

## ГЕМАТОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

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

### КОМБИНИРОВАННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОМАРКЕРОВ В ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ АДЕНОКАРЦИНОМЫ 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

**Актуальность.** Имеется необходимость поиска предикторов, способных служить важным дополнением проводимого мониторинга, чтобы диагностировать или предсказывать рецидив опухоли у каждого конкретного пациента после оперативного лечения как можно раньше.

**Цель** - изучить возможность использования единого лабораторного критерия для определения вероятности развития рецидива опухоли у пациентов с I-IIIВ стадиями АК легкого.

**Материал и методы.** Обследованы 117 пациентов (79 мужчин и 38 женщин), у которых впервые диагностирована АК легкого I-IIIВ стадии (I стадия - 28, II стадия - 36, IIIА, В стадии - 53). Измеряли концентрацию фрагмента 19 цитокератина CYFRA 21-1, плотность расположения рецептора CXCR1 на гранулоцитах и долю лимфоцитов, снабженных рецепторами CXCR1, CXCR2, в общей популяции этих клеток крови и отношение эозинофилы/моноциты до начала лечения и через 3 недели, 3 и 6 месяцев после лечения.

**Результаты.** Предложено объединенное регрессионное уравнение, включающее абсолютные значения 5 индивидуальных биомаркеров. Вероятность рецидива по измерению разницы результатов регрессионного уравнения через 3 недели и через 3 месяца, через 3 и 6 месяцев, через 3 недели и через 6 месяцев после проведенного лечения имела диагностическую эффективность 77,8%, 88,9%, 94,0% соответственно (чувствительность 77,1%, 88,6%, 97,1%, специфичность - 78,0%, 89,0%, 92,7%) при пороговых значениях 0,063, 0,127 и 0,190 соответственно.

**Заключение.** На основе созданного объединенного уравнения построена номограмма для оценки вероятности рецидива опухоли после проведенного лечения.

**Ключевые слова:** аденокарцинома; CYFRA 21-1; CXCR1; CXCR2; рецидив; диагностика; номограмма

**Для цитирования:** Таганович А. Д., Ковганко Н. Н., Колб А.В., Готько О. В., Прохорова В. И. Комбинированное определение биомаркеров в оценке эффективности лечения аденокарциномы легкого. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (5): 184-194. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-5-184-194>

**Для корреспонденции:** Таганович Анатолий Дмитриевич, зав. каф. биологической химии; e-mail: [ataganovich@gmail.com](mailto:ataganovich@gmail.com)

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

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства здравоохранения Республики Беларусь (грант 2.17/2022).

Поступила	21.02.2024
Принята к печати	10.04.2024
Опубликовано	25.04.2024

Tahanovich A.D.<sup>1</sup>, Kauhanka N.N.<sup>1</sup>, Kolb A.V.<sup>1</sup>, Gotko O.V.<sup>2</sup>, Prokhorova V.I.<sup>2</sup>

### COMBINED DETERMINATION OF BIOMARKERS IN ASSESSING THE TREATMENT EFFECTIVENESS FOR LUNG ADENOCARCINOMA

<sup>1</sup> Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus;

<sup>2</sup> National Centre of oncology and medical radiology, Minsk, Belarus

**Background.** There is a need to search for predictors that can serve as an important addition to ongoing monitoring in order to diagnose or predict tumor recurrence in each individual patient after surgical treatment as early as possible.

**Objective.** To study the possibility of using a single laboratory criterion to determine the likelihood of tumor recurrence in patients with stages I-IIIВ of lung AK.

**Material and methods.** We examined 117 patients (79 men and 38 women) who were newly diagnosed with stage I-IIIВ pulmonary AK (stage I - 28, stage II - 36, stage IIIА, stage B - 53). The concentration of fragment 19 of cytokeratin CYFRA 21-1, the density of the CXCR1 receptor on granulocytes and the proportion of lymphocytes equipped with CXCR1, CXCR2 receptors in the total population of these blood cells and the eosinophil/monocyte ratio were measured before treatment and 3 weeks, 3 and 6 months after treatment.

**Results.** A combined regression equation was proposed that included the absolute values of 5 individual biomarkers. The probability of relapse as measured by the difference in the results of the regression equation after 3 weeks and after 3 months, after 3 and 6 months, after 3 weeks and 6 months after treatment had a diagnostic efficiency of 77.8%, 88.9%, 94.0%, respectively (sensitivity 77.1%, 88.6%, 97.1%, specificity - 78.0%, 89.0%, 92.7%) with threshold values of 0.063, 0.127 and 0.190, respectively.

**Conclusion.** Based on the created combined equation, a nomogram was constructed to assess the probability of tumor recurrence after treatment.

**Key words:** adenocarcinoma; CYFRA 21-1; CXCR1; CXCR2; relapse; diagnosis; nomogram

**For citation:** Tahanovich A.D., Kauhanka N.N., Kolb A.V., Gotko O.V.<sup>2</sup>, Prokhorova V.I.

Combined determination of biomarkers in assessing the treatment effectiveness for lung adenocarcinoma. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (5): 184-194 (in Russ.).

DOI: https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-5-184-194

**For correspondence:** Tahanovich Anatoli Dmitrievich, 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>;

Gotko O.V., <https://orcid.org/0000-0001-8083-0861>;

Prokhorova V.I., <https://orcid.org/0000-0002-6078-4447>.

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

**Acknowledgment.** The study was carried out with financial support from the Ministry of Health of the Republic of Belarus (grant 2.17/2022).

Received 21.02.2024

Accepted 10.04.2024

Published 25.04.2024

**Введение.** Аденокарцинома (АК) является наиболее частым (50%) гистологическим подтипом немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ). НМРЛ, в свою очередь, составляет более 85% всех случаев рака легкого [1,2]. Даже на ранних стадиях 5-летний барьер выживаемости преодолевают только 60-70% пациентов с I стадией АК и 35-40% - со II стадией (по классификации TNM). На III стадии 5-летняя выживаемость снижается до 20-25% [2]. Основой лечения таких пациентов (стадии I-IIIb) служит анатомическая резекция опухоли в ходе хирургического вмешательства. Пациентам, как правило, выполняется операция в объеме R0, что предполагает полное удаление опухолевой ткани, а у пациентов с III стадией заболевания хирургическое лечение сопряжено с химиотерапией. Тем не менее, в ходе послеоперационного наблюдения у 20% пациентов даже при I стадии диагностируется рецидив [3]. Он обусловлен наличием скрытых метастазов или оставшихся опухолевых клеток после резекции.

Алгоритм мониторинга пациентов с АК включает проведение врачебного осмотра каждые 3 месяца в течение первых двух лет после операции [4]. Согласно ему, в случае удовлетворительного самочувствия пациента компьютерная томография (КТ) проводится через 6 месяцев и через год после проведенного лечения. По сути, это сроки выявления раннего рецидива. Между тем, рецидив может сформироваться и до 6 месяцев или в период 6 месяцев – 1 год после операции. То есть, имеется необходимость поиска предикторов, способных служить важным дополнением проводимого мониторинга, чтобы диагностировать или предсказывать рецидив опухоли у каждого конкретного пациента после оперативного лечения как можно раньше.

