	T1N3M0, T2N3M0, T3N2M0, T4N2M0
IIIC	T3N3M0, T4N3M0

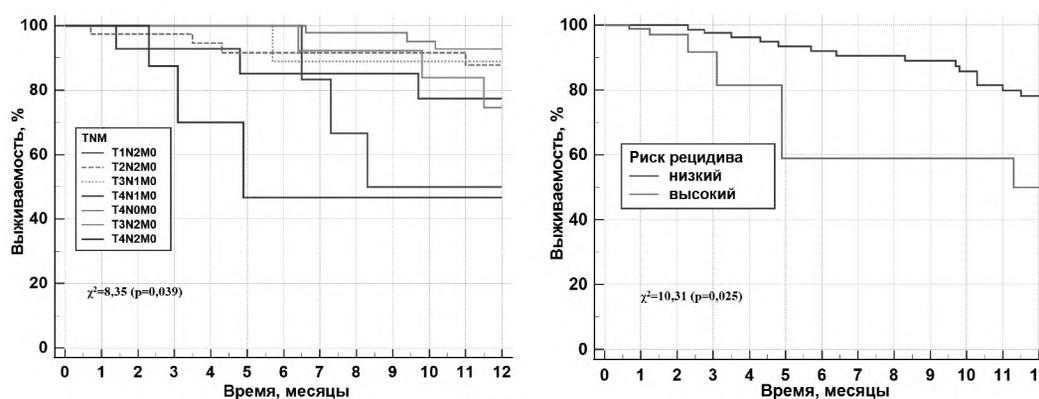


Рис. 1. Безрецидивная выживаемость пациентов с III стадией АК в зависимости от: а – размера опухоли и наличия регионарных метастазов, б – группы риска.

Таблица 3

Уровень рецепторов, клеток и белков крови, статистически достоверно отличающийся у пациентов с III стадией АК и различной длительностью безрецидивного периода после проведенного лечения

Показатель	Низкий риск	Высокий риск	p
[МЦ], $\times 10^9/\text{л}$	0,61 [0,51 – 0,72]	0,92 [0,68 – 1,19]	0,031
[ЭФ], $\times 10^9/\text{л}$	0,12 [0,060 – 0,21]	0,34 [0,30 – 0,45]	0,006
[ЭФ]/[МЦ]	0,157 [0,088 – 0,287]	0,469 [0,288 – 0,682]	0,021
Доля лимфоцитов с CXCR1, %	1,60 [0,70 – 2,30]	3,50 [3,40 – 4,80]	0,016
[CYFRA 21-1], нг/мл	2,98 [2,22 – 4,24]	5,35 [3,60 – 12,31]	0,031

Таблица 4

Значимые изменения концентрации клеток и белков в крови для безрецидивной выживаемости пациентов с III стадией АК по результатам анализа модели пропорциональных рисков Кокса

Показатель	Одновариантная модель		Многовариантная модель	
	ОР (95% ДИ)	p	ОР (95% ДИ)	p
Доля лимфоцитов с CXCR1, %	1,137 (1,005 – 1,269)	0,013	1,112 (1,003 – 1,221);	0,019
[CYFRA 21-1], нг/мл	1,211 (1,009 – 1,413)	0,016	1,185 (1,007 – 1,413);	0,018
[МЦ], $\times 10^9/\text{л}$	1,189 (1,093 – 1,285)	0,023	1,162 (1,074 – 1,250);	0,027
[ЭФ], $\times 10^9/\text{л}$	11,357 (1,205 – 14,241)	0,027	10,121 (1,181 – 13,322);	0,034
[ЭФ]/[МЦ]	12,152 (1,511-22,793)	0,019	11,373 (1,409-21,337);	0,023

Примечание. ОР – отношение рисков; 95% ДИ – 95% – доверительный интервал; p – показатель уровня статистической достоверности отношения рисков.

Согласно результатам ROC-анализа самая высокая специфичность (82,4%) характерна для определения относительного количества лимфоцитов, снабженных CXCR1, в то время как диагностическая чувствительность значений этого показателя не превышает 66,7% (табл. 5). Значения других отобранных показателей имели соизмеримые цифры этих параметров в диапазоне 63,2%-76,2%. Как результат, диагностическая эффективность их использования для прогнозирования безрецидивной выживаемости самой низкой была у концентрации моноцитов – 65%, а самой высокой у лимфоцитов, снабженных CXCR1 – 75%.

