

## Аберрантная экспрессия p53 в карциноме желудка и ее связь с HER2 статусом

Н.В. Данилова<sup>1</sup>, А.В. Чайка<sup>2</sup>, В.М. Хомяков<sup>2</sup>, Н.А. Олейникова<sup>1</sup>,  
В.В. Какоткин<sup>1</sup>, Д.В. Вычужанин<sup>3</sup>, Ю.Ю. Андреева<sup>4</sup>, П.Г. Мальков<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Медицинский научно-образовательный центр, Москва, Россия

<sup>2</sup> Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр радиологии Минздрава России, Москва, Россия

<sup>3</sup> ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Россия

<sup>4</sup> ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава России, Москва, Россия

**Резюме.** *Введение.* P53 является супрессором опухолевого роста, его экспрессия активно изучается во многих опухолях. Тем не менее существуют противоречивые мнения относительно того, какую экспрессию p53 считать аберрантной, о связи экспрессии p53 и различных клинико-морфологических параметров рака желудка и о его прогностической роли. Данные о частоте встречаемости опухолей с гиперэкспрессией p53 в России отсутствуют, а также неясно, является ли наличие аберрантной экспрессии p53 независимым прогностическим признаком при раке желудка. Целями данного исследования являются оценка частоты выявления экспрессии p53 в аденокарциномах желудка у пациентов в российской популяции, определение понятия аберрантной экспрессии p53, уточнение связи экспрессии p53 с клинико-морфологическими характеристиками, онкобелком HER2 и влияния на прогноз заболевания.

*Материалы и методы.* В исследовании использованы образцы операционного материала от 310 пациентов с верифицированным диагнозом «рак желудка». Возраст пациентов варьировал от 22 до 85 лет (средний возраст – 63 года). Каждый образец был окрашен иммуногистохимическим методом антителами к p53 (клон DO-7) и с помощью набора HercepTest (Dako/Agilent Technologies). Полученные результаты сопоставлены с основными клинико-морфологическими характеристиками рака желудка и данными по выживаемости пациентов.

*Результаты.* Выявленная частота встречаемости аберрантной экспрессии p53 составила 49,4%. К аберрантной экспрессии следует относить как случаи с гиперэкспрессией, так и случаи с полным отсутствием экспрессии маркера. В отличие от группы с нормальной экспрессией p53 группа с аберрантной экспрессией p53 характеризуется более частой проксимальной локализацией, меньшим количеством диффузно-инфильтративных форм рака, значимым преобладанием тубулярного, папиллярного и смешанного гистологических типов ( $p=0,000$ ), значимо более высокими степенями дифференцировки ( $p=0,011$ ), значимо меньшим числом случаев с выявленными перстневидными клетками в опухолях ( $p=0,000$ ), меньшей частотой IV клинической стадии у пациентов и значимым преобладанием кишечного и промежуточного подтипа по П. Лаурену (P. Lauren) ( $p=0,000$ ). Общая пятилетняя выживаемость пациентов в группе с аберрантной экспрессией была ниже (35,6%, медиана 36 месяцев), чем общая пятилетняя выживаемость в группе с нормальной экспрессией (42,5%, медиана 51 месяц), однако статистический анализ не выявил значимых различий ( $p=0,392$ ). Согласно регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса, уровень экспрессии p53 не является значимым прогностическим признаком (HR=1,281; CI: 0,818–2,008,  $p=0,280$ ). В группе с аберрантной экспрессией положительный HER2-статус выявлялся значимо чаще (13,7%), чем в группе с нормальной экспрессией p53 (1,9%,  $p=0,000$ ).

*Заключение.* Группу с аберрантной экспрессией p53 можно считать иммуногистохимическим аналогом хромосомно нестабильного подтипа рака желудка (по TCGA) и подтипа MSS/TP53– (по ACRG). В группе с аберрантной экспрессией p53 значимо чаще выявляются случаи с положительным HER2-статусом.

**Ключевые слова:** p53, HER2/неу, ERBB2, рак желудка, аденокарцинома желудка, иммуногистохимия

**Для корреспонденции:** Наталья Владимировна Данилова. E-mail: natalyadaniлова@gmail.com

**Для цитирования:** Данилова Н.В., Чайка А.В., Хомяков В.М., Олейникова Н.А., Какоткин В.В., Вычужанин Д.В., Андреева Ю.Ю., Мальков П.Г. Аберрантная экспрессия p53 в карциноме желудка и ее связь с HER2 статусом. Клини. экп. морфология. 2023;12(1):46–58. DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.46-58.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного задания Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (№ 121061800151-2).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 21.09.2022. Получена после рецензирования 19.10.2022. Принята в печать 12.12.2022.

## Aberrant expression of p53 in gastric carcinoma and its association with HER2 status

*N.V. Danilova<sup>1</sup>, A.V. Chayka<sup>2</sup>, V.M. Khomyakov<sup>2</sup>, N.A. Oleynikova<sup>1</sup>, V.V. Kakotkin<sup>1</sup>, D.V. Vychuzhanin<sup>3</sup>, Yu.Yu. Andreeva<sup>4</sup>, P.G. Malkov<sup>1,4</sup>*

<sup>1</sup> Lomonosov Moscow State University, Medical Research and Educational Center, Moscow, Russia

<sup>2</sup> P. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

<sup>3</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University) of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

<sup>4</sup> Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia

**Abstract. Introduction.** p53 is a tumor suppressor, whose expression is actively studied in many tumors. However, scientists argue about aberrant p53 expression criteria and whether tumoral p53 expression correlates with various clinical and morphological parameters of gastric cancer and has a prognostic role. No data were published in Russia on the incidence of tumors with p53 overexpression. It remains unclear whether aberrant p53 expression is an independent prognostic sign in gastric cancer. The study aimed to evaluate the frequency of p53 expression in gastric adenocarcinomas in the Russian population, to give the definition for aberrant p53 expression, and to clarify the relationship between p53 expression, clinical and morphological tumor characteristics, HER2 status, and the impact of p53 expression on the prognosis.

**Materials and methods.** We studied surgical pathology samples from 310 patients with verified gastric cancer. The age of the patients ranged from 22 to 85 years (mean 63 years). Each sample was stained immunohistochemically with antibodies to p53 (clone DO-7) and the HercepTest kit (Dako/Agilent Technologies). We compared the results with the main clinical and morphological characteristics of gastric cancer and patient survival data.

**Results.** The frequency of aberrant p53 expression was 49.4%. Aberrant expression should include both cases with overexpression and cases with a complete absence of marker expression. In contrast to the normal p53 expression group, the group with aberrant p53 expression was characterized by more frequent proximal tumor location; fewer diffuse and infiltrative carcinoma forms; a significant predominance of tubular, papillary, and mixed histological types ( $p=0.000$ ); significantly higher degrees of differentiation ( $p=0.011$ ); a significantly lower number of cases with identified signet ring cells in tumors ( $p=0.000$ ); a lower frequency of stage IV in patients; and a significant predominance of the intestinal and intermediate subtype according to P. Lauren classification ( $p=0.000$ ). The overall five-year survival in patients with aberrant p53 expression was not significantly lower ( $p=0.392$ ) than in patients with normal p53 expression (35.6%, median 36 months and 42.5%, median 51 months, respectively). According to the Cox proportional hazards regression model, the p53 expression level is not a significant prognostic sign ( $HR=1.281$ ;  $CI: 0.818-2.008$ ,  $p=0.280$ ). In the group with aberrant p53 expression, a positive HER2 status was detected significantly more often (13.7%) than in the group with normal p53 expression (1.9%,  $p=0.000$ ).

