

© Коллектив авторов, 2017
УДК 616-092.6

Новицкий В.В.¹, Янкович К.И.^{1,2}, Колобовникова Ю.В.¹, Дмитриева А.И.^{1,2},
Уразова О.И.¹, Пурлик И.Л.^{1,2}, Кудяков Л.А.², Чумакова С.П.¹

Механизмы формирования опухолеассоциированной тканевой эозинофилии при раке желудка и толстой кишки

¹ ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, 634050, г. Томск, Россия, Московский тракт, д. 2

² ОГАУЗ Томский областной онкологический диспансер, 634050, г. Томск, Россия, пр. Ленина, д. 115

Опухолеассоциированная тканевая эозинофилия определяется как эозинофильная инфильтрация стромы опухоли. Эта реакция, как полагают, играет важную роль в канцерогенезе. Считается, что эозинофилы обладают противоопухолевой активностью за счет высвобождения цитотоксических белков. **Цель исследования** — изучение молекулярно-генетических механизмов формирования опухолеассоциированной тканевой эозинофилии у больных раком желудка и толстой кишки. **Методика.** Материалом исследования служили образцы опухолевой ткани пациентов с диагнозом *рак желудка или толстой кишки*. Подсчитывали количество эозинофилов, инфильтрирующих опухолевую ткань, а также оценивали экспрессию эотаксина-1 (ключевого фактора хемотаксиса эозинофилов) и его рецептора CCR3 в опухолевой ткани методом иммуногистохимии. Было изучено распределение полиморфных вариантов генов *CCL11 (A384G)*, *CCR3 (T51C)*, *IL5 (C703T)* и *IL5R (G80A)*. Геномную ДНК выделяли из образцов опухолевой ткани. Генотипирование образцов ДНК по полиморфизмам генов осуществляли путем ПДРФ-анализа продуктов ПЦР-амплификации специфических участков генома с последующей визуализацией в ультрафиолетовом свете. **Результаты.** Показана более высокая экспрессия эотаксина-1 и CCR3 в ткани опухоли при раке желудка и толстой кишки, ассоциированном с эозинофилией. Установлена ассоциация эозинофильной инфильтрации опухолевой ткани с носительством генотипа *CC* и аллеля *C* полиморфизма *T51C* гена *CCR3* и генотипа *CC* и аллеля *C* полиморфизма *C703T* гена *IL5*. **Заключение.** Формирование опухолеассоциированной тканевой эозинофилии при раке желудка и толстой кишки опосредованно действием эотаксина-1 и его рецептора. Результаты молекулярно-генетического исследования указывают на генетически детерминированный характер эозинофилии при раке желудка и толстой кишки.

Ключевые слова: эозинофилия; эотаксин; интерлейкин-5; рецепторы; полиморфизм генов; рак желудка; рак толстой кишки.

Для цитирования: Новицкий В.В., Янкович К.И., Колобовникова Ю.В., Дмитриева А.И., Уразова О.И., Пурлик И.Л., Кудяков Л.А., Чумакова С.П. Механизмы формирования опухолеассоциированной тканевой эозинофилии при раке желудка и толстой кишки. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2017; 61(4): 74–80. DOI: 10.25557/IGPP.2017.4.8526

Для корреспонденции: Янкович Кристина Игоревна, аспирант каф. патофизиологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России; врач клин. лаб. диагностики КДЛ ОГАУЗ «ТООД», e-mail: yankovich-kristina@mail.ru

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых Грант № 14.W01.17.842-МД и ведущих научных школ Российской Федерации Грант № 14.W02.16.7906-НШ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 06.03.2017

Novitsky V.V.¹, Yankovich K.I.^{1,2}, Kolobovnikova Yu.V.¹, Dmitrieva A.I.^{1,2},
Urazova O.I.¹, Purlik I.L.^{1,2}, Kudjakov L.A.², Chumakova S.P.¹

The formation mechanisms of tumor-associated tissue eosinophilia in gastric cancer and colon cancer

