

Marta Pilaczyńska-Cemel¹ [ORCID: 0000-0001-9138-422X]

Ryszard Gołda² [ORCID: 0000-0003-4671-2153]

Anita Dąbrowska³ [ORCID: 0000-0001-8156-9677]

Grzegorz Przybyłski¹ [ORCID: 0000-0002-8324-163X]

1. Klinika Chorób Płuc, Nowotworów i Gruźlicy, Wydział Lekarski, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
2. Zakład Immunobiologii, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy
3. Katedra Podstaw Teoretycznych Nauk Biomedycznych i Informatyki Medycznej, Wydział Farmaceutyczny, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

ANALIZA POZIOMU WYBRANYCH PARAMETRÓW STANU ZAPALNEGO, KRAŻĄCYCH KOMPLEKSÓW IMMUNOLOGICZNYCH ORAZ ZWIĄZANYCH Z NIMI WSKAŹNIKÓW (NEUTROFIL/LIMFOCYT, PŁYTKI/LIMFOCYT, CRP/KKI) W RAKU PŁUC*

Adres korespondencyjny:

Marta Pilaczyńska-Cemel, Klinika Chorób Płuc, Nowotworów i Gruźlicy, Wydział Lekarski, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, ul. Seminaryjna 1, 85-326 Bydgoszcz, e-mail: mpilaczynska@wp.pl

* Przeprowadzone badania uzyskały zgodę Komisji Bioetycznej przy UMK w Toruniu, Collegium Medicum w Bydgoszczy o numerze: KB 3354/2017. Autor deklaruje brak potencjalnych konfliktów interesów.

Streszczenie

Wprowadzenie: Rak płuca jest najczęstszym nowotworem w Polsce i pierwszą przyczyną zgonów w onkologii. Celem pracy jest analiza wybranych parametrów stanu zapalnego w raku płuca.

Materiał i metody: Grupę badaną stanowiło 48 chorych z rakiem płuca oraz 30 przypadków grupy kontrolnej. Chorych podzielono wg stopnia zaawansowania – 19 z niskim/umiarkowanym stopniem zaawansowania (I-IIIa), 29 z wysokim (IIIB i IV), a także wg typu histopatologicznego – 9 z rakiem drobnokomórkowym, 39 z niedrobnokomórkowym (w tym 18 z gruczolakorakiem i 21 z rakiem płaskonabłonkowym). Zbadano stężenia krążących kompleksów immunologicznych (KKI), białka C-reaktywnego (ang. *C-reactive protein*, CRP), neutrofilów, limfocytów oraz związanych z nimi wskaźników: CRP/KKI, neutrofil/limfocyt (ang. *neutrophil/lymphocyte ratio*, NLR), płytki krwi/limfocyt (ang. *platelet/lymphocyte ratio*, PLR).

Wyniki: Średnie wartości badanych parametrów były istotnie wyższe wśród osób z rakiem płuca. Mediana wartości KKI była istotnie wyższa w grupie z zaawansowanym nowotworem (0,30 vs 0,23, $p < 0,01$ w porównaniu ze stopniem I-IIIa). Mediany wskaźnika PLR oraz liczby płytek krwi wśród osób z rakiem płaskonabłonkowym były istotnie wyższe porównując do gruczolakoraka (215 vs 138,5, $p = 0,037$; 388,0 tys/ul vs 277,5 tys/ul, $p = 0,034$).

Wnioski: Na podstawie wyników pracy zasugerowaliśmy dominację swoistej odpowiedzi humoralnej w bardziej zaawansowanym stadium kancerogenezy płuca. Proces kancerogenezy związany jest z różną aktywnością neutrofilów i limfocytów.

Słowa kluczowe: krążące kompleksy immunologiczne, wskaźnik neutrofil/limfocyt, wskaźnik płytki krwi/limfocyt, rak płuca

Wprowadzenie

Rak płuca odpowiada za największą liczbę zgonów pacjentów onkologicznych w państwach wysokorozwiniętych [1]. W 2012 roku na całym świecie zdiagnozowano ok. 1,8 mln nowych przypadków raka płuc – stanowi to 12,9% wszystkich zachorowań na nowotwory złośliwe [2]. Rak płuca jest współcześnie najczęstszym nowotworem złośliwym w Polsce i stanowi pierwszą przyczynę zgonów w onkologii. Rocznie z jego powodu umiera ponad 20 tys. osób. Z danych Krajowego Rejestru Nowotworów za 2013 rok wynika, że zachorowania na raka płuca stanowiły 14% spośród wszystkich 156,5 tys. przypadków nowotworów złośliwych wśród polskich pacjentów [3]. Co istotne, od kilku lat rak płuca jest również pierwszą przyczyną zgonów nowotworowych wśród kobiet [3], a także obserwuje się zwiększenie zachorowań u osób niepalących. Trzeba podkreślić, że od niedawna w ciągu roku więcej kobiet umiera z powodu raka płuca (13%) niż z powodu raka piersi (12,5%).

Najważniejszym czynnikiem ryzyka zachorowania na raka płuca jest aktywne palenie tytoniu. Dym tytoniowy zawiera kilka tysięcy związków chemicz-

nych, spośród których kilkadziesiąt to substancje o udowodnionym silnym działaniu rakotwórczym [3]. Ryzyko zachorowania na raka płuca jest proporcjonalne do okresu palenia tytoniu, liczby wypalanych papierosów i wieku rozpoczęcia palenia. Inne czynniki odpowiedzialne za zachorowanie na raka płuca to: narażenie na radon i azbest, metale ciężkie, niektóre substancje chemiczne i przemysłowe zanieczyszczenia powietrza oraz predyspozycje genetyczne [4].

Rak nie jest tylko chorobą genów, ale także chorobą odporności. Rolą układu odpornościowego (immunologicznego) jest przeszukiwanie organizmu, identyfikacja przednowotworowych komórek oraz ich eliminacja. Jeśli jednak obrona odpornościowa jest osłabiona, stransformowane komórki wymykają się spod kontroli układu immunologicznego, mogą bezkarnie mnożyć się i formować tkankę guza [5].