Проведенные нами ранее исследования позволили предложить несколько показателей в крови, измеряя

уровень которых через 3 недели, 3 и 6 месяцев после проведенного лечения возможно обоснованно предполагать развитие рецидива у пациентов с АК [5,6]. Для пациентов с I-II стадиями АК в их число вошли фрагмент 19 цитокератина CYFRA 21-1, плотность расположения рецептора CXCR1 на гранулоцитах (CXCR1, MFI, гранулоциты) и доля лимфоцитов в общей популяции этих клеток в крови, снабженных рецептором CXCR2 (CXCR2, %, лимфоциты). Для пациентов с III стадией АК в набор показателей вошли фрагмент 19 цитокератина (CYFRA 21-1), доля лимфоцитов в общей популяции этих клеток в крови, снабженных рецептором CXCR1 (CXCR1, %, лимфоциты) и отношение эозинофилы/моноциты (Э/М). Все перечисленные показатели являются участниками воспалительного ответа, который сопутствует развитию опухоли [7-10]. Было показано, что их комбинированное определение в составе сформированных регрессионных уравнений в качестве прогностического фактора для каждой из групп пациентов в отдельности имеет преимущество по сравнению с индивидуальным определением каждого из показателей.

В качестве маркера ответа на проводимое лечение из вышеназванных показателей у пациентов с АК другими исследователями анализировался только фрагмент 19 цитокератина, диагностические характеристики которого были невысоки [11-13]. Тем не менее, он играет значительную прогностическую роль для общей выживаемости после хирургического лечения пациентов с ранними стадиями рака легкого [12,13]. Было также показано, что он является наиболее перспективным из биохимических маркеров для прогнозирования безрецидивной выживаемости пациентов, стадии развития опухоли [14-18]. Известны и противоположные результаты [19].

Количество показателей, которые могут быть во-

влечены в бинарную логистическую регрессионную модель, как правило, ограничивается выбором уровня статистической значимости и не должно превышать 20 при  $p=0,05$ . Наиболее оптимальным считается до 6 предикторов, поскольку последующее увеличение уже не приводит к значительному увеличению стратифицирующей способности регрессионной модели [20]. Созданные нами оригинальные модели распознавания рецидива опухоли отдельно у пациентов I-II и III стадий АК можно преобразовать в одно уравнение, которое являлось бы общим для всех пациентов с I-III стадиями этого заболевания, что упростило бы мониторинг эффективности проведенного у них

лечения в практической онкологии. Руководствуясь таким предположением, было предпринято настоящее исследование.

**Материал и методы.** В исследовании участвовали 117 пациентов (79 мужчин и 38 женщин), поступивших в стационар ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова» в период 2021-2022 гг., у которых впервые диагностирована АК легкого I-III стадии. Стадия I была диагностирована у 28 пациентов (20 мужчин и 8 женщин), II стадия - у 36 пациентов (25 мужчин и 11 женщин), стадия IIIA,B - у 53 пациентов (37 мужчин и 16 женщин). Средний возраст составил  $59 \pm 18,5$  лет.

Таблица 1

Характеристика пациентов, включенных в исследование

TNM стадия	М/Ж	TNM стадия	М/Ж	TNM стадия	М/Ж
T1aN0M0	4/2	T1bN1M0	4/2	T2N2M0	6/3
T1bN0M0	7/3	T1cN1M0	4/1	T3N1M0	5/2
T1cN0M0	9/3	T2aN1M0	3/2	T3N2M0	4/2
T2aN0M0	3/1	T2bN1M0	2/2	T4N0M0	5/2
T2bN0M0	3/1	T3N0M0	3/1	T4N1M0	5/3
T1aN1M0	3/1	T1N2M0	8/2	T4N2M0	4/2

У всех пациентов была проведена хирургическая резекция опухоли (объем оперативного вмешательства – R0). У пациентов с T1N2M0, T2N2M0, T3N1M0, T3N2M0 оперативного вмешательства дополнительно проводилась адьювантная полихимиотерапия (АПХТ) - 4 курса, включающих комбинацию винорельбина (В) – 25-30 мг/м<sup>2</sup> и цисплатина (Ц) – 80 мг/м<sup>2</sup>. У пациентов с T4N0M0, T4N1M0, T4N2M0 до оперативного вмешательства проводилось 2 курса неoadьювантной полихимиотерапии, состоящих из комбинации В+Ц, затем выполнялась хирургическая резекция опухоли с последующим назначением 2 курсов адьювантной полихимиотерапии, состоящих из комбинации В+Ц.

Уровень исследуемых показателей измеряли до и через 3 недели, 3 и 6 месяцев после окончания лечения. Сведения о развитии рецидива в течение 1 года после лечения у обследованных пациентов получены на основании данных Канцер-регистра РБ (РНПЦ онкологии и медицинской радиологии Минздрава РБ). Рецидивы развились у 8 пациентов с I стадией, у 11 – со II стадией и у 16 – с III стадией АК.

Все испытуемые дали письменное добровольное согласие на участие в исследовании. Проведение исследования было одобрено решением Комитета по биомедицинской этике учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Кровь из локтевой вены собирали натощак в вакутейнер с ЭДТА-К2 в качестве антикоагулянта. В образцах крови определяли концентрацию клеток на гематологическом анализаторе Sysmex ХЕ-5000 (Sysmex Group, Япония), после чего рассчитывали отношение эозинофилов к моноцитам. Для получения сыворотки кровь собирали в пробирку с тромбином и разделительным гелем. В сыворотке крови опреде-

ляли концентрацию CYFRA 21-1 на автоматическом анализаторе Cobas e411 (Roche Diagnostics GmbH, Германия), использующем принцип электрохемилюминесценции.

Концентрацию рецепторов CXCR1 и CXCR2 в клетках лейкоцитарного ряда и плотность их расположения в мембране клетки 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). Через 15 минут инкубации в темноте с антителами, содержащими флуоресцентную метку, 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). Концентрацию рецепторов выражали в процентах клеток, содержащих рецепторы, от общего числа этой популяции клеток в крови. Плотность расположения рецепторов на мембране клеток выражали в единицах интенсивности флуоресценции (MFI), которая была пропорциональна количеству флуоресцентно-меченых антител, связавшихся с соответствующими рецепторами.

Комбинированная модель 1 (формула 1) для диагностики рецидива у пациентов с I-II стадиями АК включала результат решения регрессионного уравнения (A) на основе определения в сыворотке крови до оперативного лечения концентрации антигена CYFRA 21-1 в нг/мл (X1); интенсивности флуоресценции рецептора CXCR1 в гранулоцитах (X2) и относительного количества (%) лимфоцитов, содержащих рецептор CXCR2 (X3) [5]:

$$A = \frac{\exp(-0,317 + 0,512 \times X1 + 0,631 \times X2 + 0,815 \times X3)}{1 + \exp(-0,317 + 0,512 \times X1 + 0,631 \times X2 + 0,815 \times X3)}$$

Формула 1. Регрессионное уравнение для прогнозирования вероятности рецидива у пациентов с АК I-II стадий.

Комбинированная модель 2 (формула 2) включала в себя результат решения регрессионного уравнения (B) на основе определения до начала лечения концентрации антигена CYFRA 21-1 в сыворотке крови, нг/

мл (X1); относительного количества (%) лимфоцитов, содержащих рецептор CXCR1 (X2) и отношения концентрации эозинофильных лейкоцитов к моноцитам (X3) [6]:

$$B = \frac{\exp(-14,022 + 0,539 \times X1 + 1,294 \times X2 + 12,035 \times X3)}{1 + \exp(-14,022 + 0,539 \times X1 + 1,294 \times X2 + 12,035 \times X3)}$$

Формула 2. Регрессионное уравнение для прогнозирования вероятности рецидива у пациентов с АК IIIA-IIIВ стадий.

