



Таганович А.Д.¹✉, Ковганко Н.Н.¹, Хотько Е.А.¹, Готько О.В.², Прохорова В.И.²

¹ Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

² Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н.Н. Александрова, Минск, Беларусь

Оценка эффективности лечения плоскоклеточного рака легкого на основе определения в крови показателей внутри- и внеклеточного метаболизма

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Таганович А.Д. – концепция и дизайн исследования, обзор литературы, написание текста; Ковганко Н.Н. – сбор и обработка материала, статистическая обработка данных, обзор литературы, написание текста; Хотько Е.А. – статистическая обработка данных; Готько О.В. – сбор и обработка материала; Прохорова В.И. – концепция и дизайн исследования, обзор литературы.

Финансирование: исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства здравоохранения Республики Беларусь (грант 2.17/2022-2024).

Подана: 06.03.2024

Принята: 28.05.2024

Контакты: ataganovich@gmail.com

Резюме

Изучалась возможность создания единого лабораторного критерия для определения вероятности развития рецидива опухоли у пациентов с I–IIIВ стадиями плоскоклеточного рака легкого (ПКРЛ). Обследовано 105 пациентов (61 мужчина и 44 женщины), у которых впервые диагностирован ПКРЛ I–IIIВ стадии (I стадия – 21, II стадия – 36, IIIА, В стадии – 48). Измеряли концентрацию в сыворотке антигена плоскоклеточной карциномы (SCC), фрагмент f 19 цитокератина (CYFRA 21-1), долю лимфоцитов, снабженных рецепторами CXCR1 и CXCR2, и долю моноцитов, снабженных рецепторами CXCR2 и CD44v6, в общей популяции этих клеток в крови соответственно до начала лечения и через 3 недели, 3 и 6 месяцев после лечения.

Создано объединенное регрессионное уравнение, включающее абсолютные значения 6 индивидуальных биомаркеров. Вероятность диагностики 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 80,0%, 87,6%, 93,3% соответственно (чувствительность 89,7%, 93,1%, 96,6%, специфичность – 76,3%, 85,5%, 92,1%) при пороговых значениях 0,088, 0,126 и 0,214 соответственно. На основе созданного объединенного уравнения построена номограмма для оценки вероятности рецидива опухоли после проведенного лечения.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак легкого, CYFRA 21-1, SCC, CXCR1, CXCR2, CD44v6, рецидив, диагностика, номограмма



Tahanovich A.¹, Kauhanka M.¹, Chotko E.¹, Gotko O.², Prokhorova V.²

¹ Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

² N.N. Alexandrov National Cancer Center of Belarus, Minsk, Belarus

Assessment of the Effectiveness of Treatment for Squamous Cell Lung Cancer Based on Determination of Intra- and Extracellular Metabolism Indicators in the Blood

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Tahanovich A. – concept and design of the study, literature review, writing the text; Kauhanka M. – collection and processing of material, statistical data processing, literature review, text writing; Chotko E. – statistical data processing; Gotko O. – collection and processing of material; Prokhorova V. – concept and design of the study, literature review.

Funding: the study was carried out with the financial support of the Ministry of Health of the Republic of Belarus (grant 2.17/2022-2024).

Submitted: 06.03.2024

Accepted: 28.05.2024

Contacts: ataganovich@gmail.com

Abstract

The possibility of creating a single laboratory criterion to determine the likelihood of tumor recurrence in patients with stages I–IIIB of squamous cell lung cancer (SCLC) was studied. We examined 105 patients (61 men and 44 women) who were newly diagnosed with stage I–IIIB lung SCLC (stage I – 21, stage II – 36, stage IIIA, B – 48). Serum concentrations of squamous cell carcinoma antigen (SCC), cytokeratin fragment 19 (CYFRA 21-1), the proportion of lymphocytes equipped with CXCR1 and CXCR2 receptors, and the proportion of monocytes equipped with CXCR2 and CD44v6 receptors in the total population of these cells in the blood, respectively, were measured. before treatment and 3 weeks, 3 and 6 months after treatment.

A pooled regression equation was created including the absolute values of the 6 individual biomarkers. The probability of diagnosing a relapse by measuring 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 80.0%, 87.6%, 93.3% respectively (sensitivity 89.7%, 93.1%, 96.6%, specificity – 76.3%, 85.5%, 92.1%) with threshold values of 0.088, 0.126 and 0.214, respectively. Based on the created combined equation, a nomogram was constructed to assess the probability of tumor recurrence after treatment.

Keywords: squamous cell lung cancer, CYFRA 21-1, SCC, CXCR1, CXCR2, CD44v6, relapse, diagnosis, nomogram

■ ВВЕДЕНИЕ

По данным ВОЗ, в 2023 году рак легкого оказался на втором месте по числу вновь выявленных случаев рака и на первом месте – по смертности среди всех онкологических заболеваний [1]. Наиболее распространенным типом рака легкого (85%) является немелкоклеточный рак (НМРЛ), который в свою очередь может быть

аденокарциномой (АК) – 50%, плоскоклеточным (ПКРЛ) – 47% или крупноклеточным раком – 3% [2]. Они отличаются друг от друга не только гистологической структурой. К примеру, причина АК чаще всего связана с мутациями в генах рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) и киназы анапластической лимфомы (CD246), в то время как ПКРЛ чаще развивается у курящих и не ассоциирован с мутациями [1]. Поэтому неудивительно, что исследование патогенеза и диагностики этих типов заболевания нередко проводится раздельно [2–4].

Основой лечения пациентов с диагностированными стадиями I–IIIB ПКРЛ служит резекция опухоли в ходе хирургического вмешательства. Пациентам выполняется операция в объеме R0, что предполагает полное удаление опухолевой ткани, а у пациентов с IIIA, B стадиями заболевания хирургическое лечение сопряжено с химиотерапией. Несмотря на предпринимаемые усилия, риск развития рецидива из-за микрометастазов после операции достаточно высок. Даже при I стадии ПКРЛ рецидив опухоли диагностируется у 20% пациентов [2], а при III стадии уже в первый год после проведенного лечения он развивается в 35–40% случаев [3]. Он обусловлен наличием скрытых метастазов или оставшихся опухолевых клеток после резекции.

В соответствии с имеющимися протоколами каждые 3 месяца в течение первых двух лет после лечения все пациенты проходят врачебный осмотр [5]. В случае удовлетворительного самочувствия пациента компьютерная томография (КТ) проводится через 6 месяцев и через год после лечения. Однако рецидив может развиваться раньше и протекать, по крайней мере вначале, бессимптомно.

