

## Исследование ассоциации аденокарцином желудка с малыми вирусными РНК вируса Эпштейна—Барр

© Н.В. ДАНИЛОВА<sup>1</sup>, И.А. МИХАЙЛОВ<sup>1</sup>, Д.В. КАЛИНИН<sup>2</sup>, Н.А. ОЛЕЙНИКОВА<sup>1</sup>, А.В. ЧАЙКА<sup>3</sup>,  
В.М. ХОМЯКОВ<sup>3</sup>, В.В. КАКОТКИН<sup>1</sup>, М.Ю. ЮДИН<sup>4</sup>, Д.В. ВЫЧУЖАНИН<sup>5</sup>, Ю.Ю. АНДРЕЕВА<sup>6</sup>,  
П.Г. МАЛЬКОВ<sup>1, 6</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>3</sup>Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>4</sup>ООО «СМ-Клиника», обособленное подразделение ООО «СМ-Медика», Москва, Россия;

<sup>5</sup>ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» (Сеченовский университет) Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>6</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Россия

### РЕЗЮМЕ

**Цель исследования.** Оценка частоты выявления EBV-ассоциированных аденокарцином желудка в выборке российских пациентов, а также уточнение клинико-морфологических характеристик и медианы выживаемости пациентов с EBV-ассоциированным раком желудка.

**Материал и методы.** В исследовании использованы образцы операционного материала от 282 пациентов с верифицированным диагнозом рака желудка. Каждый образец был окрашен методом гибридизации *in situ* с использованием праймеров к малым вирусным РНК вируса Эпштейна—Барр (EBER). Полученные результаты были сопоставлены с основными клинико-морфологическими характеристиками рака желудка.

**Результаты.** Частота выявления EBV-ассоциированной аденокарциномы желудка в нашей выборке составила 9,57%. Установлено, что EBER-положительные опухоли значительно чаще ( $p=0,021$ ) относятся к промежуточному типу по классификации P. Lauren (66,67%) в сравнении с EBER-отрицательными опухолями (38,82%). EBER-положительные опухоли значительно чаще ( $p=0,035$ ) относятся к опухолям с высокой степенью злокачественности (high grade) — 75,00% в сравнении с EBER-отрицательными опухолями (52,13%). Общая медиана выживаемости всех пациентов с EBER-положительными опухолями была выше (53,5 мес) по сравнению с таковой всех пациентов с EBER-отрицательными опухолями — 36,5 мес ( $p=0,5379$ ). Медиана выживаемости пациентов с EBER-положительными опухолями III стадии также была выше (30,0 мес) по сравнению с аналогичным показателем для пациентов с EBER-отрицательными опухолями — 20,0 мес ( $p=0,5622$ ). Установлено, что отдельно взятый EBER-статус — незначимый прогностический признак (HR=1,0143; ДИ: 0,9897—1,0196).

**Заключение.** Отдельно взятый EBER-статус не является значимым независимым прогностическим признаком и может рассматриваться только в совокупности с «классическими» клинико-морфологическими характеристиками, в первую очередь со стадией опухолевого процесса, так как именно они определяют прогностические свойства опухоли.

**Ключевые слова:** EBER, вирус Эпштейна—Барр, EBV-ассоциированная аденокарцинома желудка, рак желудка, гибридизация *in situ*.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Данилова Н.В. — <https://orcid.org/0000-0001-7848-6707>

Михайлов И.А. — <https://orcid.org/0000-0001-8020-369X>

Калинин Д.В. — <https://orcid.org/0000-0001-6247-9481>

Олейникова Н.А. — <https://orcid.org/0000-0001-8564-8874>

Чайка А.В. — <https://orcid.org/0000-0002-2178-9317>

Хомяков В.М. — <https://orcid.org/0000-0001-8301-4528>

Какоткин В.В. — <https://orcid.org/0000-0003-0352-2317>

Юдин М.Ю. — <https://orcid.org/0000-0002-6600-7825>

Вычужанин Д.В. — <https://orcid.org/0000-0001-6099-1801>

Андреева Ю.Ю. — <https://orcid.org/0000-0003-4749-6608>

Мальков П.Г. — <https://orcid.org/0000-0001-5074-3513>

**Автор, ответственный за переписку:** Данилова Н.В. — e-mail: [natalyadanilova@gmail.com](mailto:natalyadanilova@gmail.com)

### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Данилова Н.В., Михайлов И.А., Калинин Д.В., Олейникова Н.А., Чайка А.В., Хомяков В.М., Какоткин В.В., Юдин М.Ю., Вычужанин Д.В., Андреева Ю.Ю., Мальков П.Г. Исследование ассоциации аденокарцином желудка с малыми вирусными РНК вируса Эпштейна—Барр. *Архив патологии*. 2022;84(2):5–12. <https://doi.org/10.17116/patol2022840215>

