

Корнева Ю.С.<sup>1,2</sup>, Доросевич А.Е.<sup>1,2</sup>

## **Взаимосвязь между морфологическими характеристиками рака толстой кишки и количеством эозинофильных гранулоцитов периферической крови как один из прогностических признаков**

1 - ГБОУ ВПО «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2 - ОГБУЗ «Смоленский областной институт патологии», Смоленск, 214018, пр. Гагарина, 27, патологоанатомический корпус, г. Смоленск

Korneva Yu.S., Dorosevich A.E.

### **Correlation between morphological characteristics of colon cancer and amount of eosinophilic granulocyte in peripheral blood as prognostic marker**

#### **Резюме**

Целью исследования стало изучение зависимости морфологических параметров рака толстой кишки (РТК) и количества эозинофилов в периферической крови (ЭоПК) до и после проведения радикальной операции. Были проанализированы 197 случаев. Статистический анализ выявил отрицательную обратную связь между количеством ЭоПК и размером опухоли, степенью ее дифференцировки, степенью поражения лимфатических узлов и степенью инвазии, причем данные закономерности наблюдались только у пациентов до проведения радикальной операции; появление отдаленных гематогенных метастазов в послеоперационном периоде было связано с более низким количеством ЭоПК, чем в случаях без диссеминирования опухоли. Результаты исследования позволяют судить о более благоприятном прогнозе у пациентов с РТК при более высоком уровне ЭоПК.

**Ключевые слова:** рак толстой кишки, эозинофильные гранулоциты, прогноз

#### **Summary**

The aim of the investigation was to investigate correlation between morphological characteristics of colon cancer (CC) and amount of eosinophils in peripheral blood (EoPB) before and after radical operation. 197 cases were analyzed. Statistical analysis revealed negative correlation between EoPB and tumor size, its degree of differentiation, the depth of invasion and lymph nodes involvement, but the regularity was observed only in patients before radical operation; distant metastasis formation in postoperative period was associated with the lower amount of EoPB as compare with patients with dissemination. The results of the investigation allow to suspect the better prognosis for CC patients with the higher level of EoPB.

**Keywords:** colon cancer, eosinophils, prognosis

#### **Введение**

На протяжении многих лет исследователи стараются найти маркеры, подтверждающие не только наличие злокачественного новообразования у пациента [1, 2, 3], но также способные определить его прогноз [4]. Изменение количества эозинофильных гранулоцитов (Эо) в тканях было описано при становлении [5] злокачественных заболеваний, а также их прогрессии [10] за счет выделения биологически активных веществ различного действия. Однако большинство исследований говорит о роли тканевых Эо, оказывающих различный эффект на

рост опухоли, в то время как потенциал циркулирующих Эо периферической крови (ЭоПК) не ясен.

**Цель исследования** - определить взаимосвязь между количеством эозинофильных гранулоцитов в периферической крови и морфологическими параметрами рака толстой кишки до и после проведения радикального оперативного лечения с возможностью в дальнейшем рассматривать ее как прогностический фактор.

**Задачи исследования:**

1. Сравнить количество эозинофильных гранулоцитов в периферической крови до и после выполнения ра-

дикального оперативного вмешательства (при выписке и в отдаленный период при контрольном обследовании) у пациентов, страдающих раком толстой кишки (РТК).

2. Найти зависимость между количеством эозинофильных гранулоцитов в периферической крови до и после радикальной операции, стадиями по TNM и размером опухоли.

3. Сравнить количество эозинофильных гранулоцитов в периферической крови до и после радикальной операции у больных с выявленными гематогенными метастазами в отдаленном периоде и без них.

4. Выявить зависимость между количеством эозинофильных гранулоцитов в периферической крови и гистологическим типом опухоли.

