

**Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика  
А.П. Авцына Федерального государственного бюджетного научного  
учреждения «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В.  
Петровского»**

**На правах рукописи**

**Мидибер Константин Юрьевич**  
**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ**  
**ПОДТИПЫ КАРЦИНОМЫ ЖЕЛУДКА ДИФФУЗНОГО ТИПА**

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

3.3.2 – Патологическая анатомия

**Научный руководитель:**  
член-корреспондент РАН, профессор, доктор медицинских наук  
Людмила Михайловна Михалёва

Москва, 2023

## Оглавление

Введение .....	5
Глава 1. Литературный обзор.....	14
1.1.    Эпидемиология .....	14
1.2.    Этиология и патогенез .....	15
1.2.1.    Особая роль <i>Helicobacter pylori</i> в канцерогенезе рака желудка	16
1.2.2.    Герпесвирусы и рак желудка .....	19
1.2.3.    Патогенез рака желудка диффузного типа.....	21
1.3.    Классификация.....	23
1.3.1.    Гистологическая классификация по Lauren P. A. ....	23
1.3.2.    Классификация эпителиальных опухолей желудка ВОЗ 2019 г., 5-е издание .....	24
1.3.3.    Молекулярная классификация рака желудка.....	25
1.4.    Иммуногистохимическая характеристика.....	28
1.5.    Роль PD-L1 в канцерогенезе желудка .....	30
1.6.    Морфологическая и молекулярно-генетическая неоднородность диффузного типа рака желудка.....	32
1.6.1.    Теория кластеров рака желудка диффузного типа .....	38
Глава 2. Материалы и методы исследования .....	40
2.1.    Клиническая характеристика материала .....	40
2.2.    Методы исследования.....	40
2.3.    Обработка медицинской документации .....	45
2.4.    Статистическое исследование .....	45
Глава 3. Результаты исследования .....	48
3.1.    Анализ клинико-морфологических особенностей рака желудка диффузного типа.....	48
3.1.1.    Поло-возрастные характеристики рака желудка диффузного типа .....	48
3.1.2.    Патоморфологическая характеристика рака желудка диффузного типа.....	53

3.2. Определение молекулярного подтипа рака желудка диффузного типа .....	57
3.2.1. Иммуногистохимическая реакция с маркерами микросателлитной нестабильности в раке желудка диффузного типа	57
3.2.2. Иммуногистохимическое исследование с антителами к p53 ...	63
3.2.3. Результаты иммуногистохимического исследования с антителами к E-cadherin .....	69
3.3. Результаты определения PD-L1 и HER2-статуса в раке желудка диффузного типа.....	75
3.3.1. Результаты определения PD-L1 статуса в раке желудка диффузного типа.....	75
3.3.2. Результаты иммуногистохимического определения HER2-статуса в раке желудка диффузного типа .....	79
3.4. Определение этиологических факторов развития рака желудка диффузного типа.....	82
3.4.1. Исследование рака желудка диффузного типа на наличие <i>Helicobacter pylori</i> .....	82
3.4.2. Исследование рака желудка диффузного типа на наличие вирусов.....	86
3.5. Результаты иммуногистохимической характеристики рака желудка диффузного типа.....	88
3.5.1. Результаты иммуногистохимического исследования с антителами к CK7/20.....	88
3.5.2. Иммуногистохимическое исследование муцинового профиля с антителами к MUC1, MUC2 и MUC5AC .....	103
3.5.3. Иммуногистохимическое исследование с антителами к CDX2... ..	110
Глава 4. Обсуждение результатов .....	114
Заключение .....	124
Выводы .....	126

Практические рекомендации .....	128
Список сокращений .....	130
Список литературы .....	132

## Введение

**Актуальность темы исследования.** Проблема рака желудка (РЖ) остается чрезмерно актуальной для России и всего мира в целом, ведь несмотря на все имеющиеся достижения в области диагностики и лечения, статистически РЖ продолжает занимать лидирующие позиции как по частоте встречаемости, так и по высокой летальности среди всех злокачественных заболеваний [3, 30, 55, 145]. Особого внимания требует рак желудка диффузного типа (РЖДТ), ввиду своей агрессивности, скорости прогрессирования и плохому ответу на лечение. На сегодняшний день нет единого понимания в подходе к лечению и ведению пациентов с РЖДТ [101, 108, 112, 116, 127, 129].

Первая классификация РЖ, предложенная Lauren в 1965 году, разделяет его на три основных гистологических варианта: кишечный, диффузный и смешанный тип [118]. Несмотря на то, что существует множество других классификаций, в настоящее время в научной среде чаще отдают предпочтение классификации Lauren. По данным научной литературы и мировой статистики известно, что заболеваемость раком желудка кишечного типа (РЖКТ) постепенно снижалась за последние десятилетия, число случаев РЖДТ оставалось относительно постоянным [12, 55]. Известно, что пациенты с диагнозом РЖДТ имеют низкую выживаемость (в среднем 18 месяцев), которая лишь незначительно увеличилась за последние десятилетия [12]. Такой плохой прогноз связан с тем, что диагноз обычно ставится на поздней стадии опухолевого процесса, а традиционные методы лечения часто неэффективны или приводят к резистентности [41, 151]. Лишь классификация рака желудка, созданная на основе молекулярных подтипов, дает возможность применять персонализированную терапию онкобольным. Биомаркеры, в частности микросателлитная нестабильность (Microsatellite Instability, MSI), лиганд запрограммированной клеточной гибели 1 (Programmed death-ligand 1, PD-L1), рецептор 2 эпидермального фактора роста человека (Human epidermal growth factor receptor 2, HER2), вирус Эпштейна-Барр (Epstein-Barr virus,

EBV), все чаще определяют подходы к системной терапии и позволяют идентифицировать группы населения, которым будет показана иммуно- и таргетная терапия [114]. По данным молекулярно-генетической классификации, РЖДТ относится к молекулярному подтипу со стабильным геномом (GS) [43], при котором эффективна «классическая» химиотерапия. Особое место занимают пациенты с РЖДТ, у которых по данным иммуногистохимического исследования определяется молекулярный подтип, обусловленный MSI. В выборе тактики лечения у этих пациентов имеет значение тот факт, что пациенты с РЖ и MSI при лечении стандартными подходами системной химиотерапии могут иметь неблагоприятный онкологический прогноз [108]. Имеются данные о том, что у пациентов с РЖ и MSI была отмечена повышенная выживаемость при выполнении только хирургического вмешательства, в то время как при сочетании периоперационной химиотерапии и хирургического вмешательства выживаемость уменьшалась [127, 129]. В 2019 г. в исследованиях японских коллег были выявлены случаи РЖДТ, обусловленные MSI или хромосомной нестабильностью (Chromosomal Instability, CIN), которые имели генетическую схожесть с пациентами, страдающими РЖКТ [13, 103]. Таким образом, был введен рабочий термин «кластер» с подразделением РЖДТ на основной и кишечноподобный подтипы.

**Степень разработанности темы исследования.** На сегодняшний день РЖДТ продолжает рассматриваться как гомогенное заболевание с точки зрения молекулярной классификации. В научной литературе нет сведений и алгоритмов для оценки РЖДТ как гетерогенного молекулярно-генетического заболевания, а случаи, в которых обнаруживаются молекулярные подтипы, обусловленные MSI или CIN, обычно не подлежат систематическому анализу со стороны практикующих патологоанатомов и ученых.

Иммуногистохимические панели, используемые в повседневной диагностике РЖДТ, не способствуют изменению подходов к тактике лечения, большинство маркеров не имеют специфичности в отношении РЖДТ. Известно, что MSI опухоли обладают хорошим ответом на лечение препаратами класса

ингибиторов контрольных точек, а в научных публикациях обнаружена обратная взаимосвязь между применением классической химиотерапевтической схемы у пациентов с РЖ, обусловленным MSI, с течением заболевания и продолжительностью жизни.

Крайне важной проблемой современной патоморфологической диагностики РЖДТ является отсутствие обязательного определения молекулярных подтипов с помощью иммуногистохимических методов. Молекулярно-генетическое исследование карцином желудка на сегодняшний день является крайне важным, однако порой труднодоступным и дорогим методом диагностики.

Поиск иммуногистохимической панели, способствующей на одном из начальных этапов исследования выявить пациентов с РЖДТ, у которых возможен иной молекулярный подтип, значительно бы ускорило и сэкономило временные и финансовые затраты. Комплексный подход к изучению неоднородности РЖДТ позволит расширить диагностические критерии и более персонализировано подходить к выбору тактики лечения.

Все вышеизложенное определило актуальность и выбор темы настоящего исследования.

**Цель исследования:** на основании клинико-морфологических и молекулярно-генетических критериев обосновать наличие различных подтипов карциномы желудка диффузного типа.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие **задачи:**

1. Провести патоморфологическое исследование биопсийного и операционного материала пациентов с карциномами желудка диффузного типа по классификации Lauren в зависимости от возраста, пола и локализации.

2. Обосновать наличие молекулярных подтипов рака желудка диффузного типа с помощью иммуногистохимических маркеров E-cadherin, MSI, p53 и EBV с последующим определением PD-L1 и HER2-статусов опухоли.

3. Определить частоту встречаемости *H. pylori*, вируса Эпштейна-Барр (EBV), а также наличие цитомегаловируса (CMV) и герпесвируса 6 типа (HHV6) в биопсийном и операционном материале карцином желудка диффузного типа.

4. Охарактеризовать иммунофенотип молекулярных подтипов карциномы желудка диффузного типа на основании экспрессии маркеров CK7, CK20, MUC1, MUC2, MUC5AC, CDX-2.

5. Разработать алгоритм клинико-патоморфологического и иммуногистохимического исследования биопсийного и операционного материала для дифференциальной диагностики различных подтипов карциномы желудка диффузного типа.

#### **Научная новизна:**

Впервые на основании клинико-морфологических и молекулярно-генетических данных обосновано наличие различных подтипов карциномы желудка диффузного типа.

Впервые проведено сравнительное иммуногистохимическое исследование молекулярных подтипов карциномы желудка диффузного типа в рамках теории существования «кластеров» с помощью предложенной панели иммуногистохимических антител.

На основании полученных результатов расширены возможности персонализированного подхода к диагностике и выбору тактики лечения у пациентов с раком желудка диффузного типа, основываясь на различных молекулярных подтипах.

#### **Теоретическая и практическая значимость:**

Проведенное комплексное клинико-патоморфологическое исследование позволило охарактеризовать существование «кластеров» рака желудка диффузного типа в зависимости от иммуногистохимических и молекулярно-генетических характеристик.

Полученные результаты расширяют иммуногистохимические критерии молекулярного подтипа карциномы желудка, обусловленной микросателлитной нестабильностью.



Представленные результаты могут послужить основой для дальнейшего изучения вопроса «кластеров» рака желудка диффузного типа, а также позволят оптимизировать патолого-анатомическую диагностику диффузной карциномы желудка, при этом, на основе полученного алгоритма будет возможно персонализировать тактику лечения пациентов с раком желудка диффузного типа в клинической практике.

**Методология и методы исследования.** Материалом для исследования явились фрагменты опухолевой ткани желудка, удаленные у пациентов, проходивших лечение в ГБУЗ «Городская клиническая больница №31 имени академика Г.М. Савельевой Департамента здравоохранения города Москвы» в период с 2016 по 2022 годы. Всего на ретроспективный анализ было отобрано 192 случая от пациентов в возрасте от 29 до 96 лет, из них 145 биопсийных фрагментов и 47 операционный материал. Из них в 52 наблюдениях с РЖДТ нами проведен комплекс всех методов исследования: гистологический, гистохимический, иммуногистохимический, полимеразная цепная реакция в режиме реального времени. У остальных 140 были проведены только окраска гематоксилином и эозином, комбинированная ШИК-реакция в сочетании с альциановым синим, а также оценка протоколов операции. Это связано с отсутствием парафиновых блоков от данных наблюдений, так как они были переданы в специализированные учреждения.

В ходе выполнения диссертационной работы были использованы следующие **методы исследования**:

1. Клинический метод:

– Оценка пола и возраста пациентов, данных операции (локализация поражения и его распространенность).

2. Гистологический метод:

– Окраска срезов биопсийного и операционного гематоксилином и эозином для установления диагноза рака желудка диффузного типа (по классификации Lauren (1965 г.)).

3. Гистохимический метод:

– Комбинированная ШИК-реакция в сочетании с альциановым синим с целью определения перстневидных клеток. Оценка процентного содержания перстневидно-клеточного компонента опухоли с градацией полученных данных проводилась по системе International Gastric Cancer Association.

– Окраска по Романовскому–Гимзе для выявления колоний бактерий *H. pylori*.

#### 4. Иммуногистохимический метод:

– Оценка экспрессии маркеров E-cadherin, MSI, p53 и EBV для уточнения молекулярного подтипа рака желудка диффузного типа.

– Оценка экспрессии маркеров CK7, CK20, MUC1, MUC2, MUC5AC, CDX-2, PD-L1, HER2 для определения иммунофенотипа опухоли.

#### 5. Молекулярно-биологический метод:

– Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени с использованием флуоресцентно меченых олигонуклеотидных зондов для детекции продуктов амплификации ДНК вируса Эпштейна-Барр, CMV и HHV6.

#### 6. Морфометрический метод:

– Анализ экспрессии E-cadherin проводился с использованием системы подсчета баллов, в которой баллы 0 и 1 (0 = полное отсутствие экспрессии и 1 = цитоплазматическая экспрессия) считались отрицательной экспрессией, а баллы 2 и 3 (2 = цитоплазматическая в сочетании с мембранной экспрессией и 3 = мембранная экспрессия) как положительная экспрессия.

– Оценка микросателлитной нестабильности проводилась по отсутствию экспрессии одного из маркеров (MLH1, PMS2, MSH2 и MSH6).

– Экспрессия p53 оценивалась по процентному соотношению позитивно окрашенных ядер независимо от интенсивности, где аберрантным считалось позитивное окрашивание 70% или более ядер в образце.

– Оценка PD-L1 статуса опухоли производилась по системе Combined Positive Score (CPS) – количество окрашенных PD-L1 клеток (опухолевых и лимфоидных) по отношению к общему количеству жизнеспособных опухолевых клеток, умноженное на 100, с пороговым значением 1%.

– HER2-статус опухоли оценивали по балльной шкале от 0 до 3+.

– Интенсивность экспрессии CK7 и CK20 оценивалась с использованием полуколичественного способа по балльной шкале от 0 до 3, а также высчитывалась доля окрашенных клеток в процентном соотношении с целью формирования групп для интерпретации результата.

– Интерпретация реакции с антителами к MUC1, MUC2, MUC5AC, CDX2, EBV проводилась по критерию интенсивности экспрессии и оценивалась полуколичественным способом по балльной шкале от 0 до 3.

#### 7. Статистический метод:

– Материалы исследования были статистически обработаны с использованием методов параметрического и непараметрического анализа. Совокупности количественных показателей, распределение которых отличалось от нормального, описывались при помощи значений медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1-Q3). Для сравнения независимых совокупностей в случаях отсутствия признаков нормального распределения данных использовался U-критерий Манна–Уитни. Сравнение номинальных данных проводилось при помощи критерия  $\chi^2$  Пирсона, а также  $\chi^2$  с поправкой Йейтса и точного критерия Фишера. Результаты считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Средний возраст пациентов с раком желудка диффузного типа соответствует 68 годам. Медиана возраста женщин в когорте заболевших на 4 года старше, чем мужчин ( $Me_M - 68$ ,  $Me_{Ж} - 72$ ,  $p = 0,006$ ). Наиболее частой локализацией рака желудка диффузного типа является тело желудка – 40,1% наблюдений. Пол и возраст пациентов не связан с локализацией опухоли.

2. Рак желудка диффузного типа является молекулярно-генетически гетерогенным заболеванием с наличием различных подтипов:

а) Молекулярный подтип со стабильным геномом, характеризующийся отрицательной экспрессией E-cadherin и отрицательным PD-L1 статусом ( $p = 0,0288$ ).

б) Подтип, обусловленный микросателлитной нестабильностью, характеризующийся положительной экспрессией E-cadherin ( $p = 0,0187$ ) и CK7 ( $p = 0,0009$ ), отрицательной экспрессией CK20 ( $p = 0,01$ ) и MUC1 ( $p < 0,001$ ), и положительным PD-L1 статусом.

в) Молекулярный подтип, обусловленный хромосомной нестабильностью, характеризуется aberrантной экспрессией p53 в сочетании с положительной экспрессией E-cadherin ( $p < 0,001$ ) и положительным PD-L1 статусом.

**Степень достоверности и апробация работы.** Проведенное исследование было выполнено на достаточном объеме материала для каждой исследованной группы с использованием современных методов исследования, задачи исследования логично изложены, достоверность результатов подтверждается выбором методов и результатами статистического исследования, а также сравнительной оценкой полученных данных с литературными.

Апробация диссертационной работы состоялась на заседании межлабораторной конференции Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского» 22 ноября 2023 года. Основные положения диссертационного исследования были доложены и обсуждались на I Крымском форуме «Онкология, патоморфология и патофизиология: от теории к практике» (Крым, 7-8 октября 2020 г.), Международной научной конференции «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии» (Москва, 12-13 ноября 2020 г.), Всероссийской научной конференции с международным участием, посвященной памятной дате Института (60-летию НИИ морфологии человека) (Москва, 18-19 ноября 2021 г.), 34th European Congress of Pathology (Basel, 3–7 сентября 2022 г.), V Юбилейном международном форуме онкологии и радиотерапии ForLife (Москва, 19–23 сентября 2022 г.), Всероссийской научной конференции с международным участием «Актуальные вопросы морфогенеза в

норме и патологии. Регенеративная биология и медицина» (Москва, 15-16 ноября 2023 г.).

**Личный вклад автора.** Автор диссертации самостоятельно осуществил сбор литературных данных, проанализировал и обобщил их, участвовал в отборе материала, анализе и получении клинических данных, проведении морфометрии ИГХ реакций, статистической обработке, обобщении и обсуждении полученных результатов, подготовке научных публикаций.

**Публикации по теме работы.** Результаты исследования изложены в 8 научных публикациях, 2 из которых опубликованы в журналах Scopus, входящих в перечень рецензируемых научных изданий ВАК, где должны быть размещены основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук.

**Внедрение результатов в практику.** Результаты исследования внедрены в работу патолого-анатомического отделения ГБУЗ «Городская клиническая больница № 31 имени академика Г.М. Савельевой Департамента здравоохранения города Москвы».

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 153 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, практических рекомендаций, выводов и списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 80 рисунками и 9 таблицами. Список литературы включает 200 источников, из них 10 отечественных и 190 зарубежных.

**Диссертация соответствует паспорту специальности: 3.3.2 – Патологическая анатомия.**

## Глава 1. Литературный обзор

### 1.1. Эпидемиология

Рак желудка (РЖ) занимает пятое место в мире по распространенности среди всех злокачественных новообразований и является третьей по значимости причиной смертности от онкологических заболеваний. По оценкам GLOBOCAN, было зарегистрировано 1 089 103 новых случаев РЖ во всем мире и 768 793 случаев смерти от РЖ в 2020 г. [80]. В 2020 г. заболеваемость и смертность от РЖ составили 11,1 и 7,7 на 100 000 соответственно [80].

Заболеваемость и смертность различаются в зависимости от географического региона. Самые высокие показатели заболеваемости РЖ наблюдаются в Восточной Азии (32,5 на 100 000 мужчин; 13,2 на 100 000 женщин), Центральной и Восточной Европе (17,4 на 100 000 мужчин; 7,1 на 100 000 женщин) и Южной Америке (12,1 на 100 000; 6,1 на 100 000 женщин), в то время как самые низкие показатели заболеваемости наблюдаются в Северной Америке (5,4 на 100 000 мужчин; 3,1 на 100 000 женщин) и Африке (4,5 на 100 000 мужчин и 3,8 на 100 000 женщин) [80]. В таких странах, как Япония, Китай, Корея, Чили, РЖ занимает первое место по заболеваемости и смертности [26].

В структуре онкологической заболеваемости РЖ в России в 2021 году занимает 4 место у мужского населения, уступая опухолям трахеи, бронхов, легкого, предстательной железы и кожи (кроме меланомы) [4]. У женщин в структуре заболеваемости РЖ стоит на восьмом месте после рака молочной железы, кожи (кроме меланомы), тела матки, ободочной кишки, шейки матки, прямой кишки, ректосигмоидного соединения и ануса, лимфатической и кроветворной ткани. Впервые в жизни РЖ в 2021 году был выявлен у 18672 мужчин и 13359 женщин. Средний возраст больных с впервые в жизни установленным диагнозом РЖ составил 66,3 лет у мужчин и 68,8 лет у женщин.

Динамика показателей заболеваемости населения России злокачественными новообразованиями в 2010–2021 гг. на 100 тыс. человек по РЖ: среднегодовой темп прироста у мужчин составил 2,97%, у женщин – 3%. РЖ как причина смерти был установлен у 15046 мужчин и 10192 женщин. Средний возраст умерших составил 67,2 лет для мужчин и 70,9 лет – для женщин. Смертность на 100 тыс. населения для обоих полов от РЖ была самой маленькой в возрастной группе 5–9 лет и самой большой в группе 65–69 лет [4].

## 1.2. Этиология и патогенез

РЖ является мультифакториальным, морфологически неоднородным заболеванием. В 1965 г. Lauren P. A. предложил классификацию РЖ, в которой выделяют интестинальный (кишечный), диффузный и смешанный гистотипы [118]. К основным факторам риска РЖ относят: инфицирование *H. pylori*, особенности питания (высокое потребление соли, низкое потребление свежих овощей и фруктов, потребление жирной и острой пищи, употребление алкоголя), наследственность, возраст пациентов, воспалительные заболевания желудка, курение [73]. Однако факторы риска для каждого гистотипа РЖ переменны по значимости. Например, РЖ интестинального типа чаще всего ассоциирован с действием факторов окружающей среды (диета, курение, ожирение, употребление алкоголя) и инфицированностью *H. pylori* [16], что, в свою очередь, приводит к развитию хронического гастрита, за которым следует атрофический гастрит, кишечная метаплазия, дисплазия и карцинома через каскад Correa [45]. Чаще интестинальный тип встречается в старших возрастных группах у мужчин и макроскопически обычно представлен опухолью с экзофитным типом роста с тенденцией к изъязвлению. Рак желудка диффузного типа (РЖДТ) менее связан с факторами окружающей среды и воспалительными заболеваниями, макроскопически представлен инфильтративно-утолщенной, ригидной стенкой

желудка, локализуется чаще всего в толще стенки с фокусами диффузной инвазии стромы. Считается, что РЖДТ является в большей степени генетически детерминированным заболеванием, связанным с потерей гетерозиготности в хромосоме p17, мутацией/потерей гетерозиготности p53 и мутацией или потерей E-cadherin [9]. РЖДТ чаще встречается у более молодых пациентов, при этом с одинаковой частотой среди мужчин и женщин. Более того, на долю всех случаев РЖДТ приходится около 1–3% случаев с доказанным наследственным генетическим синдромом, который вызывает мутацию в гене E-cadherin (CDH1), расположенном в 16 хромосоме – наследственный рак желудка диффузного типа (НРЖДТ). Для этой категории пациентов, согласно японским протоколам диагностики и лечения, рекомендуется выполнение гастрэктомии в виде метода профилактического лечения [125]. Важно подчеркнуть, что мутация в CDH1 многократно повышает риск развития инвазивного долькового рака молочной железы и рака толстой кишки [97].

### **1.2.1. Особая роль *Helicobacter pylori* в канцерогенезе рака желудка**

Международное агентство по изучению рака (International Agency for Research on Cancer, IARC) классифицировало *H. pylori* как канцероген I группы (сильный канцероген) в 1994 году [102, 163].

Глобальная распространенность инфекции *H. pylori* среди взрослого населения снизилась с 50–55% до 43% в течение 2014–2020 гг. [82, 87, 164].

В 2018 г. было зарегистрировано 812 000 случаев РЖ, включая неходжкинскую лимфому желудочной локализации, что составляет ~37% всех случаев рака, вызванных хронической инфекцией, что делает *H. pylori* наиболее частым канцерогенным патогеном [79].

Первоначально считалось, что инфекция *H. pylori* в основном связана с интестинальным типом РЖ, в то время как для РЖДТ в основе патогенеза больше



рассматривали генетические аномалии. Однако, если не рассматривать случаи НРЖДТ, то в многочисленных исследованиях сообщается о существенной роли *H. pylori* и EBV в возникновении спорадического РЖДТ [85, 88, 90]. Серологические исследования также подтвердили, что *H. pylori* связан с обоими гистологическими типами РЖ. Ряд исследований показал, что пациенты с низким титром *H. pylori* IgG более склонны к развитию интестинального типа РЖ, в то время как пациенты с высоким титром *H. pylori* IgG имеют большой риск развития РЖДТ [34, 53, 177]. Имеются данные о том, что *H. pylori* способен ингибировать факторы, ответственные за клеточную адгезию, и тем самым участвовать в патогенезе РЖДТ. Yang Y. et al. продемонстрировали расщепление E-cadherin штаммами *H. pylori* SS1 и 26695; в эксперименте было обнаружено, что штамм SS1 более эффективно расщепляет E-cadherin через 12 и 24 часа [161]. После проникновения *H. pylori* в эпителий желудка происходит нефосфорилированное связывание CagA с E-cadherin, которое ведет к разделению комплекса E-cadherin и  $\beta$ -катенина и вызывает накопление  $\beta$ -катенина в цитоплазме и ядре, что в конечном итоге активирует  $\beta$ -катенин-зависимый ген, участвующий в прогрессировании рака [25]. Аберрантная активация  $\beta$ -катенина нарушает нормальные апикально-соединительные комплексы, что приводит к потере клеточной полярности [86].

Однако, по данным работы Take S. et al. [160], в которой исследовали 2737 пациентов, прошедших эндоскопическое обследование до начала эрадикационной терапии для оценки пептических язв, фоновой атрофии слизистой оболочки желудка и статуса инфекции *H. pylori*, авторы задокументировали, что ни у одного из пациентов до терапии не было РЖ. Из 2737 пациентов у 1198 была язва желудка, у 865 – язва двенадцатиперстной кишки, у 136 – оба заболевания, у 538 – хронический гастрит, но не было язвы. За время наблюдения в течение 21,4 года (в среднем 7,1 лет) РЖ развился у 68 пациентов (0,35% в год). Стандартизированный коэффициент заболеваемости (СКЗ) для РЖДТ был бесконечен (0 ожидаемых случаев и 4 наблюдаемых случая) у пациентов с легкой атрофией слизистой оболочки желудка и 10,9 (95% доверительный интервал (4,53–26,1)) у пациентов с

умеренной атрофией, тогда как при РЖКТ не наблюдалось значительного увеличения СКЗ независимо от степени исходной атрофии желудка. Данное долгосрочное эндоскопическое исследование показало, что риск развития РЖ после эрадикации *H. pylori* был выше во втором десятилетии наблюдения, чем в предшествующий 10-летний период. Повышенный риск был специфичен для РЖДТ среди пациентов с легкой и умеренной атрофией желудка. Эти данные указывают на то, что эндоскопическое наблюдение за пациентами должно продолжаться более 10 лет после излечения инфекции *H. pylori*, независимо от тяжести атрофии слизистой оболочки желудка при эрадикационной терапии.

По данным анализа Assumpção P. P. et al. [172], связь между инфекцией *H. pylori* и аденокарциномой желудка в некоторых моментах остается неясной. Основываясь на критическом анализе доступной литературы, касающейся микробиоты желудка, авторы проанализировали данные литературы о *H. pylori* и других потенциальных канцерогенных патогенах как при доброкачественных состояниях, так и при аденокарциноме желудка. *H. pylori* является доминирующим микроорганизмом при таком доброкачественном состоянии, как неосложненный гастрит. При атрофическом гастрите, метаплазии и, главным образом, при аденокарциноме желудка в метагеномных экспериментах четко продемонстрировано сильное снижение численности *H. pylori* и увеличение числа других микроорганизмов. Вызывая язвенную болезнь и поддерживая высокую кислотность желудка, инфекция *H. pylori* позволяет избежать заражения желудка канцерогенной микробиотой кишечника. Тем не менее, персистенция *H. pylori* может также спровоцировать атрофический гастрит, состояние, которое вызывает его собственное снижение из-за модификации микроокружения, включая снижение кислотности, что приводит к замещению *H. pylori* микробиотой, склонной к раку. Эта новая интерпретация может привести к кардинальным изменениям в клиническом лечении желудочного заболевания, связанного с *H. pylori*.

### 1.2.2. Герпесвирусы и рак желудка

Вирус Эпштейна-Барр (EBV), как член семейства *Herpesviridae*, является первым описанным вирусом рака человека, который ответственен примерно за 1,8% всех случаев рака человека, включая лимфому Ходжкина, лимфому Беркитта, НК/Т-клеточную лимфому и носоглоточную лимфому [3, 197]. Однако роль EBV в развитии других злокачественных новообразований все еще исследуется. В начале 1990-х годов была обнаружена связь между EBV и РЖ. Первый отчет был сделан Burke A. P. et al. [121] в случае лимфоэпителиоподобной карциномы желудка, впоследствии ассоциация наблюдалась при аденокарциноме желудка [189]. Дальнейшие многочисленные исследования продемонстрировали существенную роль EBV в канцерогенезе желудка.

Результаты крупного мета-анализа Tavakoli A. et al. выявили несколько особенностей [19]:

- общая распространенность EBV среди больных РЖ из 26 стран составляет 8,77%. Совокупная распространенность и объединенные отношения шансов, полученные в этом мета-анализе, были рассчитаны на основе исследований, в которых инфекция EBV была выявлена с помощью метода гибридизации *in situ*. Также данный мета-анализ показал, что распространенность EBV была одинаковой при кишечном и диффузном типах (8,10 и 9,41% соответственно) и не было обнаружено значимой связи EBV-инфекции с гистологическим типом ( $p = 0,31$ );

- распространенность EBV была в 1,9 раза выше у мужчин, чем у женщин с РЖ ( $p < 0,0001$ ). Однако оценка объединенных отношений шансов для EBV-ассоциированного РЖ была значительно выше у женщин, чем у мужчин ( $p = 0,06$ ). На основании этих результатов ученые пришли к выводу, что EBV-ассоциированный РЖ развивается у женщин чаще, чем у мужчин (в 1,5 раза), что можно объяснить разным генетическим фоном, образом жизни или гормональными условиями у представителей двух полов;

- РЖ, связанный с EBV, был значительно более распространен в кардии и теле желудка, чем в антральном отделе ( $p = 0,0002$ ). Однако при расчете объединенных отношений шансов ситуация была иной. Таким образом, оценка объединенных отношений шансов для EBV-ассоциированного РЖ была значительно выше в антральном отделе, чем в кардии и в теле, хотя разница не была статистически значимой. Эта особенность может быть оправдана тем, что разные отделы желудка имеют разное физиологическое состояние.

В нескольких исследованиях была предпринята попытка обнаружить роль инфекции EBV в прогрессировании РЖ [52, 174, 189, 200]. EBV проникает в В-лимфоциты ротоглоточной лимфоидной ткани. Затем вирус проникает в эпителиальные клетки желудка либо путем межклеточного контакта между В-лимфоцитами и эпителиальными клетками желудка, либо путем прямого проникновения на эпителий желудка. Сообщалось, что проникновению EBV в эпителиальные клетки желудка способствует предшествующее повреждение слизистой оболочки. После проникновения вируса в клетку EBV устанавливает латентный тип I, при котором экспрессируется ограниченный набор латентных генов. Недавнее систематическое обзорное исследование показало [19], что большинство латентных белков EBV, экспрессируемых в случаях РЖ, представляли собой EBNA1 (98,1%) и LMP2A (53,8%), тогда как LMP1 и LMP2B были обнаружены только в 10% случаев РЖ, связанного с EBV. Сообщалось также, что некоторые из латентных белков, такие как BARF1, присутствуют почти в половине случаев РЖ, связанного с EBV. Показано, что кодируемый EBV BARF1 действует как онкоген и способствует клеточной пролиферации при РЖ за счет усиления передачи сигналов NF-κB и снижения уровня ингибитора клеточного цикла p21. Хорошо известно, что метилирование ДНК играет решающую роль в развитии и прогрессировании РЖ. Метилирование как вирусного, так и клеточного генома является одним из важнейших механизмов, участвующих в развитии и поддержании EBV-ассоциированного РЖ.

Результаты исследования Cantalupo P. G. et al. 2018 года показывают, что при РЖ также часто выявляют герпесвирусы [28]. Члены семейства герпесвирусов

были обнаружены в небольшом количестве нормальных тканей раковых больных. Во многих случаях паттерны экспрессии генов предполагают, что небольшое количество клеток в образце продуктивно инфицировано вирусом. EBV, CMV и HHV6 обнаруживаются при значительном числе раковых заболеваний желудочно-кишечного тракта, особенно при РЖ, толстой кишки и прямой кишки. Роль EBV в развитии РЖ хорошо известна и является предметом интенсивных исследований. Однако обнаружение CMV и HHV6 при РЖ является провокационным. Злокачественные новообразования желудочно-кишечного тракта могут представлять среду, благоприятствующую вирусной инфекции, или вирус может находиться в инфильтрирующих иммунных клетках в опухоли. В любом случае присутствие герпесвируса предполагает, что эти опухоли чем-то отличаются. Основа для этого различия требует дальнейшего изучения, чтобы определить, существует ли причинная роль герпесвирусов в этих опухолях.

### **1.2.3. Патогенез рака желудка диффузного типа**

По данным Monster J. L. et al. (2022), в ходе эксперимента была создана модель, способная продемонстрировать новые механизмы инициации и прогрессирования опухоли при РЖДТ [56]. В основе этого механизма лежит нарушение клеточной экстррузии. В интактной слизистой желудка живые и апоптотические клетки активно вытесняются из эпителия в просвет за счет сокращения базального актомиозинового кольца. Формирование этого базального актомиозинового кольца регулируется с помощью E-cadherin, этот процесс носит название «апикальная клеточная экстррузия». Таким образом, потеря E-cadherin мешает апикальной клеточной экстррузии, что может привести к выходу клеток из эпителия с базальной стороны – базальной клеточной экстррузии. Кроме того, когда клетки с дефицитом E-cadherin окружены соседними клетками, сохранившими E-cadherin, это приводит к различным адгезивным и

сократительным свойствам между этими клетками, что может вызвать вытеснение клеток с дефицитом E-cadherin. Таким образом, в желудочном эпителии потеря E-cadherin потенциально может привести к вытеснению клеток в собственную пластинку за счет стимулирования вытеснения клеток с дефицитом E-cadherin соседними клетками и/или влияния на направление вытеснения. Так, в ходе эксперимента было продемонстрировано, что на ранней стадии РЖДТ мутантные клетки отслаиваются от желудочного эпителия и образуют небольшие ограниченные поражения в слизистой оболочке. Эти внутрислизистые поражения содержат диффузно распространенные перстневидные клетки (SRC). Кроме того, небольшая фракция морфологически менее дифференцированных клеток обычно присутствует в основании этих поражений SRC. Поражения SRC преимущественно локализуются в мезенхиме и собственной пластинке, однако обращает на себя внимание то, что они ограничены базальной мембраной эпителиальных желез, что потенциально представляет собой начальную стадию развития РЖДТ. Ранняя стадия РЖДТ в первую очередь выявляется в профилактически резецированных желудках пациентов с НРЖДТ, у которых уже в молодом возрасте развиваются поражения SRC по всему желудку. Соотношение SRC и низкодифференцированных клеток может варьироваться между отдельными внутрислизистыми поражениями, а повышенное количество низкодифференцированных клеток может быть ранней стадией прогрессирования РЖДТ. Несмотря на наличие многочисленных фокусов, которые морфологически характеризуются как признаки раннего поражения слизистой оболочки, у пациентов с наследственным РЖДТ в течение нескольких лет или десятилетий обычно развивается только одна распространенная опухоль, которая больше по размеру и проникает в подслизистую оболочку и более глубокие слои тканей. Эти участки злокачественной опухоли в основном состоят из малодифференцированных клеток, которые становятся высоко мигрирующими и могут образовывать метастазы в брюшине, костях, легких и печени. Спорадические опухоли РЖДТ принципиально неотличимы от распространенных опухолей НРЖДТ при гистологическом анализе, и поэтому ожидается, что они

будут следовать аналогичной схеме прогрессирования. Важной особенностью является то, что как у пациентов с РЖДТ, так и на экспериментальных моделях основное место инициации поражения SRC находится вблизи области перешейка желудочных желез, в котором располагается пул желудочных стволовых клеток.

### **1.3. Классификация**

На сегодняшний день полноценная диагностика РЖ заключается не только в определении гистологического типа карциномы, ведь для адекватного определения тактики ведения и лечения пациентов необходимо уточнение молекулярно-генетического подтипа злокачественной опухоли.

#### **1.3.1. Гистологическая классификация по Lauren P. A.**

В 1965 г. Lauren P. A. предложил разделить РЖ на 3 гистологических типа [118]:

- Кишечный тип: строение опухоли сходно с раком кишки – характерны отчетливые железистые структуры, состоящие из высокодифференцированного цилиндрического эпителия с развитой щеточной каемкой.
- Диффузный тип: опухоль представлена слабо организованными группами клеток или одиночными клетками с большим содержанием муцина в цитоплазме (перстневидные клетки). Характерен диффузный инфильтративный рост.
- Смешанный тип: в опухоли присутствуют участки и кишечного, и диффузного типа.

Существуют современные дополнения и адаптации к классификации Lauren [152], однако они не получили широкой практики для применения в клинической работе патологоанатомов.

### **1.3.2. Классификация эпителиальных опухолей желудка ВОЗ 2019 г., 5-е издание**

В последнем издании классификации эпителиальных опухолей желудка ВОЗ от 2019 г. [2] года выделены следующие морфологически формы:

- Тубулярная аденокарцинома (8211/3) – наиболее распространенный подтип РЖ. Опухоль построена из расширенных или щелевидных тубул различного диаметра, иногда ветвящихся, образованных цилиндрическими, кубическими или уплощенными атипичными клетками. Могут встречаться ацинарные структуры. Тубулярная аденокарцинома относится к кишечному подтипу классификации P. Lauren.

- Папиллярная аденокарцинома (8260/3).

- Дискогезивная карцинома/Карцинома из плохо сцепленных клеток (poorly cohesive carcinoma, PCC), включая перстневидно-клеточную карциному (8490/3), относится к РЖДТ по классификации P. Lauren. Карцинома из плохо сцепленных клеток в классификации ВОЗ отражена различными вариантами строения: классическими перстневидными клетками, клетками, схожими с гистиоцитами, эозинофильными клетками, содержащими небольшое количество нейтрального муцина, мелкими клетками с небольшим количеством муцина или без него и анапластическими клетками [4, 9].

- Муцинозная аденокарцинома (8480/3).

- Смешанная аденокарцинома.

- Карцинома с лимфоидной стромой (8512/3).

- Гепатоидная аденокарцинома (8576/3).



- Микропапиллярная аденокарцинома (8265/3).
- Аденокарцинома из фундальных желез.
- Мукоэпидермоидная карцинома.
- Карцинома из клеток Панета.
- Карцинома из париетальных клеток.

Изменились подходы к градации аденокарцином желудка. Если в 4-м издании классификации более предпочтительным считалось разделение на 3 степени дифференцировки и лишь допускалось разделение на 2 степени (low-grade и high-grade), то в нынешней классификации подчеркивается предпочтительное использование двухступенчатой градации. При этом отмечено, что градации low-grade и high-grade применимы только к тубулярному и папиллярному подтипам РЖ. Высокодифференцированные и умереннодифференцированные раки (ранее – G1, G2) теперь рекомендуется относить к категории low-grade, низкодифференцированные (G3) – high-grade.

### **1.3.3. Молекулярная классификация рака желудка**

Как было ранее сказано, РЖ – это многофакторное, морфологически неоднородное заболевание с обязательным компонентом того или иного генетического нарушения в патогенезе, поэтому для более глубокого понимания этиопатогенеза необходимо привести молекулярную классификацию РЖ.

По данным Атласа ракового генома (The Cancer Genome Atlas, TCGA), существует 4 молекулярных подтипа РЖ [43]:

1. EBV-ассоциированный, на долю которого приходится порядка 9% случаев РЖ.
2. Обусловленный MSI, на этот подтип приходится около 22% случаев РЖ.
3. Обусловленный GS, около 20% случаев РЖ.

4. Обусловленный CIN, на последний подтип приходится около 50% случаев РЖ.

**EBV-ассоциированный молекулярный подтип РЖ (Epstein-Barr Virus–Positive Gastric Cancer).** EBV – это человеческий  $\gamma$ -герпесвирус, который имеет тропность к лимфатической системе и обладает возможностью пожизненно персистировать в организме человека. Учитывая лимфотропность EBV, после проникновения в В-лимфоциты вирус вызывает их неконтролируемую пролиферацию. EBV также имеет выраженную тропность к слизистой оболочке желудка, которая в первую очередь связана с ее развитой лимфатической системой [52, 174, 200].

IARC относит EBV к 1-й группе канцерогенов с доказанной канцерогенностью для человека. По данным ряда исследователей только латентная инфекция EBV может быть ассоциирована с различными типами неоплазий и гематобластомами человека.

Впервые EBV-ассоциированная аденокарцинома желудка была описана в 1990 г. Burke A. P. Известно, что примерно у 90 тыс. человек ежегодно развивается EBV-ассоциированная карцинома желудка, что составляет примерно 10% от всех случаев РЖ [189].

Взаимодействие *H. pylori* и EBV до конца не изучено, однако не вызывает сомнений, что у группы пациентов с отсутствием в анамнезе инфицирования *H. pylori* или прошедших успешную эрадикацию возбудителя EBV может являться ведущим фактором хронического воспаления в слизистой оболочке желудка и угрозой возникновения злокачественных новообразований [6, 7, 8].

**РЖ, обусловленный MSI.** MSI – фенотип, характеризующийся повышенной вероятностью возникновения мутаций в результате нарушения системы репарации неспаренных оснований ДНК. В результате нарушения репарации в клетках возникают накопления ошибок при репликации ДНК, что приводит к появлению новых микросателлитных повторов.

При использовании стандартной панели, в которую входят BAT26 и BAT27 мононуклеотидные и D2S123, D5S346 и D17S250 динуклеотидные повторы [11],

MSI можно разделить на 3 уровня: высокий уровень MSI (MSI-High, MSI-H), низкий уровень MSI (MSI-Low, MSI-L) и микросателлитную стабильность (Microsatellite Stability, MSS). По данным литературы, MSI-H-ассоциированная карцинома в зависимости от этнической группы встречалась в 5–50% случаев, а в отношении MSI-L- и MSS-ассоциированных карцином известно, что они чаще локализуются в антральном отделе желудка, по гистологической классификации Lauren относятся к интестинальному типу и имеют хороший прогноз с редким метастазированием по сравнению с MSI-H [47].

**РЖ, обусловленный GS.** РЖ со стабильным геномом отличается более низкой мутационной нагрузкой по сравнению с другими молекулярными подтипами и возникает в относительно молодом возрасте. Для этого молекулярного подтипа характерен РЖДТ по Lauren, а также большое количество мутаций в RhoA и CDH1.

**РЖ, обусловленный CIN.** Хромосомная нестабильность – один из видов геномной нестабильности, при которой в дочерних поколениях делящихся клеток наблюдаются неклональные изменения кариотипа, а именно: потери или приобретения хромосом и их участков.

Хромосомная нестабильность наблюдается в злокачественных клетках при некоторых лейкозах и в клетках некоторых солидных опухолей. Для раков с хромосомной нестабильностью характерна крайне высокая частота хромосомных аномалий и высокое их разнообразие [51].

При РЖ высокий уровень CIN всегда ассоциирован с плохим прогнозом.

В исследовании, проведенном Bass A. J. et al. [43], был соотнесен молекулярный подтип РЖ с его локализацией. Каждый молекулярный подтип РЖ мог иметь любую локализацию, однако CIN-ассоциированные опухоли чаще встречались в желудочно-пищеводном соединении и кардии (65%); большинство EBV-ассоциированных опухолей обнаруживались в дне или теле желудка (62%); MSI-ассоциированные опухоли реже определялись в желудочно-пищеводном соединении и кардии, однако с примерно одинаковой частотой встречались в других отделах желудка; GS-опухоли примерно с одинаковой частотой

встречались во всех отделах желудка и в основном этот подтип был представлен РЖДТ по Lauren. При этом GS-опухоли диагностировались в более раннем возрасте (средний возраст составил 59 лет), тогда как MSI-ассоциированные диагностировались в относительно более старшем возрасте (средний возраст составил 72 года). Пациентами с MSI-ассоциированными опухолями, как правило, были женщины (56%), а большинство случаев EBV-ассоциированных опухолей были выявлены у мужчин (81%). По данным публикации, авторы не наблюдали каких-либо систематических различий в распределении молекулярных подтипов между пациентами восточноазиатского и западного происхождения.

#### 1.4. Иммуногистохимическая характеристика

**E-cadherin** – мембранный белок, гликопротеид из надсемейства кадгеринов, продукт экспрессии гена *CDH1*, который локализуется на хромосоме 16p22.1[42]. Данный белок необходим для поддержания межклеточной адгезии, дифференцировки и миграции клеток [109]. *CDH1* известен как ген-супрессор опухолевого роста и снижение уровня его экспрессии наблюдается в большинстве эпителиальных неоплазий, что приводит к увеличению опухолевой инвазивности и ухудшению прогноза у пациентов. Помимо этого, кадгерин-катениновый комплекс может активировать некоторые внутриклеточные сигнальные пути и играет важную роль в эпителиально-мезенхимальном переходе [71]. Следовательно, нарушение работы E-cadherin способствует ослаблению функции этих сигнальных путей, влияя тем самым на клеточную адгезию, инвазию и метастазирование РЖ, и главным образом инициирует процесс эпителиально-мезенхимального перехода в РЖДТ [134].

**Цитокератины (СК)** представляют собой кератиновые белки, обнаруженные во внутрицитоплазматическом цитоскелете эпителиальной ткани. Они являются важным компонентом промежуточных филаментов, которые

помогают клеткам противостоять механическим воздействиям. Для СК7 характерно умеренное окрашивание в большинстве поверхностных клеток слизистой оболочки желудка, СК20 в эпителии желудка демонстрирует положительную реакцию от умеренной до сильной. При РЖ отмечается вариабельность экспрессии СК7/СК20, которая требует более детальной интерпретации исходя из гистологического и молекулярного подтипа карциномы [48].

**Муцины (MUC)** представляют собой семейство высокомолекулярных сильно гликозилированных белков, продуцируемых эпителиальными тканями, и являются компонентами секрета, покрывающего слизистую оболочку желудка и обеспечивающего его защиту. MUC1 и MUC5AC в норме экспрессируются в поверхностном эпителии желудка. При РЖ экспрессия Muc-1 может носить более интенсивный характер и часто связано с худшим прогнозом [179]. Для MUC5AC чаще характера отрицательная экспрессия в карциномах желудка [23], однако имеется связь положительной экспрессии с глубиной инвазии [179]. Экспрессия Muc-2 коррелирует с размером опухоли, глубиной инвазии и чаще отмечается в кишечном типе в сравнении с РЖДТ [179].