Ważnym elementem charakterystyki raka płuc jest właściwa ocena mechanizmów odpornościowych biorących udział w odpowiedzi nieswoistej i swoistej uczestniczącej w stanie zapalnym toczącym się w mikrośrodkowisku nowotworu. Podwyższony poziom krążących kompleksów immunologicznych (KKI) może wiązać się z przewlekłym stanem zapalnym, procesem nowotworowym, autoimmunologicznym, jak i w odpowiedzi na reakcję alergiczną organizmu [6,7], czyli może odzwierciedlać swoistą realizację humoralną układu odpornościowego. Poziom KKI u pacjentów z rakiem może być wykorzystywany do diagnostyki wczesnego stadium choroby, rozsiewu, szybkości wzrostu guza, stopnia agresywności, odpowiedzi terapeutycznej, a także rokowania [8,9]. W większości nowotworów wykazano, że komponenta antygenowa krążących kompleksów immunologicznych pochodzi z tkanki dotkniętej chorobą. W miarę postępu choroby wzrastają podziały antygeny w zmienionych nowotworowo tkankach, a to wpływa na wzrost poziomu KKI [9,10].

Innym humoralnym wskaźnikiem zapalenia, który charakteryzuje się z kolei małą swoistością do czynników etiologicznych są białka ostrej fazy. Białka te są zwykle syntetyzowane w wątrobie i są uznanym wczesnym markerem stanu zapalnego. Podwyższone poziomy białka C-reaktywnego (CRP) jako ogólnoustrojowego markera przewlekłego zapalenia, są związane ze zwiększonym ryzykiem raka płuca [11].

Z kolei liczba białych krwinek (ang. *white blood cells*, WBC) i ich populacje są również dobrze znanymi ogólnoustrojowymi nieswoistymi komórkowymi markerami zapalenia. Stosunek neutrofilów do limfocytów (ang. *neutrophil/lymphocyte ratio*, NLR) krwi obwodowej, obliczany wg bezwzględnej liczb tych krwinek, jest niedrogim, powszechnie dostępnym ogólnokomórkowym markerem zapalenia. Przydatność NLR wykazano w ocenie ryzyka chorób sercowo-naczyniowych, wielu rodzajów guzów litych, sepsy i stanów zakaźnych [12–14]. Stosunek bezwzględnej liczby płytek krwi do bezwzględnej liczby limfocytów określany mianem wskaźnika PLR (ang. *platelet/lymphocyte*

ratio, PLR) wykorzystywany jest do oceny nie tylko odpowiedzi humoralnej, ale i procesów krzepnięcia. Jest więc przydatnym parametrem w ocenie całościowej odpowiedzi na stan zapalny, a także w nowotworach [15].

Mimo intensywnych wielokierunkowych badań nad patogenezą i przebiegiem naturalnym raka płuc, nie określono przydatnych w praktyce klinicznej optymalnych narzędzi laboratoryjnych, które służyłyby do wykrywania raka płuca, oceny stanu zaawansowania, oceny przebiegu i prognozowania choroby oraz monitorowania skuteczności leczenia.

Celem podjętych badań była:

1. Ocena wybranych parametrów zapalnych (humoralnych oraz komórkowych) u chorych na raka płuc.
2. Ocena wartości prognostycznej wskaźników NLR i PLR wyliczanych na podstawie bezwzględnej liczby neutrofilii, limfocytów i płytek krwi u chorych na raka płuc.
3. Próba zastosowania przydatności wskaźnika CRP/KKI jako humoralnego parametru prognostycznego w raku płuc.

Material i metody

Grupę badaną stanowiło 48 pacjentów z rakiem płuca hospitalizowanych w Oddziale Klinicznym w Kujawsko-Pomorskim Centrum Pulmonologii w Bydgoszczy. Wśród badanych u 9 chorych rozpoznano raka drobnokomórkowego, zaś u 39 raka niedrobnokomórkowego (w tym 18 osób z gruczolakorakiem i 21 osób z rakiem płaskonabłonkowym). Raka płuca rozpoznano na podstawie wywiadu i objawów klinicznych, badań radiologicznych (Rtg klatki piersiowej P-A i bocznej, tomografia komputerowej klatki piersiowej, USG jam opłucnowych) oraz badań inwazyjnych (biopsja cienkoigłowa przezklatkowa, bronchoskopia, przezoskrzelowa biopsja węzłów chłonnych pod kontrolą ultrasonografii [ang. *endo-bronchial ultrasound*, EBUS]). Po przeprowadzeniu diagnostyki ustalono rozpoznanie histopatologiczne nowotworów płuca: rak drobnokomórkowy (DRP), który stanowił 18% grupy badanej i rak niedrobnokomórkowy (NDRP), którego dzieli się na gruczolakoraka – 38% i raka płaskonabłonkowego – 44%. Taką częstotliwość występowania poszczególnych typów histopatologicznych jest zgodna z wynikami polskich badań epidemiologicznych [3]. Badaną grupę chorych z rakiem płuca podzielono na 2 podgrupy uwzględniając stopień zaawansowania choroby wg klasyfikacji nowotworów złośliwych TNM – tumor; nodule, metastases [16,17]. Do pierwszej podgrupy zakwalifikowano 19 chorych z niskim i umiarkowanym stopniem zaawansowania (stopnie I-III A), zaś do drugiej podgrupy 29 pacjentów z wysokim stopniem zaawansowania (stopnia III B i IV).

Osoby palące stanowiły 92% a niepalący (w tym osoby, które zaprzestały palenia papierosów 20 lat temu i więcej) – 8%.

Grupę kontrolną stanowiło 30 zdrowych osób w wieku od 19 do 69 lat. Nie różniła się ona istotnie pod względem rozkładu płci (kobiety stanowiły 55%, a mężczyźni 45%), miejsca zamieszkania (dominowało zamieszkanie w mieście – 64 vs 36%) oraz pod względem stanu cywilnego – zamężni/żonaci – 78%; rozwiedzeni – 6% i stanu wolnego – 16%.