## Study of gastric adenocarcinomas association with the Epstein-Barr virus-encoded small RNAs

© N.V. DANILOVA<sup>1</sup>, I.A. MIKHAILOV<sup>1</sup>, D.V. KALININ<sup>2</sup>, N.A. OLEYNIKOVA<sup>1</sup>, A.V. CHAYKA<sup>3</sup>, V.M. KHOMYAKOV<sup>3</sup>, V.V. KAKOTKIN<sup>1</sup>, M.Yu. YUDIN<sup>4</sup>, D.V. VYCHUZHANIN<sup>5</sup>, Yu.Yu. ANDREEVA<sup>6</sup>, P.G. MALKOV<sup>1,6</sup>

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

<sup>2</sup>A.V. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>P.A. Herzen Moscow Oncology Research Institute, Branch, National Medical Radiology Research Center, Moscow, Russia;

<sup>4</sup>Separate subdivision «SM-Medica» of «SM-Clinic», Moscow, Russia;

<sup>5</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia;

<sup>6</sup>Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

### ABSTRACT

**Objective.** Assessment of the incidence of EBV-associated gastric adenocarcinomas in a sample of Russian patients, as well as clarification of the clinical and morphological characteristics and median survival of patients with EBV-associated gastric cancer.

**Material and methods.** We used samples of surgical material from 282 patients with a verified diagnosis of gastric cancer. Each sample was stained by *in situ* hybridization using primers for the Epstein-Barr virus-encoded small RNAs (EBER). The results obtained were compared with the main clinical and morphological characteristics of gastric cancer.

**Results.** The detection rate of EBV-associated gastric adenocarcinoma in our sample was 9.57%. EBV-positive tumors much more often ( $p=0.021$ ) belong to the intermediate type according to the P. Lauren classification (66.67%) in comparison with EBV-negative tumors (38.82%). EBV-positive tumors significantly more often ( $p=0.035$ ) belong to high-grade tumors — 75.00% in comparison with EBV-negative tumors (52.13%). The overall median survival of all patients with EBV-positive tumors (53.5 months) was higher compared to the overall median survival of all patients with EBV-negative tumors — 36.5 months ( $p=0.5379$ ). The median survival of patients with EBV-positive stage III tumors (30.0 months) was also higher compared to that for patients with EBV-negative tumors — 20.0 months ( $p=0.5622$ ). It was found that a single EBV status is not a significant prognostic factor (HR=1.0143; CI: 0.9897—1.0196).

**Conclusion.** Separately taken EBV-status is not a significant independent prognostic factor and can be considered only in conjunction with the «classical» clinical and morphological characteristics, primarily with the stage of the tumor process, since it is they that determine the prognostic properties of the tumor.

**Keywords:** EBV, Epstein-Barr virus, EBV-associated gastric adenocarcinoma, gastric cancer, *in situ* hybridization.

### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Danilova N.V. — <https://orcid.org/0000-0001-7848-6707>

Mikhailov I.A. — <https://orcid.org/0000-0001-8020-369X>

Kalinin D.V. — <https://orcid.org/0000-0001-6247-9481>

Oleynikova N.A. — <https://orcid.org/0000-0001-8564-8874>

Chayka A.V. — <https://orcid.org/0000-0002-2178-9317>

Khomyakov V.M. — <https://orcid.org/0000-0001-8301-4528>

Kakotkin V.V. — <https://orcid.org/0000-0003-0352-2317>

Yudin M.Yu. — <https://orcid.org/0000-0002-6600-7825>

Vychuzhanin D.V. — <https://orcid.org/0000-0001-6099-1801>

Andreeva Yu.Yu. — <https://orcid.org/0000-0003-4749-6608>

Malkov P.G. — <https://orcid.org/0000-0001-5074-3513>

**Corresponding author:** Danilova N.V. — e-mail: [natalyadanilova@gmail.com](mailto:natalyadanilova@gmail.com)

### TO CITE THIS ARTICLE:

Danilova NV, Mikhailov IA, Kalinin DV, Oleynikova NA, Chayka AV, Khomyakov VM, Kakotkin VV, Yudin MYu, Vychuzhanin DV, Andreeva YuYu, Malkov PG. Study of gastric adenocarcinomas association with the Epstein-Barr virus-encoded small RNAs. *Archive of Pathology = Arkhiv patologii*. 2022;84(2):5–12. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/patol2022840215>

EBV-ассоциированная аденокарцинома желудка выделяется многими исследователями в отдельный молекулярный подтип в связи с наличием в опухолевых клетках латентных форм EBV [1]. Идентификация кодируемых EBV малых вирусных РНК (Epstein-Barr virus-encoded small RNAs, EBER) методом гибридизации *in situ* (EBER-ISH), по мнению большинства авторов [2, 3], является золотым стандартом для установления ассоциации аденокарциномы желудка с EBV.

При использовании EBER-ISH подавляющее большинство опухолевых клеток EBV-ассоциированных аденокарцином желудка демонстрирует выраженную положительную реакцию [2]. Однако частота выявления EBV-ассоциированных аденокарцином желудка от общего числа

аденокарцином желудка варьирует, по данным разных авторов, от 2 до 18%, что является довольно большим разбросом и, вероятно, зависит от расовых и популяционных характеристик исследуемой группы [4]. Известно, что частота выявления EBV-ассоциированных аденокарцином желудка в популяции Северной Америки составляет 9,9%, в азиатской популяции — 8,3%, в европейской — 9,2% [5]. Стоит отметить, что исследование распространенности EBV-ассоциированных аденокарцином желудка на выборках пациентов из Российской Федерации не проводилось.