**Conclusion.** The group with aberrant p53 expression can be considered as an immunohistochemical analog of the chromosomally unstable gastric cancer subtype (according to TCGA) and the MSS/TP53- subtype (according to ACRG). In the group with aberrant p53 expression, cases with a positive HER2 status were significantly more common.

**Keywords:** p53, HER2/neu, ERBB2, gastric cancer, gastric adenocarcinoma, immunohistochemistry

**Corresponding author:** Natalia V. Danilova. E-mail: natalyadanilova@gmail.com

**For citation:** Danilova N.V., Chayka A.V., Khomyakov V.M., Oleynikova N.A., Kakotkin V.V., Vychuzhanin D.V., Andreeva Yu.Yu., Malkov P.G. Aberrant expression of p53 in gastric carcinoma and its association with HER2 status. *Clin. exp. morphology.* 2023;12(1):46–58 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2023.12.1.46-58.

**Funding.** The study was carried out within the framework of State Assignment to Lomonosov Moscow State University (No. 121061800151-2).

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

**Received 21.09.2022. Received in revised form 19.10.2022. Accepted 12.12.2022.**

## Введение

p53 является супрессором опухолевого роста, кодируется геном *TP53*. При повреждении ДНК белок p53 вызывает остановку клеточного цикла в фазе G1 путем взаимодействия с pRb и активирует белки, ответственные за репарацию ДНК. В случае если репарация безуспешна, p53 индуцирует апоптоз. Таким образом, данный белок контролирует переход клетки в S-фазу, деление, является транскрипционным фактором и играет важную роль в регуляции клеточного роста, репарации ДНК, индукции апоптоза [1].

Мутации гена *TP53* отсутствуют в фоновых и предраковых поражениях эпителия желудка и обычно выявляются на поздних этапах канцерогенеза при возникновении инвазии. R.A. Busuttill et al. показали, что мутации *TP53* редко встречаются в нормальной слизистой оболочке, окружающей карциному желудка, а также в очагах кишечной метаплазии [2]. Показано, что с прогрессированием опухолевого процесса частота мутаций *TP53* увеличивается [3], что приводит к появлению aberrантной иммуногистохимической экспрессии маркера. Нормальной экспрессией считается наличие метки умеренной яркости в части клеток опухоли (10–50%). В литературе имеются разногласия относительно того, какую экспрессию считать aberrантной: только гиперэкспрессию, при которой наблюдается яркая положительная ядерная экспрессия p53 в 90–100% опухолевых клеток, или же учитывать вместе случаи с гиперэкспрессией и случаи с полным отсутствием экспрессии [4, 5]. Также, по данным литературы, имеется чрезвычайно большой разброс в частоте встречаемости aberrантной экспрессии – от 17% до 90,7% инвазивных карцином желудка [3].

Показатель экспрессии p53 активно используется исследователями при попытках создания молекулярной классификации рака желудка [4–7]. В исследовании TCGA (The Cancer Genome Atlas), где авторы выделили четыре молекулярных подтипа рака желудка (EBV, MSI, GS, CIN), мутации гена *TP53* чаще обнаруживались в хромосомно нестабильном подтипе (CIN), который характеризовался более частой локализацией в области пищеводадно-желудочного перехода/кардии, наличием высокого уровня фосфорилирования гена *EGFR*, анеуплоидией и амплификацией генов рецепторов тирозинкиназ (*RTK*) [6]. В похожем исследовании корейских авторов – ACRG (Asian Cancer Research Group) – также выделено четыре подтипа: MSS/TP53+ subtype (соответствует EBV у TCGA), MSS/TP53– подтип (соответствует CIN у TCGA), MSI подтип (соответствует MSI у TCGA) и MSS/EMT (соответствует GS у TCGA), причем мутации p53 широко встречались среди опухолей, относящихся к MSS/TP53– подтипу [7]. R. Cristescu et al. наблюдали высокую частоту амплификации генов *ERBB2*, *EGFR*, *CCNE1*, *CCND1*, *MDM2*, *ROBO2*, *GATA6* и *MYC* в MSS/TP53– подтипе, сопровождающуюся соответствующим увеличением экспрессии мРНК и уровней белков EGFR и HER2. Больше того, гены

с наиболее высоким уровнем амплификации (*ERBB2*, *EGFR*, *CCNE1*, *CCND1*) практически эксклюзивно встречались в MSS/TP53– подтипе.

Большинство авторов отмечают связь гиперэкспрессии p53 и онкобелка HER2 [4–6, 8, 9]. Так, TCGA показали, что амплификация гена *ERBB2* наиболее характерна для CIN-подтипа и в меньшей степени для GS и EBV-подтипов. Ранее J.G. Strickler et al. сообщали, что гиперэкспрессия p53 обнаруживается в 64% опухолей с гиперэкспрессией HER2 [10]. R. Gonzalez отметил интересную закономерность: случаи с гиперэкспрессией p53 чаще других были HER2-негативными по результатам ИГХ, однако в этих случаях чаще всего выявлялась амплификация гена *HER2* методом FISH [9]. Причину данной закономерности авторы никак не объясняют, однако, возможно, для определения *HER2* были использованы невалидированные должным образом ИГХ реактивы. N. Setia et al., а также F. DiPinto et al. тоже отмечают положительную связь aberrантной экспрессии p53 и HER2 [5].

Данные о связи экспрессии p53 с клинико-морфологическими характеристиками противоречивы и требуют уточнения. Большинство авторов отмечают отсутствие связи с возрастом и полом пациентов, а также с клинической стадией [5, 8, 9, 11]. N. Setia et al. наблюдают наличие связи с кишечным гистологическим подтипом по П. Лаурену (P. Lauren) и более частым лимфогенным метастазированием [5].

Показано, что гиперэкспрессия p53 в карциноме желудка является отрицательным прогностическим фактором для общей выживаемости по результатам метанализа с использованием данных 4330 пациентов из 21 исследования [12]. Это подтверждает и M. Ahadi [11]. Тем не менее N. Setia et al. сообщили об отсутствии связи экспрессии p53 и выживаемости пациентов [5].

Таким образом, существуют противоречивые мнения относительно того, какую экспрессию p53 считать aberrантной, о связи экспрессии p53 и различных клинико-морфологических параметров рака желудка и о его прогностической роли. Данных о частоте встречаемости опухолей с гиперэкспрессией p53 в России нет, а также неясно, является ли наличие aberrантной экспрессии p53 независимым прогностическим признаком при раке желудка.

Целями нашего исследования были оценка частоты выявления экспрессии p53 в аденокарциномах желудка у пациентов из Российской Федерации, определение понятия «aberrантная экспрессия p53», уточнение связи экспрессии p53 с клинико-морфологическими характеристиками, онкобелком HER2 и влиянием на прогноз заболевания.

## Материалы и методы

В исследовании использованы образцы операционного материала от 310 пациентов с верифицированным диагнозом «рак желудка», не получавших в предоперационном периоде химио- или лучевую терапию.

Критериями исключения были карцинома *in situ*, недостаточный объем материала в парафиновых блоках, верифицированный нейроэндокринный рак, лимфома желудка или гастроинтестинальная стромальная опухоль желудка. Возраст пациентов варьировал от 22 до 85 лет (средний возраст – 63 года). Медиана наблюдения за пациентами составила 83 месяца.

