



<https://doi.org/10.34883/PI.2022.10.3.014>
УДК 616.24-006.6-07:547.995.15



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

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

Комбинированное определение рецепторов CXCR1, CXCR2, гиалуроновой кислоты и CYFRA 21-1 в крови в диагностике немелкоклеточного рака легкого

Конфликт интересов: не заявлен.

Подана: 12.08.2022

Принята: 09.09.2022

Контакты: dashamurashka@mail.ru

Резюме

Немелкоклеточный рак легкого (НМКРЛ) занимает большую часть в структуре заболеваемости раком легкого. НМКРЛ является неоднородным заболеванием и включает в себя 2 основных гистологических подтипа: аденокарциному (АК) и плоскоклеточный рак (ПКРЛ). В настоящее время не существует специфичных биомаркеров, позволяющих с достаточной точностью судить о распространенности опухоли при этом заболевании. Результаты проведенного исследования свидетельствуют, что плотность расположения (MFI) CXCR1 в гранулоцитах, доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, уровень гиалуроновой кислоты (ГК) и CYFRA 21-1 в крови пациентов с АК и ПКРЛ существенно выше уже при I стадии, чем у здоровых людей, и демонстрируют дальнейший рост на последующих стадиях. Диагностические параметры определения их уровня в крови пациентов с АК и ПКРЛ были выше, чем при измерении «классического» опухолеассоциированного антигена CYFRA 21-1. В целях дальнейшего повышения диагностических параметров отдельных показателей был проведен многофакторный (регрессионный) анализ. В ходе анализа создано 6 регрессионных уравнений. Первое включает MFI CXCR1 в гранулоцитах и уровень ГК в крови и позволяет отличить пациентов с I и II стадиями АК от здоровых людей (эффективность – 92,4%). Второе включает MFI CXCR1 в гранулоцитах, долю лимфоцитов, снабженных CXCR2, и концентрацию CYFRA 21-1 в крови и позволяет отличить пациентов с I и II стадиями АК от III и IV ее стадий (эффективность – 92,0%). Третье уравнение включает MFI CXCR1 в гранулоцитах, долю лимфоцитов, снабженных CXCR2, и уровень ГК в крови и позволяет отличить I стадию АК от II (эффективность – 96,1%). Четвертое включает долю лимфоцитов, снабженных CXCR2, и уровень ГК в сыворотке крови для отличия пациентов с I и II стадиями ПКРЛ от здоровых людей (эффективность – 92,7%). Пятое включает долю лимфоцитов, снабженных CXCR2, и уровень ГК в крови и позволяет отличать пациентов с I и II стадиями от III и IV стадий ПКРЛ (эффективность – 90,4%). Шестое уравнение включает долю лимфоцитов, снабженных CXCR2, и уровень ГК в крови и может использоваться для отличия I от II стадии ПКРЛ с эффективностью 93,1%.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, гиалуроновая кислота, CYFRA 21-1, CXCR1, CXCR2

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

Combined Determination of CXCR1, CXCR2, Hyaluronic Acid and CYFRA 21-1 Receptors in the Blood in the Diagnosis of Non-Small Cell Lung Cancer

Conflict of interest: nothing to declare.

Submitted: 12.08.2022

Accepted: 09.09.2022

Contacts: dashamurashka@mail.ru

Abstract

Non-small cell lung cancer (NSCLC) occupies a large part in the structure of lung cancer incidence. NSCLC is a heterogeneous disease and includes two main histological subtypes: adenocarcinoma (AC) and squamous cell carcinoma (SCC). Currently, there are no specific biomarkers that allow one to judge with sufficient accuracy the extent of the tumor in this disease. The results of the study indicate that the location density (MFI) of CXCR1 in granulocytes, the proportion of lymphocytes supplied with CXCR2, the level of hyaluronic acid (HA) and CYFRA 21-1 in the blood of patients with AC and SCC are significantly higher than in healthy people, already at I stages of these diseases and show further growth in subsequent stages. Diagnostic parameters for determining their level in the blood of patients with AC and SCC were higher than when measuring the "classical" tumor-associated antigen CYFRA 21-1. In order to further improve the diagnostic parameters of individual indicators, a multivariate (regression) analysis was carried out. During the analysis, 6 regression equations were created. The first includes MFI CXCR1 in granulocytes and the level of HA in the blood and makes it possible to distinguish patients with stages I and II of AC from healthy people (efficiency – 92.4%). The second includes MFI CXCR1 in granulocytes, the proportion of lymphocytes equipped with CXCR2, and the concentration of CYFRA 21-1 in the blood and allows to distinguish patients with stages I and II of AC from stages III and IV (efficiency – 92.0%). The third equation includes MFI CXCR1 in granulocytes, the proportion of lymphocytes equipped with CXCR2, and the level of HA in the blood and allows you to distinguish stage I from AK II (efficiency – 96.1%). The fourth includes the proportion of lymphocytes carrying CXCR2 and the level of HA in the blood serum to distinguish patients with stages I and II SCC from healthy people (efficiency – 92.7%). The fifth includes the proportion of lymphocytes equipped with CXCR2 and the level of HA in the blood and allows you to distinguish patients with I and II from III and IV stages of SCC (efficiency – 90.4%). The sixth equation includes the proportion of lymphocytes carrying CXCR2 and the level of HA in the blood and can be used to distinguish stage I from stage II SCC with 93.1% efficiency.

Keywords: hyaluronic acid, non-small cell lung cancer, CXCR1, CXCR2, CYFRA 21-1



■ ВВЕДЕНИЕ

В 2021 г. рак легкого явился вторым по распространенности злокачественным новообразованием в мире. Большую часть в его структуре (85%) занимает немелкоклеточный рак (НМКРЛ) [1]. НМКРЛ, в свою очередь, является неоднородным заболеванием и включает в себя 2 основных гистологических подтипа: аденокарциному (АК) и плоскоклеточный рак (ПКРЛ). Несмотря на сходную морфологию, исследователями сообщается о ряде отличий между АК и ПКРЛ. Они затрагивают генетические особенности, характер метаболизма в опухолевой ткани и прогноз течения заболевания [2]. Пятилетняя выживаемость пациентов с ПКРЛ практически вдвое ниже по сравнению с АК.

Существенное влияние на выживаемость пациентов оказывает распространенность опухолевого процесса (стадия заболевания по классификации TNM). Так, при I стадии НМКРЛ пятилетняя выживаемость достигает 79%, в то время как у пациентов с IV стадией она не превышает 5% [3]. Значительные различия в течении заболевания и метаболизма в опухолевой ткани свидетельствуют о необходимости поиска возможных биомаркеров раздельно при диагностике АК и ПКРЛ. В настоящее время таких маркеров нет.

