

Клинико-морфологическая неоднородность рака желудка диффузного типа

К.Ю. Мидибер^{1,2,3}, А.Е. Бiryukov^{1,2}, В.В. Печникова^{1,2}, Н.А. Грачева²,
Н.К. Шахпазян², З.В. Гиоева⁴, Л.М. Михалева^{1,2}

¹ ФГБНУ Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына, Москва, Россия

² ГБУЗ Городская клиническая больница № 31 Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

³ ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов, Медицинский институт, Москва, Россия

⁴ ФГБОУ ВО Северо-Осетинская государственная медицинская академия Минздрава России, Владикавказ, Россия

Введение. Несмотря на возможности диагностики и лечения пациентов онкологического профиля, рак желудка занимает 5-е место по распространенности в мире среди всех онкологических заболеваний. Рак желудка диффузного типа чаще встречается у молодых пациентов и, как правило, имеет более агрессивное течение по сравнению с интестинальным типом. Современные представления об этиопатогенезе и молекулярно-генетической структуре опухоли позволяют по-новому взглянуть на рак желудка диффузного типа в свете пересмотренных классификаций, рекомендаций, а также подходов к интерпретации данных патоморфологического исследования. Цель работы – провести многофакторный анализ пациентов с раком желудка диффузного типа.

Материалы и методы. В исследование вошли 124 пациента с раком желудка диффузного типа. Изучены истории болезни, протоколы эндоскопических и хирургических операций, проведен анализ половых и возрастных групп и первичной локализации опухолевого процесса. Из 124 пациентов была сформирована группа, состоящая из 25 наблюдений, в которой проведен обширный ряд диагностических мероприятий с использованием гистологического, гистохимического, иммуногистохимического, молекулярно-генетического методов и ПЦР диагностики.

Результаты. В общей группе из 124 пациентов средний возраст мужчин составил 67,5 года ($\pm 12,4$), а женщин 71 год ($\pm 15,41$). Злокачественная опухоль встречалась чаще в дистальных отделах желудка. В группе из 25 пациентов *Helicobacter pylori* была обнаружена только в двух наблюдениях. Вирус Эпштейна–Барр выявлен у 11 пациентов из 25 методом ПЦР в режиме реального времени. Исследование иммунофенотипа рака желудка диффузного типа с применением широкой панели антител продемонстрировало неоднородность экспрессии при оценке в обоих компонентах злокачественной опухоли. Обращает на себя внимание экспрессия маркеров СК7, Muc1, Muc2, Muc 5AC у пациентов с молекулярно-генетическим подтипом, обусловленным микросателлитной нестабильностью.

Заключение. Иммунофенотипическая неоднородность рака желудка диффузного типа требует дальнейшего изучения. Необходимо создание единого протокола патологоанатомического исследования, включающего в себя молекулярно-генетическое и иммуногистохимическое исследования, что является основой для назначения современного лечения пациентов данного профиля.

Ключевые слова: рак желудка, онкоморфология, иммуногистохимия, молекулярная генетика

Для корреспонденции: Константин Юрьевич Мидибер. E-mail: midiberkonst@gmail.com

Для цитирования: Мидибер К.Ю., Бiryukov А.Е., Печникова В.В., Грачева Н.А., Шахпазян Н.К., Гиоева З.В., Михалева Л.М. Клинико-морфологическая неоднородность рака желудка диффузного типа. Клини. эксп. морфология. 2021;10(S4):34–41. DOI: 10.31088/CEM2021.10.S4.34-41.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына (№ АААА-А19-119021590053-6).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 30.08.2021. Получена после рецензирования 10.09.2021. Принята в печать 22.09.2021.

Clinical and morphological heterogeneity of diffuse gastric cancer

К. Yu. Midiber^{1,2,3}, A. E. Biryukov^{1,2}, V. V. Pechnikova^{1,2}, N. A. Gracheva²,
N. K. Shakhpazyan², Z. V. Gioeva⁴, L. M. Mikhaleva^{1,2}

¹ A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russia

² City Clinical Hospital No. 31 of the Moscow Healthcare Department, Moscow, Russia

³ Peoples' Friendship University of Russia, Medical Institute, Moscow, Russia

⁴ North Ossetian State Medical Academy of the Ministry of Health of Russia, Vladikavkaz, Russia

Introduction. Despite various diagnostic testing and treatment options, stomach cancer ranks 5th in terms of global morbidity among all cancers. Diffuse gastric cancer occurs more frequently in younger patients and

has a more aggressive course than the intestinal type. Modern ideas about the etiology, pathogenesis, and molecular structure of a tumor allow us to take a new look at diffuse gastric cancer in the light of revised classifications, recommendations, as well as approaches to the interpretation of morphological research data. Therefore, the study aimed to conduct a multifactorial analysis of patients with diffuse gastric cancer.

Materials and methods. The study included 124 patients with diffuse gastric cancer. Clinical data (medical histories, protocols of endoscopic and surgical operations, sex, and age groups) and the primary tumor localization were analyzed. We formed a group of 25 observations out of 124 patients. In the group, we carried out a range of diagnostic measures: histological, histochemical, immunohistochemical, and molecular assays, as well as PCR testing.

