



Мурашко Д.И.✉, Таганович А.Д., Ковганко Н.Н.

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

## Перспектива использования потенциально новых биомаркеров онкологических заболеваний: определение уровня HIF-1 $\alpha$ , рецептора CD44v6 и гиалуроновой кислоты в диагностике немелкоклеточного рака легкого

**Конфликт интересов:** не заявлен.

**Вклад авторов:** концепция и дизайн исследования, редактирование текста – Таганович А.Д.; сбор материала, обработка, написание текста – Мурашко Д.И., Ковганко Н.Н.

Подана: 21.12.2021

Принята: 07.03.2022

Контакты: dashamurashka@mail.ru

### Резюме

**Введение.** Немелкоклеточный рак легкого (НМКРЛ) занимает второе место в структуре смертности от онкологических заболеваний в Республике Беларусь. Он подразделяется на три гистологических подтипа: аденокарциному (АК), плоскоклеточный рак (ПКРЛ) и крупноклеточный рак (КРЛ). Поздняя диагностика существенно ухудшает прогноз течения этого заболевания. Существует потребность в поиске информативных биомаркеров, позволяющих судить о распространенности опухолевого процесса, особенно на ранних стадиях НМКРЛ.

**Цель.** Изучить уровень CD44v6, HIF-1 $\alpha$  и гиалуроновой кислоты (ГК) в периферической крови пациентов с НМКРЛ, с тем чтобы оценить целесообразность использования показателей приведенных тестов в диагностике заболевания.

**Материалы и методы.** Материалом служила кровь 218 пациентов с НМКРЛ, 13 пациентов с гамартомой легкого и 42 здоровых человек. Концентрацию ГК и HIF-1 $\alpha$  в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа. Относительное количество клеток лейкоцитарного ряда, снабженных рецептором CD44v6, и интенсивность флюоресценции в них комплекса этого рецептора с антителом (MFI), пропорциональную плотности расположения CD44v6 в мембране клеток, измеряли методом проточной цитометрии.

**Результаты.** Доля гранулоцитов, снабженных CD44v6, в крови пациентов со II, III и IV стадиями заболевания существенно превышает таковую у здоровых людей. Плотность расположения этого рецептора в гранулоцитах при II, III и IV стадиях НМКРЛ демонстрирует значительный рост по сравнению с соответствующим показателем клеток крови представителей контрольной группы. Концентрация HIF-1 $\alpha$  в сыворотке крови пациентов с ранними (I–II) стадиями НМКРЛ статистически значимо не отличается от таковой здоровых лиц и пациентов с гамартомой, однако демонстрирует существенный рост на III–IV стадиях заболевания по сравнению с I стадией. Уровень ГК в крови пациентов с НМКРЛ значительно превышает таковой у здоровых людей и



пациентов с гамартомой уже на I стадии заболевания и еще более существенно возрастает на последующих стадиях. Концентрация этого показателя в сыворотке крови оказалась выше у пациентов с большим размером опухоли, наличием метастазов в регионарные лимфоузлы и внутренние органы. Корреляционный анализ подтвердил наличие связи средней силы уровня этого параметра в крови пациентов со стадиями НМКРЛ и дескрипторами опухоли.

Измерение концентрации ГК в сыворотке крови пациентов позволяет диагностировать ранние стадии НМКРЛ с диагностической чувствительностью 94,4% и диагностической специфичностью 65,8% при пороговом значении концентрации ее в сыворотке крови 12,4 мкг/л. Пороговое значение уровня этого показателя 22,5 мкг/л может использоваться для дифференцирования I и II стадий НМКРЛ (диагностическая чувствительность – 81,3%, диагностическая специфичность – 70,6%). У 83,0% пациентов с III–IV стадиями НМКРЛ концентрация ГК в крови превышает пороговое значение 27,6 мкг/л. Диагностические параметры использования уровня ГК в крови с целью оценки наличия и распространенности НМКРЛ превышают результаты определения концентрации опухолеассоциированного антигена CYFRA 21-1.

