

*Н.В. Борискин<sup>1</sup>, А.М. Авдалян<sup>1</sup>, М.А. Корюков<sup>2</sup>, А.В. Шилов<sup>1</sup>, И.П. Оскорбин<sup>2</sup>,  
Д.Н. Проценко<sup>1</sup>, М.Л. Филипенко<sup>2</sup>*

## **Иммуногистохимический профиль экспрессии белков контроля клеточного цикла, пролиферации и дифференцировки атипического альвеолярного эпителия легкого с диффузным альвеолярным повреждением, вызванном COVID-19, в сравнении с аденокарциномой легкого**

<sup>1</sup> ГБУЗ «Московский многопрофильный клинический центр «Коммунарка» Департамента здравоохранения Москвы»

<sup>2</sup> ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины», Сибирское отделение Российской академии наук, Новосибирск

**Цель исследования.** Сравнить иммунофенотипические характеристики атипического эпителия при диффузном альвеолярном повреждении, вызванном COVID-19, и при стелющейся аденокарциноме легкого, отражающих контроль клеточного цикла, пролиферации и дифференцировки.

**Материалы и методы.** Исследовалась ткань легкого 24 аутопсийных случаев пациентов, умерших от острого респираторного дистресс синдрома, вызванного COVID-19 (1-я группа), 4 случая стелющейся аденокарциномы легкого (2-я группа). На микропрепаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, оценивались размеры ядер, рассчитывались ядерные произведения с выводом средних (СПЯИ). Проведено иммуногистохимическое исследование с антителами к p53, Ki67, p16, p63, с оценкой интенсивности и доли реакции атипического эпителия, подсчетом их произведения. Для микропрепаратов, окрашенных Ki67 оценивался индекс пролиферативной активности (Ki67-index). В качестве статистических методов использовались критерий Манна—Уитни, расчет коэффициента корреляции Спирмена.

**Результаты.** Экспрессия p63 была выше в 1-й группе ( $p=0,001$ ), тогда как p16 чаще экспрессировался во 2-й группе ( $p=0,002$ ). Экспрессия p53 и Ki67 была одинакова в двух группах ( $p>0,1$ ). В 1-й группе обнаружена обратная корреляционная зависимость между количеством дней прошедших со дня начала симптомов инфекции COVID-19 и следующими показателями: индекс Ki67 ( $r=-0,587$ ,  $p=0,003$ ); СПЯИ ( $r=-0,406$ ,  $p=0,049$ ).

**Заключение.** Исследование показало неоднородность уровней экспрессии белков контроля клеточного цикла, пролиферации и дифференцировки атипического эпителия

при стелющейся аденокарциноме легкого и при диффузном альвеолярном повреждении, вызванном инфекцией COVID-19.

**Ключевые слова:** атипичный эпителий, аденокарцинома легкого, рак легкого, COVID-19, диффузное альвеолярное повреждение, регенерация легкого

### **Введение**

По литературным данным примерно у 1/3 (33%) пациентов, госпитализированных по поводу инфекции COVID-19 развивается острый респираторный дистресс синдром (ОРДС), при котором смертность составляет 45% [1]. Его морфологическим проявлением является диффузное альвеолярное повреждение (ДАП). Стадии пролиферации и организации характеризуются регенерацией альвеолярного эпителия за счет пролиферации альвеолоцитов 2-го типа, и миграции базально-подобных прогениторных клеток бронхиолярного эпителия в ацинусы, дальнейшей их пролиферации и дифференцировки. Описано 2 пути дифференцировки: первый – в альвеолоциты 2-го типа, а затем в альвеолоциты 1-го типа, и второй – в эпителий бронхиолярного типа с аналогичным клеточным составом [2, 3] с потенциальностью к формированию очагов плоскоклеточной метаплазии [4–6]. Морфологически регенерирующий эпителий альвеол характеризуется клеточной атипией, которая проявляется увеличением, гиперхромией и полиморфизмом ядер, глыбчатостью хроматина, укрупнением ядрышек, появлением двуядерных и многоядерных синцитиальных клеток [2, 4–9]. В контексте интерстициального воспаления и фиброза иногда очаги атипического эпителия (АЭ) при ДАП приобретают заметные морфологические сходства со стелющейся аденокарциномой (СА) легкого.