¹ Siberian State Medical University, Moskovskiy tract, 2, 634050 Tomsk

² Tomsk Regional Oncology Center, Lenina pr., 115, 634050 Tomsk

Tumor-associated tissue eosinophilia is defined as eosinophilic stromal infiltration of a tumor. Tumor-associated tissue eosinophilia is believed to play a significant role in carcinogenesis. It is believed that eosinophils have antitumor activity due to the release of cytotoxic proteins. **The aim** of this study was to investigate the molecular-genetic mechanisms of formation of tumor-associated tissue eosinophilia in patients with gastric cancer and colon cancer. **Methods.** Tumor tissue samples

from patients with gastric cancer and colon cancer were reviewed. We counted the number of infiltrating eosinophils in neoplastic lesion tissue and we evaluated the expression of eotaxin-1 (a key factor of chemotaxis of eosinophils) and its receptor CCR3 in tumor tissue by immunohistochemical staining. The distribution of polymorphic variants of genes *CCL11* (*A384G*), *CCR3* (*T51C*), *IL5* (*C703T*) and of the *IL5R* (*G80A*) was studied. DNA was isolated from tumor tissue samples. Genotyping of polymorphisms was carried out by polymerase chain reaction (PCR), followed by digestion with the appropriate restriction enzyme (PCR-RFLP) and agarose-gel electrophoresis. **Results.** It is shown that higher expression eotaxin-1 and CCR3 is determined in the tumor tissue of gastric cancer and colon cancer associated with eosinophilia. It is established that eosinophilic infiltration of the tumor tissue is associated with the carriers of CC genotype and C allele of the gene *CCR3* (*T51C*) and CC genotype and C allele of gene *IL5* (*C703T*). **Conclusion.** The formation of tumor-associated tissue eosinophilia in gastric cancer and colon cancer is mediated through the action eotaxin-1 and its receptor. The results of molecular-genetic studies indicate a genetically determined character of eosinophilia in gastric cancer and colon cancer.

Keywords: eosinophilia; eotaxin; interleukin-5; receptors; gene polymorphism; gastric cancer; colon cancer.

For citation: Novitsky V.V., Yankovich K.I., Kolobovnikova Yu.V., Dmitrieva A.I., Urazova O.I., Purlik I.L., Kudyakov L.A., Chumakova S.P. The formation mechanisms of tumor-associated tissue eosinophilia in gastric cancer and colon cancer. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2017; 61 (4): 74—80. (in Russian). DOI: 10.25557/IGPP.2017.4.8526

For correspondence: Kristina I. Yankovich, PhD-student of Pathophysiology department, «Siberian State Medical University»; 2 Moskovskiy Tract, Tomsk 634050, Russian Federation; doctor of clinical laboratory diagnostics, «Tomsk Regional Oncology Center»; 115 Lenina pr., Tomsk 634050, Russian Federation, e-mail: yankovich-kristina@mail.ru

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

Acknowledgments. The work was supported by the Grant Council of the President of the Russian Federation for the state support of young Russian scientists Grant № 14.W01.17.842-YD and leading scientific schools of the Russian Federation Grant № 14.W02.16.7906-SS.

Information about authors:

Novitsky V.V., <http://orcid.org/0000-0002-9577-8370>

Yankovich K.I., <http://orcid.org/0000-0001-8893-0939>

Kolobovnikova Yu.V., <http://orcid.org/0000-0001-7156-2471>

Dmitrieva A.I., <http://orcid.org/0000-0002-5247-9872>

Urazova O.I., <http://orcid.org/0000-0002-9457-8879>

Purlik I.L., <http://orcid.org/0000-0003-3757-0173>

Chumakova S.P., <http://orcid.org/0000-0003-3468-6154>

Received 06.03.2017

Введение

Рак желудка и толстой кишки весьма часто сопровождается эозинофильной инфильтрацией опухолевой ткани, что в современной литературе обозначается как опухолеассоциированная тканевая эозинофилия (ТАТЕ — Tumor-Associated Tissue Eosinophilia) [1—3]. По современным представлениям, эозинофильные гранулоциты способны взаимодействовать с опухолевыми клетками, а также другими элементами внутриопухолевого и околоопухолевого микроокружения [3, 4]. Миграцию эозинофилов в ткани, в том числе в ткань новообразований, обеспечивают цитокины, среди которых ключевую роль играют эотаксин-1 (*CCL11* — C-C motif chemokine ligand 11) и интерлейкин (IL) 5, действующие посредством связывания со специфическими рецепторами CCR3 и IL-5R соответственно [5—7]. В желудочно-кишечном тракте (основном месте локализации тканевых эозинофилов)

в норме регистрируется более выраженная экспрессия *CCL11*, чем в других тканях организма [1]. Гиперэкспрессия эотаксина-1 отмечается также при воспалении, аллергии и гельминтозах, ассоциированных с эозинофилией [1].