**Ключевые слова:** немелкоклеточный рак легкого, кровь, гиалуроновая кислота, HIF-1 $\alpha$ , CD44v6

Murashka D.✉, Tahanovich A., Kauhanka M.  
Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

## Prospects of the Use of Potential New Biomarkers of Malignant Neoplasms: the Determining HIF-1 $\alpha$ , CD44v6 Receptor and Hyaluronic Acid Levels in Non-Small Cell Lung Cancer Diagnosis

**Conflict of interest:** nothing to declare.

**Authors' contribution:** the concept and design of the study, text editing – Tahanovich A.; collecting material, processing, writing text – Murashka D., Kauhanka M.

Submitted: 21.12.2021

Accepted: 07.03.2022

Contacts: dashamurashka@mail.ru

### Abstract

**Introduction.** Non-small cell lung cancer (NSCLC) takes the second place in the structure of cancer morbidity in Belarus. It is classified into three histological types: adenocarcinoma (AC), squamous cell carcinoma (SCC) and large cell carcinoma (LCC). Late diagnosis significantly worsens prognosis of this disease. There is a need to search for available and informative biomarkers, which can allow to assess the prevalence of NSCLC, especially in its early stages.

**Purpose.** To analyze the level of CD44v6, HIF-1 $\alpha$  and hyaluronic acid (HA) in the peripheral blood of patients with NSCLC in order to assess the feasibility of its use in the diagnosis of NSCLC.

**Materials and methods.** The material was the blood of 218 NSCLC patients, 13 lung hamartoma patients and 42 healthy people. HIF-1 $\alpha$  and HA serum levels were determined by ELISA. Relative number of leukocytes supplied with CD44v6 and its density in the cells (MFI) were measured by flow cytometry.

**Results.** Relative number of granulocytes supplied with CD44v6 in patients with stage II, III, IV NSCLC is significantly higher than in healthy people. MFI CD44v6 in granulocytes is higher in patients with stage II, III, IV NSCLC compared with healthy people. HIF-1 $\alpha$  serum level in patients is the same as in control group and lung hamartoma patients, but it is significantly increases in patients with III–IV stages NSCLC compared with stage I. HA serum level in stage I NSCLC patients is higher than in healthy people and lung hamartoma patients, and it increases even more in stages II, III and IV. Moreover, its serum level is higher in patients with T >5 cm compared with T <5 cm and also higher in patients with lymph node and distant metastases. Correlation analysis verified medium strength correlation between HA serum level and NSCLC stage.

Measuring of HA serum level allows to diagnose NSCLC early stages with 94.4% diagnostic sensitivity and 65.8% specificity (cutoff value 12.4 ng/ml). The cutoff value of this parameter 22.5  $\mu$ g/L can be used to differentiate stages I and II of the disease (sensitivity – 81.3% and specificity – 70.6%). In 81.0% of patients with later stages NSCLC HA serum level is higher than cutoff value 27.6  $\mu$ g/L. The diagnostic parameters of HA serum level measurement in NSCLC patients are higher compared with CYFRA 21-1 determination in blood serum.

**Keywords:** non-small cell lung cancer, blood, hyaluronic acid, HIF-1 $\alpha$ , CD44v6

---

## ■ ВВЕДЕНИЕ

Рак легкого устойчиво занимает второе место в структуре онкологической заболеваемости и является ведущей причиной смертности вследствие злокачественных новообразований (18%) [1]. По данным канцер-регистра, в Республике Беларусь за последние 30 лет заболеваемость раком легкого выросла на 22% и в 2019 году составила 84,8 нового случая на 100 000 населения [2].

Наиболее частой формой этого заболевания является немелкоклеточный рак легкого (НМКРЛ), который на основании гистологического исследования подразделяется на аденокарциному (АК), плоскоклеточный рак легкого (ПКРЛ) и крупноклеточный рак легкого (КРЛ) [1].

Клинические симптомы НМКРЛ в 85% случаев проявляются в поздний период заболевания, при значительной распространенности опухолевого процесса (III–IV стадии в соответствии с клинической классификацией злокачественных новообразований TNM) [3]. Поздняя диагностика существенно ухудшает прогноз его течения. Пятилетняя выживаемость пациентов с впервые диагностированной IV стадией НМКРЛ составляет лишь 13%, в то время как с I стадией – 73% [4].