## Материалы и методы

В исследование были включены пациенты, находившиеся на лечении в отделении колопроктологии ОГБУЗ «Клиническая больница скорой медицинской помощи» г. Смоленска. Все случаи были разделены на 3 группы (всего проанализировано 197 историй болезни):

- I - пациенты, у которых впервые в текущую госпитализацию был обнаружен РТК.
- II - пациенты, поступившие для оперативного лечения РТК (как радикального, так и паллиативного)
- III - пациенты, поступившие для контрольного обследования после радикального оперативного лечения РТК.

У пациентов I и III группы гистологический материал забирался путем колоноскопии с биопсией, у II группы исследовался операционный материал (фрагмент резецированной кишки, регионарные лимфоузлы, удаленный большой сальник). Гистологическое исследование проводилось с окраской гематоксилином и эозином, а также с использованием дополнительных окрасок (мушкармином и альциановым синим). Определялся размер опухоли, ее локализация, ее гистологический тип, глубина инвазии, степень поражения метастазами регионарных лимфатических узлов.

В историях болезни анализировались следующие параметры:

- количество ЭоПК в общем анализе крови до и непосредственно после выполнения радикального оперативного лечения, а также в отдаленный период при контрольном обследовании.

Статистическая обработка исследуемых данных была проведена в про-грамме STATISTICA 6.0. Для поиска различий между несвязанными выборками использовался критерий Манн-Уитни (U); для поиска различий между связанными выборками - критерий знаков; поиск корреляционных взаимосвязей проведен с использованием критерия ранговой корреляции Спирмена (R). Результаты считались значимыми при уровне  $p \leq 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

1. Сравнение количества ЭоПК до и после выполнения радикального оперативного вмешательства по удалению РТК (при выписке) не выявило значимого изменения

количества ЭоПК (Persent= 68,18,  $p=0,135$ ). Сравнение количества ЭоПК до выполнения радикальной операции и в отдаленном периоде при контрольном обследовании также не выявило значимых различий ( $U= 1336,5$ ,  $p = 0,99$ ).

2. Поиск корреляционных связей между количеством ЭоПК до и после операции и стадиями по системе TNM выявил заметную отрицательную корреляционную связь между количеством ЭоПК до радикальной операции и глубиной инвазии (T), а также умеренную отрицательную корреляционную связь между количеством ЭоПК до операции и степенью поражения регионарных лимфатических узлов (N) и умеренную отрицательную обратную связь между размером опухоли и количеством ЭоПК до выполнения радикальной операции. Значимых корреляционных связей для сравниваемых параметров после проведения радикальной операции выявлено не было (значения приведены в табл. 1).

3. Сравнение количества ЭоПК до и после радикальной операции у больных с гематогенными метастазами в отдаленном периоде и без них выявило значимо большее количество ЭоПК у пациентов без признаков диссеминирования опухоли ( $U= 51,5$ ;  $p= 0,0223$ ), до операции значимых различий не выявлено ( $U= 102,5$ ;  $p= 0,6962$ ).

4. Изучение зависимости между количеством ЭоПК и гистологическим типом РТК показало, что до выполнения радикальной операции по удалению опухоли количество ЭоПК при более дифференцированных вариантах РТК (высо - и умереннодифференцированная аденокарцинома) выше, чем при менее дифференцированных (низкодифференцированная аденокарцинома, перстневидноклеточный рак) гистотипах РТК ( $U= 20;0$   $p= 0,048$ ). После проведения радикальной операции такой зависимости выявлено не было ( $U= 35,0$ ;  $p= 0,45$ ).