Оценку интегральной диагностической информативности лабораторных тестов и результатов решения регрессионных уравнений проводили с помощью метода построения характеристических ROC-кривых с последующим вычислением площади под ROC-кривой (AUC). О диагностической ценности анализируемых показателей судили на основании расчета диагностической чувствительности (ДЧ), диагностической специфичности (ДС), предсказательной ценности положительного (ПЦП) и отри-

цательного результатов (ПЦОР) и диагностической эффективности (ДЭ) теста [20]. Для этого использовали расчетные значения истинно положительных, истинно отрицательных, ложноположительных и ложноотрицательных результатов диагностического теста. Расчет производился по общепринятым формулам. Пороговое значение определяли, как величину оптимального сочетания чувствительности и специфичности теста при построении кривых зависимости чувствительности от вероятности ложнополо-

Таблица 2

Уровень показателей у пациентов в зависимости от наличия (n=35) или отсутствия рецидива (n=82)

Показатель	Рецидив	До лечения	После лечения		
			3 недели	3 месяца	6 месяцев
CYFRA 21-1, нг/мл	Нет	4,04 [2,95; 4,65]	2,82 [0,90; 3,73]	2,85 [0,97; 3,52]	2,87 [1,01; 3,76]
	Есть	5,81 [4,83; 6,91]	3,67 <sup>1</sup> [3,27; 3,87]	4,51 <sup>2</sup> [4,24; 4,83]	5,68 <sup>2,3</sup> [5,37; 6,23]
CXCR1, %, лимфоциты	Нет	2,20 [1,50; 2,90]	1,65 [0,93; 2,00]	1,66 [0,95; 2,05]	1,68 [1,00; 2,10]
	Есть	4,12 [3,69; 4,47]	2,05 <sup>1</sup> [1,75; 2,20]	2,37 <sup>2</sup> [2,09; 2,51]	2,95 <sup>2,3</sup> [2,64; 3,20]
CXCR1, MFI, гранулоциты	Нет	31,20 [19,75; 40,15]	24,55 [13,55; 29,10]	24,65 [13,65; 30,15]	24,70 [14,25; 31,10]
	Есть	50,55 [36,35; 52,90]	27,85 <sup>1</sup> [25,65; 29,70]	33,85 <sup>2</sup> [30,75; 36,70]	45,65 <sup>2,3</sup> [40,20; 48,95]
CXCR2, %, лимфоциты	Нет	13,10 [9,55; 18,90]	8,95 [7,15; 10,25]	9,05 [7,20; 13,20]	9,20 [7,80; 14,25]
	Есть	17,65 [14,15; 19,95]	9,90 <sup>1</sup> [8,20; 10,25]	12,05 <sup>2</sup> [10,90; 13,55]	14,70 <sup>2,3</sup> [12,35; 20,15]
Э/М	Нет	0,389 [0,327; 0,418]	0,337 [0,267; 0,369]	0,339 [0,269; 0,384]	0,342 [0,271; 0,381]
	Есть	0,523 [0,495; 0,581]	0,376 <sup>1</sup> [0,351; 0,385]	0,401 <sup>2</sup> [0,369; 0,421]	0,453 <sup>2,3</sup> [0,381; 0,469]
Единое регрессионное уравнение	Нет	0,315 [0,237; 0,363]	0,215 [0,167; 0,237]	0,218 [0,171; 0,241]	0,222 [0,172; 0,243]
	Есть	0,643 [0,581; 0,695]	0,249 <sup>1</sup> [0,232; 0,253]	0,322 <sup>2</sup> [0,295; 0,313]	0,459 <sup>2,3</sup> [0,418; 0,539]

Примечание. 1 – статистически достоверные отличия уровня показателей в крови пациентов с рецидивом по сравнению с пациентами без рецидива; 2 - достоверные отличия уровня показателей в крови пациентов с рецидивом спустя 3 и 6 месяцев по сравнению с уровнем у этих же пациентов через 3 недели после проведенного лечения; 3 - достоверные отличия уровня показателей в крови пациентов с рецидивом спустя 6 месяцев по сравнению с уровнем у этих же пациентов через 3 месяца после проведенного лечения.

ложительных результатов.

Для выяснения зависимости длительности безрецидивного периода от времени наблюдения строили графики Каплана-Майера. Сравнение групп пациентов с различной безрецидивной выживаемостью проводили, используя Log Rank тест и критерий  $\chi^2$  (хи-квадрат). Оценку взаимосвязи изменения уровня определяемых показателей с выживаемостью осуществляли с помощью одно- и многофакторной моделей пропорциональных рисков Кокса.

При построении номограммы для прогнозирования вероятности рецидива опухоли вначале создавалась мультивариантная модель логистической регрессии [21]. Предикторами служили отобранные ранее показатели, которые входили в регрессионные уравнения (формулы 1 и 2). Коэффициенты уравнения логистической регрессии окончательной модели использовались для построения номограммы. Точность номограммы оценивали с помощью расчета индекса конкордантности Харрелла, который в случае логистической регрессии равен площади под ROC-кривой (AUC). Расчеты выполнены в программном комплексе MedCalc (MedCalc Software Ltd., Бельгия). При всех видах статистического анализа критическое значение уровня значимости при-

нимали равным 5%.

**Результаты.** Данные, полученные в ходе мониторинга уровня определяемых маркеров, показывают, что у всех пациентов с отсутствием рецидива, медианы значений через 3 и 6 месяцев после лечения существенно не изменяются по сравнению с уровнем через 3 недели (табл. 2). В то же время, у всех пациентов с развившимся рецидивом уровень анализируемых показателей через 3 недели, 3 и 6 месяцев после проведенного лечения был выше, чем в такие же сроки у пациентов без рецидива. При этом медианы значений всех показателей у пациентов с рецидивом существенно увеличиваются через 3 и, еще более, через 6 месяцев по сравнению с их концентрацией через 3 недели. Изменения определяемых показателей через 6 месяцев по сравнению с уровнем показателя через 3 месяца и через 3 месяца по сравнению с уровнем показателя через 3 недели статистически достоверны.

Все вышеназванные 5 показателей, которые вошли в формулы 1 и 2, были включены в уравнение логистической регрессии, значения которого позволили бы рассчитывать вероятность развития рецидива у пациентов с АК независимо от стадии, после проведенного лечения (формула 3).

$$C = \frac{\exp(-12,735 + 0,527 \times X1 + 0,312 \times X2 + 0,237 \times X3 + 0,217 \times X4 + 0,311 \times X5)}{1 + \exp(-12,735 + 0,527 \times X1 + 0,312 \times X2 + 0,237 \times X3 + 0,217 \times X4 + 0,311 \times X5)}$$

Формула 3. Единое регрессионное уравнение для прогнозирования вероятности рецидива у пациентов с АК I-IIIb стадий, где  $X1$  – концентрация CYFRA 21-1 (нг/мл);  $X2$  – CXCR1, %, лимфоциты;  $X3$  – CXCR1, MFI, гранулоциты;  $X4$  – CXCR2, %, лимфоциты;  $X5$  – эозинофилы/моноциты.