Analizowanym materiałem była surowica otrzymana z krwi żyłnej. Oznaczano poziom kompleksów immunologicznych uznaną metodą Haskowej i wsp. [18]. Do 0,15 ml badanej surowicy dodawano 0,3 ml 0,1 molowego buforu boranowego o pH 8,4 oraz 4,05 ml 4,17% roztworu PEG 6000 w tym samym buforze. Wartość ekstynkcji roztworów badano przy długości fali 450 nm. Odczyt prowadzono po godzinnej inkubacji w temperaturze pokojowej. Próbę odniesienia stanowiła mieszanina PEG z buforem boranowym. Stężenie poziomu białka C-reaktywnego w surowicy określano standardową metodą immunoturbidymetryczną. Oznaczenia morfologii krwi, w tym skład procentowy wykonywano przy użyciu analizatora Sysmex XT1800i. Z wartości odsetkowej neutrocytów i limfocytów oraz liczby leukocytów (WBC) wyliczano bezwzględne liczby tych frakcji. U wszystkich badanych wyliczono wskaźnik NLR (neutrofil/limfocyt) jako stosunek bezwzględnej liczby neutrofilii do bezwzględnej liczby limfocytów oraz wskaźnik PLR (płytki krwi/limfocyt) jako stosunek bezwzględnej liczby płytek krwi do bezwzględnej liczby limfocytów.

Analizę statystyczną wykonano w programie Statistica PL w wersji 12.0. Wyniki uznawano za statystycznie istotne dla wartości p mniejszej od $\alpha = 0,05$. Zmienne jakościowe porównano za pomocą testu niezależności chi-kwadrat. Do analizy zmiennych ciągłych, ze względu na brak rozkładów normalnych, użyto testów nieparametrycznych. Rozkłady dwóch zmiennych porównywano za pomocą testu U Manna-Witneya, do porównania trzech zmiennych użyto testu Kruskala-Wallisa wraz z testami post hoc. Do badania związków między zmiennymi wykorzystano współczynnik korelacji rangowej Spearmana. W tabelach podano wartości median oraz przedziały międzykwartylowe (w związku z nieparametrycznym rozkładem zmiennych). Wartości p wyznaczono dla testów dwustronnych. Ze względu na małą liczbę osób niepalących w grupie badanej, niemożliwe było wykonanie testów porównujących grupy palących i niepalących. Dla obu grup podano jednak wartości statystyk opisowych.

Wyniki

Grupę badaną stanowiło 48 chorych z rozpoznaniem rakiem płuca. Poszczególne podgrupy chorych nie różniły się między sobą wiekiem, rozkładem płci, obciążeniem paleniem papierosów oraz stopniem zaawansowania nowotworu (tabela 1).

Tabela 1. Charakterystyka badanej grupy

Zmienna	Rak drobnokomórkowy	Rak płaskonabłonkowy	Rak gruczolowy	p
Liczba	9	21	18	
Wiek [lata] (mediana, przedział kwartyli)	66,0 (61,0; 69,0)	68,0 (59,0; 72,0)	62,5 (60,0; 69,0)	0,73
płeć				
kobiety (n)	5 (31,2%)	5 (31,2%)	6 (37,5%)	0,24
mężczyźni (n)	4 (12,5%)	16 (50,0%)	12 (37,5%)	
palenie				
palący (n)	8 (18,2%)	19 (43,2%)	17 (38,6%)	
niepalący (n)	1 (25,0%)	2 (50,0%)	1 (25,0%)	
Zaawansowanie wg TNM				
I-III A	4 (21,0%)	9 (47,4%)	6 (31,6%)	0,79
IIIB-IV	5 (17,2%)	12 (41,4%)	12 (41,4%)	

Grupę badaną podzielono ze względu na: wiek (do 65 lat włącznie i powyżej 65 lat), płeć, palenie papierosów, typ histopatologiczny oraz stopień zaawansowania nowotworu wg TNM.

Mediany badanych czynników zapalnych i immunologicznych (neutrofile bezwzględne, płytki krwi, wskaźniki NLR i PLR, CRP, KKI oraz wskaźnik CRP/KKI) okazały się być istotnie wyższe u chorych z rakiem płuca w porównaniu z osobami z grupy kontrolnej (tabela 2).

Tabela 2. Analiza i porównanie badanych parametrów pomiędzy grupą chorych z rakiem płuca i grupą kontrolną

Zmienna	Rak płuca (N=48)	Grupa kontrolna (N=30)	p
Neutrofile bezwzględne [tys./ul]	6,7 (5,5; 9,2)	2,9 (2,3; 3,8)	<0,001
Limfocyt bezwzględny [tys./ul]	1,7 (1,3; 2,2)	1,9 (1,5; 2,2)	0,45
Płytki krwi [tys./ul]	315 (240; 426)	119 (99; 144)	<0,001
Neutrofil/limfocyt	3,8 (2,8; 6,0)	1,8 (1,1; 2,1)	<0,001
Płytki/limfocyt	191 (131; 246)	62,6 (55; 93)	<0,001
CRP [mg/l]	30,5 (12,3; 93,0)	0,7 (0,2; 1,3)	<0,001
KKI [450 nm]	0,28 (0,23; 0,31)	0,14 (0,11; 0,17)	<0,001
CRP/KKI	128,7 (39,2; 302,2)	6,0 (1,0; 13,0)	<0,001

Sprawdzono, że wartości median neutrofilii bezwzględnych, limfocytów bezwzględnych, wskaźnika neutrofil/limfocyt nie były istotnie różne w grupach

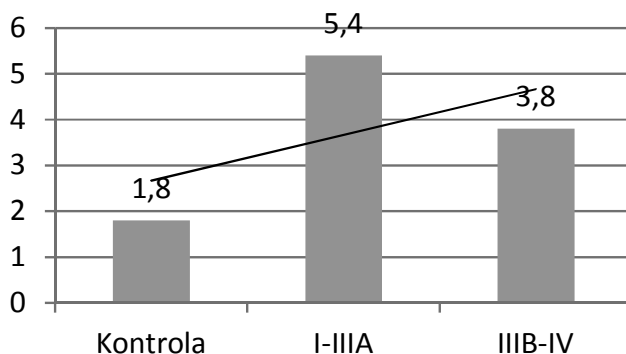
wiekowych, w podziale ze względu na płeć, typ nowotworu oraz stopień zaawansowania choroby.

Mediana wskaźnika CRP/KKI był istotnie wyższa u chorych starszych – >65 roku życia niż u osób młodszych (61,50 vs 240,50; $p < 0,01$).