Информативным средством дополнительной диагностики и прогнозирования исхода ПКРЛ служат циркулирующие в крови участники метаболизма опухоли [6]. Их исследование имеет преимущества, связанные с доступностью и минимальной инвазивностью. К недостаткам следует отнести невысокие чувствительность и специфичность. Так, дискутируется возможность использования с этой целью концентрации в крови фрагмента 19 цитокератина (CYFRA 21-1), ракового эмбрионального антигена (CEA), антигена плоскоклеточной карциномы (SCC), нейрон-специфической енолазы (NSE), тканевого полипептидного антигена (TPA) и других [8–14]. Оказалось, что при ПКРЛ лишь CYFRA 21-1 и CEA обладают связью с общей и безрецидивной выживаемостью пациентов с НМКРЛ [8, 9, 12].

По итогам проведенных ранее исследований нами были отобраны несколько биохимических маркеров, уровень которых до начала лечения имеет устойчивую связь с безрецидивной выживаемостью в раздельных группах пациентов с ранними (I–II стадии) и с IIIA, B стадиями ПКРЛ [15–17]. В их число вошли: концентрация SCC в сыворотке крови, доля лимфоцитов, снабженных CXCR2, в общей популяции лимфоцитов крови (CXCR2, %, лимфоциты) и доля моноцитов, снабженных CD44v6, в общей популяции лимфоцитов крови (CD44v6, %, моноциты) – для пациентов с ранними стадиями ПКРЛ. Уровень CYFRA 21-1, доля лимфоцитов, снабженных рецептором CXCR1 (CXCR1, %, лимфоциты), доля моноцитов, снабженных рецептором CXCR2 (CXCR2, %, моноциты), в общих популяциях этих клеток в крови оказались в наибольшей степени связаны с риском рецидива опухоли для пациентов с III стадией. Было показано, что комбинированное их определение в составе сформированных регрессионных уравнений в каждом случае имеет преимущество в качестве прогностического фактора по сравнению с каждым из показателей в отдельности. Вместе с тем практическое здравоохранение нуждается в как можно более простом и в то же время



эффективном инструменте оценки состояния пациента. В стремлении упростить предложенные ранее регрессионные уравнения возникло предположение о возможности использования единых маркеров для оценки эффективности проводимого лечения у пациентов с ПКРЛ. Таких работ ранее не проводилось.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение возможности использования единых маркеров эффективности проведенного лечения пациентам с I–IIIB стадиями ПКРЛ.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании участвовало 105 пациентов (61 мужчина и 44 женщины), поступивших в стационар ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова» в период 2021–2022 гг., у которых впервые диагностирован ПКРЛ I–IIIB стадии. Стадия I была диагностирована у 21 пациента (14 мужчин и 7 женщин), II стадия – у 36 пациентов (18 мужчин и 18 женщин), стадия IIIA, B – у 48 пациентов (29 мужчин и 19 женщин). Средний возраст составил 58±19,7 года.

У всех пациентов была проведена хирургическая резекция опухоли (объем оперативного вмешательства – R0). У пациентов с T1N2M0, T2N2M0, T3N1M0, T3N2M0 оперативного вмешательства дополнительно проводилась адъювантная полихимиотерапия (АПХТ) – 4 курса, включающих комбинацию винорельбина (В) – 25–30 мг/м² и цисплатина (Ц) – 80 мг/м². У пациентов с T4N0M0, T4N1M0, T4N2M0 до оперативного вмешательства проводилось 2 курса неoadъювантной полихимиотерапии, состоящих из комбинации В+Ц, затем выполнялась хирургическая резекция опухоли с последующим назначением 2 курсов адъювантной полихимиотерапии, состоящих из комбинации В+Ц.

Уровень показателей измеряли до начала лечения и через 3 недели, 3 и 6 месяцев после операции соответственно. Сведения о развитии рецидива в течение 1 года после лечения у обследованных пациентов получены на основании данных Канцер-регистра Республики Беларусь (РНПЦ онкологии и медицинской радиологии МЗ Республики Беларусь). Рецидивы развились у 4 пациентов с I стадией, у 8 – со II стадией и у 17 – с III стадией ПКРЛ.

Таблица 1
Характеристика пациентов, включенных в исследование
Table 1
Characteristics of the patients included in the study

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

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 натошак в вакутайнер с ЭДТА-K2 в качестве антикоагулянта. В образцах крови определяли концентрацию клеток на гематологическом анализаторе Sysmex XE-5000 (Sysmex Group, Япония), после чего рассчитывали отношение тромбоцитов к моноцитам. Для получения сыворотки кровь собирали в пробирку с тромбином и разделительным гелем. В сыворотке крови определяли концентрацию CYFRA 21-1, SCC 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: CD44v6-FITC (Sigma-Aldrich, США), CD181(CXCR1)-PE-Cy5 (BioLegend, США), CD182(CXCR2)-PE (BioLegend, США) и CD45-Pacific Orange (Exbio, Чехия). Через 15 мин. 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).

Комбинированная модель 1 (формула 1) для прогнозирования вероятности развития рецидива ПКРЛ включала в себя результат регрессионного уравнения (А), включающего результаты определения концентрации антигена SCC в сыворотке крови (X1); доли лимфоцитов с CXCR2 (X2) и моноцитов с CD44v6 (X3) в популяциях этих клеток крови [15, 16]:

$$A = \frac{\exp(-0,492 + 0,306 \times X1 + 0,759 \times X2 + 0,917 \times X3)}{1 + \exp(-0,492 + 0,306 \times X1 + 0,759 \times X2 + 0,917 \times X3)}.$$

Формула 1. Регрессионное уравнение для прогнозирования вероятности рецидива у пациентов с ПКРЛ I–II стадий

Formula 1. Regression equation for predicting the probability of recurrence in patients with stage I–II SCLC

Комбинированная модель 2 (формула 2) прогнозирования безрецидивной выживаемости включала в себя результат регрессионного уравнения (В) определения трех показателей: концентрации антигена CYFRA 21-1 в сыворотке крови (X1); относительное количество (%) рецептора CXCR1 в лимфоцитах (X2); относительное количество (%) рецептора CXCR2 в моноцитах (X3) [17]:

$$B = \frac{\exp(-5,315 + 0,116 \times X1 + 1,901 \times X2 + 0,279 \times X3)}{1 + \exp(-5,315 + 0,116 \times X1 + 1,901 \times X2 + 0,279 \times X3)}.$$

Формула 2. Регрессионное уравнение для прогнозирования вероятности рецидива у пациентов с ПКРЛ IIIA–IIIB стадий

Formula 2. Regression equation for predicting the probability of recurrence in patients with stage IIIA–IIIB SCLC



Оценку интегральной диагностической информативности лабораторных тестов и результатов расчета 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 (ПЦПР) и отрицательного результатов (ПЦОР) и диагностической эффективности (ДЭ) теста [18]. 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 ложноположительных 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 χ^2 (хи-квадрат). Оценку взаимосвязи изменения уровня определяемых показателей с выживаемостью осуществляли с помощью одно- и многофакторной моделей пропорциональных рисков Кокса.