Results. In the group of 124 patients, the age of men averaged 67.5 (± 12.4) years and that of women, 71 (± 15.41) years. The malignant tumors were more frequently detected in distal parts of the stomach. In the group of 25 patients, *Helicobacter pylori* were present only in 2 cases. We detected the Epstein-Barr virus in 11 patients out of 25 using real-time PCR method. A study of the immunophenotype of diffuse gastric cancer using a wide panel of antibodies demonstrated heterogeneity of expression in both components of a malignant tumor. The expression of CK7, Muc1, Muc2, and Muc5AC markers in patients with a microsatellite unstable molecular subtype was noteworthy.

Conclusion. The immunophenotypic heterogeneity of diffuse gastric cancer requires further research. It is necessary to create a standardized pathology evaluation protocol, including molecular and immunohistochemical tests that is the basis for modern management of cancer patients with diffuse gastric cancer.

Keywords: gastric cancer, surgical pathology, immunohistochemistry, molecular genetics

Corresponding author: Konstantin Yu. Midiber. E-mail: midiberkonst@gmail.com

For citation: Midiber K.Yu., Biryukov A.E., Pechnikova V.V., Gracheva N.A., Shakhpazyan N.K., Gioeva Z.V., Mikhaleva L.M. Clinical and morphological heterogeneity of diffuse gastric cancer. Clin. exp. morphology. 2021;10(S4):34–41. DOI: 10.31088/CEM2021.10.S4.34-41 (In Russ.).

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

Funding. The study was carried out within the framework of State Assignment to A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology (No. AAAA-A19-119021590053-6).

Received 30.08.2021. **Received in revised form** 10.09.2021 **Accepted** 22.09.2021.

Введение

Рак желудка (РЖ) продолжает занимать лидирующие позиции в структуре онкологической заболеваемости и смертности как в Российской Федерации [1], так и в мире [2, 3].

Существует множество различных систем классификации рака желудка [4], однако повсеместное распространение получили классификации Lauren и The World Health Organization (WHO). Классификация Lauren в классическом виде разделяет РЖ на интестинальный, диффузный и смешанный типы [5]. Известно, что около 15–20% карцином в соответствии с классификацией Lauren не может быть отнесено ни к одной из групп, в то время как классификация WHO располагает широким спектром морфологических типов [6], что объясняет необходимость использования двух классификаций одновременно [7]. Рак желудка диффузного типа (РЖДТ) согласно классификации Lauren обозначается как карцинома желудка из плохо сцепленных клеток в соответствии с классификацией WHO [8].

Частым морфологическим компонентом РЖДТ являются перстневидные клетки, и для стандартизированного подхода к их оценке существует мнение, высказанное многопрофильной группой экспертов, принадлежащих к европейскому отделению Международной ассоциации рака желудка (European Chapter of International Gastric Cancer Association, IGCA) [9].

Таким образом, исходя из процентного содержания перстневидно-клеточного компонента в структуре опухоли, было предложено разделение на три группы: SCR 1 (SRC – signet ring cell) (>90% в составе опухоли), SCR 2 (<90%, но более 10% в составе опухоли) и SCR 3 (менее 10% в составе опухоли). Данный подход позволяет провести четкую дифференцировку в рамках гистологических форм, обозначенных в классификации WHO. Так, SCR 1 следует трактовать как перстневидно-клеточный подтип, SCR 2 – как комбинированную карциному из плохо сцепленных клеток с перстневидно-клеточной карциномой, а SCR 3 – как карциному из плохо сцепленных клеток неспецифического подтипа.

По данным литературы, РЖДТ может быть наследственным (обусловленным мутацией гена *CDH1*) и спорадическим [10, 11]. По поводу последнего до настоящего времени не существует единого мнения в отношении главенствующего этиологического фактора.

Кроме того, остается нерешенным вопрос, связанный как с патоморфологическим диагностическим подходом, так и с выбором адекватной тактики лечения.

Целью настоящего исследования является многофакторная характеристика пациентов с раком желудка диффузного типа, включающая этиологические, клинико-морфологические, иммунофенотипические и молекулярно-генетические особенности опухоли.

Материалы и методы

В исследование включены 124 пациента с РЖДТ, проходившие обследование в ГКБ № 31 Департамента здравоохранения города Москвы с 2018 по 2021 год, которым были выполнены гастробиопсия или оперативное вмешательство в объеме резекции желудка/гастрэктомии. Критерии включения пациентов: диагностированный РЖДТ на светооптическом уровне при рутинной окраске гематоксилином и эозином с дополнительной ШИК реакцией в сочетании с альциановым синим. Обязательным являлось изучение истории болезни, протоколов эндоскопических и хирургических операций с анализом половых и возрастных групп, а также первичной локализации опухолевого процесса. Далее отобрана группа из 25 пациентов, к которым был применен необходимый диагностический объем исследований. Оценка процентного содержания перстневидно-клеточного компонента опухоли с градацией полученных данных проводилась по системе IGCA. Для определения этиологического фактора проведены гистохимическая окраска по Романовскому–Гимзе и иммуногистохимическое исследование с кроличьими поликлональными антителами к *Helicobacter pylori* (Cell Marque, США) с целью сравнительной оценки возможности определения данного возбудителя двумя методами. Кроме того, выполнена ПЦР в режиме реального времени с использованием флуоресцентно меченых олигонуклеотидных зондов для детекции продуктов амплификации ДНК вируса Эпштейна–Барр (EBV), цитомегаловируса (CMV) и вируса герпеса 6-го типа (HHV6) («АмплиСенс® EBV/CMV/HHV6-скрин-FL», ЦНИИ эпидемиологии, Россия). Количественный анализ проводился путем сравнения данных амплификации ДНК исследуемых образцов с контрольными с известной концентрацией фрагментов ДНК EBV/CMV/HHV6. ПЦР проводилась с помощью термоциклера C1000 с оптическим модулем CFX96 (Bio-Rad, США), обработка данных ПЦР – с помощью программного обеспечения CFX Manager v.3.1 (Bio-Rad, США).