Известно, что функциональная активность белковых молекул определяется полиморфными вариантами соответствующих генов. В литературе описаны ассоциации аллельных вариантов генов цитокинов и их рецепторов с характером экспрессии соответствующих белков и предрасположенностью к определенным заболеваниям [6—9]. Изучение полиморфизма генов цитокинов, принимающих участие в формировании эозинофилии, позволит оценить вклад наследственного фактора в развитие ТАТЕ.

Цель — исследование молекулярно-генетических механизмов формирования опухолеассоциированной тканевой эозинофилии у больных раком желудка и толстой кишки.

Методика

Исследование выполнено на базе ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер» (ОГАУЗ «ТООД»). В исследование были включены 52 больных раком желудка и 55 больных раком толстой кишки, находившихся на лечении и состоящих на диспансерном учете в ОГАУЗ «ТООД», которые давали информированное согласие на участие в исследовании. Все пациенты были прооперированы до начала проведения специфической лучевой и цитостатической терапии. Пациенты были разделены на группы в зависимости от наличия или отсутствия эозинофильной инфильтрации ткани опухоли, а также от локализации опухолевого процесса. В группу пациентов со злокачественными новообразованиями желудочно-кишечного тракта, сопровождающимися тканевой эозинофилией, вошли 25 больных раком желудка (средний возраст $65,3 \pm 4,7$ года) и 23 больных раком толстой кишки (средний возраст $63,0 \pm 7,3$ года). Среди обследованных пациентов, в опухолевой ткани которых не регистрировалась эозинофильная инфильтрация, у 27 пациентов был верифицирован рак желудка (средний возраст $62,9 \pm 5,2$ года), у 32 — рак толстой кишки (средний возраст $61,3 \pm 6,0$ лет). Для исследования аллельного полиморфизма генов цитокинов и их рецепторов группы пациентов были увеличены. Число больных раком желудка и толстой кишки, сопровождающимся тканевой эозинофилией, составило 204 человека, из них 100 пациентов с раком желудка (средний возраст $64,2 \pm 7,2$ года) и 104 пациента с раком толстой кишки (средний возраст $61,5 \pm 9,0$ лет). В группу пациентов без тканевой эозинофилии были включены 113 больных раком желудка (средний возраст $63,8 \pm 6,2$ года) и 110 больных раком толстой кишки (средний возраст $62,9 \pm 6,0$ лет). Критериями исключения пациентов из исследования были: наличие в анамнезе хронических воспалительных процессов, психических, аутоиммунных и/или наследственных заболеваний, аллергии и гельминтозов, а также опухолей других локализаций.

Материалом исследования служили архивные образцы тканей злокачественных новообразований желудка и толстой кишки, полученные при оперативном вмешательстве и заключенные в парафин. Подготовка материала для исследования, а также гистологическая верификация опухолей и иммуногистохимическое исследование проводились на базе патологоанатомического отделения ОГАУЗ «ТООД».

Эозинофильную инфильтрацию в слизистой и подслизистой оболочках оценивали полуколичественным методом путем прямого подсчета тканевых эозинофилов в «горячих точках» вблизи опухолевого поражения, просматривали не менее 20 полей зрения ($\times 400$) с помощью светового микроскопа Leica DM2000 (Leica Mic-

rosystems, Германия). Присутствие 10 и более эозинофилов в поле зрения расценивали как тканевую эозинофилию [1, 10]. При отсутствии или наличии единичных эозинофилов в поле зрения делали вывод об отсутствии опухолеассоциированной эозинофилии.

Исследование экспрессии CCL11 и CCR3 в опухолевой ткани проводили на парафиновых срезах методом иммуногистохимии с окрашиванием гематоксилином с использованием автоматического иммуногистостейнера (Leica Biosystems, Германия). В исследовании применяли моноклональные антитела фирмы «Abcam» (Великобритания) к CCL11 (клон EPR5825, рабочее разведение 1:100, кроличьи) и к CCR3 (клон Y31, рабочее разведение 1:100, кроличьи). Оценку экспрессии исследуемых белков в опухолевой ткани осуществляли полуколичественным способом в участках максимальной экспрессии маркера (в «горячих точках»), что более воспроизводимо, чем в случайных полях зрения. При исследовании экспрессии CCL11 проводили оценку интенсивности цитоплазматического окрашивания опухолевых клеток. В зависимости от интенсивности окрашивания все образцы были разделены на случаи с низкой экспрессией маркера (при отсутствии или бледно-желтом окрашивании) и случаи со средней силы экспрессией (при светло-коричневом окрашивании) [1], сильного позитивного иммуноокрашивания в железистых клетках не обнаруживалось.