При построении номограммы прогнозирования вероятности рецидива опухоли вначале создавалась мультивариантная модель логистической регрессии [18]. 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) [19]. Расчеты выполнены в программном комплексе MedCalc (MedCalc Software Ltd., Бельгия). При всех видах статистического анализа критическое значение уровня значимости принимали как равное 5%. Поэтому отличия получаемых значений показателей в сравниваемых группах пациентов считали статистически достоверными при $P \leq 0,05$.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

Динамика изменения уровня определяемых маркеров отличается для пациентов, у которых развился рецидив опухоли, от подобной для пациентов без рецидива (табл. 2). У пациентов с отсутствием рецидива медианы значений через 3 и 6 месяцев после лечения существенно не изменяются по сравнению с уровнем, зафиксированным через 3 недели. В то же время у всех пациентов с развившимся рецидивом имеет место более высокий уровень анализируемых показателей в такие же сроки после проведенного лечения в сравнении с пациентами без рецидива. При этом медианы значений всех показателей у пациентов с рецидивом существенно и статистически достоверно увеличиваются через 3 и еще более через 6 месяцев, по сравнению с их концентрацией через 3 недели.

Все вышеназванные 6 показателей, которые вошли в формулы 1 и 2 (см. «Материалы и методы»), были вовлечены в единое уравнение логистической регрессии, значения которого позволили бы рассчитывать вероятность развития рецидива у пациентов с ПКРЛ, независимо от стадии, после проведенного лечения (формула 3).

Таблица 2
Уровень показателей у пациентов в зависимости от наличия (29 пациентов) или отсутствия (76 пациентов) рецидива
Table 2
The level of indicators in patients depending on the presence (29 patients) or absence (76 patients) of relapse

Показатель	Рецидив	До лечения	После лечения		
			3 недели	3 месяца	6 месяцев
SCC, нг/мл	Нет	1,79 [0,53; 2,27]	1,31 [0,44; 1,57]	1,32 [0,43; 1,61]	1,34 [0,45; 1,63]
	Есть	2,43 [1,43; 3,61]	1,52 ¹ [0,93; 2,62]	1,69 ² [0,97; 2,72]	2,01 ^{2,3} [0,99; 3,07]
CYFRA 21-1, нг/мл	Нет	4,11 [3,27; 5,01]	2,85 [0,86; 3,29]	2,87 [0,95; 3,67]	2,88 [0,97; 3,72]
	Есть	6,21 [5,31; 7,09]	3,47 ¹ [3,01; 3,89]	4,26 ² [3,58; 4,68]	5,67 ^{2,3} [4,59; 6,08]
CXCR1, %, лимфоциты	Нет	2,25 [1,65; 3,05]	1,50 [0,85; 1,95]	1,55 [0,90; 2,00]	1,70 [0,95; 2,10]
	Есть	3,65 [2,80; 4,15]	1,85 ¹ [1,20; 2,15]	2,25 ² [1,85; 2,65]	2,80 ^{2,3} [2,05; 3,55]
CXCR2, %, лимфоциты	Нет	13,90 [10,80; 15,15]	9,40 [7,80; 10,25]	9,55 [7,90; 10,35]	9,80 [7,95; 10,45]
	Есть	19,10 [13,80; 25,15]	10,40 ¹ [9,05; 13,15]	12,85 ² [10,15; 14,65]	16,95 ^{2,3} [10,55; 18,45]
CXCR2, %, моноциты	Нет	1,35 [0,35; 2,25]	0,75 [0,20; 1,20]	0,80 [0,25; 1,25]	0,85 [0,30; 1,35]
	Есть	1,80 [1,25; 2,05]	1,15 ¹ [0,95; 1,30]	1,30 ² [1,05; 1,65]	1,75 ^{2,3} [1,45; 2,10]
CD44v6, %, моноциты	Нет	3,10 [1,15; 4,15]	2,20 [0,95; 2,85]	2,25 [1,00; 2,90]	2,35 [1,00; 2,95]
	Есть	4,05 [2,75; 5,85]	2,45 ¹ [1,75; 3,15]	2,85 ² [1,95; 3,35]	3,35 ^{2,3} [2,10; 3,70]
Единое регрессионное уравнение	Нет	0,363 [0,227; 0,397]	0,227 [0,174; 0,248]	0,229 [0,175; 0,253]	0,235 [0,177; 0,261]
	Есть	0,657 [0,491; 0,705]	0,249 ¹ [0,212; 0,262]	0,337 ² [0,285; 0,359]	0,463 ^{2,3} [0,408; 0,541]

Примечания: ¹ P<0,05 для разницы уровня показателей в крови пациентов с рецидивом по сравнению с пациентами без рецидива; ² P<0,05 для разницы 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 P<0,05 для разницы уровня показателей в крови пациентов с рецидивом спустя 6 месяцев по сравнению с уровнем у этих же пациентов через 3 месяца после проведенного лечения.

$$C = \frac{\exp(-3,171 + 0,837 \times X1 + 0,631 \times X2 + 0,527 \times X3 + 0,409 \times X4 + 0,608 \times X5 + 0,597 \times X6)}{1 + \exp(-3,171 + 0,837 \times X1 + 0,631 \times X2 + 0,527 \times X3 + 0,409 \times X4 + 0,608 \times X5 + 0,597 \times X6)}$$

Формула 3. Единое регрессионное уравнение для прогнозирования вероятности рецидива у пациентов с ПКРЛ I–IIIB стадий, где X1 – концентрация SCC (нг/мл); X2 – концентрация CYFRA 21-1 (нг/мл); X3 – CXCR1, %, лимфоциты; X4 – CXCR2, %, лимфоциты; X5 – CXCR2, %, моноциты; X6 – CD44v6, %, моноциты
Formula 3. A single regression equation for predicting the likelihood of recurrence in patients with stage I–IIIB SCLC, where X1 is the concentration of SCC (ng/ml); X2 is the concentration of CYFRA 21-1 (ng/ml); X3 is CXCR1, %, lymphocytes; X4 is CXCR2, %, lymphocytes; X5 is CXCR2, %, monocytes; X6 – CD44v6, %, monocytes



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 ($\Delta=27,7$, $p<0,05$) и соответствует хорошему качеству предложенной модели. Об этом же свидетельствует рассчитанный критерий согласия Хосмера – Лемешева, равный 9,7 ($p=0,157$). Уровень статистической значимости $p>0,05$ подтверждает согласованность данных созданного регрессионного уравнения для диагностики рецидива у пациентов с I–IIIB стадиями ПКРЛ.