В некоторых случаях различить их на микропрепарате крайне затруднительно. Более того, есть предположение, что атипичный регенераторный эпителий нижних дыхательных путей может являться источником карциномы легкого [10], что вызывает интерес в контексте того, что большая часть пациентов с COVID-19, ассоциированным с ОРДС, выздоравливает. Мы не нашли в мировой литературе исследований целью которых было бы сопоставить АЭ легкого при ДАП и СА легкого. Цель нашего исследования – сравнить морфометрические и иммунофенотипические характеристики АЭ при ДАП, вызванном COVID-19, и АЭ СА легкого, отражающих контроль клеточного цикла, пролиферации и дифференцировки.

### Материалы и методы

Исследование проведено на базе гистологического архива патологоанатомического отделения «ММКЦ «Коммунарка» Департамента здравоохранения Москвы». Отобраны архивные образцы ткани легкого 25 аутопсийных случаев пациентов, умерших от острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), вызванного COVID-19 (1-я группа) и 4 архивных случая СА легкого удаленных прижизненно (2-я группа). Забор аутопсийного материала производился в течение 1 сут после констатации смерти, фиксировался в 10% забуференном растворе формалина, далее подвергался стандартным гистологическим процедурам. Отбор случаев в 1-ю группу производился по следующим критериям:

1. наличие позитивного результата прижизненного (давностью не более 30 дней до летального исхода) и посмертного исследования на наличие РНК SARS-CoV-2 методом ПЦР по данным электронной истории болезни пациента;
2. наличие позитивного результата на наличие РНК SARS-CoV-2 в материале парафинизированных гистологических блоков ткани легкого методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в реальном времени;
3. визуально достаточное количество АЭ на микропрепарате, окрашенном гематоксилином и эозином (H&E) для иммуногистохимического (ИГХ) исследования на фоне морфологической картины ДАП.

Отбор случаев во 2-ю группу производился по заключению прижизненного патологоанатомического исследования операционного материала – «аденокарцинома легкого с преобладающим стелющимся/лепидическим компонентом».

Для иллюстрации различий с нормальным альвеолярным эпителием были отобраны 2 гистологических блока нормальной ткани легкого из случаев пациентов, оперированных по поводу рака легкого (3-я группа). Пациенты не имели сопутствующих заболеваний легких, на этапе вырезки ткань легкого забиралась из визуально неизмененного участка в отдалении от опухоли.

ОТ-ПЦР в реальном времени. Выделение РНК из парафинизированных гистологических блоков проводили с помощью набора High Pure FFPE RNA Isolation Kit (Roche, Швеция) согласно протоколу производителя. Выделение производили из одиночных гистологических срезов толщиной 10 микрон, концентрацию выделенных препаратов РНК измеряли с помощью NanoDrop Lite (Thermo Fisher Scientific, США). Образцы РНК после выделения хранили при –70 С.