Диагностика НМКРЛ основана на рентгенологических методах исследования. Для верификации проводят гистологическое исследование биопсийного материала. Однако техническая сложность выполнения, инвазивность, потребность в специальном оборудовании и квалифицированных специалистах существенно ограничивают их применение. Изыскание доступных и информативных биомаркеров могло



бы помочь в обнаружении опухоли и оценке степени распространенности опухолевого процесса уже на ранних стадиях заболевания. Перспективным направлением научных исследований является поиск таких соединений в крови пациентов.

В качестве дополнительного диагностического «инструмента» нередко устанавливают уровень содержания в сыворотке крови антигена – фрагмента цитокератина 19 (CYFRA 21-1). Его уровень существенно повышен у пациентов с НМКРЛ [5, 6]. Однако диагностическая чувствительность его определения при этом заболевании, по данным различных исследований, варьирует от 40% до 80,6% [5, 6]. При ранних стадиях заболевания она не превышает 44% [6].

Другим общепринятым опухолеассоциированным белком сыворотки крови является антиген плоскоклеточной карциномы (SCC). Определение его уровня в крови пациентов применяется в качестве вспомогательного средства при диагностике плоскоклеточных форм злокачественных новообразований, в том числе рака легкого. Вместе с тем данные литературы свидетельствуют о низкой информативности проведения этого теста в крови пациентов с НМКРЛ (диагностическая чувствительность – 30%) [7].

Интенсивный рост опухоли нередко опережает образование сосудистой сети в зоне онкогенеза. В результате этого в структуре злокачественных новообразований возникают участки с недостаточным снабжением кислородом. В условиях гипоксии активируется синтез транскрипционных факторов, способствующих адаптации опухоли к дефициту кислорода. Одним из таких факторов является HIF-1 $\alpha$ . Его основными метаболическими эффектами являются стимуляция опухолевого ангиогенеза, эритропоэза, регуляция метаболизма глюкозы и апоптоза [8]. HIF-1 $\alpha$  усиливает транскрипцию генов, ответственных за жизнеобеспечение интенсивно растущей опухоли. Их продуктами являются многочисленные изоформы рецептора CD44, в частности CD44v6 [9]. Связывание этого рецептора с его основным лигандом – гиалуроновой кислотой (ГК) – приводит к активации матриксной металлопротеиназы 9, участвующей в инвазии опухоли, и способствует усилению клеточной пролиферации [9].

Имеются сведения об увеличенной продукции компонентов оси HIF-1 $\alpha$ /CD44v6/ГК HIF-1 $\alpha$  в клетках НМКРЛ, их ассоциации с распространенностью опухолевого процесса и характером течения заболевания [10–12]. Биосинтез соединений, входящих в состав этой оси, характерен не только для опухолевой ткани, но и для клеток крови. Тем не менее, по данным доступной литературы, до настоящего времени оценка диагностических параметров измерения концентрации CD44v6, ГК и HIF-1 $\alpha$  в крови пациентов с НМКРЛ не проводилась.

## ■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение уровня CD44v6, HIF-1 $\alpha$  и ГК в периферической крови пациентов с НМКРЛ, с тем чтобы оценить целесообразность его определения в диагностике НМКРЛ.

## ■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 218 пациентов с НМКРЛ (65 женщин и 153 мужчины) при первом поступлении их в стационар РНПЦ онкологии и медицинской радиологии имени 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, среднедифференцированная (Grade 2) – у 90, низкодифференцированная (Grade 3) – у 39 пациентов. В качестве группы контроля обследовано 42 человека без проявлений заболевания в возрасте 43–67 лет. Дополнительная группа сравнения включала 13 пациентов с гамартомой – доброкачественной опухолью легкого.

Кровь из локтевой вены пациентов и здоровых людей забирали натошак в вакуутайнер с ЭДТА-K2 (Improvacuter, КНР). Для получения сыворотки кровь вносилась в пробирку с тромбином и разделительным гелем (Improvacuter, КНР).