В сыворотке крови пациентов с НМКРЛ принято определять концентрацию фрагмента цитокератина 19 (CYFRA 21-1) и антигена плоскоклеточной карциномы (SCC) в качестве дополнительного критерия распространенности опухоли. Однако диагностическая чувствительность определения CYFRA 21-1 при ПКРЛ не превышает 75%, а при АК составляет 74% [4]. Измерение концентрации SCC в крови пациентов наиболее информативно в диагностике ПКРЛ. Однако даже при этом гистологическом подтипе заболевания диагностическая чувствительность этого теста не выше 41% [5].

На протяжении последних десятилетий активно ведется поиск биомаркеров АК и ПКРЛ среди показателей метаболизма опухоли. Инвазивный рост злокачественного новообразования сопровождается опухолеассоциированной воспалительной реакцией. Клетки микроокружения и стромы опухоли продуцируют провоспалительные хемокины (CXCL5, CXCL8). Они взаимодействуют со своими рецепторами (CXCR1, CXCR2) на поверхности клеток опухоли и лейкоцитов крови, что приводит к росту, усилению ангиогенеза и метастазированию опухоли [6].

Интенсивная пролиферация опухолевых клеток сопровождается гипоксией в опухолевой ткани. В этих условиях усиливается синтез фактора, индуцируемого гипоксией (HIF-1α). Он стимулирует экспрессию гена адгезионного рецептора CD44v6. Взаимодействуя со своим основным лигандом – гиалуроновой кислотой (ГК), он запускает сигнальные пути, играющие существенную роль в инвазии опухоли [7].

В литературе есть указания на существенное увеличение уровня CXCL5, CXCL8 и HIF-1α в крови пациентов с НМКРЛ [8–12]. Однако определение их диагностических параметров при этом заболевании в зависимости от гистологического типа и распространенности опухоли не проводилось. Несмотря на то, что экспрессия рецепторов CXCR1, CXCR2 и CD44v6 характерна не только для клеток опухоли, но и для лейкоцитов крови, в литературе нет сведений об их уровне в лейкоцитах пациентов со злокачественными новообразованиями.

Результаты работ, посвященных измерению концентрации ГК в крови пациентов с НМКРЛ, в литературе также отсутствуют. Наряду с этим сообщается, что уровень

указанного показателя повышен в мокроте пациентов с раком легкого безотносительно гистологического подтипа и стадии заболевания [13].

Ранее нами были получены данные, свидетельствующие о существенном росте доли лимфоцитов с рецептором CXCR2, плотности CXCR1 в гранулоцитах крови пациентов с I, II и III–IV стадиями АК и ПКРЛ [14, 15]. Диагностическая эффективность их определения была больше, чем в результате измерения уровня CYFRA 21-1. При этом их диагностические параметры существенно различались при АК и ПКРЛ. Однако ни один из показателей не обладал одновременно высокой диагностической чувствительностью, специфичностью и эффективностью при этих заболеваниях. Перспективным направлением, позволяющим существенно повысить диагностические характеристики потенциальных биомаркеров, является вовлечение их в многофакторный анализ [16].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ диагностических параметров комбинированного определения концентрации ГК и CXCR1, CXCR2 в крови пациентов при АК и ПКРЛ в целях повышения диагностической ценности отдельных показателей.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 98 пациентов с АК и 115 пациентов с ПКРЛ (55 женщин и 153 мужчины) при поступлении в стационар РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова в период 2019–2022 гг. Детальная характеристика пациентов представлена в табл. 1. В качестве группы контроля обследовано 42 человека без признаков патологии.

Таблица 1
Характеристика пациентов с НМКРЛ
Table 1
Characteristics of patients with NSCLC

АК				ПКРЛ			
I	II	III	IV	I	II	III	IV
27	29	30	12	24	44	35	12
Размер опухоли (T)							
T1	T2	T3	T1	T2	T3	T4	
27	54	17	26	52	17	20	
Метастазы в регионарные лимфоузлы (N)							
N0	N1	N2	N3	N0	N1	N2	N3
46	18	25	9	95	10	15	5
Отдаленные метастазы							
M0	M1	M0	M1	M0	M1	M0	M1
86	12	103	12	103	12	103	12
Степень дифференцировки опухоли (Grade)							
G1	G2	G3	G1	G2	G3	G1	G2
6	48	21	46	38	18	46	38



Определение концентрации CYFRA 21-1 в сыворотке крови проводили методом иммунохемилюминесцентного анализа (ИХЛА) на ИХЛА-анализаторе Cobas e411 (Roche Diagnostics, США). Измерение уровня ГК в сыворотке крови пациентов и здоровых людей осуществляли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием ИФА-наборов Fine Test (KHP) на автоматическом анализаторе Brio (Seac, Италия) и планшетном фотометре Sirio (Seac, Италия). Относительное количество клеток крови, снабженных рецепторами CXCR1, CXCR2, и плотность расположения рецептора в них (MFI) определяли методом проточной цитометрии с использованием цитофлуориметра Navios (Beckman Coulter, США).

Поскольку распределение значений уровня показателей ни в одной из исследуемых выборок не подчинялось нормальному распределению по критерию Колмогорова – Смирнова, анализ проводили методами непараметрической статистики с использованием программного пакета IBM SPSS Statistics 23 (IBM, США). Рассчитывались медиана и интерквартильный размах (25%; 75%). Для оценки различий уровня определяемых показателей в нескольких независимых группах применяли Н-критерий Краскела – Уоллиса. Критическое значение уровня значимости критерия принимали равным 5% ($p < 0,05$). Последующие сравнения в анализируемых группах осуществлялись с применением U-критерия Манна – Уитни в соответствии с поправкой Холма – Бонферрони на множественные сравнения [17]. О характере и силе взаимосвязи между уровнем показателей и степенью распространенности опухолевого процесса судили на основании расчета коэффициента корреляции Спирмена (R). Оценку диагностической информативности биохимических тестов проводили с помощью характеристических кривых (ROC-анализ). О диагностической ценности анализируемых показателей судили на основании расчета диагностической чувствительности (ДЧ), специфичности (ДС) и эффективности теста (ДЭ). Пороговое значение диагностического теста определяли как величину оптимального сочетания чувствительности и специфичности теста при построении ROC-кривых.

Для построения многофакторной математической модели использовали бинарную логистическую регрессию. Переменные отбирались в соответствующие регрессионные уравнения методом пошагового включения переменных, который позволяет использовать в модели только предикторы, оказывающие существенное влияние на результат уравнения. Относительный вклад переменных, включенных в модель, оценивали на основании величины коэффициента регрессии (B). Значимость коэффициента определяли на основе величины статистики Вальда в совокупности с числом степеней свободы. Меру влияния изменения совокупности независимых переменных на дисперсию результатов регрессионных уравнений оценивали с помощью квадрата коэффициента детерминации (R^2), рассчитанного по методике Найджелкерка. Степень согласованности полученной модели с исходными данными рассчитывали с помощью критерия Хосмера – Лемешова. Качество приближения регрессионной модели определяли как разность между начальным отрицательным удвоенным значением логарифмического правдоподобия ($-2 \text{ Log Likelihood}$, $-2LL$) уравнения, содержащего только константу, и конечным значением $-2LL$ уравнения, содержащего константу и включенные переменные.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

Уровень ГК в крови пациентов с АК в 2,5 раза выше, чем в группе контроля, уже при I стадии заболевания. При II стадии концентрация возрастает. Она в 1,3 раза выше по сравнению с I стадией ($p < 0,001$, табл. 2). При III–IV стадиях АК уровень этого показателя максимален и существенно превышает таковой не только у здоровых людей, но и у пациентов с I и II стадиями АК.