Согласно исследованию TCGA, EBV обнаруживается в злокачественных эпителиальных клетках в 9% случаев рака желудка [6]. Помимо идентификации методом EBER-ISH

авторы также использовали секвенирование мРНК и микроРНК. Результаты, полученные с помощью обоих методов, оказались идентичны. Также было установлено, что наиболее часто встречающимся типом генетических нарушений в клетках EBV-ассоциированных аденокарцином является множественное метилирование CpG-островков, что позволяет выделять эту группу опухолей в качестве отдельного молекулярного подтипа [6]. Более того, выявленные отличия между профилями метилирования EBV-ассоциированного подтипа и подтипа, ассоциированного с микросателлитной нестабильностью (MSI), также объясняют разницу между этими группами по мутационному профилю. EBV-ассоциированные опухоли имели более высокую распространенность гиперметилирования ДНК, чем любые виды рака, а именно гиперметилирование промотора гена *CDKN2A*, но не имели гиперметилирования *MLH1*, характерного для MSI-ассоциированного рака желудка [6]. Также для EBV-ассоциированных опухолей в 80% случаев характерны соматические мутации гена *PIK3CA*, в 55% случаев — гена *ARID1A* и в 23% — гена *BCOR*, однако при этом частота возникновения мутаций гена *TP53* значительно ниже по сравнению с другими молекулярными подтипами [6].

Известно, что и EBV- и MSI-ассоциированные опухоли характеризуются высоким уровнем экспрессии PD-L1 и, следовательно, эффективно реагируют на иммунотерапию блокаторами PD-L1 [7]. Другой примечательной особенностью EBV-ассоциированного рака желудка является меньшая частота обнаружения метастазов в лимфатических узлах, но в то же время большая глубина инвазии слоев стенки желудка по сравнению с другими подтипами рака желудка на момент постановки диагноза [8]. У большинства пациентов с EBV-ассоциированным раком желудка диагностируется уже продвинутая стадия (в 52% случаев III и IV стадия) опухолевого процесса, и 49% пациентов умерли в течение среднего периода наблюдения, составившего 3 года [9]. Нескорректированный регрессионный анализ Кокса показал, что медиана выживаемости пациентов с EBV-ассоциированным раком желудка составляет 8,5 года, тогда как медиана выживаемости пациентов с EBV-негативными опухолями желудка — всего 5,3 года [9]. На этом основании считается, что прогноз и эффективность лечения пациентов

с EBV-ассоциированным раком желудка более благоприятны [10, 11]. Однако вместе с тем многими авторами [2, 3, 9] поднимается вопрос о необходимости уточнения этих данных, поскольку они были получены в результате выполнения сетевого метаанализа путем сопоставления исследований, проведенных на разных популяциях с неодинаковыми исходными характеристиками, в том числе по соотношению в выборках различных клинических стадий.

Цель исследования — оценить частоту выявления EBV-аденокарцином желудка в выборке российских пациентов, а также уточнить клинико-морфологические характеристики и медианы выживаемости пациентов с EBV-ассоциированным раком желудка по сравнению с пациентами с EBV-негативными формами рака желудка.

## Материал и методы

В исследовании были использованы образцы операционного материала от 282 пациентов с верифицированным диагнозом рака желудка. Средний возраст пациентов составил 63 года (минимальный 22 года; максимальный 84 года). Половозрастные характеристики выборки пациентов и распределение по стадиям опухолевого процесса представлены в табл. 1.

Каждый образец был окрашен методом гибридизации *in situ* с использованием праймеров к малым вирусным РНК вируса Эпштейна—Барр (INFORM EBER, Roche Ventana, США) и системы визуализации ISH iVIEW Blue Detection Kit (Roche Ventana, США). Постановка реакций гибридизации *in situ* осуществлялась с помощью прибора Ventana BenchMark Ultra (Roche Ventana, США).

Результаты реакций оценивали в соответствии с общепринятыми стандартами [12, 13]. Реакция считалась положительной, если сигнал EBER был локализован в ядре опухолевых клеток, но при этом отсутствовало цитоплазматическое окрашивание за исключением случаев митоза, при которых ядерная мембрана утрачивает свою целостность [12]. При каждой постановке реакции в обязательном порядке использовали положительный контроль в виде тканевого образца EBV-ассоциированной назофарингеальной карциномы.

Таблица 1. Половозрастные характеристики выборки пациентов, распределение по стадиям опухолевого процесса

Table 1. Sex and age characteristics of the sample of patients, distribution by stages of the tumor process

Возраст, лет	Мужчины	Женщины	Итого
22—40	5	7	12
41—50	16	9	25
51—60	47	25	72
61—70	45	45	90
71—80	38	40	78
81 и старше	1	4	5
Всего	152	130	282
Клиническая стадия	Мужчины	Женщины	Итого
IA	17	20	37
IB	15	10	25
IIA	15	6	21
IIB	17	18	35
IIIA	25	20	45
IIIB	24	20	44
IIIC	22	14	36
IV	17	22	39
Всего	152	130	282

Полученные результаты были сопоставлены с основными клинико-морфологическими характеристиками рака желудка. При сопоставлении результатов со степенью злокачественности по Классификации ВОЗ 2019 г. из анализа были исключены перстневидно-клеточные раки, так как в соответствии с этой классификацией степень злокачественности оценивается только для тубулярных и папиллярных аденокарцином желудка. Прогностическая значимость изучаемых признаков оценивалась по общей 5- и 8-летней выживаемости пациентов.