Три показателя: Cyfra 21-1, CXCR1 лимфоциты и Э/М были вовлечены в регрессионный анализ для составления уравнения. Ожидалось, что результаты уравнения могут иметь более высокие чувствительность и специфичность в стратификации пациентов с АК III по длительности безрецидивной выживаемости. Вовлечение комбинации показателей или маркеров – общепринятый прием именно с такой целью [25-30]. Удобство

же регрессионного уравнения заключается в том, что в результате использования для его расчета нескольких маркеров получается одно числовое значение, которое удобно анализировать с диагностической или прогностической целью. Приводим уравнение логистической регрессии для предсказания развития опухолевой прогрессии у пациентов с III стадией АК.

$$Y = \frac{\exp(-14,022 + 0,539 \cdot X_1 + 1,294 \cdot X_2 + 12,035 \cdot X_3)}{1 + \exp(-14,022 + 0,539 \cdot X_1 + 1,294 \cdot X_2 + 12,035 \cdot X_3)},$$

где: X1 – результат определения концентрации (нг/мл) антигена Cyfra 21-1 в сыворотке крови; X2 – относительное количество (%) рецептора CXCR1 в лимфоцитах; X3 – отношение эозинофильных лейкоцитов к моноцитам; Y – результат регрессионного уравнения; числа перед значениями X1-X3 – коэффициенты логистической регрессии; $\exp (\approx 2,718)$ – основание натурального логарифма; «- 14,022» – константа логистического уравнения.

Диагностическая значимость определения уровня параметров в крови пациентов с низким и высоким риском рецидива

Показатель	ПЗ	ДЧ	ДС	ПЦПР	ПЦОР	AUC	ДЭ
Доля лимфоцитов с CXCR1, %	>2,55	66,7	84,2	82,4	69,6	0,713	75,0
[CYFRA 21-1], нг/мл	>4,16	71,4	73,7	74,8	69,9	0,703	72,5
[МЦ], $\times 10^9/\text{л}$	>0,77	66,7	63,2	66,7	63,2	0,631	65,0
[ЭФ], $\times 10^9/\text{л}$	>0,24	61,9	73,7	72,2	63,6	0,653	67,5
[ЭФ]/[МЦ]	>0,313	76,2	63,2	69,6	70,6	0,672	70,0
Y	>0,597	85,7	94,7	90,0	85,0	0,842	87,5

Примечание. ПЗ – пороговое значение, ДЧ – диагностическая чувствительность, ДС – диагностическая специфичность, ПЦПР – прогностическая ценность положительного результата, ПЦОР – прогностическая ценность отрицательного результата, AUC- площадь под ROC-кривой, ДЭ – диагностическая эффективность, Y – результат регрессионного уравнения.

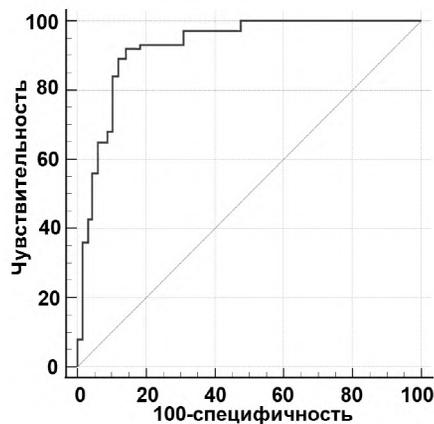


Рис. 2. ROC-кривая модели прогнозирования безрецидивной выживаемости у пациентов с АК III стадии после оперативной резекции опухоли.

Анализ качества уравнения логистической регрессии (см. формулу) показывает, что все отобранные показатели вносят существенный вклад в его результат. Это следует из того обстоятельства, что их включение в уравнение приводит к значительному снижению отрицательного удвоенного значения логарифма функции правдоподобия ($\Delta=35,1$, $p<0,05$) и соответствует хорошему качеству предложенной модели. Об этом же свидетельствует рассчитанный критерий согласия Хосмера-Лемешева, равный 12,1 ($p=0,158$). То есть, уровень статистической значимости превышает значение 0,05, что подтверждает согласованность данных регрессионного уравнения при отнесении пациентов к низкому или высокому риску прогрессирования опухоли при АК.