Концентрация ГК в крови пациентов с I стадией ПКРЛ также существенно выше по сравнению с контрольными значениями ($p < 0,001$). При II стадии ПКРЛ уровень ГК продолжает нарастать и практически вдвое превышает таковой при I стадии ПКРЛ. При III–IV стадиях заболевания концентрация ГК выше, чем при I и II стадиях, а также по сравнению со здоровыми людьми ($p < 0,001$).

MFI CXCR1 в гранулоцитах (MFI CXCR1, гран.) пациентов с АК и ПКРЛ в 1,6 раза выше, чем у здоровых людей. При II стадии обоих гистологических подтипов НМКРЛ он существенно возрастает по сравнению с I стадией. При III–IV стадиях АК и ПКРЛ значения этого показателя максимальны. Они выше, чем при I и II стадиях этих гистологических подтипов НМКРЛ.

Доля лимфоцитов, снабженных CXCR2 (CXCR2, лимф., %), в крови пациентов с I стадией АК в 1,7 раза выше, чем у здоровых людей. При II стадии АК медиана этого показателя в 1,3 раза выше по сравнению с I стадией. У пациентов с III и IV стадиями заболевания отмечается дальнейший существенный рост доли лимфоцитов с CXCR2. Медиана ее значений достигает 20,9%, что в 1,3 раза выше, чем при II стадии АК ($p < 0,001$).

В крови пациентов с ПКРЛ доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, демонстрирует сходные изменения в зависимости от стадии заболевания. В крови пациентов с I стадией ПКРЛ уровень этого показателя в 1,9 раза выше контрольных значений. При II стадии он возрастает и превышает не только контрольный уровень, но и значения в крови пациентов с I стадией заболевания. При III и IV стадиях ПКРЛ медиана доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, составляет 29,8%. Это в 1,2 раза выше по сравнению с ее значением при II стадии заболевания ($p < 0,001$).

Концентрация CYFRA 21-1 в крови пациентов с I стадией обоих гистологических подтипов НМКРЛ существенно возрастает по сравнению со здоровыми людьми. При II стадии АК и ПКРЛ уровень этого антигена не увеличивается по сравнению с I стадией. Однако при III–IV стадиях обоих гистологических типов НМКРЛ его концентрация возрастает и превышает таковую как при I, так и при II стадии АК и ПКРЛ.

Проведенный корреляционный анализ свидетельствует о наличии связи средней силы между уровнем упомянутых показателей и стадиями АК и ПКРЛ ($R > 0,300$, табл. 2). Его результаты послужили основанием для определения диагностических параметров MFI CXCR1 в гранулоцитах, доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, и концентрации CYFRA 21-1 и ГК в сыворотке крови пациентов с АК и ПКРЛ.

Диагностическая чувствительность определения концентрации ГК в крови пациентов с I и II стадиями АК составляет 98,2%, специфичность – 71,1% (пороговое значение – 13,6 нг/мл, табл. 3). Наряду с этим, 89,7% пациентов с I и II стадиями ПКРЛ имеют уровень ГК в крови выше порогового значения (12,6 нг/мл) при той же специфичности (71,1%). Вероятность истинно положительного результата определения MFI CXCR1 в гранулоцитах пациентов с I и II стадиями АК (77,8%), напротив, уступает чувствительности этого теста при ПКРЛ (78,5%) при одинаковой специфичности (97,6%; пороговые значения – 30,5 и 30,0 соответственно).



Таблица 2

Уровень ГК, MFI CXCR1, CXCR2 и CYFRA 21-1 в крови пациентов с АК и ПКРЛ

Table 2

The level of HA, MFI CXCR1, CXCR2 and CYFRA 21-1 in the blood of patients with AIS and SCLC

Показатель	Контроль	АК			R
		Ст. I	Ст. II	Ст. III–IV	
ГК, нг/мл	9,0 [7,7; 18,0]	22,4 ^{1,2} [15,1; 24,6]	27,9 ^{1,2,3} [23,8; 28,7]	30,2 ^{1,2,3,4} [27,1; 33,2]	0,692
MFI CXCR1, гран.	20,1 [9,9; 27,6]	32,1 ^{1,2} [23,9; 44,2]	47,2 ^{1,2,3} [37,3; 65,1]	54,4 ^{1,2,3,4} [47,8; 63,9]	0,565
CXCR2, лимф., %	9,5 [6,6; 12,6]	16,5 ^{1,2} [10,3; 19,1]	20,9 ^{1,2,3} [20,0; 34,3]	32,5 ^{1,2,3,4} [30,7; 34,3]	0,661
CYFRA 21-1, нг/мл	1,4 [1,3; 2,0]	2,7 ^{1,2} [2,0; 3,7]	2,9 ^{1,2} [2,2; 4,1]	4,4 ^{1,2,3,4} [3,5; 7,3]	0,477
ПКРЛ					
ГК, нг/мл	9,0 [7,7; 18,0]	14,5 ^{1,2} [12,2; 16,9]	27,3 ^{1,2,3} [21,7; 32,9]	36,3 ^{1,2,3,4} [31,5; 47,2]	0,681
MFI CXCR1, гран.	20,1 [9,9; 27,6]	32,7 ¹ [18,4; 47,2]	47,1 ^{1,2,3} [34,9; 48,4]	59,8 ^{1,2,3,4} [57,3; 86,5]	0,578
CXCR2, лимф., %	9,5 [6,6; 12,6]	18,1 ^{1,2} [15,0; 18,9]	25,6 ^{1,2,3} [17,1; 27,5]	29,8 ^{1,2,3,4} [27,7; 34,0]	0,610
CYFRA 21-1, нг/мл	1,4 [1,3; 2,0]	3,0 ^{1,2} [2,0; 4,4]	3,4 ^{1,2} [2,2; 5,6]	5,4 ^{1,2,3,4} [3,2; 10,1]	0,415

Примечания: ¹ достоверные отличия по сравнению со здоровыми людьми; ² достоверные отличия уровня показателей с гамартомой; ³ достоверные отличия по сравнению с I стадией; ⁴ достоверные отличия по сравнению со II стадией.

В крови 76,9% пациентов с I и II стадиями АК доля лимфоцитов с рецептором CXCR2 превышает пороговое значение (14,4%). Эта величина практически не уступает чувствительности измерения этого показателя в крови пациентов с I и II стадиями ПКРЛ (77,6% при пороговом значении 16,1%). Наряду с этим, вероятность истинно отрицательного результата этого теста при ПКРЛ (92,9%) превосходит таковую при АК (85,7%).