**Белок p53** регулирует клеточный цикл и выполняет функцию супрессора злокачественных опухолей, соответственно, ген *TP53*, кодирующий p53, является антионкогеном [117]. Белок p53 осуществляет низкоуровневую регуляцию сосудистого фактора роста VEGF, поэтому мутации в гене p53 могут вызывать гиперэкспрессию VEGF [130], что, в свою очередь, является плохим прогностическим фактором не только для РЖДТ, но и для любых других злокачественных опухолей [99].

**CDX2** является членом семейства генов гомеобокса каудального типа. Кодируемый белок является основным регулятором специфичных для генов кишечника и участвует в росте и дифференцировке клеток, а также выполняет несколько других функций, включая раннее эмбриональное развитие кишечного тракта, регуляции воспалительных процессов желудочно-кишечного тракта и

онкогенез [63]. Имеются многочисленные данные о более благоприятном прогнозе течения РЖ при гиперэкспрессии CDX2 [124].

**HER2** представляет собой трансмембранный тирозинкиназный рецептор, участвующий в патогенезе и исходах нескольких типов рака, включая запущенные гастроэзофагеальные аденокарциномы [84]. Рецептор HER2 принадлежит к семейству рецепторов эпидермального фактора роста (EGFR), которое состоит из четырех членов: EGFR, HER2, HER3 и HER4 [195, 196]. Экспрессию HER2 чаще всего определяют с помощью иммуногистохимии и/или флуоресцентной гибридизации *in situ*, хотя доступны и другие методологии [92]. Сверхэкспрессия белка HER2 при РЖ была впервые описана в 1986 г. с помощью иммуногистохимии [68]. Статус HER2 является наиболее изученной мишенью при раке желудочно-пищеводного тракта и имеет ключевое клиническое значение при лечении этого заболевания [173]. Тестирование на HER2 настоятельно рекомендуется для всех пациентов во время постановки диагноза, особенно при наличии метастазов, из-за их клинических последствий [72].

**PD1 (Programmed cell death 1)** – мембранный белок надсемейства иммуноглобулинов, участвует в клеточной дифференцировке иммунных клеток [122]. PD-1 играет важную роль в отрицательной регуляции иммунной системы посредством предотвращения активации Т-лимфоцитов, что снижает аутоиммунность и повышает аутоотолерантность. Белок имеет два лиганда: PD-L1 и PD-L2. Когда PD-L1 экспрессируется на мембране опухолевых клеток, он взаимодействует с рецептором PD-1 на Т-клетке. Это взаимодействие блокирует пролиферацию и активность Т-клеток против опухоли, что позволяет раку избежать противоопухолевого иммунитета хозяина [158, 188, 199]. Кроме того, экспрессия PD-L1 на опухолевых клетках приводит к апоптозу специфических CD8<sup>+</sup> цитотоксических лимфоцитов, что дополнительно снижает противоопухолевый иммунный ответ [178].

### 1.5. Роль PD-L1 в канцерогенезе желудка

Определение экспрессии PD-L1 дает возможность выделить группу пациентов, которые с наибольшей вероятностью дадут положительный ответ на терапию ингибиторами иммунных контрольных точек (Immune checkpoint inhibitors, ICI). Достаточно хороший результат в исследованиях по PD-L1 достигнут в отношении немелкоклеточного рака легкого.

Связь между экспрессией PD-L1 и прогнозом в РЖ все еще является предметом многочисленных споров. По данным исследования Boger C. et al. [142] было выявлено улучшение прогноза заболевания у пациентов с PD-L1-положительными опухолевыми клетками. Однако, по данным Chang H. et al. [154], высокая экспрессия PD-L1 является неблагоприятным прогностическим фактором, а Kawazoe A. et al. [40] отрицают PD-L1 как прогностический фактор в принципе. Важно учитывать, что все вышеприведенные исследовательские данные были получены от пациентов азиатской этнической группы и поэтому результаты не могут быть применимы в общей популяции, так как реакция на лекарственные вещества в разных этнических группах может быть неодинакова.

По данным эксперимента Ma C. et al. [156] и Derks S. et al. [15], EBV- и MSI-ассоциированные РЖ чаще всего демонстрировали резко положительную экспрессию PD-L1 или сверхэкспрессию PD-L1, что является значительным неблагоприятным прогностическим фактором.

Другое исследование [43] показало, что в молекулярном подтипе EBV- и MSI-ассоциированных РЖ определялась выраженная лимфоцитарная инфильтрация в опухолевой строме. Поэтому данные подтипы могут быть классифицированы как РЖ с выраженной лимфоидной стромой. Лимфоидная строма в этих опухолях имеет большое количество CD8<sup>+</sup> Т-клеток, способных вызывать сильный противоопухолевый воспалительный ответ. Кроме того, положительная экспрессия PD-L1 была связана со значительным увеличением количества CD8<sup>+</sup> Т-клеток по краю инвазивного фронта опухоли.

Также Derks S. et al. [15] наблюдали разницу в характере инфильтрации PD-L1-положительных клеток в зависимости от молекулярного подтипа опухоли: в EBV- и MSI-ассоциированных карциномах желудка PD-L1 положительные клетки

имели способность проникать в центр опухолевого процесса, в отличие от MSS карцином желудка, в которых PD-L1-положительные клетки оставались в основном по краю области инвазии опухоли. Опираясь на полученный результат, пациенты с EBV- и MSI-ассоциированными карциномами желудка могут быть основными кандидатами для терапии ингибиторами PD-1.

По данным Hiroaki S. et al. [100], пятилетняя выживаемость у пациентов с положительной экспрессией PD-L1 и без нее отличалась на 48,9% и 80,7% соответственно. Кроме того, PD-L1 положительная экспрессия наблюдалась в старшей возрастной группе пациентов, а по гистологическому типу положительная экспрессия чаще выявлялась в недифференцированных карциномах желудка.

Lei W. et al. в своем исследовании [155] изучали корреляцию между HER2-статусом и экспрессией PD-L1. По данным исследования, у HER2-положительных пациентов была положительная экспрессия PD-L1 в 24,2% случаев, в то время как у HER2-негативных пациентов положительная экспрессия PD-L1 наблюдалась в 39,0% случаев. Исходя из полученных данных, HER2-негативные пациенты могут стать лучшими кандидатами на анти-PD-1 направленную терапию. Однако авторы обращают внимание на ложноотрицательные результаты, которые были связаны с техникой взятия биопсии: выраженная экспрессия PD-L1 была выявлена по краю инвазивного фронта опухоли, а не в ее центре. Zhang Y. et al. в своей статье указывают на то что, повышенная экспрессия PD-L1 при РЖ связана с эпителиально-мезенхимальной трансформацией, это может еще больше увеличить вероятность метастазирования опухоли [137].

## **1.6. Морфологическая и молекулярно-генетическая неоднородность диффузного типа рака желудка**



В бразильском исследовании Tatiane K. et al. 2018 года был сделан акцент на различиях РЖДТ от интестинального и смешанного типов по Lauren с учетом генетических исследований [20]. В данной работе в очередной раз подтверждается значимость генетических аномалий, а не воздействия окружающих факторов, хотя такие факторы, как курение и употребление алкоголя, были в обязательном порядке включены исследователями в сводные таблицы по выборке пациентов. Также было выявлено, что при РЖДТ намного чаще наблюдалась периневральная инвазия, умеренная и выраженная десмопластическая реакция, высокая частота регионарных и отдаленных метастазов и худший прогноз в сравнении с интестинальным типом рака.

В ходе исследования Lee H. E. et al. 2018 года были выявлены различия в морфологии наследственного и спорадического диффузного типа РЖ [119]. На основании материала, представленного 11 случаями гастрэктомии у больных с НРЖДТ и генетически подтвержденной мутацией в гене *CDH1*, морфологически клетки опухоли были разделены на 3 группы: 1 группа – хорошо дифференцированные «большие (перстневидные) клетки» с большим количеством цитоплазмы, маленьким ядерно-цитоплазматическим соотношением, уплощенными и эксцентрично расположенными ядрами с умеренно выраженной атипией, которые располагались под поверхностным эпителием и у которых также была выявлена позитивная экспрессия к муцикармину и pCEA и негативная экспрессия к p16 и CDX2; 2 группа – хорошо дифференцированные «малые (перстневидные) клетки» с меньшим количеством цитоплазмы, с более округлыми и гиперхромными ядрами с выраженными признаками атипии и высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением, располагались такие клетки в собственной пластике слизистой оболочки, в них определялась негативная экспрессия к муцикармину, pCEA, p16 и CDX2; 3 группа – плохо дифференцированные «малые (перстневидные) клетки» с положительной экспрессией к p16 и негативной экспрессией к CDX2. В качестве группы сравнения был использован материал 20 случаев гастрэктомии при спорадическом диффузном типе РЖ, для них не было

выделено особенностей в морфологии, однако отмечена позитивная экспрессия к p16 и CDX2.

В 2017 году группа экспертов, входящих в состав Международной ассоциации по раку желудка (International Gastric Cancer Association, IGCA), приняла участие в специальном семинаре, который проходил в Вероне, для решения ряда важных вопросов в отношении перстневидных клеток как морфологического субстрата РЖ [44]. На основании различных исследований существуют противоречивые данные в отношении наличия или отсутствия перстневидных клеток в карциноме желудка. Одни авторы сообщают о связи между перстневидными клетками и плохим прогнозом [168], другие исследования не подтверждают такой вывод [150]. Также имеются сравнительные исследования западных и восточно-азиатских авторов [54, 170], которые говорят о благоприятном прогностическом влиянии наличия перстневидных клеток в карциноме желудка на ранних стадиях заболевания; в то же время выявление этих же клеток на поздних стадиях опухоли исследователи расценивали как неблагоприятный фактор.

По мнению экспертов, одной из основных причин этих противоречивых выводов о связи между перстневидными клетками в карциноме желудка и прогнозом является отсутствие стандартизации определения гистологического подтипа РЖ. Вероятнее всего, такой термин, как РЖДТ по Lauren, включающий в своем определении наличие перстневидных клеток и такое понятие, как «низкодифференцированная карцинома» желудка и «перстневидно-клеточная карцинома» по классификации ВОЗ, используются учеными без четких критериев разграничения подобных понятий. Поэтому опухоли, имеющие в своем составе перстневидные клетки как основной или второстепенный компонент, могут быть неправильно оценены в сравнительных исследованиях [54]. Стандартизация терминологии и точная классификация подтипов РЖ является решающим шагом для точной оценки эпидемиологических данных и определения прогноза заболевания и/или ответа на химиотерапию пациентов с РЖ (при наличии или отсутствии перстневидных клеток в составе опухоли).

Экспертами были определены основные темы обсуждения, касающиеся перстневидных клеток, и сформулированы следующие утверждения:

1. Перстневидные клетки – клетки с эксцентрично расположенным ядром, которые в своей цитоплазме содержат большое количество муцина и при окрашивании гематоксилином и эозином на светооптическом уровне выглядят пустыми.

2. Не все клетки, которые морфологически неотличимы от перстневидных клеток, злокачественные. Дистрофически измененные клетки Гоблета, неопухолевые эпителиальные клетки, связанные с изъязвлением и ишемией, макрофаги или клетки мезотелия в цитологических препаратах могут выглядеть как перстневидные клетки.

3. В настоящее время нет никаких специфичных иммуногистохимических маркеров в отношении перстневидно-клеточной карциномы. Определение экспрессии E-cadherin или цитокератина не помогает в идентификации перстневидных клеток. Однако окрашивание на муцин (ШИК-реакция в сочетании с альциановым синим (AB-PAS)) можно использовать для подтверждения наличия муцина в перстневидных клетках.

4. В патолого-анатомическом заключении аденокарцинома желудка должна быть проклассифицирована в соответствии с самым последним изданием ВОЗ.

5. Эксперты предлагают классифицировать перстневидно-клеточные карциномы по подтипам в зависимости от количества перстневидных клеток:

– Опухоль с количеством перстневидных клеток более 90% в составе карциномы следует обозначать как перстневидно-клеточную карциному желудка (что соответствует перстневидно-клеточной карциноме желудка по классификации ВОЗ).

– Опухоль с количеством перстневидных клеток менее 90%, но более 10% в составе карциномы следует обозначать как смешанную дискогезивную карциному и перстневидно-клеточную карциному (Combined poorly cohesive NOS and SRC carcinoma) с обязательным указанием процента перстневидных клеток.

– Опухоль с количеством перстневидных клеток менее 10% в составе карциномы следует обозначать как дискогезивную карциному желудка (Poorly cohesive NOS).

Важно учитывать, что при постановке диагноза «муцинозная аденокарцинома желудка», даже при наличии в ней перстневидных клеток, не следует классифицировать ее как карциному с низкодифференцированным или перстневидно-клеточным компонентом, так как муцинозная аденокарцинома желудка имеет другое происхождение и прогноз.

6. В соответствии с пунктом 5, при морфологическом исследовании биопсированных эндоскопических образцов ткани опухоли желудка в заключении обязательно нужно указать процент перстневидных клеток в образце.

7. Определение глубины инвазии (категория pT) бывает крайне затруднительным в отношении низкодифференцированных и перстневидно-клеточных карцином (особенно на уровне инвазии в серозную оболочку). Иммуногистохимическое окрашивание на цитокератин не помогает в определении инвазии опухоли в серозу, так как мезотелиальные клетки серозной оболочки также экспрессируют цитокератины, однако окрашивание на эластическую ткань может быть полезно для определения локализации серозной оболочки.

8. Реакция стромы при низкодифференцированной и перстневидно-клеточной карциноме может меняться в зависимости от глубины инвазии. Вероятнее всего, тип реакции стромы имеет прогностическую ценность, однако на данный момент нет достаточного количества данных для формулирования конкретного мнения по этому вопросу.

9. Пока не существует достаточных данных для того, чтобы судить о том, меняется ли фенотип опухоли под действием неoadъювантной химиотерапии. После проведенной неoadъювантной химиотерапии микроскопически выявляются только такие изменения, как фиброз и некроз.

10. По классификации ВОЗ при морфологической картине тубулярной или папиллярной аденокарциномы с недифференцированным компонентом или наличием перстневидных клеток следует отнести такую карциному к смешанному

типу, однако, если недифференцированный или перстневидно-клеточный компонент локализуется только по краю инвазии опухоли, то такие случаи следует классифицировать как тубулярную или папиллярную форму аденокарциномы желудка.

11. Тубуло-папиллярные аденокарциномы желудка (кишечный тип по Lauren) чаще распространяются с помощью сосудистой инвазии, в то время как низкодифференцированные и перстневидно-клеточные карциномы (диффузный тип по Lauren) более склонны к метастазированию и распространению по брюшине. Исходя из этого, можно предположить, что смешанный тип аденокарциномы имеет более агрессивное течение.

В работе Wong H. H. and Chu P. авторы рассматривали особенности иммуногистохимической диагностики в группе злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта [192]. В отношении РЖДТ по Lauren были представлены данные о положительной экспрессии к CDX-2, CK7 и HerPar-1 примерно в 70% случаев, около половины случаев были с положительной экспрессией к CK20, MUC2 и MUC5AC, а также была выявлена отрицательная экспрессия к MUC1 и E-cadherin. Морфологические случаи низкодифференцированной аденокарциномы с выраженной лимфоплазмочитарной инфильтрацией, по данным авторов, могут быть положительными к EBV.

В исследовании, проведенном Togasaki K. et al. в 2021 году [191], было продемонстрировано, как сигнальный путь Wnt может влиять на гистологическую вариацию РЖДТ. В эксперименте удалось установить, что перстневидно-клеточная карцинома и дискогезивная карцинома были клонально идентичными, и их морфология регулировалась внеклеточной экспрессией Wnt и R-spondin. Так, органоиды дискогезивной карциномы трансформировались в перстневидно-клеточную карциному при удалении Wnt и R-spondin из культуральной среды. Важно отметить, что такую способность демонстрировали не все образцы, а только те, в которых была доказана мутация TP53, способствующая фенотипической пластичности и повышенной онкогенной способности.

Полученные данные могут свидетельствовать об иерархии дифференцировки различных форм дискогезивной карциномы.

### 1.6.1. Теория кластеров рака желудка диффузного типа

Были получены результаты о неоднородности РЖДТ после проведенной оценки базы данных материала TCGA, Asian Cancer Research Group (ACRG) и собственного биоматериала ткани желудка у пациентов с раком интестинального и диффузного типов по классификации Lauren с помощью РНК-секвенирования [13, 103]. Проведенный анализ выявил, что среди случаев РЖДТ встречаются молекулярные подтипы, обусловленные MSI и CIN, что не согласуется с отчетом TCGA, в котором для РЖДТ указан молекулярный подтип GS. Впервые был использован термин «кластер» в отношении РЖДТ и сформулированы его характеристики:

- РЖДТ является гетерогенным по своей молекулярно-генетической структуре (по данным TCGA РЖДТ является подтипом со стабильным геномом).
- Существуют два «кластера» РЖДТ. Первый – первичный РЖДТ/основной подтип РЖДТ; второй – развившийся из РЖКТ/кишечноподобный подтип РЖДТ.
- Между двумя «кластерами» выявлена различная степень мутаций к MUC16, PIK3CA, ARID1A (выше в кластере кишечноподобного подтипа РЖДТ).
- Адьювантная химиотерапия повышает выживаемость у пациентов с основным подтипом РЖДТ, в то время как у пациентов с кишечноподобным подтипом РЖДТ наблюдалась лишь умеренная польза от адьювантной химиотерапии.
- Для «кластера» основного подтипа РЖДТ целесообразно применять классическую химиотерапию, в то время как для лечения пациентов с

«кластером» кишечноподобного подтипа РЖДТ необходимо использовать терапию ICI.

Проведенный анализ имеющейся научной литературы показал необходимость комплексного клинико-морфологического исследования в сочетании с иммуногистохимическими и молекулярно-генетическими методами. Для развития и улучшения качества персонализированной медицины требуются данные, подтверждающие наличие кластеров РЖДТ. Более того, для полноценной реализации возможных тактик ведения и лечения пациентов с РЖДТ требуется поиск иммунофенотипических различий в данных кластерах и уточнение их молекулярно-генетических критериев с дальнейшим созданием оптимизированного диагностического подхода.

## **Глава 2. Материалы и методы исследования**

### **2.1. Клиническая характеристика материала**

В ретроспективное исследование было отобрано 192 случая от пациентов в возрасте от 29 до 96 лет, из них 145 биопсийных фрагментов и 47 фрагментов операционного материала опухолевой ткани желудка, удаленных у пациентов, проходивших лечение в ГБУЗ «Городская клиническая больница №31 имени академика Г.М. Савельевой Департамента здравоохранения города Москвы» в период с 2016 по 2022 годы. В 52 наблюдениях с РЖДТ нами проведен комплекс всех методов исследования: гистологический, гистохимический, ИГХ, ПЦР.

### **2.2. Методы исследования**

Полученные после удаления фрагменты опухолевой ткани сразу были помещены в 10% забуференный раствор формалина, материал фиксировался в течение 24 часов, далее выполнялась проводка по стандартной методике с заливкой в парафин. Гистологические срезы толщиной 4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, а также проводили комбинированную ШИК-реакцию в сочетании с альциановым синим (для выявления нейтральных муцинов и высокосульфатированных муцинов) с целью определения перстневидных клеток. Оценка процентного содержания перстневидно-клеточного компонента (SRC) опухоли с градацией полученных данных проводилась по системе IGCA [44]: SRC-1, для которой характерно содержание перстневидно-клеточного компонента >90%; SRC-2 с содержанием перстневидных клеток <90%, но >10%; SRC-3 – <10% перстневидных клеток в составе опухоли.



ИГХ проведено с готовыми первичными моноклональными антителами (АТ) фирмы Leica Bond: 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), MUC2 (VENTANA MRQ-18), MUC5AC (VENTANA MRQ-19), p53 (DO-7), HER2 (VENTANA anti-HER2/neu (4B5) Rabbit Monoclonal Primary Antibody) и PD-L1 (VENTANA PD-L1 (SP263) Assay).

Интерпретация ИГХ с АТ к CDX2, MUC1, MUC2, MUC5AC проводилась по критерию интенсивности экспрессии АТ. Интенсивность экспрессии оценивали полуколичественным способом по балльной шкале от 0 до 3:

- 0 – отсутствие реакции;
- 1 – слабая реакция (светло-коричневое окрашивание);
- 2 – умеренная реакция (коричневое окрашивание);
- 3 – сильная реакция (темно-коричневое окрашивание).

Анализ экспрессии E-cadherin проводился с использованием системы подсчета баллов, в которой баллы 0 и 1 (0 = полное отсутствие экспрессии и 1 = цитоплазматическая экспрессия) считались отрицательной экспрессией, а баллы 2 и 3 (2 = цитоплазматическая в сочетании с мембранной экспрессией и 3 = мембранная экспрессия) были определены как положительная экспрессия.

Для оценки интенсивности экспрессии CK7 и CK20 использовали полуколичественный способ по балльной шкале от 0 до 3 и, помимо этого, оценивали долю окрашенных клеток в процентном соотношении с целью формирования групп для интерпретации результата (Таблица 1).

Таблица 1 – Критерии оценки ИГХ-исследования СК7 и СК20

Интенсивность окрашивания	Доля окрашенных опухолевых клеток (%)	Результат ИГХ
0	0	Негативная реакция
1+	$\leq 70\%$	Слабая реакция
2+	$\leq 30\%$	Слабая реакция
1+	$> 70\%$	Умеренная реакция
2+	31–70%	Умеренная реакция
2+	$> 70\%$	Сильная реакция
3+	$\leq 30\%$	Умеренная реакция
3+	$> 30\%$	Сильная реакция

Для оценки PD-L1 статуса использовалась система CPS – количество окрашенных PD-L1 клеток (опухолевых и лимфоидных) по отношению к общему количеству жизнеспособных опухолевых клеток, умноженное на 100, с пороговым значением 1%.

ИГХ HER2-статус опухоли оценивали по балльной шкале (Таблица 2).

Таблица 2 – Иммуногистохимические критерии оценки HER2

Шкала	Операционный материал	Биопсия	HER2-статус опухоли
0	Нет окрашивания или мембранное <10% опухолевых клеток	Нет окрашивания	Отрицательный
1+	Слабое/едва различимое частичное мембранное окрашивание $\geq 10\%$ опухолевых клеток	Слабое/едва различимое частичное мембранное окрашивание кластера опухолевых клеток*	Отрицательный
2+	Слабое/умеренное полное, базолатеральное или латеральное мембранное окрашивание $\geq 10\%$ опухолевых клеток	Слабое/умеренное полное, базолатеральное или латеральное мембранное окрашивание кластера опухолевых клеток*	Сомнительный
3+	Выраженное полное, базолатеральное или латеральное мембранное окрашивание $\geq 10\%$ опухолевых клеток	Выраженное полное, базолатеральное или латеральное мембранное окрашивание кластера опухолевых клеток*	Положительный
*кластер опухолевых клеток – 5 клеток опухоли, образующих кластер			

Экспрессия p53 оценивалась по процентному соотношению позитивно окрашенных ядер независимо от интенсивности, где аберрантным считалось позитивное окрашивание 70% или более ядер в образце.

Определение молекулярно-генетического подтипа с целью выявления подтипа, обусловленного 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)). Для выявления EBV-ассоциированных карцином желудка было использовано Epstein-Barr Virus (CS1-4) Mouse Monoclonal Antibody.

Препараты изучались при помощи светового микроскопа «Leica DMLB» со стандартным набором оптики. Микрофотографирование производилось на микроскопе биологическом универсальном Leica DMLB с цветной цифровой камерой DFC420 при помощи стандартного программного средства Leica Application Suite v. 3.7.0.

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 EBV, CMV и HHV6 («АмплиСенс® EBV/CMV/HHV6-скрин-FL», ЦНИИ эпидемиологии, Россия). Количественный анализ осуществлялся 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).

### **2.3. Обработка медицинской документации**

Начальным этапом исследования явилась работа с медицинскими историями болезни и медицинскими картами амбулаторных пациентов больных со злокачественными опухолями желудка. При этом учитывался пол и возраст пациента, методы оперативного вмешательства, данные гастроскопии и локализация опухолевого процесса.

### **2.4. Статистическое исследование**

Материалы исследования были подвергнуты статистической обработке с использованием методов параметрического и непараметрического анализа. Накопление, корректировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2016. Статистический анализ проводился с использованием свободной программной среды вычислений R (v. 4.1.1).

Совокупности количественных показателей, распределение которых отличалось от нормального, описывались при помощи значений медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1–Q3).

Номинальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей.

Для сравнения независимых совокупностей в случаях отсутствия признаков нормального распределения данных использовался U-критерий Манна–Уитни. Для этого составляли единый ранжированный ряд из обеих сопоставляемых выборок, расставив их элементы по степени нарастания признака и приписав меньшему значению меньший ранг. Затем разделяли единый ранжированный ряд на два, состоящие соответственно из единиц первой и второй выборок, в каждом

из которых отдельно подсчитывали сумму рангов. После этого рассчитывали значение U-критерия по следующей формуле:

$$U = n_1 \cdot n_2 + \frac{n_x \cdot (n_x + 1)}{2} - T_x$$

где  $n_1$  – количество элементов в первой выборке;

$n_2$  – количество элементов во второй выборке;

$n_x$  – количество элементов в большей выборке;

$T_x$  – сумма рангов в большей выборке.

Вычисленные значения U-критерия Манна–Уитни сравнивались с критическими при заданном уровне значимости: в том случае, если значение U было равно или меньше критического, признавалась статистическая значимость различий.

Сравнение номинальных данных проводилось при помощи критерия  $\chi^2$  Пирсона, позволяющего оценить значимость различий между фактическим количеством исходов или качественных характеристик выборки, попадающих в каждую категорию, и теоретическим количеством, которое можно ожидать в изучаемых группах при справедливости нулевой гипотезы.

Вначале рассчитывалось ожидаемое количество наблюдений в каждой из ячеек таблицы сопряженности при условии справедливости нулевой гипотезы об отсутствии взаимосвязи. Для этого перемножались суммы рядов и столбцов (маргинальных итогов) с последующим делением полученного произведения на общее число наблюдений. Затем рассчитывалось значение критерия  $\chi^2$  по формуле:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^c \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}}$$

где  $i$  – номер строки (от 1 до  $r$ );

$j$  – номер столбца (от 1 до  $c$ );

$O_{ij}$  – фактическое количество наблюдений в ячейке  $ij$ ;

$E_{ij}$  – ожидаемое число наблюдений в ячейке  $ij$ .

Значение критерия  $\chi^2$  сравнивалось с критическими значениями для  $(r - 1) \times (c - 1)$  числа степеней свободы. В том случае, если полученное значение критерия  $\chi^2$  превышало критическое, делался вывод о наличии статистической взаимосвязи между изучаемым фактором риска и исходом при соответствующем уровне значимости.

В случае анализа четырехпольных таблиц при ожидаемом явлении хотя бы в одной ячейке менее 10 нами вычислялся критерий  $\chi^2$  с поправкой Йейтса, позволяющей уменьшить вероятность ошибки первого типа, т. е. обнаружения различий там, где их нет. Поправка Йейтса заключается в вычитании 0,5 из абсолютного значения разности между фактическим и ожидаемым количеством наблюдений в каждой ячейке, что ведет к уменьшению величины критерия  $\chi^2$ :

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^c \frac{(|O_{ij} - E_{ij}| - 0,5)^2}{E_{ij}}$$

В тех случаях, когда число ожидаемых наблюдений в любой из ячеек четырехпольной таблицы было менее 5, для оценки уровня значимости различий использовался точный критерий Фишера, который вычислялся по формуле:

$$P = \frac{(A + B)! \cdot (C + D)! \cdot (A + C)! \cdot (B + D)!}{A! \cdot B! \cdot C! \cdot D! \cdot N!}$$

где A, B, C, D – фактические количества наблюдений в ячейках таблицы сопряженности;

N – общее число исследуемых;

! – факториал, который равен произведению числа на последовательность чисел, каждое из которых меньше предыдущего на 1.

Полученное значение точного критерия Фишера  $p$  более 0,05 свидетельствовало об отсутствии статистически значимых различий. Значение  $p$  менее 0,05 – об их наличии.

## **Глава 3. Результаты исследования**

### **3.1. Анализ клинико-морфологических особенностей рака желудка диффузного типа**

#### **3.1.1. Поло-возрастные характеристики рака желудка диффузного типа**

В нашем исследовании был проведен анализ 192 пациентов с гистологически подтвержденным РЖДТ с использованием гистологической окраски гематоксилином и эозином, а также гистохимической комбинированной ШИК-реакции в сочетании с альциановым синим. Во всех клинических наблюдениях был проведен анализ эндоскопической картины первичной локализации опухоли. Среди всех исследуемых случаев РЖДТ 98 составили мужчины, 94 – женщины (Рисунок 1), средний возраст исследуемых в обеих группах – 68,8 лет (61–79 лет). Анализ протоколов эндоскопического исследования показал, что первичное расположение опухоли в кардиальном отделе наблюдалось в 14 случаях, теле желудка – у 77 пациентов, антральном отделе – у 29, привратнике – в 11 случаях, расположение опухоли сразу в двух локализациях было отмечено у 17 пациентов, более чем в двух отделах – в 44 наблюдениях (Таблица 3).



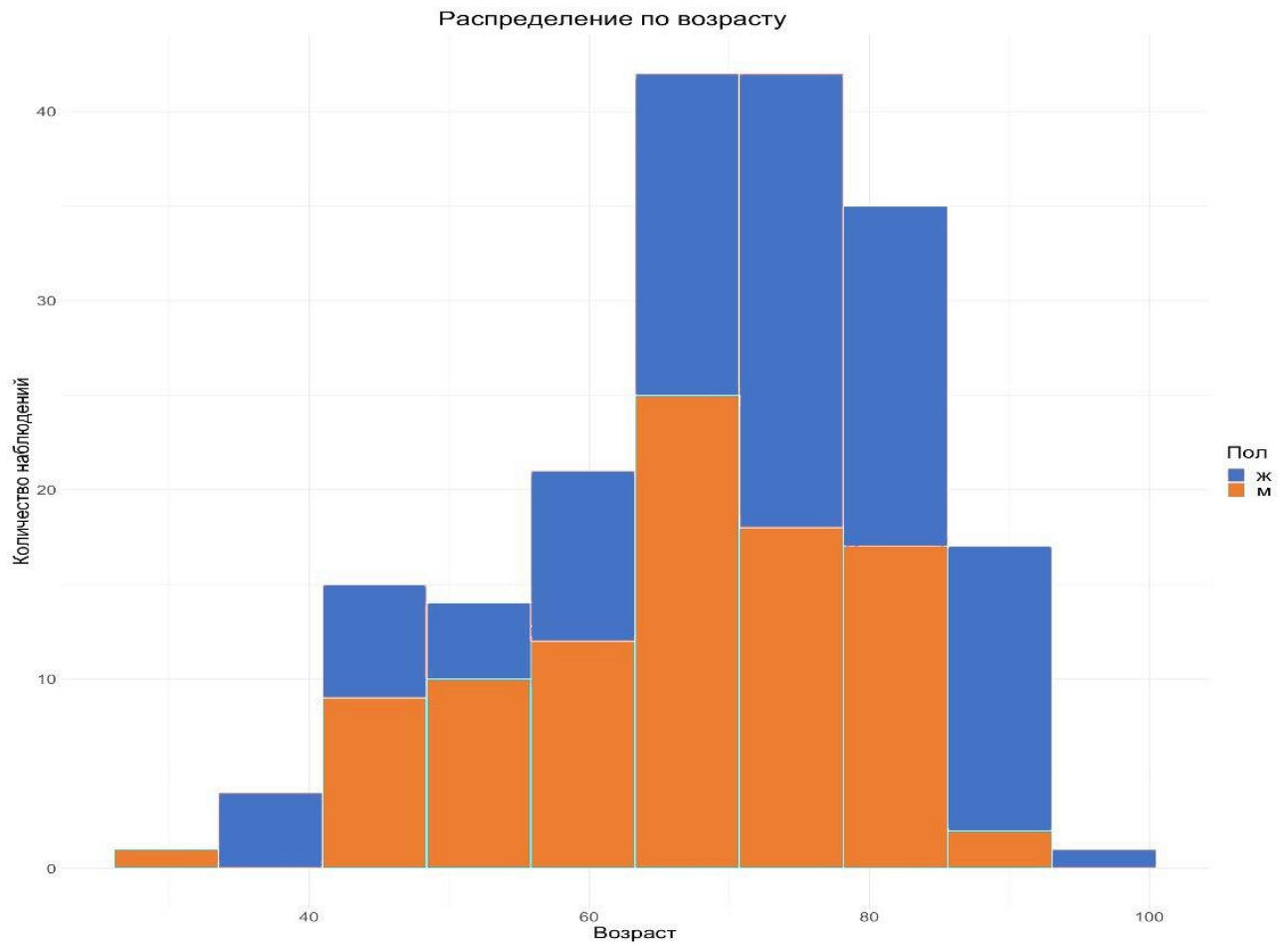


Рисунок 1 – Распределение пациентов с РЖДТ по полу и возрасту

Таблица 3 – Анализ пациентов с РЖДТ по полу, возрасту и локализации опухоли

Характеристика	Число наблюдений
Пол	Мужчины – 98 (51,1%) Женщины – 94 (48,9%)
Возраст (лет)	
Медиана	68,8
ИКР	61–79
Локализация	
Кардиальный отдел	14 (7,3%)
Тело желудка	77 (40,1%)
Антральный отдел	29 (15,1%)
Привратник желудка	11 (5,7%)
2 отдела	17 (8,9%)
Более 2 отделов	44 (22,9%)

Статистический анализ с использованием критерия Краскела–Уоллиса не выявил различий по возрасту между группами с различной локализацией РЖДТ ( $p = 0,275$ ; Рисунок 2).

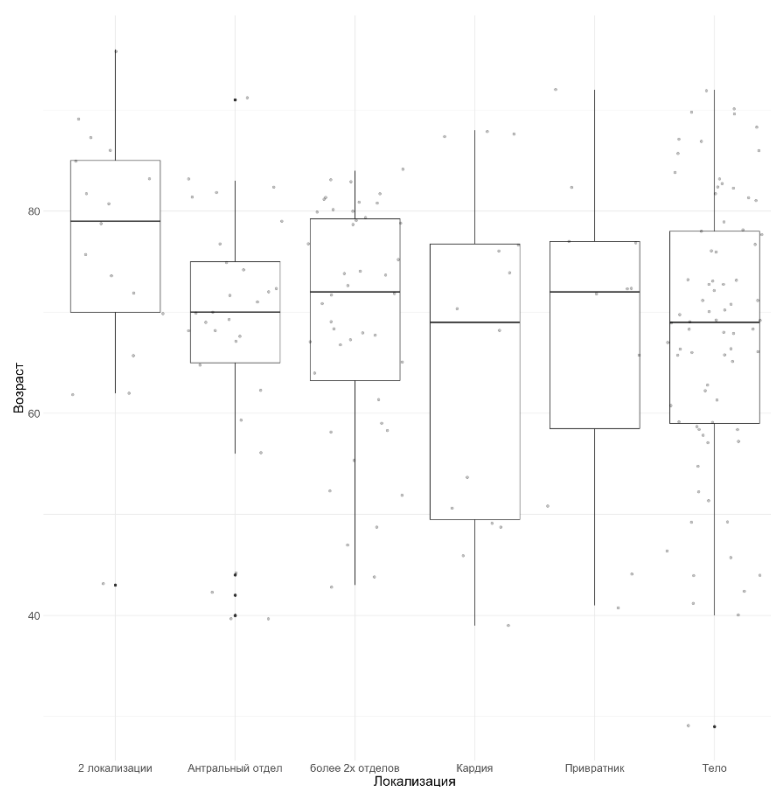


Рисунок 2 – Распределение пациентов с РЖДТ по возрасту и локализации опухоли

При сравнении возраста пациентов в группах по полу при использовании U-критерия Манна–Уитни выявлены значимые различия: показано, что возраст пациентов мужчин с РЖДТ (Me – 68 (59; 77)) был меньше, чем у женщин (Me – 72 (66; 82);  $U = 3543$ ,  $p = 0,006$ ).

В исследуемую группу вошли 52 пациента, из них мужчин – 32, женщин – 20 (Рисунок 3), средний возраст в обеих группах составил 68 лет (58,75–74 года). Анализ протоколов эндоскопического исследования показал, что первичное расположение опухоли в кардиальном отделе наблюдалось в 3 случаях, теле желудка – у 17 пациентов, антральном отделе – у 4, привратнике – у двоих, расположение опухоли в двух локализациях отмечено у 14 пациентов, более чем в двух отделах – у 12 (Таблица 4).

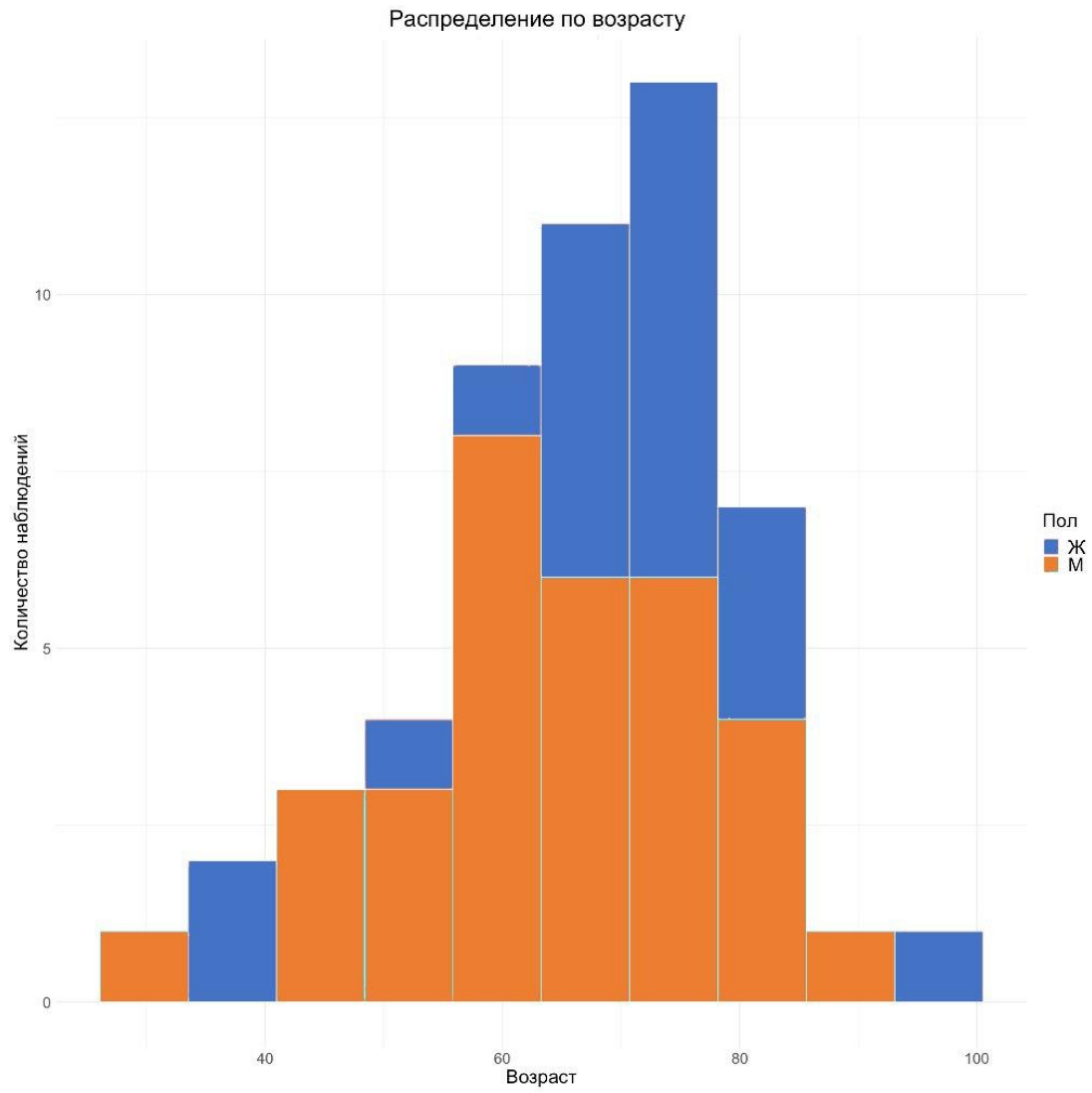


Рисунок 3 – Распределение пациентов с РЖДТ по полу и возрасту

Таблица 4 – Анализ пациентов с РЖДТ по полу, возрасту и локализации опухоли

Характеристика	Число наблюдений
Пол	Мужчины – 32 (61,5%) Женщины – 20 (38,5%)
Возраст (лет)	
Медиана	68
ИКР	58,75–74,00
Локализация	
Антральный	4 (7,7%)
Кардиальный	3 (5,77%)
Привратник	2 (3,8%)
Тело	17 (32,7%)
2 отдела	14 (26,9%)
Более 2 отделов	12 (23,1%)

### 3.1.2. Патоморфологическая характеристика рака желудка диффузного типа

Во всех случаях мы наблюдали классическую морфологическую картину РЖДТ, представленную разобщенными опухолевыми клетками с инфильтративным ростом, выраженной атипией, патологическими митозами с наличием иммунных и/или перстневидных клеток (Рисунок 4).

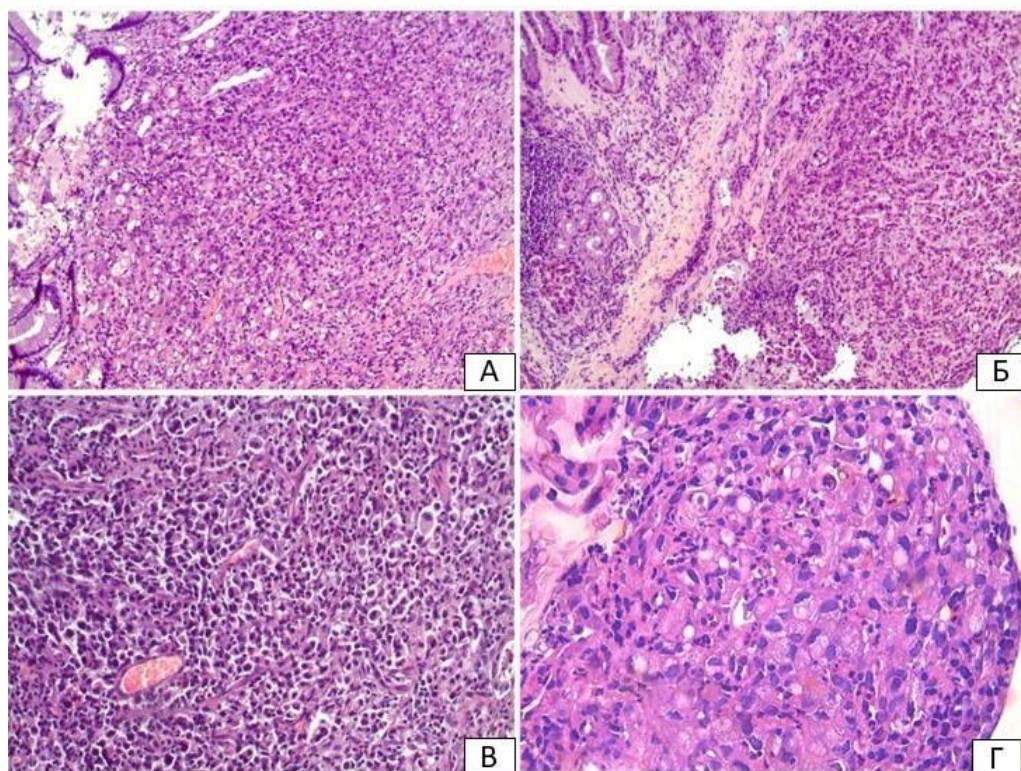


Рисунок 4 – Микрофотография. РЖДТ, окраска гематоксилином и эозином (А, Б – x100, В – x200, Г – x400)

Следующим этапом нашего исследования было проведение анализа процентного содержания перстневидно-клеточного компонента опухоли с разделением полученных результатов на 3 группы. В группу SRC-1, для которой характерно содержание перстневидно-клеточного компонента более 90%, было включено 2 наблюдения (Рисунок 5).

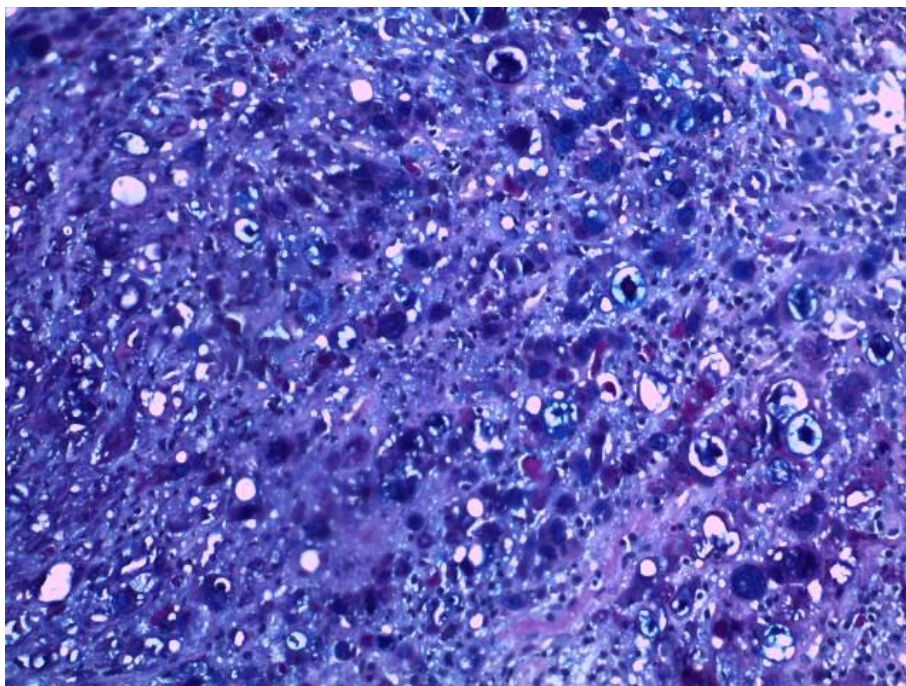


Рисунок 5 – Микрофотография. Содержание перстневидно-клеточного компонента  $>90\%$ . Комбинированная окраска ШИК-реакция в сочетании с альциановым синим,  $\times 200$

SRC-2 с содержанием перстневидных клеток менее  $90\%$ , но более  $10\%$  в составе опухоли мы зафиксировали у 46 пациентов (Рисунок 6).