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

## Результаты и обсуждение

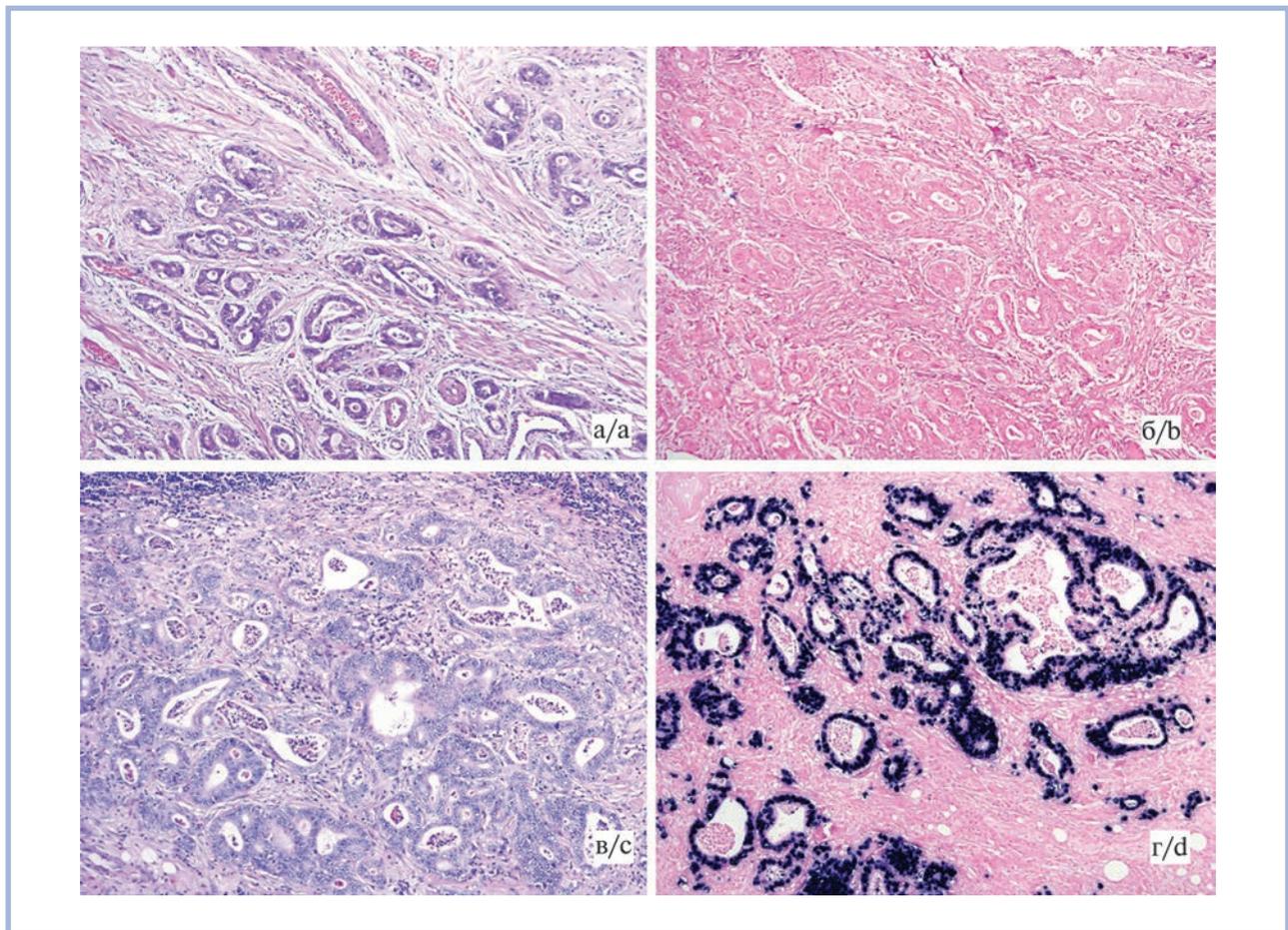
По результатам идентификации EBER в опухолевых клетках из 282 исследованных случаев рака желудка 27

(9,57%) оказались EBER-положительными и 255 (90,43%) EBER-отрицательными (рис. 1). Таким образом, частота выявления EBV-ассоциированной аденокарциномы желудка в нашей выборке составила 9,57%.

Полученное значение частоты выявления согласуется с данными, установленными при исследовании европейской популяции другими авторами [6].

При сопоставлении результатов с клинико-морфологическими характеристиками рака желудка, а именно с глубиной инвазии опухоли, установлено, что большинство EBER-положительных аденокарцином характеризовалось глубиной инвазии T4a и T4b — суммарно 16 случаев (табл. 2), однако это преобладание не являлось статистически значимым ( $p=0,752$ ) по сравнению с группой EBER-отрицательных опухолей вследствие значительного преобладания в выборке случаев с глубиной инвазии T4a и T4b.