Уровень анализируемых показателей (MFI CXCR1 в гранулоцитах, доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, уровень ГК в сыворотке крови) существенно возрастает в крови пациентов с III и IV стадиями обоих гистологических типов НМКРЛ по сравнению с I и II стадиями. 88,1% пациентов с III и IV стадиями АК имеют концентрацию ГК в крови выше порогового значения (26,7 нг/мл). Диагностическая чувствительность этого теста при ПКРЛ ниже, чем при АК, и составляет 80,4% (пороговое значение – 31,2 нг/мл). Наряду с этим, специфичность определения уровня ГК в крови пациентов с III и IV стадиями АК (73,2%) уступает таковой при ПКРЛ (77,9%).

Диагностические параметры определения MFI CXCR1 в гранулоцитах пациентов с III и IV стадиями АК ниже, чем при ПКРЛ. Так, в крови 77,5% пациентов с III и IV стадиями АК уровень этого показателя превышает пороговое значение (47,5). Диагностическая чувствительность этого теста при III и IV стадиях ПКРЛ на 14% выше (91,5%, пороговое значение – 54,4). Специфичность определения MFI CXCR1 в гранулоцитах у пациентов с III и IV стадиями АК (74,1%) также уступает таковой при ПКРЛ (83,1%).

Таблица 3
Диагностические параметры определения уровня ГК, CYFRA 21-1, CXCR1, CXCR2 при АК и ПКРЛ
Table 3
Diagnostic parameters for determining the level of HA, CYFRA 21-1, CXCR1, CXCR2 in AIS and SCLC

Показатель	ПЗ	ДЧ, %	ДС, %	AUC	95% ДИ	ДЭ, %	ПЦПР, %	ПЦОР, %
I-II стадия АК / здоровые люди								
МFI CXCR1, гранулоциты	30,5	77,8	97,6	0,900	0,840–0,960	86,5	77,4	97,7
CXCR2, лимфоциты, %	14,4	76,9	85,7	0,878	0,811–0,945	80,8	83,3	75,0
ГК, нг/мл	13,6	98,2	71,1	0,962	0,930–0,994	87,2	83,3	96,4
CYFRA 21-1, нг/мл	1,6	88,9	66,7	0,800	0,703–0,897	79,2	77,4	82,3
I-II стадия АК / III-IV стадия АК								
МFI CXCR1, гранулоциты	47,5	77,5	74,1	0,776	0,682–0,870	75,5	68,9	81,6
CXCR2 лимфоциты, %	22,8	95,0	78,8	0,849	0,764–0,934	84,8	77,6	95,3
ГК, нг/мл	26,9	88,1	73,2	0,851	0,774–0,928	79,6	71,2	82,0
CYFRA 21-1, нг/мл	3,1	87,2	70,4	0,790	0,696–0,883	77,4	68,0	88,4
I стадия АК / II стадия АК								
МFI CXCR1, гранулоциты	36,6	86,2	72,0	0,741	0,599–0,882	79,6	78,1	81,8
CXCR2, лимфоциты, %	18,4	77,8	76,0	0,748	0,613–0,883	76,9	77,8	76,0
ГК, нг/мл	25,6	72,4	92,6	0,883	0,797–0,968	82,1	91,3	75,8
I-II стадия ПКРЛ / здоровые люди								
МFI CXCR1, гранулоциты	30,0	78,5	97,6	0,906	0,852–0,960	85,9	98,0	74,5
CXCR2, лимфоциты, %	16,1	77,6	92,9	0,951	0,914–0,988	84,0	93,7	75,0
ГК, нг/мл	12,6	89,7	71,1	0,877	0,812–0,942	83,0	84,7	79,4
CYFRA 21-1, нг/мл	1,7	85,2	66,7	0,803	0,709–0,897	77,1	76,7	77,8
I-II стадия ПКРЛ / III-IV стадия ПКРЛ								
МFI CXCR1, гранулоциты	54,4	91,5	83,1	0,849	0,772–0,926	86,6	79,6	93,1
CXCR2, лимфоциты, %	27,4	78,3	84,5	0,860	0,791–0,930	81,7	80,0	83,1
ГК, нг/мл	31,2	80,4	77,9	0,843	0,772–0,915	78,9	71,2	85,4
CYFRA 21-1, нг/мл	3,8	67,5	64,8	0,721	0,618–0,824	66,0	58,7	72,9
I стадия ПКРЛ / II стадия ПКРЛ								
МFI CXCR1, гранулоциты	32,9	84,1	66,7	0,715	0,565–0,866	78,4	84,1	66,7
CXCR2, лимфоциты, %	18,6	70,3	76,2	0,788	0,672–0,903	72,4	80,6	59,2
ГК, нг/мл	18,7	88,6	79,2	0,848	0,736–0,959	86,8	88,9	82,6



Определение доли лимфоцитов с рецептором CXCR2 в общей популяции лимфоцитов крови, напротив, демонстрирует более высокую чувствительность при III и IV стадиях АК (95,0%, пороговое значение – 22,8%), чем при ПКРЛ (78,3%, пороговое значение – 27,4%). Однако специфичность этого теста при АК (78,8%) ниже, чем при ПКРЛ (84,5%).

Концентрация ГК в крови, MFI CXCR1 в гранулоцитах и доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, существенно увеличиваются в крови пациентов со II стадией АК и ПКРЛ по сравнению с I стадией. Диагностическая чувствительность определения ГК в крови в целях отличия I и II стадий ПКРЛ составляет 88,6% (пороговое значение 18,6 нг/мл), что выше, чем при АК (72,4%, пороговое значение – 25,6 нг/мл). Специфичность этого теста при ПКРЛ (79,2%), напротив, существенно уступает таковой при АК (92,6%).

У 86,2% пациентов с АК I или II стадии MFI CXCR1 в гранулоцитах выше порогового значения (36,6). 72,0% пациентов с уровнем этого показателя меньше порогового имеют I стадию заболевания. Чувствительность и специфичность определения MFI CXCR1 в гранулоцитах в целях отличия I стадии ПКРЛ от II его стадии меньше, чем при АК (84,1 и 66,7% соответственно; пороговое значение – 32,9).

Среди пациентов со II стадией АК у 77,8% доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, выше порогового значения (18,4%). У 76,0% пациентов с I стадией заболевания уровень этого показателя меньше порогового. Чувствительность определения доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, при ПКРЛ ниже, чем при АК (70,3%) при сопоставимой специфичности (76,2%) и пороговом значении (18,6%).

Еще одним показателем, уровень которого продемонстрировал существенные различия в зависимости от распространенности опухоли при АК и ПКРЛ, был CYFRA 21-1. Диагностическая чувствительность его определения в целях отличия пациентов с I и II стадиями АК от здоровых людей составляет 88,9% (специфичность – 66,7%; пороговое значение – 1,6 нг/мл). У 85,2% пациентов с I и II стадиями ПКРЛ концентрация этого антигена превышает пороговое значение (1,7 нг/мл) при сохранении той же специфичности (66,7%).