Экспрессию CCR3 оценивали на мембране клеток воспалительного инфильтрата. Каждый образец содержал различное количество стромы, поэтому экспрессия маркера на стромальных клетках определялась как относительное количество положительно окрашенных клеток, а также учитывалась интенсивность окраски. При отсутствии окрашивания, при выявлении слабого по интенсивности окрашивания менее чем 30% клеток, инфильтрирующих ткань опухоли, или сильного окрашивания менее чем 15% клеток экспрессия CCR3 считалась низкой. Обнаружение положительной реакции любой интенсивности в более чем 30% стромальных клеток или сильного окрашивания менее 30% клеток расценивалось как высокая экспрессия маркера [1, 11]. Были просмотрены поля зрения вблизи паренхиматозного компонента опухоли и в строме новообразования на некотором отдалении от паренхиматозных структур.

Выделение ДНК из образцов тканей, полученных с границы резекции (нормальная ткань) проводили с использованием коммерческого набора «FFPET DNA — Extraction Kit» (Биолинк, Новосибирск). Генотипирование образцов ДНК по полиморфизмам генов CCL11 (A384G), CCR3 (T51C), IL5 (C703T) и IL5R (G80A) осуществляли путем ПДРФ-анализа продуктов ПЦР-амплификации

специфических участков генома с последующей визуализацией в ультрафиолетовом свете. Для ПЦР использовали специфичные пары праймеров, представленные в табл. 1 [6—8]. Реакционная смесь для ПЦР содержала 10 мкл образца ДНК, буфер для амплификации в финальной концентрации 1х, по 5 пмоль праймеров (Медиген, Новосибирск), 2 ед. акт. SuperHotTaq-ДНК-полимеразы, 1,5 ммоль/л $MgCl_2$, 0,8 ммоль/л смеси dNTP (Biopon GmbH, Германия) и дистиллированную воду конечного объема 50 мкл. Программа амплификации включала предварительную денатурацию при 94°C (5 мин), 30 циклов отжига при специфической для каждой пары праймеров температуре в течение 45 с (табл. 1), элонгации при 72°C (45 с) и денатурации при 94°C (45 с). Программу завершала элонгация при 72°C в течение 3 мин. Амплификат (7 мкл) подвергали гидролизу соответствующей рестриктазой (3—5 ед. акт.) при оптимальной для фермента температуре в течение 12 ч (табл. 1). Для всех изученных полиморфных вариантов генов распределение генотипов соответствовало ожидаемому при соблюдении условий равновесия Харди—Вайнберга.

Для расчета статистической значимости различий между группами сравнения проводили анализ таблиц

сопряженности с использованием критерия χ^2 Пирсона. Для определения меры связи между переменными вычисляли коэффициент ϕ . Относительный риск (OR — odds ratio) оценивали по стандартной формуле и указывали с доверительным интервалом 95% [12].

Результаты и обсуждение

Привлечение и миграция эозинофилов в ткани организма осуществляется при участии хемокинов и экспрессии соответствующих рецепторов. Специфическим хематтрактантом эозинофилов принято считать эотаксин-1 [1, 5], выраженной хемотаксической активностью обладает также IL-5 [6]. В нашей работе была проанализирована взаимосвязь между наличием опухолеассоциированной тканевой эозинофилии и уровнем экспрессии эотаксина-1 и его рецептора опухолевыми клетками у больных раком желудка и толстой кишки. Установлено, что в опухолях с эозинофильной инфильтрацией ткани, значительно чаще регистрировалась средне-сильная экспрессия эотаксина-1, в отличие от таковых при раке желудка и толстой кишки без эозинофилии (табл. 2). Выявлена относительно сильная связь между экспрессией эотаксина-1