Проведено иммуногистохимическое исследование с панелью антител к E-cadherin (VENTANA anti-E-cadherin Mouse Monoclonal Primary Antibody), CK7 (Leica Biosystems BOND™ Ready-to-Use Primary Antibody Cytokeratin 7 (RN7), CK20 (VENTANA CONFIRM™ anti-Cytokeratin 20 (SP33) Rabbit Monoclonal Primary Antibody), CDX2 (VENTANA BenchMark™, Rabbit Monoclonal Primary Antibody), Hepatoc (VENTANA BenchMark™ HAS (OCH1E5), Muc1 (VENTANA MRQ-17), Muc2 (VENTANA MRQ-18), Muc5AC (VENTANA MRQ-19), определены HER2 (VENTANA anti-HER2/neu (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody) и PD-L1 (VENTANA PD-L1 (SP263) Assay) статусы опухоли. Для оценки PD-L1 статуса использовалась система Combined Positive Score (CPS) с пороговым значением 1%. Определение молекулярно-генетической подгруппы

с целью выявления подтипа, обусловленного микросателлитной нестабильностью (MSI), проведено с использованием антител (VENTANA Primary mouse monoclonal antibodies anti-MSH2 (G219-1129); Primary mouse monoclonal antibodies anti-MLH-1 (M1); Primary mouse monoclonal antibodies anti-PMS-2 (MRQ-28); Primary rabbit monoclonal antibodies anti-MSH6 (SP93) и EBV-ассоциированных карцином желудка (Epstein-Barr Virus (CS1-4) Mouse Monoclonal Antibody).

Результаты исследования

В ходе проведенного исследования установлено, что из 124 обследованных пациентов мужчин было 61, а женщин – 63. Возраст мужчин варьировал от 29 до 88 лет ($67,5 \pm 12,4$ года), женщин – от 39 до 96 лет ($71,03 \pm 15,41$ года). По данным протоколов эндоскопического исследования первичная локализация опухолевого процесса у мужчин была выявлена в кардиальном отделе желудка у пяти пациентов (8%), в теле – у 20 (33%), в антральном отделе – у 10 (16,5%), а в области привратника – в четырех наблюдениях (6,5%) (рис. 1). Одновременное поражение двух локализаций – кардиального отдела и дна желудка – наблюдалось у двух пациентов (3%), а тела и антрального отдела – у трех (5%). Поражение двух и более локализаций выявлено у 17 пациентов (28%) с РЖДТ (рис. 1).

У женщин опухолевый процесс был выявлен в кардиальном отделе желудка у трех пациенток (5%), в теле – у 30 (47,5%), в антральном отделе – у восьми (13%) и в области привратника – в четырех наблюдениях (6,5%) (рис. 2). Одновременное поражение двух локализаций – кардиального отдела и дна желудка – выявлено у трех пациенток (5%), тела и антрального отдела – у четырех (6%). Поражение двух и более локализаций отмечено у 11 пациенток (17%) с РЖДТ (рис. 2).

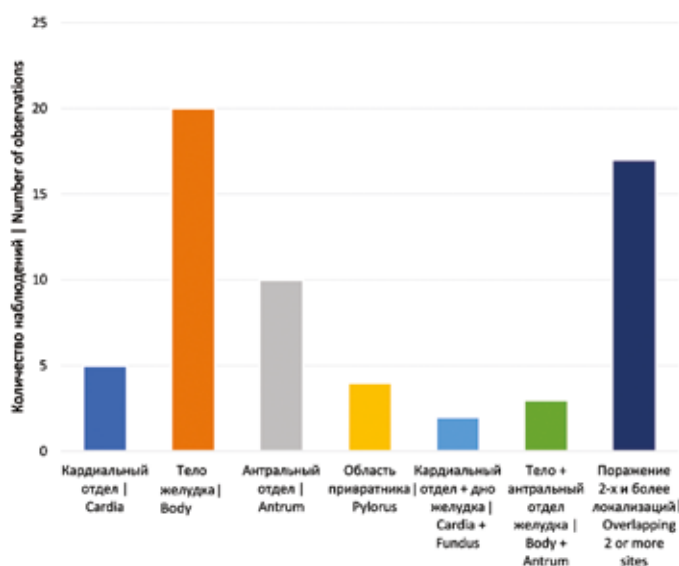


Рис. 1. Первичная локализация опухолевого процесса у мужчин
Fig. 1. Primary tumor localization in male patients