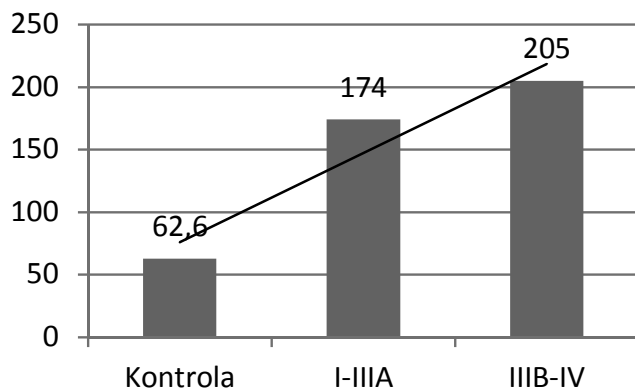
Dokonano analizy badanych parametrów w podgrupach chorych z rakiem płuca uwzględniając stopień zaawansowania choroby (podział na stadium I-III A i IIIB-IV wg TNM). Mediana wartości KKI okazała się istotnie wyższa w grupie z zaawansowanym nowotworem – IIIB-IV w porównaniu z medianą w grupie z niskim i średnim stopniem zaawansowania – I-III A (0,30 vs 0,23, $p < 0,01$) (rycina 4). Pozostałe parametry w obu porównywanych grupach nie różniły się statystycznie (tabela 3).

Tabela 3. Analiza i porównanie badanych parametrów w podgrupach chorych z rakiem podzielonych wg stopnia zaawansowania

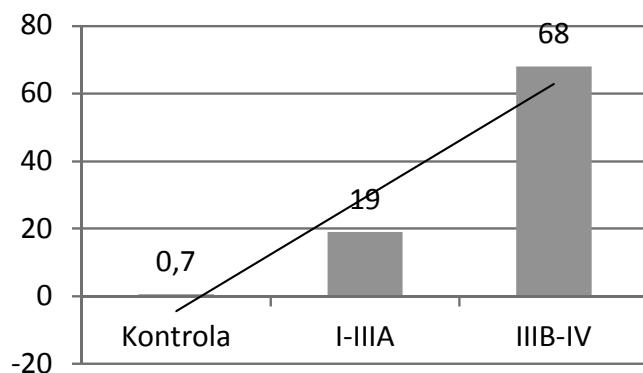
Zmienna	Stadium wczesne raka	Stadium późne raka I	p
	I-III A wg TNM (N=19)	IIIB-IV wg TNM (N=29)	
Neutrofile bezwzględne [tys./ul]	7,0 (5,7; 11,2)	5,9 (5,5; 8,7)	0,34
Limfocyt bezwzględny [tys./ul]	1,7 (1,3; 2,6)	1,6 (1,5; 2,0)	0,47
Płytki krwi [tys./ul]	296 (238; 399)	321 (250; 443)	0,37
Neutrofil/limfocyt	5,4 (2,0; 6,6)	3,8 (2,9; 5,1)	0,67
Płytki/limfocyt	174 (114; 227)	205 (139; 263)	0,13
CRP [mg/l]	19,0 (5,0; 91,0)	68,0 (15,0; 101,0)	0,11
KKI [450 nm]	0,23 (0,20; 0,27)	0,30 (0,27; 0,32)	<0,001
CRP/KKI	79,3 (23,7; 351,9)	206,3 (55,1; 267,7)	0,19



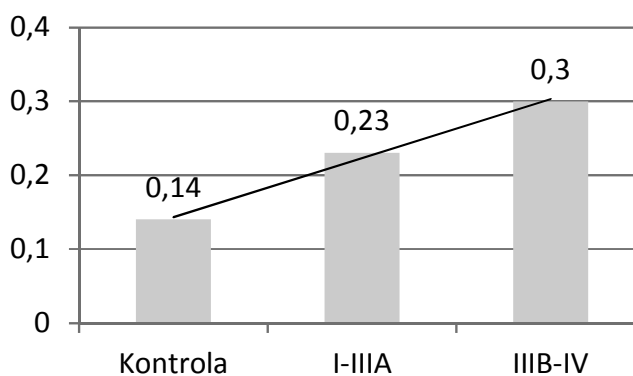
Rycina 1. Ocena zależności wskaźnika NLR od stopnia zaawansowania raka płuca [NLR – liczba bezwzględna]



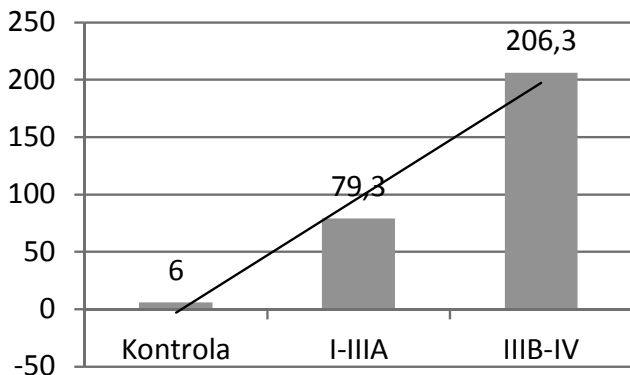
Rycina 2. Ocena zależności wskaźnika PLR od stopnia zaawansowania raka płuca [PLR – liczba bezwzględna]



Rycina 3. Ocena zależności CRP od stopnia zaawansowania raka płuca [CRP – mg/l]



Rycina 4. Ocena zależności KKI od stopnia zaawansowania raka płuca [KKI – nm]



Rycina 5. Ocena zależności wskaźnika CRP/KKI od stopnia zaawansowania raka płuca [CRP/KKI – liczba bezwzględna]

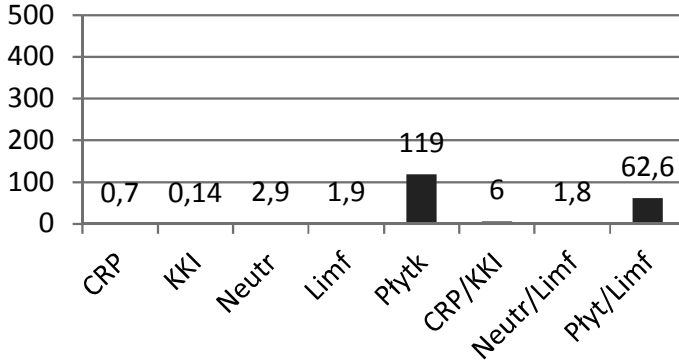
Ponadto dokonano analizy badanych parametrów w podgrupach chorych z rakiem płuca uwzględniając typ histopatologiczny. Posługując się porównaniami wielokrotnymi, sprawdzono, że mediana wskaźnika płytki krwi/limfocyt oraz mediana liczby płytek krwi w grupie osób z rakiem płaskonabłonkowym były istotnie wyższe od median tego wskaźnika i płytek wśród chorych z gruczolakorakiem (215 vs 138,5, $p = 0,037$; 388,0 tys/ul vs 277,5 tys/ul, $p = 0,034$). Dla pozostałych porównywanych par wyników w zakresie wskaźnika płytki krwi/limfocyt i liczby płytek krwi różnice nie były istotne statystycznie (tabela 4; ryciny 6–10).