Использование полученной единой модели для стратификации пациентов методом Каплана – Майера на группы высокого и низкого риска развития рецидива на основании результатов, определенных через 3 недели, 3 и 6 месяцев после проведенного лечения, показывает, что безрецидивная выживаемость пациентов с повышенным послеоперационным уровнем маркеров значительно ниже, чем у пациентов с нормализованным значением этих показателей (рис. 1). Об этом, в частности, свидетельствуют относительно высокие величины показателя χ^2 , вычисленные в разные сроки наблюдения, по результатам Log-rank теста. Причем величина этого показателя нарастает по мере удлинения срока наблюдения и уровня маркеров. Самого высокого уровня маркеры пациентов с рецидивом достигают спустя 6 месяцев. Поэтому амплитуда расхождения кривых А и Е на графике наибольшая.

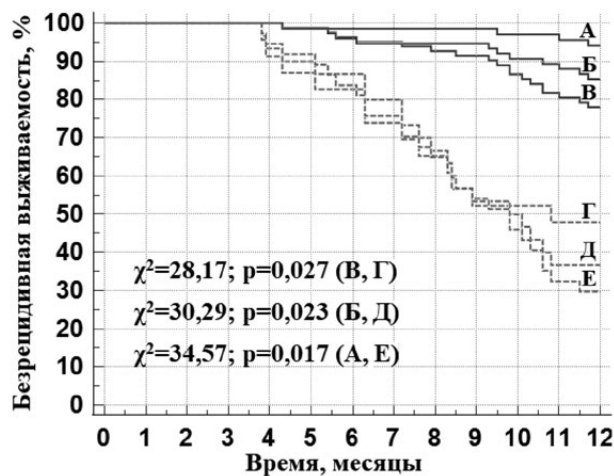


Рис. 1. Безрецидивная выживаемость пациентов в зависимости от значений регрессионного уравнения 3, по результатам измерения показателей через 3 недели (кривые В и Г), 3 месяца (кривые Б и Д), 6 месяцев (кривые А и Е) после операции; сплошная линия на графике – низкая вероятность рецидива; прерывистая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

Fig. 1. Relapse-free survival of patients depending on the values of regression equation 3, according to the results of measuring indicators 3 weeks (curves B and Г), 3 months (curves Б and Д), 6 months (curves А and Е) after surgery; solid line on the graph – low probability of recurrence; discontinuous line – high probability of recurrence

Динамика увеличения во времени еще более демонстративно прослеживается в случае 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 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 ПКРЛ
Table 3
The difference in the values of indicators in different time intervals after the end of treatment in patients with SCLC

Показатель	Рецидив	До лечения – 3 недели	3 недели – 3 месяца	3 месяца – 6 месяцев	3 недели – 6 месяцев
SCC, нг/мл	Нет	0,48 [0,21; 0,87]	0,01 [0,01; 0,15]	0,02 [0,01; 0,29]	0,03 [0,01; 0,45]
	Есть	0,91 [0,78; 2,49]	0,17 ¹ [0,12; 0,25]	0,32 ² [0,15; 0,41]	0,49 ^{2,3} [0,19; 0,62]
CYFRA 21-1, нг/мл	Нет	1,26 [0,75; 1,79]	0,02 [0,01; 0,67]	0,01 [0,01; 1,23]	0,03 [0,01; 1,97]
	Есть	2,74 [1,49; 3,72]	0,79 ¹ [0,17; 0,91]	1,41 ² [0,39; 1,71]	2,19 ^{2,3} [0,61; 3,08]
CXCR1, %, лимфоциты	Нет	0,75 [0,15; 1,15]	0,05 [0,01; 0,35]	0,15 [0,01; 0,50]	0,20 [0,01; 0,85]
	Есть	1,80 [1,05; 3,75]	0,40 ¹ [0,15; 0,55]	0,55 ² [0,25; 0,75]	0,95 ^{2,3} [0,35; 1,15]
CXCR2, %, лимфоциты	Нет	4,50 [2,90; 6,15]	0,15 [0,01; 2,15]	0,25 [0,01; 3,85]	0,40 [0,01; 5,65]
	Есть	8,70 [3,85; 9,75]	2,45 [0,25; 3,65]	4,10 [1,25; 4,95]	6,55 ^{2,3} [1,35; 8,35]
CXCR2, %, моноциты	Нет	0,60 [0,35; 0,85]	0,05 [0,01; 0,10]	0,05 [0,01; 0,40]	0,10 [0,01; 0,55]
	Есть	0,65 [0,40; 1,05]	0,15 ¹ [0,01; 0,35]	0,45 ² [0,01; 0,65]	0,60 ^{2,3} [0,01; 0,90]
CD44v6, %, моноциты	Нет	0,90 [0,15; 1,25]	0,05 [0,01; 0,35]	0,10 [0,01; 0,45]	0,15 [0,01; 0,85]
	Есть	1,60 [0,75; 2,05]	0,40 ¹ [0,15; 0,55]	0,50 ² [0,30; 0,65]	0,90 ^{2,3} [0,45; 1,15]
Единое регрессионное уравнение	Нет	0,136 [0,053; 0,179]	0,002 [0,001; 0,083]	0,006 [0,001; 0,115]	0,008 [0,001; 0,197]
	Есть	0,408 [0,151; 0,543]	0,088 ¹ [0,011; 0,128]	0,126 ² [0,057; 0,159]	0,214 ^{2,3} [0,115; 0,301]

Примечания: ¹ P<0,05 для разницы уровня показателей в крови пациентов с рецидивом по сравнению с пациентами без рецидива; ² 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; ³ 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 в 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 анализируемых показателей в период 3 недели – 3 месяца также статистически достоверно связана с развитием рецидива.