Постановку иммуногистохимических реакций осуществляли с помощью системы детекции UltraVision Quanto (Thermo Fisher Scientific, США) согласно протоколу производителя в иммуностейнере Autostainer 480S (Thermo Fisher Scientific, США). Депарафинирование, регидратацию и демаскировку антигенов выполняли при помощи буфера Thermo Dewax and HIER Bufer H (pH 9,0) при температуре +95–98°C в течение 20 минут в модуле предобработки (PT-Module, Thermo Fisher Scientific, США). В работе использованы моноклональные антитела Dako/Agilent Technologies, США: p53 (клон DO-7, RTU). Время инкубации антител составляло 20–30 минут в соответствии с инструкцией производителя. Постановку реакций с маркером HER2/neu осуществляли с помощью набора HercepTest (Dako/Agilent Technologies, США) по инструкции производителя.

По уровню экспрессии первично образцы разделили на три группы: полное отсутствие экспрессии (статус «0»), слабая очаговая ядерная экспрессия в части клеток опухоли (10–50%, статус «0,5») и яркая ядерная экспрессия в подавляющем большинстве опухолевых клеток (статус «1»).

Полученные результаты были сопоставлены с основными клиничко-морфологическими характеристиками рака желудка, а также данными по выживаемости пациентов. Сопоставление результатов со степенью дифференцировки опухолей проводили для тубулярного, папиллярного и смешанного гистологических типов рака (n=222).

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием анализа таблиц сопряженности, критерия хи-квадрат, непараметрических критериев для парного и множественного сравнений, анализа выживаемости по Каплану–Майеру, логрангового критерия, многофакторного анализа выживаемости в регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса (Statistica 10, StatSoft, Inc., США).

Выполнение исследования было одобрено комитетом по этике Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (протокол № 3/17 от 17.04.2017) в соответствии с Хельсинкской декларацией 1964 года и ее последующими изменениями.

## Результаты

Исследовано 310 образцов операционного материала рака желудка. Учитывалась только ядерная экспрессия маркера любой интенсивности. Полное отсутствие экспрессии p53 (статус «0») выявлено в 31 наблюдении (10%), слабая экспрессия в отдельных клетках опухоли (статус «0,5») – в 157 наблюдениях (50,6%), яркая

позитивная экспрессия во всех клетках опухоли (статус «1») – в 122 наблюдениях (39,4%) (рис. 1 A–F).

Детальный анализ клиничко-морфологических характеристик выявил множество сходных параметров в группах со статусом экспрессии «0» и «1». В отличие от группы со статусом экспрессии «0,5» первая и третья группы характеризуются значимым преобладанием тубулярного, папиллярного и смешанного гистологических типов (p=0,000), более высокими степенями дифференцировки (p=0,004), меньшим числом случаев с выявленными перстневидными клетками в опухолях (p=0,000) и преобладанием кишечного и промежуточного подтипов по П. Лаурену (p=0,000) (рис. 2 A–D). Данные группы обнаруживают сходство и по другим клиничко-морфологическим параметрам, а именно характеризуются проксимальной локализацией, меньшим количеством диффузно-инфильтративных форм рака, меньшими размерами опухолей, меньшей частотой отдаленного метастазирования, меньшей частотой IV клинической стадии у пациентов, однако эти различия не подтверждены статистически.

В свою очередь, группа со статусом экспрессии «0,5» характеризуется противоположными клиничко-морфологическими особенностями, среди которых статистически значимые различия выявлены по преобладанию дискогезивного гистологического типа, а также случаев с наличием перстневидных клеток в опухолях, более низким степеням дифференцировки опухолей тубулярного, папиллярного и смешанного типов и по большей доле диффузного подтипа по П. Лаурену в группе.

Группы со статусом «0» и «1» значимо не различались ни по одному из клиничко-морфологических параметров. С учетом этих данных целесообразно дальнейшее разделение экспрессии p53 на две группы: группа с нормальной экспрессией маркера, в которую войдут опухоли со статусом экспрессии «0,5», и группа с aberrантной экспрессией маркера, в которую войдут опухоли со статусом экспрессии «0» и «1». Дальнейший анализ был проведен с учетом разделения опухолей на две группы по экспрессии p53.

Нормальная экспрессия выявлена в 157 наблюдениях (50,6%), aberrантная экспрессия – в 153 наблюдениях (49,4%).

Среди пациентов с нормальной экспрессией p53 47,1% составили мужчины (81 наблюдение) и 55,1% женщины (76 наблюдений). Среди пациентов с aberrантной экспрессией p53 52,9% мужчин (91 наблюдение) и 44,9% женщин (62 наблюдения). Таким образом, определяется тенденция к преобладанию мужчин в группе с aberrантной экспрессией p53. При статистическом анализе значимые различия между группами обнаружены не были (p=0,163).

Опухоли с aberrантной экспрессией преобладали у пациентов старше 61 года (69%), в 11% наблюдений – у пациентов до 50 лет, в 20% – у пациентов 51–60 лет (табл. 1). В группе с нормальной экспрессией