О надежности регрессионного уравнения, которое использует комбинацию из значений уровня вышеназванных маркеров для прогнозирования риска опухолевой прогрессии, свидетельствуют и результаты ROC-анализа. Площадь под ROC-кривой, согласно экспертной шкале AUC, соответствует «очень хорошему» качеству прогностической модели (0,842) (рис. 2). Оптимальное пороговое значение для разделения групп низкого и высокого риска развития опухолевой прогрессии составляет 0,597 (табл. 5). То есть, если значение $Y>0,597$, то в 90% случаев у пациента действительно высокая вероятность рецидива опухоли, в то время как при значении $Y\leq 0,597$ у 85% пациентов будет правильно предсказана низкая вероятность.

Диагностическая эффективность определения вероятности низкого или высокого риска развития рецидива опухоли в случае использования результатов логистического уравнения значительно выросла – до 87,5% (чувствительность – 85,7%, специфичность – 94,7%). Как видно, все эти показатели оказались гораздо выше, чем при использовании каждого из них с аналогичной прогностической целью в отдельности (табл. 5).

Работоспособность предложенной регрессионной модели на основе полученного порогового значения $Y=0,597$ демонстрирует график Каплана-Майера выживаемости пациентов с III стадией АК до прогрессирования (рис. 3). Распределение безрецидивной выживаемости на относительно высокую и низкую, по данным однолетнего наблюдения, соответствует результатам TNM-стратификации (рис. 1б). Выживаемость к концу первого года для пациентов с низким риском развития опухолевой прогрессии составляет 79% – для TNM-стратификации и 77% – при вовлечении отобранных параметров крови в регрессионное уравнение. Для пациентов с высоким риском опухолевой прогрессии выживаемость к концу первого года после проведенного лечения составляет 49% и 48%, соответственно. Медианное значение длительности периода безрецидивной выживаемости для группы высокого риска составляет 11,3 месяца для TNM-стратификации и 11,4 месяцев – при оценке выживаемости по лабораторным показателям. Обращает внимание еще одно обстоятельство: отчетливая разница между графиками высокой и низкой выживаемости имеет место уже на первом месяце после проведенного

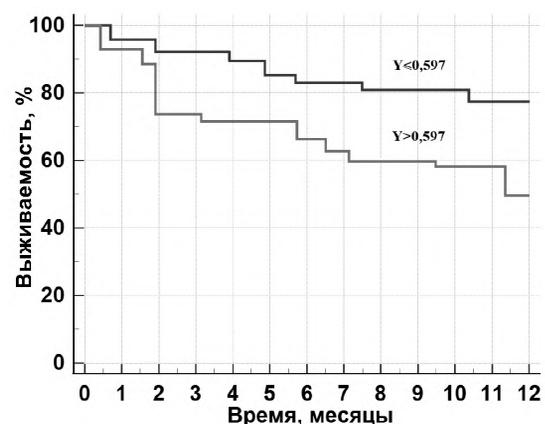


Рис. 3. Безрецидивная выживаемость пациентов с III стадией АК в зависимости от результата регрессионного уравнения Y.

лечения и в дальнейшем она увеличивается. Различия же кривых высокой и низкой безрецидивной выживаемости, построенных на основе TNM, появляется только спустя два месяца после проведенного лечения.