У 87,2% пациентов с III–IV стадиями АК уровень CYFRA 21-1 в крови выше порогового значения (3,1 нг/мл) при специфичности 70,4%. Диагностические параметры этого теста при ПКРЛ ниже, чем при АК (чувствительность – 67,5%, специфичность – 64,8% соответственно, пороговое значение – 3,8 нг/мл).

MFI CXCR1 в гранулоцитах, доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, уровень ГК и CYFRA 21-1 в крови пациентов с АК и ПКРЛ демонстрируют сходную динамику изменения в зависимости от распространенности опухоли, но диагностические параметры их определения в крови пациентов существенно различаются в зависимости от подтипа НМКРЛ. Несмотря на сравнительно высокую информативность определения вышеуказанных показателей в крови пациентов, ни один из них не обладает одновременно достаточной диагностической чувствительностью и специфичностью при АК и ПКРЛ. Эффективность определения этих показателей варьирует от 72,4 до 86,6%.

Одним из перспективных подходов к повышению диагностической ценности определения лабораторных показателей является создание диагностических панелей, включающих несколько независимых предикторов [16]. С помощью метода пошагового включения переменных в регрессионные модели были отобраны только

те показатели, которые оказывали существенное влияние на их результаты. В уравнение (1), созданное в целях отличия пациентов с I и II стадиями АК от здоровых людей, были включены концентрация ГК в сыворотке крови и MFI CXCR1 гранулоцитов (см. рисунок (А)). Регрессионная модель 1 для отличия I и II стадий АК от здоровых людей:

$$Y1 = \frac{\exp(-10,04+0,128 \times [\text{MFI CXCR1 гран.}] + 0,391 \times [\text{ГК}])}{1 + \exp(-10,04+0,128 \times [\text{MFI CXCR1 гран.}] + 0,391 \times [\text{ГК}])} \quad (1)$$

Примечание: здесь и далее $\exp$ – основание натурального логарифма ($\approx 2,718$); Y – результат регрессионного уравнения.

Качество приближения регрессионной модели оценивали с помощью значений отрицательного удвоенного логарифма функции правдоподобия ($-2 \text{ Log Likelihood}$, $-2LL$). Чем меньше эта величина, тем более адекватна созданная модель [17, 18]. Значение $-2LL$ уравнения, содержащего только свободный член, составляет 120,4. Включение в уравнение предикторных переменных (уровень ГК в крови и MFI CXCR1 в гранулоцитах) приводит к снижению $-2LL$ до 32,3 ($\delta -2LL = 88,1$; $p < 0,001$).

Приближение квадрата коэффициента детерминации (R^2), рассчитанное согласно формуле Найджелкерка, показывает, в какой мере дисперсия результативной переменной $Y1$ объясняется изменением совокупности независимых переменных уравнения. Значения этого показателя меняются от 0 до 1 [18]. Для регрессионного уравнения (1) оно составило 0,849. Это свидетельствует, что дисперсия величины $Y1$ на 84,9% объясняется изменением значений уровня ГК в крови и MFI CXCR1 в гранулоцитах.

О согласованности полученного регрессионного уравнения с исходными данными судили на основании критерия согласия Хосмера – Лемешова. Для уравнения (1) его величина составила 0,878. Значения критерия согласия, превышающие 0,05, свидетельствуют о хорошей согласованности модели с реальными данными [17, 18].

Относительный вклад независимых предикторов уравнения в его результат определяется коэффициентом регрессии (В). Величина статистики Вальда в совокупности с числом степеней свободы (n) указывают на значимость соответствующего предиктора для модели. Значения отношения шансов (ОШ) для уровня ГК и MFI CXCR1 в гранулоцитах для уравнения (1) свидетельствуют, что шансы на получение положительного результата уравнения (1) при увеличении уровня соответствующих предикторов на единицу увеличиваются в 1,5 и 1,1 раза соответственно (табл. 4).

У 96,3% пациентов с I и II стадиями АК результат регрессионного уравнения (1) превышает пороговое значение 0,37. 86,8% обследуемых с результатом меньше 0,37 верно отнесены к здоровым людям. Диагностическая эффективность теста составляет 92,4%, что на 5,2% выше, чем эффективность определения с этой целью уровня ГК в крови, и на 5,9% – чем MFI CXCR1 в гранулоцитах. Диагностические параметры уравнения (1) представлены в табл. 5.

В регрессионное уравнение (2), созданное в целях отличия пациентов с I и II стадиями АК от III и IV ее стадий, вошла концентрация CYFRA 21-1 в сыворотке крови, доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, и MFI CXCR1 в гранулоцитах (табл. 4, 5, см. рисунок (В)). Регрессионная модель для отличия I и II стадий АК от III и IV стадий:



$$Y_2 = \frac{\exp(-13,70+0,542 \times [CYFRA\ 21-1]+0,233 \times [CXCR2, \text{ лимф., \%}]+0,096 \times [MFI\ CXCR1, \text{ гран.]})}{1+\exp(-13,70+0,542 \times [CYFRA\ 21-1]+0,233 \times [CXCR2, \text{ лимф., \%}]+0,096 \times [MFI\ CXCR1, \text{ гран.]})}. \quad (2)$$

Отрицательное удвоенное значение функции правдоподобия (–2LL) для регрессионного уравнения (2), содержащего только константу, составляет 121,6. После включения в него уровня CYFRA 21-1, доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, и MFI CXCR1 в гранулоцитах эта величина снижается до 48,3, т. е. качество приближения регрессионной модели составляет 73,3. Это свидетельствует о том, что итоговая модель описывает данные лучше, чем базовая модель. R², рассчитанный по методике

Таблица 4
Параметры предикторов регрессионных уравнений (1)–(6)
Table 4

Parameters of predictors of regression equations (1)–(6)

Показатель	B	SE	Критерий Вальда	n	p	ОШ	95% ДИ
Уравнение (1) (I–II стадия АК / здоровые люди)							
ГК, нг/мл	0,391	0,102	14,65	1	<0,001	1,48	1,21–1,93
MFI CXCR1, гранулоциты	0,128	0,044	8,57	1	0,003	1,14	1,04–1,24
Уравнение (2) (I–II стадия АК / III–IV стадия АК)							
CXCR2, лимфоциты, %	0,233	0,200	15,26	1	<0,001	1,26	1,12–1,42
CYFRA 21-1, нг/мл	0,542	0,060	7,38	1	<0,001	1,72	1,16–2,54
MFI CXCR1, гранулоциты	0,096	0,037	6,64	1	0,007	1,10	1,02–1,18
Уравнение (3) (I стадия АК / II стадия АК)							
ГК, нг/мл	0,795	0,262	9,23	1	0,002	2,21	1,26–3,77
MFI CXCR1, гранулоциты	0,104	0,039	7,03	1	0,028	1,11	1,02–1,22
Уравнение (4) (I–II стадия ПКРЛ / здоровые люди)							
ГК, нг/мл	0,335	0,134	6,28	1	0,012	1,40	1,08–2,44
CXCR2, лимфоциты, %	0,887	0,303	8,57	1	0,003	2,43	1,08–1,82
Уравнение (5) (I–II стадия АК / III–IV стадия АК)							
ГК, нг/мл	0,131	0,031	17,58	1	<0,001	1,14	1,07–1,21
CXCR2, лимфоциты, %	0,278	0,067	17,13	1	<0,001	1,32	1,16–1,51
Уравнение (6) (I стадия АК / II стадия АК)							
ГК, нг/мл	0,429	0,135	10,07	1	0,002	1,54	1,17–2,00
CXCR2, лимфоциты, %	0,383	0,139	7,59	1	0,006	1,47	1,12–1,93