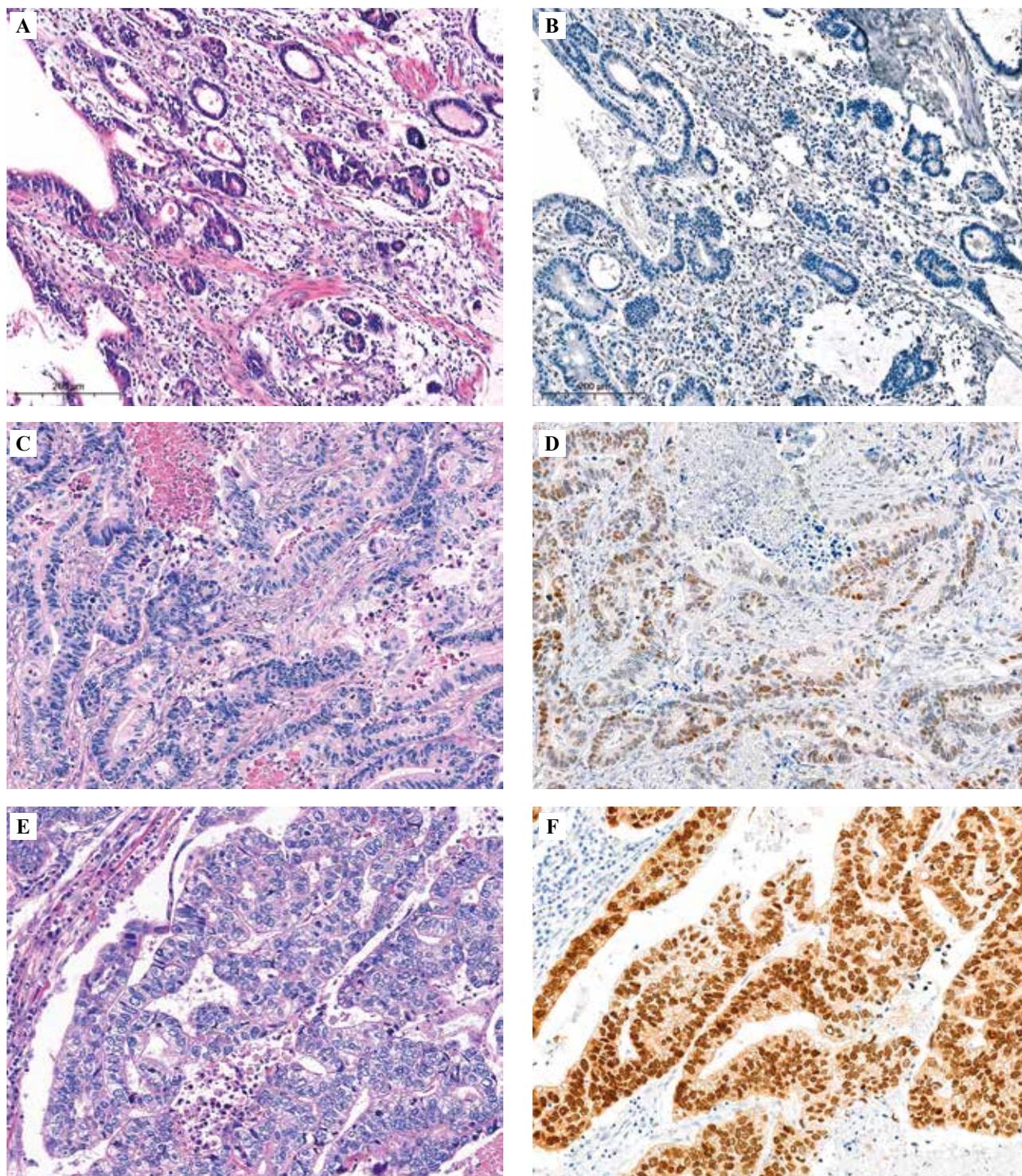


Рис. 1. Экспрессия p53 в раке желудка.

А – тубулярная аденокарцинома желудка, В – полное отсутствие экспрессии p53 в тубулярной аденокарциноме желудка, статус «0», С – тубулярная аденокарцинома желудка, D – слабая экспрессия p53 в части клеток в тубулярной аденокарциноме желудка, статус «0,5», Е – тубулярная аденокарцинома желудка, F – яркая экспрессия p53 в подавляющем большинстве клеток в тубулярной аденокарциноме желудка, статус «1». А, С, Е – окраска гематоксилином и эозином,  $\times 200$ , В, D, F – иммуногистохимическая реакция с антителами к p53,  $\times 200$

Fig. 1. p53 expression in gastric adenocarcinoma.

A – tubular gastric adenocarcinoma, B – total absence of p53 expression in gastric tubular adenocarcinoma, status “0”, C – tubular gastric adenocarcinoma, D – weak p53 expression in some cells of tubular gastric adenocarcinoma, status “0.5”, E – tubular gastric adenocarcinoma, F – strong p53 expression in the majority of cells in tubular gastric adenocarcinoma, status “1”. A, C, E – H&E stain,  $\times 200$ , B, D, F – IHC assay with p53 antibodies,  $\times 200$

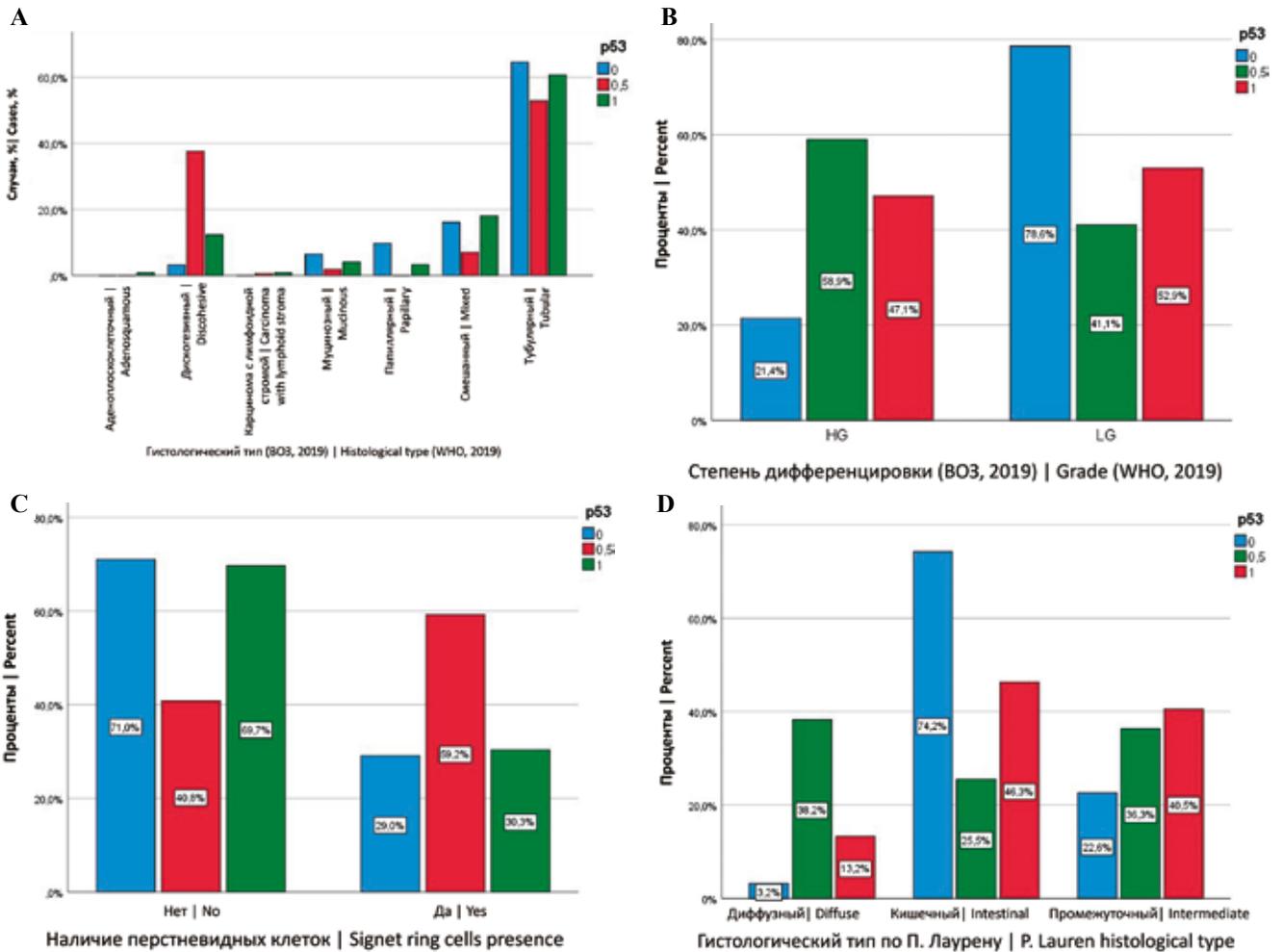


Рис. 2. Структурные диаграммы для случаев с различным уровнем экспрессии p53.

А – распределение по гистологическому типу опухолей, В – распределение опухолей по степени дифференцировки (ВОЗ, 2019), С – распределение по наличию/отсутствию перстневидных клеток в опухолях, D – распределение по гистологическому типу П. Лаурена

Fig. 2. Structural diagrams for tumors with normal and aberrant p53 expression.