Динамика разницы исследуемых показателей в различных период времени после лечения создает основу для оценки вероятности развития рецидива у пациентов с ПКРЛ. Необходимыми требованиями для такой оценки является информация о пороговом значении разницы уровня показателей в различные периоды мониторинга после проведенного лечения (такие данные получены в ходе проведения ROC-анализа – рис. 2) и о их диагностической ценности для суждения о наличии/отсутствии рецидива опухоли (табл. 5).

Таблица 4
Модель пропорциональных рисков Кокса, демонстрирующая зависимость развития рецидива опухоли у пациентов с ПКРЛ от разницы уровня показателей после лечения
Table 4
The Cox proportional hazards model, demonstrating the dependence of the development of tumor recurrence in patients with SCLC on the difference in the level of indicators after treatment

Показатель	Временной интервал	Однофакторная модель		Многофакторная модель	
		ОР (95% ДИ)	p	ОР (95% ДИ)	p
SCC, нг/мл	3 нед. – 3 мес.	1,167 (1,054–1,280)	0,041	1,158 (1,049–1,266)	0,042
	3 мес. – 6 мес.	1,259 (1,136–1,383)	0,034	1,247 (1,051–1,443)	0,036
	3 нед. – 6 мес.	1,365 (1,151–1,579)	0,022	1,343 (1,076–1,610)	0,028
CYFRA 21-1, нг/мл	3 нед. – 3 мес.	1,063 (1,047–1,078)	0,032	1,058 (1,043–1,072)	0,035
	3 мес. – 6 мес.	1,095 (1,049–1,141)	0,026	1,087 (1,044–1,130)	0,028
	3 нед. – 6 мес.	1,138 (1,050–1,226)	0,019	1,126 (1,046–1,207)	0,023
CXCR1, %, лимфоциты	3 нед. – 3 мес.	1,098 (1,046–1,151)	0,034	1,093 (1,045–1,141)	0,036
	3 мес. – 6 мес.	1,117 (1,049–1,185)	0,028	1,109 (1,045–1,172)	0,029
	3 нед. – 6 мес.	1,148 (1,051–1,246)	0,021	1,139 (1,073–1,205)	0,024
CXCR2, %, лимфоциты	3 нед. – 3 мес.	1,164 (1,107–1,222)	0,032	1,147 (1,095–1,199)	0,035
	3 мес. – 6 мес.	1,252 (1,128–1,376)	0,026	1,222 (1,113–1,332)	0,032
	3 нед. – 6 мес.	1,270 (1,146–1,393)	0,028	1,254 (1,133–1,374)	0,033
CXCR2, %, моноциты	3 нед. – 3 мес.	1,079 (1,048–1,111)	0,034	1,072 (1,043–1,101)	0,038
	3 мес. – 6 мес.	1,086 (1,049–1,122)	0,031	1,074 (1,044–1,105)	0,035
	3 нед. – 6 мес.	1,098 (1,051–1,145)	0,027	1,090 (1,046–1,134)	0,029
CD44v6, %, моноциты	3 нед. – 3 мес.	1,101 (1,046–1,157)	0,034	1,091 (1,045–1,137)	0,036
	3 мес. – 6 мес.	1,120 (1,051–1,189)	0,028	1,107 (1,045–1,168)	0,031
	3 нед. – 6 мес.	1,151 (1,053–1,248)	0,021	1,137 (1,073–1,200)	0,024
Единое регрессионное уравнение	3 нед. – 3 мес.	1,261 (1,140–1,383)	0,022	–	
	3 мес. – 6 мес.	1,305 (1,151–1,460)	0,019	–	
	3 нед. – 6 мес.	1,366 (1,162–1,570)	0,017	–	

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

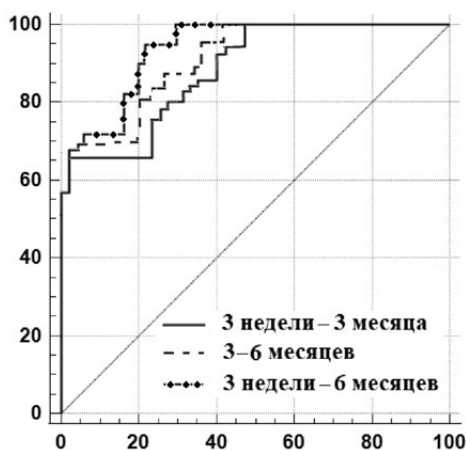


Рис. 2. ROC-кривые для разницы значений единого регрессионного уравнения (3) в соответствующие интервалы времени после лечения

Примечания: горизонтальная ось – специфичность; вертикальная ось – чувствительность.

Fig. 2. ROC-curves for the difference in the values of the unified regression equation (3) at the appropriate time intervals after treatment

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 ПКРЛ – 84,2% (табл. 5А). В интервале 3–6 месяцев она уже составляет 91,2%, а для периода 3 недели – 6 месяцев – 96,5%. Аналогично высокую, хотя и несколько меньшую, эффективность имеет использование у таких же пациентов единого регрессионного уравнения 3 – 93,0% (табл. 5В). Сопоставимые цифры имеет эффективность использования уравнения 3 с такой же целью у пациентов с IIIA, В стадиями ПКРЛ – 93,8% (табл. 5Г). 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 ПКРЛ без разделения на стадии показывает такие же высокие результаты (табл. 5Д), как и использование регрессионных уравнений 1 и 2 для соответствующих групп пациентов по раздельности (табл. 5А и 5Б). В то же время использование уравнения 1 для объединенной группы пациентов с ПКРЛ демонстрирует существенное более низкую диагностическую эффективность, по сравнению с уравнением 3 (табл. 5Е). То же самое, снижение эффективности использования, наблюдается, когда объединенная группа пациентов с ПКРЛ анализируется с использованием уравнения 2 независимо от временного интервала определения отобранных показателей (табл. 5Ж).