Таблица 5
Диагностические параметры регрессионных моделей (1)–(6)
Table 5

Diagnostic parameters of regression models (1)–(6)

Уравнение	ПЗ	ДЧ, %	ДС, %	ДЭ, %	ПЦПР, %	ПЦОР, %
Уравнение (1)	0,37	96,3	86,8	92,4	91,5	94,3
Уравнение (2)	0,50	92,1	92,0	92,0	89,7	93,9
Уравнение (3)	0,53	93,1	92,0	92,6	93,1	92,6
Уравнение (4)	0,46	93,1	92,1	92,7	94,7	89,7
Уравнение (5)	0,44	95,7	86,2	90,4	84,6	96,2
Уравнение (6)	0,60	94,6	91,5	93,1	94,6	90,4

Найджелкерка, составил 0,750, что говорит о достаточной мере влияния независимых переменных на Y2 (75%). Величина критерия согласия Хосмера – Лемешова для уравнения (2) составляет 0,270, что указывает на хорошую согласованность модели с реальными данными. Значения ОШ для доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, концентрации CYFRA 21-1 в крови и MFI CXCR1 в гранулоцитах свидетельствуют, что шансы положительного результата применения уравнения (2) при увеличении уровня этих показателей на единицу измерения возрастают в 1,3; 1,7 и 1,1 раза соответственно.

92,1% пациентов с III и IV стадиями АК имели результат уравнения (2) выше порогового значения 0,5 (специфичность – 92%). Эффективность использования уравнения для отличия I–II стадий АК от III–IV стадий составляет 92%, что выше, чем у показателей в отдельности, на 6,1–16,5%.

MFI CXCR1 в гранулоцитах и концентрация ГК в крови были включены в уравнение (3), позволяющее с высокой эффективностью отличить II стадию АК от I ее стадии (табл. 4, 5, см. рисунок (C)). Регрессионная модель для отличия I стадии АК от II ее стадии:

$$Y_3 = \frac{\exp(-23,66 + 0,795 \times [\text{ГК}] + 0,104 \times [\text{MFI CXCR1, гран.]})}{1 + \exp(-0,23,66 + 0,795 \times [\text{ГК}] + 0,104 \times [\text{MFI CXCR1, гран.]})} \quad (3)$$

–2LL уравнения (3), содержащего только константу, составляет 74,6. Конечная величина –2LL после включения предикторов – 30,9 (качество приближения – 43,7). R² Найджелкерка составил 0,741, т. е. дисперсия результата уравнения (3) объясняется изменением независимых предикторов на 74,1%. Величина критерия согласия Хосмера – Лемешова для уравнения (3) составляет 0,422, что свидетельствует о согласованности модели с данными.

Среди пациентов со II стадией АК у 93,1% результат уравнения (3) был выше порогового значения (0,53), а 92% пациентов с Y3 меньше порогового имели I стадию заболевания. Эффективность применения уравнения (3) у пациентов с I и II стадиями АК – 92,6% (табл. 5).

Регрессионные модели, созданные в целях дифференцирования I и II стадий ПКРЛ от здоровых людей и III–IV его стадий, а также различия I и II стадий заболевания, отличались от моделей для АК. Так, в уравнение, позволяющее отличить I–II стадию ПКРЛ от здоровых людей, вошел уровень ГК в крови и доля лимфоцитов, снабженных CXCR2 (табл. 4, 5, см. рисунок (D)). Регрессионная модель для отличия I и II стадии ПКРЛ от здоровых людей:

$$Y_4 = \frac{\exp(-18,26 + 0,887 \times [\text{CXCR2 лимф.}] + 0,335 \times [\text{ГК}])}{1 + \exp(-18,26 + 0,887 \times [\text{CXCR2 лимф.}] + 0,335 \times [\text{ГК}])} \quad (4)$$

–2LL модели, содержащей только константу, составляет 111,0. После включения в нее предикторных переменных его величина снижается до 22,6. Качество приближения составляет 88,4. R² Найджелкерка для уравнения (4) составляет 0,891, т. е. дисперсия Y4 на 89,1% зависит от изменения величин предикторных переменных. Критерий согласия Хосмера – Лемешова равен 0,979 (>0,05) и отражает высокую степень согласия регрессионной модели с исходными данными.



Диагностическая чувствительность модели (4) составила 93,1%. 92,1% здоровых людей имели результат уравнения меньше порогового значения (0,46). Эффективность диагностической модели – 92,7%.

Те же самые показатели (доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, и концентрация ГК в крови) были включены в уравнение (5), позволяющее отличить I–II стадию ПКРЛ от III–IV его стадий (табл. 4, 5, см. рисунок (Е)). Регрессионная модель для отличия I и II стадии ПКРЛ от III и IV стадий:

$$Y_5 = \frac{\exp(-11,87 + 0,278 \times [\text{CXCR2 лимф.}] + 0,131 \times [\text{ГК}])}{1 + \exp(-11,87 + 0,278 \times [\text{CXCR2 лимф.}] + 0,131 \times [\text{ГК}])}. \quad (5)$$

Начальная величина –2LL созданного уравнения равна 139,4. При включении в уравнение предикторов –2LL снижается до 67,6 (качество приближения – 71,8), т. е. созданная модель более адекватна по сравнению с исходной, содержащей только константу. R^2 Найджелкерка уравнения (5) равен 0,679, т. е. дисперсия Y_5 на 67,9% объясняется изменением доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, и уровня ГК в крови пациентов. Величина критерия согласия для модели составила 0,200 ($>0,05$), т. е. модель достаточно точно описывает исходные данные.

У 95,7% пациентов с III–IV стадиями ПКРЛ значение регрессионного уравнения (5) превышало пороговое (0,44), а 86,2% пациентов с результатом этого уравнения меньше порогового имели I–II стадию развития опухолевого процесса. Диагностическая эффективность созданной модели – 90,4%.