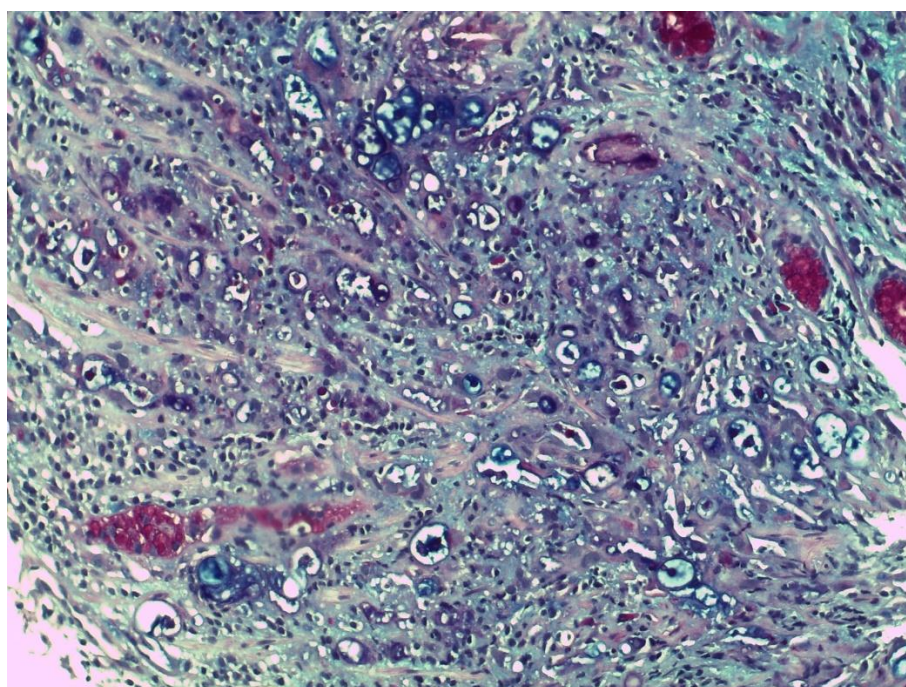


Рисунок 6 – Микрофотография. Содержание перстневидно-клеточного компонента  $<90\%$ , но  $>10\%$ . Комбинированная окраска ШИК-реакция в сочетании с альциановым синим,  $\times 200$

Под критерий для группы SRC-3 – менее 10% перстневидных клеток в составе опухоли – подошли 4 случая (Рисунок 7).

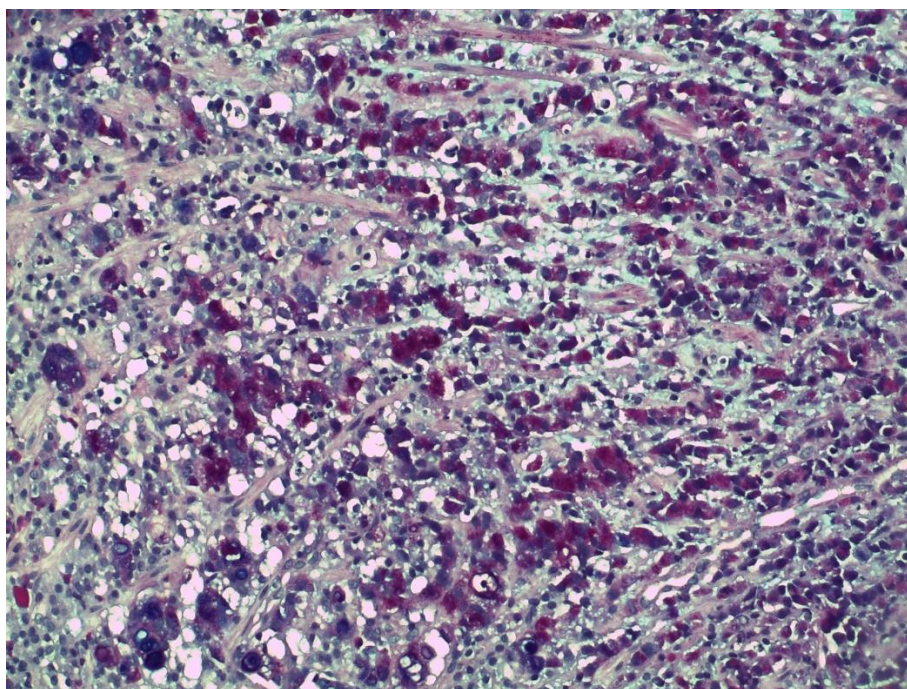


Рисунок 7 – Микрофотография. Содержание перстневидно-клеточного компонента <10%. Комбинированная окраска ШИК-реакция в сочетании с альциановым синим, х200

В процентном соотношении SCR-1 наблюдался в 3,85%, SCR-2 – в 88,46%, а SRC-3 – в 7,69% случаев (Рисунок 8).

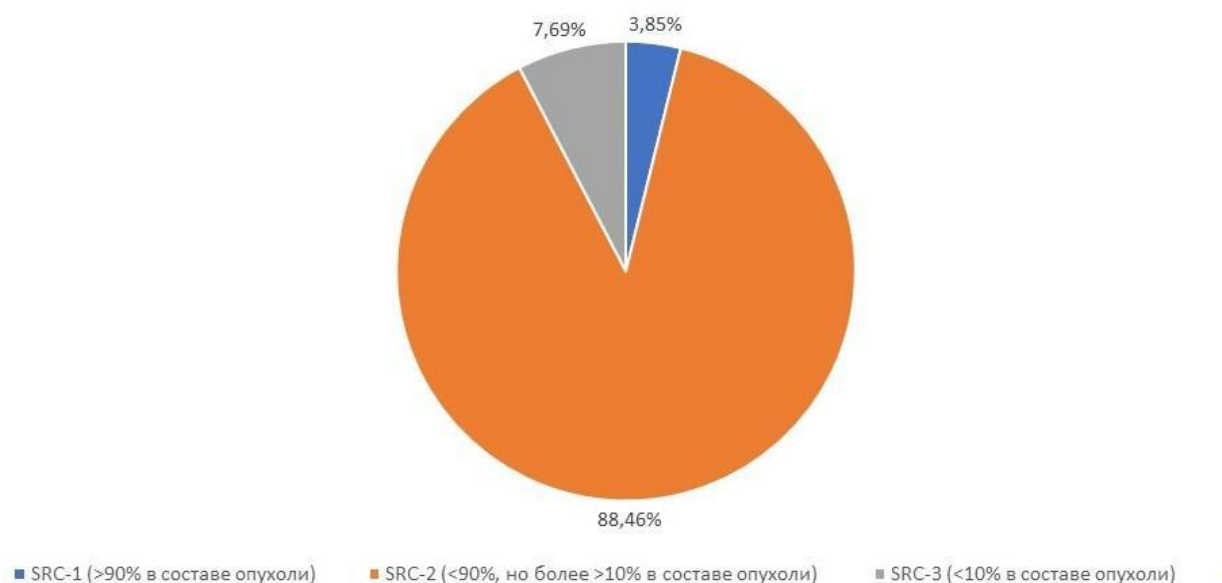




Рисунок 8 – Анализ процентного содержания перстневидно-клеточного компонента РЖДТ

### **3.2. Определение молекулярного подтипа рака желудка диффузного типа**

#### **3.2.1. Иммуногистохимическая реакция с маркерами микросателлитной нестабильности в раке желудка диффузного типа**

Иммуногистохимическое исследование с маркерами микросателлитной нестабильности (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)) показало, что у 8 пациентов были выявлены признаки MSI, в 5 наблюдениях была зафиксирована MSI-H, а в 3 – MSI-L. При этом в качестве внешнего контроля иммуногистохимическую реакцию ставили на срезах червеобразного отростка (Рисунок 9, Рисунок 10).

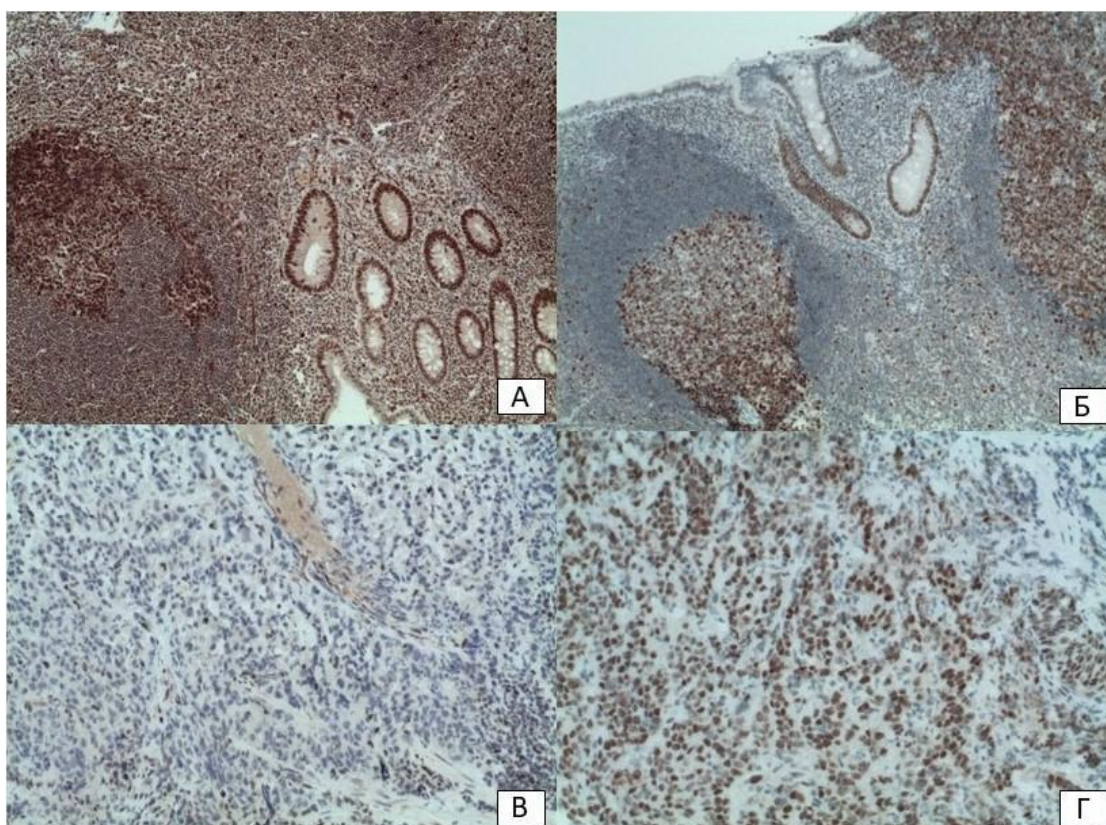


Рисунок 9 – Микрофотография. Стенка червеобразного отростка, внешний контроль антител к MLH1 (А – x100) и MSH2 (Б – x100). Отрицательная экспрессия MLH1 в опухоли (В – x200) и равномерная экспрессия MSH2 в опухоли (Г – x200)

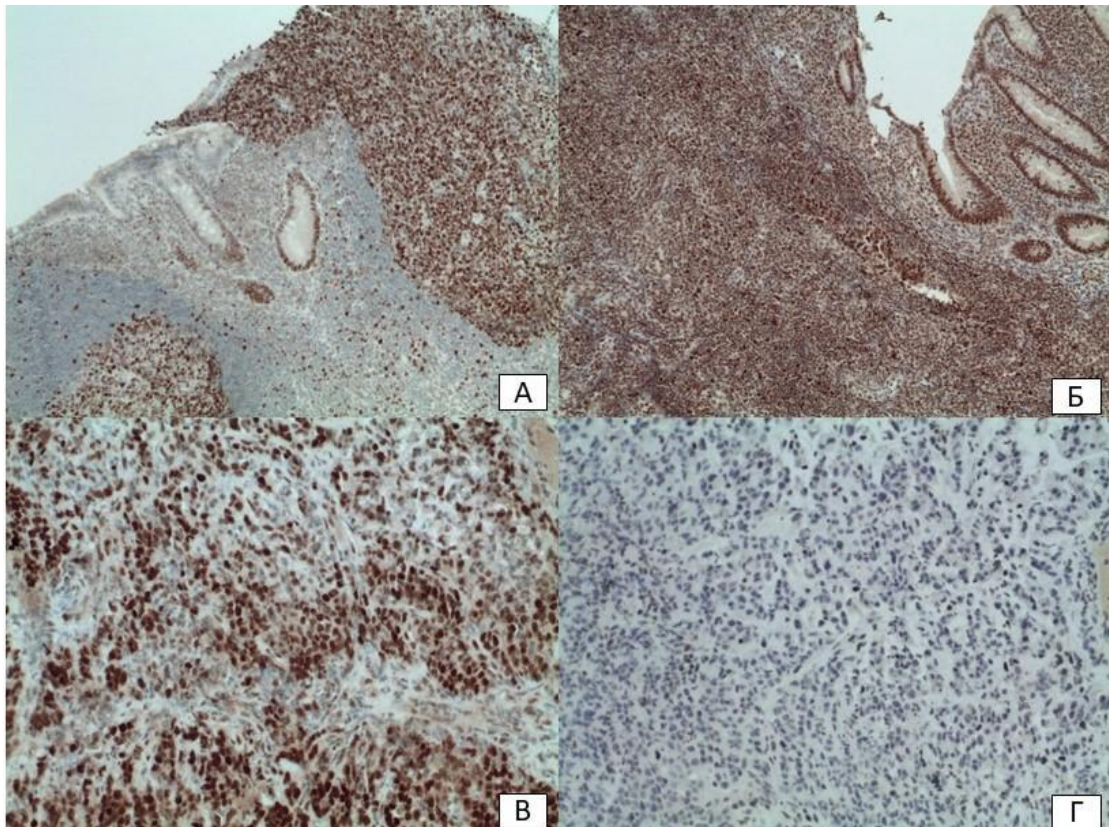
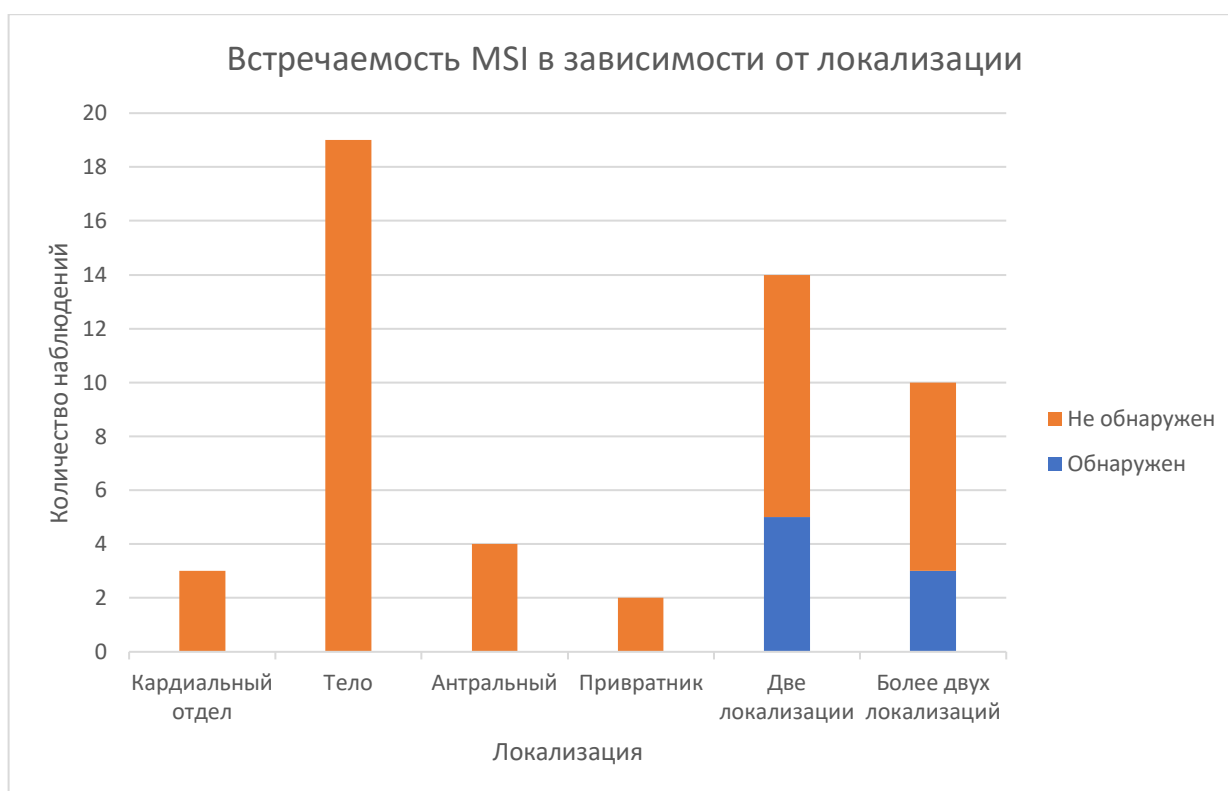


Рисунок 10 – Микрофотография. Стенка червеобразного отростка, внешний контроль антител к MSH6 (А – х100) и PMS2 (Б – х100). Равномерная экспрессия MSH6 в опухоли (В – х200) и отсутствие экспрессии PMS2 в опухоли (Г – х200)

При анализе случаев микросателлитной нестабильности в наблюдениях РЖДТ, согласно протоколу эндоскопического исследования, оказалось, что признаки MSI были отмечены у тех пациентов, где злокачественная опухоль распространялась на две и более локализации (Рисунок 11).



**Рисунок 11 – Сравнительная характеристика иммуногистохимической реакции с маркерами микросателлитной нестабильности у пациентов с РЖДТ в зависимости от локализации опухолевого процесса**

Медиана возраста в группе с микросателлитной нестабильностью составила 70,5 лет (69,25–75,25 лет), в группе без микросателлитной нестабильности – 66 лет (58–73,25 года) (Рисунок 12). Значения в обеих группах были ненормально распределены. Сравнение двух групп было проведено с помощью критерия Манна–Уитни. Статистически значимых различий между группами не было выявлено ( $p = 0,16$ ).

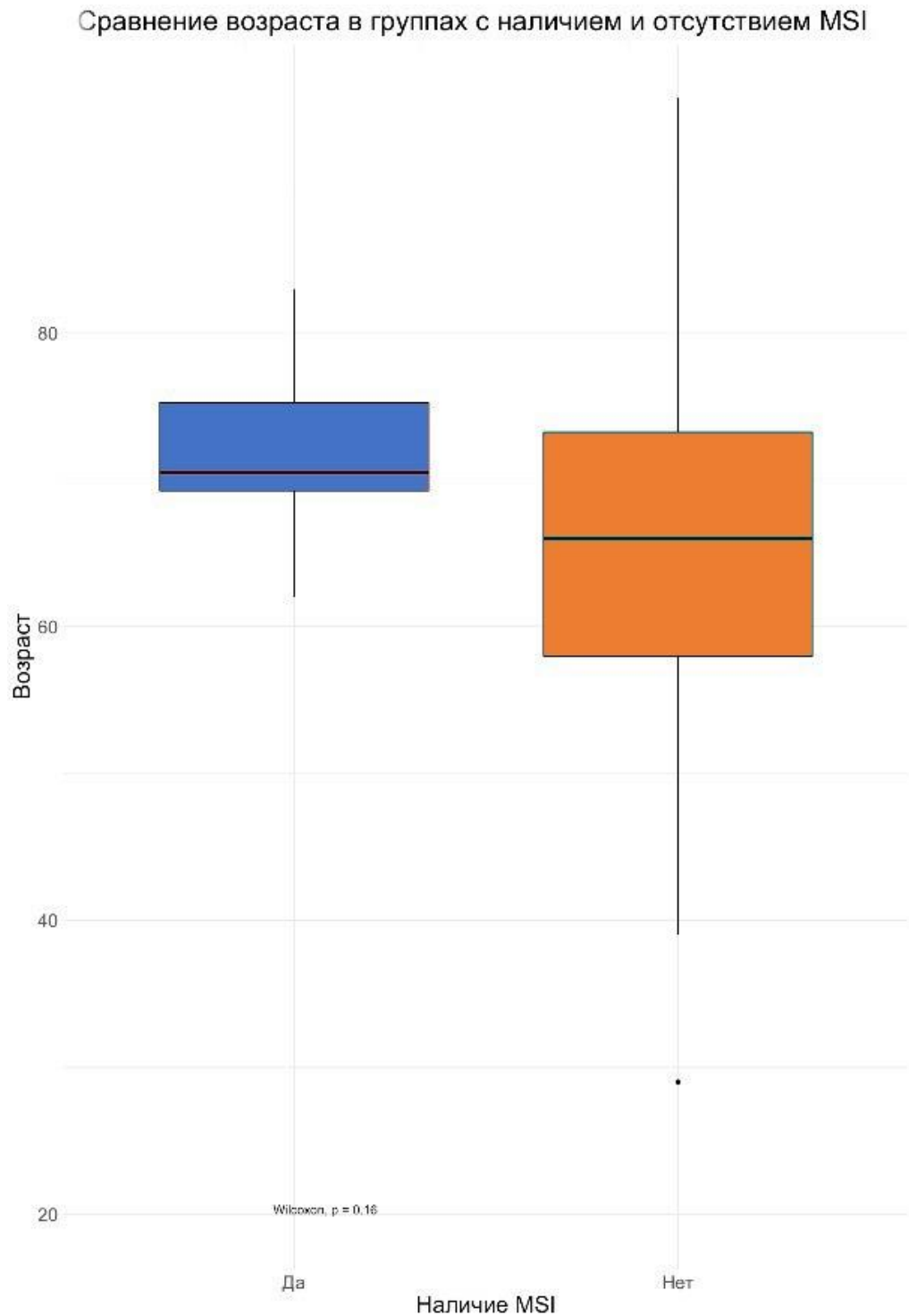


Рисунок 12 – Сравнительная характеристика иммуногистохимической реакции с маркерами MSI в зависимости от возраста у пациентов с РЖДТ

Статистический анализ с использованием критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса не выявил различий по полу между группами с наличием и отсутствием MSI ( $p = 0,3$ ; Рисунок 13).

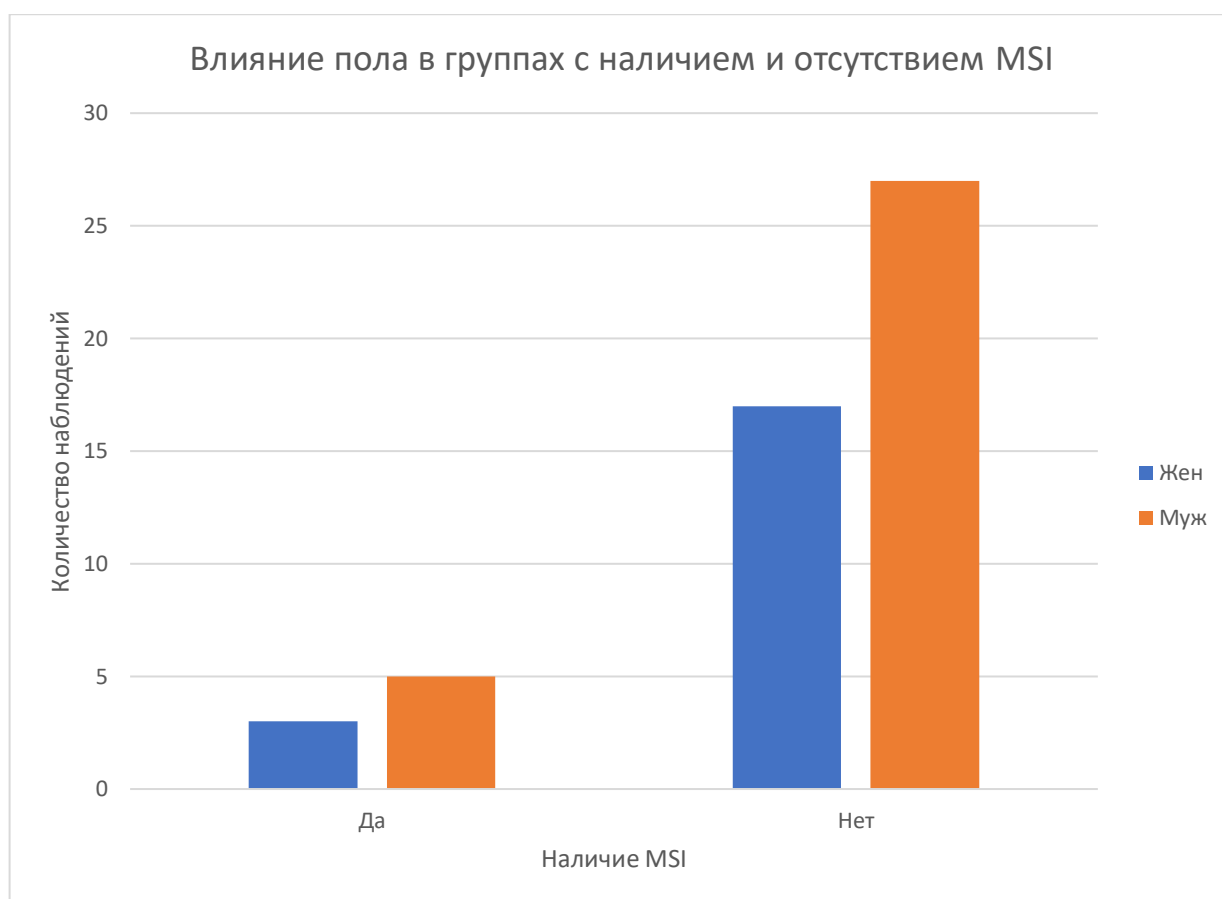


Рисунок 13 – Сравнительная характеристика иммуногистохимической реакции с маркерами MSI у пациентов с РЖДТ обоих полов

Статистический анализ с использованием критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса не выявил различий по составу перстневидно-клеточного компонента в группах с наличием и отсутствием MSI ( $p = 0,54$ ; Рисунок 14).

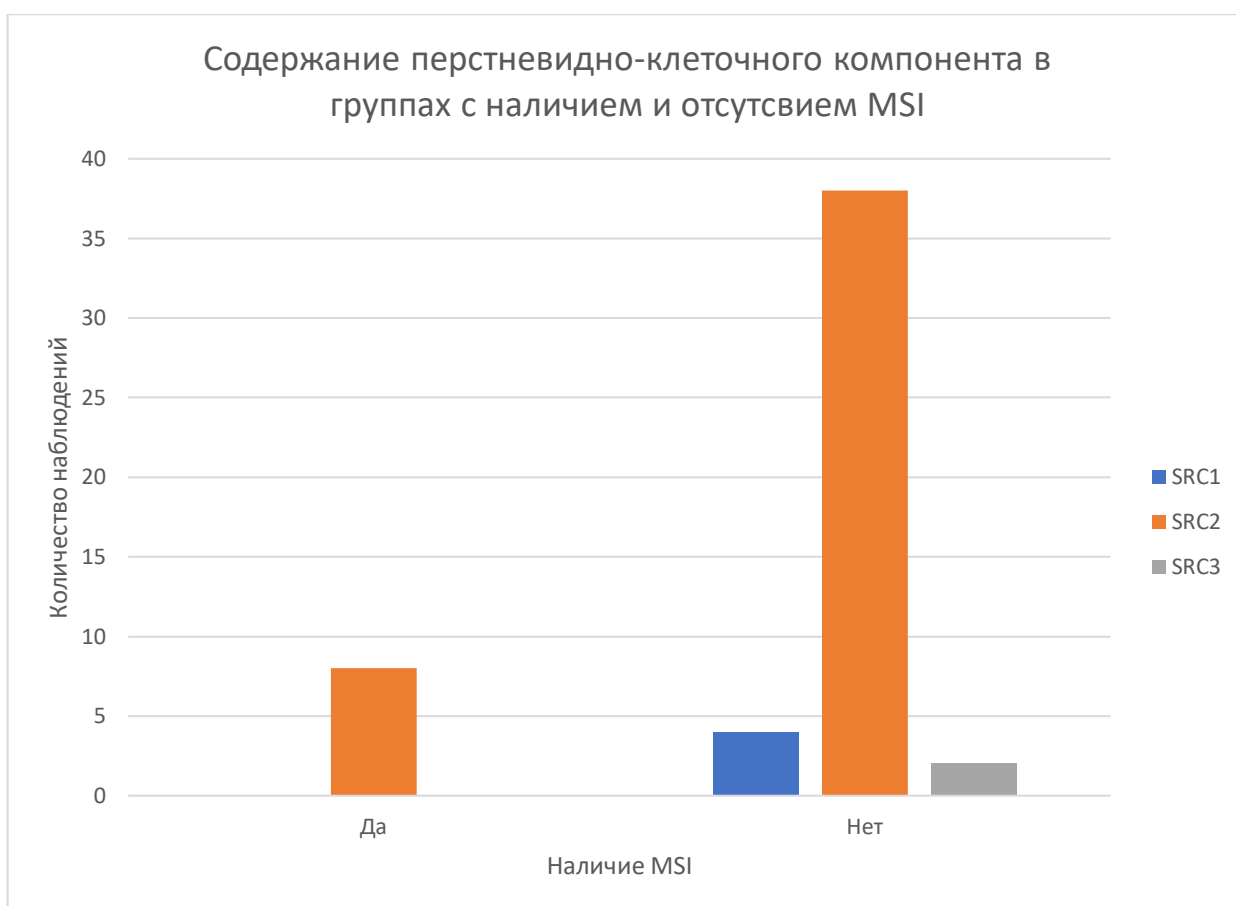


Рисунок 14 – Сравнительная характеристика процентного состава перстневидно-клеточного компонента у пациентов с наличием или отсутствием MSI

### 3.2.2. Иммуногистохимическое исследование с антителами к p53

В нашем исследовании мы наблюдали aberrantную экспрессию p53 у 11 пациентов, важно отметить, что во всех этих наблюдениях aberrантность выражалась в гиперэкспрессии (Рисунок 15).

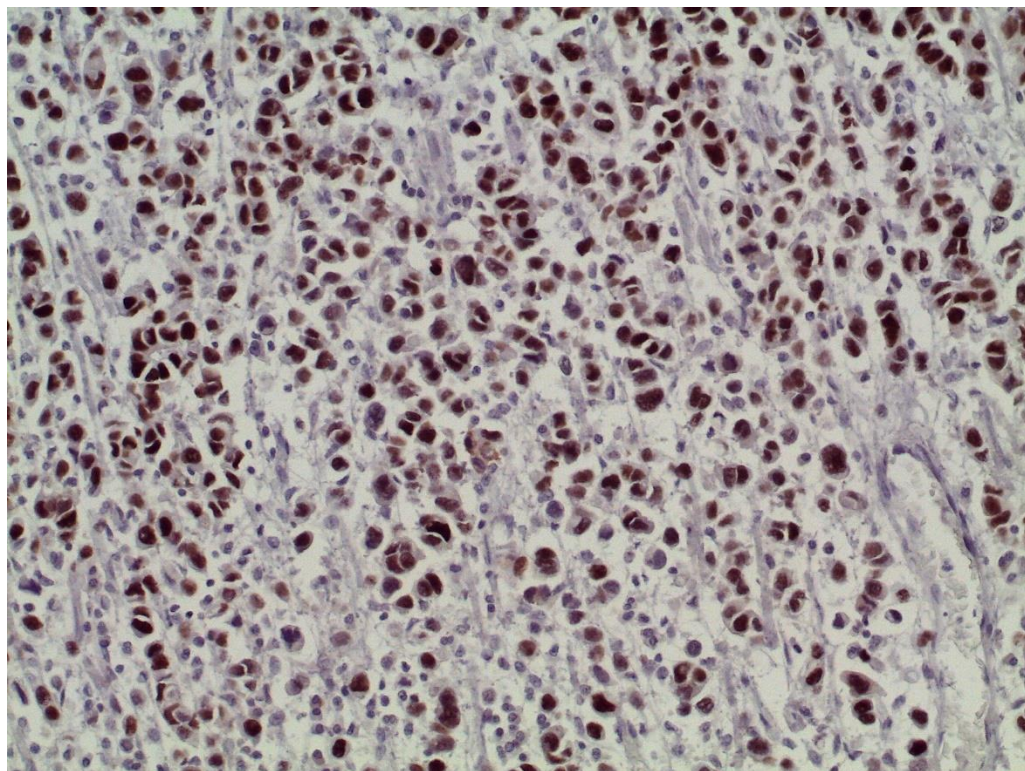


Рисунок 15 – Микрофотография. Иммуногистохимия. Аберрантная экспрессия антитела к p53, x200

При анализе вариантов экспрессии p53 в наблюдениях РЖДТ, согласно протоколу эндоскопического исследования, нами было выявлено, что нормальная экспрессия была отмечена при всех локализация РЖДТ, а аберрантная встречалась во всех отделах, кроме кардиального; статистически значимых значений не выявлено (Рисунок 16).



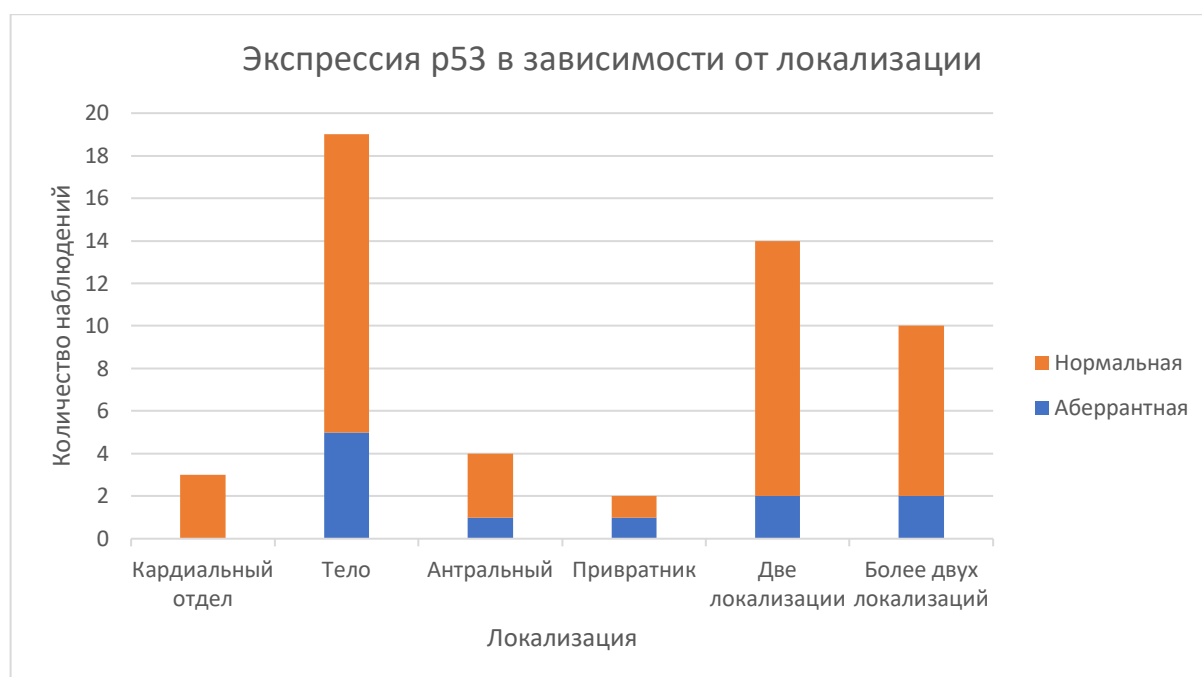


Рисунок 16 – Сравнительная характеристика иммуногистохимической реакции с маркером p53 у пациентов с РЖДТ в зависимости от локализации опухолевого процесса

Медиана возраста в группе с нормальной экспрессией p53 – 68 лет (58–73 года), в группе с аберрантной экспрессией p53 – 72 лет (65,5–76,5 лет; Рисунок 17). Значения в обеих группах были ненормально распределены. Сравнение двух групп было проведено с помощью критерия Манна–Уитни. Статистически значимых различий не было выявлено ( $p = 0,36$ ).

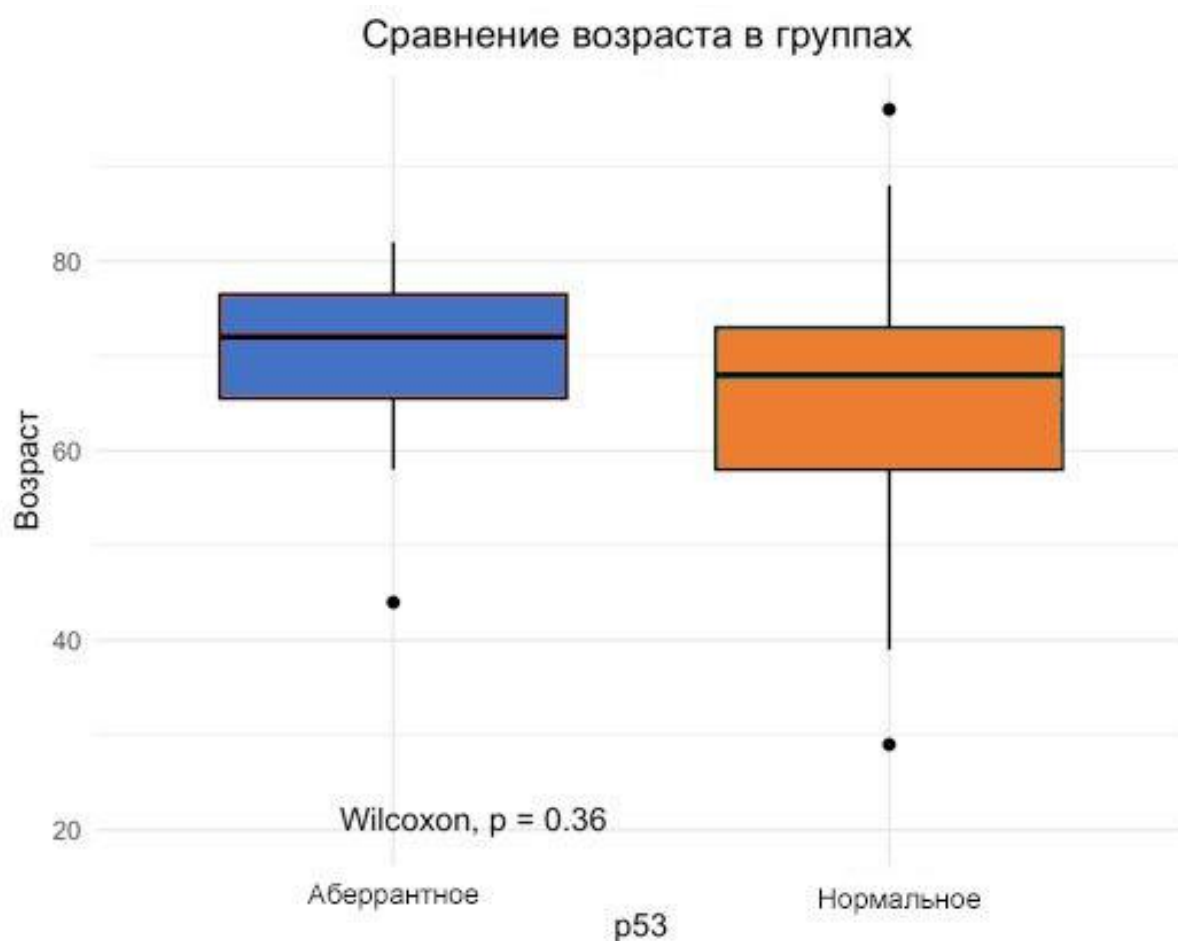


Рисунок 17 – Сравнительная характеристика иммуногистохимической реакции с антителом к p53 в зависимости от возраста у пациентов с РЖДТ

Статистический анализ с использованием критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса не выявил различий по полу между группами с нормальной и аберрантной экспрессией p53 ( $p = 0,22$ ; Рисунок 18).

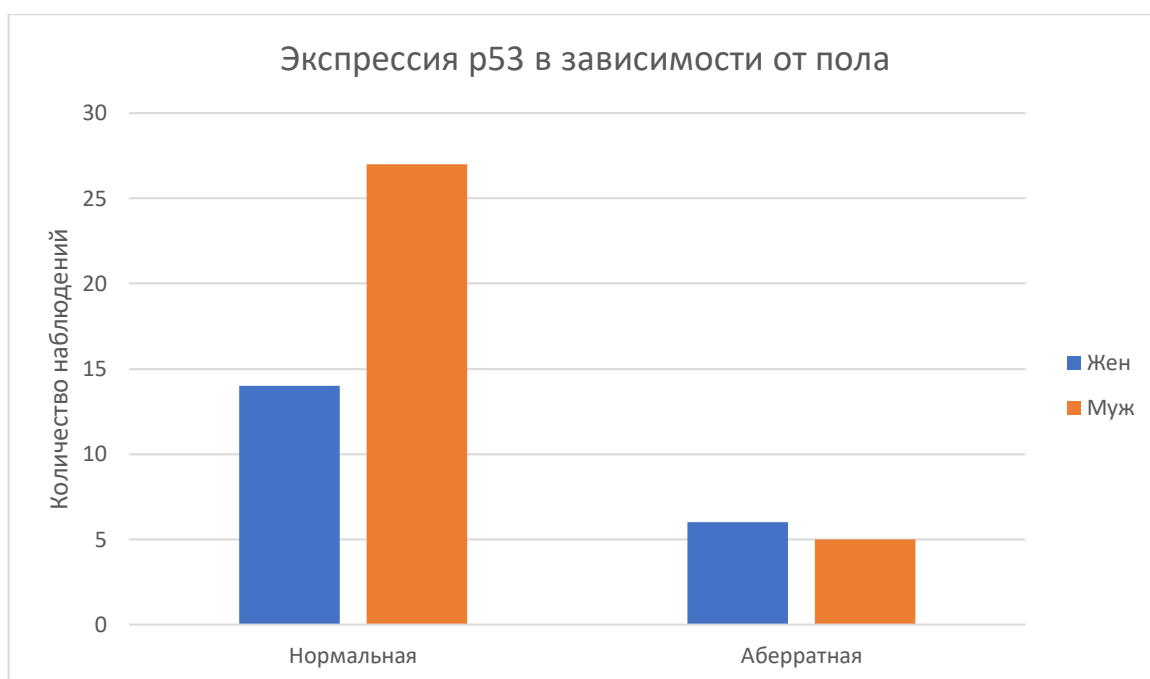


Рисунок 18 – Сравнительная характеристика иммуногистохимической реакции с маркером p53 у пациентов с РЖДТ обоих полов

Статистический анализ с использованием критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса выявил статистически значимые различия между аберрантной экспрессией p53 у пациентов с отсутствием ИГХ признаков MSI ( $p < 0,05$ ; Рисунок 19).



Рисунок 19 – Сравнительная характеристика взаимосвязи наличия иммуногистохимической экспрессии p53 в случаях с наличием или отсутствием MSI

Статистический анализ с использованием критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса не выявил различий по составу перстневидно-клеточного компонента в группах с нормальной и аберрантной экспрессией p53 ( $p = 0,18$ ; Рисунок 20).

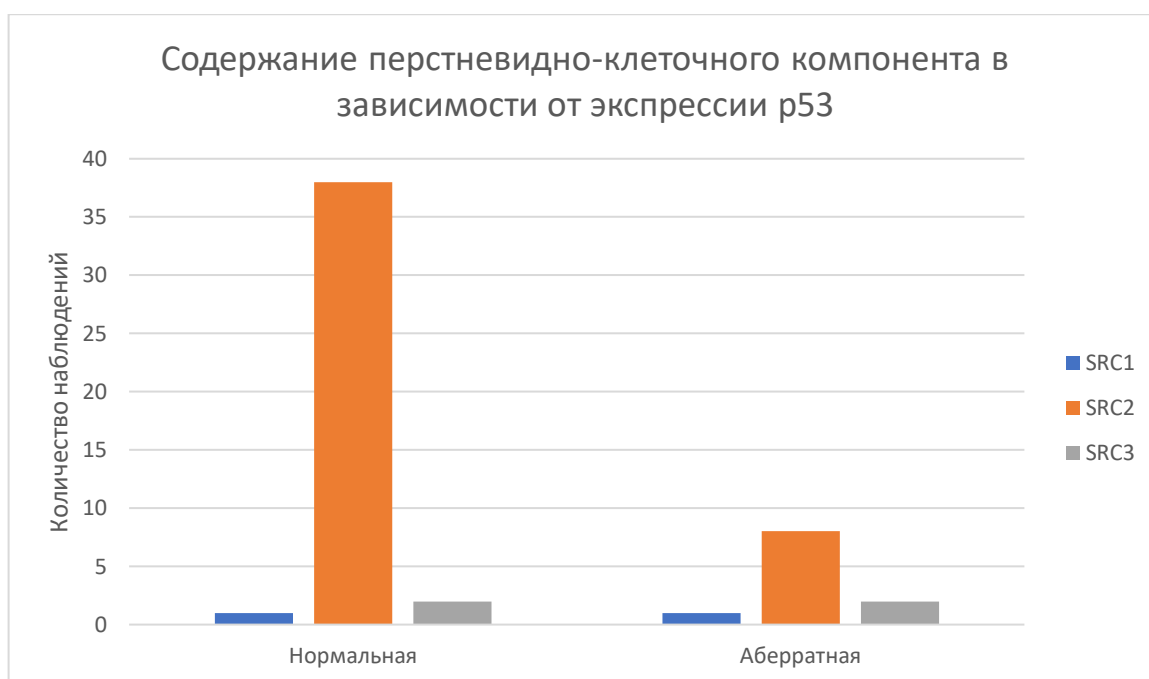


Рисунок 20 – Сравнительная характеристика процентного состава перстневидно-клеточного компонента у пациентов с нормальной или аберрантной экспрессией p53

### 3.2.3. Результаты иммуногистохимического исследования с антителами к E-cadherin

Мы провели анализ экспрессии E-cadherin, используя систему подсчета баллов, в которой баллы 0 и 1 (0 = полное отсутствие экспрессии и 1 = цитоплазматическая экспрессия) считались отрицательной экспрессией, а баллы 2 и 3 (2 = цитоплазматическая в сочетании с мембранной экспрессией и 3 = мембранная экспрессия) были определены как положительная экспрессия.

Так, полное отсутствие экспрессии E-cadherin отмечено в 16 случаях, цитоплазматическая экспрессия – у 7 пациентов (44,23% отрицательная экспрессия; Рисунок 21, Рисунок 22). Цитоплазматическая экспрессия в сочетании с мембранной зафиксированы в 10 наблюдениях (Рисунок 23), в то время как мембранная экспрессия E-cadherin была у 19 пациентов (55,77% положительная экспрессия; Рисунок 24; Таблица 5).