Условия проведения генотипирования исследуемых полиморфизмов

Таблица 1

Ген	Структура праймеров	Температура отжига праймеров, °C	Фермент рестрикции	Длина продуктов рестрикции, пары нуклеотидов	
				Аллель дикого типа	Мутантный аллель
<i>CCL11</i> (<i>A384G</i>)	F: GGT-TTC-CTT-GCT-CCT-TTC-CTC R: GCA-GAA-CAG-AAG-AGA-GAG-GCA-A	58	<i>TaqI</i>	187; 17	204
<i>CCR3</i> (<i>T51C</i>)	F: CTT-TGG-TAC-CAC-ATC-CTA-CCA R: TGA-GAG-GAG-CTT-ACA-CAT-GC	55	<i>FaeI</i> (изошизомер <i>NlaIII</i>)	108; 22	130
<i>IL5</i> (<i>C703T</i>)	F: CAG-GGA-GAG-CCA-ATC-AGT R: ATG-ATG-TCC-AGA-CTC-CAG-GAT-CT	60	<i>PstNI</i> (изошизомер <i>AlwNI</i>)	160; 18	178
<i>IL5R</i> (<i>G80A</i>)	F: AT-GGC-TAT-CTG-GAC-GAG-AG R: TTA-GAG-GCG-GTT-CTT-CAC-TC	57	<i>AcsI</i>	206	154; 52

Экспрессия эотаксина-1 в опухолевых клетках у больных раком желудка и толстой кишки

Таблица 2

Экспрессия эотаксина-1	Локализация опухоли; количество больных в а.ч. (%)			
	Рак желудка (n = 52)		Рак толстой кишки (n = 55)	
	С тканевой эозинофилией (n = 25)	Без тканевой эозинофилии (n = 27)	С тканевой эозинофилией (n = 23)	Без тканевой эозинофилии (n = 32)
Низкая	5 (20%)	18 (66,7%)	8 (34,8%)	25 (78,1%)
Средне-сильная	20 (80%)	9 (33,3%)	15 (65,2%)	7 (21,9%)
	$\chi^2 = 11,460$; $p < 0,05$; $\phi = 0,469$		$\chi^2 = 8,746$; $p < 0,05$; $\phi = 0,436$	
Примечание. Здесь и в табл. 3: p — уровень статистической значимости различий между группами больных; χ^2 — критерий Хи-квадрат Пирсона; ϕ — критерий ϕ для оценки силы взаимосвязи между номинальными переменными; а.ч. — абсолютное число.				

и наличием опухолеассоциированной тканевой эозинофилии у пациентов с раком желудка и толстой кишки ($\phi = 0,469$ и $\phi = 0,436$ соответственно).

Эотаксин-1, экспрессируемый опухолевыми клетками, опосредует развитие эозинофильной инфильтрации путем усиления рекрутирования эозинофильных гранулоцитов в очаг поражения. Данный хемокин реализует свои эффекты при взаимодействии со специфическим рецептором CCR3, который экспрессируется на многих клетках, в том числе на эозинофилах, тучных клетках, лимфоцитах, обнаруживаемых в составе опухолевого микроокружения [7]. При оценке экспрессии рецептора CCR3 на стромальных клетках опухолей у больных раком желудка и толстой кишки с эозинофилией регистрировалась преимущественно высокая экспрессия этого рецептора (у 72% и 73,9% соответственно). При сравнении уровня экспрессии CCR3 в опухолевой ткани у обследованных нами пациентов в зависимости от наличия эозинофильной инфильтрации ткани новообразования статистически значимые различия были обнаружены только для опухолей желудка (табл. 3). Полученные результаты позволяют рассматривать CCR3-опосредованную миграцию эозинофилов в качестве ключевого механизма формирования опухолеассоциированной

тканевой эозинофилии при злокачественных новообразованиях желудочно-кишечного тракта.

Анализируя возможные причины гиперэкспрессии факторов хемотаксиса эозинофилов у пациентов с раком желудка и толстой кишки, необходимо учитывать генетически детерминированный характер секреции медиаторов клетками и экспрессии ими рецепторных структур [7, 8]. В связи с этим было проанализировано распределение полиморфных вариантов генов эотаксина-1 (CCL11) и IL-5, а также их рецепторов CCR3 и IL-5R.

В ходе проведенного молекулярно-генетического исследования установлено преобладание аллеля А полиморфизма A384G гена CCL11 у всех обследованных лиц. Статистической значимости различий в распределении аллелей и генотипов данного полиморфизма у больных раком желудка и толстой кишки с эозинофильной инфильтрацией опухолевой ткани и без нее выявлено не было (табл. 4).