При сопоставлении результатов идентификации EBER с количеством метастазов в регионарных лимфатических узлах установлено, что EBER-положительные случаи были равномерно распределены среди всех групп опухолей: опухоли N0 — 9 случаев, N1 — 4, N2 — 7 и опухоли N3a-N3b — 7 случаев (см. табл. 2).



**Рис. 1.** Экспрессия EBER в аденокарциномах желудка.

а, в — высокодифференцированные аденокарциномы желудка; б — отсутствие экспрессии EBER в опухоли; г — экспрессия EBER в опухоли. а, в — окраска гематоксилином и эозином, об.  $\times 10$ ; б, г — выявление EBER методом гибридизации *in situ*, об.  $\times 10$ .

**Fig. 1.** EBER expression in gastric adenocarcinomas.

а, в — gastric adenocarcinomas, low grade; б — EBER-negative adenocarcinoma; д — EBER-positive adenocarcinoma. а, в — H&E, lens magn.  $\times 10$ ; б — EBER *in situ* hybridization, lens magn.  $\times 10$ .

**Таблица 2.** Статистическая значимость различий по EBER-статусу в разрезе клинико-морфологических характеристик рака желудка**Table 2.** Statistical significance of differences in EBER status in the context of the clinical and morphological characteristics of gastric cancer

Клинико-морфологические характеристики	Число EBER-положительных случаев	Число EBER-отрицательных случаев	Значимость различий по EBER-статусу
Глубина инвазии (Т)	27	255	$p=0,752$
В том числе:			
Т1а — Т1б	5	41	
Т2	2	31	
Т3	4	43	
Т4а — Т4б	16	140	
Метаастазы в регионарных лимфатических узлах	27	255	$p=0,174$
В том числе:			
N0	9	79	
N1	4	52	
N2	7	30	
N3а—N3б	7	94	
Отдаленные метастазы (М)	27	255	$p=0,667$
В том числе:			
M0	24	219	
M1	3	36	
Клиническая стадия	27	255	$p=0,315$
В том числе:			
I (IA, IB)	7	55	
II (IIA, IIB)	2	54	
III (IIIA, IIIB, IIIC)	15	110	
IV	3	36	
Эмболы в лимфатических сосудах	27	255	$p=0,371$
В том числе:			
есть	11	127	
нет	16	128	
Эмболы в кровеносных сосудах	27	255	$p=0,499$
В том числе:			
есть	3	41	
нет	24	214	
Гистологический тип по Laugen	27	255	$p=0,021$
В том числе:			
кишечный	6	93	
промежуточный	18	99	
диффузный	3	63	
Степень злокачественности, ВОЗ, 2019 [14]	24	188	$p=0,035$
В том числе:			
high grade	18	98	
low grade	6	90	

При сопоставлении результатов идентификации EBER с количеством отдаленных метастазов установлено, что большинство EBER-положительных опухолей — 24 случая (см. табл. 2) характеризовалось отсутствием отдаленных метастазов (M0), однако это преобладание не являлось статистически значимым ( $p=0,667$ ) по сравнению с группой EBER-отрицательных опухолей.

Полученные результаты хорошо согласуются с имеющимися данными о том, что EBV-ассоциированные аденокарциномы желудка, как правило, имеют значительную глубину инвазии, но низкое количество метастазов в лимфатических узлах и отдаленных метастазов [8].

При сопоставлении результатов идентификации EBER со стадиями опухолевого процесса установлено, что большинство EBER-положительных опухолей относилось к группе со стадией III (см. табл. 2) — 15 (55,56%) случаев из 27, однако это преобладание не являлось статистиче-

ски значимым ( $p=0,315$ ) по сравнению с группой EBER-отрицательных опухолей.

Среди EBER-положительных опухолей в одинаковой степени встречались как опухоли с наличием эмболов в лимфатических сосудах — 11 случаев, так и с их отсутствием — 16 случаев (см. табл. 2). Однако в то же время среди EBER-положительных опухолей преобладали опухоли с отсутствием эмболов в кровеносных сосудах — 24 (88,87%) случая из 27, однако данное превосходство не являлось статистически значимым ( $p=0,499$ ) по сравнению с группой EBER-отрицательных опухолей.