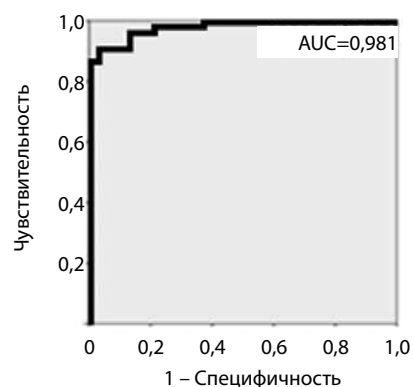
Определение комбинации уровня ГК в крови и доли лимфоцитов, снабженных CXCR2, оказалось наиболее эффективным при отличии II стадии ПКРЛ от I его стадии (табл. 4, 5, см. рисунок (F)). Регрессионная модель для отличия I стадии ПКРЛ от II его стадии:

$$Y_6 = \frac{\exp(-15,53 + 0,383 \times [\text{CXCR2 лимф.}] + 0,429 \times [\text{ГК}])}{1 + \exp(-15,53 + 0,383 \times [\text{CXCR2 лимф.}] + 0,429 \times [\text{ГК}])}. \quad (6)$$

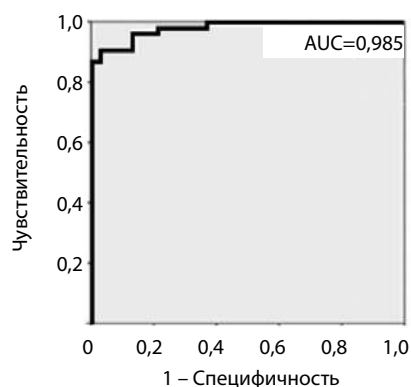
–2LL модели (6), содержащей только константу, составляет 73,9. При добавлении в него предикторов его величина снижается до 20,0; Δ –2LL – 53,9 ($p < 0,001$), R^2 Найджелкерка – 0,827, т. е. независимые переменные влияют на дисперсию результатов уравнения на 82,7% по формуле Найджелкерка. Критерий согласия Хосмера – Лемешова для созданной модели составляет 0,126, что превышает критический уровень значимости (0,05) и говорит о хорошей согласованности модели с реальными данными.

94,6% пациентов с I–II стадиями ПКРЛ и результатом уравнения (6) выше порогового значения (0,60) имеют II стадию заболевания (специфичность – 91,5%). Эффективность применения результатов уравнения – 93,1%.

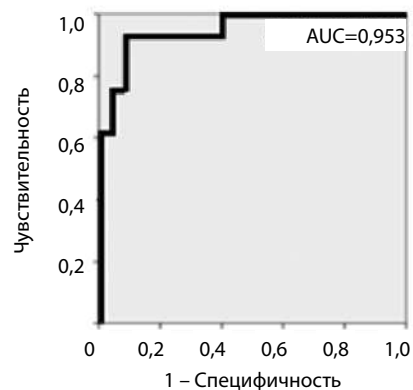
Работоспособность созданных регрессионных уравнений была проверена на экзамениционных выборках пациентов с АК и ПКРЛ. У 19 из 23 пациентов (85,7%) с I или II стадиями АК результат регрессионного уравнения (1) превышал пороговое значение 0,37. 12 из 14 здоровых людей (85,7%) имели результат уравнения (1) меньше 0,37. ПЦПР теста составила 90,5%, ПЦОР – 75%. У 13 из 17 пациентов (76,4%) с III–IV стадиями АК результат уравнения (2) был выше порогового 0,50. 20 из 23 пациентов с I–II стадиями заболевания имели результат уравнения меньше 0,50 (87,0%). ПЦПР и



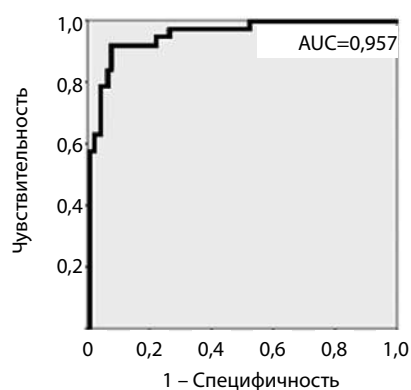
A



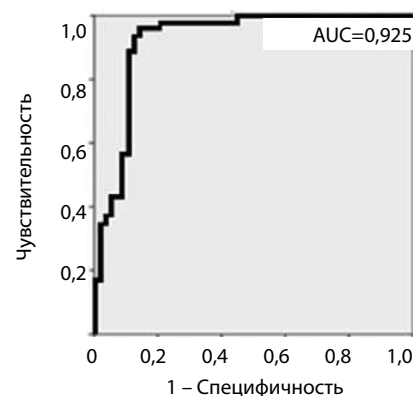
B



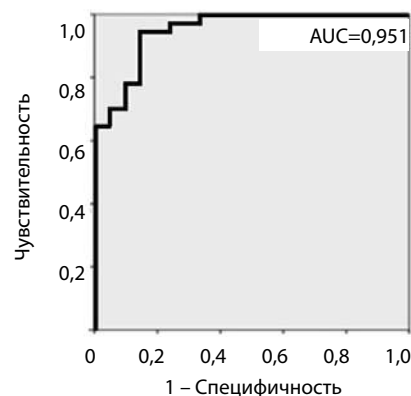
C



D



E



F

ROC-кривые зависимости чувствительности от вероятности ложноположительного результата применения уравнений (1)–(6)

ROC-curves of sensitivity dependence on the probability of a false positive result of the application of equations (1)–(6)



ПЦОР этого теста в экзаменационной выборке составили 81,2 и 83,3% соответственно. Результаты проверки регрессионного уравнения (3) свидетельствуют, что 7 из 9 пациентов (77,8%) с I или II стадиями АК и значением уравнения больше порогового (0,53) имеют II стадию опухолевого процесса, а 10 из 14 (71,4%) пациентов с I стадией АК имеют результаты уравнения меньше 0,53. У 16 из 18 пациентов с I или II стадиями ПКРЛ результаты уравнения (4) превышали пороговое значение (0,46; чувствительность – 88,8%). У 12 из 14 здоровых лиц результат уравнения (4) был меньше, чем 0,46 (специфичность – 85,7%). ПЦПР и ПЦОР уравнения (4) в экзаменационной выборке составили 88,8 и 85,7% соответственно, а диагностическая эффективность – 87,5%.

Результаты применения уравнения (5) в экзаменационной выборке позволяют верно классифицировать пациентов с III или IV стадией ПКРЛ в 10 из 13 случаев (диагностическая чувствительность – 76,9%). 16 из 18 пациентов с результатом уравнения (5) меньше порогового (0,44) имеют I или II стадию заболевания (специфичность 88,8%). ПЦПР и ПЦОР – 83,3 и 84,2% соответственно. Диагностическая эффективность составляет 83,8%.