Обсуждение. Роль Эо в онкогенезе остается дискутабельной, хотя многие исследователи описывают появление тканевой эозинофилии при раке слизистой оболочки полости рта, пищевода, гортани, рака молочной железы и злокачественных новообразованиях желудочно-кишечного тракта [6]. Эо секретируют цитокины с провоспалительной, противовоспалительной и иммуносупрессорной [7, 8] активностью, участвующие в реализации и регуляции иммунного ответа, в том числе противоопухолевого [9], что может оказывать влияние на прогноз течения заболевания у конкретного пациента со злокачественным новообразованием. Описана эозинофилия спинномозговой жидкости у пациентов с опухолями головного мозга [10]. Для рака легкого описан положительный противоопухолевый эффект пероксидазы и реактивных форм кислорода, выделяемых Эо, которые усиливают оксидативное повреждение ткани опухоли [11]. Оксидативный стресс может не только вызывать повреждение ДНК клеток, но также стимулировать апоптоз развивающейся опухоли [12]. Однако в эксперименте по моделированию метастатического поражения легких у мышей путем введения Lewis Lung Carcinoma или B16F10 (клетки меланомы) было показано, что использование антител к интерлейкину-5 снижает миграцию Эо

Таблица 1. Результаты статистических расчетов по поиску корреляционных связей между количеством ЭоПК и морфологическими параметрами рака толстой кишки по TNM

	Spearman	p-level
ЭоПК до операции & T	-0,66	0,000020
ЭоПК до операции & N	-0,37	0,029
ЭоПК до операции & размер опухоли	-0,37	0,032
ЭоПК до операции & M	-0,03	0,83
ЭоПК после операции & N	0,11	0,53
ЭоПК после операции & M	0,24	0,19
ЭоПК после операции & размер опухоли	0,24	0,18

в ткань легкого и способствует менее выраженному поражению легких злокачественными опухолями [13]. Напротив, активированные Эо могут инициировать опухолевый рост за счет выделения факторов, усиливающих промоцию опухолей [14]. Аллергические реакции, характеризующиеся повышением уровня ЭоПК считаются фактором риска развития глиобластомы [10], в то же время описаны обратная корреляционная связь между количеством ЭоПК и риском развития РТК [15]. Активированные Эо выделяют TGF- $\alpha$ , являющийся лигандом, активирующим рецепторы эпидермального фактора роста (EGFR) [16], роль которого доказана в прогрессии РТК [17]. В то же время исследования показывают, что Эо и Т-лимфоциты совместно участвуют в противоопухолевой цитотоксичности, и считается, что тканевая эозинофилия является благоприятным прогностическим фактором [18]. Другие исследователи описывают более выраженную тканевую эозинофилию в зубчатых аденомах в сравнении с РТК [19], что также не вносит ясности в описание роли Эо в канцерогенезе. Результаты аналогичные полученным в данном исследовании описаны для рака молочной железы: пациенты с низким количеством ЭоПК в предоперационном периоде имели высокий риск рецидива по

сравнению с пациентами, имевшими нормальные или высокие уровни данных клеточных популяций [20].

## Заключение

Результаты исследования показывают, что количество эозинофильных гранулоцитов периферической крови выше у пациентов с раком толстой кишки, имеющих более благоприятный прогноз заболевания, исходя из стадии, клинической группы и гистологического типа опухоли. Данные закономерности наблюдаются только до проведения радикальной операции и отсутствуют при удалении опухоли из организма. ■

*Корнева Ю.С., Доросевич А.Е. ГБОУ ВПО «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ОГБУЗ «Смоленский областной институт патологии», Смоленск. Автор, ответственный за переписку: Корнева Юлия Сергеевна - к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии ГБОУ ВПО СГМУ Минздрава России; врач-патологоанатом ОКП № 2 ОГБУЗ «Смоленский областной институт патологии», 214019, г. Смоленск, ул. Тенишевой 9. +79529921014, ksu1546@yandex.ru*