Установлено, что EBER-положительные опухоли значительно чаще ( $p=0,021$ ) относятся к промежуточному типу по классификации P. Laugen (табл. 2, рис. 2, а) — 18 (66,67%) случаев из 27 в сравнении с EBER-отрицательными опухолями — 99 (38,82%) из 255. Эта выявленная характеристика EBER-положительных опухолей хо-

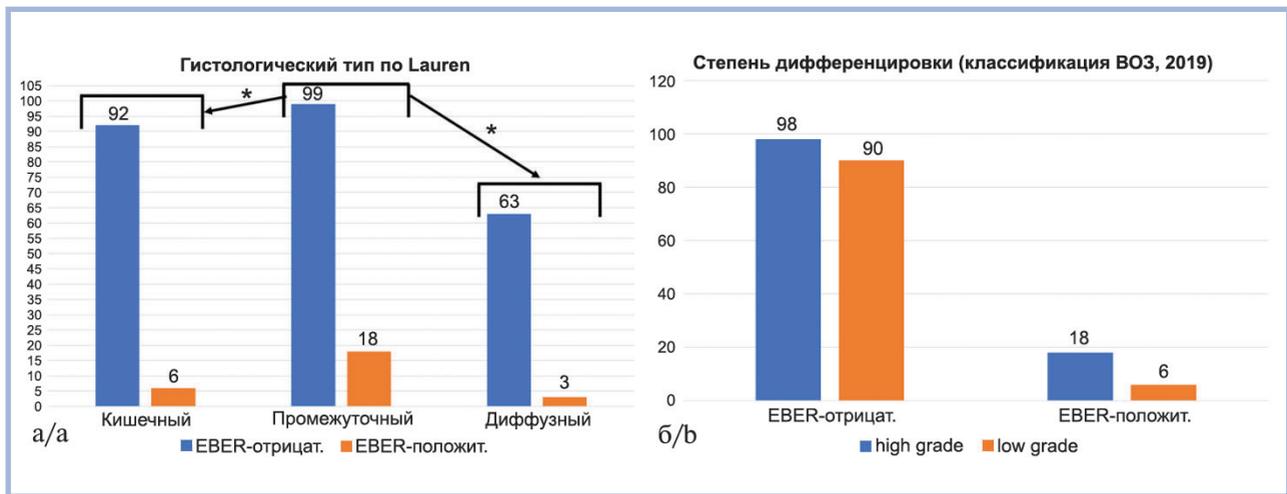


Рис. 2. Выявленные различия аденокарцином желудка по EBER-статусу в зависимости от гистологического типа по P. Lauren (а) и степени злокачественности (б) (ВОЗ, 2019).

Fig. 2. Differences in gastric adenocarcinomas by EBER status depending on the histological type according to P. Lauren (a) and the grade of malignancy (b) (WHO, 2019).

Таблица 3. Медианы выживаемости пациентов в разрезе клинических стадий опухолевого процесса и EBER-статуса

Table 3. Median patient survival in the context of the clinical stages of the tumor process and EBER status

Клиническая стадия	Число случаев	Медиана выживаемости, мес	Значимость различий по EBER-статусу
Все клинические стадии	230	38,0	$p=0,5379$
В том числе:			
EBER-положительные	22	53,5	
EBER-отрицательные	208	36,5	
Из них:			
опухоли I—II стадии	93	75,0	$p=0,4799$
EBER-положительные	7	80,0	
EBER-отрицательные	86	75,0	
опухоли III стадии	107	21,0	$p=0,5622$
EBER-положительные	14	30,0	
EBER-отрицательные	93	20,0	
опухоли IV стадии	30	12,5	$p=0,8006$
EBER-положительные	1	13,0	
EBER-отрицательные	29	12,0	

рошо согласуется с тем фактом, что EBV-ассоциированные аденокарциномы желудка склонны к быстрой инвазии слоев стенки желудка до подслизистой основы [8].

Также установлено, что EBER-положительные опухоли значительно чаще ( $p=0,035$ ) относятся к опухолям с высокой степенью злокачественности (high grade) в соответствии с Классификацией ВОЗ 2019 г. (см. табл. 2, рис. 2, б) — 18 (75%) случаев из 24 в сравнении с EBER-отрицательными опухолями — 98 (52,13%) из 188.

В целях уточнения различий в выживаемости пациентов с EBER-положительными и EBER-отрицательными опухолями желудка были рассчитаны медианы выживаемости пациентов как для всей выборки, так и в разрезе по стадиям опухолевого процесса (табл. 3). Также был проведен анализ 5- и 8-летней выживаемости пациентов по Каплану—Мейеру.

Установлено, что общая медиана выживаемости всех пациентов с EBER-положительными опухолями (53,5 мес) была выше по сравнению с таковой всех пациентов с EBER-

отрицательными опухолями — 36,5 мес (см. табл. 3). Анализ общей 5- и 8-летней выживаемости пациентов не выявил статистически значимых различий (рис. 3, а, б) — минимальное  $p$ -значение логрангового критерия составило 0,5379.

При проведении анализа выживаемости в разрезе отдельных стадий установлено, что медиана выживаемости пациентов с EBER-положительными опухолями I—II стадии составила 75,0 мес, что совпадает с медианой выживаемости пациентов с EBER-отрицательными опухолями I—II стадии (см. табл. 3). Анализ общей 5- и 8-летней выживаемости пациентов не выявил статистически значимых различий (рис. 3, в, г) — минимальное  $p$ -значение логрангового критерия составило 0,4799.