Mediany wartości CRP w grupach o odmiennym typie nowotworu okazały się istotnie różne ($p < 0,01$; $p = 0,04$) (tabela 4, ryciny 8–10).

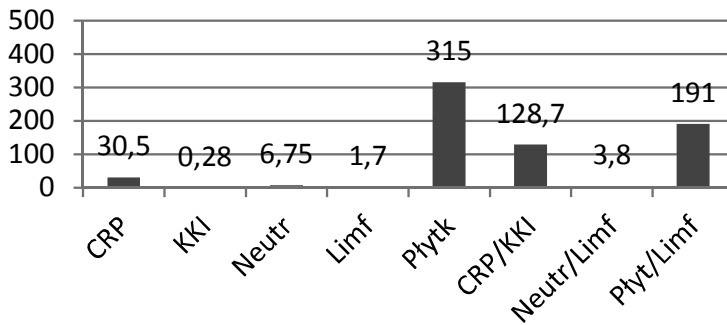
Pozostałe parametry w obu porównywanych grupach nie różniły się statystycznie (tabela 4).

Tabela 4. Analiza i porównanie badanych parametrów w podgrupach chorych z rakiem podzielonych wg typu histopatologicznego nowotworu

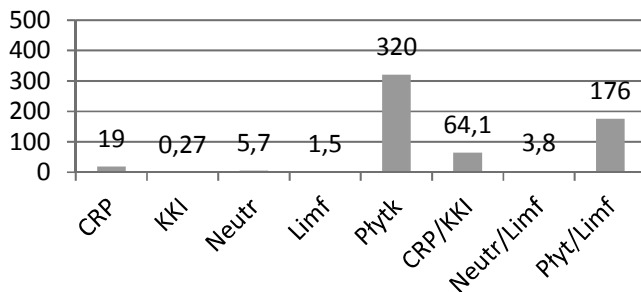
Zmienna	Rak drobnokomórkowy (N=9)	Rak płaskonabłonkowy (N=21)	Rak gruczolowy (N=18)	P
Neutrofile bezwzględne [tys./ul]	5,7 (5,0; 6,8)	7,9 (6,3; 11,1)	5,9 (5,4; 7,9)	0,07
Limfocyt bezwzględny [tys./ul]	1,5 (1,3; 1,6)	1,9 (1,4; 2,3)	1,7 (1,5; 2,1)	0,47
Płytki krwi [tys./ul]	320 (221; 443)	388 (288; 473)	277,5 (238; 316)	0,03
Neutrofil/limfocyt	3,8 (3,7; 5,8)	4,4 (2,9; 6,6)	3,4 (2,3; 5,4)	0,51
Płytki/limfocyt	176 (138; 295)	215 (188; 305)	138,5 (122; 209)	0,04
CRP [mg/l]	19,0 (7,0; 73,0)	68,0 (27,0; 125,0)	16,0 (8,0; 82,0)	0,04
KKI [450 nm]	0,27 (0,25; 0,30)	0,26 (0,23; 0,31)	0,28 (0,22; 0,31)	0,98
CRP/KKI	64,1 (24,2; 206,3)	232,0 (96,8; 447,7)	58,9 (34,5; 266,7)	0,06



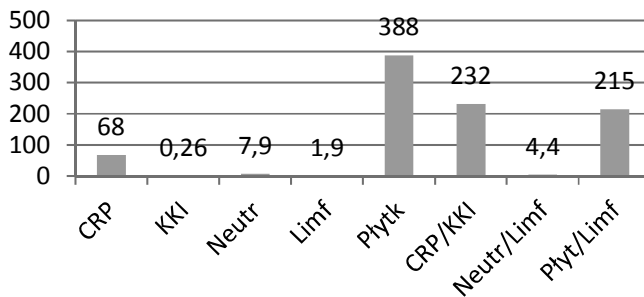
Rycina 6. Ocena wybranych parametrów zapalnych i immunologicznych w grupie kontrolnej [CRP – mg/l; KKI – nm; neutrofile – tys./ul; limfocyty – tys./ul; płytki – tys./ul; CRP/KKI – liczba bezwzględna; neutrofil/limfocyt – liczba bezwzględna; płytka/limfocyt – liczba bezwzględna]



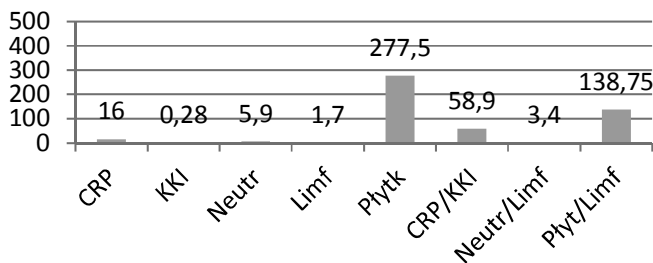
Rycina 7. Ocena wybranych parametrów zapalnych i immunologicznych w grupie badanej – rak płuca [CRP – mg/l; KKI – nm; neutrofile – tys./ul; limfocyty – tys./ul; płytki – tys./ul; CRP/KKI – liczba bezwzględna; neutrofil/limfocyt – liczba bezwzględna; płytka/limfocyt – liczba bezwzględna]



Rycina 8. Ocena wybranych parametrów zapalnych i immunologicznych w grupie badanej – rak drobnokomórkowy [CRP – mg/l; KKI – nm; neutrofile – tys./ul; limfocyty – tys./ul; płytki – tys./ul; CRP/KKI – liczba bezwzględna; neutrofil/limfocyt – liczba bezwzględna; płytka/limfocyt – liczba bezwzględna]



Rycina 9. Ocena wybranych parametrów zapalnych i immunologicznych w grupie badanej – rak płaskonabłonkowy [CRP – mg/l; KKI – nm; neutrofile – tys./ul; limfocyty – tys./ul; płytki – tys./ul; CRP/KKI – liczba bezwzględna; neutrofil/limfocyt – liczba bezwzględna; płytka/limfocyt – liczba bezwzględna]