Таким образом, проведение графического анализа Каплана-Майера и последующий отбор критериев, позволивших разделить пациентов с III стадией АК на группы высокого и низкого риска рецидива заболевания, анализ лабораторных показателей – кандидатов в биомаркеры, обосновывают связь абсолютных показателей концентрации моноцитов, эозинофильных лейкоцитов, доли лимфоцитов с рецептором CXCR1 в крови и уровня Суфа 21-1 в сыворотке крови с длительностью безрецидивного периода у пациентов с АК III стадии. Составленное регрессионное уравнение, включающее результаты их определения, будет полезно для использования их в предсказании безрецидивной выживаемости пациентов с III стадией АК.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Vansteenkiste J., Postmus P.E., Kerr K.M., Oudkerk M., Senan S., Waller D.A. et al. Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann. Oncol.* 2013; 24 (Suppl 6):vi89–98. DOI: 10.1093/annonc/mdx222.
2. Navani N., Fisher D.J., Tierney J.F., Stephens R.J., Burdett S. Preoperative chemotherapy for non-small-cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis of individual participant data. *Lancet.* 2014; 383(9928):1561–71. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)62159-5.
3. Perez-Moreno P., Brambilla E., Thomas R., Soria J.C. Squamous cell carcinoma of the lung: molecular subtypes and therapeutic opportunities. *Clin. Cancer Res.* 2012; 18(9):2443-51. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2370.
4. Feng W., Fu X.L., Cai X.W., Yang H.J., Wu K.L., Fan M., et al. Patterns of local regional failure in completely resected stage IIIA(N2) non-small cell lung cancer cases: implications for postoperative radiation therapy clinical target volume design. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2014; 88(5):1100–7. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2013.12.048.
5. Fortunato O., Boeri M., Moro M., Verri C., Mensah M., Conte D. et al. Mir-660 is downregulated in lung cancer patients and its replacement inhibits lung tumorigenesis by targeting MDM2-p53 interaction. *Cell Death Dis.* 2014; 5:e1564. DOI: 10.1038/cddis.2014.507.
6. Huang M.S., Jong S.B., Tsai M.S., Lin M.S., Chong I.W., Lin H.C., et al. Comparison of cytokeratin fragment 19 (CYFRA 21-1), tissue polypeptide antigen (TPA) and carcinoembryonic antigen (CEA) as tumour markers in bronchogenic carcinoma. *Respir. Med.* 1997; 91(3):135-42. DOI: 10.1016/S0954-6111(97)90049-4.
7. Chen Z.Q., Huang L.S., Zhu B. Assessment of Seven Clinical Tumor Markers in Diagnosis of Non-Small-Cell Lung Cancer. *Dis. Markers.* 2018; 2018:9845123. DOI: 10.1155/2018/9845123.
8. Noonan S.A., Patil T., Gao D., King G.G., Thibault J.R., Lu X., et al. Baseline and On-Treatment Characteristics of Serum Tumor Markers in Stage IV Oncogene-Addicted Adenocarcinoma of the Lung. *J. Thorac. Oncol.* 2018; 13(1):134-138. DOI: 10.1016/j.jtho.2017.08.005.
9. Zamay T.N., Zamay G.S., Kolovskaya O.S., Zukov R.A., Petrova M.M., Gargaun A., et al. Current and Prospective Protein Biomarkers of Lung Cancer. *Cancers (Basel).* 2017; 9(11):155. DOI: 10.3390/cancers9110155.
10. Yu Z., Zhang G., Yang M., Zhang S., Zhao B., Shen G., et al. Systematic review of CYFRA 21-1 as a prognostic indicator and its predictive correlation with clinicopathological features in Non-small Cell Lung Cancer: A meta-analysis. *Oncotarget.* 2017; 8(3):4043-4050. DOI: 10.18632/oncotarget.14022.
11. Yang J.R., Xu J.Y., Chen G.C., Yu N., Yang J., Zeng D.X., et al. Post-diagnostic C-reactive protein and albumin predict survival in Chinese patients with non-small cell lung cancer: a prospective cohort study. *Sci. Rep.* 2019; 9(1):8143. DOI: 10.1038/s41598-019-44653-x.
12. Yang R., Chang Q., Meng X., Gao N., Wang W. Prognostic value of Systemic immune-inflammation index in cancer: A metaanalysis. *J. Cancer.* 2018; 9(18):3295-3302. DOI: 10.7150/jca.25691.
13. Leuzzi G., Galeone C., Gisabella M., Duranti L., Taverna F., Sautoni P., et al. Baseline C-reactive protein level predicts survival of early-stage lung cancer: evidence from a systematic review and meta-analysis. *Tumori.* 2016; 102(5):441-9. DOI: 10.5301/tj.5000522.