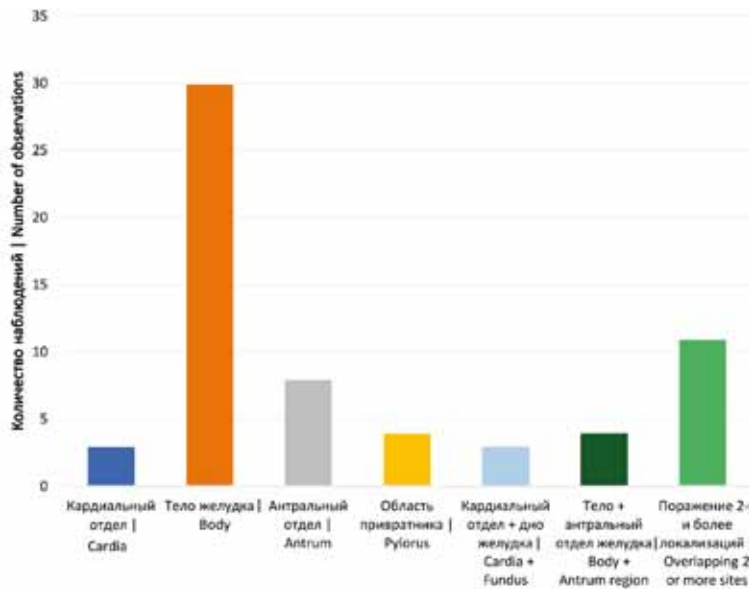


Рис. 2. Первичная локализация опухолевого процесса у женщин
Fig. 2. Primary tumor localization in female patients

Следующим этапом нашего исследования стало проведение анализа процентного содержания перстневидно-клеточного компонента опухоли, где 25 обследованных пациентов были оценены на наличие критериев согласно рекомендациям экспертов Международной ассоциации рака желудка [9]. Так, большую часть наблюдений – 23 случая (92%) отнесли к группе SRC 2, а оставшиеся два (8%) – к SRC 3. В нашем материале случаи, подходящие под критерии группы SCR 1, не обнаружены.

Анализ на *H. pylori* показал, что два использованных метода в нашем исследовании продемонстрировали однотипный результат – *H. pylori* была выявлена у 8% обследованных пациентов.

При анализе результатов иммуногистохимического исследования в данной группе выявлена положительная экспрессия E-cadherin у 21 пациента (84%) в обоих компонентах опухоли, из них у 19 (90,5%) – диффузный характер реакции, у двух (9,5%) экспрессия носила очаговый характер (табл.).

Положительная реакция с антителом к СК7 определена в 18 случаях (72%). При этом в 11 наблюдениях (61%) выявлена диффузная равномерная реакция в обоих компонентах опухоли, в пяти (28%) экспрессия носила очаговый характер только вне перстневидно-клеточного компонента РЖДТ, а в двух (11%) – внутри него.

Положительная экспрессия СК20 отмечалась в 11 наблюдениях (44%), при этом в восьми из них (73%) была равномерная диффузная реакция в обоих компонентах опухоли. В оставшихся трех случаях (27%) определена мозаичная реакция: в одном наблюдении отмечена положительная диффузная экспрессия внутри перстневидно-клеточного компонента при очаговой реакции в другом компоненте, во втором – положительная диффузная экспрессия СК20 в перстневидно-кле-

точном компоненте при отсутствии реакции в другом компоненте, в третьем – негативная реакция в перстневидно-клеточном компоненте при очаговой положительной экспрессии в другом компоненте злокачественной опухоли желудка.

При ИГХ исследовании с антителом к CDX2 чуть больше чем в половине наблюдений определена положительная экспрессия – в 13 из 25 случаев (52%). При этом в 12 случаях (92%) выявлена равномерная диффузная реакция в обоих компонентах опухоли и лишь в одном (8%) – негативная реакция в перстневидно-клеточном компоненте при очаговой положительной экспрессии в другом компоненте злокачественной опухоли желудка.

Положительная реакция с антителом к Hepatoc определена у 14 пациентов (56%), из них у 12 (86%) отмечена диффузная равномерная, а у двух (14%) – очаговая экспрессия в обоих компонентах опухоли.

При ИГХ исследовании экспрессии муцинов (Muc1, Muc2, Muc5AC) получены следующие результаты: положительная экспрессия Muc1 выявлена в 18 наблюдениях (72%), при этом в 16 (89%) отмечена экспрессия в обоих компонентах опухоли, в трех из них (17%) очаговая, а в двух других случаях (11%) диффузная положительная экспрессия определялась только в перстневидно-клеточном компоненте.

Экспрессия Muc2 была обнаружена лишь у пяти пациентов (20%), в четырех наблюдениях (80%) она носила очаговый характер в обоих опухолевых компонентах, а в одном (20%) локализовалась очагово только в перстневидно-клеточном компоненте.

Экспрессия Muc5AC была положительной у 15 пациентов (60%), в 10 наблюдениях (67%) имела диффузный равномерный характер в обоих компонентах опухоли, в четырех (26,5%) отмечался очаговый характер экспрессии только вне перстневидно-клеточного компонента, а в одном случае (6,5%) внутри него (табл.).

В соответствии с дизайном нашего исследования был определен HER2 статус опухоли: у одного пациента (4%) выявлен положительный, у одного (4%) – неопределенный HER2 статус, у остальных (92%) – отрицательный HER2 статус.

С целью выявления чувствительности опухолевых клеток к воздействию препаратов для таргетной иммунотерапии был исследован PD-L1 статус опухоли. Положительный результат получен у четырех пациентов (16%), при этом в двух наблюдениях CPS составил >1, но <10, в одном случае >10, но <20 и еще у одного пациента показатель CPS был равен 100.