Rycina 10. Ocena wybranych parametrów zapalnych i immunologicznych w grupie badanej – rak gruczołowy [CRP – mg/l; KKI – nm; neutrofile – tys./ul; limfocyty – tys./ul; płytki – tys./ul; CRP/KKI – liczba bezwzględna; neutrofil/limfocyt – liczba bezwzględna; płytka/limfocyt – liczba bezwzględna]

Dyskusja

Obecność komórek nowotworowych na różnych etapach kancerogenezy powoduje odmienne reakcje układu odpornościowego. Konsekwencją tych reakcji może być obecność immunogennych atypowych białek związanych z nowotworem. W wyniku tych korelacji może powstać zwiększona ilość złożonych struktur białkowych o charakterze krążących kompleksów immunologicznych. Wyniki przedstawionych przez nas badań wskazują na występowanie podwyższonych poziomów krążących kompleksów immunologicznych u chorych na raka płuca, co jest zgodne z doniesieniami innych autorów [19,20].

Wykazaliśmy tendencję ($p < 0,001$) związaną z poziomem KKI a stopniem zaawansowania nowotworu. W bardziej zaawansowanym stadium raka płuc (IIIB-IV) obserwowano wyższe wartości poziomu KKI. Do podobnych wniosków doszli autorzy Fekete B i wsp. [19]. Sugeruje to związek z dominacją odpowiedzi humoralnej swoistej w bardziej zaawansowanym stadium kancerogenezy.

W wielu typach nowotworów obserwuje się realizację stanów zapalnych o różnym stopniu nasilenia. U podłoża ogólnoustrojowej reakcji zapalnej (ang. *systemic of inflammatory reaction syndrome*, SIRS) związanej z rakiem leży niestabilność genetyczna komórek nowotworowych. Ważną rolę w rozwoju nowotworu (prolifracja komórek złośliwych, angiogeneza, przerzuty, oporność na środki chemioterapeutyczne) odgrywa systemowe zapalenie. Takie wskaźniki jak: NLR, PLR i CRP/albuminy mają zastosowanie w prognozowaniu kilku rodzajów nowotworów, w tym raka piersi, płuca i żołądka [21–23]. W naszych badaniach obserwowaliśmy istotnie wyższe wartości CRP oraz wskaźników NLR i PLR u chorych z rakiem płuca w porównaniu z osobami zdrowymi. Ponadto wyższe wartości CRP oznaczone były w podgrupie z bardziej zaawansowaną postacią raka oraz w raku płaskonabłonkowym. Otrzymane przez nas wyniki są zgodne z danymi uzyskanymi przez innych autorów [24–28].

Proces kancerogenezy związany jest z różną aktywnością neutrofilów i limfocytów. Zaburzona równowaga między neutrofilami a limfocytami spowodowana może być niedotlenieniem i martwicą wywołaną przez komórki nowotworowe. Na różnym etapie kancerogenezy zmienia się immunogenność komórek nowotworowych. A to może mieć wpływ na różne reakcje humoralne i komórkowe w środowisku nowotworu.

Teoria immunoedycji nowotworu wyjaśnia interakcje zachodzące pomiędzy układem immunologicznym a tworzącymi się komórkami nowotworowymi w kontekście czasu ich rozwoju. Immunoedycję nowotworu można podzielić na trzy następujące po sobie fazy: eliminacji, równowagi i ucieczki. Na początku komórki rakowe ze względu na swoją znaczną immunogenność łatwo ulegają eliminacji, w późniejszej fazie choroby powstają klony coraz mniej immunogenne, odporne na działanie limfocytów efektorowych i zdolne do hamowania

odpowiedzi immunologicznej gospodarza (faza równowagi). Wraz z progresją nowotworu, w jego mikrośrodowisku zachodzą zmiany osłabiające odpowiedź immunologiczną [31–33]. Zaczyna przeważać odpowiedź humoralna nad komórkową. Zjawisko to jest niekorzystne dla chorego, może wiązać się z progresją regionalną nowotworu oraz może generować powstawanie przerzutów odległych. Wyniki naszej pracy – podwyższone wartości KKI i wskaźnika CRP/KKI potwierdzają dominację odpowiedzi humoralnej w zaawansowanym stadium raka płuc. To praktycznie może dowodzić zmian immunogenności komórek nowotworowych, co jest zgodne z teorią immunoedycji.

Mechanizmy te mogą wpływać na obraz parametrów diagnostycznych w terapii nowotworów.

Zwraca uwagę fakt podwyższonych wartości liczby płytek krwi w osoczu chorych, co wyraźnie wpływa na wartość wskaźnika PLR. Zwiększona produkcja płytek krwi może mieć związek ze wzrostem guza [29]. W naszej pracy wykazaliśmy, że mediany PLR i płytek krwi wśród osób z rakiem płaskonabłonkowym były istotnie wyższe od median tych parametrów u chorych z gruczolakorakiem. Nikolić i wsp. wykazali, iż wskaźnik PLR jest istotnie wyższy u chorych na raka płuca, jednak nie można na jego podstawie różnicować podtypów tego nowotworu [30]. Na podstawie naszych doniesień można pokusić się o następujące stwierdzenie, że w raku płaskonabłonkowym mogą zachodzić procesy naprawcze, które charakteryzują się zwiększonym dynamizmem. Może mieć to związek z miejscem powstawania danego typu nowotworu, czyli poziomem drzewa oskrzelowego, w nabłonku którego zachodzi karcynogeneza.

W piśmiennictwie nie znaleźliśmy przykładu zastosowania wskaźnika CRP/KKI w analizie diagnostycznej raka płuca – dlatego podjęliśmy ten temat. Z jednej strony wykazaliśmy podwyższone wartości CRP w raku płaskonabłonkowym, z drugiej zaś strony stwierdziliśmy podwyższone wartości KKI w zaawansowanej postaci raka. Wskaźnik CRP/KKI może być przydatny jako prognostyczny parametr humoralny różnicujący stadium zaawansowania w danym typie nowotworu.

Wnioski

1. Wartości analizowanych parametrów immunologicznych (humoralnych oraz komórkowych) były istotnie wyższe u chorych na raka płuc w porównaniu z osobami zdrowymi.
2. Wartości CRP oraz płytek krwi i wskaźnika PLR istotnie różniły się pomiędzy histopatologicznymi typami raka płuc.
3. Istotnie podwyższone wartości KKI w zaawansowanym stadium raka płuc może świadczyć o dominacji swoistej odpowiedzi humoralnej w późnym etapie karcynogenezy.