У 7 из 9 пациентов (77,7%) с I стадией ПКРЛ в экзаменационной выборке результат регрессионного уравнения (6) был меньше порогового значения (0,44). 8 из 9 пациентов (88,8%) с результатом уравнения (6) больше 0,44 имели II стадию ПКРЛ. Диагностическая эффективность теста в экзаменационной выборке равна 83,3%, ПЦПР и ПЦОР – 87,5 и 80% соответственно.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о существенных изменениях уровня ГК в крови, доли лимфоцитов с рецептором CXCR2, MFI CXCR1 в гранулоцитах в крови пациентов с АК и ПКРЛ в зависимости от стадии заболевания. В связи с тем, что рецепторы CXCR1 и CXCR2 являются неотъемлемыми составляющими опухолеассоциированной воспалительной реакции, а ГК участвует в инвазии и метастазировании опухоли, повышение уровня этих соединений в крови пациентов закономерно и ожидаемо. Другими исследователями ранее также были получены данные, свидетельствующие о существенном росте уровня ГК и в мокроте пациентов с раком легкого [13]. Вместе с тем в этих работах не учитывался гистологический подтип заболевания и стадия опухолевого процесса. Уровень рецепторов CXCR1 и CXCR2 в клетках крови пациентов с АК и ПКРЛ ранее не исследовался.

На протяжении нескольких последних десятилетий активно изучается целесообразность определения в крови пациентов фрагмента цитокератина 19 (CYFRA 21-1) в качестве биомаркера АК и ПКРЛ. По некоторым данным, чувствительность его измерения в крови пациентов при АК достигает 74%, а при ПКРЛ – 84% [4]. В других исследованиях, напротив, можно встретить указание на сравнительно невысокую информативность определения этого показателя крови при АК и ПКРЛ [4]. Вместе с тем в этих исследованиях не учитывалась распространенность опухоли.

Нами были получены результаты, свидетельствующие о сравнительно высокой диагностической эффективности определения уровня ГК в крови, доли лимфоцитов с рецептором CXCR2, MFI CXCR1 в гранулоцитах в крови пациентов с I, II и III–IV стадиями ПКРЛ и АК, в ряде случаев превосходившей таковую измерения «классического» опухолеассоциированного антигена CYFRA 21-1.

Другим преимуществом использования анализируемых нами показателей является возможность их применения в целях отличия I стадии АК и ПКРЛ от II. Вместе с тем ни один из показателей не обладал достаточно высокой чувствительностью и специфичностью определения при гистологических подтипах НМКРЛ, а диагностическая эффективность их измерения варьировала от 72,4 до 86,8%.

Распространенным подходом к повышению диагностических параметров лабораторных тестов является вовлечение их в многофакторный анализ.

Созданы диагностические модели. Первая позволяет отличить пациентов с I и II стадиями АК от здоровых людей (эффективность – 92,4%). Вторая позволяет отличить пациентов с I и II стадиями АК от III и IV ее стадий (эффективность – 92,0%), третья позволяет различить пациентов с I и II стадиями АК (эффективность – 92,6%), четвертая позволяет отличить пациентов с I и II стадиями ПКРЛ от здоровых людей (эффективность – 92,7%). Пятая позволяет разграничить I–II стадии ПКРЛ и III–IV его стадии (эффективность – 90,4%). Шестая может использоваться для отличия I стадии ПКРЛ от II его стадии (эффективность – 93,1%). Анализ диагностической ценности и надежности моделей позволяет прийти к заключению, что они могут использоваться в качестве дополнительных критериев распространенности опухолевого процесса при АК и ПКРЛ.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Raso M.G. Molecular pathogenesis of early-stage non-small cell lung cancer and a proposal for tissue banking to facilitate identification of new biomarkers. *Journal of Thoracic Oncology*. 2014;2(7):128–135. doi: 10.1097/JTO.0b013e318074fe42
2. Wang B-Y. The comparison between adenocarcinoma and squamous cell lung carcinoma in lung cancer patients. *J. of Cancer Res. and Clin. Oncol.* 2020;146(1):43–52. doi: 10.1007/s00432-019-03079-8. Epub 2019 Nov 8
3. Woodard G.A. Lung cancer staging and prognosis. *The Cancer Treat Res.* 2016;170:47–75.
4. Fu L. CYFRA 21-1 tests in the diagnosis of non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *The Int. J. of biological markers.* 2019;34(3):251–261. doi: 10.1007/978-3-319-40389-2_3
5. Lei L. Clinical significance of CYFRA 21-1, SCC-Ag and telomerase activity in serum and pleural infusion of patients with squamous-cell lung cancer. *Bioanalysis.* 2012;4(19):2367–2374. doi: 10.4155/bio.12.203
6. Ha H. Role of CXCL-8/CXCR1/2 axis in Cancer and Inflammatory Diseases. *Theranostics.* 2017;7(6):1543–1588. doi: 10.7150/thno.15625
7. Krishnamachary B. Hypoxia regulates CD44 and its variant isoforms through HIF-1 α in triple negative breast cancer. *PLoS One.* 2012;7(8):e44078. doi: 10.1371/journal.pone.0044078
8. Köbel M. Epithelial hyaluronic acid and CD44v6 are mutually involved in invasion of colorectal adenocarcinomas and linked to patient prognosis. *Virchows Arch.* 2004;445(5):456–464. doi: 10.1007/s00428-004-1095-0
9. Hernandez J.R. Clinical utility of hyaluronic acid values in serum and bronchoalveolar lavage fluid as tumor marker for bronchogenic carcinoma. *The Int. J. of biological markers.* 1995;10(3):149–155.
10. Liang J. Serum tumor markers, hypoxia-inducible factor-1 α , and vascular endothelial growth factor in patients with non-small cell lung cancer before and after intervention. *Asian pacific J. of cancer prevention.* 2013;14(6):3851–3854. doi: 10.7314/apjcp.2013.14.6.3851
11. Orditura M. Elevated serum levels of interleukin-8 in advanced non-small cell lung cancer patients: relationship with prognosis. *J. Interferon Cytokine Res.* 2002;22(11):1129–1135.
12. Wu K. The clinical significance of CXCL5 in non-small cell lung cancer. *Onco Targets Ther.* 2017;21(10):5561–5573. doi: 10.2147/OTT.S148772. eCollection 2017
13. Chinoca. J. Monitoring non-small cell lung cancer progression and treatment response through hyaluronic acid in sputum. *Braz. J. of medical and biological research.* 2022;55:e11513. doi: 10.1590/1414-431X2021e11513
14. Murashka D.I., Tahanovich A.D., Kauhanka M.M. Diagnostic significance of determining CXCL8 and its receptor CXCR1 in NSCLC patients. *Eurasian oncology journal.* 2021;9(2):127–137.
15. Murashka D.I., Tahanovich A.D., Kauhanka M.M. CXCL5 and its receptor CXCR2 blood levels in NSCLC patients. Diagnostic efficiency of determining. *BSMU is at the forefront of medical science and practice.* 2021;11:508–516.
16. Chen Z. Assessment of Seven Clinical Tumor Markers in Diagnosis of Non-Small-Cell Lung Cancer. *Dis. Markers.* 2018;2018:9845123. doi: 10.1155/2018/9845123
17. Narkevich A.N., Vinogradov K.A., Grijbovski A.M. Multiple comparisons in biomedical research: the problem and its solutions. *Human Ecology.* 2020;10:55–64.