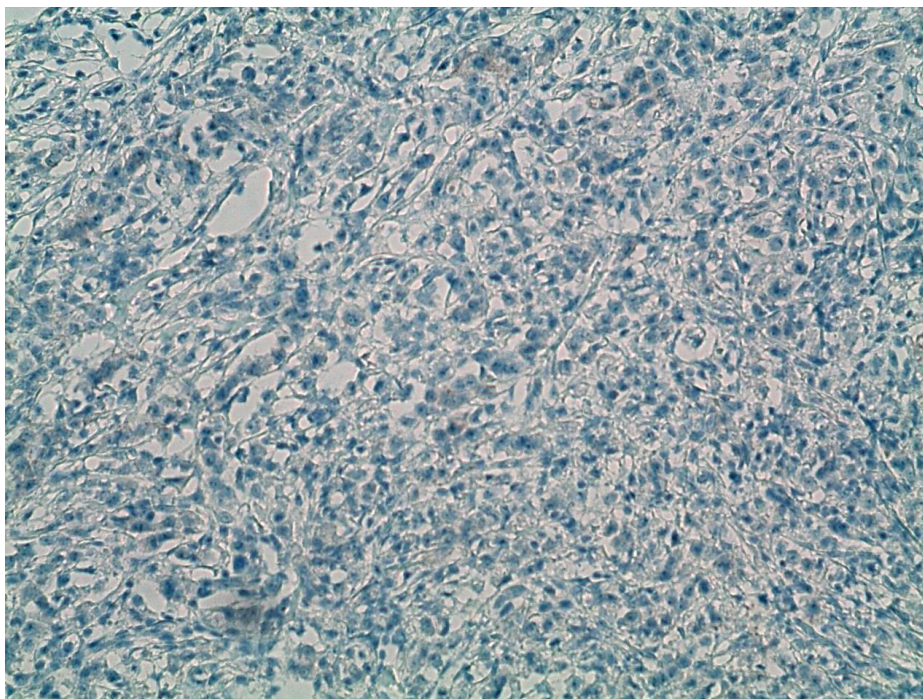


Рисунок 21 – Микрофотография. Иммуногистохимия. Отсутствие иммуногистохимической экспрессии антитела к E-cadherin, x200

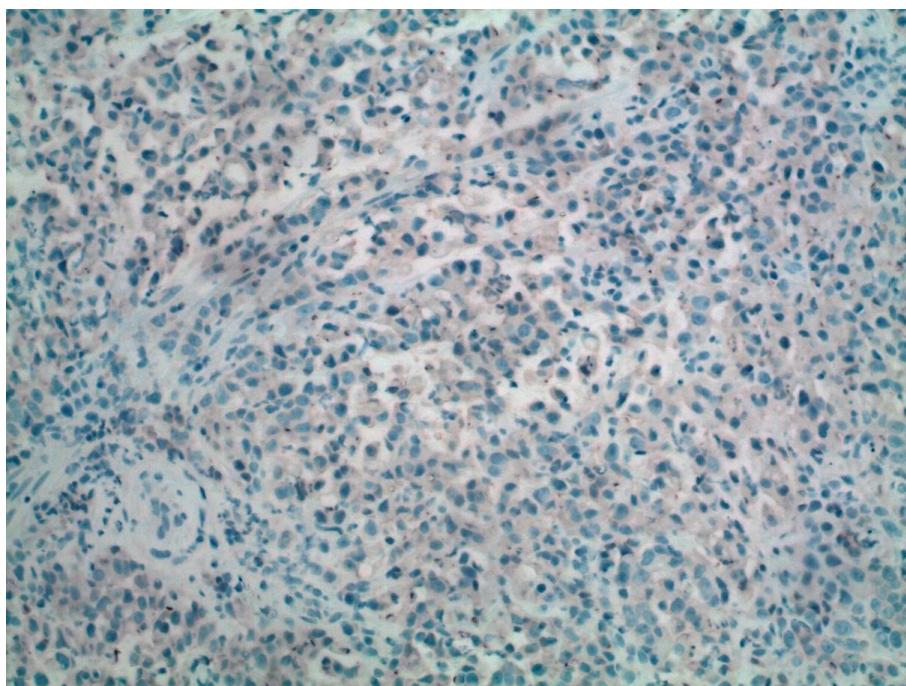


Рисунок 22 – Микрофотография. Иммуногистохимия. Слабая цитоплазматическая экспрессия антитела к E-cadherin, x200

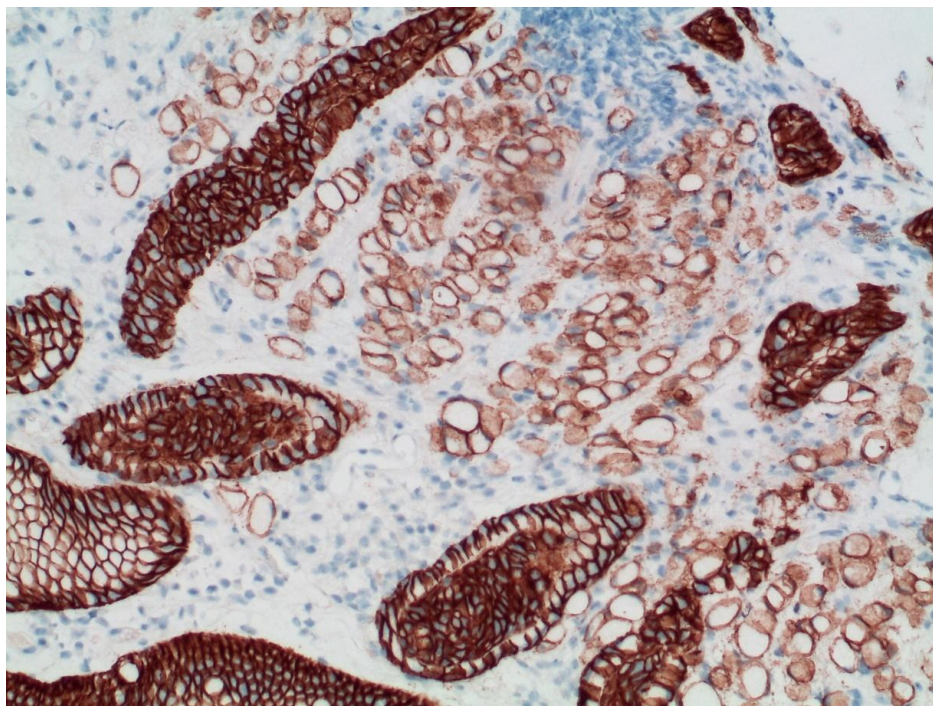


Рисунок 23 – Микрофотография. Иммуногистохимия. Мембранная и цитоплазматическая экспрессия антитела к E-cadherin, x200

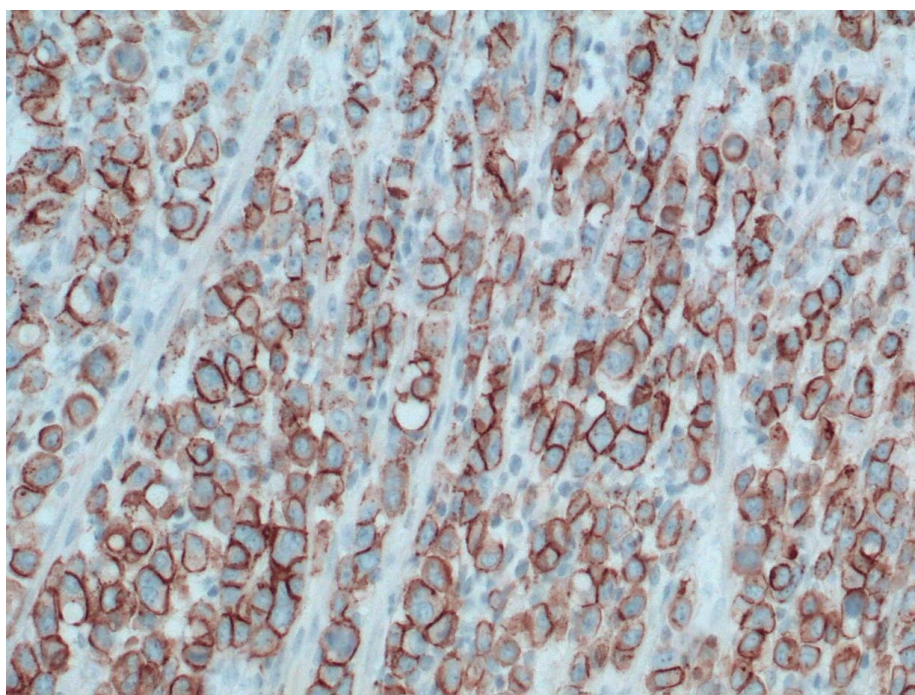


Рисунок 24 – Микрофотография. Иммуногистохимия. Мембранная экспрессия антитела к E-cadherin, x200

Таблица 5 – Оценка ИГХ экспрессии с антителом к E-cadherin

Количество наблюдений (n)	Полное отсутствие экспрессии – 0 баллов	Цитоплазматическая экспрессия – 1 балл	Цитоплазматическая в сочетании с мембранной экспрессией – 2 балла	Мембранная экспрессия – 3 балла
52	16	7	10	19
	Отрицательная экспрессия 23 (44,23%)		Положительная экспрессия 29 (55,77%)	

При анализе экспрессии E-cadherin в наблюдениях РЖДТ случаи с отрицательной и положительной реакцией были отмечены во всех отделах желудка, статистически значимых значений не выявлено (Рисунок 25).

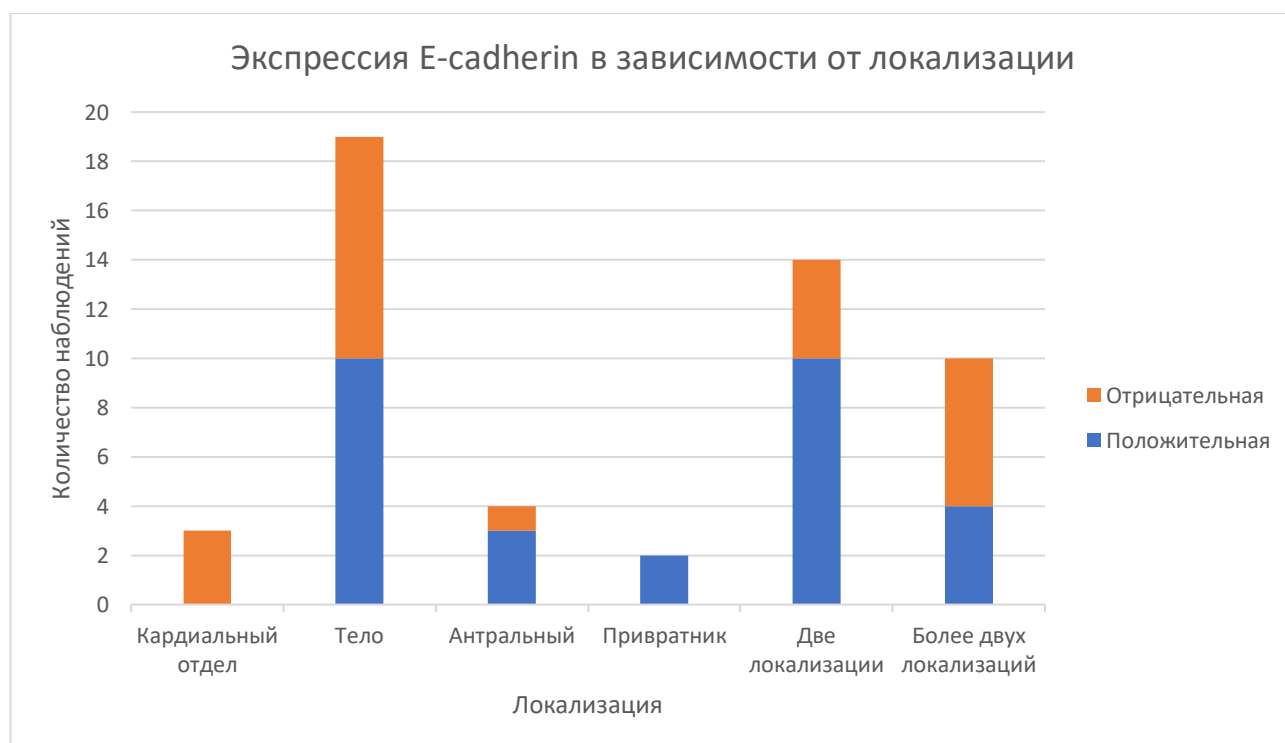


Рисунок 25 – Сравнительная характеристика иммуногистохимической реакции с маркером E-cadherin у пациентов с РЖДТ в зависимости от локализации опухолевого процесса



Медиана возраста в группе с положительной экспрессией E-cadherin составила 71 год (66–78 лет), в группе с отрицательной экспрессией E-cadherin – 59 лет (49–70,5 лет; Рисунок 26). Значения в обеих группах были ненормально распределены. Сравнение двух групп было проведено с помощью критерия Манна–Уитни. Были выявлены статистически значимые различия ( $p = 0,004$ ), положительная экспрессия наблюдалась у пациентов более старшей возрастной группы.

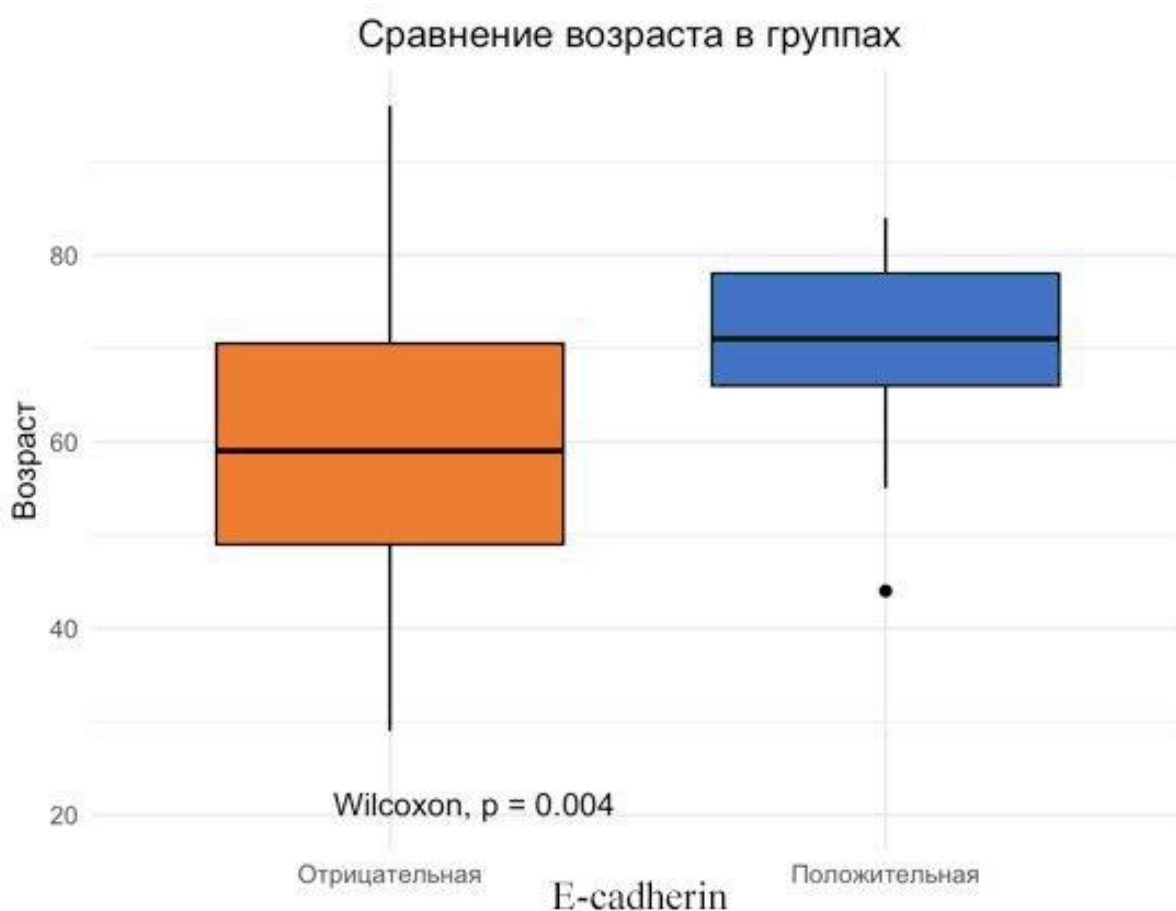


Рисунок 26 – Сравнительная характеристика иммуногистохимической реакции с антителом к E-cadherin в зависимости от возраста у пациентов с РЖДТ

Статистический анализ с использованием критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса не выявил различий по полу между группами с отрицательной и положительной экспрессией E-cadherin ( $p = 0,63$ ; Рисунок 27).

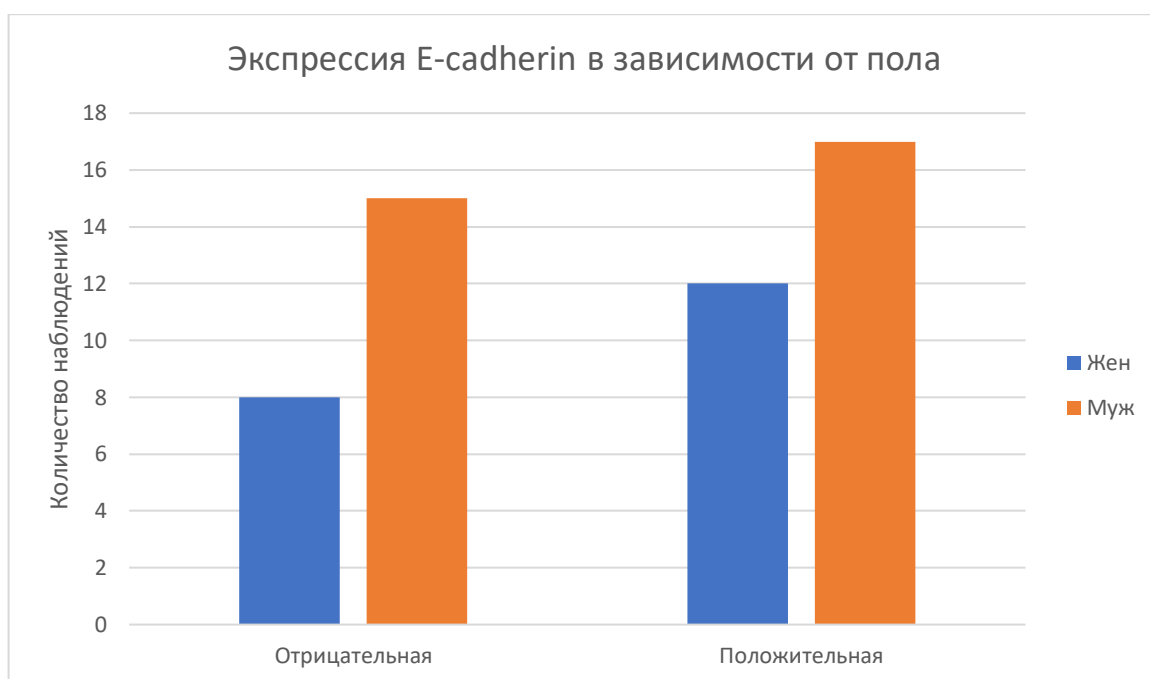


Рисунок 27 – Сравнительная характеристика иммуногистохимической реакции с маркером E-cadherin у пациентов с РЖДТ обоих полов

Статистический анализ с использованием критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса выявил более частую экспрессию E-cadherin в группе с наличием MSI ( $p = 0,0187$ ; Рисунок 28).

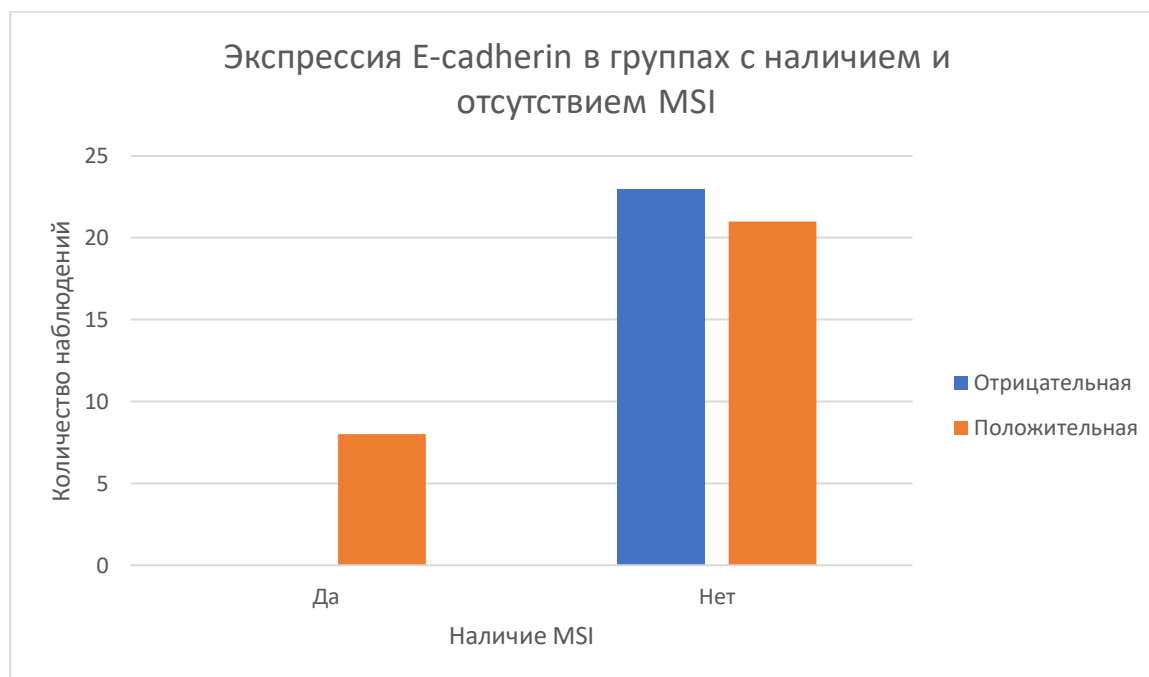


Рисунок 28 – Сравнительная характеристика взаимосвязи экспрессии E-cadherin в случаях с наличием или отсутствием MSI

Статистический анализ с использованием критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса выявил статистически значимые различия, положительная экспрессия E-cadherin связана с aberrантной экспрессией p53 ( $p < 0,001$ ; Рисунок 29).

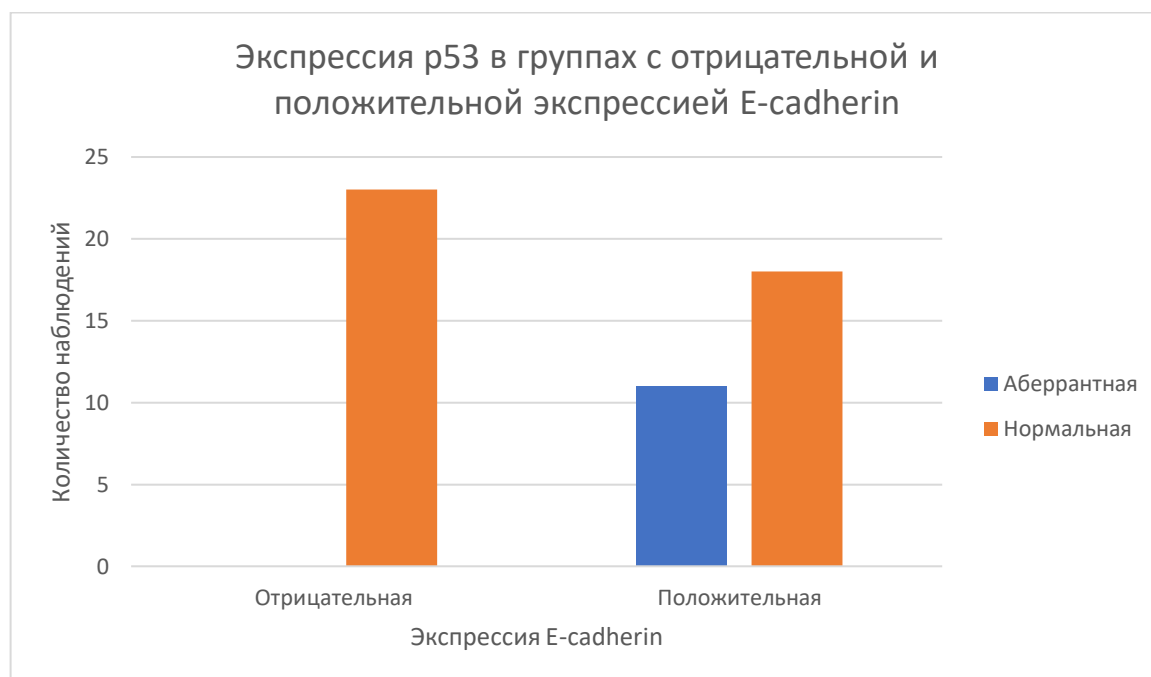


Рисунок 29 – Сравнительная характеристика взаимосвязи наличия экспрессии E-cadherin в случаях с нормальной и aberrантной экспрессией p53

### 3.3. Результаты определения PD-L1 и HER2-статуса в раке желудка диффузного типа

#### 3.3.1. Результаты определения PD-L1 статуса в раке желудка диффузного типа

Положительный результат был получен в 8 наблюдениях, при этом в 5 случаях CPS составил более 1, но менее 10 (Рисунок 30), в 2 случаях – более 10, но менее 20 (Рисунок 31) и еще у 1 пациента показатель CPS был равен 100 (Рисунок 32).

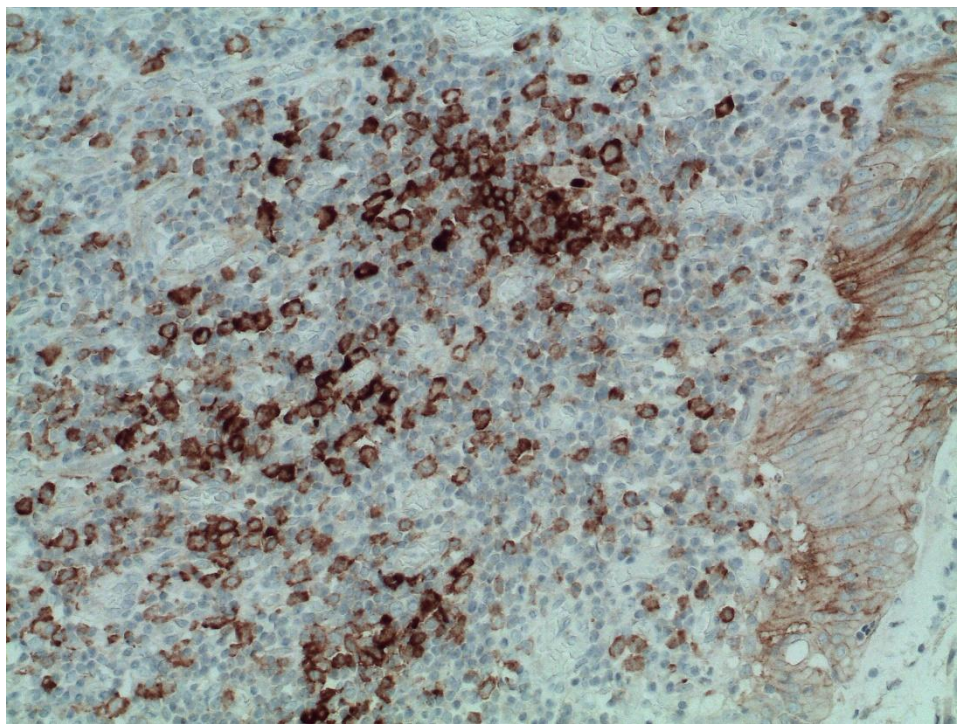


Рисунок 30 – Микрофотография. Иммуногистохимическое исследование с антителом к PD-L1, CPS >1, но <10, x200

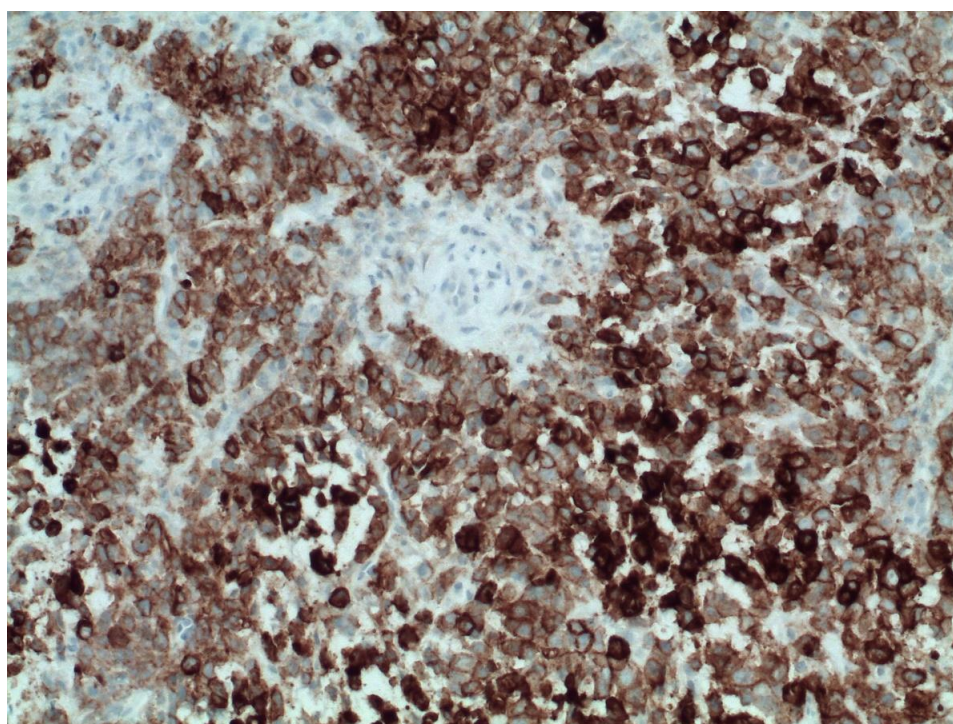


Рисунок 31 – Микрофотография. Иммуногистохимическое исследование с антителом к PD-L1, CPS >10, но <20, x400

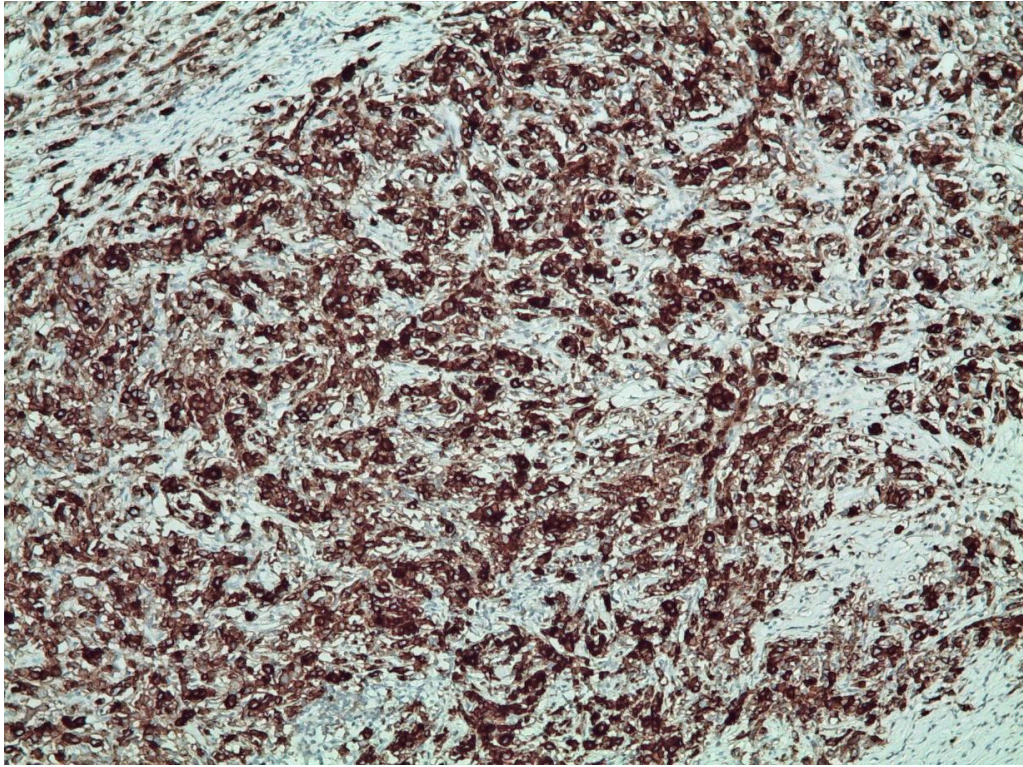


Рисунок 32 – Микрофотография. Иммуногистохимическое исследование с антителом к PD-L1, CPS = 100, x200

Статистический анализ с использованием критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса выявил взаимосвязь между PD-L1 статусом опухоли в группе с наличием MSI ( $p < 0,001$ ; Рисунок 33).

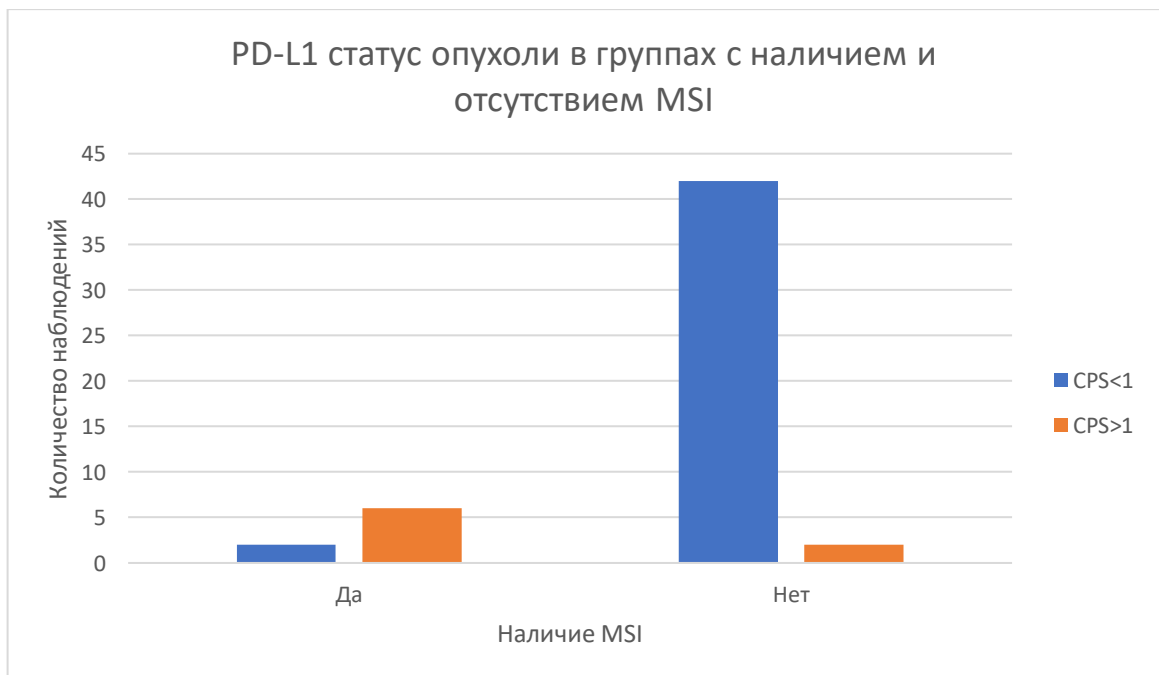


Рисунок 33 – Сравнительная характеристика взаимосвязи статуса PD-L1 и наличия MSI

Статистический анализ с использованием критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса не выявил статистически значимых различий между группами с нормальной и aberrантной экспрессией p53 и PD-L1 статусом опухоли ( $p > 0,05$ ; Рисунок 34).



Рисунок 34 – Сравнительная характеристика взаимосвязи статуса PD-L1 и экспрессии p53

В 2 (3,84%) наблюдениях был выявлен положительный PD-L1 статус опухоли в сочетании с aberrантной экспрессией p53, вероятнее всего, именно эти случаи могут быть отнесены к молекулярному подтипу, обусловленному CIN.

Статистический анализ с использованием критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса выявил достоверную взаимосвязь отрицательного статуса PD-L1 в группе с отрицательной экспрессией E-cadherin ( $p = 0,0288$ ; Рисунок 35).

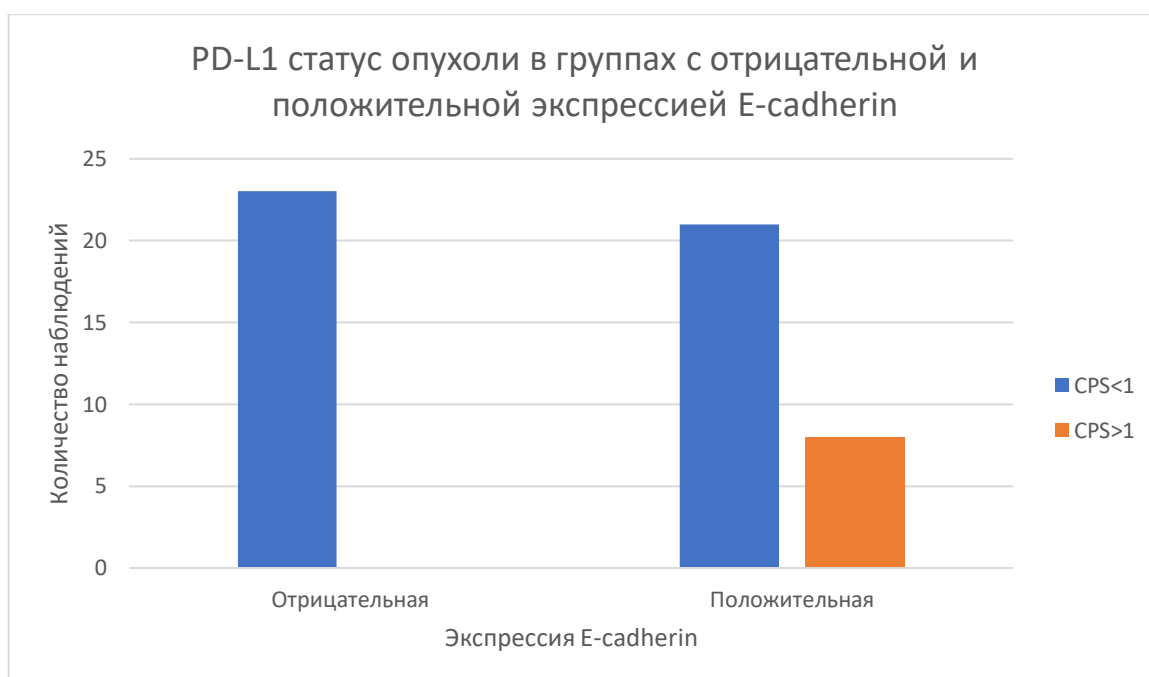


Рисунок 35 – Сравнительная характеристика взаимосвязи статуса PD-L1 и экспрессии E-cadherin

### 3.3.2. Результаты иммуногистохимического определения HER2-статуса в раке желудка диффузного типа

В нашем исследовании в 2 случаях был выявлен положительный HER2-статус (Рисунок 36).

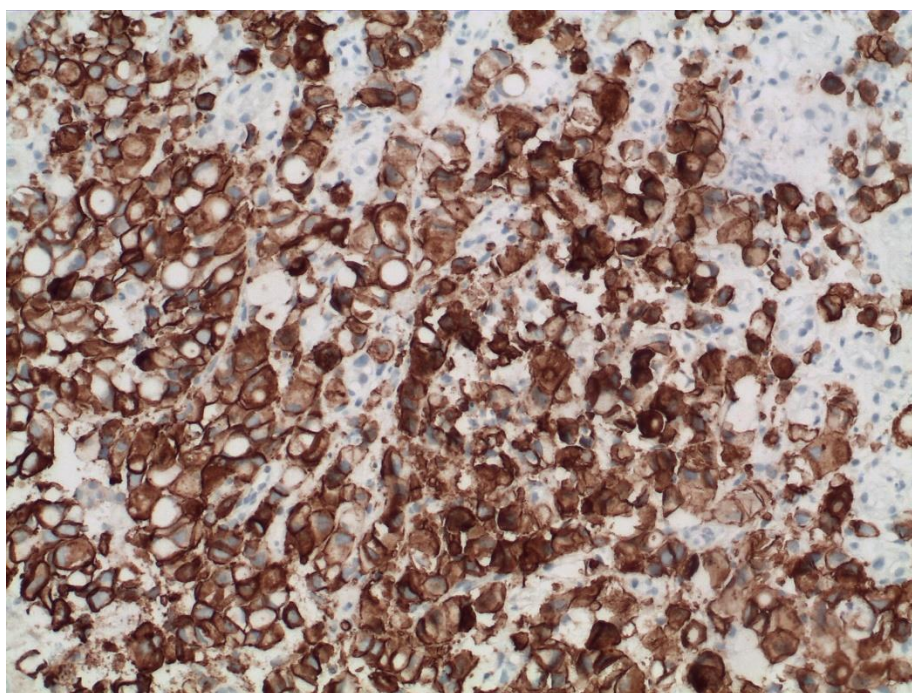


Рисунок 36 – Микрофотография. Иммуногистохимия. Положительный HER2-статус опухоли, x200

Также в 3 наблюдениях установлен неопределенный статус (Рисунок 37).

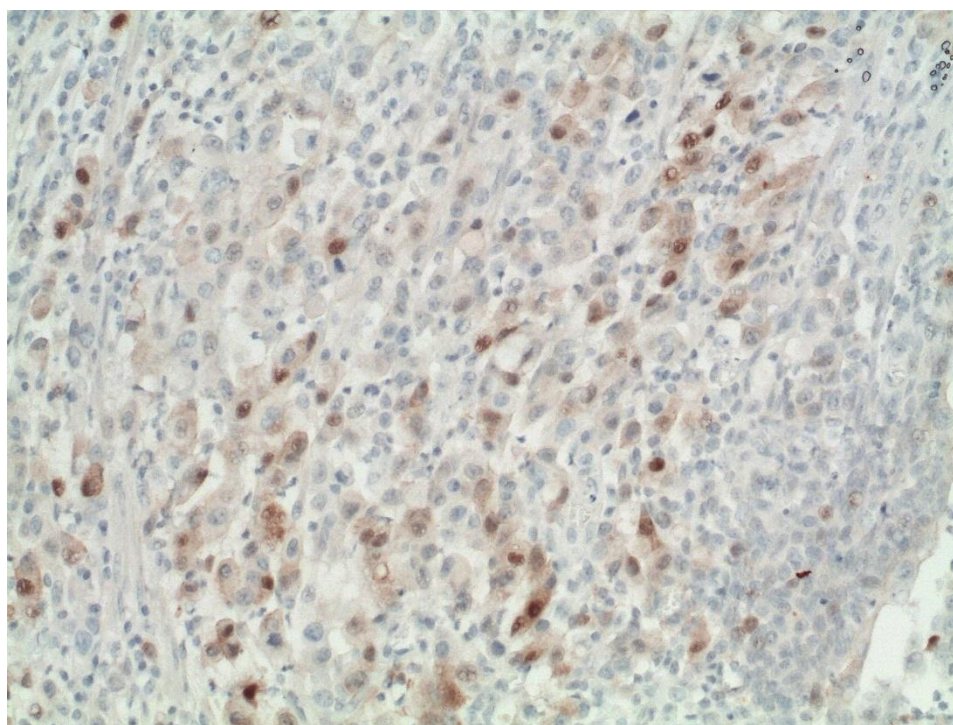


Рисунок 37 – Микрофотография. Иммуногистохимия. Неопределенный HER2-статус опухоли, x200



Статистический анализ с использованием критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса не выявил различий по HER2-статусу в группах с наличием и отсутствием MSI (Рисунок 38), отрицательной и положительной экспрессией E-cadherin (Рисунок 39), а также нормальной и aberrантной экспрессией p53 (Рисунок 40).

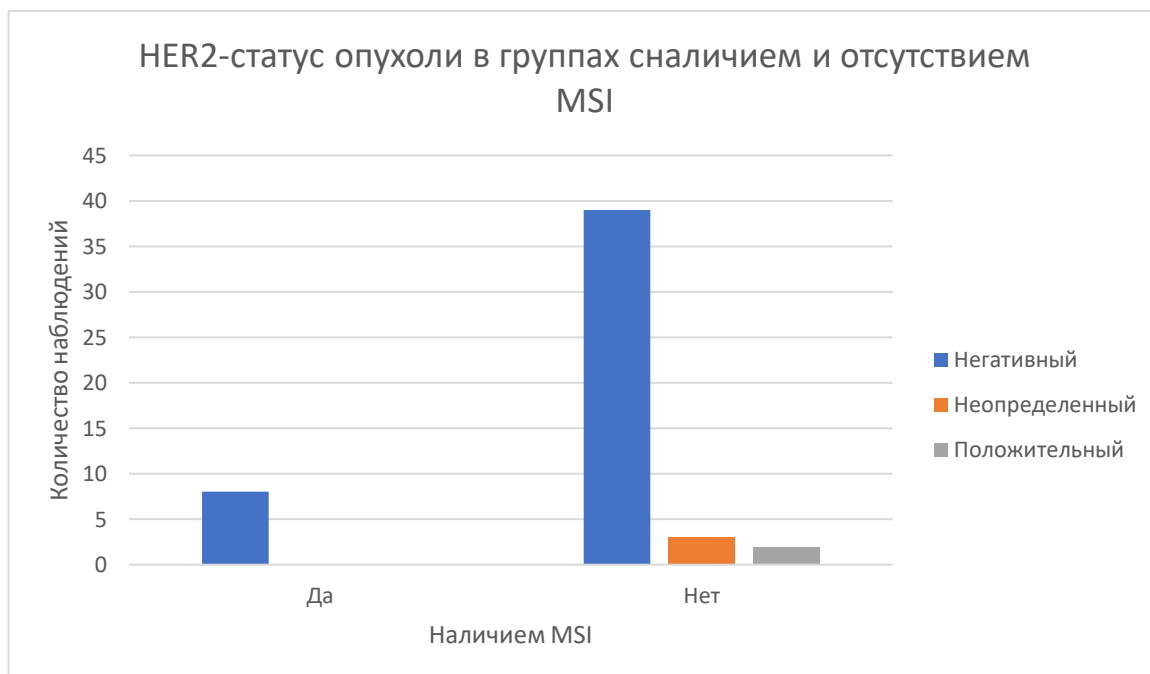


Рисунок 38 – Сравнительная характеристика взаимосвязи статуса HER2 и наличия или отсутствия MSI



Рисунок 39 – Сравнительная характеристика взаимосвязи статуса HER2 и экспрессии p53

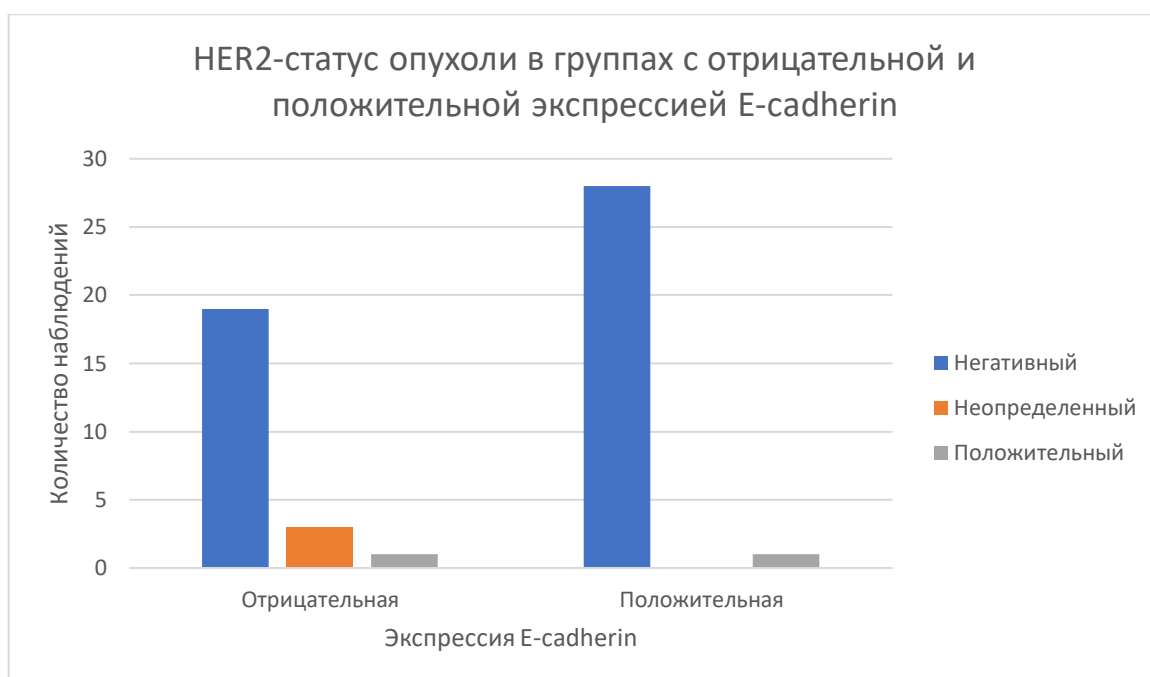


Рисунок 40 – Сравнительная характеристика взаимосвязи статуса HER2 и экспрессии E-cadherin

### 3.4. Определение этиологических факторов развития рака желудка диффузного типа

#### 3.4.1. Исследование рака желудка диффузного типа на наличие *Helicobacter pylori*

В нашем исследовании диагностика *H. pylori* показала, что два использованных метода (гистохимическая окраска по Романовскому–Гимзе и иммуногистохимия) продемонстрировали однотипный результат (Рисунок 41) – *H. pylori* был диагностирован у 5 обследованных пациентов (Рисунок 42, Рисунок 43).