Анализ распределения аллелей и генотипов полиморфизма T51C гена CCR3 показал наличие статистически значимых его различий у больных раком желудка и толстой кишки в зависимости от наличия опухолеассоциированной тканевой эозинофилии (табл. 5). У больных раком желудка и толстой кишки

Таблица 3

Экспрессия CCR3 в инфильтративном компоненте опухолевого узла у больных раком желудка и толстой кишки

Экспрессия CCR3	Локализация опухоли; количество больных в а.ч. (%)			
	Рак желудка (n = 52)		Рак толстой кишки (n = 55)	
	С тканевой эозинофилией (n = 25)	Без тканевой эозинофилии (n = 27)	С тканевой эозинофилией (n = 23)	Без тканевой эозинофилии (n = 32)
Низкая	7 (28%)	17 (63%)	6 (26,1%)	17 (53,1%)
Высокая	18 (72%)	10 (37%)	17 (73,9%)	15 (46,9%)
	$\chi^2 = 6,385; p < 0,05; \phi = 0,350$		$\chi^2 = 2,986; p > 0,05$	

Таблица 4

Распределение полиморфных вариантов гена CCL11 (A384G) (в абсолютных числах и процентах) у больных раком желудка и толстой кишки

Группы сравнения	Генотипы			p ₁	Аллели		p ₂
	AA	AG	GG		A	G	
Больные раком желудка с эозинофилией (n = 100)	49 (49,0%)	37 (37,0%)	14 (14,0%)	>0,05; $\chi^2 = 1,37$	135 (67,5%)	65 (32,5%)	>0,05; $\chi^2 = 1,55$
Больные раком желудка без эозинофилии (n = 113)	63 (55,8%)	39 (34,5%)	11 (9,7%)		165 (73,0%)	61 (27,0%)	
Больные раком толстой кишки с эозинофилией (n = 104)	46 (44,2%)	47 (45,2%)	11 (10,6%)	>0,05; $\chi^2 = 2,13$	139 (66,8%)	69 (33,2%)	>0,05; $\chi^2 = 0,65$
Больные раком толстой кишки без эозинофилии (n = 110)	58 (52,7%)	39 (35,5%)	13 (11,8%)		155 (70,5%)	65 (29,5%)	

Примечание. Здесь и в табл. 5, 6 и 7: p₁ — уровень статистической значимости различий частоты генотипов между группами больных; p₂ — уровень статистической значимости различий частоты аллелей между группами больных; χ^2 — критерий Хи-квадрат Пирсона.

Таблица 5

Распределение полиморфных вариантов гена *CCR3* (*T51C*) (в абсолютных числах и процентах)
у больных раком желудка и толстой кишки

Группы сравнения	Генотипы			p ₁	Аллели		p ₂
	<i>TT</i>	<i>TC</i>	<i>CC</i>		<i>T</i>	<i>C</i>	
Больные раком желудка с эозинофилией (n = 100)	41 (41,0%)	40 (40,0%)	19 (19,0%)	<0,05; $\chi^2 = 6,57$	122 (61,0%)	78 (39,0%)	<0,05; $\chi^2 = 6,43$
Больные раком желудка без эозинофилии (n = 113)	60 (53,1%)	44 (38,9%)	9 (8,0%)		164 (72,6%)	62 (27,4%)	
Больные раком толстой кишки с эозинофилией (n = 104)	46 (44,2%)	41 (39,4%)	17 (16,3%)	<0,05; $\chi^2 = 7,45$	133 (63,9%)	75 (36,1%)	<0,05; $\chi^2 = 8,53$
Больные раком толстой кишки без эозинофилии (n = 110)	67 (60,9%)	35 (31,8%)	8 (7,3%)		169 (76,8%)	51 (23,2%)	

Таблица 6

Распределение полиморфных вариантов гена *IL5* (*C703T*) (в абсолютных числах и процентах)
у больных раком желудка и толстой кишки