## Литература:

- Shigeru K., Ken-Ichi Yo., Naoyuki M., Haruhiko S., Masayoshi K. Potential usefulness of detecting cyclooxygenase 2 messenger RNA in feces for colorectal cancer screening. *Gastroenterology* 2004; 127 (2): 422-7
- Lapidus S. N., Shuber A. P., Ulmer K. M., inventors; Exact Lab Inc assignee Methods for detecting colon cancer from stool samples. *US patent. WO 1997028450 A1 1997 Aug 7.*
- Davidson I. A., Lupton J. R., Miskovsky E., Fields A. P., Chapkin V. S. Quantification of human intestinal gene expression profiles using exfoliated colonocytes: a pilot study. *Biomarkers*, 2003; 8(1): 51-61.
- Снытко Н.П., Каусьян С.А., Доросевич А.Е. Регионарный иммунитет при хирургических заболеваниях органов пищеварительной системы, критерии индивидуального прогноза. Смоленск: САУ, 2009.
- Zha IY., Y. S.Tan, Aupperlee M. D., Langohr I. M. et al. Pubertal high fat diet: effects on mammary cancer development. *Breast Cancer Research* 2013; 15(5):R100.
- Samoszuk M. Eosinophils and human cancer. *Histol. Histopathol.*, 1997; 12:807-812.
- Колобовникова Ю.В., Уразова О.И., Новицкий В.В. Особенности функциональной активности эозинофильных гранулоцитов крови при туберкулезе легких. *Бюллетень сибирской медицины* 2014; 13 (5): 42-8.
- Temkin V., Levi-Schaffer F. Mechanism of tumour necrosis factor alpha mediated eosinophil survival. *J. Cytokine* 2001; 15 (1): 20-6.
- Rosenberg H.F., Dyer K.D., Foster P.S. Eosinophils: changing perspectives in health and disease. *Nat. Rev. Immunol* 2013; 13 (1): 9-22.
- Curran C. S., Bertics P J. Eosinophils in glioblastoma biology. *Journal of Neuroinflammation* 2012; <http://www.jneuroinflammation.com/content/9/1/11>
- Mossman B.T. Introduction to serial reviews on the role of reactive oxygen and nitrogen species (ROS/RNS) in lung injury and diseases *Free Radic Biol Med* 2003;

- 34(9): 1115- 6.
12. Visconti R., Grieco D. *New insights on oxidative stress in cancer. Curr Opin Drug Discov Devel* 2009; 12(2): 240-5.
  13. Zaynagetdinov R., Sherrill T P., Gleaves L. A . et al. *Interleukin-5 facilitates lung metastasis by modulating the immune microenvironment. Cancer Res.* 2015; 75(8):1624-34.
  14. Curran C.S., Evans M.D., Bertics P.J. *GM-CSF production by glioblastoma cells has a functional role in eosinophil survival, activation, and growth factor production for enhanced tumor cell proliferation. J Immunol.* - 2011.- 187(3).- P. 1254-1263.
  15. Prizment A.E., Anderson K.E., Visvanathan K., Folsom A.R. *Inverse association of eosinophil count with colorectal cancer incidence. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2011; 20(9):1861-4.
  16. Matsumoto K., Fukuda S., Nakamura Y., Saito H.: *Amphiregulin production by human eosinophils. Int. Arch. Allergy Immunol.* 2009; 149(Suppl 1): 39-44.
  17. Meropol N.J. *Epidermal Growth Factor Receptor Inhibitors in Colorectal Cancer: It's Time to Get Back on Target. Journal of Clinical Oncology* 2005; 23(9): 1791-3.
  18. Legrand F., Driss V., Delbeke M., Loiseau S., Hermann E., Dombrowicz D., Capron M. *Human eosinophils exert TNF- $\alpha$  and granzyme A-mediated tumoricidal activity toward colon carcinoma cells J. Immunol.* 2010. 185, 7443-7451
  19. Kızıltaş S., Sezgin Ramadan S., Topuzoğlu A., Küllü S. *Does the severity of tissue eosinophilia of colonic neoplasms reflect their malignancy potential? Turk. J. Gastroenterol.* 2008; 19(4):239-44.
  20. Ownby H. E., Roi L. D., Isenberg R. R., Brennan M. J. *Indicators of Prognosis in Primary Breast Cancer // Cancer* 1983; 52:126-130.