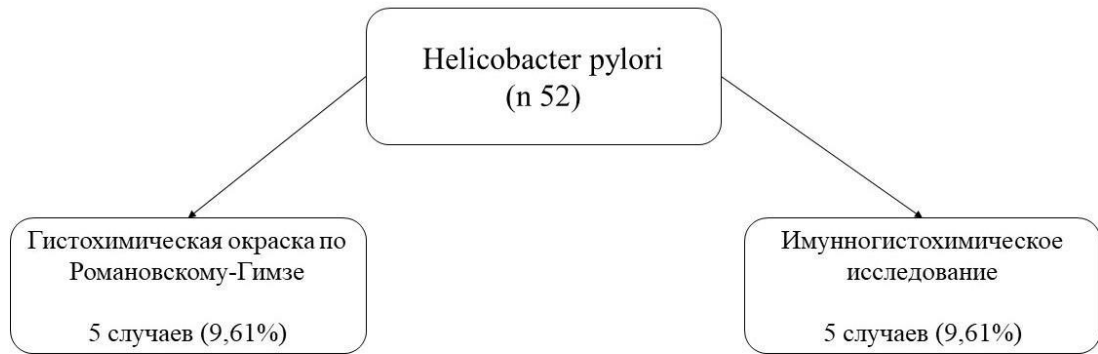


Рисунок 41 – Результаты исследования на наличие *H. pylori*

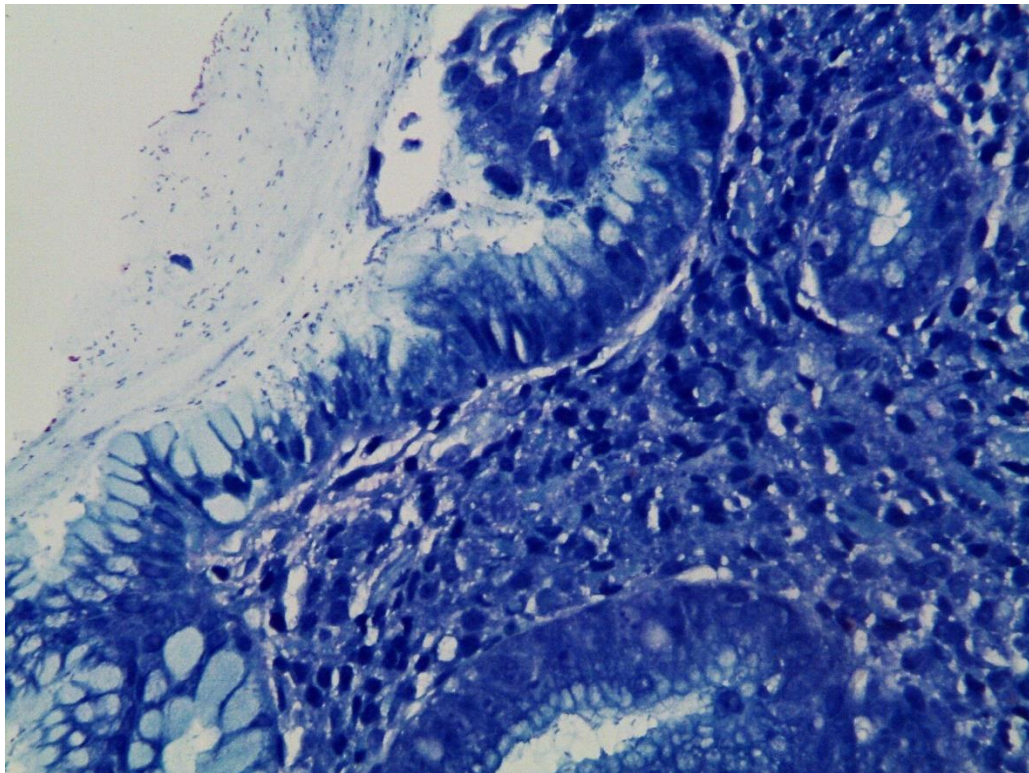


Рисунок 42 – Наличие *H. pylori* на поверхности слизистой желудка, окраска по Романовскому–Гимзе, x400

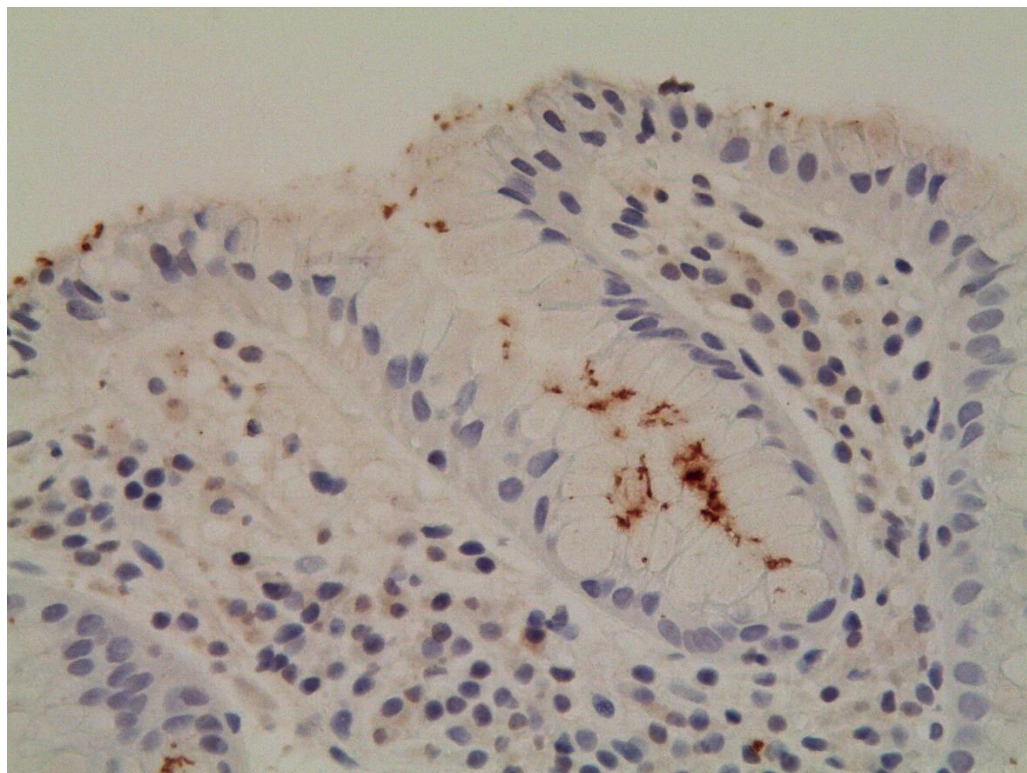


Рисунок 43 – Наличие *H. pylori* на поверхности слизистой желудка, иммуногистохимическое исследование, x400

Статистический анализ с использованием критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса не выявил различий обнаружения *H. pylori* в группах с наличием и отсутствием MSI (Рисунок 44), нормальной и aberrантной экспрессией p53 (Рисунок 45), а также отрицательной и положительной экспрессией E-cadherin (Рисунок 46).

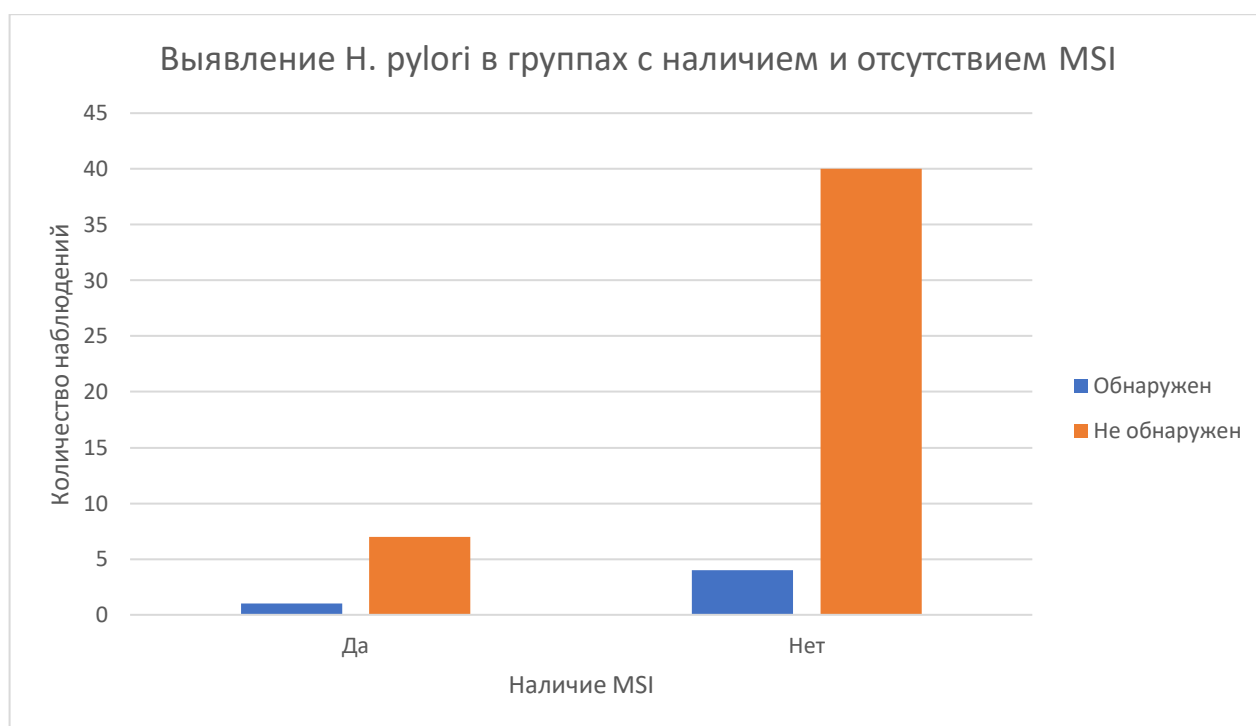


Рисунок 44 – Сравнительная характеристика выявления *H. pylori* у пациентов с наличием или отсутствием MSI



Рисунок 45 – Сравнительная характеристика выявления *H. pylori* в зависимости от экспрессии p53

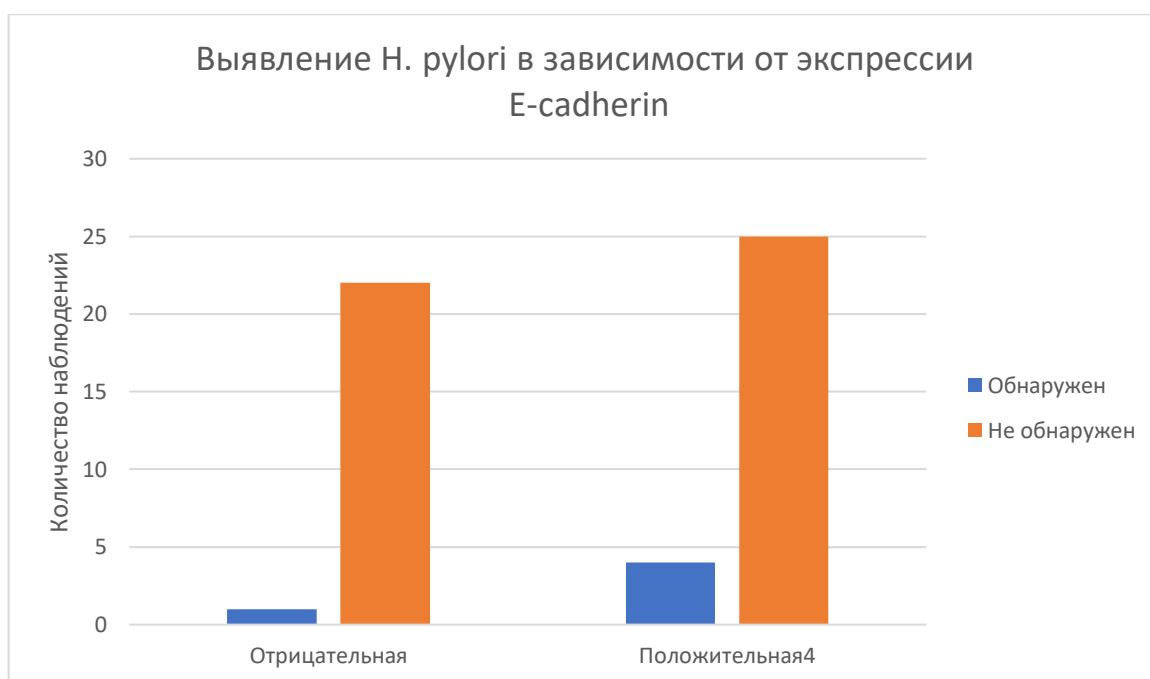


Рисунок 46 – Сравнительная характеристика выявления *H. pylori* в зависимости от экспрессии E-cadherin

### 3.4.2. Исследование рака желудка диффузного типа на наличие вирусов

При иммуногистохимическом исследовании с антителами к EBV мы не обнаружили положительной экспрессии (Рисунок 47), подтверждающей наличие EBV в нашей группе.

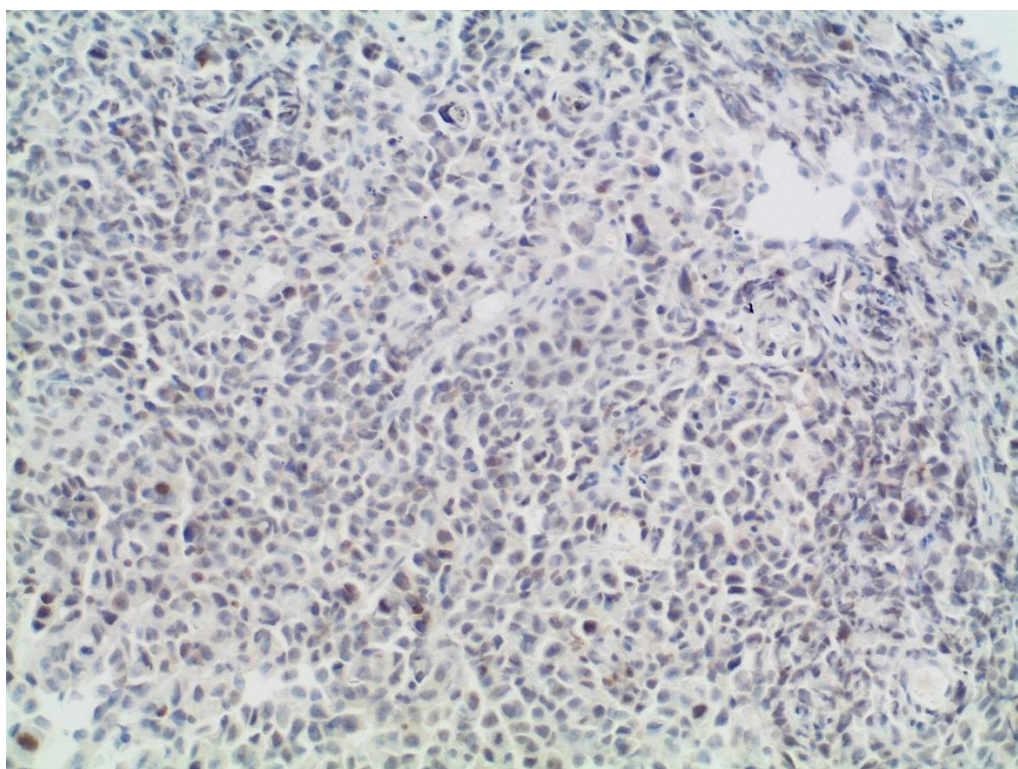


Рисунок 47 – Микрофотография. Иммуногистохимия. Отрицательная экспрессия с антителами к EBV, x200

Однако при проведении ПЦР у тех же пациентов положительный результат на наличие EBV был выявлен у 24 пациентов (Рисунок 48).

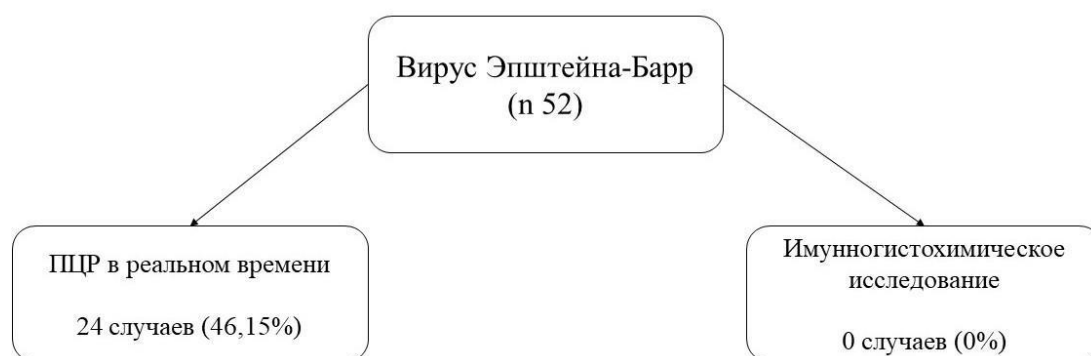


Рисунок 48 – Сравнительная характеристика результатов полимеразной цепной реакции и иммуногистохимии на наличие вируса Эпштейна-Барр

Наряду с EBV, при ПЦР были выявлены фрагменты ДНК к CMV у 8 (15,38%) пациентов и к HHV6 в 4 (7,69%) наблюдениях. Так, сочетание

EBV/CMV было выявлено у 6 пациентов, EBV/HHV6 – у 3 пациентов, CMV/HHV6 – у 2 пациентов (Рисунок 49).



Рисунок 49 – Результаты полимеразной цепной реакции в реальном времени на наличие вирусов

Статистический анализ с использованием критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса не выявил различий по наличию вирусов EBV, CMV и HHV6 в группах с наличием и отсутствием MSI ( $p = 0,88$ ,  $p = 1$ ,  $p = 0,72$  соответственно). Аналогичные статистические данные были получены при анализе взаимосвязи наличия вирусов с вариантами экспрессии p53 и E-cadherin.

### 3.5. Результаты иммуногистохимической характеристики рака желудка диффузного типа

#### 3.5.1. Результаты иммуногистохимического исследования с антителами к СК7/20

При анализе экспрессии СК7 наблюдалось полное отсутствие окрашивания в 9 наблюдениях – негативная реакция. Случаи с интенсивностью окрашивания



1+ в  $\leq 70\%$  опухолевых клеток отмечены у 2 пациентов, с интенсивностью 2+ в  $\leq 30\%$  опухолевых клеток в 6 наблюдениях, все они были отнесены к группе слабой реакции (Рисунок 50).

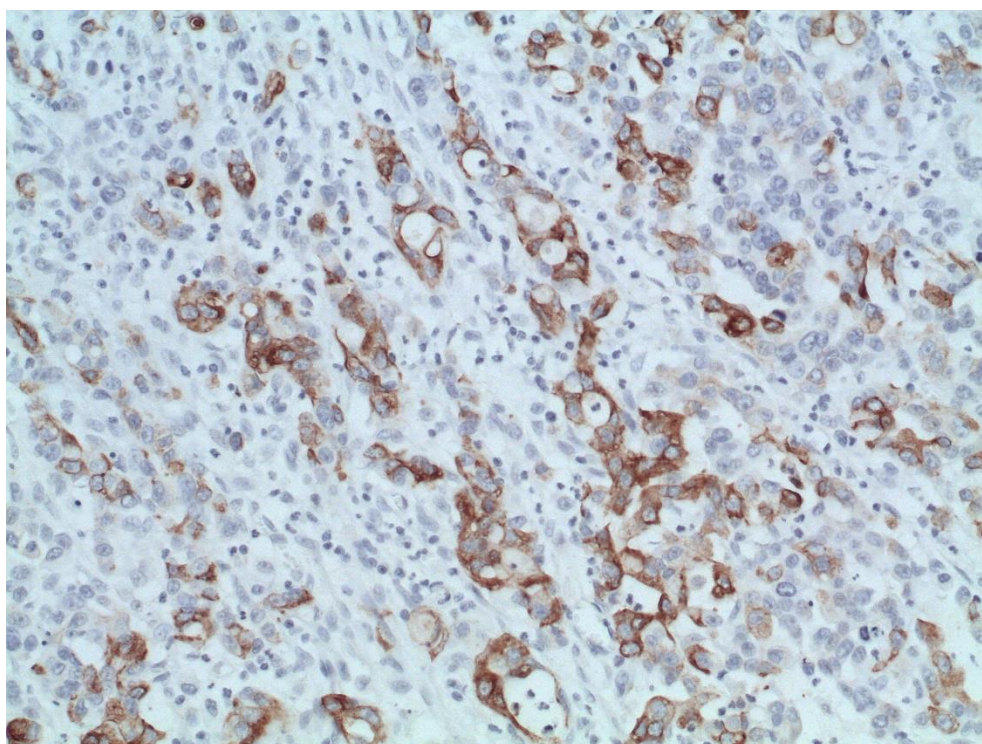


Рисунок 50 – Микрофотография. Иммуногистохимия. Слабая реакция с антителами к СК7, х200

Интенсивность окрашивания 1+ в  $>70\%$  опухолевых клеток обнаружена в 1 случае, интенсивность 2+ в 31–70% – в 4 наблюдениях и интенсивность 3+ в  $\leq 30\%$  – у 1 пациента, эти результаты отнесены к группе умеренной реакции (Рисунок 51).

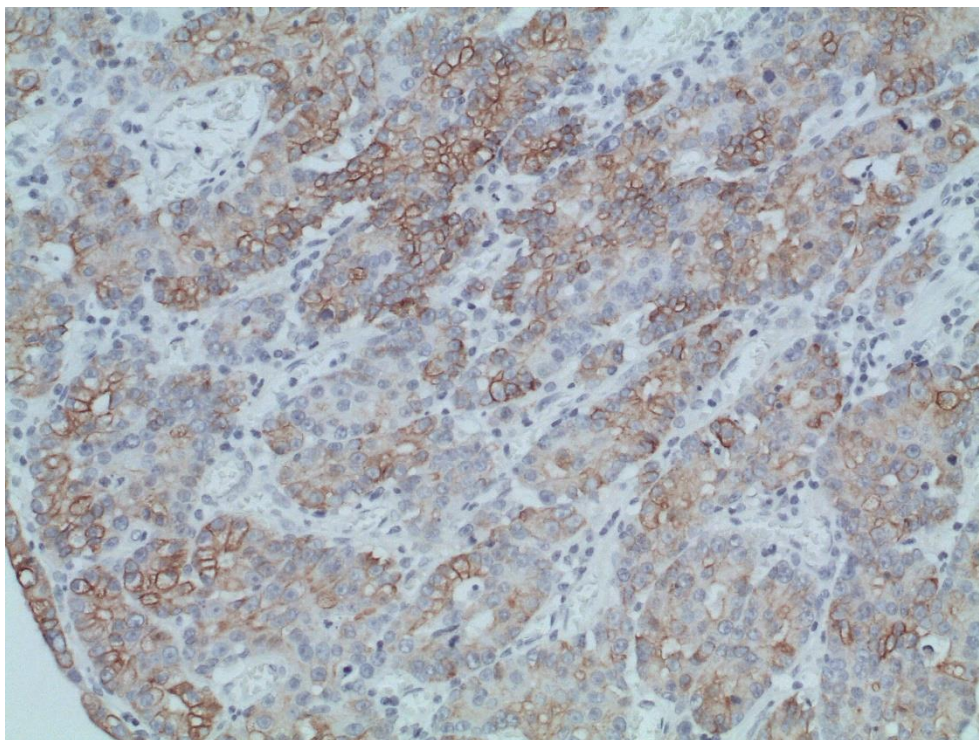


Рисунок 51 – Микрофотография. Иммуногистохимия. Умеренная реакция с антителами к СК7, х200

В 11 наблюдениях отмечена интенсивность 2+ в >70% опухолевых клеток, а интенсивностью 3+ в >30% опухолевых клеток выявлена в 18 случаях, вышеописанные данные отнесены к группе сильной реакции (Рисунок 52).

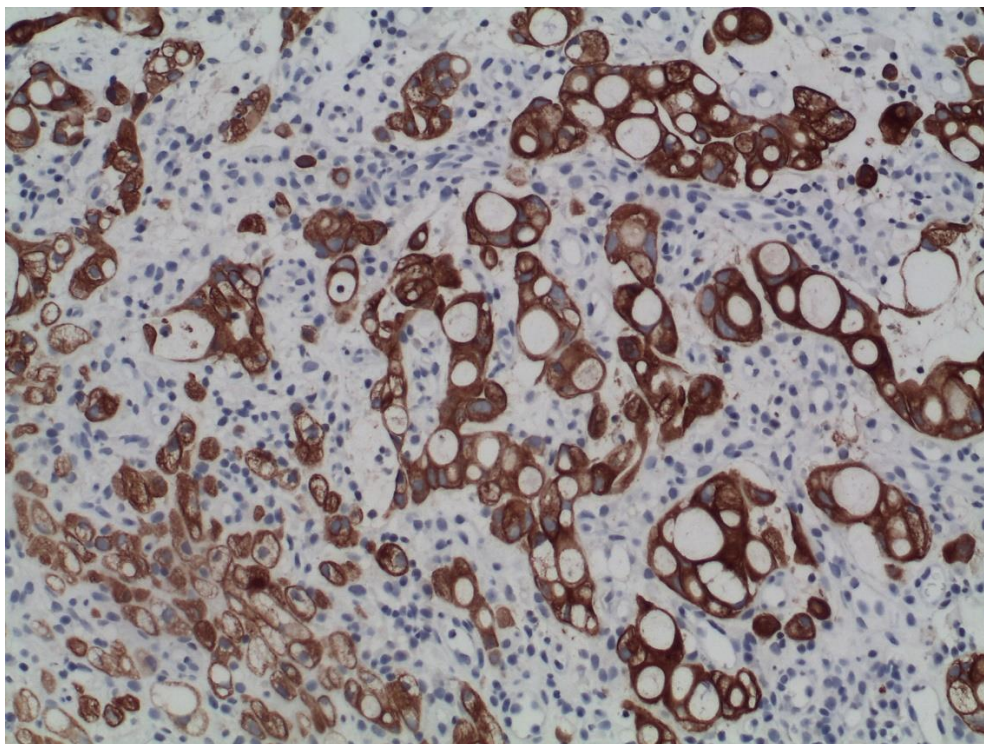


Рисунок 52 – Микрофотография. Иммуногистохимия. Сильная реакция с антителами к СК7, х200

По результатам оценки экспрессии с антителами к СК7 мы выявили 9 случаев с негативной реакцией, 8 наблюдений со слабой реакцией, 6 – с умеренной реакцией и 29 случаев с сильной реакцией (Таблица 6).

Таблица 6 – Оценка ИГХ-исследования с антителами к СК7

Интенсивность окрашивания	Доля окрашенных опухолевых клеток	Результат ИГХ	Количество наблюдений (n = 52)
0	0%	Негативная реакция	9
1+	$\leq 70\%$	Слабая реакция	2
2+	$\leq 30\%$	Слабая реакция	6
1+	$> 70\%$	Умеренная реакция	1
2+	31–70%	Умеренная реакция	4
2+	$> 70\%$	Сильная реакция	11
3+	$\leq 30\%$	Умеренная реакция	1
3+	$> 30\%$	Сильная реакция	18

При анализе экспрессии СК20 наблюдалось полное отсутствие окрашивания в 27 наблюдениях – негативная реакция. Случаи с интенсивностью окрашивания 1+ в  $\leq 70\%$  опухолевых клеток отмечены у 5 пациентов, с интенсивностью 2+ в  $\leq 30\%$  опухолевых клеток – в 8 наблюдениях, все они были отнесены к группе слабой реакции (Рисунок 53).

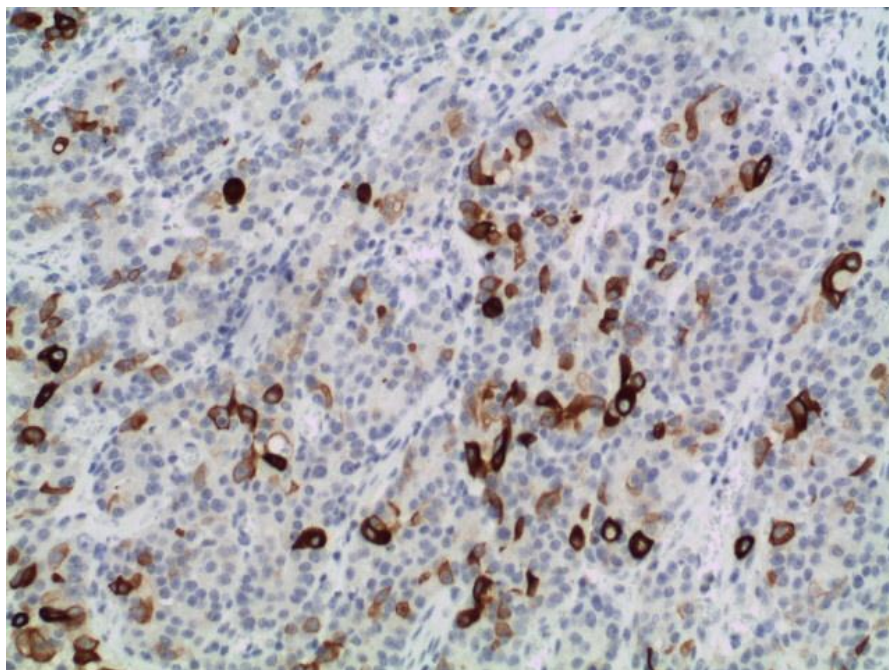


Рисунок 53 – Микрофотография. Иммуногистохимия. Слабая реакция с антителами к СК20, х200

Интенсивность окрашивания 1+ в >70% опухолевых клеток обнаружена в 1 случае, интенсивность 2+ в 31–70% – в 6 наблюдениях и интенсивность 3+ в  $\leq 30\%$  – у 1 пациента, эти результаты отнесены к группе умеренной реакции (Рисунок 54).

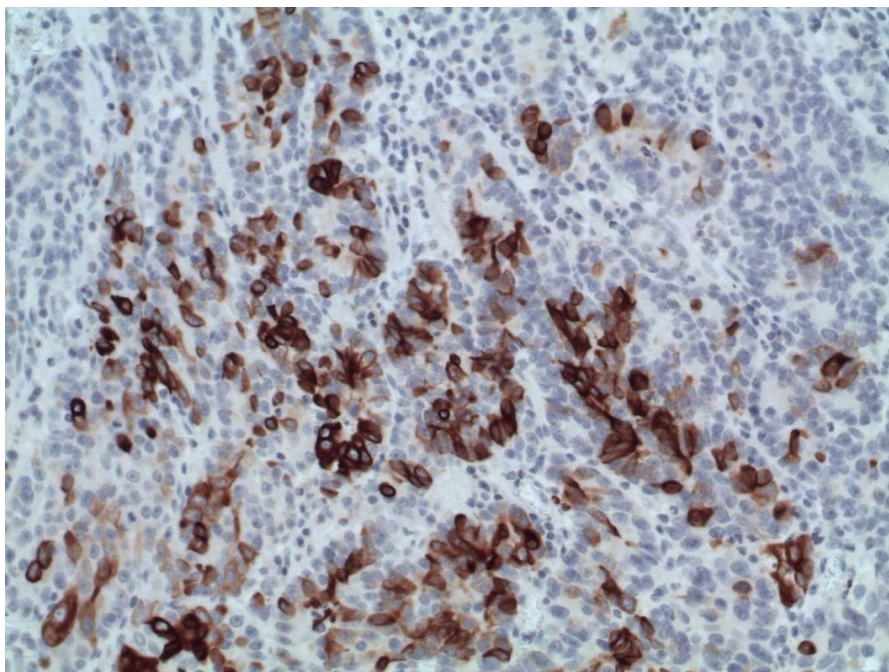


Рисунок 54 – Микрофотография. Иммуногистохимия. Умеренная реакция с антителами к СК20, х200

Наблюдения, в которых интенсивность 2+ в >70% опухолевых клеток была отмечена в 1 случае, а интенсивность 3+ в >30% опухолевых клеток – в 3, отнесены к группе сильной реакции (Рисунок 55).

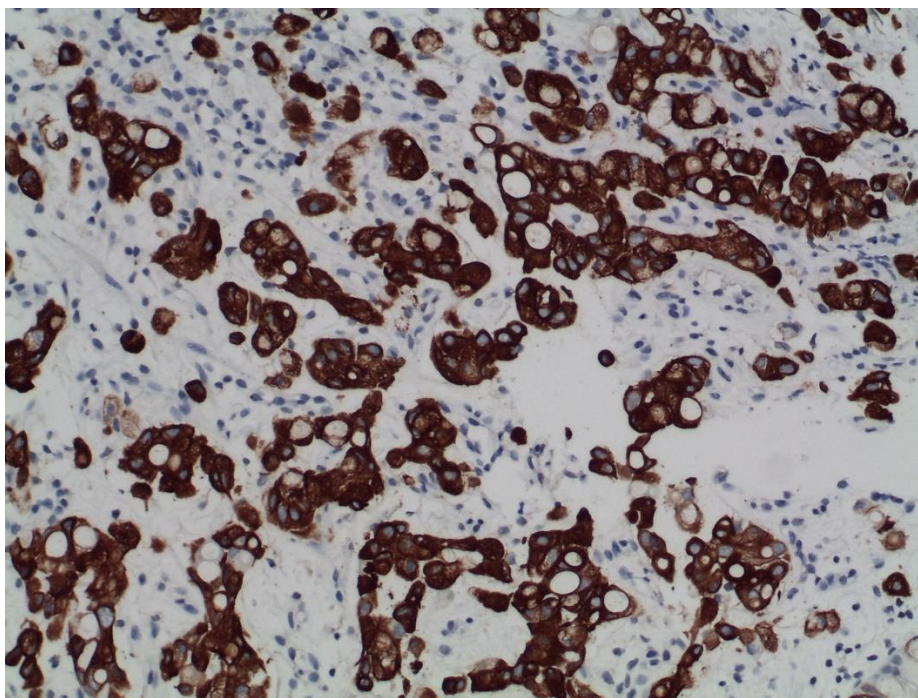


Рисунок 55 – Микрофотография. Иммуногистохимия. Сильная реакция с антителами к СК20, х200

По результатам оценки экспрессии с антителами к СК20 мы выявили в 27 наблюдениях негативную реакцию, в 13 наблюдениях – слабую реакцию, в 8 – умеренную реакцию и в 4 случаях – сильную реакцию (Таблица 7).

Таблица 7 – Оценка ИГХ-исследования с антителами к СК20

Интенсивность окрашивания	Доля окрашенных опухолевых клеток	Результат ИГХ	Количество наблюдений (n = 52)
0	0%	Негативная реакция	27
1+	≤70%	Слабая реакция	5
2+	≤30%	Слабая реакция	8
1+	>70%	Умеренная реакция	1
2+	31–70%	Умеренная реакция	6
2+	>70%	Сильная реакция	1
3+	≤30%	Умеренная реакция	1
3+	>30%	Сильная реакция	3

Мы провели анализ наличия или отсутствия экспрессии СК7/СК20 для каждого пациента и сформировали 4 группы соответственно полученным результатам. Отрицательная экспрессия СК7 и СК20 была отмечена у 2 пациентов. Сочетание отрицательной экспрессии СК7 при наличии положительной экспрессии СК20 мы зафиксировали в 7 наблюдениях. Сочетание положительной экспрессии СК7 и отрицательной экспрессии СК20 – в 25 случаях. Оставшиеся 18 наблюдений продемонстрировали положительную экспрессию как СК7, так и СК20 (Таблица 8).

Таблица 8 – Распределение результатов иммуногистохимической экспрессии с антителами к СК7/СК20 по группам

Количество случаев (n)	СК7-/СК20-	СК7-/СК20+	СК7+/СК20-	СК7+/СК20+
52	3,85% (n = 2)	13,46% (n = 7)	48,08% (n = 25)	34,61% (n = 18)

Статистический анализ с использованием критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса выявил взаимосвязь с положительной экспрессией с антителами к СК7 в группе с наличием MSI ( $p = 0,0009$ ; Рисунок 56).

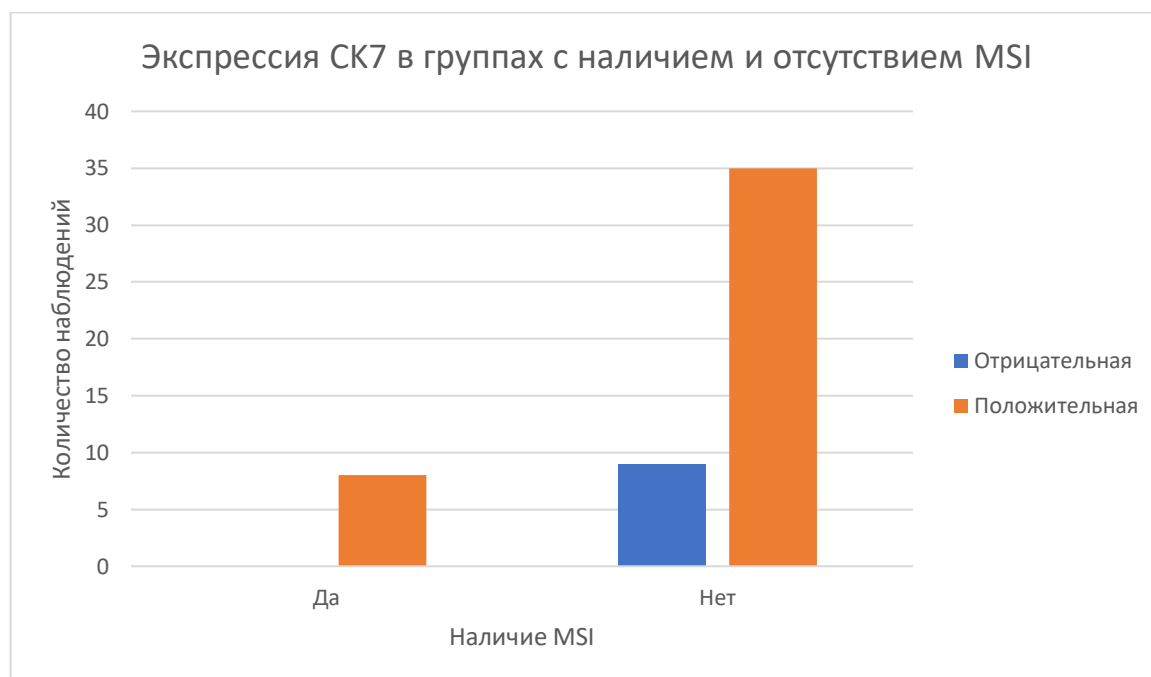


Рисунок 56 – Сравнительная характеристика взаимосвязи наличия экспрессии СК7 в случаях с наличием или отсутствием MSI

Тот же статистический метод позволил выявить различия между группами по интенсивности экспрессии (Рисунок 57).



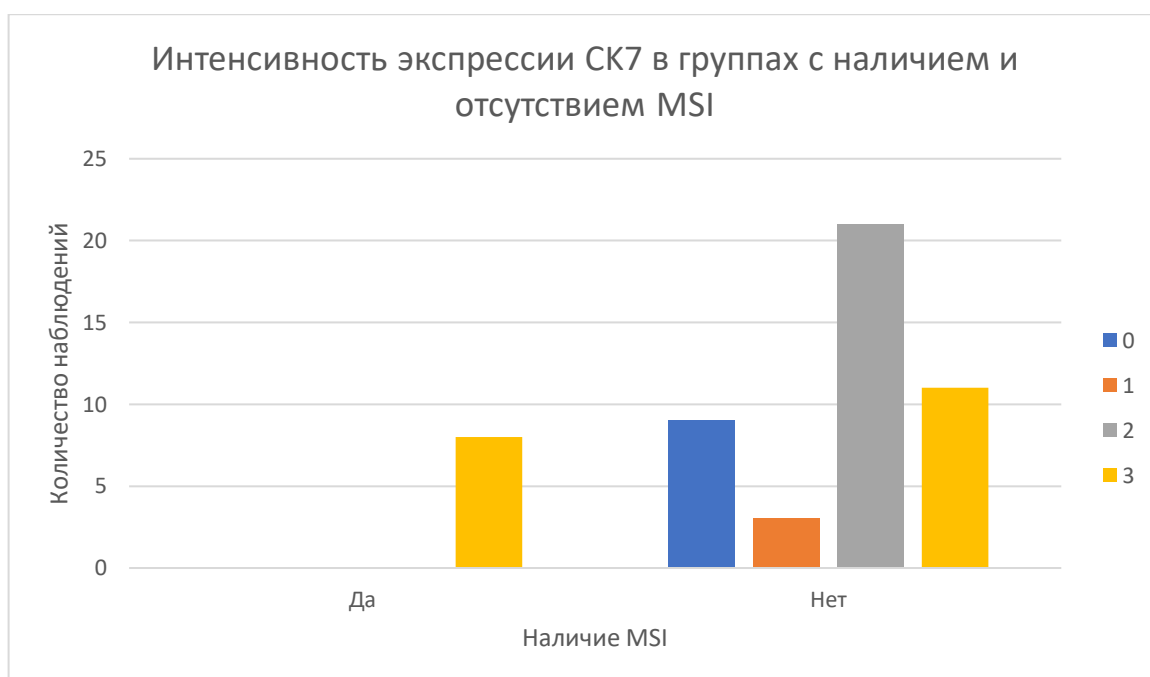


Рисунок 57 – Сравнительная характеристика взаимосвязи интенсивности экспрессии СК7 в случаях с наличием или отсутствием MSI

Статистический анализ с использованием критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса выявил статистически значимую разницу в экспрессии СК20 в группе с наличием MSI ( $p = 0,01$ ; Рисунок 58).

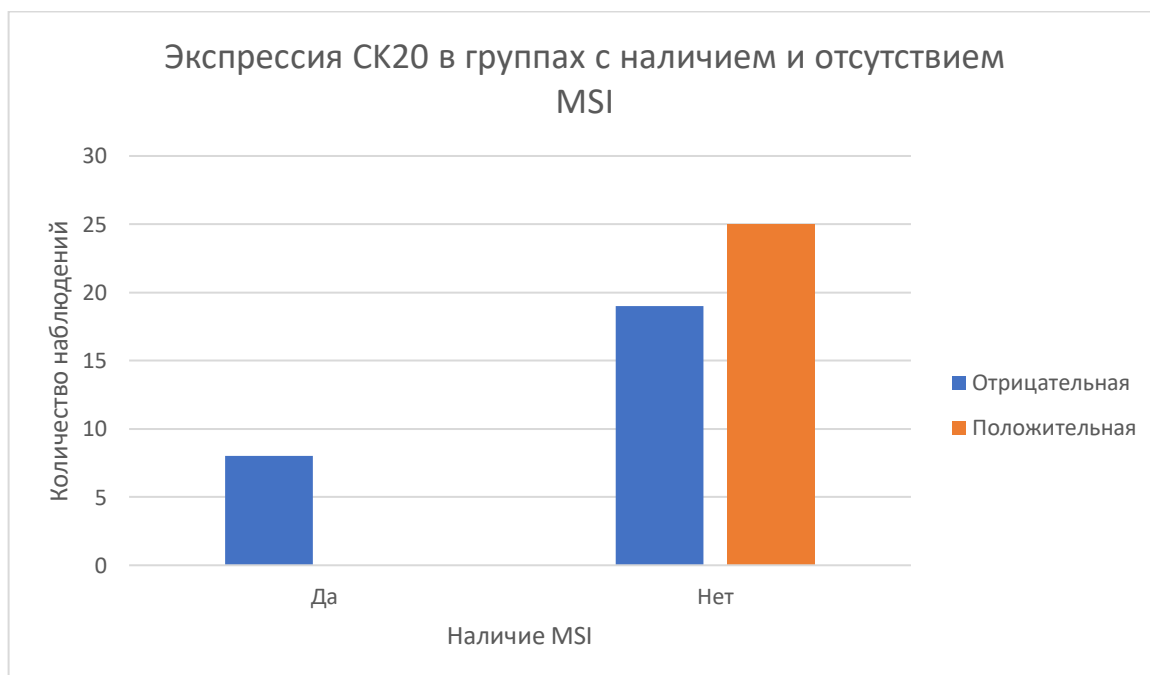


Рисунок 58 – Сравнительная характеристика взаимосвязи наличия экспрессии СК20 в случаях с наличием или отсутствием MSI

Тот же статистический метод позволил выявить различия между группами по интенсивности экспрессии (Рисунок 59).