А – distribution by histological type, В – distribution by tumor grade (WHO, 2019), С – distribution according to the presence/absence of signet ring cells in the tumors, D – tumor distribution by P. Lauren type

Таблица 1 | Table 1

Возрастные характеристики выборки с нормальной и aberrантной экспрессией p53 в опухоли | Age of the patients with normal and aberrant p53 expression in the tumors

Возрастная группа, лет   Age, years	Случаи с нормальной экспрессией p53   Cases with normal p53 expression	Случаи с aberrантной экспрессией p53   Cases with aberrant p53 expression	Всего   Total
25–40	6 (4%)	6 (4%)	12
41–50	17 (11%)	10 (7%)	27
51–60	45 (29%)	31 (20%)	76
61–70	41 (26%)	57 (37%)	98
71–80	44 (28%)	43 (28%)	87
>80	4 (2%)	6 (4%)	10
Среднее   Mean	62,217	64,203	63,196
Медиана   Median	62,000	64,000	63,000
Итого   Total	157	153	310

распределение отличалось: 56% пациентов старше 61 года, 29% в возрасте 51–60 лет и 15% в возрасте до 50 лет. Таким образом, в группе с aberrантной экспрессией в опухолях для пациентов характерен более

старший возраст. При статистическом анализе значимые различия не обнаружены ( $p=0,067$ ).

Далее оценивали связь статуса экспрессии p53 с клинико-морфологическими параметрами (табл. 2).

Таблица 2 | Table 2

**Клинико-морфологические характеристики опухолей с нормальной и aberrантной экспрессией p53 |  
Clinical and morphological characteristics of tumors with normal and aberrant p53 expression**

Клинико-морфологические характеристики   Clinical and morphological characteristics	Случаи с нормальной экспрессией p53   Cases with normal p53 expression	Случаи с aberrантной экспрессией p53   Cases with aberrant p53 expression	Всего   Total	Значимость различий   Significance
Локализация опухоли по третям желудка   Tumor localization	157	153	310	p = 0,793
верхняя треть желудка   upper third of the stomach	16 (10,2%)	26 (17%)	42	
верхняя и средняя треть желудка   upper and middle thirds of the stomach	20 (12,7%)	21 (13,7%)	41	
средняя треть желудка   middle third of the stomach	43 (27,4%)	43 (28,1%)	86	
средняя и нижняя треть желудка   middle and lower thirds of the stomach	15 (9,6%)	10 (6,5%)	25	
нижняя треть желудка   lower third of the stomach	47 (29,9%)	36 (23,5%)	83	
субтотальное поражение   subtotal involvement	15 (9,6%)	15 (9,8%)	30	
тотальное поражение   total involvement	1 (0,6%)	1 (0,7%)	2	
культи желудка   stump of the stomach	0 (0%)	1 (0,7%)	1	
Локализация опухоли   Tumor location	157	152	309	p=0,222
проксимальная   proximal	79 (50,3%)	90 (59,2%)	169	
дистальная   distal	62 (39,5%)	46 (30,3%)	108	
субтотальная/тотальная   subtotal/total involvement	16 (10,2%)	16 (10,5%)	32	
Макроскопическая форма по Р. Борманн   R. Borrmann macroscopic types	157	153	310	p=0,323
1-й тип (экзофитный)   type I (polypoid)	22 (14%)	27 (17,6%)	49	
2-й тип (чашеподобный)   type II (fungating)	56 (35,7%)	64 (41,8%)	120	
3-й тип (инфильтративно-язвенный)   type III (ulcerated)	44 (28%)	38 (24,8%)	82	
4-й тип (диффузно-инфильтративный)   type IV (flat)	35 (22,3%)	24 (15,8%)	59	
Размеры опухоли   Tumor size	153	149	302	p=0,746
8 см и менее   8 cm or less	123 (80,4%)	120 (80,5%)	243	
более 8 см   over 8 cm	30 (19,6%)	29 (19,5%)	59	
Гистологический тип по классификации ВОЗ (2019)   Tumor histological type (WHO, 2019)	157	153	310	p=0,000
тубулярный   tubular	83 (52,9%)	94 (61,4%)	177	
папиллярный   papillary	0 (0%)	7 (4,6%)	7	
дискогезивный   discohesive	59 (37,6%)	16 (10,5%)	75	
смешанный   mixed	11 (7%)	27 (17,6%)	38	
муцинозный   mucinous	3 (1,9%)	7 (4,5%)	10	
карцинома с лимфоидной стромой   carcinoma with lymphoid stroma	1 (0,6%)	1 (0,7%)	2	
аденоплоскоклеточный   adenosquamous	0 (0%)	1 (0,7%)	1	

Продолжение таблицы 2 | Table 2 (continued)

Клинико-морфологические характеристики   Clinical and morphological characteristics	Случаи с нормальной экспрессией p53   Cases with normal p53 expression	Случаи с aberrантной экспрессией p53   Cases with aberrant p53 expression	Всего   Total	Значимость различий   Significance
Степень дифференцировки (ВОЗ, 2010)   Tumor grade (WHO, 2010)	94	128	222	p=0,011
G1	8 (8,5%)	17 (13,3%)	25	
G2	31 (33%)	59 (46,1%)	90	
G3	55 (58,5%)	52 (40,6%)	107	
Степень дифференцировки (ВОЗ, 2019)   Tumor grade (WHO, 2019)	94	128	222	p=0,010
low grade	39 (41,5%)	76 (59,4%)	115	
high grade	55 (58,5%)	52 (40,6%)	107	
Наличие перстневидных клеток в опухолях   Presence of signet ring cells in the tumor	157	153	310	p=0,000
клетки отсутствуют   no signet ring cells	64 (40,8%)	107 (69,9%)	171	
клетки присутствуют   signet ring cells are present	93 (59,2%)	46 (30,1%)	139	
Наличие эмболов в лимфатических сосудах   The presence of tumor emboli in lymphatic vessels	157	153	310	p=0,907
эмболы есть   emboli are present	79 (50,3%)	78 (51%)	157	
эмболов нет   no emboli	78 (49,7%)	75 (49%)	153	
Наличие эмболов в кровеносных сосудах   The presence of tumor emboli in the blood vessels	157	153	310	p=0,834
эмболы есть   emboli are present	26 (16,6%)	24 (15,7%)	50	
эмболов нет   no emboli	131 (77,4%)	129 (84,3%)	260	
Глубина инвазии (T)   Depth of invasion (T)	157	153	310	p=0,674
T1a–T1b	29 (18,5%)	24 (15,7%)	53	
T2	11 (7%)	24 (15,7%)	35	
T3	27 (17,2%)	26 (17%)	53	
T4a–T4b	90 (57,3%)	79 (51,6%)	169	
Метаастазы в регионарные лимфоузлы (N)   Regional lymph nodes metastases	157	153	310	p=0,627
N0	55 (35%)	41 (26,8%)	96	
N1	22 (14%)	39 (25,5%)	61	
N2	24 (15,3%)	19 (12,4%)	43	
N3a–N3b	56 (35,7%)	54 (35,3%)	110	
Отдаленные метастазы (M)   Distant metastases	157	153	310	p=0,109
M0	132 (84,1%)	138 (90,2%)	270	
M1	25 (15,9%)	15 (9,8%)	40	
Клиническая стадия   Clinical stage	157	153	310	p=0,568
I стадия (IA, IB)   stage I (IA, IB)	35 (22,3%)	34 (22,2%)	69	
II стадия (IIA, IIB)   stage II (IIA, IIB)	29 (18,5%)	33 (21,6%)	62	
III стадия (IIIA, IIIB, IIIC)   stage III (IIIA, IIIB, IIIC)	68 (43,3%)	71 (46,4%)	139	
IV стадия   stage IV	25 (15,9%)	15 (9,8%)	40	