Медиана выживаемости пациентов с EBER-положительными опухолями III стадии (30,0 мес) была выше по сравнению с аналогичным показателем для пациентов с EBER-отрицательными опухолями — 20,0 мес (см. табл. 3). Однако анализ общей 5- и 8-летней выживаемости пациентов не выявил статистически значимых разли-

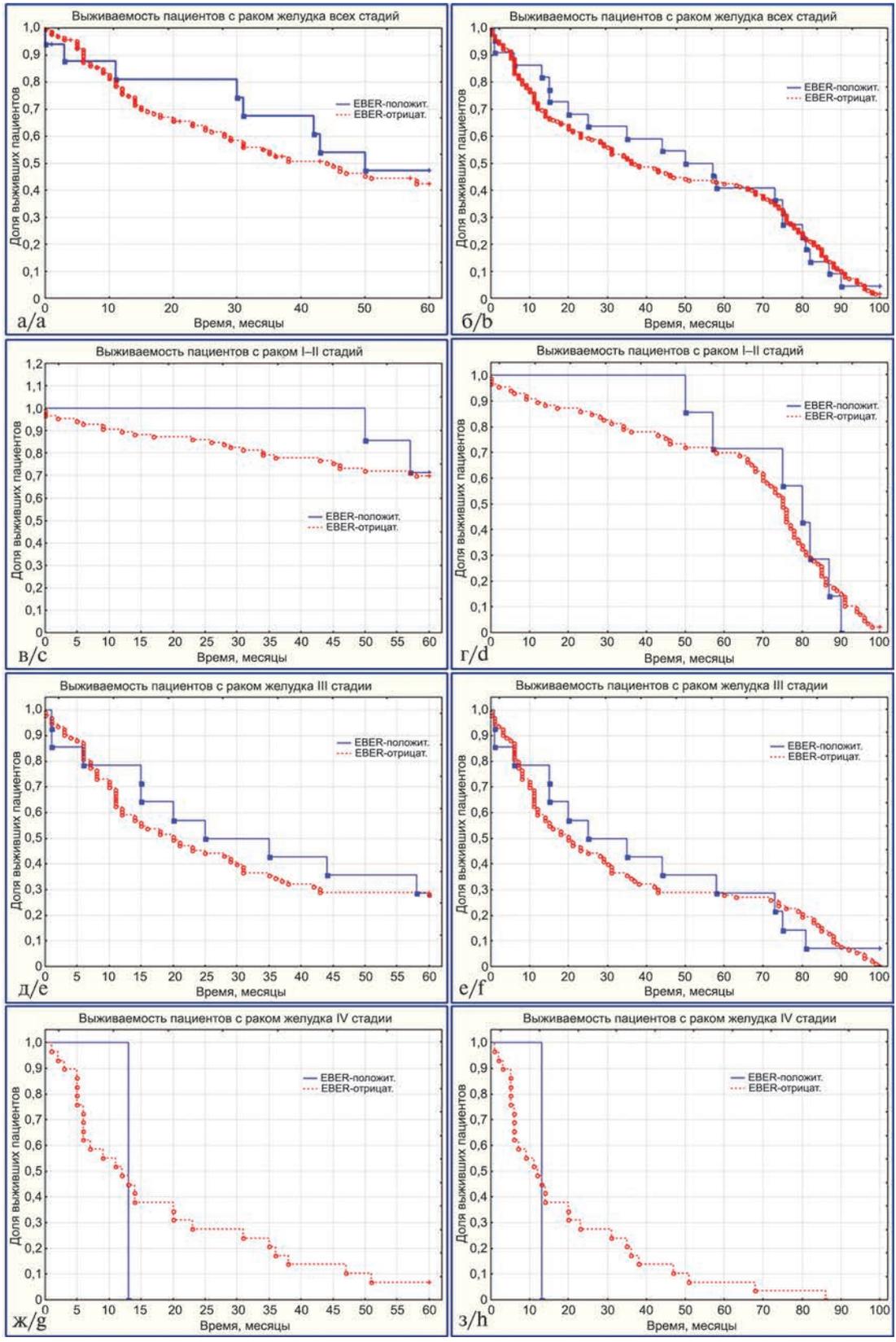


Рис. 3. Анализ выживаемости пациентов с раком желудка различных клинических стадий в зависимости от EBER-статуса (объяснение в тексте).

Fig. 3. Analysis of survival of patients with gastric cancer of various clinical stages depending on EBER status.

чий (рис. 3, д, е) — минимальное  $p$ -значение логрангового критерия составило 0,5622.

Выживаемость пациентов с EBER-положительной опухолью IV стадии (13,0 мес) также была незначительно выше по сравнению с аналогичным показателем для пациентов с EBER-отрицательными опухолями — 12,0 мес (см. табл. 3). Анализ общей 5-летней выживаемости пациентов не выявил статистически значимых различий (рис. 3, ж, з) — минимальное  $p$ -значение логрангового критерия составило 0,8006.

Дополнительно был проведен многофакторный анализ выживаемости в регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса и установлено, что EBER-статус не является значимым прогностическим признаком (HR=1,0143; ДИ: 0,9897—1,0196). Это свидетельствует о том, что отдельно взятый EBER-статус не оказывает значимого влияния на прогноз у пациентов с раком желудка.

## Заключение

Установлено, что EBER-положительные аденокарциномы желудка преимущественно являются опухолями промежуточного типа по классификации P. Lauren и опухолями high grade по Классификации ВОЗ 2019 г.