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

Для измерения уровня ГК, HIF-1 $\alpha$  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 рецептором CD44v6, и плотность расположения рецептора в них (MFI) определяли методом проточной цитометрии с использованием цитофлуориметра Navios (Beckman Coulter, США). В пробирку помещали 100 мкл крови, стабилизированной ЭДТА-K2, и 10 мкл соответствующих антител, содержащих флуоресцентные метки: CD44v6 – FITC (Invitrogen, США), CD45 – Pacific Orange (Exbio, Чехия). Через 15 минут 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).

Для всех выборок проверяли гипотезу нормальности распределения по критерию Колмогорова – Смирнова. Поскольку значения показателей не подчинялись нормальному распределению, анализ проводили методами непараметрической статистики с использованием программных пакетов IBM SPSS Statistics 23 (IBM, США) и MedCalc (США). Рассчитывались медиана и интерквартильный размах (25%–75%). Для оценки различий уровня определяемых показателей в нескольких независимых группах применяли Н-критерий Краскела – Уоллиса. Критическое значение уровня значимости критерия принимали равным 5% ( $p < 0,05$ ). При наличии статистически значимых различий осуществляли сравнение 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 [13].

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

Доля гранулоцитов, снабженных рецептором CD44v6, демонстрирует существенный рост у пациентов со II, III и IV стадией заболевания по сравнению со здоровыми людьми (табл. 1). Наблюдается значительное (в 1,5 раза) увеличение плотности расположения CD44v6 в гранулоцитах пациентов со II, III и IV стадиями заболевания по сравнению с таковой у здоровых лиц.

Доля лимфоцитов, снабженных CD44v6, существенно не отличается у пациентов с НМКРЛ по сравнению со здоровыми лицами (табл. 1). Величина MFI CD44v6 в лимфоцитах и моноцитах, как и доля моноцитов, снабженных этим рецептором, не изменялась у пациентов в зависимости от стадии заболевания.

Уже на I стадии НМКРЛ концентрация ГК в сыворотке крови была практически в два раза выше, чем у пациентов с гамартомой и здоровых людей. На II стадии уровень этого показателя возрастает в 1,6 раза по сравнению с I стадией и практически втрое превышает таковой в контрольной группе. Максимальный уровень этого показателя (в 3,6 раза выше, чем у здоровых людей) отмечался у пациентов в поздний период развития заболевания (III–IV стадии).

Уровень HIF-1 $\alpha$  в крови пациентов с I стадией НМКРЛ демонстрирует тенденцию к снижению по сравнению с таковым в контрольной группе и у пациентов с гамартомой. По мере развития опухолевого процесса (II, III–IV стадии заболевания) он возрастает и на поздних стадиях заболевания оказывается в 1,5 раза выше, чем при I стадии заболевания, однако статистически значимых различий его величины на III–IV стадиях по сравнению со здоровыми людьми и пациентами с гамартомой выявлено не было.

Уровень CYFRA 21-1 в крови пациентов с I стадией НМКРЛ оказался практически вдвое выше, чем у здоровых людей. При II стадии заболевания концентрация этого показателя в сыворотке крови была больше не только по сравнению с таковой в контрольной группе, но и в группе пациентов с гамартомой. У пациентов с поздними стадиями НМКРЛ сохраняется существенный подъем уровня CYFRA 21-1, который был в 1,8 раза и 1,6 раза выше, чем при I и II стадиях.

Уровень SCC в крови пациентов со II, III, IV стадией НМКРЛ вдвое превышал таковой у здоровых людей и пациентов с гамартомой. Наряду с этим, существенных различий его в зависимости от стадии НМКРЛ не прослеживается.

Для показателей, уровень которых существенно возрастал в крови пациентов на ранних стадиях заболевания и еще сильнее изменялся в поздний его период, был проведен корреляционный анализ. Рассчитанный критерий Спирмена свидетельствует о наличии корреляционной связи средней силы между уровнем ГК и CYFRA 21-1 в сыворотке крови и стадиями НМКРЛ ( $R=0,663$  и  $R=0,453$  соответственно).