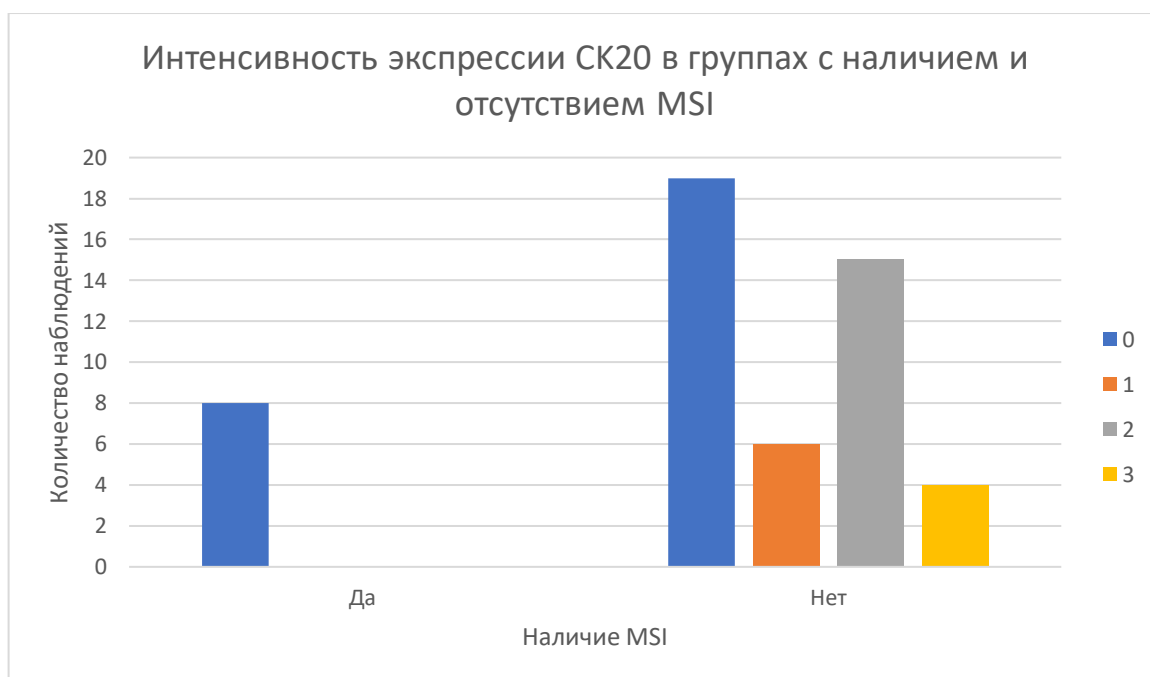


Рисунок 59 – Сравнительная характеристика взаимосвязи интенсивности экспрессии СК20 в случаях с наличием или отсутствием MSI

Статистический анализ с использованием критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса не выявил статистически значимые различия для взаимосвязи экспрессии и интенсивности СК7 в группе с нормальной и aberrантной экспрессией p53 ( $p = 0,33$ ; Рисунок 60, Рисунок 61).

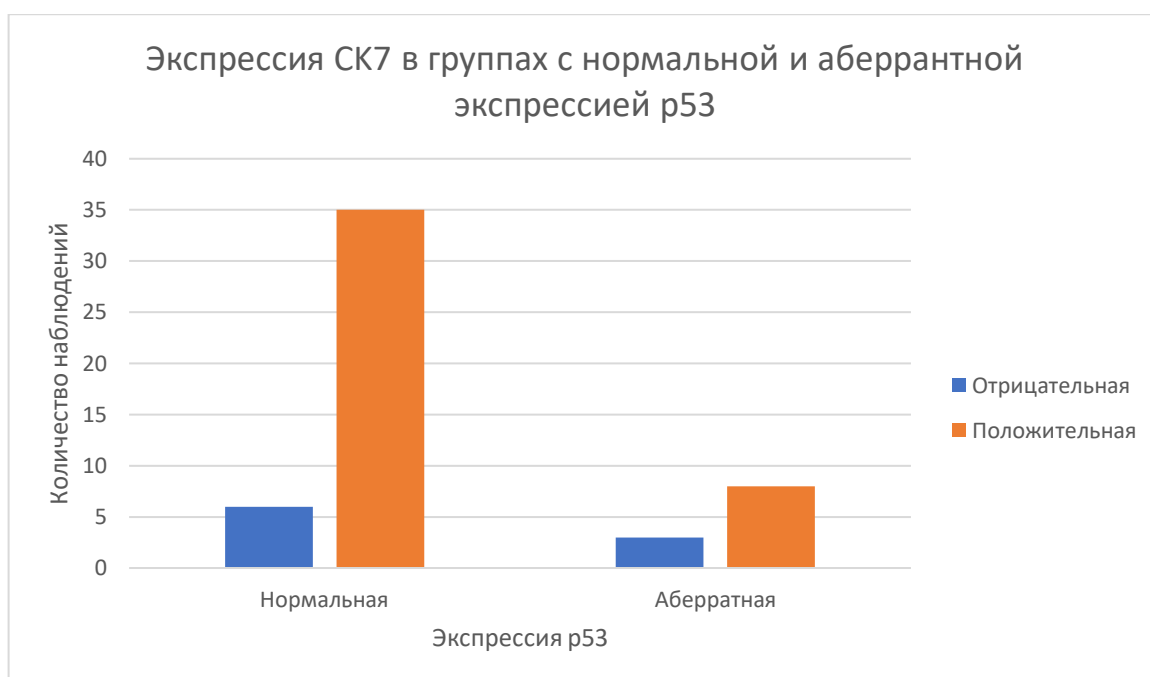


Рисунок 60 – Сравнительная характеристика взаимосвязи наличия экспрессии СК7 в случаях с нормальной и aberrантной экспрессией p53

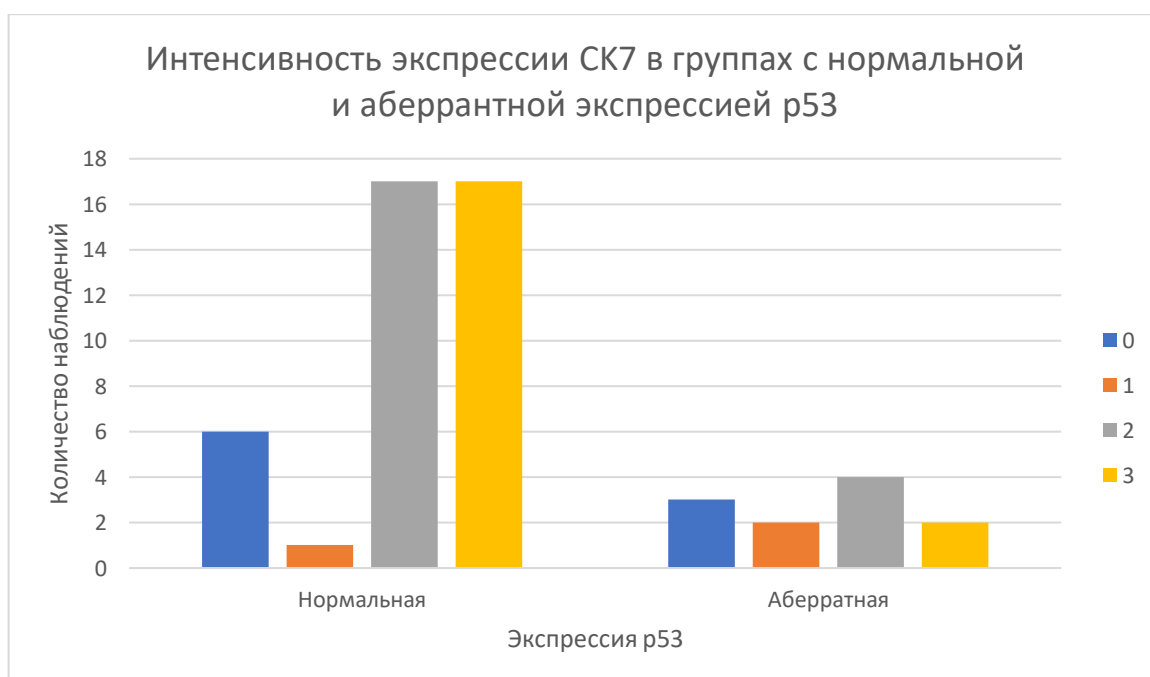


Рисунок 61 – Сравнительная характеристика взаимосвязи интенсивности экспрессии СК7 в случаях с нормальной и aberrантной экспрессией p53

Также статистический анализ не выявил статистически значимые различия для взаимосвязи экспрессии и интенсивности СК20 в группе с нормальной и aberrантной экспрессией p53 ( $p = 0,07$ ; Рисунок 62, Рисунок 63).

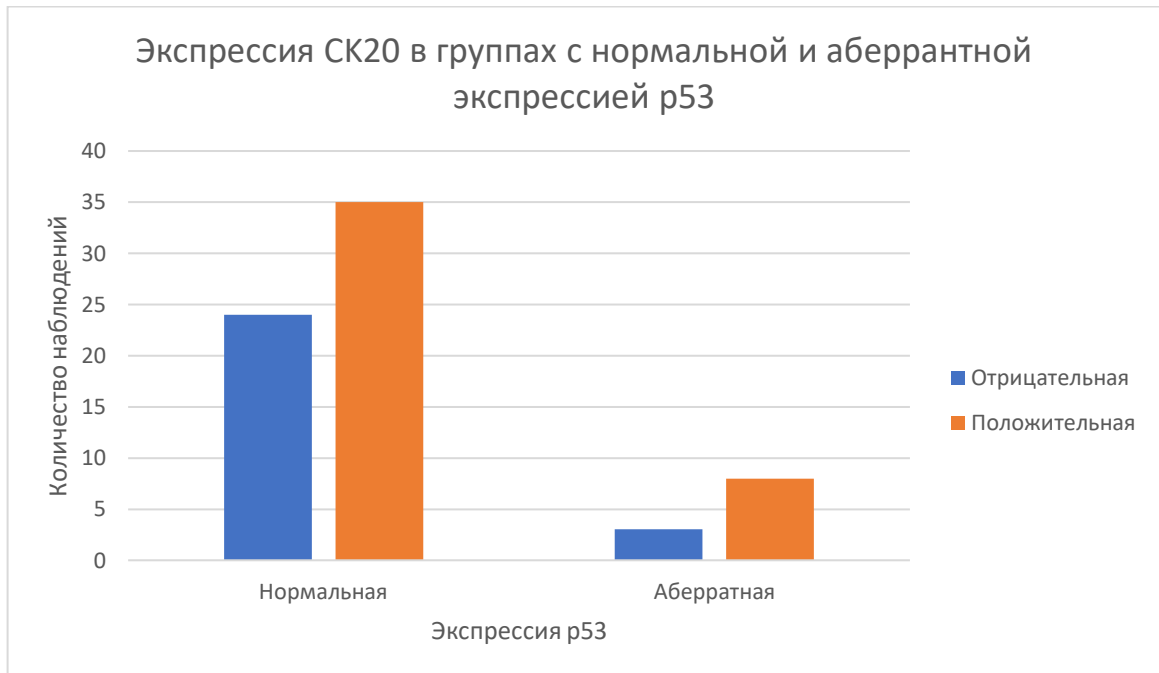


Рисунок 62 – Сравнительная характеристика взаимосвязи наличия экспрессии СК20 в случаях с нормальной и aberrантной экспрессией p53

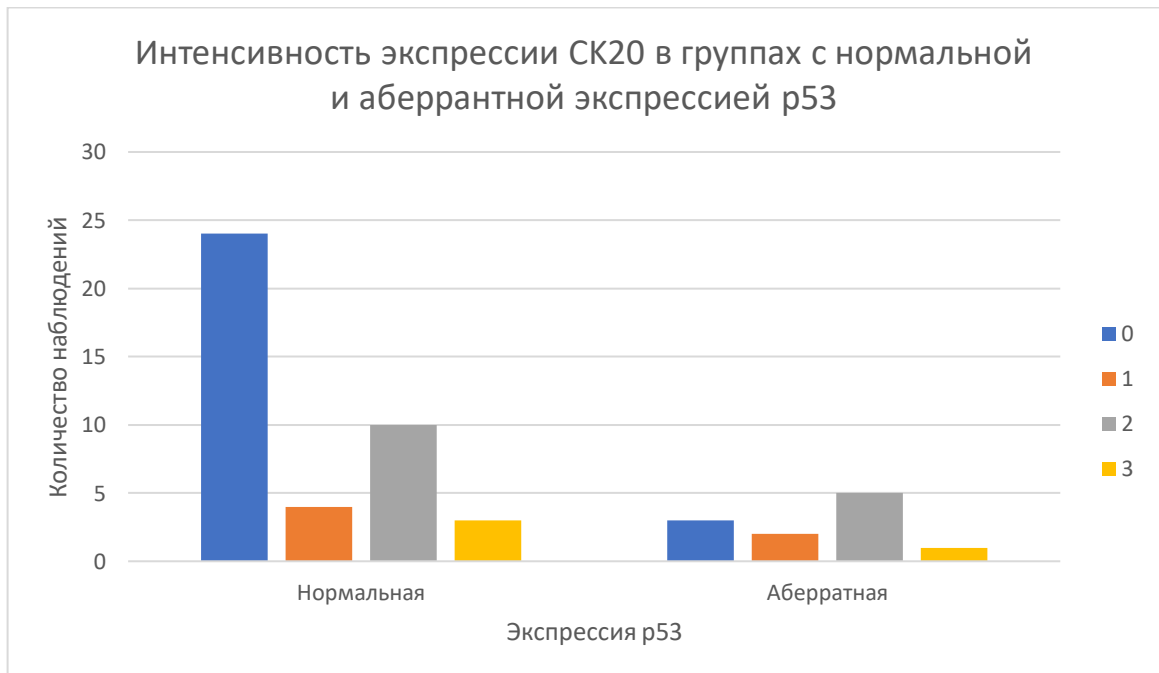


Рисунок 63 – Сравнительная характеристика взаимосвязи интенсивности экспрессии СК20 в случаях с нормальной и aberrантной экспрессией p53

Статистический анализ с использованием критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса не выявил статистически значимые различия для взаимосвязи экспрессии и интенсивности СК7 ( $p = 0,34$ ) и СК20 ( $p = 0,97$ ) в группе с отрицательной и положительной экспрессией E-cadherin (Рисунок 64, Рисунок 65, Рисунок 66, Рисунок 67).

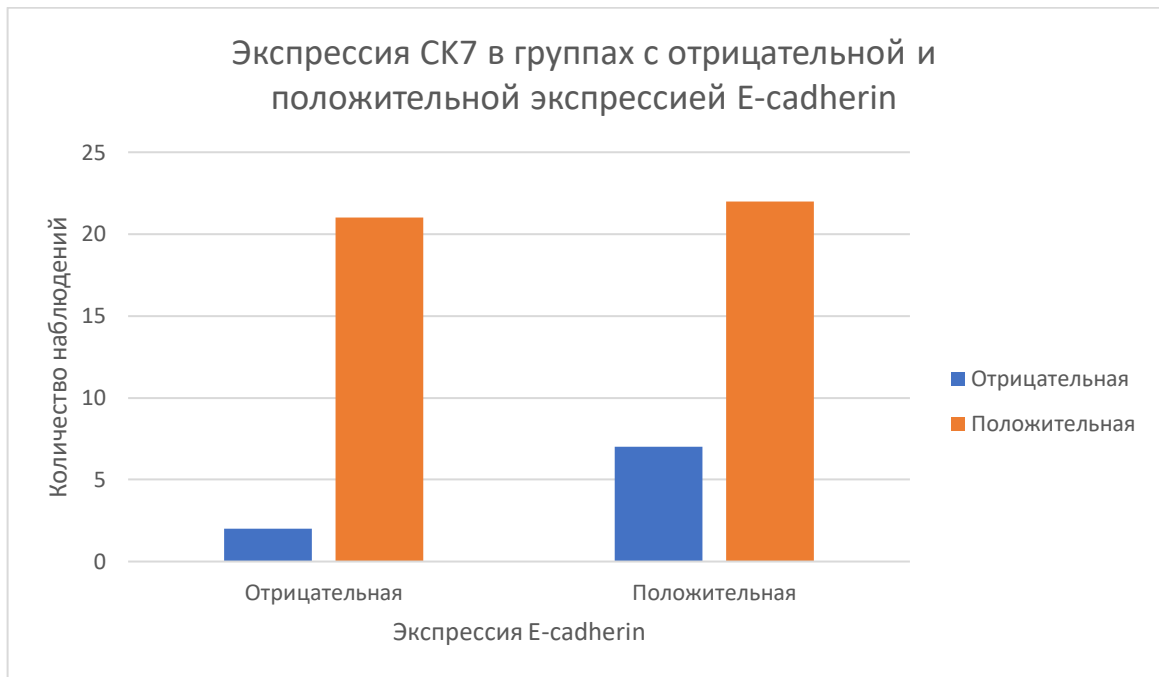
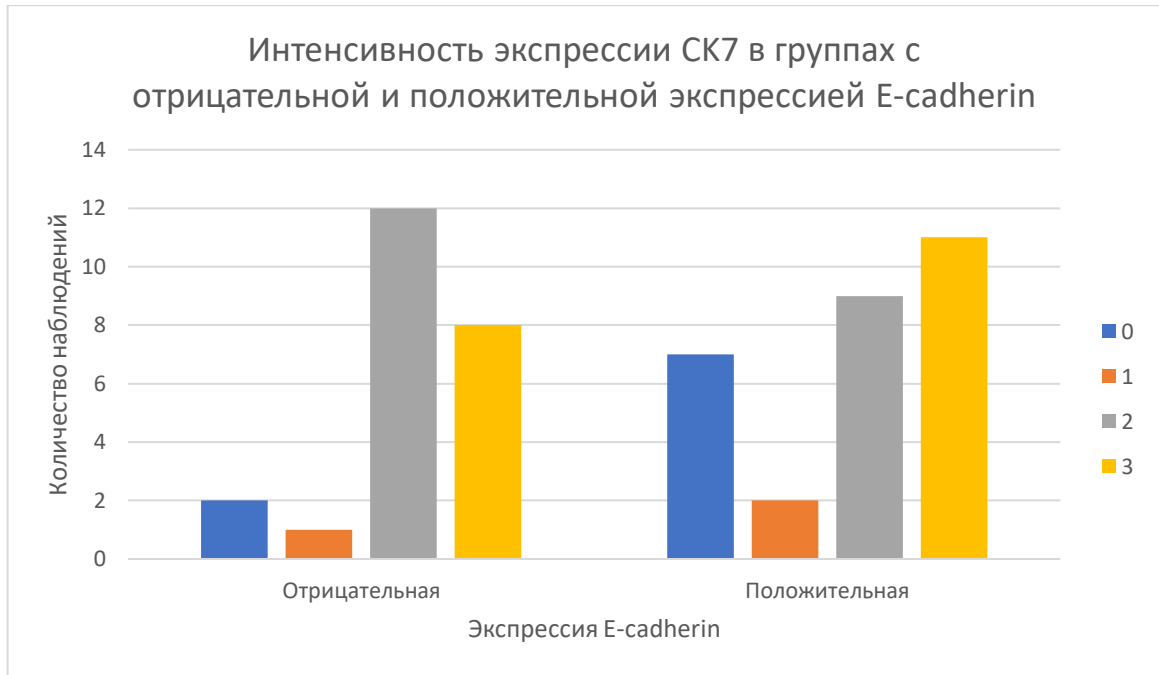
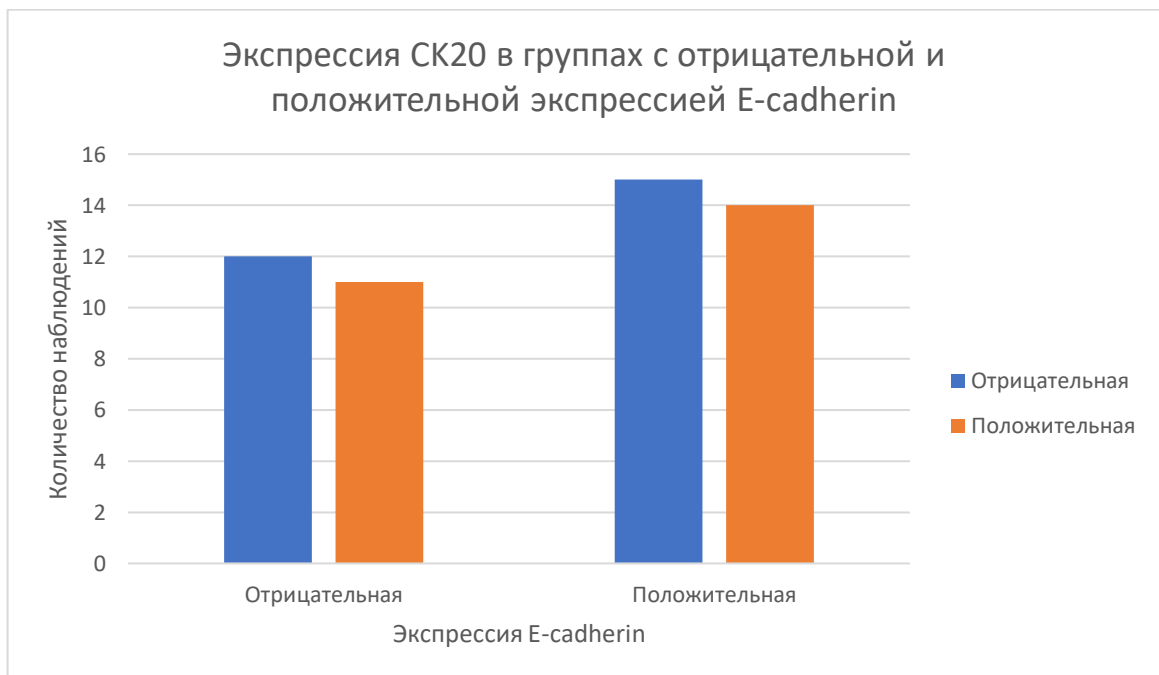


Рисунок 64 – Сравнительная характеристика взаимосвязи наличия экспрессии СК7 в случаях с отрицательной и положительной экспрессией E-cadherin



**Рисунок 65 – Сравнительная характеристика взаимосвязи интенсивности экспрессии СК7 в случаях с отрицательной и положительной экспрессией E-cadherin**



**Рисунок 66 – Сравнительная характеристика взаимосвязи наличия экспрессии СК20 в случаях с отрицательной и положительной экспрессией E-cadherin**

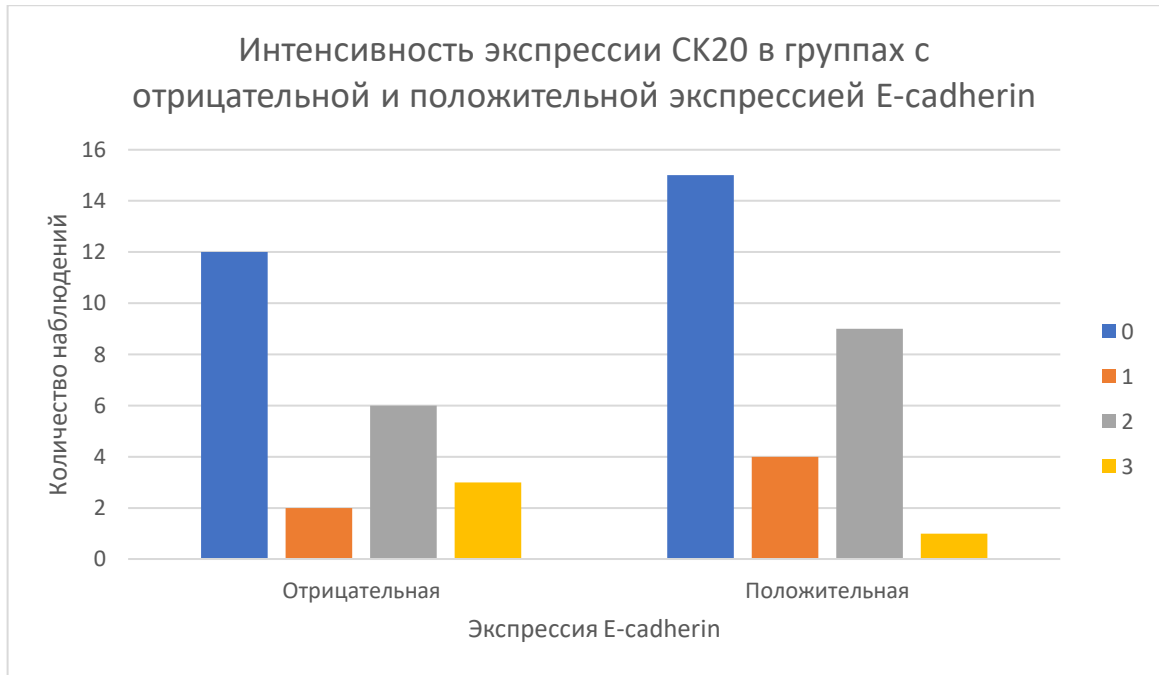


Рисунок 67 – Сравнительная характеристика взаимосвязи интенсивности экспрессии CK20 в случаях с отрицательной и положительной экспрессией E-cadherin

### 3.5.2. Иммуногистохимическое исследование муцинового профиля с антителами к MUC1, MUC2 и MUC5AC

В нашем исследовании мы провели оценку экспрессии маркеров MUC1, MUC2 и MUC5AC с целью определения муцинового профиля РЖДТ (Таблица 9). Положительная экспрессия к MUC1 была выявлена в 43 случаях, а отрицательная – у 9 пациентов (Рисунок 68).

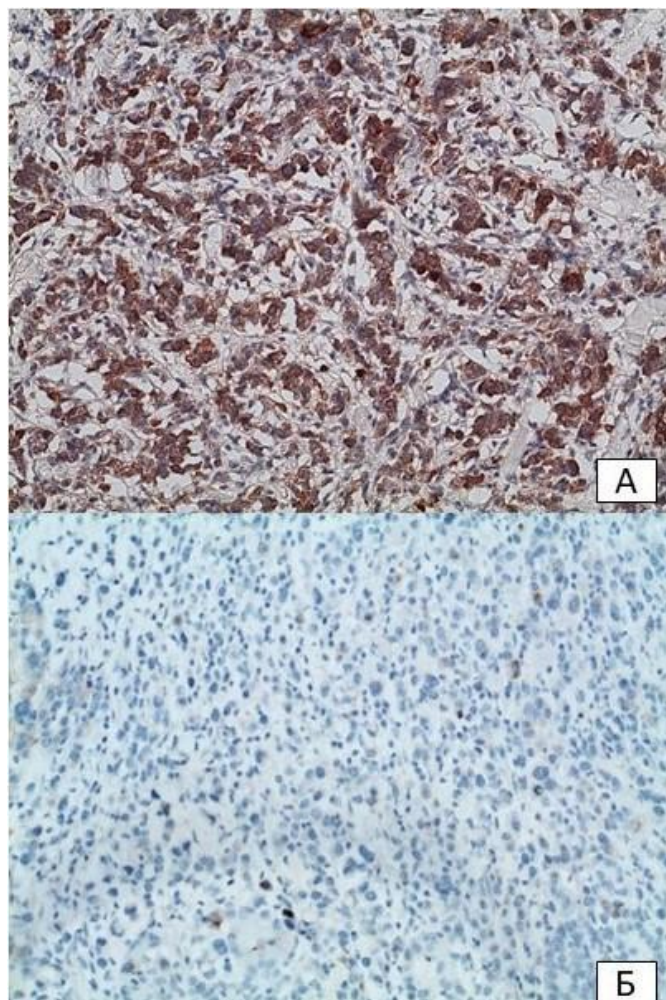


Рисунок 68 – Микрофотография. Иммуногистохимия. Положительная иммуногистохимическая экспрессия с антителом к MUC1 (А), отрицательная (Б), x200

При исследовании экспрессии к MUC2 положительный результат был получен в 9 наблюдениях, отрицательный – в 43 случаях (Рисунок 69).



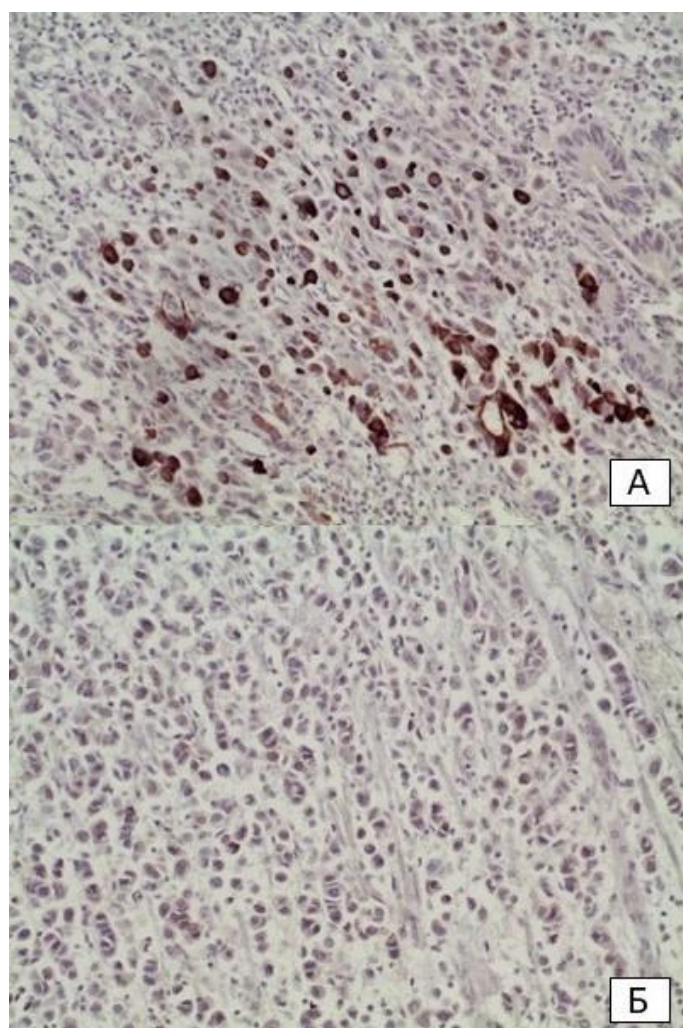


Рисунок 69 – Микрофотография. Иммуногистохимия. Положительная иммуногистохимическая экспрессия с антителом к MUC2 (А), отрицательная (Б),  
x200

Экспрессия к MUC5AC была положительной у 37 пациентов, а в 15 случаях отмечена отрицательная экспрессия (Рисунок 70).

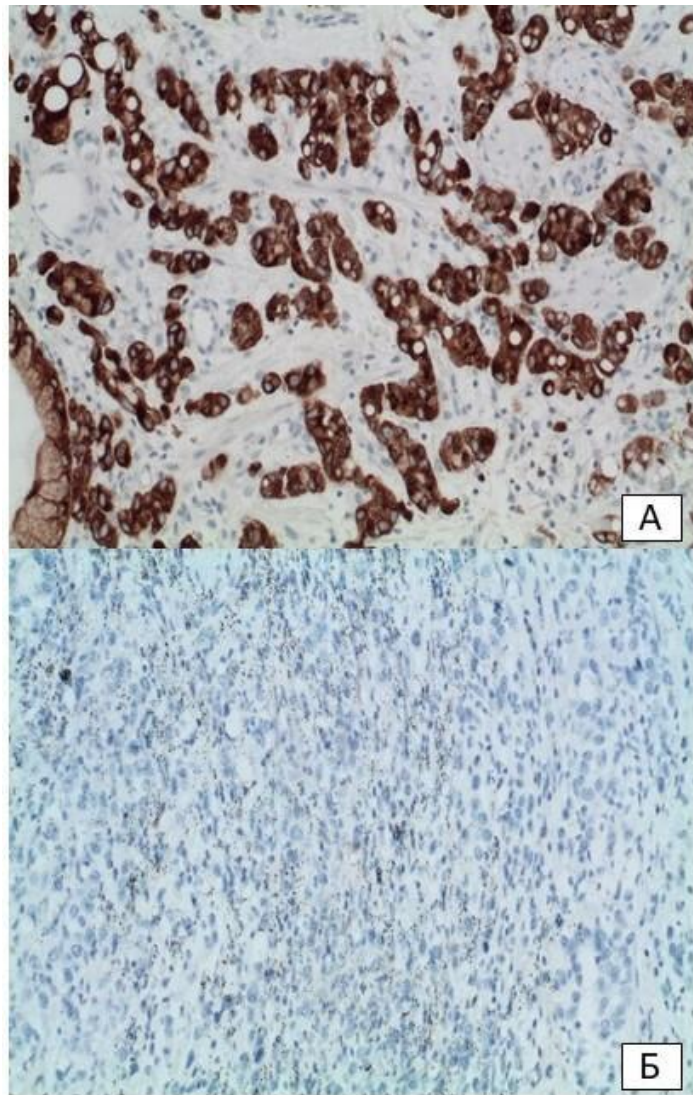


Рисунок 70 – Микрофотография. Иммуногистохимия. Положительная иммуногистохимическая экспрессия с антителами к MUC5AC (А), отрицательная (Б), x200

Таблица 9 – Результаты иммуногистохимической экспрессии с антителами к муцинам

Результат экспрессии	MUC1	MUC2	MUC5AC
Положительный	82,69% (n = 43)	17,31% (n = 9)	71,15% (n = 37)
Отрицательный	17,31% (n = 9)	82,69% (n = 43)	28,85% (n = 15)

Следующим этапом мы провели сравнительную характеристику иммуногистохимической реакции с АТ к MUC1, MUC2 и MUC5AC. Так, сочетание MUC1+, MUC2+, MUC5AC+ было зафиксировано в 6 наблюдениях, MUC1+, MUC2-, MUC5AC+ встречалось у 29 пациентов, MUC1+, MUC2-, MUC5AC- – в 8 случаях, MUC1-, MUC2-, MUC5AC- – у 4 пациентов, MUC1-, MUC2+, MUC5AC- – в 3 наблюдениях, MUC1-, MUC2-, MUC5AC+ – у 2 пациентов (Рисунок 71).

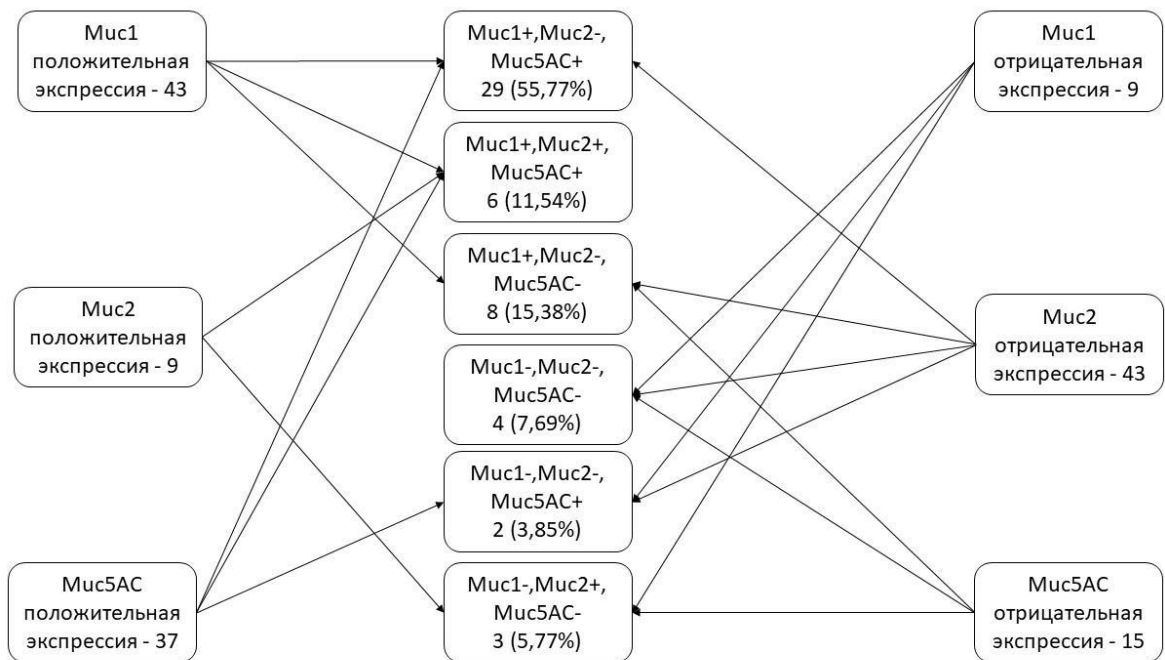


Рисунок 71 – Оценка иммуногистохимической экспрессии с антителами к муцинам

Статистический анализ с использованием критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса выявил взаимосвязь между отрицательной экспрессией с антителами к MUC1 в группе с наличием MSI ( $p < 0,001$ ; Рисунок 72) и положительной MUC5AC в группе с отсутствием MSI ( $p < 0,001$ ; Рисунок 73).

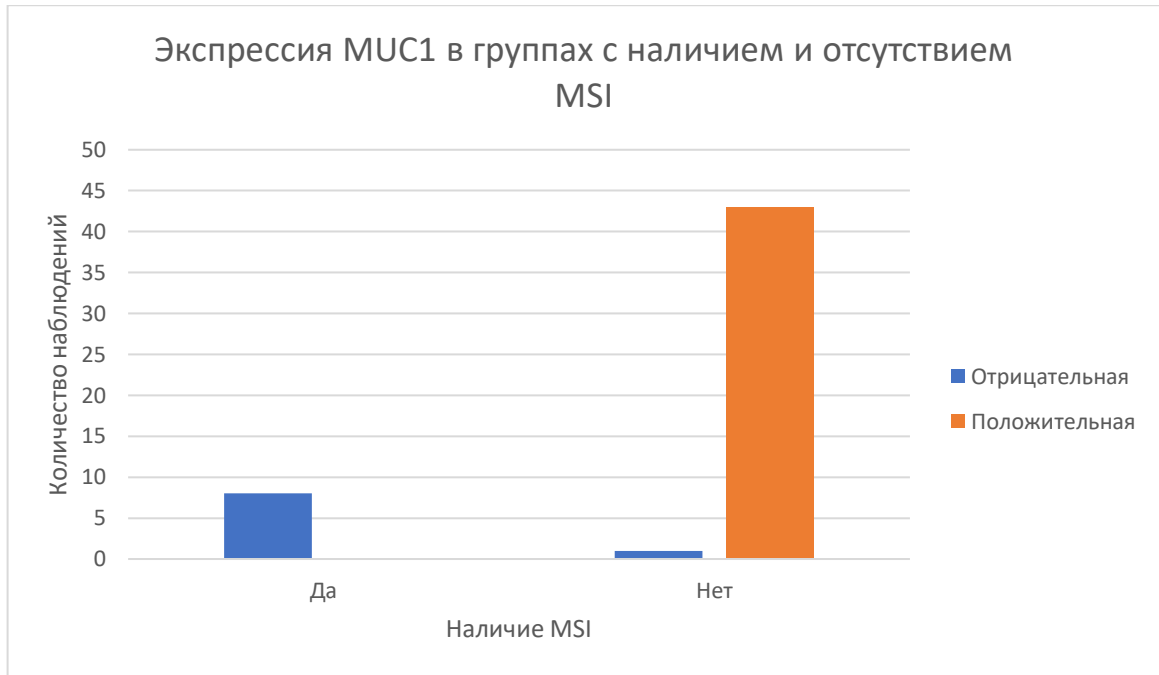


Рисунок 72 – Сравнительная характеристика взаимосвязи наличия иммуногистохимической экспрессии MUC1 в случаях с наличием или отсутствием MSI

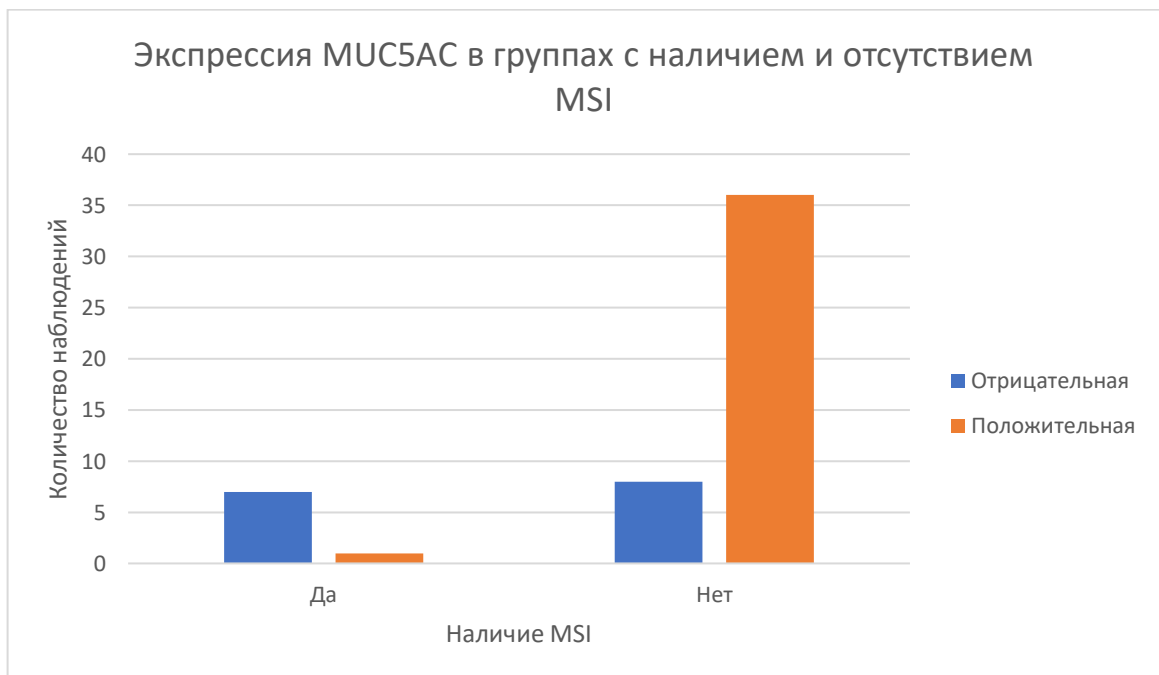


Рисунок 73 – Сравнительная характеристика взаимосвязи наличия иммуногистохимической экспрессии MUC5AC в случаях с наличием или отсутствием MSI

Статистический анализ с использованием критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса выявил взаимосвязь между положительной экспрессией MUC5AC в группе с aberrантной экспрессией MSI ( $p = 0,02$ ; Рисунок 74).

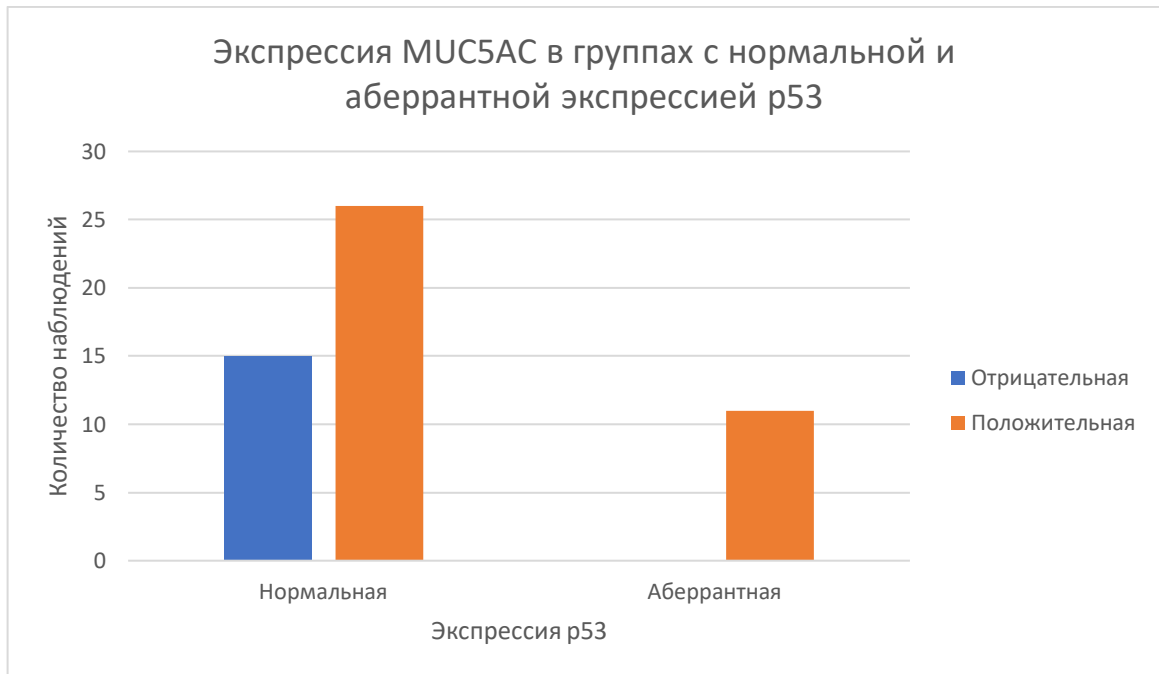
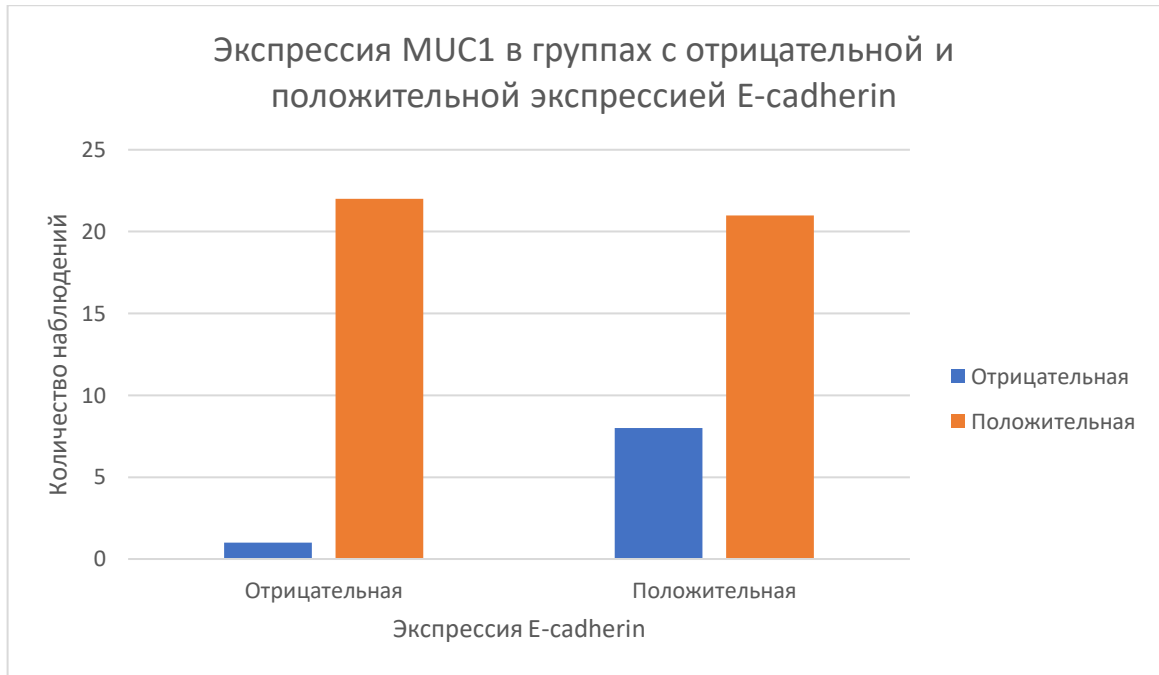


Рисунок 74 – Сравнительная характеристика взаимосвязи наличия иммуногистохимической экспрессии MUC5AC в случаях с нормальной и aberrантной экспрессией p53

Статистический анализ с использованием критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса выявил взаимосвязь между отрицательной экспрессией с антителами к MUC1 в группе с положительной экспрессией E-cadherin ( $p = 0,03$ ; Рисунок 75).