Не выявлены статистически значимые различия между пациентами с EBER-положительными и EBER-отри-

цательными опухолями как в общей выборке, так и по стадиям опухолевого процесса. Однако при этом пациенты с EBER-положительными опухолями III стадии характеризуются большими медианами выживаемости по сравнению с пациентами с EBER-отрицательными опухолями аналогичной стадии. Показано, что отдельно взятый EBER-статус не является значимым независимым прогностическим признаком и может рассматриваться только в совокупности с «классическими» клинико-морфологическими характеристиками, основная из которых — стадия опухолевого процесса, так как именно они в первую очередь определяют прогностические свойства опухоли.

**Финансирование:** Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда №20-75-00037.

## Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — Н.В. Данилова, И.А. Михайлов, П.Г. Мальков

Сбор и обработка материала — Д.В. Калинин, А.В. Чайка, В.М. Хомяков, М.Ю. Юдин, В.В. Какоткин

Статистическая обработка данных — И.А. Михайлов, Д.В. Вычужанин

Написание текста — Н.В. Данилова, Н.А. Олейникова

Редактирование — Ю.Ю. Андреева, П.Г. Мальков

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Uozaki H, Fukayama M. Epstein-Barr virus and gastric carcinoma--viral carcinogenesis through epigenetic mechanisms. *Int J Clin Exp Pathol.* 2008;1(3):198-216.
- Fukayama M, Ushiku T. Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *Pathol Res Pract.* 2011;207(9):529-537. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2011.07.004>
- Shinozaki-Ushiku A, Kunita A, Fukayama M. Update on Epstein-Barr virus and gastric cancer (review). *Int J Oncol.* 2015; 46(4):1421-1434. <https://doi.org/10.3892/ijo.2015.2856>
- Akiba S, Koriyama C, Herrera-Goepfert R, Eizuru Y. Epstein-Barr virus associated gastric carcinoma: epidemiological and clinicopathological features. *Cancer Sci.* 2008;99(2):195-201. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2007.00674.x>
- Murphy G, Pfeiffer R, Camargo MC, Rabkin CS. Meta-analysis shows that prevalence of Epstein-Barr virus-positive gastric cancer differs based on sex and anatomic location. *Gastroenterology.* 2009;137(3):824-833. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.05.001>
- The Cancer Genome Atlas (TCGA). Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature.* 2014; 513(7517):202-209. <https://doi.org/10.1038/nature13480>
- Rodriguez MG, Roviello G, D'Angelo A, Lavacchi D, Roviello F, Polom K. MSI and EBV positive gastric cancer's subgroups and their link with novel immunotherapy. *J Clin Med.* 2020;9(5):1427. <https://doi.org/10.3390/jcm9051427>
- Camargo MC, Kim KM, Matsuo K, Torres J, Liao LM, Morgan DR, Michel A, Waterboer T, Zabaleta J, Dominguez RL, Yatabe Y, Kim S, Rocha-Guevara ER, Lissowska J, Pawlita M, Rabkin CS. Anti-Helicobacter pylori antibody profiles in Epstein-Barr virus (EBV)-positive and EBV-negative gastric cancer. *Helicobacter.* 2016;21(2):153-157. <https://doi.org/10.1111/hel.12249>
- Sun K, Jia K, Lv H, Wang SQ, Wu Y, Lei H, Chen X. EBV-positive gastric cancer: current knowledge and future perspectives. *Front Oncol.* 2020;10:583463. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.583463>
- Lee JH, Kim SH, Han SH, An JS, Lee ES, Kim YS. Clinicopathological and molecular characteristics of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma: a meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2009;24(3):354-365. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2009.05775.x>
- Gasenko E, Isajevs S, Camargo MC, Offerhaus GJA, Polaka I, Gulley ML, Skapars R, Sivins A, Kojalo I, Kirsners A, Santare D, Pavlova J, Sjomina O, Liepina E, Tzivian L, Rabkin CS, Leja M. Clinicopathological characteristics of Epstein-Barr virus-positive gastric cancer in Latvia. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2019;31(11):1328-1333. <https://doi.org/10.1097/MEG.0000000000001521>
- Gulley ML, Glaser SL, Craig FE, Borowitz M, Mann RB, Shema SJ, Ambinder RF. Guidelines for interpreting EBER in situ hybridization and LMP1 immunohistochemical tests for detecting Epstein-Barr virus in Hodgkin lymphoma. *Am J Clin Pathol.* 2002;117(2):259-267. <https://doi.org/10.1309/MMAU-0QYH-7BHA-W8C2>
- Weiss LM, Chen YY. EBER in situ hybridization for Epstein-Barr virus. *Methods Mol Biol.* (Clifton, NJ). 2013;999:223-230. [https://doi.org/10.1007/978-1-62703-357-2\\_16](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-357-2_16)
- Nagtegaal ID, Odze RD, Klimstra D, Paradis V, Rugge M, Schirmacher P, Washington MK, Carneiro F, Cree IA. The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. *Histopathology.* 2019 August. <https://doi.org/10.1111/his.13975>

Поступила 18.11.2021

Received 18.11.2021

Принята в печать 22.12.2021

Accepted 22.12.2021