Клинико-морфологические характеристики   Clinical and morphological characteristics	Случаи с нормальной экспрессией p53   Cases with normal p53 expression	Случаи с aberrантной экспрессией p53   Cases with aberrant p53 expression	Всего   Total	Значимость различий   Significance
Гистологический тип по П. Лаурену   P. Lauren histological type	157	152	309	p=0,000
кишечный   intestinal	40 (25,5%)	79 (52%)	119	
промежуточный   intermediate	57 (36,3%)	56 (36,8%)	113	
диффузный   diffuse	60 (38,2%)	17 (11,2%)	77	

*Примечание.* Приведено общее значение критерия хи-квадрат. При анализе предварительно было сформировано общее значение двусторонней асимптотической значимости

*Note.* The total value of Chi-square criterion is given. The overall value of two-sided asymptotic significance was formed in the analysis beforehand

Анализ распределения по гистологическому типу согласно классификации ВОЗ 2019 года выявил, что в группе с aberrантной экспрессией преобладает тубулярный гистологический тип (94 случая, 61,4%), на долю папиллярного типа приходится 4,6% (семь наблюдений), а на долю смешанного типа – 17,6% (27 наблюдений). Также в этой группе выявлено семь случаев муцинозного рака (4,5%) и 16 случаев дискогезивного рака (10,5%), по одному наблюдению карциномы с лимфоидной стромой и аденоплоскоклеточного рака (рис. 3 А). В группе с нормальной экспрессией распределение отличалось: значительно выше доля дискогезивного типа (59 наблюдений, 37,6%), отсутствуют случаи папиллярного рака, доля тубулярного и муцинозного типов рака ниже (52,9% и 1,9% соответственно). При статистическом анализе выявлено значимое преобладание случаев с тубулярным, папиллярным и смешанным гистологическим типом в группе с aberrантной экспрессией p53 ( $p=0,000$ ).

Для тубулярного, папиллярного и смешанного гистологических подтипов рака желудка ( $n=222$ ) проведен анализ связи экспрессии p53 и степени дифференцировки опухоли (рис. 3 В, С). При использовании градации ВОЗ 2010 года выявлено, что опухоли низкой степени дифференцировки (G3) встречались в группе с нормальной экспрессией чаще (58,5%), чем в группе с aberrантной экспрессией (40,6%). В целом для группы с aberrантной экспрессией были наиболее характерны умеренно дифференцированные опухоли (46,1%), высокодифференцированные встречались в 13,3% случаев, низкодифференцированные – в 40,6% наблюдений ( $p=0,011$ ). При использовании градации ВОЗ 2019 года также выявлено выраженное преобладание опухолей low grade в группе с aberrантной экспрессией p53 ( $p=0,010$ ).

При сравнении групп по наличию перстневидных клеток (рис. 3 D) в группе с aberrантной экспрессией было значимо больше случаев, где такие клетки в опухолях отсутствовали ( $p=0,000$ ).

Распределение опухолей по клиническим стадиям значимо не различалось между группами ( $p=0,568$ ). В группе с aberrантной экспрессией на I стадию приходилось 22,2% наблюдений (34 случая), на II стадию – 21,6% (33 случая), на III стадию – 46,4% (71 случай) и на IV стадию – 9,8% (15 случаев) (рис. 3 E). Выявлено небольшое преобладание наблюдений с IV стадией в группе с нормальной экспрессией, это объясняется большим числом случаев с наличием отдаленных метастазов в данной группе, однако различия статистически незначимы.

При сравнении групп по подтипам опухолей П. Лаурена выявлено, что в группе с нормальной экспрессией значительно больше опухолей диффузного типа по сравнению со второй группой (38,2% против 11,2%), при этом опухолей кишечного типа в первой группе значительно меньше (25,5% против 52%) (рис. 3 F). Из сравнения исключен один случай аденоплоскоклеточного рака ( $n=309$ ). Таким образом, выявлено преобладание диффузного подтипа по П. Лаурену в группе с нормальной экспрессией. При статистическом анализе различия значимы ( $p=0,000$ ).

Значимые различия по другим клинико-морфологическим параметрам между группами выявлены не были.

Данные по общей выживаемости получены для 259 пациентов из 310. Общая пятилетняя выживаемость в группе с aberrантной экспрессией 35,6% (умерли 64,4% пациентов, 47 из 132), медиана составила 36 месяцев. Общая пятилетняя выживаемость в группе с нормальной экспрессией составила 42,5% (умерли 57,5% пациентов, 73 из 127). Медиана составила 51 месяц (95% доверительный интервал). Анализ общей пятилетней выживаемости пациентов не выявил статистически значимые различия – р-значение логрангового критерия составило 0,399 (рис. 4).

Дополнительно был проведен многофакторный анализ выживаемости в регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса. Установлено, что экспрессия