ОТ-ПЦР в реальном времени проводили в амплификаторе CFX96 (Bio-Rad Laboratories, США) в объеме 20 мкл, содержащем 1×мкл буфер для ПЦР (65 mM Tris-HCl, pH 8,9, 24 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,05% Tween 20, 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>), 0,6 мкМ праймеры и 0,15 мкМ зонды: TBP-U2/TBP-R2/TBP-PC2H для TBP, E Sarb F/E Sarb R/E Sarb P для SARS-CoV-2, MS2-5U2/MS2-5R2/MS2-5-FAM для MS2, 1 ед. акт. Taq-полимеразы (Биосан, Россия), 100 ед. акт. обратной транскриптазы M-MuLV (Биосан, Россия) и РНК-матрицу. Амплификация проводилась согласно следующей программе: обратная транскрипция при температуре 50 °С в течение 15 мин; активация ДНК-полимеразы при 95 °С в течение 15 мин; 6 циклов со следующими стадиями: денатурация при температуре 94 °С в течение 5 с; отжиг при температуре 62 °С в течение 7 с; элонгация при 72 °С в течение 7 с; 40 циклов со следующими стадиями: денатурация при температуре 94 °С в течение 5 с; отжиг при температуре 62 °С в течение 20 с; элонгация при 72 °С в течение 5 с, со съёмом сигнала флуоресценции по каналам FAM, HEX и Cy5. Обработку результатов проводили в программе CFX Manager (Bio-Rad Laboratories, США).

В 24 из 25 образцах ткани парафинизированных гистологических блоков методом ОТ-ПЦР в реальном времени был обнаружен РНК SARS-CoV-2.

В 1-ю группу было включено 24 случая (1 из 25 случаев исключен по критерию № 2), среди которых 9 женщин и 15 мужчин возрастом от 47 до 95 лет. Время от начала симптомов инфекции до летального исхода составило от 7 до 60 сут. 2-ю группу составили 4 случая, из которых 3 женщины и 1 мужчина возрастом от 42 до 68 лет. 3-ю группу составили 2 случая: мужчина 58 лет и женщина 66 лет.

Гистологическое исследование. Для дальнейшего ИГХ исследования и морфометрии отбирался гистологический блок и H&E микропрепарат, с максимальным количеством АЭ. На микроскопе «Olympus BX53» с использованием фотокамеры «Olympus SC180» и программного обеспечения «Olympus cellSens Standard 3.1 (Build 21199)» получены цифровые изображения очагов АЭ. На 10 клеток АЭ всех групп каждого случая выполнены измерения ядер по двум перпендикулярным осям, рассчитаны их произведения, среднее арифметическое сумм произведений ядерных измерений (СПЯИ) на каждый случай. На аппарате VENTANA BenchMark ULTRA выполнено ИГХ исследование с антителами к p53 (D07), Ki67 (30-9), p16 (CINtec Ventana), p63 (4A4). Для микропрепаратов, окрашенных против p53, p16, p63 оценивалось значение интенсивности окрашивания (слабое – 1 балл, умеренное – 2 балла, выраженное – 3 балла) по преобладающему компоненту и доля реакция атипичного эпителия, выраженная в процентах, путем подсчета на весь микропрепарат, но не менее чем на 100 клеток, с последующим расчетом их произведения (Score). Для подгруппы p16 значение H-score подсчитывалось отдельно для ядерного и цитоплазматического окрашивания (couple), и только для цитоплазматического окрашивания (cyt). Для подгруппы Ki67 оценивался только индекс пролиферативной активности (Ki67-index) в горячей точке (hot spot) не менее чем на 100 клеток.

Статистический анализ. Для статистической обработки полученных данных использовался программный пакет «IBM SPSS Statistics v26». Для проверки гипотез о нормальном распределении полученных данных использовался критерий Шапиро—Уилка. Для установления значимости различий между группами по количественным признакам использовали непараметрический критерий Манна—Уитни. Для выявления корреляционной зависимости ненормально распределенных значений рассчитывался коэффициент корреляции Спирмена. Для группы 3 статистический анализ не производился. Значения описательных статистик суммы ядерных произведений округлялись до целых чисел.