Выявление микросателлитной нестабильности в опухоли с целью определения молекулярного подтипа злокачественной опухоли желудка проводили с помощью ИГХ исследования, в ходе которого у двух пациентов из 25 (8%) была подтверждена MSI. При этом

Характер положительной экспрессии ИГХ маркеров в общей группе (n=25) в различных компонентах рака желудка диффузного типа (РЖДТ) | Types of positive expression of immunohistochemical markers in the group (n=25) in various components of diffuse gastric cancer

Название ИГХ маркера Name of IHC marker	Равномерная экспрессия между компонентами опухоли Even expression within tumor components	Экспрессия вне перстневидно-клеточного компонента Expression on the outside of signet-ring cell component	Экспрессия в перстневидно-клеточном компоненте Expression in signet-ring cell component	Всего пациентов с положительной реакцией (% от n) Total number of patients with positive reaction (% from n)
E-cadherin	Диффузный характер – 19 (90,5%) Diffuse – 19 (90,5%)	–	–	21 (84%)
	Очаговый характер – 2 (9,5%) Local – 2 (9,5%)	–	–	
CK7	Диффузный характер – 11 (61%) Diffuse – 11 (61%)	Диффузный характер – 0 Diffuse – 0	Диффузный характер – 2 (11%) Diffuse – 2 (11%)	18 (72%)
	Очаговый характер – 0 Local – 0	Очаговый характер – 5 (28%) Local – 5 (28%)	Очаговый характер – 0 Local – 0	
CK20	Диффузный характер – 8 (73%) Diffuse – 8 (73%)	Диффузный характер – 0 Diffuse – 0	Диффузный характер – 2 (18%) Diffuse – 2 (18%)	11 (44%)
	Очаговый характер – 0 Local – 0	Очаговый характер – 1 (9%) Local – 1 (9%)	Очаговый характер – 0 Local – 0	
CDX2	Диффузный характер – 12 (92%) Diffuse – 12 (92%)	Диффузный характер – 0 Diffuse – 0	–	13 (52%)
	Очаговый характер – 0 Local – 0	Очаговый характер – 1 (8%) Local – 1 (8%)	–	
Hepatic	Диффузный характер – 12 (86%) Diffuse – 12 (86%)	–	–	14 (56%)
	Очаговый характер – 2 (14%) Local – 2 (14%)	–	–	
MUC1	Диффузный характер – 13 (72%) Diffuse – 13 (72%)	–	Диффузный характер – 2 (11%) Diffuse – 2 (11%)	18 (72%)
	Очаговый характер – 3 (17%) Local – 3 (17%)	–	Очаговый характер – 0 Local – 0	
MUC2	Диффузный характер – 0 Diffuse – 0	–	Диффузный характер – 0 Diffuse – 0	5 (20%)
	Очаговый характер – 4 (80%) Local – 4 (80%)	–	Очаговый характер – 1 (20%) Local – 1 (20%)	
Muc5AC	Диффузный характер – 10 (67%) Diffuse – 10 (67%)	Диффузный характер – 0 Diffuse – 0	Диффузный характер – 1 (6,5%) Diffuse – 1 (6,5%)	15 (60%)
	Очаговый характер – 0 Local – 0	Очаговый характер – 4 (26,5%) Local – 4 (26,5%)	Очаговый характер – 0 Local – 0	

ИГХ – иммуногистохимический | ИHC – immunohistochemical

у одного из них выявлен высокий уровень микросателлитной нестабильности – MSI-High (MSI-H), а у другого низкий – MSI-Low (MSI-L) с мутацией гена *MSH6*.

В рамках определения одного из возможных этиологических факторов развития РЖДТ мы выявляли наличие следующих вирусов: EBV, CMV, HHV6. С целью сравнения возможности качественного и количественного определения наличия EBV исследование прово-

дили параллельно двумя методами: ИГХ и ПЦР. При иммуногистохимическом исследовании с антителами к EBV мы не обнаружили положительной экспрессии, подтверждающей наличие вируса Эпштейна–Барр в данной группе. При проведении ПЦР у тех же пациентов положительный результат на наличие EBV был выявлен у 11 (44%). Наряду с EBV при ПЦР выявлены фрагменты ДНК к CMV у четырех пациентов (16%) и к HHV6 в двух наблюдениях (8%). Так, сочетание EBV/

CMV было выявлено у трех пациентов, EBV/HHV6 – у одного, CMV/HHV6 – у одного.

Обсуждение

По последним данным мировой научной литературы, большинство авторов сходятся во мнении, что раком желудка кишечного типа чаще страдают мужчины, в то время как диффузный тип встречается у мужчин и женщин с равной частотой [12]. Это утверждение объясняется тем, что в карциномах кишечного типа немаловажную роль играют такие факторы риска как табакокурение, потребление алкоголя и поступление в организм пищевых канцерогенов, что все-таки чаще встречается у мужчин. С другой стороны, генетические факторы считаются более значимыми у женщин, однако ни одна из этих гипотез, объясняющих гендерные различия, не подтвердилась [7, 13]. По результатам нашего исследования, средний возраст среди мужчин составил 67,5 года ($\pm 12,4$), а самому молодому пациенту было 29 лет, в то время как средний возраст среди женщин составил 71 год ($\pm 15,41$), самой молодой пациентке было 39 лет, разница между группами – 3,5 года.

В крупном исследовании связи гистологических форм карциномы желудка с их локализацией получены данные, что рак желудка кишечного типа чаще локализуется в дистальных отделах, в то время как диффузный тип – в проксимальных [14]. В своем исследовании мы не ставили целью оценить корреляцию разных гистологических типов с локализацией поражений, однако при оценке эндоскопических протоколов исследования в дистальных отделах (антральная часть и привратник) опухоль встречалась чаще, чем в проксимальных (кардиальный отдел и дно желудка).