4. Wskaźnik CRP/KKI może być przydatny jako prognostyczny parametr humoralny różnicujący stadium zaawansowania w danym typie nowotworu.

Bibliografia

1. World Health Organization. *Global Status Report on Noncommunicable Diseases*. WHO, Geneva 2014.
2. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. *Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012*. Globocan, 2016, http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx?cancer=lung [dostęp: 12.07.2019].
3. Wojciechowska U, Didkowska J. *Zachorowania i zgony na nowotwory złośliwe w Polsce w 2015 roku*. Krajowy Rejestr Nowotworów. Warszawa 2015, <http://onkologia.org.pl/raporty/> [dostęp: 17.07.2019].
4. Jassem J, Wysocki W. *Pierwotne nowotwory płuca*. Medycyna Praktyczna, <https://www.mp.pl/interna/chapter/B16.II.3.14.1> [dostęp: 12.08.2019].
5. Ezeani MCh, Onyenekwe Ch, Meludu SCh. *Persistent Circulating Immune Complexes: Potential Source of Epimutation and Cancer Poor Prognosis*. International Journal of Genetics and Genomics. 2017; 5 (1): 1–13. doi: 10.11648/j.ijgg.20170501.11.
6. Gołda R, Przybylski G, Józwicki W, Wyszomirska M. *Krążące kompleksy immunologiczne, białko szoku cieplnego w surowicach osób z alergią palących tytoń – badania wstępne*. Przegł Lek. 2012; 69 (10): 737–739.
7. Gołda R, Przybylski G, Dokładna W, Pyskir M, Pyskir J. *Analiza występowania atypowych białek w surowicy u chorych na raka płuc palących i niepalących papierosy*. Przegł Lek. 2013; 70 (10): 784–786.
8. Cynthia J, Nerurkar AV, Karjodkar FR. *Circulating Immune Complexes (CIC) As Marker For Disease Progress In Oral Cancer*. Indian J Clini Biochem. 2007; 22 (2): 114–117. doi: 10.1007/BF02913327.
9. Kelley MC, Jones RC, Gupta RK, Yee R, Stern S, Wanek LJ, Morton DL. *Tumor Associated Antigen TA-90 Immune Complex Assay Predicts Subclinical Metastasis and Survival for Patients With Early Stage Melanoma*. Cancer. 1998; 83 (7): 1355–1361. doi: 10.1002/(sici)1097-0142(19981001)83:7<1355::aid-cnrc12>3.0.co;2-3.
10. Rai S, Mody RN. *Serum Circulating Immune Complexes as Prognostic Indicators in Premalignant and Malignant Lesions of Oral Cavity During and Following Radiotherapy*. J Cancer Res Ther. 2012; 8 (Suppl 1): 116–122. doi: 10.4103/0973-1482.92225.
11. Chaturvedi AK, Caporaso NE, Katki HA, Wong HL, Chatterjee N, Pine SR, Chanock SJ, Goedert JJ, Engels EA. *C-Reactive Protein and Risk of Lung Cancer*. J Clin Oncol. 2010; 28 (16): 2719–2726. doi: 10.1200/JCO.2009.27.0454.
12. Han YC, Yang TH, Kim DI, Jin HY, Chung SR, Seo JS, Jang JS, Kim DK, Kim KH, Seol SH, Kim DS. *Neutrophil to Lymphocyte Ratio Predicts Long-Term Clinical Outcomes in Patients with ST-Segment Elevation Myocardial Infarction Un-*

- dergoing Primary Percutaneous Coronary Intervention*. Korean Circ J. 2013; 43 (2): 93–99. doi: 10.4070/kcj.2013.43.2.93.
13. Templeton AJ, McNamara MG, Šeruga B, Vera-Badillo FE, Aneja P, Ocaña A, Leibowitz-Amit R, Sonpavde G, Knox JJ, Tran B, Tannock IF, Amir E. *Prognostic Role of Neutrophil-To-Lymphocyte Ratio in Solid Tumors: A Systematic Review and Meta-Analysis*. J Natl Cancer Inst. 2014; 106 (6): dju124. doi: 10.1093/jnci/dju124.
 14. Yoon NB, Son C, Um SJ. *Role of the Neutrophil-Lymphocyte Count Ratio In the Differential Diagnosis Between Pulmonary Tuberculosis and Bacterial Community-Acquired Pneumonia*. Ann Lab Med. 2013; 33 (2): 105–110. doi: 10.3343/alm.2013.33.2.105.
 15. Wójcik E, Stasik Z, Rychlik U, Tarapacz J, Kanty Kulpa J, Brandys K. *Wskaźniki NLR i PLR w ocenie rokowania chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca*. Diagn Lab. 2016; 52 (1): 13–20.
 16. Brierley JD, Gospodarowicz MK, Wittekind Ch. *TNM –Klasyfikacja nowotworów złośliwych*. Wyd. 8. Via Medica, Gdańsk 2017.
 17. Dylewska M, Mikułowska M, Nowak S, Falkiewicz B. *Rak płuca w Polsce – perspektywa medyczna i społeczna 2016*. Bristol-Myers Squibb, Warszawa 2016.
 18. Haskova V, Kaslik J, Riha I, Matl I, Rovensky J. *Simple Method of Circulating Immune Complex Detection in Human Sera by Polyethyleneglycol Precipitation*. Z Immunitatsforsch Immunobiol. 1978; 154 (4): 399–406.
 19. Fekete B, Füst G, Pál A, Angyal I, Jakab A, Merétey K, Falus A, Török K, Szegedi G, Kávai M, Puskás E, Csécsi-Nagy M, Szabó T, Lenkey A, Misz M. *Clinical Correlates of Circulating Immune Complex Levels in Advanced Lung Cancer. A Discrimination Analysis*. Oncology. 1983; 40 (2): 106–110.
 20. García MS, Baraňao RI, Fernández O, Bordenave H, Rumi LS. *Circulating Immune Complexes in Breast and Lung Cancer, Before and After Chemotherapy*. Allergol Immunopathol (Madr). 1987; 15 (1): 15–18.
 21. Gu X, Sun S, Gao XS, Xiong W, Qin S, Qi X, Ma M, Li X, Zhou D, Wang W, Yu H. *Prognostic Value of Platelet to Lymphocyte Ratio In Non-Small Cell Lung Cancer: Evidence from 3,430 Patients*. Sci Rep. 2016; 6 (23893): 1–7. doi: 10.1038/srep23893.
 22. Koh CH, Bhoo-Pathy N, Ng KL, Jabir RS, Tan GH, See MH, Jamaris S, Taib NA. *Utility of PreTreatment Neutrophil-Lymphocyte Ratio and Platelet-Lymphocyte Ratio as Prognostic Factors in Breast Cancer*. Br J Cancer. 2015; 113 (1): 150–158. doi: 10.1038/bjc.2015.183.
 23. Li Y, Wang C, Xu M, Kong C, Qu A, Zhang M, Zheng Z, Zhang G. *Preoperative NLR for Predicting Survival Rate After Radical Resection Combined With Adjuvant Immunotherapy With CIK and Postoperative Chemotherapy In Gastric Cancer*. J Cancer Res Clin Oncol. 2017; 143 (5): 861–871. doi: 10.1007/s00432-016-2330-1.
 24. Zhu J, Lian L, Qin H, Wang WJ, Ren R, Xu MD, Chen K, Duan W, Gong FR, Tao M, Zhi Q, Wu MY, Li W. *Prognostic Evaluation of Patients With Resectable Lung Cancer Using Systemic Inflammatory Response Parameters*. Oncology Letters. 2019; 17 (2): 2244–2256. doi: 10.3892/ol.2018.9858.
 25. Peng B, Wang YH, Liu YM, Ma LX. *Prognostic Significance of the Neutrophil to Lymphocyte Ratio in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer: a Systemic Review and Meta-Analysis*. Int J ClinExp Med. 2015; 8 (3): 3098–3106.