Анализ качества созданного уравнения 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 ( $\Delta=34,3$ ,  $p<0,05$ ) и соответствует хорошему качеству предложенной модели. Об этом же свидетельствует

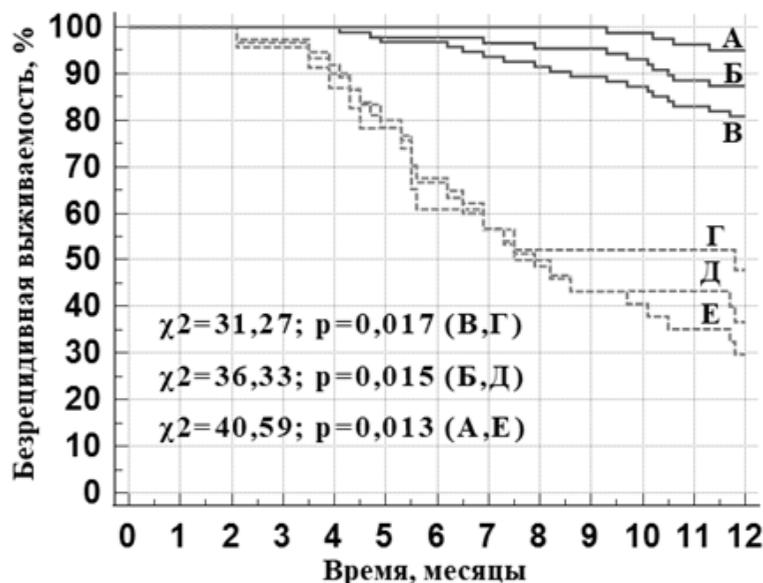


Рис. 1. Безрецидивная выживаемость пациентов в зависимости от значений регрессионного уравнения 3 по результатам измерения показателей через 3 недели (кривые В и Г), 3 месяца (кривые Б и Д), 6 месяцев (кривые А и Е) после операции. Сплошная линия – низкая вероятность рецидива, пунктирная линия – высокая вероятность рецидива.

рассчитанный критерий согласия Хосмера-Лемешева, равный 11,9 ( $p=0,157$ ). Уровень статистической значимости  $p>0,05$  подтверждает согласованность данных созданного регрессионного уравнения для диагностики рецидива у пациентов с I-III стадиями АК.

Использование полученной единой модели для стратификации пациентов методом Каплана-Майера на группы высокого и низкого риска развития рецидива на основании результатов исследования после проведенного лечения показывает, что безрецидивная выживаемость пациентов с повышенным послеоперационным уровнем маркеров значительно ниже, чем у пациентов с нормальным значением этих показателей (рис. 1). Об этом, в частности, свидетельствуют относительно высокие величины критерия  $\chi^2$ , вычисленные в разные сроки наблюдения по результатам Log-rank теста. Причем, величина этого показателя нарастает по мере удлинения срока наблюдения и уровня маркеров. Самый

высокий уровень маркеров у пациентов с рецидивом был спустя 6 месяцев после лечения, поэтому амплитуда расхождения кривых А и Е на графике наибольшая.

Динамика увеличения во времени еще более уверенно прослеживается в отношении разницы значений определяемых показателей в различные периоды после лечения (табл. 3). В период «до лечения – 3 недели после лечения» она самая большая в связи с послеоперационным падением значений показателей. В случае развивающегося рецидива опухоли уже через 3 недели начинается существенный рост, который в период «3 - 6 месяцев» как правило, выше, чем в период «3 недели – 3 месяца» после лечения. Однако и в период «3 недели – 3 месяца» у пациентов с развивающимся рецидивом значения всех показателей были выше в сравнении с пациентами без рецидива. У последних нарастание во времени концентрации определяемых показателей отсутствует.

Таблица 3

Разница значений показателей в различные временные интервалы после окончания лечения у пациентов с АК

Показатель	Рецидив	До лечения – 3 недели	3 недели – 3 месяца	3 месяца – 6 месяцев	3 недели – 6 месяцев
CYFRA 21-1, нг/мл	Нет	1,21 [0,91; 2,07]	0,02 [0,01; 0,73]	0,03 [0,01; 1,09]	0,05 [0,01; 1,92]
	Есть	2,14 [1,78; 3,53]	0,84 <sup>1</sup> [0,35; 1,13]	1,17 <sup>2</sup> [0,93; 1,51]	2,01 <sup>2,3</sup> [1,19; 2,63]
CXCR1, %, лимфоциты	Нет	0,55 [0,15; 1,70]	0,01 [0,01; 0,29]	0,02 [0,01; 0,53]	0,03 [0,01; 0,59]
	Есть	2,07 [1,51; 2,92]	0,32 <sup>1</sup> [0,17; 0,41]	0,58 <sup>2</sup> [0,37; 0,73]	0,90 <sup>2,3</sup> [0,61; 1,08]
CXCR1, MFI, гранулоциты	Нет	6,65 [3,90; 8,15]	0,10 [0,01; 5,15]	0,05 [0,01; 7,25]	0,15 [0,01; 12,30]
	Есть	22,7 [10,35; 33,75]	6,05 <sup>1</sup> [2,38; 7,25]	11,75 <sup>2</sup> [5,35; 16,55]	17,80 <sup>2,3</sup> [7,05; 22,75]
CXCR2, %, лимфоциты	Нет	4,15 [2,95; 6,05]	0,10 [0,01; 1,95]	0,15 [0,01; 2,35]	0,25 [0,01; 4,35]
	Есть	7,75 [3,95; 9,25]	2,15 [0,95; 3,95]	2,65 [1,15; 3,95]	4,48 <sup>2,3</sup> [1,35; 6,35]
Э/М	Нет	0,052 [0,009; 0,208]	0,002 [0,001; 0,022]	0,003 [0,001; 0,049]	0,005 [0,001; 0,068]
	Есть	0,147 [0,101; 0,211]	0,025 <sup>1</sup> [0,011; 0,032]	0,052 <sup>2</sup> [0,032; 0,065]	0,077 <sup>2,3</sup> [0,041; 0,091]
Единое регрессионное уравнение	Нет	0,099 [0,058; 0,173]	0,002 [0,001; 0,064]	0,004 [0,001; 0,127]	0,006 [0,001; 0,193]
	Есть	0,394 [0,189; 0,509]	0,073 <sup>1</sup> [0,011; 0,089]	0,136 <sup>2</sup> [0,097; 0,158]	0,209 <sup>2,3</sup> [0,113; 0,291]

Примечание. <sup>1</sup> – достоверные отличия разницы уровня показателей в крови пациентов с рецидивом по сравнению с пациентами без рецидива; <sup>2</sup> – достоверные отличия разницы уровня показателей в крови пациентов с рецидивом опухоли в период 3-6 месяцев по сравнению с разницей уровня в период 3 недели - 3 месяца после проведенного лечения; <sup>3</sup> - достоверные отличия разницы уровня показателей в крови пациентов с рецидивом опухоли в период 3 недели - 6 месяцев по сравнению с разницей уровня в период 3 недели - 3 месяца и 3-6 месяцев после проведенного лечения. В строке «единое регрессионное уравнение» каждое представленное значение являлось разницей абсолютных значений уравнения 3 для соответствующих временных интервалов после лечения.