Этиопатогенез рака желудка диффузного типа все еще остается недостаточно изученным, существует множество теорий, но однозначного мнения по этому вопросу нет. *H. pylori* как один из возможных этиологических факторов по сей день является предметом дискуссий, что может значительно расширить наши представления о новых возможных путях канцерогенеза. Так, по данным литературы, имеется мнение, что существует взаимосвязь между возможной канцерогенной микробиотой желудка и наличием *H. pylori*. Вызывая язвенную болезнь и поддерживая высокую кислотность желудка, наличие *H. pylori*, вероятно, позволяет избежать заражения желудка другой канцерогенной кишечной микробиотой, это подтверждается тем фактом, что пациенты с язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки имеют более низкий риск развития карциномы желудка кишечного типа, чем в популяции в целом [15]. Эрадикация *H. pylori* может способствовать размножению определенных бактерий, которые, вероятно, играют роль в канцерогенезе при РЖДТ [12, 16, 17]. В нашей работе, с использованием гистохимического и иммуногистохимического методов, *H. pylori* была обнаружена у двух пациентов из 25. Данные о ранее проведенной эрадикации *H. pylori* не оценивались.

В последние годы в отечественной и зарубежной научной литературе практически не было новых сведений об исследовании иммунофенотипа РЖДТ с применением широких панелей антител. Проведя сравнение с результатами имеющихся работ [18–20], мы не нашли каких-либо значимых различий с собственными результатами.

Согласно исследованию проекта The Cancer Genome Atlas (TCGA), рак желудка разделен на четыре молекулярно-генетических подтипа [21]. Несмотря на тот факт, что РЖДТ является генетически стабильным подтипом, в своем исследовании мы сделали акцент на EBV-ассоциированном раке желудка и подтипе, обусловленном микросателлитной нестабильностью (MSI). Известно, что EBV-ассоциированный рак желудка составляет 9%, а подтип, обусловленный MSI, – 22% в структуре всех карцином желудка. Тем не менее многие научные статьи указывают на обнаружение MSI в РЖДТ. В своем исследовании мы наблюдали MSI РЖДТ всего у двух пациентов из 25, причем у одного из них был MSI-H, у второго – MSI-L с мутацией гена *MSH6*. Мы обнаружили, что оба эти наблюдения также объединялись следующими параметрами: в обоих случаях возраст пациентов был больше 75 лет, имелась отличительная особенность муцинового профиля: очаговая экспрессия MUC1 наблюдалась преимущественно в перстневидноклеточном компоненте, MUC2 положительные клетки располагались преимущественно в перстневидно-клеточном компоненте, при этом отмечалось отсутствие окрашивания к MUC5AC. При этом экспрессия CK7 определялась в перстневидно-клеточном компоненте опухоли. Выявленные нами иммунофенотипические особенности могут быть крайне важными для дальнейших исследований, так как до настоящего времени в литературе существуют единичные сведения о неоднородности РЖДТ [22, 23]. Считаем, что углубленное и расширенное исследование этой проблемы на большом клиническом материале, несомненно, оптимизирует выбор тактики ведения пациентов данного профиля.

Противоречивые, на первый взгляд, результаты, полученные нами в ходе диагностики вируса EBV методом ИГХ и ПЦР в режиме реального времени, обусловлены более высокой специфичностью метода ПЦР в режиме реального времени, что связано с определением фрагментов ДНК, оставшихся в клетках памяти человека после перенесенной инфекции, вызванной вирусом Эпштейна–Барр, которая часто протекает в латентной форме [24]. С другой стороны, есть данные, которые не исключают роль EBV, CMV и HHV6 как возможных участников в канцерогенезе [25]. При этом использование ИГХ метода является обязательным с целью определения молекулярно-генетического подтипа, ассоциированного с EBV. Полученные нами результаты подтверждают необходимость увеличения числа обследованных пациентов с РЖДТ.

Позитивный PD-L1 и HER2 статус опухоли не коррелировал с наличием MSI и не проявлял значимых

различий в иммунофенотипе опухоли по сравнению с PD-L1 и HER2 негативным статусом.

Заключение

Для реализации полноценного диагностического потенциала в отношении рака желудка диффузного типа необходимо комплексное исследование опухоли с применением гистохимических, иммуногистохимических методов и полимеразно-цепной реакции. В патологоанатомическом заключении следует отражать процент перстневидных клеток, используя критерии, предложенные экспертами Международной ассоциации рака желудка. Обязательными методами исследования являются иммуногистохимический для уточнения иммунофенотипа опухоли, HER2 и PD-L1 статуса, а также полимеразная цепная реакция. При оценке ИГХ реакции следует учитывать экспрессию антител в обоих компонентах опухоли. Определение молекулярного подтипа опухоли и ее статуса в отношении HER2 и PD-L1 будет являться решающим моментом для создания персонализированного подхода к ведению пациента. Малоизученными, но немаловажными остаются понимание этиопатогенеза и канцерогенеза рака желудка диффузного типа, того, какую роль в нем играют *Helicobacter pylori*, бактериальная, вирусная микробиота и каковы возможные пути их воздействия на генетическую составляющую РЖДТ. Научные данные последних лет, которые утверждают наличие неоднородности рака желудка диффузного типа, могут значительно расширить наши знания о природе данной карциномы и, возможно, в будущем сформировать критерии для объективной диагностики и выбора тактики лечения.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – К.Ю. Мидибер, Л.М. Михалева.
Сбор и обработка материала – К.Ю. Мидибер, А.Е. Бирюков, В.В. Печникова, Н.А. Грачева, Н.К. Шахпазян, З.В. Гюева.
Написание текста – К.Ю. Мидибер.
Редактирование – Л.М. Михалева.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – K.Yu. Midiber, L.M. Mikhaleva.
Collected the data and performed the analysis – K.Yu. Midiber, A.E. Biryukov, V.V. Pechnikova, N.A. Gracheva, N.K. Shakhpazyan, Z.V. Goeva.
Wrote the paper – K.Yu. Midiber.
Edited the manuscript – L.M. Mikhaleva.