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 6 показателей, например, через 3 недели и 3 месяца, вычислить разницу их уровня в один из трех



Таблица 5
Диагностическая информативность результатов расчета регрессионных уравнений (формулы 1–3) в различные интервалы времени после лечения пациентов с ПКРЛ для обнаружения рецидива опухоли

Table 5
Diagnostic informativeness of the results of calculating regression equations (formulas 1–3) at various time intervals after treatment of patients with SCLC to detect tumor recurrence

Сроки забора крови	ПЗ	ДЧ	ДС	ПЦПР	ПЦОР	AUC	ДЭ
А. Регрессионное уравнение 1 для I–II стадий							
3 недели и 3 месяца	0,085	83,3	84,4	58,8	95,0	0,799	84,2
3 и 6 месяцев	0,119	91,7	91,1	73,3	97,6	0,866	91,2
3 недели и 6 месяцев	0,195	100,0	95,6	85,7	100,0	0,928	96,5
Б. Регрессионное уравнение 2 для IIIA, В стадий							
3 недели и 3 месяца	0,060	82,4	83,9	73,7	89,7	0,811	83,3
3 и 6 месяцев	0,132	94,1	90,3	84,2	96,6	0,892	91,7
3 недели и 6 месяцев	0,190	100,0	93,5	89,5	100,0	0,933	95,8
В. Регрессионное уравнение 3 только для I–II стадий							
3 недели и 3 месяца	0,088	75,0	84,4	56,3	92,7	0,761	82,5
3 и 6 месяцев	0,126	83,3	91,1	71,4	95,3	0,832	89,5
3 недели и 6 месяцев	0,214	91,7	93,3	78,6	97,7	0,887	93,0
Г. Регрессионное уравнение 3 только для IIIA, В стадий							
3 недели и 3 месяца	0,088	76,5	80,6	68,4	86,2	0,732	79,2
3 и 6 месяцев	0,126	82,4	87,1	77,8	90,0	0,816	85,4
3 недели и 6 месяцев	0,214	94,1	93,5	88,9	96,7	0,893	93,8
Д. Регрессионное уравнение 3 для I–IIIB стадий							
3 недели и 3 месяца	0,088	89,7	76,3	59,1	95,1	0,752	80,0
3 и 6 месяцев	0,126	93,1	85,5	71,1	97,0	0,834	87,6
3 недели и 6 месяцев	0,214	96,6	92,1	82,4	98,6	0,891	93,3
Е. Регрессионное уравнение 1 для I–IIIB стадий							
3 недели и 3 месяца	0,085	82,8	67,1	49,0	91,1	0,675	71,4
3 и 6 месяцев	0,119	86,2	69,7	52,1	93,0	0,709	74,3
3 недели и 6 месяцев	0,195	89,7	78,9	61,9	95,2	0,772	81,9
Ж. Регрессионное уравнение 2 для I–IIIB стадий							
3 недели и 3 месяца	0,060	86,2	68,4	51,0	92,9	0,697	73,1
3 и 6 месяцев	0,132	89,7	71,1	54,2	94,7	0,731	76,2
3 недели и 6 месяцев	0,190	80,0	81,7	65,1	90,5	0,788	82,9

временных интервалов (3 недели – 3 месяца, 3–6 месяцев, 3 недели – 6 месяцев). Полученные значения надо сравнить с пограничными значениями для каждого индивидуального показателя: например, в период 3 недели – 3 месяца для SCC это первое число на соответствующей шкале данного показателя (индикатор >0,16, 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 >0,32 на этой же шкале, направленный вниз). Третье (максимальное) пограничное значение SCC (>0,47) на этой же шкале используется

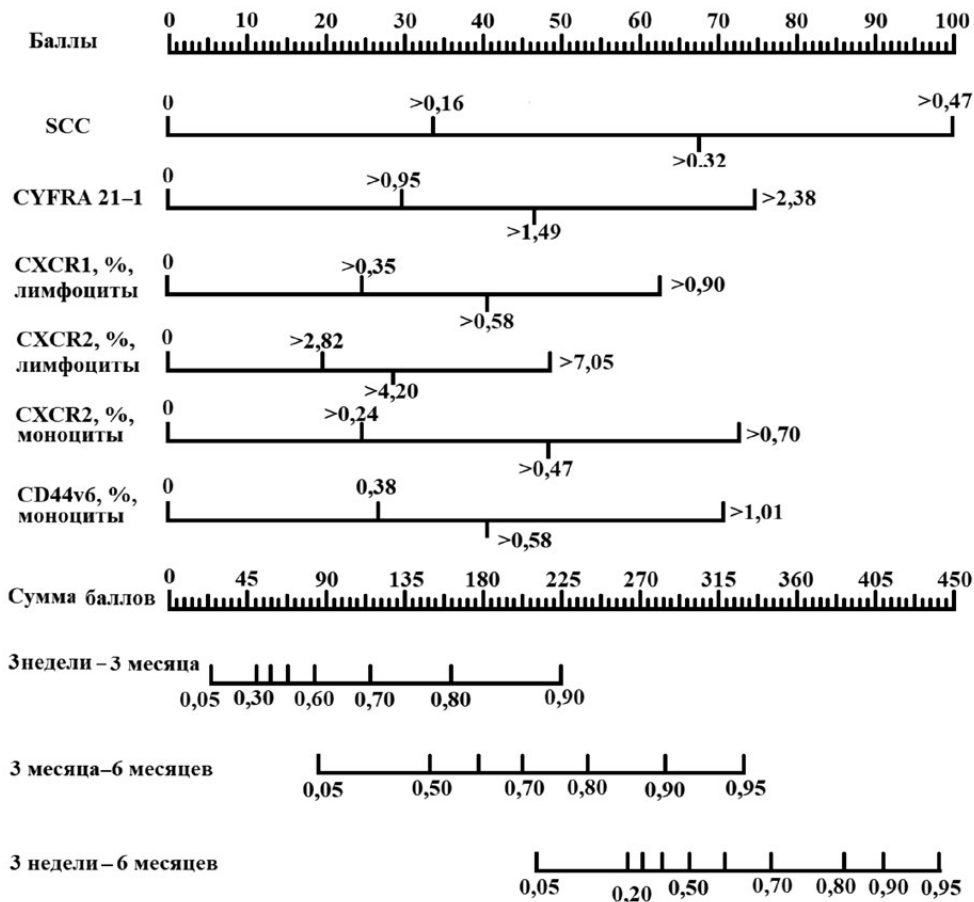


Рис. 3. Номограмма для определения вероятности рецидива по результатам разницы уровня показателей, измеренных через 3 недели, 3 и 6 месяцев после проведенного лечения
Fig. 3. A nomogram to determine the probability of recurrence based on the results of the difference in the level of indicators measured 3 weeks, 3 and 6 months after the treatment

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 доле от единицы, соответствует вероятности рецидива от 0 до 100%.