Группы сравнения	Генотипы			p ₁	Аллели		p ₂
	<i>CC</i>	<i>CT</i>	<i>TT</i>		<i>C</i>	<i>T</i>	
Больные раком желудка с эозинофилией (n = 100)	61 (61,0%)	34 (34,0%)	5 (5,0%)	<0,05; $\chi^2 = 6,30$	156 (78,0%)	44 (22,0%)	<0,05; $\chi^2 = 6,59$
Больные раком желудка без эозинофилии (n = 113)	52 (46,0%)	47 (41,6%)	14 (12,4%)		151 (66,8%)	75 (33,2%)	
Больные раком толстой кишки с эозинофилией (n = 104)	63 (60,6%)	32 (30,8%)	9 (8,6%)	<0,05; $\chi^2 = 7,36$	158 (76,0%)	50 (24,0%)	<0,05; $\chi^2 = 8,22$
Больные раком толстой кишки без эозинофилии (n = 110)	47 (42,7%)	45 (40,9%)	18 (16,4%)		139 (63,2%)	81 (36,8%)	

Таблица 7

Распределение полиморфных вариантов гена *IL5R* (*G80A*) (в абсолютных числах и процентах)
у больных раком желудка и толстой кишки

Группы сравнения	Генотипы			p ₁	Аллели		p ₂
	<i>GG</i>	<i>GA</i>	<i>AA</i>		<i>G</i>	<i>A</i>	
Больные раком желудка с эозинофилией (n = 100)	59 (59,0%)	35 (35,0%)	6 (6,0%)	>0,05; $\chi^2 = 0,52$	153 (76,5%)	47 (23,5%)	>0,05; $\chi^2 = 0,52$
Больные раком желудка без эозинофилии (n = 113)	62 (54,9%)	42 (37,2%)	9 (7,9%)		166 (73,5%)	60 (26,5%)	
Больные раком толстой кишки с эозинофилией (n = 104)	61 (58,7%)	34 (32,7%)	9 (8,6%)	>0,05; $\chi^2 = 0,04$	156 (75,0%)	52 (25,0%)	>0,05; $\chi^2 = 0,05$
Больные раком толстой кишки без эозинофилии (n = 110)	62 (56,4%)	43 (39,1%)	5 (4,5%)		167 (75,9%)	53 (24,1%)	

выявлена положительная ассоциация гомозиготного генотипа *CC* (OR = 2,71 (1,16—6,31) и OR = 2,49 (1,03—6,05) соответственно), а также аллеля *C* (OR = 1,69 (1,13—2,53) и OR = 1,87 (1,23—2,85) соответственно) с эозинофильной инфильтрацией опухолевой ткани.

В результате проведенного генотипирования пациентов по полиморфизму *C703T* гена *IL5* установлено, что среди больных раком желудка и раком толстой кишки с эозинофилией статистически значимо чаще встречались носители гомозиготного генотипа *CC* и

аллеля *C*, реже — носители генотипа *TT* и аллеля *T* (табл. 6). Установлена положительная ассоциация гомозиготного генотипа *CC* (OR = 1,83 (1,06—3,17) и OR = 2,06 (1,19—3,55)) и аллеля *C* (OR = 1,76 (1,14—2,72) и OR = 1,84 (1,21—2,80)) с развитием опухолеассоциированной тканевой эозинофилии.

При исследовании полиморфизма *G80A* гена *IL5R* у больных раком желудка и толстой кишки достоверных различий в распределении аллелей и генотипов не выявлено. У всех пациентов независимо от

наличия тканевой эозинофилии преобладали гомозиготный генотип *CC* и аллель *G* (табл. 7).

Таким образом, развитие эозинофилии при злокачественных новообразованиях желудка и толстой кишки обусловлено носительством генотипа *CC* и аллеля *C* полиморфизма *T51C* гена *CCR3* и генотипа *CC* и аллеля *C* полиморфизма *C703T*.

Заключение

Формирование опухолеассоциированной тканевой эозинофилии при раке желудка и толстой кишки опосредованно действием эотаксина-1 и его рецептора вследствие высокой их экспрессии клетками опухоли. Результаты молекулярно-генетического исследования, отражающего ассоциацию генотипа *CC* и аллеля *C* полиморфизма *T51C* гена *CCR3* и генотипа *CC* и аллеля *C* полиморфизма *C703T* с наличием эозинофильной инфильтрации опухоли, указывают на генетически детерминированный характер эозинофилии при раке желудка и толстой кишки. Дальнейшее изучение эозинофил-активирующих факторов позволит более детально разобраться в механизмах развития опухолеассоциированной эозинофилии и понять роль эозинофилов в канцерогенезе.