У пациентов с большим размером опухоли ( $T > 5$  см) концентрация ГК в сыворотке крови оказалась на 26,6% выше, чем у пациентов с  $T < 5$  см (табл. 2). Значения этого

**Таблица 1**  
**Уровень компонентов оси HIF-1α/CD44v6/ГК в крови пациентов с НМКРЛ**  
**Table 1**  
**The serum level of components of the axis HIF-1α/CD44v6/HA in NSCLC patients**

| Показатель              | Контроль           | Гамартома          | НМКРЛ                               |                                       |                                         |
|-------------------------|--------------------|--------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------------|
|                         |                    |                    | I                                   | II                                    | III–IV                                  |
| CD44v6, гранулоциты     | 3,2<br>[1,2; 4,1]  | 3,4<br>[1,9; 4,6]  | 3,7<br>[2,4; 4,5]                   | 4,1 <sup>1</sup><br>[2,5; 5,1]        | 5,1 <sup>1</sup><br>[2,8; 7,0]          |
| MFI CD44v6, гранулоциты | 1,5<br>[1,1; 2,5]  | 1,7<br>[1,6; 2,9]  | 2,4<br>[1,4; 2,8]                   | 2,5 <sup>1</sup><br>[2,2; 2,8]        | 2,5 <sup>1</sup><br>[2,0; 2,8]          |
| CD44v6, лимфоциты       | 1,0<br>[0,4; 1,9]  | 1,1<br>[0,4; 1,6]  | 1,4<br>[0,6; 3,7]                   | 1,3<br>[1,1; 1,5]                     | 1,6<br>[1,1; 2,0]                       |
| MFI CD44v6, лимфоциты   | 2,6<br>[2,3; 2,8]  | 2,8<br>[2,6; 3,1]  | 2,9<br>[1,6; 4,9]                   | 3,1 <sup>1</sup><br>[2,7; 4,3]        | 3,9 <sup>1</sup><br>[1,9; 4,6]          |
| CD44v6, моноциты        | 1,9<br>[1,6; 2,3]  | 2,2<br>[1,9; 3,4]  | 2,4 <sup>1</sup><br>[1,7; 9,2]      | 3,2 <sup>1</sup><br>[2,0; 3,7]        | 3,9 <sup>1</sup><br>[2,2; 9,4]          |
| MFI CD44v6, моноциты    | 5,1<br>[4,5; 5,8]  | 5,5<br>[5,1; 5,8]  | 5,6<br>[3,1; 7,8]                   | 6,1 <sup>1</sup><br>[4,2; 7,5]        | 4,8<br>[2,1; 6,8]                       |
| HIF-1α, мкг/л           | 2,9<br>[2,5; 3,9]  | 2,9<br>[2,1; 4,1]  | 2,9<br>[2,2; 3,6]                   | 3,1<br>[2,7; 3,7]                     | 3,8 <sup>3</sup><br>[2,7; 4,4]          |
| ГК / HA, мкг/л          | 9,0<br>[7,7; 18,0] | 9,3<br>[7,1; 18,0] | 17,1 <sup>1,2</sup><br>[14,6; 24,4] | 27,3 <sup>1,2,3</sup><br>[23,7; 30,3] | 32,0 <sup>1,2,3,4</sup><br>[30,1; 43,0] |
| SCC, мкг/л              | 1,2<br>[0,9; 1,7]  | 1,5<br>[0,9; 3,0]  | 1,7<br>[1,2; 2,7]                   | 2,1 <sup>1,2</sup><br>[1,5; 3,2]      | 1,8 <sup>1,2</sup><br>[1,4; 3,1]        |
| CYFRA 21-1, мкг/л       | 1,4<br>[1,3; 2,0]  | 1,3<br>[1,2; 2,9]  | 2,7 <sup>1</sup><br>[2,0; 3,7]      | 3,1 <sup>1,2</sup><br>[2,2; 5,0]      | 4,9 <sup>1,2,3,4</sup><br>[3,3; 7,5]    |

Примечания: <sup>1</sup> достоверность разницы у пациентов с различными стадиями НМКРЛ по сравнению со здоровыми людьми; <sup>2</sup> достоверность разницы у пациентов с гамартомой по сравнению с НМКРЛ; <sup>3</sup> достоверность разницы у пациентов с I стадией НМКРЛ по сравнению с другими стадиями; <sup>4</sup> достоверность разницы у пациентов с III–IV стадиями НМКРЛ по сравнению со II стадией.