**Рисунок 75 – Сравнительная характеристика взаимосвязи наличия иммуногистохимической экспрессии MUC1 в случаях с отрицательной и положительной экспрессией E-cadherin**

### **3.5.3. Иммуногистохимическое исследование с антителами к CDX2**

В нашем исследовании отрицательная экспрессия к CDX2 была выявлена в 12 случаев (23,07%), положительная экспрессия зафиксирована в 40 наблюдениях (76,93%; Рисунок 76).

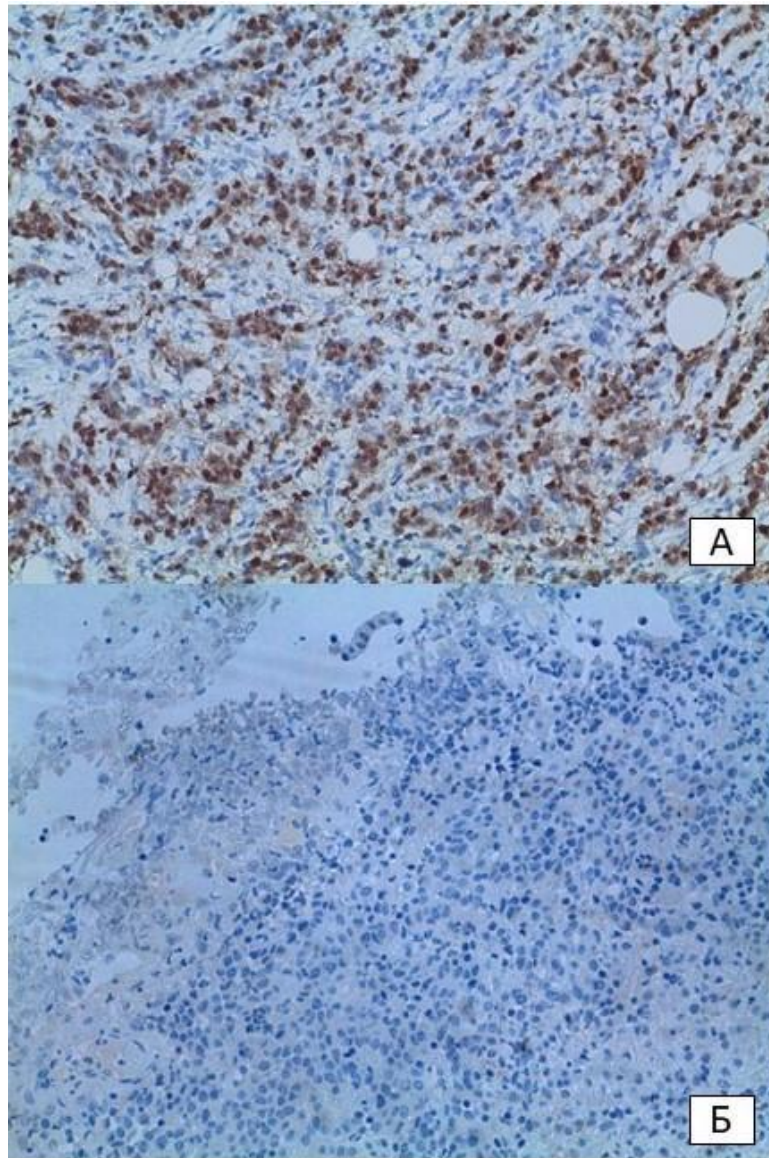


Рисунок 76 – Микрофотография. Иммуногистохимия. Положительная иммуногистохимическая экспрессия с антителами к CDX2 (А), отрицательная (Б), x200

Статистический анализ с использованием критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса не выявил различий по экспрессии CDX2 в группах с наличием и отсутствием MSI ( $p = 0,55$ ; Рисунок 77), нормальной и aberrантной экспрессией p53 (Рисунок 78), отрицательной и положительной экспрессией E-cadherin (Рисунок 79).

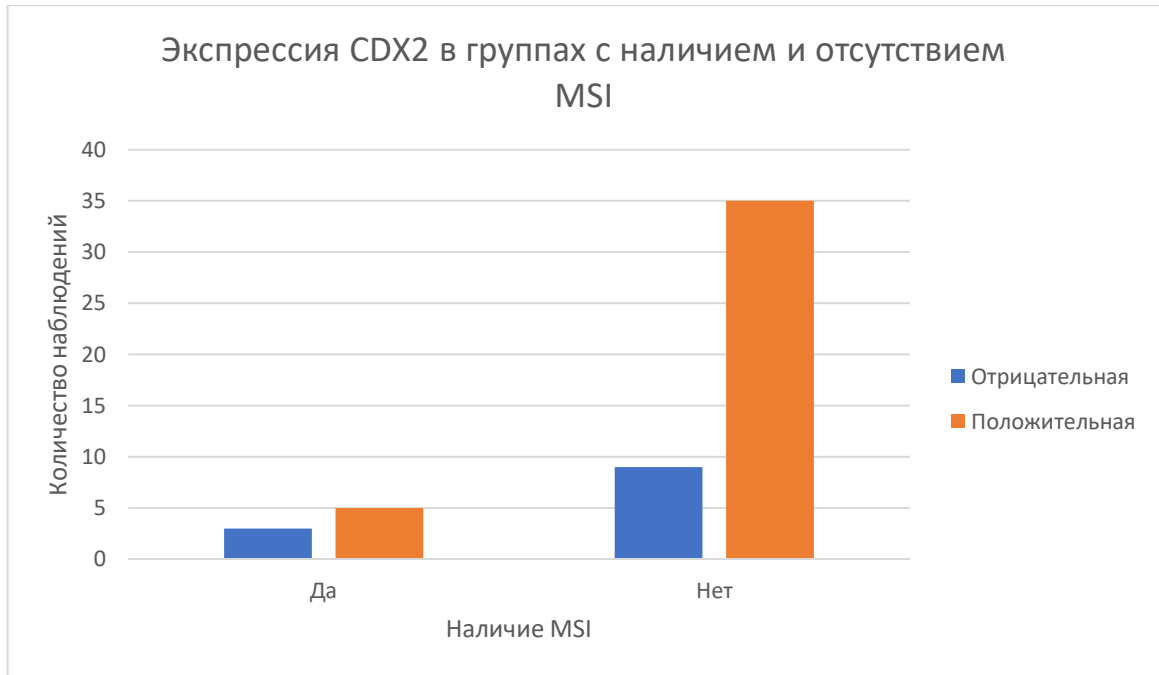


Рисунок 77 – Сравнительная характеристика взаимосвязи наличия иммуногистохимической экспрессии CDX2 в случаях с наличием или отсутствием MSI

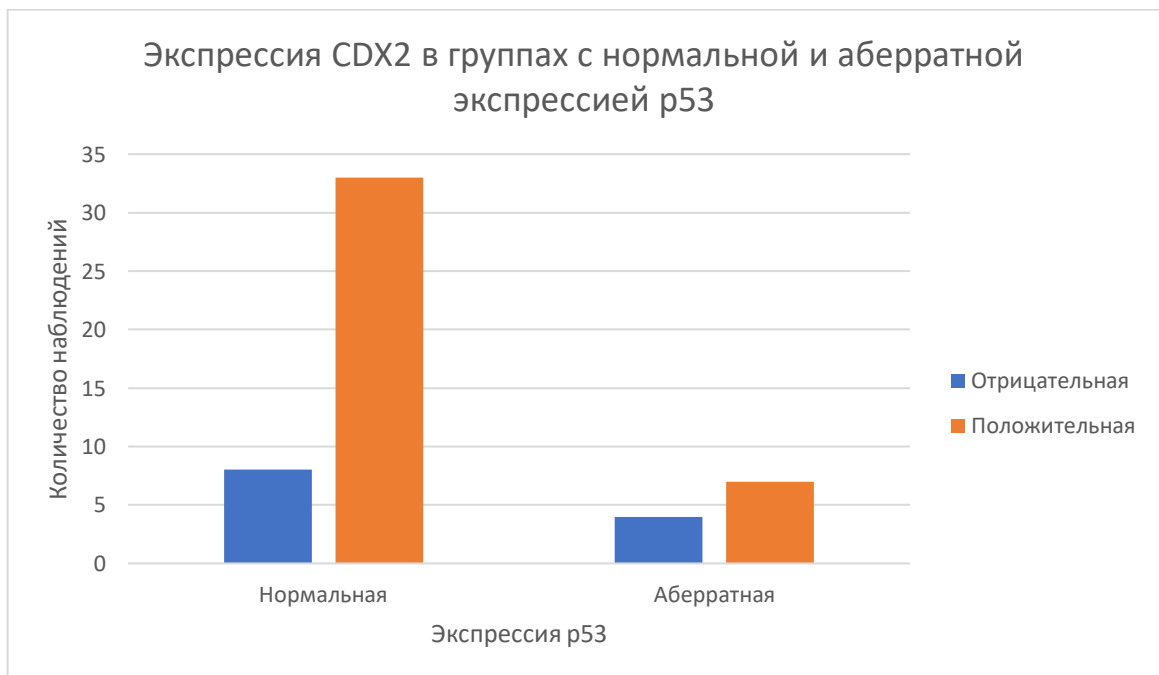


Рисунок 78 – Сравнительная характеристика взаимосвязи наличия иммуногистохимической экспрессии CDX2 в случаях с нормальной или aberrантной экспрессией p53



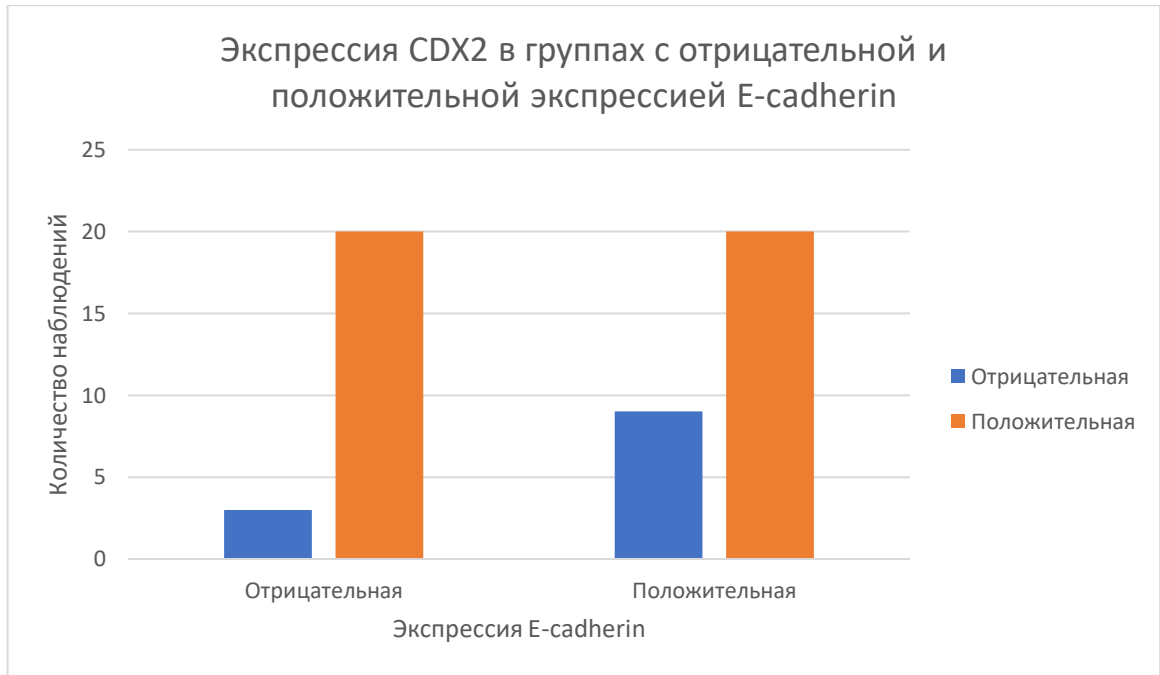


Рисунок 79 – Сравнительная характеристика взаимосвязи наличия иммуногистохимической экспрессии CDX2 в случаях с отрицательной и положительной экспрессией E-cadherin

## Глава 4. Обсуждение результатов

По данным отдельных зарубежных авторов, РЖДТ в последние десятилетия демонстрирует неуклонный рост [30, 55, 74, 145]. По современным исследованиям, данный тип карциномы желудка диагностируется в более молодом возрасте и чаще у лиц женского пола [38, 110, 111, 186, 194]. По данным ученых из США и Китая, в целом РЖКТ и РЖДТ были равномерно распределены между полами до 40 лет при расположении опухоли в кардиальном отделе желудка, но стали более распространенными у мужчин, чем у женщин, после 40 лет, однако женщины демонстрируют более высокий уровень заболеваемости РЖДТ, чем мужчины, в возрасте до 40 лет при некардиальном расположении опухоли [27, 58, 78, 81, 166]. По другим данным, в целом уровень заболеваемости РЖ снизился за последние 5 десятилетий в США, хотя заболеваемость некардиальным РЖ среди взрослых в возрасте до 50 лет и РЖ на поздних стадиях у латиноамериканцев растет [187]. В нашем исследовании средний возраст в обеих половых группах составил 68,8 лет (61–79 лет), самый молодой возраст в группе у мужчин составил 29 лет, у женщин – 39 лет, возраст пациентов мужчин (Me – 68 (59; 77)) с РЖДТ был меньше, чем у женщин (Me – 72 (66; 82);  $U = 3543$ ,  $p = 0,006$ ). Среди 192 пациентов, которые вошли в наш ретроспективный анализ, РЖДТ чаще был выявлен у мужчин (98 наблюдений против 94).

Имеются научные данные связи гистологической формы карциномы желудка с его локализацией. Так, по результатам исследователей из США, РЖДТ чаще локализовался в проксимальных отделах [171]. По нашим данным, анализ эндоскопических протоколов операций показал, что опухоль чаще локализовалась в теле желудка (40,1%), следующим по частоте был распространенный вариант на две и более локализации (29,2%). Этот показатель отражает несвоевременное обращение пациентов за медицинской помощью, что приводит к запущенному онкологическому процессу.

Частым компонентом РЖДТ являются перстневидные клетки, подход к их интерпретации при различных гистологических формах различен. По классификации Lauren перстневидные клетки часто обнаруживаются при РЖДТ. Однако классификация ВОЗ в разных изданиях по-разному трактует наличие перстневидных клеток. В самом первом издании, вышедшем в 1977 г., перстневидно-клеточная карцинома рассматривалась как отдельный подтип РЖ и определялась как «опухоль, состоящая более чем на 50% из изолированных или небольших групп злокачественных клеток, содержащих внутрицитоплазматический муцин» [136]. В 4-м издании 2010 г. категория «перстневидно-клеточная карцинома» была полностью переопределена как подтип дискогезивной карциномы [22], а само определение степени перстневидных клеток для квалификации перстневидно-клеточной карциномы стало звучать как «преимущественно» или «исключительно»; такая же формулировка сохранилась и в 5-м издании ВОЗ [175]. В нашей работе для подсчета перстневидных клеток в составе РЖДТ мы использовали критерии, рекомендованные группой экспертов, входящих в состав IGCA [44]; в них выделяют SRC-1, для которой характерно содержание перстневидно-клеточного компонента >90%, SRC-2 с содержанием перстневидных клеток <90%, но >10%, SRC-3 с <10% перстневидных клеток в составе опухоли. Таким образом, по нашим данным, в исследуемой группе под критерии SRC-1 попали 3,85%, SRC-2 – 88,46%, а SRC-3 – 7,69% пациентов. Полученные данные, несомненно, необходимо учитывать при анализе РЖДТ, так как имеются многочисленные исследования о разном течении болезни и подходах в лечении в зависимости от наличия перстневидных клеток в составе опухоли [101, 112, 116]. Имеются литературные данные, подтверждающие, что пятилетняя общая выживаемость значительно выше в группе SRC-2 по сравнению с группой SRC-3, а риск смертности был более чем в четыре раза выше у пациентов в группе SRC-3 по сравнению с пациентами из группы SRC-2 [169]. Интересный результат был получен у еще одной группы европейских исследователей: показано, что долгосрочная выживаемость была значительно выше в группе SRC-1 по

сравнению со случаями, отнесенными к группам SRC-2 и SRC-3 [176]. Имеются данные о разнице экспрессии ИГХ маркеров в дискогезивном и перстневидно-клеточном компонентах РЖДТ для CK7, MUC1,2,5AC [5].

РЖДТ по молекулярной классификации в основном относят к подтипу с GS, однако в практике и по данным научной литературы мы наблюдаем случаи выявления MSI у пациентов с РЖДТ [76, 147, 190]. Также имеются данные, что MSI-H при РЖ у женщин сочетается с более высокой общей выживаемостью [62, 128], по другим данным MSI-опухоли были связаны с пожилым возрастом и субтотальным поражением желудка [36]. В проведенной нами работе было показано, что у 15,38% пациентов обнаружены признаки MSI. Это является крайне важным, но имеет немаловажное значение в переосмыслении патогенеза развития РЖДТ как гетерогенного заболевания с точки зрения молекулярной классификации, так как определение MSI подтипа служит способом выявления претендентов на терапию ICI. По последним данным, после проведенного группой ученых из Японии исследования генетического материала, полученного от больных РЖДТ, для случаев с подтипами, обусловленными MSI и CIN, был применен термин «кластер» [13, 103]. Кроме того, была выдвинута теория о том, что молекулярные подтипы MSI и CIN могут быть генетически связаны с РЖКТ, тем самым такие случаи спорадического РЖДТ следует отнести ко второму «кластеру», который также носит рабочее название «РЖДТ, произошедший из РЖКТ».

Экспрессия p53 может использоваться как прогностический фактор в отношении мутации белка TP53 [57, 146], а значит, с помощью ее оценки возможно определить молекулярный подтип опухоли [77], в том числе и в случаях РЖДТ. Также имеются данные о связи мутации p53 с мужским полом [106]. В нашей работе, согласно дизайну исследования, те случаи, где была выявлена гиперэкспрессия антитела к p53 (70% и более положительных опухолевых клеток), мы определяли как aberrantный вариант. Таким образом, мы выявили 21,1% случаев с aberrantным вариантом экспрессии антител к p53. Важно отметить, что нами были определены статистически значимые различия между

аберрантной экспрессией p53 для пациентов, у которых отсутствовали ИГХ признаки MSI ( $p < 0,05$ ). В 2 (3,84%) наблюдениях помимо аберрантной экспрессии p53 был выявлен положительный PD-L1 статус опухоли. Данный факт, по нашему мнению, имеет ключевое значение для определения молекулярного подтипа, обусловленного CIN.

РЖДТ отличается слабой межклеточной сплоченностью, которая происходит чаще всего из-за потери белка клеточной адгезии E-cadherin; данный процесс считается важным событием для эпителиально-мезенхимального перехода и последующего метастазирования [61]. В научной литературе отрицательная экспрессия E-cadherin обычно наблюдается при РЖДТ и на поздних стадиях РЖКТ [104, 105]. Так, в части исследований говорят об отрицательной экспрессии E-cadherin в РЖДТ в 35–50% [59]. Другие данные утверждают об отрицательной экспрессии примерно в половине и более всех случаев РЖДТ [60, 120, 182]. В нашей работе отрицательная экспрессия E-cadherin наблюдалась в 44,23% случаев с учетом случаев цитоплазматической экспрессии. Проведенный статический анализ связи экспрессии E-cadherin и случаев MSI показал, что во всех случаях РЖДТ с MSI была выявлена положительная реакция E-cadherin ( $p = 0,0187$ ). Анализируя научную литературу, мы не обнаружили исследований, изучающих связь экспрессии E-cadherin с молекулярным подтипом MSI. Вероятнее всего, это связано с тем фактом, что потеря экспрессии E-cadherin чаще всего связана с молекулярным подтипом GS [43, 76], и поэтому поиск взаимосвязи положительной реакции с другими подтипами мог не вызвать интереса в научной среде.

В последние годы изучение и определение критериев оценки экспрессии PD-L1 продолжает являться перспективным направлением, так как данный показатель является одним из способов выявления пациентов, которым показана терапия ICI. В одном из исследований было показано, что экспрессия PD-L1 и доля MSI-H были значительно выше у пожилых пациентов с РЖ старше 70 лет по сравнению с пациентами моложе 70 [64]. Также имеются данные, что EBV-инфекция может стимулировать повышенный уровень IFN- $\gamma$  в РЖ, индуцируя

усиленную адаптивную экспрессию PD-L1 [135, 143, 167]. Нами была изучена экспрессия PD-L1 по системе подсчета CPS, где за положительный результат принималось значение  $CPS > 1$ . В нашей работе мы обнаружили 8 случаев положительной экспрессии PD-L1, при этом в одном из них мы выявили гиперэкспрессию со значением  $CPS = 100$ . Для определения достоверности значения CPS мы повторили ИГХ реакцию с антителами к PD-L1 и снова получили значение  $CPS = 100$ . Экспрессия PD-L1 часто наблюдается в молекулярных подтипах, обусловленных EBV и MSI [39, 66, 138, 140]. Нам также удалось выявить достоверно статистическую значимость между экспрессией PD-L1 и MSI-статусом опухоли ( $p < 0,001$ ). Второе важное обстоятельство, которое мы зарегистрировали – это то, что во всех положительных PD-L1 случаях всегда была положительная экспрессия антител к E-cadherin. Этот факт, на наш взгляд, является логичным, исходя из данных, что отрицательная экспрессия E-cadherin сопряжена с GS-молекулярным подтипом опухоли [43]. Само по себе сочетание положительной экспрессии PD-L1 и MSI-статус опухоли является благоприятным прогностическим фактором для лечения больных с РЖ [66, 98, 140].

Определение HER2-статуса опухоли также является важным компонентом в диагностике РЖ для возможного применения таргетной терапии у данных пациентов [93, 184]. Частота амплификации HER2 варьируется от 12% до 27%, а сверхэкспрессия HER2 – от 9% до 23% [14, 46, 72, 113, 115, 126]. Недавнее крупное многонациональное исследование, в котором было обследовано около 5000 пациентов с РЖ, показало, что общая распространенность гиперэкспрессии HER2 составляет 14,2% [96]. Большое количество исследований показало, что экспрессия HER2 обеспечивает более агрессивное биологическое поведение и более высокую частоту рецидивов в HER2-положительных карциномах желудка [24, 33, 83, 91, 94, 95, 180, 181, 185]. В некоторых исследованиях сообщалось о значительно более высоких показателях экспрессии PD-L1 в HER2-отрицательных опухолях [139], в то время как в других исследованиях сообщались противоположные результаты [141, 155, 157] или не было обнаружено различий в экспрессии PD-L1 между HER2-позитивными и негативными опухолями [17, 73,

153]. Нами положительный HER2-статус опухоли был обнаружен в 3,84% случаев, еще у 5,77% – неопределенный, однако после проведения флуоресцентной гибридизации *in situ* все случаи с неопределенным статусом оказались негативными. Статистический анализ не выявил значимых различий по HER2-статусу опухоли у пациентов с наличием или отсутствием MSI-молекулярного подтипа ( $p = 0,6$ ).

В некоторых исследованиях отмечено, что пациенты с РЖКТ чаще инфицированы *H. pylori*, чем пациенты с РЖДТ [123, 198]. Другие исследователи не обнаружили различий в инфицировании *H. pylori* у пациентов с различными гистологическими типами опухолей [159]. Несмотря на это, выявляемость *H. pylori* у больных РЖДТ остается на достаточно высоком уровне. Так, по данным группы ученых из Индии [21], при гистопатологическом исследовании ассоциация *H. pylori* была обнаружена у 32,07% пациентов с РЖДТ. По данным ученых из России, более высокая степень контаминации слизистой желудка коккоидными формами *H. pylori* достоверно чаще наблюдалась при диффузном типе РЖ [165]. В обзоре литературы, посвященном хроническому воспалению и длительным изменениям слизистой оболочки желудка после инфекции *H. pylori*, имеются данные о том, что только у 1–3% пациентов, инфицированных *H. pylori*, развивается РЖ, тогда как РЖ может развиваться даже после эрадикации *H. pylori* [193]. Кроме того, заболеваемость РЖ после эрадикации инфекции *H. pylori* значительно выше по сравнению с общей заболеваемостью, вызванной всеми причинами, хотя эрадикация *H. pylori* должна снижать риск развития РЖ [193]. По данным крупного мета-анализа, существует связь между наличием *H. pylori* и экспрессией PD-L1: так, инфекция *H. pylori* может быть предиктором хорошего ответа на иммунотерапию при РЖ [89]. В нашей работе мы использовали гистохимический и иммуногистохимический методы выявления *H. pylori*. Оба метода показали наличие *H. pylori* у 5 пациентов, что составляет 9,61% от исследуемой группы. Низкий показатель выявления *H. pylori* в нашей работе, вероятнее всего, связан с тем, что не во всех случаях мы имели возможность оценить контаминацию *H. pylori* непосредственно в интактной слизистой желудка,

а отрицательный результат в ткани опухоли не исключает возможного наличия бактерий у данных пациентов.

По данным крупного мета-анализа [19], общая распространенность EBV среди больных РЖ из 26 стран составляет 8,77%, а распространенность EBV была одинаковой как при РЖКТ, так и РЖДТ (8,10 и 9,41% соответственно). Среди всех случаев EBV-ассоциированных карцином желудка чаще этим молекулярным подтипом страдают мужчины [18, 75, 144, 183]. По данным одного российского исследования, проведенного на собственной когорте случаев, частота EBV-положительных РЖ составила 2,4%, что значительно ниже, чем в странах Западной Европы [10]. Макроскопически EBV-ассоциированные карциномы желудка выглядят как изъязвленные или блюдцеобразные опухоли с утолщенной стенкой желудка [31]. Микроскопически для EBV-ассоциированных карцином желудка характерна выраженная воспалительная инфильтрация опухолевой ткани [1]. Инфильтрат представлен преимущественно лимфоцитами и CD68-позитивными клетками [35, 69, 70, 107]. Имеются интересные данные, свидетельствующие о возможном вкладе в развитие карциномы желудка не только EBV, но и других герпесвирусов, таких как CMV и HHV6 [28]. В нашей работе диагностика EBV с помощью ИГХ метода не выявила положительных наблюдений, однако после использования у этих же пациентов метода ПЦР в реальном времени положительный результат был зафиксирован у 46,15%. CMV был обнаружен у 15,38%, а HHV6 – у 9,61% наблюдений. Проведенный нами статистический анализ не выявил различий в диагностике вирусов EBV, CMV и HHV6 в группах с наличием и отсутствием MSI. Противоречивые, на первый взгляд, данные, полученные нами в ходе диагностики вируса EBV методом ИГХ и ПЦР в режиме реального времени, обусловлены, несомненно, более высокой специфичностью метода ПЦР в режиме реального времени ввиду определения частиц ДНК, оставшихся в клетках памяти человека после перенесенной EBV-инфекции, зачастую протекающей в латентной форме.

По данным научной литературы, частота положительных результатов при РЖДТ с антителами к СК7 колеблется от 38 до 71,7%, к СК20 от 30 до 50% [32,



49, 67]; в нашей работе мы отметили положительную экспрессию с антителами к СК7 в 82,7% наблюдений, а к СК20 – в 48%. При оценке вариационных комбинаций экспрессии СК7 и СК20 нами были получены следующие показатели: СК7-/СК20- – в 3,85% (n = 2) наблюдений, сочетание СК7-/СК20+ выявлено в 13,46% (n = 7), СК7+/СК20- – в 48,08% (n = 25) случаев и СК7+/СК20+ – в 34,61% (n = 18). Схожие данные были отмечены в крупном анализе экспрессии СК7/СК20 в различных опухолях [48]. Так, по данным авторов, в РЖДТ была отмечена экспрессия СК7-/СК20- в 5,4% наблюдений, сочетание СК7-/СК20+ выявлено в 12,8%, СК7+/СК20- – в 56,4% случаев и СК7+/СК20+ – в 25,5%. В этой же научной работе [48] авторы отмечают, что отрицательная экспрессия СК20 была связана с MSI у пациентов с РЖ ( $p = 0,0291$ ). Проведенный нами статистический анализ также выявил взаимосвязь положительной экспрессии с антителами к СК7 в группе с наличием MSI ( $p = 0,0009$ ), во всех этих случаях наблюдалась выраженная интенсивность окрашивания опухолевых клеток. Кроме того, были получены достоверные данные связи отрицательной экспрессии СК20 в группе с наличием MSI ( $p = 0,01$ ), а единственной комбинацией варианта экспрессии при наличии MSI была СК7+/СК20-.

Прогностическое значение экспрессии муцинов при РЖ до сих пор до конца не изучено и вызывает интерес в научном сообществе. Так, в более ранних научных исследованиях сообщалось, что уровень экспрессии Muc1 снижался при потере опухолевой дифференцировки [148], хотя в то же время другие исследователи сообщали, что у пациентов с Muc1-положительным раком выживаемость была значительно ниже, чем у пациентов с Muc1-отрицательным раком [131].

Современные научные исследования сообщают о том, что выраженная экспрессия MUC1 сопряжена с более агрессивным течением болезни и обычно ассоциирована с РЖДТ или распространенными формами течения РЖКТ [132]. В нашей работе положительная экспрессия с антителами к MUC1 была выявлена у 82,69%, отрицательная в 17,31% случаев. Также мы выявили взаимосвязь между отрицательной экспрессией с антителами к MUC1 в группе с наличием MSI ( $p$

<0,001). Однако нами не было найдено публикаций, в которых исследователи оценивали экспрессию муцинов с РЖ, обусловленным MSI. Отсутствие единого мнения в отношении экспрессии MUC2 также прослеживается в анализе научной литературы. Более ранние данные сообщают о том, что частота положительной экспрессии MUC2 была выше при РЖДТ, чем при РЖКТ [149], однако также существуют противоположные данные, по которым MUC2 чаще выявляется в РЖКТ [37]. В недавнем опубликованном систематическом обзоре и мета-анализе [148] сообщается, что положительные случаи MUC2 коррелируют с более низкой стадией опухоли и более низкой скоростью лимфатической инвазии, однако не было выявлено значимой связи между экспрессией MUC2 и другими клинико-патологическими параметрами, включая пол, размер опухоли, классификацию Lauren и степень дифференцировки опухоли. В нашем исследовании положительная экспрессия с антителом к MUC2 была выявлена в 17,31% наблюдений, а отрицательная – у 82,69% пациентов с РЖДТ. При статистическом анализе экспрессии MUC2 в случаях с MSI мы не обнаружили значимых различий. В отношении экспрессии MUC5AC также имеются данные о том, что уровень экспрессии снижался с потерей опухолевой дифференцировки [149]. Более низкая экспрессия MUC5AC была идентифицирована как независимый плохой прогностический фактор при РЖДТ [50]. Современные литературные данные сообщают о высоких показателях положительных результатов экспрессии с антителами к MUC5AC, которые наблюдались при РЖДТ в 44% случаев [133]. В нашей работе положительная экспрессия с антителами к MUC5AC была выявлена в 71,15%, а отрицательная – в 28,85% наблюдений. Кроме того, нами показана статистическая взаимосвязь между положительной экспрессией MUC5AC в группе с отсутствием признаков MSI ( $p < 0,001$ ).

Экспрессия CDX2, по данным научной мировой литературы, обнаруживается как при РЖКТ, так и при РЖДТ, однако, по имеющимся данным, при РЖДТ положительная экспрессия выявляется значительно реже, чем при РЖКТ [29, 65, 162]. В нашей работе мы исследовали экспрессию CDX2 только у пациентов с РЖДТ. Положительная экспрессия с антителами к CDX2 была

выявлена в 40 наблюдениях (76,93%), а статистический анализ не выявил значимых различий в экспрессии CDX2 в группах с наличием и отсутствием признаков MSI.

Исходя из полученных результатов нашей работы, мы можем предположить алгоритм определения молекулярного подтипа внутри случаев РЖДТ с помощью метода ИГХ (Рисунок 80).



Рисунок 80 – Алгоритм исследования с раком желудка диффузного типа

Главными показателями здесь будут служить результаты ИГХ исследования с антителами к EBV, MSI, p53 и E-cadherin. Так, при положительной экспрессии с антителами к EBV данный случай следует отнести к EBV-ассоциированному молекулярному подтипу, однако мы считаем необходимым отметить, что положительный результат необходимо подтвердить, используя метод гибридизации *in situ*. Следующим этапом происходит определение экспрессии MSI, и при положительном результате данный случай РЖДТ классифицируется как обусловленный MSI. Третьим этапом мы оцениваем экспрессию E-cadherin, при отрицательной экспрессии следует отнести такой случай в молекулярный подтип GS. Заключительным этапом в определении молекулярного подтипа

производится оценка p53, где при выявлении aberrантной экспрессии в сочетании с положительным PD-L1 статусом следует считать такой случай как обусловленный CIN.

Стоит отметить что аналогичная схема была продемонстрирована группой ученых из Бразилии [77], но в их работе рассматривались только случаи РЖКТ.

Мы считаем, что каждый этап в данном диагностическом пуле необходим для исключения ошибочной трактовки полученных данных, и поэтому стоит рекомендовать в каждом случае генетическое исследование материала для подтверждения молекулярного подтипа РЖДТ.

### **Заключение**

Изучение рака желудка диффузного типа остается перспективным направлением в современной онкоморфологии, особенно повышается актуальность этой темы благодаря развитию и высокой доступности сочетания патоморфологических и молекулярно-генетических исследований. Новые научные концепции позволяют взглянуть на РДЖТ как на гетерогенное по своей молекулярно-генетической структуре заболевание. Если первоначально считалось, что РДЖТ является GS-молекулярным подтипом, то на сегодняшний день принято говорить, что РДЖТ в основном представлен GS-молекулярным подтипом. Практикующие патологоанатомы и научные исследователи чаще обращают внимание на выявление молекулярных подтипов MSI и CIN при диагностике РЖДТ. Здесь мы считаем необходимым снова обратиться к теории существования «кластеров» РЖДТ: исходя из ее концепции, все случаи РЖДТ, обусловленные GS-молекулярным подтипом, следует трактовать как основной «кластер» РЖДТ, а наблюдения, в которых будет выявлен иной молекулярный подтип РЖДТ (MSI, CIN, EBV), необходимо отнести к кишечноподобному «кластеру» РЖДТ. Наше исследование было направлено на выявление морфологических,

иммуногистохимических и молекулярно-генетических данных, которые позволили нам правильно классифицировать различные варианты «кластера» РЖДТ.

В нашей работе с помощью ИГХ нам удалось выявить случаи РЖДТ с признаками MSI, а дальнейшая оценка ИГХ профиля выявила особенности экспрессии некоторых антител у данной группы пациентов. К этим особенностям следует отнести отрицательную экспрессию MUC1, сочетание выраженной положительной экспрессии CK7 при наличии отрицательной экспрессии CK20, положительную экспрессию E-cadherin и положительный статус PD-L1. Помимо этого, мы обратили внимание на aberrантную экспрессию p53 как на возможный предиктор диагностики РЖДТ, обусловленного CIN, но только в сочетании с положительным PD-L1 статусом. Говоря о EBV, научное сообщество не отрицает возможную роль вируса как одного из инициаторов патогенеза развития РЖДТ, однако пока не было сообщено об обнаружении молекулярного подтипа РЖДТ, обусловленного EBV. Практически во всех описанных в научной литературе случаях EBV-ассоциированных карцином желудка данную опухоль относят к гистологическому типу с выраженной лимфоидной стромой. Полученные нами данные подтверждают теорию существования «кластеров» РЖДТ, а некоторые результаты нашего исследования могут быть применены для дальнейшего углубленного изучения этой темы, формирования персонализированных подходов к диагностике и ведению пациентов с РЖДТ. В ходе проведенного нами исследования был разработан способ дифференциальной диагностики «кластеров» РЖДТ, а также были получены данные об особенностях экспрессии MUC1, CK7, CK20, E-cadherin и PD-L1 в случаях выявления молекулярного подтипа РЖДТ, обусловленного MSI.

## Выводы

1. Установлено, что средний возраст пациентов с раком желудка диффузного типа соответствует 68 годам, при этом медиана возраста у мужчин 68 лет, а у женщин – 72,  $p = 0,006$ . Соотношение мужчин и женщин в когорте обследованных составило 1:1. Локализация злокачественной опухоли чаще наблюдалась в теле желудка (40,1%), на втором месте по распространенности следует поражение двух или более локализаций (38,1%).

2. Рак желудка диффузного типа относится к молекулярно-генетическому гетерогенному заболеванию: молекулярный подтип со стабильным геномом представлен в 44,23% наблюдений; молекулярный подтип, обусловленный микросателлитной нестабильностью, – в 15,38%; молекулярный подтип, связанный с хромосомной нестабильностью – 3,84%; молекулярного подтипа, ассоциированного с вирусом Эпштейн-Барр, выявлено не было; 36,5% клинических наблюдений не были отнесены ни к одному из молекулярных подтипов рака желудка диффузного типа.

3. Установлено, что частота встречаемости *H. pylori* у пациентов с раком желудка диффузного типа составила 9,61% наблюдений, EBV – 46,15%, CMV – 15,38% и HHV6 – 9,61%. Взаимосвязи между инфекционным агентом и молекулярным подтипом рака желудка диффузного типа выявлено не было.

4. Для рака желудка диффузного типа со стабильным геномом характерна отрицательная экспрессия E-cadherin и отрицательный PD-L1 статус ( $p = 0,0288$ ); для случаев, обусловленных микросателлитной нестабильностью, – положительная экспрессия E-cadherin ( $p = 0,0187$ ) и CK7 ( $p = 0,0009$ ), отрицательная экспрессия CK20 ( $p = 0,01$ ) и MUC1 ( $p < 0,001$ ), положительный PD-L1 статус опухоли ( $p < 0,001$ ); для молекулярного подтипа, связанного с хромосомной нестабильностью, выявлены: aberrантная экспрессия p53, положительная экспрессия E-cadherin ( $p < 0,001$ ) и положительный PD-L1 статус опухоли.

5. Для клинико-морфологической диагностики молекулярно-генетических подтипов рака желудка диффузного типа необходимо проведение гистологической и гистохимической окраски ШИФФ-реактивом в сочетании с альциановым синим с целью выявления перстневидно-клеточного компонента, а также иммуногистохимическое исследование с панелью антител, включающей E-cadherin, p53, MSI, EBV, MUC1, CK7, CK20, HER2 и PD-L1.

## Практические рекомендации

Результаты проведенного исследования показывают клиничко-морфологическую и молекулярно-генетическую неоднородность рака желудка диффузного типа и необходимость расширенного патоморфологического исследования у пациентов с данной формой карциномы (Рисунок 80). Для эффективной диагностики рака желудка диффузного типа мы рекомендуем:

1. Проводить патоморфологическое исследование срезов, окрашенных гематоксилином и эозином и ШИК-реакцией в сочетании с альциановым синим, для определения перстневидно-клеточного компонента. В заключении необходимо отражать процентное соотношение содержания перстневидных клеток, используя следующие градации: менее 10%, от 10 до 90% и более 90% в составе опухоли.
2. Определить молекулярно-генетический подтип, используя антитела к E-cadherin, p53, MSI, EBV. В случае положительного результата с любым из вышеперечисленных антител необходимо подтвердить результат с помощью генетических методов исследования.
3. Независимо от результатов определения молекулярно-генетического подтипа провести иммуногистохимическое исследование с антителами к MUC1, CK7, CK20, HER2 и PD-L1 (клон SP263), используя систему подсчета Combined Positive Score (CPS).
4. При формировании заключения прижизненного патолого-анатомического исследования необходимо использовать две гистологические классификации (Lauren и ВОЗ), отразить процентное содержание перстневидно-клеточного компонента, HER2 и PD-L1 статус опухоли.

Таким образом, исследование рака желудка диффузного типа должно проходить с учетом морфологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических данных. Это позволит правильно трактовать гистологический тип и молекулярно-генетический подтип, который напрямую влияет на определение



тактики лечения, выбора пациентов, которым показана таргетная терапия и не рекомендована неоадьювантная и системная химиотерапия.

Полученные данные, на наш взгляд, имеют важное значение для формирования рекомендаций прижизненного патоморфологического исследования рака желудка диффузного типа, а также расширяют представления о молекулярно-генетической неоднородности данного типа карциномы в рамках теории «кластеров».

## Список сокращений

ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения

ИГХ – иммуногистохимическое исследование

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

НРЖДТ – наследственный рак желудка диффузного типа

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РЖ – рак желудка

РЖКТ – рак желудка кишечного типа

РДЖТ – рак желудка диффузного типа

ACRG – Asian Cancer Research Group

СКЗ – стандартизированный коэффициент заболеваемости

CDH1 – ген *CDH1*

CDX2 – белок CDX2

CIN – Chromosomal instability (хромосомная нестабильность)

СК – цитокератин

CMV – Cytomegalovirus (цитомегаловирус)

CPS – Combined Positive Score

EBV – вирус Эпштейна-Барр

EGFR – epidermal growth factor receptor (рецептор эпидермального фактора роста)

GS – стабильный геном

*H. pylori* – *Helicobacter pylori*

HER2 – Human epidermal growth factor receptor 2 (рецептор 2 эпидермального фактора роста человека)

HER3 – Human epidermal growth factor receptor 3 (рецептор 3 эпидермального фактора роста человека)

HER4 – Human epidermal growth factor receptor 4 (рецептор 4 эпидермального фактора роста человека)

HHV6 – Human herpesvirus 6 (герпесвирус 6 типа)

IARC – International Agency for Research on Cancer (Международное агентство по изучению рака)

ICI – Immune checkpoint inhibitors (ингибиторы контрольных точек)

IGCA – International Gastric Cancer Association (Международная ассоциация по раку желудка)

MSI – Microsatellite Instability (микросателлитная нестабильность)

MSS – Microsatellite Stability (микросателлитная стабильность)

MUC – муцин

PD1 – Programmed cell death 1 (белок PD1)

PD-L1 – Programmed cell death ligand 1

PD-L2 – Programmed cell death ligand 2

SRC – signet-ring cell (перстневидные клетки)

TCGA – The Cancer Genome Atlas (Атлас ракового генома)

VEGF – vascular endothelial growth factor (фактор роста эндотелия сосудов)

## Список литературы

1. Аденокарцинома желудка, ассоциированная с вирусом Эпштейна—Барр / Н. В. Данилова, П. Г. Мальков, Н. А. Олейникова [и др.] // Архив патологии. – 2019. – Том. 81. – № 3. – С. 74.
2. Данилова, Н. В. Классификация эпителиальных опухолей желудка ВОЗ 2019 г., 5-е издание. / Н. В. Данилова, Н. А. Олейникова, П. Г. Мальков // Архив патологии. – 2020. – Том. 82. – № 4. – С. 58.
3. Каприн, А. Д. Состояние онкологической помощи населению России в 2021 году / А. Д. Каприн, В. В. Старинский, А. О. Шахзадова. – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2022. – 239 с.
4. Карцинома желудка из плохо сцепленных клеток. Правомочность использования термина и варианты перевода / Н. С. Карнаухов, С. Г. Хомерики, И. С. Дерижанова [и др.] // Архив патологии. – 2021. – Том. 83. – № 4. – С. 69.
5. Клинико-морфологическая неоднородность рака желудка диффузного типа / К. Ю. Мидибер, А. Е. Бирюков, В. В. Печникова [и др.] // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2021. – Том. 10. – № S4. – С. 34-41.
6. Кононов, А. В. Гетерогенность воспалительного ответа в популяции при *Helicobacter pylori* — инфекции // Педиатрия. – 2002. – Том. 2. – С. 124-130.
7. Кононов, А. В. Молекулярно — клеточные основы взаимодействия *Helicobacter pylori* и хозяина. Инфект удален — что дальше? // Омский научный вестник. – 2002. – Том. 21. – С. 17-28.
8. Обратное развитие морфологических признаков при основных вариантах хронического гастрита в условиях эрадикации *Helicobacter pylori* / А. В. Кононов, С. И. Мозговой, М. А. Ливзан [и др.] // Архив патологии. – 2005. – Том. 3. – С. 17-21.
9. Рак желудка: современные молекулярно-генетические данные (обзор литературы). / А. В. Белковец, О. В. Решетников, С. А. Курилович [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2014. – Том. 2. – С. 56-64.

10. Серологически позитивные случаи рака желудка, ассоциированного с вирусом Эпштейна—Барр / И. И. Алентов, А. В. Чайка, В. Ю. Скоропад [и др.] // Профилактическая медицина. – 2021. – Том. 24. – № 3. – С. 77.
11. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. / C. R. Boland, S. N. Thibodeau, S. R. Hamilton [et al.] // Cancer research. – 1998. – Vol. 58. – № 22. – P. 5248-5257.
12. A population-based study on intestinal and diffuse type adenocarcinoma of the oesophagus and stomach in the Netherlands between 1989 and 2015 / R. T. van der Kaaij, W. J. Koemans, M. van Putten [et al.] // European Journal of Cancer. – 2020. – Vol. 130. – P. 23-31.
13. A subset of diffuse-type gastric cancer is susceptible to mTOR inhibitors and checkpoint inhibitors / H. Fukamachi, S. K. Kim, J. Koh [et al.] // Journal of Experimental & Clinical Cancer Research. – 2019. – Vol. 38. – № 1. – P. 127.
14. Abrahao-Machado, L. F. HER2 testing in gastric cancer: An update. / L. F. Abrahao-Machado, C. Scapulatempo-Neto // World journal of gastroenterology. – 2016. – Vol. 22. – № 19. – P. 4619-4625.
15. Abundant PD-L1 expression in Epstein-Barr Virus-infected gastric cancers. / S. Derks, X. Liao, A. M. Chiaravalli [et al.] // Oncotarget. – 2016. – Vol. 7. – № 22. – P. 32925-32932.
16. Advanced non-cardia gastric cancer and Helicobacter pylori infection in Vietnam / T. T. Binh, V. P. Tuan, H. D. Q. Dung [et al.] // Gut Pathogens. – 2017. – Vol. 9. – № 1. – P. 46.
17. Amirmoezi, F. Molecular Classification of Gastric Cancer With Emphasis on PDL-1 Expression: The First Report From Iran. / F. Amirmoezi, B. Geramizadeh // Clinical pathology (Thousand Oaks, Ventura County, Calif.). – 2022. – Vol. 15. – P. 2632010X221096378.
18. Assessing molecular subtypes of gastric cancer: microsatellite unstable and Epstein-Barr virus subtypes. Methods for detection and clinical and pathological

- implications. / C. Martinez-Ciarpaglini, T. Fleitas-Kanonnikoff, V. Gambardella [et al.] // *ESMO open*. – 2019. – Vol. 4. – № 3. – P. e000470.
19. Association between Epstein-Barr virus infection and gastric cancer: a systematic review and meta-analysis / A. Tavakoli, S. H. Monavari, F. Solaymani Mohammadi [et al.] // *BMC Cancer*. – 2020. – Vol. 20. – № 1. – P. 493.
20. Association between Polymorphisms in Inflammatory Response-Related Genes and the Susceptibility, Progression and Prognosis of the Diffuse Histological Subtype of Gastric Cancer. Vol. 9 / T. K. Furuya, C. E. Jacob, M. T. P. Tomitão [et al.]. – 2018.
21. Association of Helicobacter Pylori in Carcinoma Stomach at Maharaja Krishna Chandra Gajapat Medical College: A Prospective Study. / A. K. Behera, M. R. Dash, D. N. Soren [et al.] // *Cureus*. – 2022. – Vol. 14. – № 10. – P. e30709.
22. Bosman, F. T. World Health Organization classification of tumours, 4th edition / F. T. Bosman // World Health Organization International Agency for Research on Cancer. – 2010. – P. 417.
23. Brockhausen, I. Mucins as anti-cancer targets: perspectives of the glyco biologist. / I. Brockhausen, J. Melamed // *Glycoconjugate journal*. – 2021. – Vol. 38. – № 4. – P. 459-474.
24. c-erbB-2 is of independent prognostic relevance in gastric cancer and is associated with the expression of tumor-associated protease systems. / H. Allgayer, R. Babic, K. U. Gruetzner [et al.] // *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. – 2000. – Vol. 18. – № 11. – P. 2201-2209.
25. CagA Associates with c-Met, E-Cadherin, and p120-Catenin in a Multiproteic Complex That Suppresses Helicobacter pylori-Induced Cell-Invasive Phenotype / M. J. Oliveira, A. M. Costa, A. C. Costa [et al.] // *The Journal of Infectious Diseases*. – 2009. – Vol. 200. – № 5. – P. 745-755.
26. Cancer Incidence in Five Continents: Inclusion criteria, highlights from Volume X and the global status of cancer registration / F. Bray, J. Ferlay, M. Laversanne [et al.] // *International Journal of Cancer*. – 2015. – Vol. 137. – № 9. – P. 2060-2071.
27. Cancer statistics in China, 2015. / W. Chen, R. Zheng, P. D. Baade [et al.] // *CA: a cancer journal for clinicians*. – 2016. – Vol. 66. – № 2. – P. 115-132.