Литература/References

1. А.Д. Каприн, В.В. Старинский, А.О. Шахзадова (ред.). Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность). Москва: Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Минздрава России, 2020. 252 с.
AD Kaprin, VV Starinskiy, AO Shakhzadova (eds.). Malignant neoplasms in Russia in 2019 (incidence and mortality). Moscow:

- P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2020. 252 p. (In Russ.).
2. CP Wild, E Weiderpass, BW Stewart (eds.). World Cancer Report: Cancer Research for Cancer Prevention. Lyon: IARC, 2020. Available from: <https://shop.iarc.fr/products/world-cancer-report-cancer-research-for-cancer-prevention-pdf> (Accessed 25th August 2021).
3. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394–424. DOI: 10.3322/caac.21492.
4. Карнаухов Н.С., Хомерики С.Г., Дерижанова И.С., Манцов А.А., Израйлов П.Е., Цвиркун В.В. и др. Карцинома желудка из плохо сцепленных клеток. Правомочность использования термина и варианты перевода. *Архив патологии.* 2021;83(4):69–72. DOI: 10.17116/patol20218304169.
Karnaukhov NS, Homeriki SG, Derizhanova IS, Mantsov AA, Izrailov PE, Tsvirkun VV et al. Poorly cohesive gastric carcinoma. Validity of using the term; translation variants. *Arkhiv Patologii.* 2021;83(4):69–72. DOI: 10.17116/patol20218304169.
5. Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: Diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. *Acta Pathol Microbiol Scand.* 1965;64:31–49. DOI: 10.1111/apm.1965.64.1.31.
6. Nagtegaal ID, Odze RD, Klimstra D, Paradis V, Rugge M, Schirmacher P et al. The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. *Histopathology.* 2020;76(2):182–8. DOI: 10.1111/his.13975.
7. Waldum HL, Fossmark R. Types of gastric carcinomas. *Int J Mol Sci.* 2018;19(12):4109. DOI: 10.3390/ijms19124109.
8. The WHO Classification of Tumours Editorial Board (eds.). WHO classification of tumours. Digestive system tumors. V. 1. 5th ed. Lyon: IARC, 2019. 635 p.
9. Mariette C, Carneiro F, Grabsch HI, van der Post RS, Allum W, de Manzoni G. Consensus on the pathological definition and classification of poorly cohesive gastric carcinoma. *Gastric Cancer.* 2019;22(1):1–9. DOI: 10.1007/s10120-018-0868-0.
10. Михалева Л.М., Мидибер К.Ю., Печникова В.В., Васюкова О.А., Гуцин М.Ю. Патоморфологические и молекулярно-генетические особенности диффузного типа рака желудка. *Бюллетень сибирской медицины.* 2021;20(2):168–175. DOI: 10.20538/1682-0363-2021-2-168-175.
Mikhaleva LM, Midiber KYu, Pechnikova VV, Vasyukova OA, Gushchin MYu. Pathomorphological and molecular genetic features of diffuse gastric cancer. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2021;20(2):168–175 (In Russ.). DOI: 10.20538/1682-0363-2021-2-168-175.
11. Goud HK, Mehkari Z, Mohammed L, Javed M, Althwanay A, Ahsan F et al. Significance of E-cadherin gene mutations in patients with hereditary diffuse gastric cancer syndrome: A systematic review. *Cureus.* 2020;12(9):e10406. DOI: 10.7759/cureus.10406.
12. Assumpção PP, Barra WF, Ishak G, Coelho LGV, Coimbra FJF, Freitas HC et al. The diffuse-type gastric cancer epidemiology enigma. *BMC Gastroenterol.* 2020;20(1):223. DOI: 10.1186/s12876-020-01354-4.
13. Henson DE, Dittus C, Younes M, Nguyen H, Albores-Saavedra J. Differential trends in the intestinal and diffuse types of gastric carcinoma in the United States, 1973-2000: Increase in the sig-