Отношения рисков как в случае однофакторных, так и многофакторных моделей Кокса для разницы значений каждого из показателей в сравниваемых интервалах времени после лечения пациентов с развивающимся рецидивом опухоли статистически достоверны (табл. 4). В интервале 3 недели – 6 месяцев коэффициент отношения рисков и в однофакторной, и многофакторной моделях самый высокий. Это свидетельствует о том, что сила связи изменения уровня показателей за этот период с развитием рецидива наибольшая. Вместе с тем, разница уровня всех анализи-

руемых показателей в период 3 недели - 3 месяца также статистически достоверно связана с развитием рецидива.

Динамика разницы исследуемых показателей в различные периоды времени после лечения создает основу для оценки вероятности развития рецидива у пациентов с АК. Необходимыми требованиями для этого является информация о пороговом значении разницы уровня показателей в различные периоды мониторинга после проведенного лечения. Такие данные были получены в ходе ROC-анализа (рис. 2).

Таблица 4

Модель пропорциональных рисков Кокса, демонстрирующая зависимость развития рецидива опухоли у пациентов с АК от разницы уровня показателей после лечения

Показатель	Временной интервал	Однофакторная модель		Многофакторная модель	
		ОР (95% ДИ)	<i>p</i>	ОР (95% ДИ)	<i>p</i>
CYFRA 21-1	3 нед – 3 мес	1,117 (1,009 – 1,225)	0,039	1,111 (1,007 – 1,215)	0,041
	3 мес – 6 мес	1,205 (1,087 – 1,323)	0,033	1,197 (1,009 – 1,385)	0,035
	3 нед – 6 мес	1,306 (1,101 – 1,511)	0,021	1,289 (1,033 – 1,545);	0,027
СХСR1, %, лимфоциты	3 нед – 3 мес	1,017 (1,002 – 1,032)	0,031	1,015 (1,001 – 1,29)	0,034
	3 мес – 6 мес	1,048 (1,004 -1,092)	0,025	1,043 (1,002 – 1,084)	0,027
	3 нед – 6 мес	1,089 (1,005 – 1,173)	0,018	1,081 (1,004 – 1,158);	0,019
СХСR1, MFI, гранулоциты	3 нед – 3 мес	1,051 (1,001 – 1,049)	0,033	1,049 (1,003 – 1,095)	0,035
	3 мес – 6 мес	1,069 (1,004 -1,134)	0,027	1,064 (1,003 – 1,125)	0,029
	3 нед – 6 мес	1,099 (1,006 – 1,192)	0,019	1,093 (1,030 – 1,156);	0,023
СХСR2, %, лимфоциты	3 нед – 3 мес	1,114 (1,059 – 1,169)	0,031	1,101 (1,051 – 1,151)	0,034
	3 мес – 6 мес	1,198 (1,079 -1,317)	0,029	1,173 (1,068 – 1,278)	0,031
	3 нед – 6 мес	1,215 (1,097 – 1,333)	0,027	1,203 (1,087 – 1,319)	0,029
Э/М	3 нед – 3 мес	1,033 (1,003 – 1,063)	0,033	1,029 (1,001 – 1,057)	0,037
	3 мес – 6 мес	1,039 (1,004 -1,074)	0,030	1,031 (1,002 – 1,060)	0,034
	3 нед – 6 мес	1,051 (1,006 – 1,096)	0,026	1,046 (1,004 – 1,088);	0,029
Единое регрессионное уравнение	3 нед – 3 мес	1,207 (1,091 – 1,323)	0,021	-	-
	3 мес – 6 мес	1,249 (1,101 – 1,397)	0,019	-	-
	3 нед – 6 мес	1,307 (1,112 – 1,502)	0,016	-	-

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

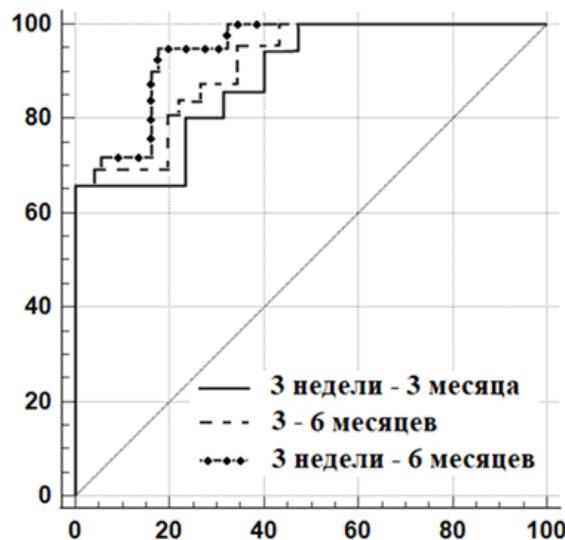


Рис. 2. ROC-кривые для разницы значений единого регрессионного уравнения (3) в соответствующие интервалы времени после лечения. По оси абсцисс - специфичность; по оси ординат - чувствительность.

В период 3 недели – 3 месяца после лечения самую высокую диагностическую эффективность имеет определение рецидива опухоли с помощью регрессионного уравнения 1 у пациентов с I-II стадиями АК – 81,3% (табл. 5, А). В интервале 3-6 месяцев она уже составляет 90,6%, а для периода 3 недели - 6 месяцев – 95,3%. Аналогично высокую, хотя и несколько меньшую эффективность имеет использование у тех же пациентов единого регрессионного уравнения 3 – 93,8% (табл. 5, В). Сопоставимые цифры имеют эффективность использования уравнения 3 с такой же целью у пациен-

тов с III,IV стадиями АК – 94,3% (табл. 5, Г). Высокая диагностическая ценность определения достигается в равной степени за счет сравнительно высокой диагностической чувствительности и специфичности.

Использование регрессионного уравнения 3 на объединенной группе пациентов с АК без разделения на стадии показывает такие же высокие результаты (табл. 5, Д), как и использование регрессионных уравнений 1 и 2 для соответствующих групп пациентов (раздельно, I-II и III стадии). В то же время, использование уравнения 1 для объединенной группы пациентов с АК демон-

стрирует существенно более низкую диагностическую эффективность по сравнению с уравнением 3 (табл. 5, Е). Снижение эффективности наблюдается и при анали-

зе объединенной группы пациентов с АК с использованием уравнения 2 независимо от временного интервала определения отобранных показателей (табл. 5).

Таблица 5

Диагностическая информативность результатов решения регрессионных уравнений (формулы 1,2,3) в различные интервалы времени после лечения пациентов с АК для определения рецидива опухоли