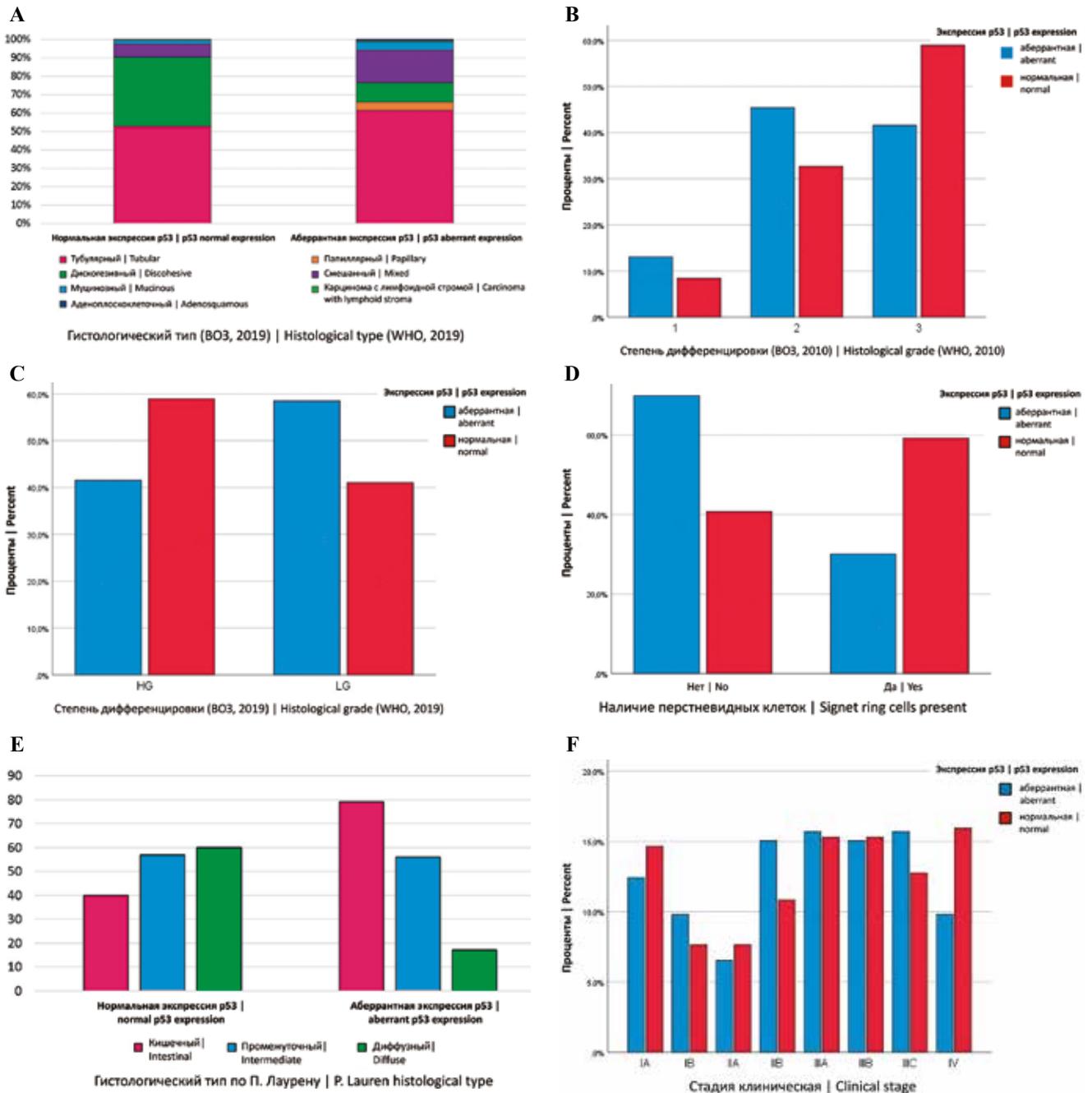


Рис. 3. Структурные диаграммы и диаграммы размаха для случаев с разным уровнем экспрессии p53. А – распределение по гистологическому типу опухолей, В – распределение по степени дифференцировки (ВОЗ, 2010), С – распределение опухолей по степени дифференцировки (ВОЗ, 2019), D – распределение по наличию/отсутствию перстневидных клеток в опухолях, E – распределение по клиническим стадиям, F – распределение по гистологическому типу П. Лаурена

Fig. 3. Structural diagrams for tumors with normal and aberrant p53 expression. A – distribution by histological type, B – distribution by tumor grade (WHO, 2010), C – distribution by tumor grade (WHO, 2019), D – distribution according to the presence/absence of signet ring cells in the tumors, E – distribution by clinical stage, F – distribution by P. Lauren type

p53 не является значимым прогностическим признаком (HR=1,281; CI: 0,818–2,008, p=0,280).

Исследована связь экспрессии p53 с HER2-статусом. Из 310 образцов операционного материала рака желудка отрицательный HER2-статус выявлен у 286 па-

циентов (92,3%), а положительный HER2-статус у 24 (7,7%). В группе с нормальной экспрессией p53 положительный HER2-статус выявлен в трех наблюдениях из 157 (1,9%), а в группе с аберрантной экспрессией – в 21 наблюдении из 153 (13,7%). Выявлено

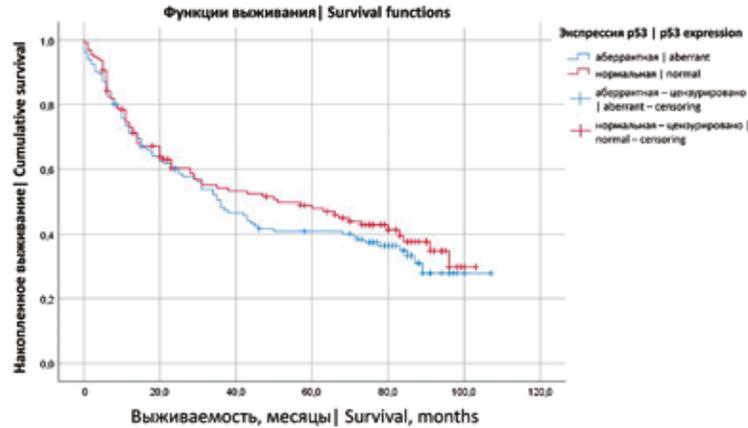


Рис. 4. Анализ выживаемости пациентов с раком желудка в группах с разной экспрессией p53

Fig. 4. Analysis of patient survival in groups with various p53 expression

значимое преобладание случаев с положительным HER2-статусом в группе с aberrантной экспрессией p53 ( $p=0,000$ ). При анализе коэффициента корреляции Спирмена обнаружена значимая слабая взаимосвязь между HER2-статусом и aberrантной экспрессией p53 ( $r=0,221$ ,  $p=0,000$ ).

### Обсуждение

Частота выявления aberrантной экспрессии p53 (49,4%) согласуется с данными некоторых авторов [4, 5].

По результатам изучения клиничко-морфологических параметров не обнаружено никаких различий между группой со статусом экспрессии «0» и «1», таким образом, к aberrантной экспрессии p53 следует относить как случаи с гиперэкспрессией, так и случаи с полным отсутствием экспрессии маркера. Возможные различия результатов наших исследований с данными литературы могут быть связаны с разными подходами к выделению aberrантной экспрессии.

В группе с aberrантной экспрессией p53 выявлена большая доля наблюдений с проксимальной локализацией, что роднит ее с хромосомно нестабильным подтипом (CIN) TCGA, который характеризуется более частой локализацией в области пищевода-желудочного перехода/кардии, однако, как и в случае с TCGA, данные различия статистически незначимы. В аналогичном CIN подтипе группы исследователей ACRG (MSS/TP53-) выявляется амплификация гена *ERBB2*, что предполагает связь aberrантной экспрессии p53 и положительного HER2-статуса, которая также была подтверждена в нашем исследовании ( $p=0,000$ ). Таким образом, группу с aberrантной экспрессией p53 можно считать иммуногистохимическим аналогом подтипа CIN TCGA и подтипа MSS/TP53- ACRG.

Полученные нами результаты о связи aberrантной экспрессии p53 с клиничко-морфологическими параметрами частично совпадают с данными литературы: как и N. Setia et al., мы показали значимое преобладание

кишечного и промежуточного подтипа по П. Лаурену ( $p=0,000$ ) в группе с aberrантной экспрессией. Однако в отличие от N. Setia et al. мы дополнительно выявили в группе с aberrантной экспрессией значимое преобладание тубулярного, папиллярного и смешанного гистологических типов ( $p=0,000$ ), значимо более высокие степени дифференцировки ( $p=0,011$ ) и значимо меньшее число случаев с выявленными перстневидными клетками в опухолях ( $p=0,000$ ). При этом мы не обнаружили связь с более частым лимфогенным метастазированием ( $p=0,627$ ).

### Заключение

К aberrантной экспрессии предложено относить как случаи с гиперэкспрессией, так и случаи с полным отсутствием экспрессии маркера. Выявленная частота встречаемости aberrантной экспрессии p53 при раке желудка составила 49,4%. В отличие от группы с нормальной экспрессией p53 группа с aberrантной экспрессией p53 характеризуется более частой проксимальной локализацией, меньшим количеством диффузно-инфильтративных форм рака, значимым преобладанием тубулярного, папиллярного и смешанного гистологических типов ( $p=0,000$ ), значимо более высокими степенями дифференцировки ( $p=0,011$ ), значимо меньшим числом случаев с выявленными перстневидными клетками в опухолях ( $p=0,000$ ), меньшей частотой отдаленного метастазирования, меньшей частотой IV клинической стадии у пациентов и значимым преобладанием кишечного и промежуточного подтипа по П. Лаурену ( $p=0,000$ ). В группе с aberrантной экспрессией p53 значимо чаще выявляются случаи с положительным HER2-статусом ( $p=0,000$ ), а положительный HER2-статус коррелирует с aberrантной экспрессией p53 ( $p=0,000$ ). Общая пятилетняя выживаемость пациентов в группе с aberrантной экспрессией была ниже (медиана 36 месяцев), чем в группе с нормальной экспрессией (42,5%, медиана 51 месяц), однако статистический анализ не выявил

значимые различия ( $p=0,392$ ). Согласно регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса, уровень экспрессии p53 не является значимым прогностическим признаком (HR=1,281; CI: 0,818–2,008,  $p=0,280$ ).

#### Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Н.В. Данилова, П.Г. Мальков.  
Сбор и обработка материала – Н.В. Данилова, А.В. Чайка, Н.А. Олейникова, В.В. Какоткин, Д.В. Вычужанин.  
Написание текста – Н.В. Данилова.  
Редактирование – П.Г. Мальков, В.М. Хомяков, Ю.Ю. Андреева.

#### Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – N.V. Danilova, P.G. Malkov.  
Collected the data and performed the analysis – N.V. Danilova, A.V. Chayka, N.A. Oleynikova, V.V. Kakotkin, D.V. Vyuchuzhanin.  
Wrote the paper – N.V. Danilova.  
Edited the manuscript – P.G. Malkov, V.M. Khomyakov, Yu.Yu. Andreeva.

#### Литература/References

1. Troncone G, Martinez JC, Palombini L, De Rosa G, Mugica C, Rodriguez JA et al. Immunohistochemical expression of mdm2 and p21WAF1 in invasive cervical cancer: Correlation with p53 protein and high risk HPV infection. *J Clin Pathol*. 1998;51(10):754–60. DOI: 10.1136/jcp.51.10.754.
2. Busuttill RA, Zapparoli GV, Haupt S, Fennell C, Wong SQ, Pang JM et al. Role of p53 in the progression of gastric cancer. *Oncotarget*. 2014;5(23):12016–26. DOI: 10.18632/oncotarget.2434.
3. Machlowska J, Maciejewski R, Sitarz R. The pattern of signatures in gastric cancer prognosis. *Int J Mol Sci*. 2018;19(6):1658. DOI:10.1007/s10120-020-01086-010.3390/ijms19061658.
4. di Pinto F, Armentano R, Arborea G, Schena N, Donghia R, Valentini AM. Are immunohistochemical markers useful in phenotypic gastric cancer classification? *Oncology*. 2020;98(8):566–74. DOI:10.1159/000506077.
5. Setia N, Agoston AT, Han HS, Mullen JT, Duda DG, Clark JW et al. A protein and mRNA expression-based classification of gastric cancer. *Mod Pathol*. 2016;29(7):772–84. DOI: 10.1038/modpathol.2016.55.
6. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature*. 2014;513(7517):202–9. DOI: 10.1038/nature13480.
7. Cristescu R, Lee J, Nebozhyn M, Kim KM, Ting JC, Wong SS et al. Molecular analysis of gastric cancer identifies subtypes associated with distinct clinical outcomes. *Nat Med*. 2015;21(5):449–56. DOI: 10.1038/nm.3850.
8. Diaz Del Arco C, Estrada Muñoz L, Molina Roldán E, Cerón Nieto MA, Ortega Medina L, García Gómez de Las Heras S et al. Immunohistochemical classification of gastric cancer based on new molecular biomarkers: A potential predictor of survival. *Virchows Arch*. 2018;473(6):687–95. DOI: 10.1007/s00428-018-2443-9.
9. Gonzalez RS, Messing S, Tu X, McMahon LA, Whitney-Miller CL. Immunohistochemistry as a surrogate for molecular subtyping of gastric adenocarcinoma. *Hum Pathol*. 2016;56:16–21. DOI: 10.1016/j.humpath.2016.06.003.
10. Strickler JG, Zheng J, Shu Q, Burgart LJ, Alberts SR, Shibata D. p53 mutations and microsatellite instability in sporadic gastric cancer: When guardians fail. *Cancer Res*. 1994;54(17):4750–5. PMID: 8062274.
11. Ahadi M, Moradi A, Musavinejad L, Movafagh A, Moradi A. The Expression of p53, CD44, Ki-67, and HER-2/neu markers in gastric cancer and its association with histopathological indicators: A retrospective study. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2020;21(6):1607–14. DOI: 10.31557/apjcp.2020.21.6.1607.
12. Yildirim M, Kaya V, Demirpence O, Gunduz S, Bozcuk H. Prognostic significance of p53 in gastric cancer: A meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;16(1):327–32. DOI: 10.1016/j.humpath.2020.09.00610.7314/apjcp.2015.16.1.327.

#### Информация об авторах

Наталья Владимировна Данилова – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела клинической патологии Медицинского научно-образовательного центра МГУ им. М.В. Ломоносова.

Анна Валентиновна Чайка – кандидат медицинских наук, научный сотрудник торакоабдоминального хирургического отделения МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал НМИЦ радиологии Минздрава России.

Владимир Михайлович Хомяков – кандидат медицинских наук, заведующий торакоабдоминальным хирургическим отделением, отделом торакоабдоминальной онкохирургии МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал НМИЦ радиологии Минздрава России.

Нина Александровна Олейникова – кандидат медицинских наук, научный сотрудник отдела клинической патологии Медицинского научно-образовательного центра МГУ им. М.В. Ломоносова.

Виктор Викторович Какоткин – стажер-исследователь отдела научных программ и инновационных технологий Медицинского научно-образовательного центра МГУ им. М.В. Ломоносова.

Дмитрий Викторович Вычужанин – кандидат медицинских наук, врач-онколог хирургического отделения Университетской клинической больницы № 1 Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет).

Юлия Юрьевна Андреева – доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической анатомии Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования.

Павел Георгиевич Мальков – доктор медицинских наук, заведующий отделом клинической патологии Медицинского научно-образовательного центра МГУ им. М.В. Ломоносова, профессор кафедры патологической анатомии Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования.

#### Author information

Natalia V. Danilova – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Department of Clinical Pathology, Medical Research and Educational Center, Lomonosov Moscow State University.  
<https://orcid.org/0000-0001-7848-6707>

Anna V. Chayka – Cand. Sci. (Med.), Researcher, Thoracoabdominal Surgical Department, P. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of Russia.  
<https://orcid.org/0000-0002-2178-9317>

Vladimir M. Khomyakov – Cand. Sci. (Med.), Chief of the Thoracoabdominal Surgical Department, Thoracoabdominal Oncosurgery Unit, P. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Center.  
<https://orcid.org/0000-0001-8301-4528>

Nina A. Oleynikova – Cand. Sci. (Med.), Researcher, Department of Clinical Pathology, Medical Research and Educational Center, Lomonosov Moscow State University.  
<https://orcid.org/0000-0001-8564-8874>

Viktor V. Kakotkin – Research Assistant, Department of Scientific Programs and Innovative Technologies, Medical Research and Educational Center, Lomonosov Moscow State University.  
<https://orcid.org/0000-0003-0352-2317>

Dmitrii V. Vychuzhanin – Cand. Sci. (Med.), Oncologist, Surgery Department, University Clinical Hospital No. 1, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).  
<http://orcid.org/0000-0001-6099-1801>

Yulia Yu. Andreeva – Dr. Sci. (Med.), Professor, Pathology Department, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education.  
<https://orcid.org/0000-0003-4749-6608>

Pavel G. Malkov – Dr. Sci. (Med.), Chief of the Department of Clinical Pathology, Medical Research and Educational Center, Lomonosov Moscow State University; Professor, Pathology Department, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education.  
<https://orcid.org/0000-0001-5074-3513>