- 24 M. PILACZYŃSKA-CEMEL, R. GOŁDA, A. DĄBROWSKA, G. PRZYBYLSKI
26. Gu XB, Tian T, Tian XJ, Zhang XJ. *Prognostic Significance of Neutrophil-To-Lymphocyte Ratio in Non-Small Cell Lung Cancer: A Meta-Analysis*. *Sci Rep*. 2015; 5 (12493): 1–9. doi: 10.1038/srep12493.
27. Zhang H, Zhang L, Zhu K, Shi B, Yin Y, Zhu J, Yue D, Zhang B, Wang Ch. *Prognostic Significance of Combination of Preoperative Platelet Count and Neutrophil-Lymphocyte Ratio (COP-NLR) in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer: Based on a Large Cohort Study*. *PLoS One*. 2015; 10 (5): e0126496. doi: 10.1371/journal.pone.0126496.
28. Unal D, Eroglu C, Kurtul N, Oguz A, Tasdemir A. *Are Neutrophil/Lymphocyte and Platelet/Lymphocyte Rates in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer Associated With Treatment Response and Prognosis?* *Asian Pac J Cancer Prev*. 2013; 14 (9): 5237–5242. doi: 10.7314/APJCP.2013.14.9.5237.
29. Bambace NM, Holmes CE. *The Platelet Contribution to Cancer Progression*. *J Thromb Haemost*. 2011; 9 (2): 237–249. doi: 10.1111/j.1538-7836.2010.04131.x.
30. Nikolić I, Kukulj S, Samaržija M, Jeleč V, Žarak M, Orehovec B, Taradi I, Romić D, Kolak T, Patrlj L. *Neutrophil-To-Lymphocyte and Platelet-To-Lymphocyte Ratio Help Identify Patients With Lung Cancer, But Do Not Differentiate Between Lung Cancer Subtypes*. *Croat Med J*. 2016; 57 (3): 287–292.
31. Kopiński P, Giżycka A, Macko M, Chorostowska-Wynimko J. *Immunoterapia raka płuca. Część I: Immunoterapia bierna*. *Państwo i Społeczeństwo*. 2017; 4: 1–18. doi: 10.31749/pismzp2017/19187.
32. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. *The Immunobiology of Cancer Immunosurveillance and Immunoediting*. *Immunity*. 2004; 21 (2): 137–148. doi: 10.1016/j.immuni.2004.07.017.
33. Arum CJ, Anderssen E, Viset T, Kodama Y, Lundgren S, Chen D, Zhao CM. *Cancer Immunoediting from Immunosurveillance to Tumor Escape in Microvillus-Formed Niche: A Study of Syngeneic Orthotopic Rat Bladder Cancer Model in Comparison with Human Bladder Cancer*. *Neoplasia*. 2010; 12 (6): 434–442. doi: 10.1593/neo.91824.

Analysis of the concentration of selected parameters of inflammation, circulating immune complexes and related indicators (neutrophil/lymphocyte, platelet/lymphocyte, CRP/CIC) in patients with lung cancer

Abstract

Introduction: Lung cancer is the most frequent malignancy in Poland and is the first cause of death in oncology. The aim of the study is to analyze selected parameters of inflammation in lung cancer.

Material and methods: 48 patients with lung cancer were included in the study group and 30 persons in the control group. The group was divided according to the level of severity – 19 with low/moderate stage (I-III A), 29 with high (IIIB and IV) and to histopathological type – 9 with small cell carcinomas, 39 with non-small cell carcinomas (therein 18 – adenocarcinomas and 21 squamous carcinomas). The concentrations of circulating immune complexes (CIC), C-reactive protein (CRP), neutrophils, lymphocytes and their

associated indicators were examined: CRP/CIC, NLR (neutrophil/lymphocyte ratio), PLR (platelet/lymphocyte ratio).

Results: The average parameter values were significantly higher among people with lung cancer. The median value of CIC was significantly higher in the group with advanced cancer (0.30 vs 0.23, $p < 0.01$ compare to stage I-III A). The median PLR and platelet counts among patients with squamous cell carcinoma were significantly higher compared to adenocarcinomas (215 vs 138.5, $p = 0.037$, 388.0 thousand/ul vs 277.5 thousand/ul, $p = 0.034$).

Conclusion: Based on the results of our work, we suggested the dominance of a specific humoral response in the more advanced stage of lung cancerogenesis. The process of carcinogenesis is associated with various activities of neutrophils and lymphocytes.

Key words: circulating immune complexes, neutrophil-lymphocyte ratio, platelet-lymphocyte ratio, lung cancer