### Результаты

Гистологически очаги АЭ при ДАП представляли собой однослойный эпителий, выстилающий альвеолы, склонный к формированию двухслойных пластов, очагов плоскоклеточной метаплазии. Цитологически эпителий также демонстрировал наличие микроворсинок, увеличение ядер (в 1,5–2 раза крупнее ядер альвеолоцитов), которые отличались везикулярностью хроматина, заметными эозинофильными ядрышками (рис. 1). АЭ при СА почти всегда однослойный, без очагов плоскоклеточной метаплазии. Ядра также увеличены в 1,5–2 раза, характеризуются выраженной гиперхромией, грубым хроматином, за счет малого количества

цитоплазмы ядерно-цитоплазматическое соотношение высокое. Микроворсинок не выявлялось, однако апикальная поверхность отдельных клеток выпячивалась в просвет альвеол. При сравнении значений СПЯИ между группами 1 и 2 значимых различий не выявлено ( $p=0,681$ ). При корреляционном анализе выявлена обратная зависимость в группе 1 между значением СПЯИ и временем от начала симптомов ( $r=-0,406$ ,  $p=0,049$ ). Значения СПЯИ нормального альвеолярного эпителия (группа 3): 133  $\mu\text{m}^2$ , 159  $\mu\text{m}^2$ .

При ИГХ исследовании с антителом к p53 во всех случаях выявлен паттерн экспрессии «дикий-тип» (wild-type), с достаточно низкими значениями во всех группах. При окрашивании с антителом к Ki67 отмечена высокая гетеро-

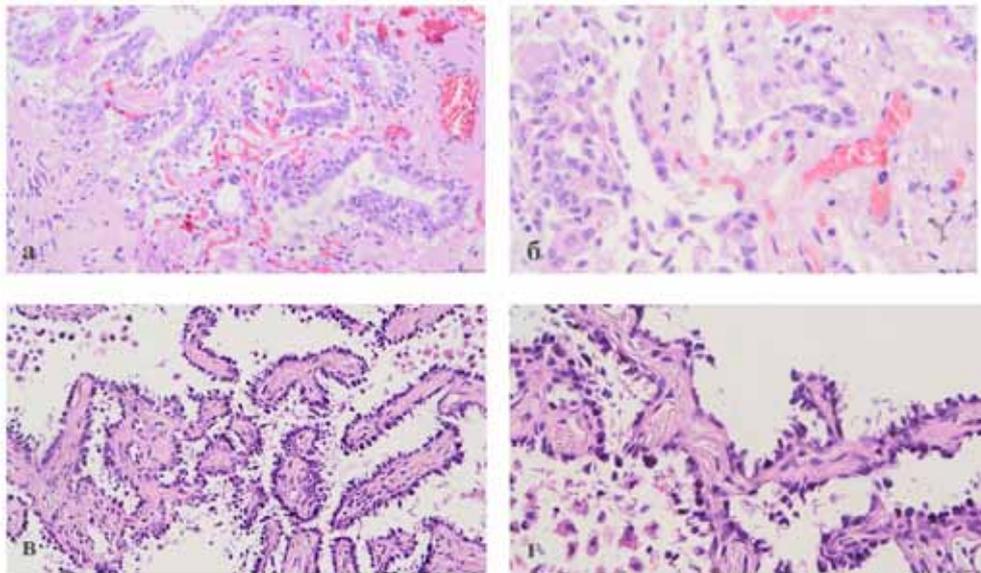


Рис. 1. Атипичный эпителий (АЭ) при диффузном альвеолярном повреждении (ДАП) и аденокарциноме (СА) легкого. а, б – АЭ при ДАП; в, г – АЭ при СА легкого. Ув.: а, в – 200, б, г – 400. Окраска гематоксилином и эозином