же показателя были больше у пациентов с НМКРЛ и метастазами в регионарные лимфоузлы (N1–3) и внутренние органы (M1) по сравнению с пациентами без метастазов.

Уровень CYFRA 21-1 в крови также различался у пациентов с НМКРЛ в зависимости от наличия/отсутствия отдаленных метастазов. При наличии метастазов в регионарные лимфоузлы и внутренние органы он был существенно выше (табл. 2). Имеется корреляционная связь средней силы уровня этих показателей с размером (ГК) и метастазированием опухоли (ГК, CYFRA 21-1) (табл. 2).

Те компоненты оси HIF-1α/CD44v6/ГК, уровень которых существенно увеличивался в крови пациентов уже на ранних стадиях НМКРЛ, значительно возрастал в поздний период заболевания и при этом демонстрировал коррелятивную связь со стадиями и дескрипторами опухоли (уровень в крови CYFRA 21-1 и SCC), вовлекались в последующий ROC-анализ. Его результаты показывают, что диагностическая чувствительность теста для распознавания ранних стадий НМКРЛ, когда уровень ГК в сыворотке крови превышает пороговое значение 12,4 мкг/л, составляет 94,4% (табл. 3). В то же время диагностическая специфичность этого теста, когда концентрация ГК в крови в группе здоровых лиц была менее 12,4, составляет 65,8%. Уровень CYFRA 21-1



**Таблица 2**  
**Изменение уровня ГК и CYFRA 21-1 в крови пациентов с НМКРЛ в зависимости от дескрипторов опухоли**

**Table 2**

**HA and CYFRA 21-1 serum levels in NSCLC patients depending on tumor characteristics**

| <b>Размер опухоли</b>                                                                                                                                                                                                                               |                       |                           |          |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|---------------------------|----------|
| <b>Показатель</b>                                                                                                                                                                                                                                   | <b>T &lt;5 см</b>     | <b>T &gt;5 см</b>         | <b>R</b> |
| ГК,<br>мкг/л                                                                                                                                                                                                                                        | 26,0*<br>[21,4; 30,2] | 35,4*, **<br>[29,6; 46,5] | 0,651    |
| Примечания: * здесь и далее – статистическая достоверность разницы у пациентов с НМКРЛ по сравнению со здоровыми людьми; ** статистическая достоверность разницы у пациентов с размером опухоли <5 см и >5 см; R – коэффициент корреляции Спирмена. |                       |                           |          |
| <b>Метастазы в регионарные лимфоузлы</b>                                                                                                                                                                                                            |                       |                           |          |
| <b>Показатель</b>                                                                                                                                                                                                                                   | <b>N0</b>             | <b>N1–3</b>               | <b>R</b> |
| ГК,<br>мкг/л                                                                                                                                                                                                                                        | 24,6*<br>[20,0; 29,8] | 31,2*, **<br>[28,6; 37,1] | 0,473    |
| CYFRA 21-1,<br>мкг/л                                                                                                                                                                                                                                | 3,0*<br>[2,1; 4,6]    | 4,5*, **<br>[3,3; 7,4]    | 0,373    |
| Примечание: ** статистическая достоверность разницы у пациентов с наличием метастазов в регионарные лимфоузлы и пациентов без метастазов.                                                                                                           |                       |                           |          |
| <b>Отдаленные метастазы</b>                                                                                                                                                                                                                         |                       |                           |          |
| <b>Показатель</b>                                                                                                                                                                                                                                   | <b>M0</b>             | <b>M1</b>                 | <b>R</b> |
| ГК,<br>мкг/л                                                                                                                                                                                                                                        | 27,4*<br>[22,4; 32,2] | 31,8*, **<br>[30,2; 46,9] | –        |
| CYFRA 21-1,<br>мкг/л                                                                                                                                                                                                                                | 3,3*<br>[2,3; 5,3]    | 6,2*, ** [4,0; 10,8]      | –        |
| Примечание: ** статистическая достоверность разницы у пациентов M1 по сравнению с M0.                                                                                                                                                               |                       |                           |          |