References

1. Cho H., Lim S.J., Won K.Y., Bae G.E., Kim G.Y., Min J.W. et al. Eosinophils in colorectal neoplasms associated with expression of CCL11 and CCL24. *Journal of Pathology and Translational Medicine*. 2016; 50(1): 45-51.
2. Harbaun L., Pollheimer M.J., Kornprat P., Lindtner R.A., Vokemeyer C., Langner C. Peritumoral eosinophils predict recurrence in colorectal cancer. *Modern Pathology*. 2015; 28(3): 403-13.

3. Yankovich K.I., Dmitrieva A.I., Urazova O.I., Kolobovnikova Yu.V., Novitsky V.V., Purlik I.L. Tumor-associated eosinophilia. *Voprosy onkologii*. 2016; 62(4): 394-400. (in Russian)

4. Legrand F., Driss V., Delbeke M., Loiseau S., Hermann E., Dombrowicz D. et al. Human eosinophils exert TNF- α and granzyme A-mediated tumoricidal activity toward colon carcinoma cells. *Journal of Immunology*. 2010; 185(12): 7443-51.

5. Kolobovnikova Yu.V., Urazova O.I., Novitsky V.V. *The eosinophil in norm and pathology. [Eozinofil v norme i pri patologii]*. Tomsk: Pechatnaya manufaktura; 2014. (in Russian)

6. Freidin M.B., Puzyrev V.P., Ogorodova L.M., Kobvakova O.S., Kulmanakova I.M. Polymorphism of the interleukin- and interleukin receptor genes: population distribution and association with atopic asthma. *Russian Journal of Genetics*. 2002; 38(12): 1452-9.

7. Fukunaga K., Asano K., Mao X.Q., Gao P.S., Roberts M.H., Oguma T. et al. Genetic polymorphisms of CC chemokine receptor 3 in Japanese and British asthmatics. *The European Respiratory Journal*. 2001; 17(1): 59-63.

8. Ekinci S., Erbek S.S., Yurtcu E., Sahin F.I. Lack of association between eotaxin-1 gene polymorphisms and nasal polyposis. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. 2011; 145(6): 1036-9.

9. Mitrofanov K.Yu., Sazonova M.A. Association of point mutations in human nuclear and mitochondrial genome with coronary artery disease. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya*. 2012; 2: 51-5. (in Russian)

10. Pehlivanoglu B., Doganavsargil B., Sezak M., Nalbantoglu I., Korkmaz M. Gastrointestinal parasitosis: histopathological insights to rare but intriguing lesions of the gastrointestinal tract. *Turk Patoloji Dergisi*. 2016; 32(2): 82-90.

11. Gong D.H., Fan L., Chen H.Y., Ding K.F., Yu K.D. Intratumoral expression of CCR3 in breast cancer is associated with improved relapse-free survival in luminal-like disease. *Oncotarget*. 2016; 7(19): 28570-8.

12. Grijbovski A.M. Analysis of nominal data (independent observations). *Ekologiya cheloveka*. 2008; 6: 58-68. (in Russian)

Сведения об авторах:

Новицкий Вячеслав Викторович, доктор мед. наук, проф., акад. РАН, зав. каф. патофизиологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, e-mail: kaf.pat.fiziolog@ssmu.ru

Колобовникова Юлия Владимировна, доктор мед. наук, проф. каф. патофизиологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, e-mail: kolobovnikova.julia@mail.ru

Дмитриева Алла Ивановна, доктор мед. наук, проф. каф. патофизиологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, зав. КДЛ ОГАУЗ «ТООД», e-mail: alladmitrieva@mail.ru

Уразова Ольга Ивановна, доктор мед. наук, проф., чл.-корр. РАН, проф. каф. патофизиологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, e-mail: urazova72@yandex.ru

Пурлик Игорь Леонидович, доктор мед. наук, доцент, проф. каф. патологической анатомии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, зав. патологоанатомическим отделением ОГАУЗ «ТООД», e-mail: igor0812@rambler.ru

Кудряков Лев Александрович, канд. мед. наук, глав. врач ОГАУЗ «ТООД», e-mail: studio.leo@mail.ru

Чумакова Светлана Петровна, доктор мед. наук, доц. каф. патофизиологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, e-mail: chumakova_s@mail.ru