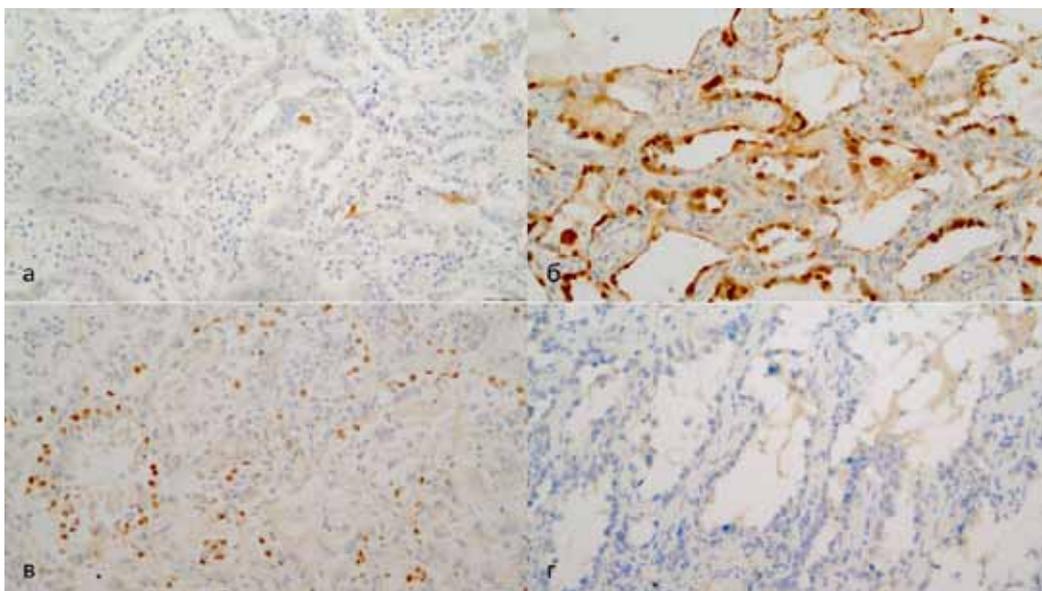


Рис. 2. Атипичный эпителий (АЭ) при диффузном альвеолярном повреждении (ДАП) и аденокарциноме (СА) легкого. а – АЭ при ДАП, ИГХ-исследование с антителом к p16; б – АЭ при СА, ИГХ-исследование с антителом к p16; в – АЭ при ДАП, ИГХ-исследование с антителом к p63; г – АЭ при СА, ИГХ-исследование с антителом к p63. Ув. 200

генность интенсивности и доли окрашенных ядер в 1-й группе, что обуславливает высокий размах значений Ki67-index между случаями ( $R(\max-\min)=76$ ). Во 2-й группе размах значений Ki67-index значительно ниже ( $R=12$ ). В АЭ 2-й группы окрашенном антителом против p16 были выявлены очаги блокового окрашивания, и отсутствие таковых в 1-й группе. В целом цитоплазматическое и ядерно-цитоплазматическое окрашивание антителом к p16 очагов АЭ заметно ярче и шире во 2-й группе. Однако в 1-й группе выявлено заметно более яркое и распространенное окрашивание антителом к p63 (рис. 2).

Мы использовали критерий Манна–Уитни для сравнительного анализа полученных ненормально распределенных значений в подгруппах p16, p53, p63 и Ki67 между 1-й и 2-й группами. Была выявлена статистически значимая разница в подгруппах p16 (p16(cyt): группа 1 ( $25,38 \pm 13,97$ ) < группа 2 ( $Me=160$  ( $R=209$ )), ( $p=0,002$ ), p16(couple): группа 1 ( $7,83 \pm 4,85$ ) < группа 2 ( $Me=120$  ( $R=171$ )), ( $p=0,000$ ) и в подгруппе p63 (группа 1 ( $94,08 \pm 16,14$ ) > группа 2 ( $Me=10$  ( $R=40$ )), ( $p=0,001$ ). В подгруппах p53 и Ki67 статистически значимой разницы не выявлено ( $p=0,164$  и  $0,110$  соответственно). 3-я группа показала следующие достаточно низкие значения по всем показателям для обоих случаев соответственно: p53 – 2 и 1; p63 – 0 и 0; p16(cyt) – 3 и 8; p16(couple) – 0 и 5; Ki67-index – 1 и 1. Произведен поиск корреляционной зависимости в 1-й группе между значениями Ki67-index, p63, p16 (cyt и couple), p53 и количеством дней, прошедших со дня начала симптомов инфекции COVID-19. Была выявлена значимая взаимосвязь только для подгруппы Ki67-index ( $r=-0,587$ ,  $p=0,003$ ). Для более ясного понимания распре-

ления выборок анализированных параметров 1-й и 2-й групп некоторые описательные статистики приведены в табл. 1.