в сыворотке крови, превышающий пороговое значение 1,6 мкг/л, позволяет выявить ранние стадии заболевания с чувствительностью 87,2% (специфичность – 66,7%). Таким образом, диагностическая эффективность определения концентрации ГК в сыворотке крови составила 87,6%, что на 6,2% превышает таковую для CYFRA 21-1.

Оба определяемых параметра (ГК и CYFRA 21-1) в крови пациентов с поздними стадиями НМКРЛ оказались существенно более высокими, чем при ранних стадиях заболевания. У 83,0% пациентов с III–IV стадиями НМКРЛ уровень ГК в крови превышает пороговое значение 27,6 мкг/л. Диагностическая чувствительность определения концентрации CYFRA 21-1 у пациентов с III–IV стадиями НМКРЛ (61,4% при пороговом значении 4,2 мкг/л) значительно ниже, чем соответствующий параметр для ГК. Доля пациентов с ранними стадиями заболевания и отрицательным результатом тестов составляла 68,5% (ГК) и 74,3% (CYFRA 21-1).

Уровень ГК в сыворотке крови пациентов со II стадией НМКРЛ существенно отличался от такового при I стадии. В частности, у 81,3% пациентов со II стадией заболевания уровень ГК превышает пограничное значение 22,5 мкг/л, а специфичность определения концентрации этого показателя в крови пациентов с I стадией НМКРЛ составляет 70,6%. Диагностическая эффективность теста при дифференцировании I и II стадий заболевания составляет 76,9%.

**Таблица 3**  
**Результаты ROC-анализа для существенно измененных показателей при НМКРЛ, коррелятивно связанных с характеристиками опухоли**  
**Table 3**  
**The results of ROC-analysis for HA and CYFRA 21-1 serum levels in NSCLC patients**

| Показатель                        | I–II ст. НМКРЛ / здоровые |       |       |       |       |
|-----------------------------------|---------------------------|-------|-------|-------|-------|
|                                   | ПЗ                        | ДЧ, % | ДС, % | AUC   | ДЭ, % |
| ГК, мкг/л                         | 12,4                      | 94,4  | 65,8  | 0,898 | 87,6  |
| CYFRA 21-1, мкг/л                 | 1,6                       | 87,2  | 66,7  | 0,818 | 81,4  |
| I–II ст. НМКРЛ / III–IV ст. НМКРЛ |                           |       |       |       |       |
| ГК, мкг/л                         | 27,6                      | 83,0  | 68,5  | 0,839 | 76,8  |
| CYFRA 21-1, мкг/л                 | 4,2                       | 61,4  | 74,3  | 0,750 | 68,7  |
| I ст. НМКРЛ / II ст. НМКРЛ        |                           |       |       |       |       |
| ГК, мкг/л                         | 22,5                      | 81,3  | 70,6  | 0,837 | 76,9  |

■ **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Результаты проведенного исследования демонстрируют важность оценки содержания компонентов оси HIF-1α/CD44v6/ГК для НМКРЛ. На это указывают существенное повышение относительного количества гранулоцитов, снабженных CD44v6, и плотности расположения этого рецептора в гранулоцитах пациентов со II, III, IV стадиями заболевания и значительный рост доли лимфоцитов с рецептором CD44v6 в поздний период НМКРЛ по сравнению со здоровыми лицами. С другой стороны, имеет место более чем двукратное увеличение уровня ГК в сыворотке крови пациентов уже на I стадии заболевания и еще более существенное его возрастание в дальнейшем. Эти изменения отражают характерные особенности проведения сигнала по оси HIF-1α/CD44v6/ГК и свидетельствуют об активации ее компонентов по мере развития опухолевого процесса.