Сроки взятия крови	ПЗ	ДЧ	ДС	ПЦПР	ПЦОР	AUC	ДЭ
<b>А. Уравнение 1 для I-II стадий</b>							
3 недели и 3 месяца	0,047	84,2	80,0	64,0	92,3	0,796	81,3
3 и 6 месяцев	0,096	89,5	91,1	81,0	95,3	0,861	90,6
3 недели и 6 месяцев	0,141	94,7	95,6	90,0	97,7	0,917	95,3
<b>Б. Уравнение 2 для IIIA,B стадий</b>							
3 недели и 3 месяца	0,061	75,0	78,4	60,0	87,9	0,741	77,4
3 и 6 месяцев	0,117	81,3	91,9	81,3	91,9	0,852	88,7
3 недели и 6 месяцев	0,178	93,8	97,3	93,8	97,3	0,923	96,2
<b>В. Уравнение 3 только для I-II стадий</b>							
3 недели и 3 месяца	0,063	84,2	77,8	61,5	92,1	0,731	79,7
3 и 6 месяцев	0,127	89,5	88,9	77,3	95,2	0,842	89,1
3 недели и 6 месяцев	0,190	94,7	93,3	85,7	97,7	0,893	93,8
<b>Г. Уравнение 3 только для IIIA,B стадий</b>							
3 недели и 3 месяца	0,063	75,0	75,7	57,1	87,5	0,718	75,5
3 и 6 месяцев	0,127	75,0	91,9	80,0	89,5	0,799	86,8
3 недели и 6 месяцев	0,190	87,5	97,3	93,3	94,7	0,905	94,3
<b>Д. Уравнение 3 для I-IIIВ стадий</b>							
3 недели и 3 месяца	0,063	77,1	78,0	60,0	88,9	0,746	77,8
3 и 6 месяцев	0,127	88,6	89,0	77,5	94,8	0,858	88,9
3 недели и 6 месяцев	0,190	97,1	92,7	85,0	98,7	0,897	94,0
<b>Е. Уравнение 1 для I-IIIВ стадий</b>							
3 недели и 3 месяца	0,047	74,3	70,7	52,0	86,6	0,687	71,8
3 и 6 месяцев	0,096	77,1	73,2	55,1	88,2	0,715	74,4
3 недели и 6 месяцев	0,141	80,0	80,5	63,6	90,4	0,786	80,3
<b>Ж. Уравнение 2 для I-IIIВ стадий</b>							
3 недели и 3 месяца	0,061	71,4	73,2	53,2	85,7	0,701	72,6
3 и 6 месяцев	0,117	74,3	76,8	57,8	87,5	0,743	76,1
3 недели и 6 месяцев	0,178	80,0	81,7	65,1	90,5	0,789	81,2

На основе коэффициентов регрессионного уравнения 3 построена номограмма, позволяющая графически рассчитать вероятность рецидива опухоли по разнице уровня показателей, измеренных через 3 недели, 3 и 6 месяцев (рис. 3). Для этого необходимо после получения результата измерения каждого из 5 показателей, например, через 3 недели и 3 месяца, вычислить разницу их уровня в один из трех временных интервалов (3 недели – 3 месяца, 3 – 6 месяцев, 3 недели – 6 месяцев). Показатели должны быть определены в одной и той же лаборатории и одним и тем же методом. Полученные значения надо сравнить с пограничными значениями для каждого индивидуального показателя: например, в период 3 недели – 3 месяца для CYFRA 21-1 это первое число на соответствующей шкале данного показателя (индикатор >0,83, направленный вверх).

Для определения вероятности развития рецидива по

данным измерения того же показателя в период 3-6 месяцев после лечения, необходимо вычислить сумму баллов, исходя из второго пограничного значения разницы концентраций в указанный период (индикатор >1,11 на этой же шкале, направленный вниз). Третье (максимальное) пограничное значение CYFRA 21-1 (>1,94) на этой же шкале используется для вычисления суммы баллов для периода наблюдения 3 недели – 6 месяцев. Затем полученная сумма баллов по всем показателям проецируется на шкалу риска рецидива соответствующего временного периода наблюдения (3 последних внизу рисунка). Полученное значение, выраженное в виде доли от единицы, соответствует вероятности рецидива от 0 до 100%.

Величина конкордантного C-индекса Харрелла для созданной номограммы составила 0,897 (95% ДИ: 0,871-0,924), что свидетельствует о хорошей эффективности предсказания [21].

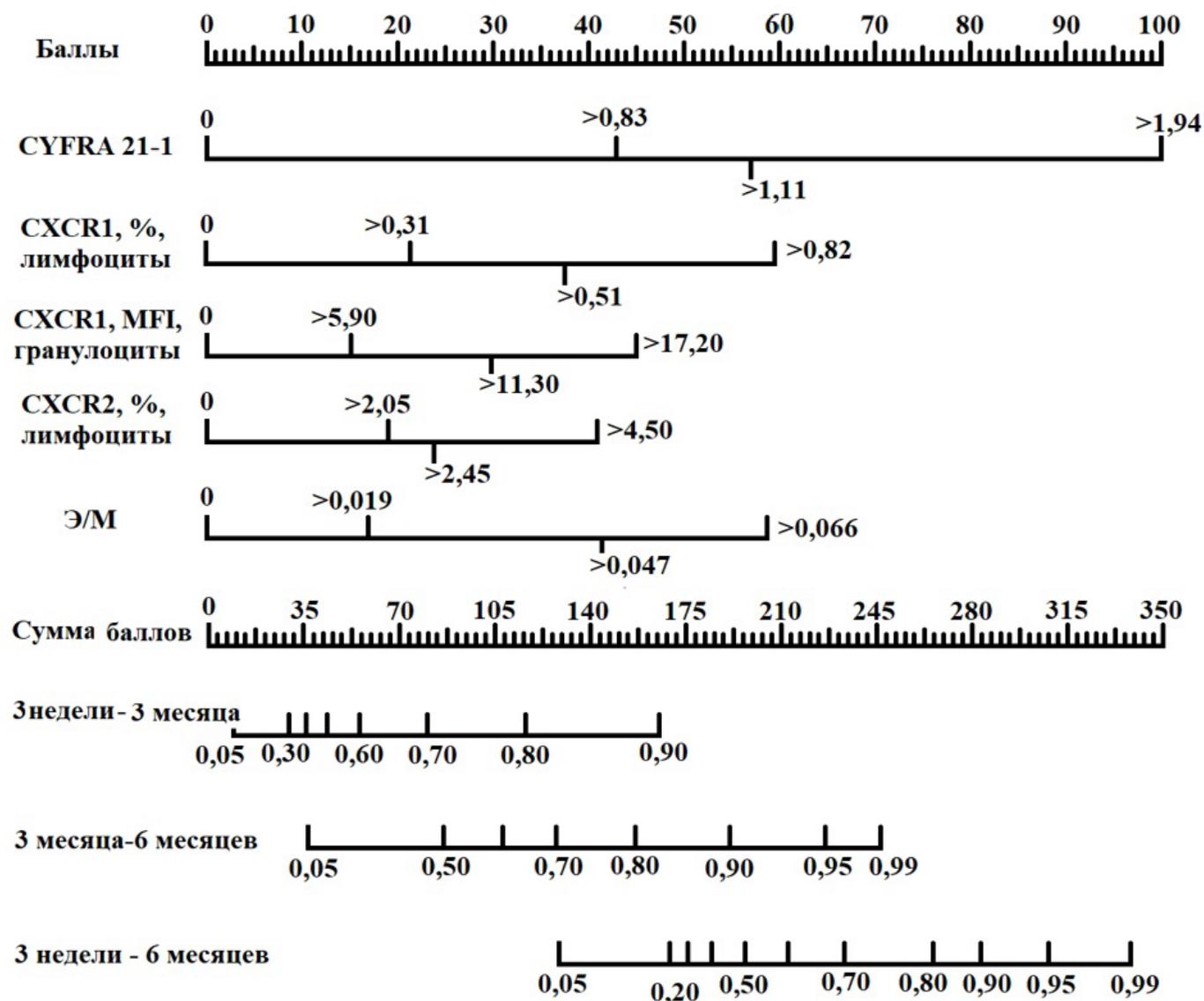


Рис. 3. Номограмма для определения вероятности рецидива по результатам разницы уровня показателей, измеренных через 3 недели, 3 и 6 месяцев после проведенного лечения.