Величина конкордантного С-индекса Харрелла для созданной номограммы составила 0,891 (95% ДИ: 0,867–0,915), что свидетельствует о хорошей эффективности предсказания [21].



■ ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на предпринимаемые усилия, у части пациентов с I–IIIВ стадиями ПКРЛ развиваются рецидивы опухоли и большей части уже в первый год после операции. Чем раньше обнаруживается рецидив, тем более эффективно противораковое лечение. Поэтому в настоящее время не теряет актуальности поиск эффективных критериев предсказания вероятности или наличия рецидива [6–14]. Биохимические критерии пока не находят практического применения, поскольку они большей частью неспецифичны и не обладают достаточной чувствительностью. Однако многочисленные исследования в этом плане продолжаются, попытки обнаружить новые биомаркеры не иссякают.

В нашем исследовании внимание сосредоточено на шести биохимических показателях в крови: концентрации SCC и CYFRA 21-1 в сыворотке крови, доли лимфоцитов с рецепторами CXCR1 и CXCR2 в общей популяции лимфоцитов и доли моноцитов с рецепторами CXCR2 и CD44v6 в общей популяции моноцитов. Ранее была доказана их перспективность для диагностики и прогнозирования безрецидивной выживаемости на основании оценки дооперационного уровня, как и преимущество использования комбинированной модели, включавшей эти параметры [15–17].

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 недель после оперативной резекции опухоли значения всех показателей у всех пациентов снизились до величин, соизмеримых с ПЗ. Однако у части пациентов амплитуда снижения не достигла ПЗ, то есть осталась выше этой величины. У большинства таких пациентов (75,8%) 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 [7–9]. В этих исследованиях у пациентов были ранние стадии ПКРЛ. Поэтому им проводилось только хирургическое лечение, и феномен резкого снижения уровня вышеназванных показателей после операции по сравнению с периодом до операции обусловлен резекцией опухолевой ткани. В нашем исследовании пациентам, помимо хирургического лечения, проводилась неадьювантная и адьювантная терапия, направленная также на уничтожение опухолевых клеток, соответственно, на сокращение их метаболитов.

Следующая тенденция заключалась в нарастании (после снижения) уровня измеряемых показателей у части пациентов. У большинства из них (89,7%) 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 имеет связь с развитием рецидива [12–14]. 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 [13]. Причем, согласно результатам еще одного исследования, из пяти сывороточных опухолевых маркеров: CYFRA 21-1, карциноэмбрионального антигена (CEA), нейрон-специфической енолазы (NSE), углеводного антигена (CA) 125 и CA 19-9 – только CYFRA 21-1 наиболее чувствителен для прогнозирования ответа на химиотерапию, и подъем его уровня после первоначального снижения коррелирует с высокой вероятностью развития рецидива опухоли [14]. Еще в одной работе сообщается о наблюдавшемся увеличении концентрации CYFRA 21-1 в сыворотке крови пациентов с ПКРЛ, у которых в течение 1 года развился рецидив опухоли [20, 21].

Полученные данные в ходе нашего исследования были использованы для расчета разницы уровня определяемых показателей в фиксированных временных интервалах 3 недели – 3 месяца, 3–6 месяцев и 3 недели – 6 месяцев. Данный прием наглядно продемонстрировал прирост значений показателей, который увеличивался во времени наблюдения, и характерен он был 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 рецидивов после проведенного лечения. Поэтому именно прирост во времени был вовлечен в оценку диагностической ценности исследуемых показателей для обнаружения рецидива у пациента.

Послеоперационный уровень антигена SCC использовался для контроля эффективности лечения при плоскоклеточном раке легкого [20]. Показано, что его повышенный уровень после проведенного лечения связан с более низкой общей выживаемостью пациентов. В литературе есть много примеров, когда повышенный послеоперационный уровень SCC может служить прогностическим маркером рецидива при раковых опухолях другой локализации: плоскоклеточной карциноме полости рта [21], плоскоклеточном раке шейки матки [22], плоскоклеточном раке головы и шеи [23].

Исследований, посвященных использованию рецепторов цитокинов и адгезионного рецептора CD44v6 в клетках крови, ранее не проводилось. Однако известно повышение их уровня в тканях микроокружения опухоли [24–29]. Ранее нами продемонстрировано, что указанные рецепторы имеют диагностическое и прогностическое значение при ПКРЛ [15–17]. Приведенные в настоящей работе данные иллюстрируют применимость указанных выше показателей крови для контроля эффективности лечения пациентов с ПКРЛ.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показатели, вошедшие в комбинированные диагностические модели отдельно для I–II и III стадий ПКРЛ, в дальнейшем были объединены в одно регрессионное уравнение, позволяющее оценить вероятность развития или наличия рецидива у пациентов с ПКРЛ I–IIIB стадий. Созданное объединенное уравнение продемонстрировало высокие цифры чувствительности и специфичности как на объединенной группе пациентов с ПКРЛ (табл. 5Д), так и отдельно у пациентов с I–II и с III стадиями заболевания (табл. 5В, Г). Характерно, что регрессионные уравнения 1 и 2 в объединенной группе показали сравнительно невысокую диагностическую эффективность