- net ring cell type. Arch Pathol Lab Med. 2004;128(7):765–70. DOI: 10.5858/2004-128-765-DTITIA.
14. Wu H, Rusiecki JA, Zhu K, Potter J, Devesa SS. Stomach carcinoma incidence patterns in the United States by histologic type and anatomic site. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2009;18(7):1945–52. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-09-0250.
 15. de Assumpção PP, Araújo TMT, de Assumpção PB, Barra WF, Khayat AS, Assumpção CB et al. Suicide journey of *H. pylori* through gastric carcinogenesis: The role of non-*H. pylori* microbiome and potential consequences for clinical practice. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019;38(9):1591–7. DOI: 10.1007/s10096-019-03564-5.
 16. Wang LL, Yu XJ, Zhan SH, Jia SJ, Tian ZB, Dong QJ. Participation of microbiota in the development of gastric cancer. World J Gastroenterol. 2014;20(17):4948–52. DOI: 10.3748/wjg.v20.i17.4948.
 17. Take S, Mizuno M, Ishiki K, Kusumoto C, Imada T, Hamada F et al. Risk of gastric cancer in the second decade of follow-up after *Helicobacter pylori* eradication. J Gastroenterol. 2020;55(3):281–8. DOI: 10.1007/s00535-019-01639-w.
 18. İlhan Ö, Han Ü, Önal B, Çelik SY. Prognostic significance of MUC1, MUC2 and MUC5AC expressions in gastric carcinoma. Turk J Gastroenterol. 2010;21(4):345–52. DOI: 10.4318/tjg.2010.0119.
 19. Завьялова М.В., Степанов И.В., Вторушин С.В., Савенкова О.В., Григорьева Е.С., Августинович А.В. и др. Экспрессионные характеристики диффузного и кишечного типов рака желудка. Сибирский онкологический журнал. 2012;3:67–73. Zavyalova MV, Stepanov IV, Vtorushin SV, Savenkova OV, Grigoryeva ES, Avgustinovich AV et al. Expression characteristics of diffuse- and intestinal-type gastric carcinomas. Siberian Journal of Oncology. 2012;3:67–73 (In Russ.).
 20. Wong HH, Chu P. Immunohistochemical features of the gastrointestinal tract tumors. J Gastrointest Oncol. 2012;3(3):262–84. DOI: 10.3978/j.issn.2078-6891.2012.019.
 21. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. Nature. 2014;513(7517):202–9. DOI: 10.1038/nature13480.
 22. Fukamachi H, Kim SK, Koh J, Lee HS, Sasaki Y, Yamashita K et al. A subset of diffuse-type gastric cancer is susceptible to mTOR inhibitors and checkpoint inhibitors. J Exp Clin Cancer Res. 2019;38(1):127. DOI: 10.1186/s13046-019-1121-3.
 23. Kim SK, Kim HJ, Park JL, Heo H, Kim SY, Lee SI et al. Identification of a molecular signature of prognostic subtypes in diffuse-type gastric cancer. Gastric Cancer. 2020;23(3):473–82. DOI: 10.1007/s10120-019-01029-4.
 24. Tavakoli A, Monavari SH, Solaymani Mohammadi F, Kiani SJ, Armat S, Farahmand M. Association between Epstein-Barr virus infection and gastric cancer: a systematic review and meta-analysis. BMC Cancer. 2020;20(1):493. DOI: 10.1186/s12885-020-07013-x.
 25. Cantalupo PG, Katz JP, Pipas JM. Viral sequences in human cancer. Virology. 2018;513:208–16. DOI: 10.1016/j.virol.2017.10.017.

Информация об авторах

Константин Юрьевич Мидибер – научный сотрудник лаборатории клинической морфологии НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына, врач-патологоанатом ГКБ № 31, ассистент кафедры патологической анатомии Медицинского института РУДН.

Андрей Евгеньевич Бирюков – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клинической морфологии НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына, врач-патологоанатом ГКБ № 31.

Валентина Викторовна Печникова – младший научный сотрудник лаборатории клинической морфологии НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына, врач-патологоанатом ГКБ № 31.

Наталья Александровна Грачева – кандидат медицинских наук, врач-патологоанатом ГКБ № 31.

Николай Константинович Шахпазян – кандидат медицинских наук, врач клинической лабораторной диагностики ГКБ № 31.

Зарина Владиславовна Гиоева – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии с судебной медициной Северо-Осетинской государственной медицинской академии.

Людмила Михайловна Михалева – доктор медицинских наук, профессор, директор, заведующая лабораторией клинической морфологии НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына, заведующая патологоанатомическим отделением ГКБ № 31.

Author information

Konstantin Yu. Midiber – Researcher, Laboratory of Clinical Morphology, A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology; Pathologist, City Clinical Hospital No. 31; Assistant, Pathology Department, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia. <https://orcid.org/0000-0002-1426-968X>

Andrey E. Biryukov – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Laboratory of Clinical Morphology, A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology; Pathologist, City Clinical Hospital No. 31. <https://orcid.org/0000-0001-9700-3352>

Valentina V. Pechnikova – Junior Researcher, Laboratory of Clinical Morphology, A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology; Pathologist, City Clinical Hospital No. 31. <https://orcid.org/0000-0001-5896-4556>

Nataliya A. Gracheva – Cand. Sci. (Med.), Pathologist, City Clinical Hospital No. 31. <https://orcid.org/0000-0001-7286-6629>

Nikolay K. Shakhpazyan – Cand. Sci. (Med.), Clinical Laboratory Diagnostics Physician, City Clinical Hospital No. 31. <https://orcid.org/0000-0003-3386-7746>

Zarina V. Gioeva – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Pathological Anatomy with Forensic Medicine, North Ossetian State Medical Academy. <https://orcid.org/0000-0002-5456-8692>

Lyudmila M. Mikhaleva – Dr. Sci. (Med.), Professor, Director, Head of the Laboratory of Clinical Morphology, A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology; Head of the Pathology Department, City Clinical Hospital No. 31. <http://orcid.org/0000-0003-2052-914X>