14. Zhang W., Wang H., Sun M., Deng X., Wu X., Ma Y., et al. CXCL5/CXCR2 axis in tumor microenvironment as potential diagnostic biomarker and therapeutic target. *Cancer Commun. (Lond.).* 2020; 40(2-3):69-80. DOI: 10.1002/cac2.12010.
15. Luo Z., Wu R.R., Lv L., Li P., Zhang L.Y., Hao Q.L., et al. Prognostic value of CD44 expression in non-small cell lung cancer: a systematic review. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2014; 7(7):3632-46.
16. Yang S.L., Ren Q.G., Wen L., Hu J.L. Clinicopathological and prognostic significance of hypoxia-inducible factor-1 alpha in lung cancer: a systematic review with meta-analysis. *J. Huazhong Univ. Sci. Technol. Med. Sci.* 2016; 36(3):321-7. DOI: 10.1007/s11596-016-1586-7.
17. Carvalho S., Troost E.G., Bons J., Menheere P., Lambin P., Oberije C. Prognostic value of blood-biomarkers related to hypoxia, inflammation, immune response and tumour load in non-small cell lung cancer – A survival model with external validation. *Radiother. Oncol.* 2016; 119(3):487-94. DOI: 10.1016/j.radonc.2016.04.024.
18. Holdenrieder S., Wehnl B., Hettwer K., Simon K., Uhlig S., Dayyani F. Carcinoembryonic antigen and cytokeratin-19 fragments for assessment of therapy response in non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Br. J. Cancer.* 2017; 116(8):1037-45. DOI: 10.1038/bjc.2017.45.
19. Wang J., Jiang W., Zhang T., Liu L., Bi N., Wang X., et al. Increased CYFRA 21-1, CEA and NSE are Prognostic of Poor Outcome for Locally Advanced Squamous Cell Carcinoma in Lung: A Nomogram and Recursive Partitioning Risk Stratification Analysis. *Transl. Oncol.* 2018; 11(4):999-1006. DOI: 10.1016/j.tranon.2018.05.008.
20. Yang R., Chang Q., Meng X., Gao N., Wang W. Prognostic value of Systemic immune-inflammation index in cancer: A meta-analysis. *J. Cancer.* 2018; 9(18):3295-3302. DOI: 10.7150/jca.25691.
21. Dirican N., Dirican A., Anar C., Atalay S., Ozturk O., Bircan A., et al. A New Inflammatory Prognostic Index, Based on C-reactive Protein, the Neutrophil to Lymphocyte Ratio and Serum Albumin is Useful for Predicting Prognosis in Non-Small Cell Lung Cancer Cases. *Asian. Pac. J. Cancer Prev.* 2016; 17(12):5101-6. DOI: 10.22034/APJCP.2016.17.12.5101.
22. Xu L., Yu S., Zhuang L., Wang P., Shen Y., Lin J., et al. Systemic inflammation response index (SIRI) predicts prognosis in hepatocellular carcinoma patients. *Oncotarget.* 2017; 8(21):34954-60. DOI: 10.18632/oncotarget.16865.
23. Hidetaka U., Fumihito T. Prediction of recurrence after complete resection in patients with NSCLC. *Anticancer Res.* 2012; 32(9):3953-60.
24. Tahanovich A.D., Kauhanka N.N., Prohorova V.I., Murashka D.I., Gotko O.V. Determination of the Risk of Tumor Progression in Patients with Early Stages of Adenocarcinoma and Squamous Cell Lung Carcinoma Based on Laboratory Parameters. *Biochem. (Moscow), Suppl. Ser. B: Biomed. Chem.* 2022; 16(2), 154-63. DOI: 10.18097/PBMC20216706507.
25. DeCotiis C., Hu Y., Greenberg A.K., Huie M., Tsay J.C., Pass H., et al. Inflammatory cytokines and non-small cell lung cancer in a CT-scan screening cohort: Background review of the literature. *Cancer Biomark.* 2016; 16(2):219-33. DOI: 10.3233/CBM-150559.
26. Liao C., Yu Z., Guo W., Liu Q., Wu Y., Li Y., et al. Prognostic value of circulating inflammatory factors in non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Biomark.* 2014; 14(6):469-81. DOI: 10.3233/CBM-140423.
27. Molina R., Holdenrieder S., Auge J.M., Schalhorn A., Hatz R., Stieber P. Diagnostic relevance of circulating biomarkers in patients with lung cancer. *Cancer Biomark.* 2010; 6(3-4):163-78. DOI: 10.3233/CBM-2009-0127.
28. Fang R., Zhu Y., Khadka V.S., Zhang F., Jiang B., Deng Y. The Evaluation of Serum Biomarkers for Non-small Cell Lung Cancer (NSCLC) Diagnosis. *Front. Physiol.* 2018; 9:1710. DOI: 10.3389/fphys.2018.01710.
29. Holdenrieder S. Biomarkers along the continuum of care in lung cancer. *Scand. J. Clin. Lab. Invest. Suppl.* 2016; 245:S40-5. DOI: 10.1080/00365513.2016.1208446.
30. Sylman J.L., Mitrugno A., Atallah M., Tormoen G.W., Shatzel J.J., Tassi Yunga S., et al. The Predictive Value of Inflammation-Related Peripheral Blood Measurements in Cancer Staging and Prognosis. *Front. Oncol.* 2018; 8:78. DOI: 10.3389/fonc.2018.00078.