В то же время полученные данные свидетельствуют о целесообразности использования некоторых компонентов этой оси для диагностики НМКРЛ. Особого внимания заслуживают показатели диагностической эффективности определения уровня ГК в сыворотке крови пациентов с ранними и поздними стадиями НМКРЛ, превышающие значения диагностической эффективности использования с этой целью CYFRA 21-1. Другим преимуществом использования с диагностической целью определения уровня ГК в крови пациентов с НМКРЛ является возможность его применения для дифференцирования I и II стадий заболевания, в то время как ни один из классических опухолеассоциированных антигенов (CYFRA 21-1, SCC, CEA, NSE) [6] не обладает достаточной информативностью для оценки распространенности опухолевого процесса на ранних стадиях НМКРЛ.

Перспективным направлением дальнейших исследований является также оценка уровня компонентов оси HIF-1α/CD44v6/ГК в крови пациентов с различными гистологическими подтипами НМКРЛ. Проведение такого исследования позволит



подтвердить или опровергнуть различия в характере их опухолевого метаболизма и оценить целесообразность измерения компонентов оси HIF-1 $\alpha$ /CD44v6/ГК в крови пациентов с целью диагностики различных гистологических форм заболевания.

## ■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Sung H. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2021;71(3):209–249. doi: 10.3322/caac.21660.
2. Artemova N.A. Lung cancer morbidity in men of Republic of Belarus. *Abstracts of the extraordinary XII Congress of Oncologists and Radiologists of the CIS and Eurasia named after N.N. Trapeznikov, dedicated to the 25th anniversary of the I Congress of ADIOR.* 2021;9(1):437. (in Russian)
3. Atilla A. Atici. Clinical features of non-small cell lung cancer cases. *Tuberk Toraks.* 2004;52(2):150–158.
4. Woodard G. Lung cancer staging and prognosis. *Cancer Treat Res.* 2016;170:47–75. doi: 10.1007/978-3-319-40389-2\_3.
5. Sonsoles G.V. CYFRA 21-1 in patients with suspected cancer: evaluation of an optimal cutoff value to assess the diagnostic efficacy and prognostic value. *Adv. of Laboratory Medicine.* 2020;1(4):20200005. doi: 10.1515/almed-2020-0005.
6. Huang M.-S. Comparison of cytokeratin fragment 19 (CYFRA 21-1), tissue polypeptide antigen (TPA) and carcinoembryonic antigen (CEA) as tumor markers in bronchogenic carcinoma. *Respiratory Medicine.* 1997;91:135–142.
7. Kagohashi K. A re-evaluation of squamous cell carcinoma antigen (SCC) as a serum marker for non-small cell lung cancer. *Medical Oncology.* 2008;25:187–189. doi: 10.1007/s12032-007-9021-3.
8. Georgina N. HIF-1 $\alpha$  pathway: role, regulation and intervention for cancer therapy. *Acta Pharm Sin B.* 2015;5(5):378–389. doi: 10.1016/j.apsb.2015.05.007.
9. Krishnamachary B. Hypoxia regulates CD44 and its variant isoforms through HIF-1 $\alpha$  in triple negative breast cancer. *PLoS One.* 2012;7(8):44078. doi: 10.1371/journal.pone.0044078.
10. Pirinen R. Prognostic value of hyaluronan expression in non-small cell lung cancer: increased stromal expression indicates unfavorable outcome in patients with adenocarcinoma. *Int. J. of Cancer.* 2001;95(1):12–17.
11. Ioannou M. HIF-1 $\alpha$  in lung carcinoma: histopathological evidence of hypoxia targets in patient biopsies. *J. of Solid Tumors.* 2012;3(2):35–43. doi: 10.5430/jst.v3n2p35.
12. Chen C. The biology and role of CD44 in cancer progression: therapeutic implications. *J Hematol Oncol.* 2018;11(1):64. doi: 10.1186/s13045-018-0605-5.
13. Grizhbovsky A.M. Analysis of three and more groups of quantative data. *Ecologiya cheloveka.* 2008;3:50–58. (in Russian)