**Обсуждение.** Несмотря на предпринимаемые усилия в ходе лечения пациентов с АК на стадиях I-IIIВ (только хирургическое удаление опухоли и метастазов или сопряженное с химиотерапией), у части из них развиваются рецидивы опухоли, большей частью уже в первый год после операции. Сообщается, что даже на ранних стадиях НМРЛ частота рецидива после хирургического удаления опухоли составляет 20% [16]. В обследованной нами группе, включавшей пациентов с аденокарциномой не только на ранних (I-II), но и на более поздних стадиях (III A,B), этот показатель был около 30%. Поэтому усилия исследователей направлены на возможно более раннее обнаружение рецидива, поскольку это повышает эффективность лечения. Био-

химические критерии пока не нашли широкого применения в клинической практике, поскольку они большей частью неспецифичны и не обладают достаточной чувствительностью. Однако многочисленные исследования в этом направлении продолжаются, и попытки обнаружить новые биомаркеры контроля эффективности проведенного лечения не иссякают [10-19].

В нашем исследовании внимание было сосредоточено на пяти показателях: концентрации CYFRA 21-1, доле лимфоцитов с рецептором CXCR1 в общей популяции лимфоцитов, плотности расположения рецептора CXCR1 на гранулоцитах (CXCR1, MFI, гранулоциты), доле лимфоцитов с рецептором CXCR2 в общей популяции лимфоцитов крови и отношении эозинофилы/

моноциты. Ранее была доказана их перспективность для диагностики и прогнозирования безрецидивной выживаемости на основании оценки дооперационного уровня, как и преимущество использования комбинированных моделей, включавшей эти параметры, для каждой из групп пациентов в отдельности [5, 6].

В ходе отслеживания динамики изменения определяемых показателей в течение 1 года после проведенного лечения внимание привлекли несколько тенденций. Первая заключается в том, что в течение 3-х недель после оперативной резекции опухоли значения всех показателей у всех пациентов снизились до величин, соизмеримых с пороговыми значениями. Однако у части пациентов амплитуда снижения не достигла ПЗ, то есть, осталась выше этой величины. У большинства таких пациентов (76,2%) в дальнейшем, в течение года наблюдения, развились рецидивы опухоли. Другие исследователи также наблюдали снижение в крови концентрации CYFRA 21-1, карциноэмбрионального антигена (СЕА), которое, однако, было выражено в неодинаковой степени. У части пациентов она снижалась по сравнению с уровнем до начала лечения, но не достигала пороговых значений [10-12]. В этих исследованиях у пациентов были ранние стадии НМРЛ. Поэтому им проводилось только хирургическое лечение, и феномен резкого снижения уровня вышеуказанных показателей после операции по сравнению со значениями до операции обусловлен резекцией опухолевой ткани.

Следующая тенденция заключалась в нарастании (после снижения) уровня измеряемых показателей у части пациентов. У большинства из них (89,3%) в дальнейшем развился рецидив. Другие исследователи ранее также отметили, что концентрация CYFRA 21-1 и СЕА в сыворотке крови пациентов с НМРЛ и удаленной опухолью, часто после снижения в дальнейшем увеличивается, причем подобная динамика имела связь с развитием рецидива [11]. Опираясь на эти данные, исследователи пришли к выводу, что мониторинг концентрации СЕА в сыворотке крови пациентов с НМРЛ позволяет предсказывать рецидив с чувствительностью 74,7% и специфичностью 69,8% [12]. Сопоставимые результаты были получены для CYFRA 21-1, когда чувствительность и специфичность измерения уровня этого маркера в качестве ответа на лечение составили 79,1% и 60,6% соответственно [17]. Причем, согласно результатам еще одного исследования, из пяти сывороточных опухолевых маркеров (CYFRA 21-1, карциноэмбрионального антигена (СЕА), нейрон-специфической енолазы (NSE), углеводных антигенов СА 125 и СА 19-9) только CYFRA 21-1 достаточно чувствителен для прогнозирования ответа на химиотерапию, и подъем его уровня после первоначального снижения коррелирует с высокой вероятностью развития рецидива опухоли [19]. В другой работе сообщается о наблюдавшемся увеличении концентрации CYFRA 21-1 в сыворотке крови пациентов с АК, у которых в течение 1 года развился рецидив опухоли [11]. Определение рецепторов цитокинов в клетках крови при АК до начала наших исследований не проводилось, но было известно о повышении их концентрации в микроокружении опухоли у

пациентов с НМРЛ [7-9].

Полученные нами данные были использованы для расчета разницы уровня определяемых показателей в фиксированных временных интервалах 3 недели - 3 месяца, 3-6 месяцев и 3 недели - 6 месяцев. Принципиально новых сведений этот прием не привнес, но он наглядно продемонстрировал прирост значений показателей, который увеличивался во времени наблюдения и был характерен только для пациентов с диагностированным рецидивом. Результаты анализа пропорциональных рисков Кокса показали существенную связь прироста уровня анализируемых показателей в каждом из временных интервалов с развитием рецидива после проведенного лечения. Поэтому, именно прирост во времени результатов расчета интегрального регрессионного уравнения был использован для определения вероятности развития рецидива у пациентов после лечения по поводу I-II и III стадий АК, описанного нами ранее [5,6]. Диагностическая ценность измерения прироста была гораздо выше значений чувствительности и специфичности определения абсолютных значений показателей, которые были получены не только нами, в том числе на комбинированных моделях (данные табл. 5, А, Б), но и другими исследователями [10-18].

**Заключение.** Показатели, вошедшие в комбинированные диагностические модели отдельно для I-II и III стадий АК, в дальнейшем были объединены в одно регрессионное уравнение, позволяющее оценить вероятность развития или наличия рецидива у пациентов с АК I - III стадий. Преследовалась сугубо прикладная цель – облегчить или упростить проведение расчетов по итогам лабораторного анализа. Наши надежды оправдались: созданное объединенное уравнение продемонстрировало высокие показатели чувствительности и специфичности как на объединенной группе пациентов с АК (табл. 5, Д), так и отдельно у пациентов с I-II и с III стадиями заболевания (табл. 5, В, Г). Характерно, что регрессионные уравнения 1 и 2 в объединенной группе показали сравнительно невысокую диагностическую эффективность для распознавания рецидива (табл. 5, Е, Ж), особенно в ранний период после окончания лечения (3 недели – 3 месяца).

Для практического применения комплекса симптомов или показателей на практике широко используется хорошо известный прием построения номограммы графическим методом [20, 21]. Следует отметить, что создание номограмм для определения вероятности рецидива опухоли вообще и у пациентов с АК, в частности, проводилось и ранее [22]. Но, во-первых, она строилась только для стадии IA аденокарциномы, а во-вторых, в ней учитывались предоперационные уровни CYFRA 21-1 и СЕА. Между тем считается, что определение предоперационного уровня маркера по сравнению с послеоперационным менее эффективно для диагностики рецидива, развивающегося после лечения [23]. Об этом свидетельствуют и результаты настоящего исследования. Номограмма, построенная на базе объединенного регрессионного уравнения, позволяет легко и быстро определить вероятность развития рецидива для каждого пациента в отдельности. Это делает ее удобным инструментом в работе врача-онколога.