28. Cantalupo, P. G. Viral sequences in human cancer. / P. G. Cantalupo, J. P. Katz, J. M. Pipas // *Virology*. – 2018. – Vol. 513. – P. 208-216.
29. CDX-1/CDX-2 Expression Is a Favorable Prognostic Factor in Epstein-Barr Virus-Negative, Mismatch Repair-Proficient Advanced Gastric Cancers. / K. Kim, S. Noh, J.-H. Cheong, H. Kim // *Gut and liver*. – 2021. – Vol. 15. – № 5. – P. 694-704.
30. Changing clinical and pathological features of gastric cancer over time. / D. Marrelli, C. Pedrazzani, P. Morgagni [et al.] // *The British journal of surgery*. – 2011. – Vol. 98. – № 9. – P. 1273-1283.
31. Characteristics of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma with lymphoid stroma in Japan. / H. Matsunou, F. Konishi, H. Hori [et al.] // *Cancer*. – 1996. – Vol. 77. – № 10. – P. 1998-2004.
32. Chu, P. Cytokeratin 7 and Cytokeratin 20 Expression in Epithelial Neoplasms: A Survey of 435 Cases / P. Chu, E. Wu, L. M. Weiss // *Modern Pathology*. – 2000. – Vol. 13. – № 9. – P. 962-972.
33. Clinical Significance of HER2 Overexpression in Gastric and Gastroesophageal Junction Cancers. / M. Baykara, M. Benekli, O. Ekinici [et al.] // *Journal of gastrointestinal surgery : official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract*. – 2015. – Vol. 19. – № 9. – P. 1565-1571.
34. Clinical Significance of IgG Antibody Titer against *Helicobacter pylori* / M. Tatemichi, S. Sasazuki, M. Inoue [et al.] // *Helicobacter*. – 2009. – Vol. 14. – № 3. – P. 231-236.
35. Clinicopathological and molecular characteristics of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma: a meta-analysis. / J.-H. Lee, S.-H. Kim, S.-H. Han [et al.] // *Journal of gastroenterology and hepatology*. – 2009. – Vol. 24. – № 3. – P. 354-365.
36. Clinicopathological and prognostic features of Epstein-Barr virus infection, microsatellite instability, and PD-L1 expression in gastric cancer. / M. A. Pereira, M. F. K. P. Ramos, S. F. Faraj [et al.] // *Journal of surgical oncology*. – 2018. – Vol. 117. – № 5. – P. 829-839.
37. Clinicopathological and prognostic significance of MUC-2, MUC-4 and MUC-5AC expression in Japanese gastric carcinomas. / L.-J. Xiao, S. Zhao, E.-H. Zhao [et

- al.] // Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP. – 2012. – Vol. 13. – № 12. – P. 6447-6453.
38. Clinicopathological Features and Prognosis of Mixed-Type T1a Gastric Cancer Based on Lauren's Classification. / J. H. Pyo, S. Ahn, H. Lee [et al.] // Annals of surgical oncology. – 2016. – Vol. 23. – № Suppl 5. – P. 784-791.
39. Clinicopathological features of PD-L1 protein expression, EBV positivity, and MSI status in patients with advanced gastric and esophagogastric junction adenocarcinoma in Japan. / T. Yoshida, G. Ogura, M. Tanabe [et al.] // Cancer biology & therapy. – 2022. – Vol. 23. – № 1. – P. 191-200.
40. Clinicopathological features of programmed death ligand 1 expression with tumor-infiltrating lymphocyte, mismatch repair, and Epstein–Barr virus status in a large cohort of gastric cancer patients / A. Kawazoe, T. Kuwata, Y. Kuboki [et al.] // Gastric Cancer. – 2017. – Vol. 20. – № 3. – P. 407-415.
41. Clinicopathological Variation of Lauren Classification in Gastric Cancer / Y.-C. Chen, W.-L. Fang, R.-F. Wang [et al.] // Pathology & Oncology Research. – 2016. – Vol. 22. – № 1. – P. 197-202.
42. Cloning and characterization of the human invasion suppressor gene E-cadherin (CDH1). / G. Berx, K. Staes, J. van Hengel [et al.] // Genomics. – 1995. – Vol. 26. – № 2. – P. 281-289.
43. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. // Nature. – 2014. – Vol. 513. – № 7517. – P. 202-209.
44. Consensus on the pathological definition and classification of poorly cohesive gastric carcinoma / C. Mariette, F. Carneiro, H. I. Grabsch [et al.] // Gastric Cancer. – 2019. – Vol. 22. – № 1. – P. 1-9.
45. Correa, P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process--First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. / P. Correa // Cancer research. – 1992. – Vol. 52. – № 24. – P. 6735-6740.
46. Correlation of human epidermal growth factor receptor 2 expression with clinicopathological characteristics and prognosis in gastric cancer. / C. He, X.-Y. Bian, X.-Z. Ni [et al.] // World journal of gastroenterology. – 2013. – Vol. 19. – № 14. –



P. 2171-2178.

47. Correlation of microsatellite instability at multiple loci with long-term survival in advanced gastric carcinoma. / G. Corso, C. Pedrazzani, D. Marrelli [et al.] // Archives of surgery (Chicago, Ill. : 1960). – 2009. – Vol. 144. – № 8. – P. 722-727.
48. Cytokeratin 7 and cytokeratin 20 expression in cancer: A tissue microarray study on 15,424 cancers. / D. Dum, A. Menz, C. Völkel [et al.] // Experimental and molecular pathology. – 2022. – Vol. 126. – P. 104762.
49. Cytokeratin expression profile in gastric carcinomas / M. A. Kim, H. S. Lee, H.-K. Yang, W. H. Kim // Human Pathology. – 2004. – Vol. 35. – № 5. – P. 576-581.
50. Decreased Muc5AC expression is associated with poor prognosis in gastric cancer. / S. M. Kim, C. H. Kwon, N. Shin [et al.] // International journal of cancer. – 2014. – Vol. 134. – № 1. – P. 114-124.
51. Defining “chromosomal instability”. / J. B. Geigl, A. C. Obenauf, T. Schwarzbraun, M. R. Speicher // Trends in genetics : TIG. – 2008. – Vol. 24. – № 2. – P. 64-69.
52. Demonstration of Epstein-Barr virus in carcinomas of various sites. / S. Grinstein, M. V. Preciado, P. Gattuso [et al.] // Cancer research. – 2002. – Vol. 62. – № 17. – P. 4876-4878.
53. Development of gastric cancer in nonatrophic stomach with highly active inflammation identified by serum levels of pepsinogen and Helicobacter pylori antibody together with endoscopic rugal hyperplastic gastritis / M. Watanabe, J. Kato, I. Inoue [et al.] // International Journal of Cancer. – 2012. – Vol. 131. – № 11. – P. 2632-2642.
54. Differential Prognostic Implications of Gastric Signet Ring Cell Carcinoma: Stage Adjusted Analysis From a Single High-volume Center in Asia. / H. J. Chon, W. J. Hyung, C. Kim [et al.] // Annals of surgery. – 2017. – Vol. 265. – № 5. – P. 946-953.
55. Differential trends in the intestinal and diffuse types of gastric carcinoma in the United States, 1973-2000: increase in the signet ring cell type. / D. E. Henson, C. Dittus, M. Younes [et al.] // Archives of pathology & laboratory medicine. – 2004. – Vol. 128. – № 7. – P. 765-770.
56. Diffuse gastric cancer: Emerging mechanisms of tumor initiation and progression

- / J. L. Monster, L. J. S. Kemp, M. Gloerich, R. S. van der Post // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*. – 2022. – Vol. 1877. – № 3. – P. 188719.
57. Discrimination of p53 immunohistochemistry-positive tumors by its staining pattern in gastric cancer. / K. Ando, E. Oki, H. Saeki [et al.] // *Cancer medicine*. – 2015. – Vol. 4. – № 1. – P. 75-83.
58. Divergent trends for gastric cancer incidence by anatomical subsite in US adults. / M. C. Camargo, W. F. Anderson, J. B. King [et al.] // *Gut*. – 2011. – Vol. 60. – № 12. – P. 1644-1649.
59. E-cadherin expression in sporadic gastric cancer from Mexico: exon 8 and 9 deletions are infrequent events associated with poor survival. / A. Gamboa-Dominguez, C. Dominguez-Fonseca, Y. Chavarri-Guerra [et al.] // *Human pathology*. – 2005. – Vol. 36. – № 1. – P. 29-35.
60. E-cadherin in gastric carcinomas: Relations with histological parameters and its prognostic value. / D. Schizas, D. Moris, A. Michalinos [et al.] // *Journal of B.U.ON. : official journal of the Balkan Union of Oncology*. – 2017. – Vol. 22. – № 2. – P. 383-389.
61. E-cadherin is a biomarker for ferroptosis sensitivity in diffuse gastric cancer. / A. M. Minikes, Y. Song, Y. Feng [et al.] // *Oncogene*. – 2023. – Vol. 42. – № 11. – P. 848-857.
62. EBV and MSI Status in Gastric Cancer: Does It Matter? / C. N. do Nascimento, L. Mascarenhas-Lemos, J. R. Silva [et al.] // *Cancers*. – 2022. – Vol. 15. – № 1.
63. Effect of dietary fiber on constipation: a meta analysis. / J. Yang, H.-P. Wang, L. Zhou, C.-F. Xu // *World journal of gastroenterology*. – 2012. – Vol. 18. – № 48. – P. 7378-7383.
64. Elevated PD-L1 Expression and Microsatellite Instability in Elderly Patients With Gastric Cancer. / T.-H. Chen, M.-H. Chen, Y.-P. Hung [et al.] // *Journal of immunotherapy (Hagerstown, Md. : 1997)*. – 2023. – Vol. 46. – № 3. – P. 111-119.
65. Expression and significance of homeodomain protein Cdx2 in gastric carcinoma and precancerous lesions. / R. Qin, N.-N. Wang, J. Chu, X. Wang // *World journal of gastroenterology*. – 2012. – Vol. 18. – № 25. – P. 3296-3302.

66. Expression level and prognostic value of PD-L1 in microsatellite instability-high gastric cancer. / X. Y. Wang, Y. J. Hu, K. Dong [et al.] // *Zhonghua bing li xue za zhi = Chinese journal of pathology*. – 2020. – Vol. 49. – № 11. – P. 1114-1119.
67. Expression of cytokeratins 7 and 20 in primary carcinomas of the stomach and colorectum and their value in the differential diagnosis of metastatic carcinomas to the ovary / S. Y. Park, H. S. Kim, E. K. Hong, W. H. Kim // *Human Pathology*. – 2002. – Vol. 33. – № 11. – P. 1078-1085.
68. Expression of epidermal growth factor receptors on normal human gastric epithelia and gastric carcinomas. / K. Sakai, S. Mori, T. Kawamoto [et al.] // *Journal of the National Cancer Institute*. – 1986. – Vol. 77. – № 5. – P. 1047-1052.
69. Expression of Epstein-Barr Virus Gene and Clonality of Infiltrated T Lymphocytes in Epstein-Barr Virus-associated Gastric Carcinoma. / J. M. Lee, H. Kim, S. H. Noh [et al.] // *Immune network*. – 2011. – Vol. 11. – № 1. – P. 50-58.
70. Fukayama, M. Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. / M. Fukayama, T. Ushiku // *Pathology, research and practice*. – 2011. – Vol. 207. – № 9. – P. 529-537.
71. Gall, T. M. H. Gene of the month: E-cadherin (CDH1). / T. M. H. Gall, A. E. Frampton // *Journal of clinical pathology*. – 2013. – Vol. 66. – № 11. – P. 928-932.
72. Gastric Cancer, Version 2.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. / J. A. Ajani, T. A. D'Amico, D. J. Bentrem [et al.] // *Journal of the National Comprehensive Cancer Network : JNCCN*. – 2022. – Vol. 20. – № 2. – P. 167-192.
73. Gastric cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. Vol. 33 / F. Lordick, F. Carneiro, S. Cascinu [et al.]. – England, 2022.
74. Gastric cancer in a high-risk area in Italy. Histopathologic patterns according to Lauren's classification. / A. Amorosi, S. Bianchi, E. Buiatti [et al.] // *Cancer*. – 1988. – Vol. 62. – № 10. – P. 2191-2196.
75. Gastric cancer molecular classification and adjuvant therapy: Is there a different benefit according to the subtype? / M. F. K. P. Ramos, M. A. Pereira, L. C. Amorim [et al.] // *Journal of surgical oncology*. – 2020. – Vol. 121. – № 5. – P. 804-813.
76. Gastric cancer molecular classification based on immunohistochemistry and in situ hybridization: Analysis in western patients after curative-intent surgery. / M. F. K.

- P. Ramos, M. A. Pereira, E. S. de Mello [et al.] // World journal of clinical oncology. – 2021. – Vol. 12. – № 8. – P. 688-701.
77. Gastric cancer molecular classification based on immunohistochemistry and in situ hybridization: Analysis in western patients after curative-intent surgery / M. F. K. P. Ramos, M. A. Pereira, E. S. de Mello [et al.] // World Journal of Clinical Oncology. – 2021. – Vol. 12. – № 8. – P. 688-701.
78. Global and national trends in the age-specific sex ratio of esophageal cancer and gastric cancer by subtype. / S. Wang, R. Zheng, M. Arnold [et al.] // International journal of cancer. – 2022. – Vol. 151. – № 9. – P. 1447-1461.
79. Global burden of cancer attributable to infections in 2018: a worldwide incidence analysis. / C. de Martel, D. Georges, F. Bray [et al.] // The Lancet. Global health. – 2020. – Vol. 8. – № 2. – P. e180-e190.
80. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram [et al.] // CA: A Cancer Journal for Clinicians. – 2018. – Vol. 68. – № 6. – P. 394-424.
81. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. / H. Sung, J. Ferlay, R. L. Siegel [et al.] // CA: a cancer journal for clinicians. – 2021. – Vol. 71. – № 3. – P. 209-249.
82. Global Prevalence of Helicobacter pylori Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. / J. K. Y. Hooi, W. Y. Lai, W. K. Ng [et al.] // Gastroenterology. – 2017. – Vol. 153. – № 2. – P. 420-429.
83. Gowryshankar, A. HER2 status in Barrett's esophagus & esophageal cancer: a meta analysis. / A. Gowryshankar, V. Nagaraja, G. D. Eslick // Journal of gastrointestinal oncology. – 2014. – Vol. 5. – № 1. – P. 25-35.
84. Gravalos, C. HER2 in gastric cancer: a new prognostic factor and a novel therapeutic target. / C. Gravalos, A. Jimeno // Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology. – 2008. – Vol. 19. – № 9. – P. 1523-1529.
85. Helicobacter pylori-induced enlarged-fold gastritis is associated with increased mutagenicity of gastric juice, increased oxidative DNA damage, and an increased risk of gastric carcinoma / H. NISHIBAYASHI, S. KANAYAMA, T. KIYOHARA [et al.] //

- Journal of Gastroenterology and Hepatology. – 2003. – Vol. 18. – № 12. – P. 1384-1391.
86. *Helicobacter pylori* CagA induces a transition from polarized to invasive phenotypes in MDCK cells / F. Bagnoli, L. Buti, L. Tompkins [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2005. – Vol. 102. – № 45. – P. 16339-16344.
87. *Helicobacter pylori* infection. / P. Malfertheiner, M. C. Camargo, E. El-Omar [et al.] // Nature reviews. Disease primers. – 2023. – Vol. 9. – № 1. – P. 19.
88. *Helicobacter pylori* infection and gastric neoplasia: correlations with histological gastritis and tumor histology. / K. Komoto, K. Haruma, T. Kamada [et al.] // The American journal of gastroenterology. – 1998. – Vol. 93. – № 8. – P. 1271-1276.
89. *Helicobacter pylori* infection and PD-L1 expression in gastric cancer: A meta-analysis. / Y. Zhu, F. Zhu, H. Ba [et al.] // European journal of clinical investigation. – 2023. – Vol. 53. – № 2. – P. e13880.
90. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. / N. Uemura, S. Okamoto, S. Yamamoto [et al.] // The New England journal of medicine. – 2001. – Vol. 345. – № 11. – P. 784-789.
91. HER-2/neu amplification is an independent prognostic factor in gastric cancer. / D. Il Park, J. W. Yun, J. H. Park [et al.] // Digestive diseases and sciences. – 2006. – Vol. 51. – № 8. – P. 1371-1379.
92. HER2-Positive Gastric Cancer: The Role of Immunotherapy and Novel Therapeutic Strategies. / A. Pous, L. Notario, C. Hierro [et al.] // International journal of molecular sciences. – 2023. – Vol. 24. – № 14.
93. HER2-targeted therapies in gastric cancer. / Y. Zhu, X. Zhu, X. Wei [et al.] // Biochimica et biophysica acta. Reviews on cancer. – 2021. – Vol. 1876. – № 1. – P. 188549.
94. HER2/neu (ERBB2) expression and gene amplification correlates with better survival in esophageal adenocarcinoma. / P. S. Plum, F. Gebauer, M. Krämer [et al.] // BMC cancer. – 2019. – Vol. 19. – № 1. – P. 38.
95. HER2 expression status in diverse cancers: review of results from 37,992 patients. / M. Yan, M. Schwaederle, D. Arguello [et al.] // Cancer metastasis reviews. –

2015. – Vol. 34. – № 1. – P. 157-164.

96. HER2 Status in Gastric and Gastroesophageal Junction Cancer: Results of the Large, Multinational HER-EAGLE Study. / W.-H. Kim, L. Gomez-Izquierdo, F. Vilardell [et al.] // *Applied immunohistochemistry & molecular morphology : AIMM*. – 2018. – Vol. 26. – № 4. – P. 239-245.

97. Hereditary diffuse gastric cancer: updated clinical guidelines with an emphasis on germline CDH1 mutation carriers. / R. S. van der Post, I. P. Vogelaar, F. Carneiro [et al.] // *Journal of medical genetics*. – 2015. – Vol. 52. – № 6. – P. 361-374.

98. High PD-L1 expression in gastric cancer (GC) patients and correlation with molecular features. / X. Liu, M. G. Choi, K. Kim [et al.] // *Pathology, research and practice*. – 2020. – Vol. 216. – № 4. – P. 152881.

99. High preoperative serum vascular endothelial growth factor levels predict poor clinical outcome after curative resection of gastric cancer. / O. Vidal, J.-P. Metges, I. Elizalde [et al.] // *The British journal of surgery*. – 2009. – Vol. 96. – № 12. – P. 1443-1451.

100. Highly Activated PD-1/PD-L1 Pathway in Gastric Cancer with PD-L1 Expression. / H. Saito, Y. Kono, Y. Murakami [et al.] // *Anticancer research*. – 2018. – Vol. 38. – № 1. – P. 107-112.

101. Histological and mutational profile of diffuse gastric cancer: current knowledge and future challenges. / J. Garcia-Pelaez, R. Barbosa-Matos, I. Gullo [et al.] // *Molecular oncology*. – 2021. – Vol. 15. – № 11. – P. 2841-2867.

102. IARC Helicobacter pylori Working Group Helicobacter pylori Eradication as a Strategy for Preventing Gastric Cancer. Lyon, France 2014: International Agency for Research on Cancer (IARC Working Group Reports, No. 8). – 2014.

103. Identification of a molecular signature of prognostic subtypes in diffuse-type gastric cancer / S.-K. Kim, H.-J. Kim, J.-L. Park [et al.] // *Gastric Cancer*. – 2020. – Vol. 23. – № 3. – P. 473-482.

104. Immunoexpression of E-cadherin, CD44 and Claudin 7 in gastric adenocarcinomas. / O. I. Crețu, C. E. Simionescu, M. M. Florescu [et al.] // *Romanian journal of morphology and embryology = Revue roumaine de morphologie et*

embryologie. – 2022. – Vol. 63. – № 3. – P. 529-537.

105. Immunoexpression of E-cadherin, P-cadherin and fibronectin in gastric carcinomas. / M. Dobrițoiu, A. E. Stepan, C. Mărgăritescu [et al.] // Romanian journal of morphology and embryology = Revue roumaine de morphologie et embryologie. – 2019. – Vol. 60. – № 2. – P. 573-579.

106. Impact of Tumor Localization and Molecular Subtypes on the Prognostic and Predictive Significance of p53 Expression in Gastric Cancer. / B. Grosser, M. Kohlruss, J. Slotta-Huspenina [et al.] // Cancers. – 2020. – Vol. 12. – № 6.

107. Increased frequency of antigen-specific CD8(+) cytotoxic T lymphocytes infiltrating an Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. / K. Kuzushima, S. Nakamura, T. Nakamura [et al.] // The Journal of clinical investigation. – 1999. – Vol. 104. – № 2. – P. 163-171.

108. Individual Patient Data Meta-Analysis of the Value of Microsatellite Instability As a Biomarker in Gastric Cancer. / F. Pietrantonio, R. Miceli, A. Raimondi [et al.] // Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology. – 2019. – Vol. 37. – № 35. – P. 3392-3400.

109. Intercellular junction assembly, dynamics, and homeostasis. / K. J. Green, S. Getsios, S. Troyanovsky, L. M. Godsel // Cold Spring Harbor perspectives in biology. – 2010. – Vol. 2. – № 2. – P. a000125.

110. Is pretreatment endoscopic biopsy a good predictor of signet ring cell histology in gastric carcinoma? / G. Piessen, D. Amielh, M. Messenger [et al.] // World journal of surgery. – 2012. – Vol. 36. – № 2. – P. 346-354.

111. Is signet-ring cell carcinoma a specific entity among gastric cancers? / T. Voron, M. Messenger, A. Duhamel [et al.] // Gastric cancer: official journal of the International Gastric Cancer Association and the Japanese Gastric Cancer Association. – 2016. – Vol. 19. – № 4. – P. 1027-1040.

112. Is the recent WHO histological classification for gastric cancer helpful for application to endoscopic resection? / Y. H. Kim, J.-H. Kim, H. Kim [et al.] // Gastric cancer: official journal of the International Gastric Cancer Association and the Japanese Gastric Cancer Association. – 2016. – Vol. 19. – № 3. – P. 869-875.

113. Jørgensen, J. T. HER2 as a Prognostic Marker in Gastric Cancer - A Systematic Analysis of Data from the Literature. / J. T. Jørgensen, M. Hersom // *Journal of Cancer*. – 2012. – Vol. 3. – P. 137-144.
114. Joshi, S. S. Current treatment and recent progress in gastric cancer. / S. S. Joshi, B. D. Badgwell // *CA: a cancer journal for clinicians*. – 2021. – Vol. 71. – № 3. – P. 264-279.
115. Kelly, C. M. The genomics and therapeutics of HER2-positive gastric cancer-from trastuzumab and beyond. / C. M. Kelly, Y. Y. Janjigian // *Journal of gastrointestinal oncology*. – 2016. – Vol. 7. – № 5. – P. 750-762.
116. Kook, M.-C. Risk Factors for Lymph Node Metastasis in Undifferentiated-Type Gastric Carcinoma. / M.-C. Kook // *Clinical endoscopy*. – 2019. – Vol. 52. – № 1. – P. 15-20.
117. Lane, D. P. p53: oncogene or anti-oncogene? / D. P. Lane, S. Benchimol // *Genes & development*. – 1990. – Vol. 4. – № 1. – P. 1-8.
118. Lauren, P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at a histo-clinical classification. / P. Lauren // *Acta pathologica et microbiologica Scandinavica*. – 1965. – Vol. 64. – P. 31-49.
119. Lee, H. E. Histologic and immunohistochemical differences between hereditary and sporadic diffuse gastric carcinoma. / H. E. Lee, T. C. Smyrk, L. Zhang // *Human pathology*. – 2018. – Vol. 74. – P. 64-72.
120. Loss of E-cadherin expression correlates with poor differentiation and invasion into adjacent organs in gastric adenocarcinomas. / H.-C. Chen, R. Y. Chu, P.-N. Hsu [et al.] // *Cancer letters*. – 2003. – Vol. 201. – № 1. – P. 97-106.
121. Lymphoepithelial carcinoma of the stomach with Epstein-Barr virus demonstrated by polymerase chain reaction. / A. P. Burke, T. S. Yen, K. M. Shekitka, L. H. Sobin // *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* – 1990. – Vol. 3. – № 3. – P. 377-380.
122. Mamalis, A. Targeting the PD-1 pathway: a promising future for the treatment of melanoma. / A. Mamalis, M. Garcha, J. Jagdeo // *Archives of dermatological research*. – 2014. – Vol. 306. – № 6. – P. 511-519.



123. Marsh, A. M. Gastric Resection. / A. M. Marsh, J. L. Buicko. – Treasure Island (FL), 2023.
124. Masood, M. A. CDX2 as a prognostic marker in gastric cancer. / M. A. Masood, A. Loya, M. A. Yusuf // *Acta gastro-enterologica Belgica*. – 2016. – Vol. 79. – № 2. – P. 197-200.
125. McGuire, S. World Cancer Report 2014. Geneva, Switzerland: World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, WHO Press, 2015. / S. McGuire // *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*. – 2016. – Vol. 7. – № 2. – P. 418-419.
126. Metastatic gastric cancer treatment: Second line and beyond. Vol. 22 / M. Ghosn, S. Tabchi, H. R. Kourie, M. Tehfe. – United States, 2016.
127. Microsatellite Instability and Programmed Cell Death-Ligand 1 Expression in Stage II/III Gastric Cancer: Post Hoc Analysis of the CLASSIC Randomized Controlled study. / Y. Y. Choi, H. Kim, S.-J. Shin [et al.] // *Annals of surgery*. – 2019. – Vol. 270. – № 2. – P. 309-316.
128. Microsatellite instability and sex differences in resectable gastric cancer - A pooled analysis of three European cohorts. / A. Quaas, H. D. Biesma, A. D. Wagner [et al.] // *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*. – 2022. – Vol. 173. – P. 95-104.
129. Mismatch Repair Deficiency, Microsatellite Instability, and Survival: An Exploratory Analysis of the Medical Research Council Adjuvant Gastric Infusional Chemotherapy (MAGIC) Trial. / E. C. Smyth, A. Wotherspoon, C. Peckitt [et al.] // *JAMA oncology*. – 2017. – Vol. 3. – № 9. – P. 1197-1203.
130. Molecular biology of sporadic gastric cancer: prognostic indicators and novel therapeutic approaches. / M. Scartozzi, E. Galizia, F. Freddari [et al.] // *Cancer treatment reviews*. – 2004. – Vol. 30. – № 5. – P. 451-459.
131. MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6 expressions in gastric carcinomas: their roles as prognostic indicators. / H. S. Lee, H. K. Lee, H. S. Kim [et al.] // *Cancer*. – 2001. – Vol. 92. – № 6. – P. 1427-1434.
132. MUC1 Expressions and Its Prognostic Values in US Gastric Cancer Patients. / Y.-

- I. Kim, R. L. Pecha, T. Keihanian [et al.] // *Cancers*. – 2023. – Vol. 15. – № 4.
133. MUC5AC Expression in Various Tumor Types and Nonneoplastic Tissue: A Tissue Microarray Study on 10 399 Tissue Samples / S. D. Rico, M. Mahnken, F. Büscheck [et al.] // *Technology in Cancer Research & Treatment*. – 2021. – Vol. 20. – P. 153303382110433.
134. Multi-omics analysis identifies pathways and genes involved in diffuse-type gastric carcinogenesis induced by E-cadherin, p53, and Smad4 loss in mice / J. W. Park, M.-S. Kim, D. C. Voon [et al.] // *Molecular Carcinogenesis*. – 2018. – Vol. 57. – № 7. – P. 947-954.
135. MYC regulates the antitumor immune response through CD47 and PD-L1. / S. C. Casey, L. Tong, Y. Li [et al.] // *Science (New York, N.Y.)*. – 2016. – Vol. 352. – № 6282. – P. 227-231.
136. Ōta, K. *Histological Typing of Gastric and Oesophageal Tumours : Histological Typing of Gastric and Oesophageal Tumours* / K. Ōta, L. H. Sobin. – World Health Organization, 1977.
137. PD-L1: Biological mechanism, function, and immunotherapy in gastric cancer. / Y. Zhang, Y. Yang, Y. Chen [et al.] // *Frontiers in immunology*. – 2022. – Vol. 13. – P. 1060497.
138. PD-L1 and gastric cancer prognosis: A systematic review and meta-analysis. / L. Gu, M. Chen, D. Guo [et al.] // *PloS one*. – 2017. – Vol. 12. – № 8. – P. e0182692.
139. PD-L1 and HER2 Expression in Gastroesophageal Cancer: a Matched Case Control Study. / A. Beer, H. Taghizadeh, A.-I. Schiefer [et al.] // *Pathology oncology research : POR*. – 2020. – Vol. 26. – № 4. – P. 2225-2235.
140. PD-L1 expression combined with microsatellite instability/CD8+ tumor infiltrating lymphocytes as a useful prognostic biomarker in gastric cancer. / T. Morihiro, S. Kuroda, N. Kanaya [et al.] // *Scientific reports*. – 2019. – Vol. 9. – № 1. – P. 4633.
141. PD-L1 expression is associated with massive lymphocyte infiltration and histology in gastric cancer. / Z. Li, Y. Lai, L. Sun [et al.] // *Human pathology*. – 2016. – Vol. 55. – P. 182-189.

142. PD-L1 is an independent prognostic predictor in gastric cancer of Western patients. / C. Böger, H.-M. Behrens, M. Mathiak [et al.] // *Oncotarget*. – 2016. – Vol. 7. – № 17. – P. 24269-24283.
143. PD-L1 overexpression in EBV-positive gastric cancer is caused by unique genomic or epigenomic mechanisms. / H. Nakano, M. Saito, S. Nakajima [et al.] // *Scientific reports*. – 2021. – Vol. 11. – № 1. – P. 1982.
144. Perioperative chemotherapy with fluorouracil plus leucovorin, oxaliplatin, and docetaxel versus fluorouracil or capecitabine plus cisplatin and epirubicin for locally advanced, resectable gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (FLOT4): a r / S.-E. Al-Batran, N. Homann, C. Pauligk [et al.] // *Lancet (London, England)*. – 2019. – Vol. 393. – № 10184. – P. 1948-1957.
145. Poorly cohesive cells gastric carcinoma including signet-ring cell cancer: Updated review of definition, classification and therapeutic management. / V. Drubay, F. Nuytens, F. Renaud [et al.] // *World journal of gastrointestinal oncology*. – 2022. – Vol. 14. – № 8. – P. 1406-1428.
146. Prediction of TP53 mutations by p53 immunohistochemistry and their prognostic significance in gastric cancer. / H. J. Hwang, S. K. Nam, H. Park [et al.] // *Journal of pathology and translational medicine*. – 2020. – Vol. 54. – № 5. – P. 378-386.
147. Prognostic impact of microsatellite instability in gastric cancer. / C. Zepeda-Najar, R. X. Palacios-Astudillo, J. D. Chávez-Hernández [et al.] // *Contemporary oncology (Poznan, Poland)*. – 2021. – Vol. 25. – № 1. – P. 68-71.
148. Prognostic role of MUC-2 expression in patients with gastric carcinoma: a systematic review and meta-analysis. / L.-N. Hu, W. Su, X.-Z. Guo [et al.] // *European review for medical and pharmacological sciences*. – 2021. – Vol. 25. – № 10. – P. 3700-3708.
149. Prognostic significance of MUC1, MUC2 and MUC5AC expressions in gastric carcinoma. / Ö. İlhan, Ü. Han, B. Önal, S. Y. Çelik // *The Turkish journal of gastroenterology : the official journal of Turkish Society of Gastroenterology*. – 2010. – Vol. 21. – № 4. – P. 345-352.
150. Prognostic significance of signet ring gastric cancer. / S. Taghavi, S. N. Jayarajan,

- A. Davey, A. I. Willis // *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. – 2012. – Vol. 30. – № 28. – P. 3493-3498.
151. Prognostic value of diffuse versus intestinal histotype in patients with gastric cancer: a systematic review and meta-analysis / F. Petrelli, R. Berenato, L. Turati [et al.] // *Journal of Gastrointestinal Oncology*; Vol 8, No 1 (February 22, 2017): *Journal of Gastrointestinal Oncology*. – 2017.
152. Prognostic value of modified Lauren classification in gastric cancer. / F.-L. Ning, N.-N. Zhang, J. Wang [et al.] // *World journal of gastrointestinal oncology*. – 2021. – Vol. 13. – № 9. – P. 1184-1195.
153. Prognostic Value of PD-L1 Immunohistochemical Marker in Gastric Carcinoma and Its Correlation with HER2 Status. / S. Attia, A. Abd El Hafez, A. Abdel-Aziz [et al.] // *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*. – 2022. – Vol. 23. – № 4. – P. 1433-1444.
154. Programmed death-ligand 1 expression in gastric adenocarcinoma is a poor prognostic factor in a high CD8+ tumor infiltrating lymphocytes group / H. Chang, W. Yong Jung, Y. Kang [et al.] // *Oncotarget*; Vol 7, No 49. – 2016.
155. Programmed death-ligand 1 expression in gastric cancer: correlation with mismatch repair deficiency and HER2-negative status. / L. Wang, Q. Zhang, S. Ni [et al.] // *Cancer medicine*. – 2018. – Vol. 7. – № 6. – P. 2612-2620.
156. Programmed Death-Ligand 1 Expression Is Common in Gastric Cancer Associated With Epstein-Barr Virus or Microsatellite Instability. / C. Ma, K. Patel, A. D. Singhi [et al.] // *The American journal of surgical pathology*. – 2016. – Vol. 40. – № 11. – P. 1496-1506.
157. Protein Expression of Programmed Death 1 Ligand 1 and HER2 in Gastric Carcinoma. / E. Oki, S. Okano, H. Saeki [et al.] // *Oncology*. – 2017. – Vol. 93. – № 6. – P. 387-394.
158. Regulation of PD-L1: Emerging Routes for Targeting Tumor Immune Evasion. / Y. Wang, H. Wang, H. Yao [et al.] // *Frontiers in pharmacology*. – 2018. – Vol. 9. – P. 536.
159. Reshetnyak, V. I. Significance of dormant forms of *Helicobacter pylori* in

ulcerogenesis. / V. I. Reshetnyak, T. M. Reshetnyak // World journal of gastroenterology. – 2017. – Vol. 23. – № 27. – P. 4867-4878.

160. Risk of gastric cancer in the second decade of follow-up after *Helicobacter pylori* eradication / S. Take, M. Mizuno, K. Ishiki [et al.] // Journal of Gastroenterology. – 2020. – Vol. 55. – № 3. – P. 281-288.

161. Role of caspase-3/E-cadherin in *Helicobacter pylori*-induced apoptosis of gastric epithelial cells. / Y. Yang, J. Du, F. Liu [et al.] // Oncotarget. – 2017. – Vol. 8. – № 35. – P. 59204-59216.

162. Sardar, A. A. Immunohistochemical Expression of CDX2 in Gastric Carcinoma. / A. A. Sardar, J. A. Jalal, K. S. H. Ameen // Iranian journal of pathology. – 2022. – Vol. 17. – № 2. – P. 143-149.

163. Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. Vol. 61. – France, 1994.

164. Screening and eradication of *Helicobacter pylori* for gastric cancer prevention: the Taipei global consensus. / J.-M. Liou, P. Malfertheiner, Y.-C. Lee [et al.] // Gut. – 2020. – Vol. 69. – № 12. – P. 2093-2112.

165. Senchukova, M. A. *Helicobacter pylori* in gastric cancer: Features of infection and their correlations with long-term results of treatment. / M. A. Senchukova, O. Tomchuk, E. I. Shurygina // World journal of gastroenterology. – 2021. – Vol. 27. – № 37. – P. 6290-6305.

166. Sex differences in the incidence of gastrointestinal adenocarcinoma in Sweden 1970-2006. / M. Rutegård, R. Shore, Y. Lu [et al.] // European journal of cancer (Oxford, England : 1990). – 2010. – Vol. 46. – № 6. – P. 1093-1100.

167. Shinozaki-Ushiku, A. Update on Epstein-Barr virus and gastric cancer (review). / A. Shinozaki-Ushiku, A. Kunita, M. Fukayama // International journal of oncology. – 2015. – Vol. 46. – № 4. – P. 1421-1434.

168. Signet ring cell histology is an independent predictor of poor prognosis in gastric adenocarcinoma regardless of tumoral clinical presentation. / G. Piessen, M. Messager, E. Leteurtre [et al.] // Annals of surgery. – 2009. – Vol. 250. – № 6. – P. 878-887.

169. Signet ring cell percentage in poorly cohesive gastric cancer patients: A potential novel predictor of survival. / F. Roviello, L. Marano, M. R. Ambrosio [et al.] //

European journal of surgical oncology : the journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology. – 2022. – Vol. 48. – № 3. – P. 561-569.

170. Stage-Stratified Prognosis of Signet Ring Cell Histology in Patients Undergoing Curative Resection for Gastric Adenocarcinoma / Z. M. Bamboat, L. H. Tang, E. Vinuela [et al.] // *Annals of Surgical Oncology*. – 2014. – Vol. 21. – № 5. – P. 1678-1685.

171. Stomach carcinoma incidence patterns in the United States by histologic type and anatomic site. / H. Wu, J. A. Rusiecki, K. Zhu [et al.] // *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. – 2009. – Vol. 18. – № 7. – P. 1945-1952.

172. Suicide journey of *H. pylori* through gastric carcinogenesis: the role of non-*H. pylori* microbiome and potential consequences for clinical practice / P. P. de Assumpção, T. M. T. Araújo, P. B. de Assumpção [et al.] // *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. – 2019. – Vol. 38. – № 9. – P. 1591-1597.

173. Tai, W. The role of HER2 in cancer therapy and targeted drug delivery. / W. Tai, R. Mahato, K. Cheng // *Journal of controlled release: official journal of the Controlled Release Society*. – 2010. – Vol. 146. – № 3. – P. 264-275.

174. Tajima, M. Establishment of Epstein-Barr virus-positive human gastric epithelial cell lines. / M. Tajima, M. Komuro, K. Okinaga // *Japanese journal of cancer research: Gann*. – 1998. – Vol. 89. – № 3. – P. 262-268.

175. The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. / I. D. Nagtegaal, R. D. Odze, D. Klimstra [et al.] // *Histopathology*. – 2020. – Vol. 76. – № 2. – P. 182-188.

176. The amount of signet ring cells is significantly associated with tumour stage and survival in gastric poorly cohesive tumours. / M. Bencivenga, E. Treppiedi, M. Dal Cero [et al.] // *Journal of surgical oncology*. – 2020. – Vol. 121. – № 7. – P. 1084-1089.

177. The Characteristics and Prognosis of Diffuse-Type Early Gastric Cancer Diagnosed during Health Check-Ups. / J. Y. Lee, E. J. Gong, E. J. Chung [et al.] // *Gut*

and liver. – 2017. – Vol. 11. – № 6. – P. 807-812.

178. The clinical significance of PD-L1 in advanced gastric cancer is dependent on ARID1A mutations and ATM expression. / S. Buglioni, E. Melucci, F. Sperati [et al.] // *Oncoimmunology*. – 2018. – Vol. 7. – № 8. – P. e1457602.

179. The clinicopathological and prognostic significance of MUC-1 expression in Japanese gastric carcinomas: an immunohistochemical study of tissue microarrays. / X.-H. Li, H.-C. Zheng, Z.-G. Wang [et al.] // *Anticancer research*. – 2008. – Vol. 28. – № 2A. – P. 1061-1067.

180. The clinicopathological parameters and prognostic significance of HER2 expression in gastric cancer patients: a meta-analysis of literature. / Y.-Y. Lei, J.-Y. Huang, Q.-R. Zhao [et al.] // *World journal of surgical oncology*. – 2017. – Vol. 15. – № 1. – P. 68.

181. The dynamics of HER2 status in esophageal adenocarcinoma. / A. Creemers, E. A. Ebbing, G. K. J. Hooijer [et al.] // *Oncotarget*. – 2018. – Vol. 9. – № 42. – P. 26787-26799.

182. The expression of E-cadherin-catenin complex in patients with advanced gastric cancer: role in formation of metastasis. / J. Czyzewska, K. Guzińska-Ustymowicz, M. Ustymowicz [et al.] // *Folia histochemica et cytobiologica*. – 2010. – Vol. 48. – № 1. – P. 37-45.

183. The Impact of Mismatch Repair Status on Prognosis of Patients With Gastric Cancer: A Multicenter Analysis. / W.-L. Guan, Y. Ma, Y.-H. Cui [et al.] // *Frontiers in oncology*. – 2021. – Vol. 11. – P. 712760.

184. The KEYNOTE-811 trial of dual PD-1 and HER2 blockade in HER2-positive gastric cancer. / Y. Y. Janjigian, A. Kawazoe, P. Yañez [et al.] // *Nature*. – 2021. – Vol. 600. – № 7890. – P. 727-730.

185. The product of the human c-erbB-2 gene: a 185-kilodalton glycoprotein with tyrosine kinase activity. / T. Akiyama, C. Sudo, H. Ogawara [et al.] // *Science (New York, N.Y.)*. – 1986. – Vol. 232. – № 4758. – P. 1644-1646.

186. The Prognostic Value of Signet-Ring Cell Histology in Resected Gastric Adenocarcinoma. / L. M. Postlewait, M. H. 3rd Squires, D. A. Kooby [et al.] // *Annals*

- of surgical oncology. – 2015. – Vol. 22 Suppl 3. – P. S832-9.
187. Thrift, A. P. Global burden of gastric cancer: epidemiological trends, risk factors, screening and prevention. / A. P. Thrift, T. N. Wenker, H. B. El-Serag // *Nature reviews. Clinical oncology*. – 2023. – Vol. 20. – № 5. – P. 338-349.
188. Topalian, S. L. Immune checkpoint blockade: a common denominator approach to cancer therapy. / S. L. Topalian, C. G. Drake, D. M. Pardoll // *Cancer cell*. – 2015. – Vol. 27. – № 4. – P. 450-461.
189. Uozaki, H. Epstein-Barr virus and gastric carcinoma--viral carcinogenesis through epigenetic mechanisms. / H. Uozaki, M. Fukayama // *International journal of clinical and experimental pathology*. – 2008. – Vol. 1. – № 3. – P. 198-216.
190. Usefulness of Immunohistochemistry for Microsatellite Instability Screening in Gastric Cancer. / Y. S. Bae, H. Kim, S. H. Noh, H. Kim // *Gut and liver*. – 2015. – Vol. 9. – № 5. – P. 629-635.
191. Wnt Signaling Shapes the Histologic Variation in Diffuse Gastric Cancer. / K. Togasaki, S. Sugimoto, Y. Ohta [et al.] // *Gastroenterology*. – 2021. – Vol. 160. – № 3. – P. 823-830.
192. Wong, H. H. Immunohistochemical features of the gastrointestinal tract tumors. / H. H. Wong, P. Chu // *Journal of gastrointestinal oncology*. – 2012. – Vol. 3. – № 3. – P. 262-284.
193. Yang, H. Chronic inflammation and long-lasting changes in the gastric mucosa after *Helicobacter pylori* infection involved in gastric cancer. / H. Yang, B. Wei, B. Hu // *Inflammation research : official journal of the European Histamine Research Society ... [et al.]*. – 2021. – Vol. 70. – № 10-12. – P. 1015-1026.
194. Yao, Q. Sex difference in the incidence of cardia and non-cardia gastric cancer in the United States, 1992-2014. / Q. Yao, X. Qi, S.-H. Xie // *BMC gastroenterology*. – 2020. – Vol. 20. – № 1. – P. 418.
195. Yarden, Y. The EGFR family and its ligands in human cancer. signalling mechanisms and therapeutic opportunities. / Y. Yarden // *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*. – 2001. – Vol. 37 Suppl 4. – P. S3-8.
196. Yarden, Y. Untangling the ErbB signalling network. / Y. Yarden, M. X.



- Sliwkowski // Nature reviews. Molecular cell biology. – 2001. – Vol. 2. – № 2. – P. 127-137.
197. Young, L. S. Epstein–Barr virus: 40 years on / L. S. Young, A. B. Rickinson // Nature Reviews Cancer. – 2004. – Vol. 4. – № 10. – P. 757-768.
198. Zhang, X.-Y. From inflammation to gastric cancer: Role of Helicobacter pylori. / X.-Y. Zhang, P.-Y. Zhang, M. A. M. Aboul-Soud // Oncology letters. – 2017. – Vol. 13. – № 2. – P. 543-548.
199. Zhang, X. Neutrophils diminish T-cell immunity to foster gastric cancer progression: the role of GM-CSF/PD-L1/PD-1 signalling pathway. / X. Zhang, W. Xu // Gut. – 2017. – Vol. 66. – № 11. – P. 1878-1880.
200. Zhang, Y. Severe gastritis secondary to Epstein-Barr viral infection. Unusual presentation of infectious mononucleosis and associated diffuse lymphoid hyperplasia in gastric mucosa. / Y. Zhang, R. Molot // Archives of pathology & laboratory medicine. – 2003. – Vol. 127. – № 4. – P. 478-480.