их использования для распознавания рецидива (табл. 5Е, 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 [18, 19]. Следует отметить, создание номограмм для прогноза общей выживаемости у пациентов с ПКРЛ ранее проводилось [30, 31], а в качестве предикторов были использованы или только клинические признаки опухоли [30], или в комбинации с длинными некодирующими РНК [31]. Номограмма, построенная нами на базе объединенного регрессионного уравнения показателей рецепторов клеток крови и сывороточных онкомаркеров, позволяет легко и быстро определить вероятность развития рецидива для каждого пациента в отдельности. Это делает ее удобным инструментом в работе врача-онколога.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Siegel R.L., Miller K.D., Wagle N.S., et al. Cancer statistics, 2023. *CA Cancer J Clin.* 2023;73(1):17–48. doi: 10.3322/caac.21763.
2. Li M., Zhan C., Sui X., et al. A Proposal to Reflect Survival Difference and Modify the Staging System for Lung Adenocarcinoma and Squamous Cell Carcinoma: Based on the Machine Learning. *Front Oncol.* 2019;9:771. doi: 10.3389/fonc.2019.00771.
3. Wang B.Y., Huang J.Y., Chen H.C., et al. The comparison between adenocarcinoma and squamous cell carcinoma in lung cancer patients. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2020;146(1):43–52. doi: 10.1007/s00432-019-03079-8.
4. Fukui T., Taniguchi T., Kawaguchi K., et al. Comparisons of the clinicopathological features and survival outcomes between lung cancer patients with adenocarcinoma and squamous cell carcinoma. *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* 2015;63(9):507–13. doi: 10.1007/s11748-015-0564-5.
5. Kuribayashi K., Funaguchi N., Nakano T. Chemotherapy for advanced non-small cell lung cancer with a focus on squamous cell carcinoma. *J Cancer Res Ther.* 2016;12(2):528–34. doi: 10.4103/0973-1482.174185.
6. Holdenrieder S. Biomarkers along the continuum of care in lung cancer. *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* 2016;245:40–5. doi: 10.1080/00365513.2016.1208446.
7. Saad M.J., Rose-John S., Jenkins B.J. ADAM17: An Emerging Therapeutic Target for Lung Cancer. *Cancers (Basel).* 2019;11(9):1218. doi: 10.3390/cancers11091218.
8. Zissimopoulos A., Stellos K., Permenopoulou V., et al. The importance of the tumor marker CYFRA 21-1 in patients with lung cancer after surgery or chemotherapy. *Hell J Nucl Med.* 2007;10(1):62–6. Greek, Modern.
9. Yeh J.J., Liu F.Y., Hsu W.H., et al. 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.
10. Sawabata N., Maeda H., Yokota S., et al. Postoperative serum carcinoembryonic antigen levels in patients with pathologic stage IA nonsmall cell lung carcinoma: subnormal levels as an indicator of favorable prognosis. *Cancer.* 2004;101(4):803–9. doi: 10.1002/cncr.20421.
11. Ozeki N., Fukui T., Taniguchi T., et al. Significance of the serum carcinoembryonic antigen level during the follow-up of patients with completely resected non-small-cell lung cancer. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2014;5(4):687–92. doi: 10.1093/ejcts/etz424.
12. Duan X., Cui Y., Li H., et al. High preoperative and postoperative levels of carcinoembryonic antigen and CYFRA 21-1 indicate poor prognosis in patients with pathological Stage I nonsmall cell lung cancer. *Indian J Cancer.* 2015;52 Suppl 3:158–163. doi: 10.4103/0019-509X.186564.
13. Barak V., Holdenrieder S., Nisman B., et al. 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.
14. Holdenrieder S., Wehnl B., Hettwer K., et al. Carcinoembryonic antigen and cytokeratin-19 fragments for assessment of therapy response in non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Br J Cancer.* 2017;116(8):1037–1045. doi: 10.1038/bjc.2017.45.
15. Taganovich A., Kovganko N., Prohorova V. Prediction of the risk of tumor progression in patients with early stages of adenocarcinoma and squamous cell lung cancer based on laboratory parameters. *Biomedical chemistry.* 2021;67(6):507–517.
16. Tahanovich A., Kauhanka M., Rutkovskaya Z., et al. Prognostic evaluation of relapse based on squamous cell carcinoma antigen, CXCR2, and CD44V6 blood levels in patients with Stage I–II squamous cell lung cancer. *Global Transl Med.* 2023;2(4):2209. Available at: <https://doi.org/10.36922/gtm.2209>
17. Taganovich A., Kovganko N., Murashko D. Predicting the recurrence-free survival of patients with stage III squamous cell lung cancer after surgical treatment. *Healthcare.* 2022;11:44–50.
18. Harrell F.E. Jr. *Regression modeling strategies with applications to linear models, logistic regression, and survival analysis.* New York, NY, Springer Verlag, 2001.
19. Bradley E., Tibshirani R.J. *Monographs on statistics and applied probability: an introduction to the bootstrap.* Boca Raton: Chapman and Hall/CRC, 1993.
20. Takeuchi S., Nonaka M., Kadokura M., et al. Prognostic significance of serum squamous cell carcinoma antigen in surgically treated lung cancer. *Ann Thorac Cardiovasc Surg.* 2003;9(2):98–104.
21. Chen I.H., Liao C.T., Wang H.M., et al. Using SCC antigen and CRP levels as prognostic biomarkers in recurrent oral cavity squamous cell carcinoma. *PLoS One.* 2014;9(7):e103265. doi: 10.1371/journal.pone.0103265.
22. Choi K.H., Lee S.W., Yu M., et al. Significance of elevated SCC-Ag level on tumor recurrence and patient survival in patients with squamous-cell carcinoma of uterine cervix following definitive chemoradiotherapy: a multi-institutional analysis. *J Gynecol Oncol.* 2019;30(1):e1. doi: 10.3802/jgo.2019.30.e1.

23. Deng Z., Hasegawa M., Yamashita Y., et al. Prognostic value of human papillomavirus and squamous cell carcinoma antigen in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Sci.* 2012;103(12):2127–34. doi: 10.1111/cas.12009.
24. Zhang W., Wang H., Sun M., 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.
25. Lagiou P., Trichopoulos D. Inflammatory biomarkers and risk of lung cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2011;103(14):1073–5. doi: 10.1093/jnci/djr220.
26. Spaks A. Role of CXC group chemokines in lung cancer development and progression. *J Thorac Dis.* 2017;9(Suppl 3):164–171. doi: 10.21037/jtd.2017.03.61.
27. Chen C., Zhao S., Karnad A., et. al. The biology and role of CD44 in cancer progression: therapeutic implications. *J Hematol Oncol.* 2018;11(1):64–86. doi: 10.1186/s13045-018-0605-5.
28. Zhao S., He J.L., Qiu Z.X., et al. Prognostic value of CD44 variant exon 6 expression in non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(16):6761–6766. doi: 10.7314/apjcp.2014.15.16.6761.
29. Luo Z., Wu R.R., Lu L., et. al. Prognostic value of CD44 expression in non-small cell lung cancer: a systematic review. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014;7(7):3632–3646.
30. Chen S., Gao C., Du Q., et al. A prognostic model for elderly patients with squamous non-small cell lung cancer: a population-based study. *J Transl Med.* 2020;18(1):436. doi: 10.1186/s12967-020-02606-3.
31. Wu Z., Ouyang C., Peng L. Risk assessment model and nomogram established by differentially expressed lncRNAs for early-stage lung squamous cell carcinoma. *Transl Cancer Res.* 2020;9(9):5304–5314. doi: 10.21037/tcr-20-999.