ЛИТЕРАТУРА (П.П. 2, 3, 7-23 СМ. REFERENCES)

1. Рак в Беларуси: цифры и факты. Анализ данных Белорусского канцер-регистра за 2011-2020 гг.: А. Е. Океанов, П. И. Моисеев, Л. Ф. Левин, А. А. Евмененко, Т. Б. Ипатий, С.Л. Поляков, ред. Минск: Национальная библиотека Беларуси; 2022.
4. Алгоритмы диагностики и лечения злокачественных новообразований. Клинический протокол. Сукошко О.Г., Красный С.А., ред. Минск: «Профессиональные издания»; 2019.
5. Таганович А.Д., Ковганко Н.Н., Прохорова В.И., Мурашко Д.И., Готько О.В. Прогнозирование риска опухолевой прогрессии у пациентов с ранними стадиями аденокарциномы и плоскоклеточного рака лёгкого на основе лабораторных показателей. *Биомедицинская химия*. 2021; 67(6): 507-17. DOI: 10.18097/PBMC20216706507.
6. 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): 640-6. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-11-640-646.

REFERENCES

1. Cancer in Belarus: numbers and facts. Analysis of data from the Belarusian Cancer Registry for 2011-2020: A.Ye. Okeanov P. I. Moiseev, L. F. Levin, A. A. Evmenenko, T. B. Ipatiy, S. L. Polyakov, eds. Minsk: Natsional'naya biblioteka Belarusi; 2022. (in Russian)
2. Clark S.B., Alsubait S. Non-small cell lung cancer. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020.
3. Wang C.Y., Huang M.S., Huang M.H., Lee H.C., Hsu H.S. Persistently high serum carcinoembryonic antigen levels after surgery indicate poor prognosis in patients with stage I non-small-cell lung cancer. *J. Surg. Res.*, 2010; 163(2):e45-50. DOI: 10.1016/j.jss.2010.04.039.
4. Algorithms for the diagnosis and treatment of malignant neoplasms. Clinical protocol. Sukonko O.G., Krasny S.A., eds. Minsk: Professional'nyye izdaniya; 2019. (in Russian)
5. Tahanovich A.D., Kauhanka N.N., Prokhorova V.I., Murashko D.I., Got'ko O.V. Prediction of the risk of tumor progression in patients with early stages of adenocarcinoma and squamous cell lung cancer based on laboratory parameters. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2021; 67(6):507-17. DOI: 10.18097/PBMC20216706507. (in Russian)
6. Tahanovich A.D., Kauhanka N.N., Murashka D.I., Kolb A.V., Prokhorova V.I., Gotko O.V., Derzhavets L.A. Preoperative biomarkers in the blood of patients with stage III lung adenocarcinoma to predict relapse-free survival after surgical treatment. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2022; 67(11):640-6. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-11-640-646. (in Russian)
7. 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.
8. Lagiou P., Trichopoulos D. Inflammatory biomarkers and risk of lung cancer. *J. Natl. Cancer. Inst.* 2011 Jul 20; 103(14):1073-5. DOI: 10.1093/jnci/djr220.
9. Spaks A. Role of CXC group chemokines in lung cancer development and progression. *J. Thorac. Dis.* 201; 9(Suppl. 3):S164-S171. DOI: 10.21037/jtd.2017.03.61.
10. Barak V., Holdenrieder S., Nisman B., Stieber P. Relevance of circulating biomarkers for the therapy monitoring and follow-up investigations in patients with non-small cell lung cancer. *Cancer Biomark.* 2010; 6(3-4):191-6. DOI: 10.3233/CBM-2009-0129.
11. Yeh J.J., Liu F.Y., Hsu W.H., Wang J.J., Ho S.T., Kao A. Monitoring cytokeratin fragment 19 (CYFRA 21-1) serum levels for early prediction of recurrence of adenocarcinoma and squamous cell carcinoma in the lung after surgical resection, *Lung*. 2002; 180(5):273-9. DOI: 10.1007/s004080000101.
12. Duan X., Cui Y., Li H., Shi G., Wu B., Liu M., et al. High preoperative and postoperative levels of carcinoembryonic antigen and CYFRA 21-1 indicate poor prognosis in patients with pathological Stage I non-small cell lung cancer. *Indian J. Cancer*, 2015; 52(Suppl. 3):E158-163. DOI: 10.4103/0019-509X.186564,
13. Suzuki H., Ishikawa S., Satoh H., Ishikawa H., Sakai M., Yamamoto T., et al. Preoperative CYFRA 21-1 levels as a prognostic factor in stage I non-small cell lung cancer. *Eur. J. Cardiothorac Surg.* 2007; 32(4):648-52. DOI: 10.1016/j.ejcts.2007.06.032.
14. Hanagiri T., Sugaya M., Takenaka M., Oka S., Baba T., Shigematsu Y. et al. Preoperative CYFRA 21-1 and CEA as prognostic factors in patients with stage I non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2011; 74:112-7. DOI: 10.1016/j.lungcan.2011.02.001.
15. Muley T., Dienemann H., Ebert W. CYFRA 21-1 and CEA are independent prognostic factors in 153 operated stage I NSCLC patients. *Anticancer Res.* 2004; 24:1953-6.
16. Muley T., He Y., Rolny V., Wehnl B., Escherich A., Warth A. et al. Potential for the blood-based biomarkers cytokeratin 19 fragment (CYFRA 21-1) and human epididymal protein 4 (HE4) to detect recurrence during monitoring after surgical resection of adenocarcinoma of the lung. *Lung Cancer*. 2019; 130:194-200. DOI: 10.1016/j.lungcan.2019.02.017.
17. Pang L., Wang J., Jiang Y., Chen L. Decreased levels of serum cytokeratin 19 fragment CYFRA 21-1 predict objective response to chemotherapy in patients with non-small cell lung cancer. *Exp. Ther. Med.* 2013; 6(2):355-60. DOI: 10.3892/etm.2013.1171.
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*. 201711; 116(8):1037-45. DOI: 10.1038/bjc.2017.45.
19. Nisman B., Lafair J., Heching N., Lyass O., Baras M., Peretz T., et al. Evaluation of tissue polypeptide specific antigen, CYFRA 21-1, and carcinoembryonic antigen in nonsmall cell lung carcinoma: does the combined use of cytokeratin markers give any additional information? *Cancer*. 1998; 82:1850-9. DOI: 10.1002/(sici)1097-0142(19980515)82:103.0.co;2-r.
20. Harrell F.E.Jr. Regression modeling strategies with applications to linear models, logistic regression, and survival analysis. New York: Springer Verlag; 2001.
21. Bradley E., Tibshirani R.J. Monographs on statistics and applied probability: an introduction to the bootstrap. Boca Raton: Chapman and Hall/CRC; 1993.
22. Huang Z., Peng K., Hong Z., Zhang P., Kang M. Nomogram for predicting recurrence and metastasis of stage IA lung adenocarcinoma treated by videoassisted thoracoscopic lobectomy. *Asian J. Surg.* 2022; 45(12):2691-9. DOI: 10.1016/j.asjsur.2022.01.010.
23. Chen H., Jiang Y., Jia K., Zhang K., Matsuura N., Jeong J.Y. et al. Prognostic significance of postoperative longitudinal change of serum carcinoembryonic antigen level in patients with stage I lung adenocarcinoma completely resected by single-port video-assisted thoracic surgery: a retrospective study. *Transl. Lung Cancer Res.* 2021; 10(10):3983-94. DOI: 10.21037/tlcr-21-833.