### Обсуждение

Отсутствие различий ядерных произведений между группами подтверждает цитологическое сходство исследуемых эпителиев. Обратная корреляционная зависимость значений СПЯИ и времени от начала симптомов инфекции говорит об уменьшении размеров ядер со временем, что вероятно связано со снижением активности воспаления, пролиферативной активности эпителия, и его дифференцировкой. Белок p53 играет важную роль в регуляции клеточного цикла. ИГХ исследование является суррогатным методом определения наличия/отсутствия мутации гена TP53 и уровня его экспрессии, который зависит от множества внешних факторов. Известно, что его экспрессия может изменяться под воздействием воспалительных факторов, в основном через NF-каппаВ сигнальный путь [11, 12]. Отсутствие значимых различий p53 между группами вероятно вызвано отсутствием мутаций в обеих группах, а размах значений внутри групп можно объяснить различиями иммунного микроокружения. Усиление экспрессии p16, блоковый паттерн экспрессии p16 характерны для неопластических процессов [13], что мы и наблюдали во 2-й группе. Наличие же экспрессии p63 указывает на плоскоклеточную и/или базальную дифференцировку [14]. Данные результаты соотносятся с представлением о роли данных белков в канцерогенезе и дифференцировке клеток. Также мы обнаружили обратную зависимость между Ki67-index и количеством дней с момента начала симптомов COVID-19, что обуславливается сни-

Таблица 1. Описательные статистики для 1-й и 2-й групп

Параметры		Медиана	Процентиль 25	Процентиль 75
p53	АЭ (1-я группа)	5	3	9
	СА (2-я группа)	12	6	34
p63	АЭ (1-я группа)	105	68	120
	СА (2-я группа)	10	0	30
p16 cyt	АЭ (1-я группа)	12	3	40
	СА (2-я группа)	160	93	218
p16 couple	АЭ (1-я группа)	2	0	9
	СА (2-я группа)	120	65	180
Ki67	АЭ (1-я группа)	18	10	33
	СА (2-я группа)	10	6	15
СПЯИ	АЭ (1-я группа)	254	222	292
	СА (2-я группа)	276	189	355

жением пролиферативной активности альвеолоцитов 2-го типа и бронхогенного эпителия. Отсутствие различий в подгруппе Ki67 объясняется в большей мере неоднородностью значений 1-й группы, которые возможно были бы выявлены при ранжировании группы по стадиям ДАП.

### Заключение

Исследование демонстрирует статистически значимые различия в уровне экспрессии p16 и p63 в группах АЭ СА и при ДАП, ассоциированном с COVID-19. Мы выявили, что уровень экспрессии p16 в АЭ СА выше, чем при ДАП, а p63, наоборот, ниже в АЭ СА, чем при ДАП. Показано отсутствие значимой разницы в экспрессии p53 и Ki67, наличие обратной корреляционной зависимости между временем от начала симптомов COVID-19 и параметрами Ki67-index и СПЯИ. Таким образом, показана неоднородность в различиях уровней экспрессии белков контроля клеточного цикла, пролиферации и дифференцировки СА легкого и АЭ при ДАП, вызванном инфекцией COVID-19. Полученные данные вместе с дальнейшими молекулярно-генетическими исследованиями могут стать одним из звеньев в вопросах канцерогенеза у больных, перенесших инфекцию COVID-19, ассоциированную с ОРДС.

#### Вклад авторов:

Авдалян А.М., Борискин Н.В., Проценко Д.Н. – концепция и дизайн исследования;  
Борискин Н.В., Корюков М.А., Шилов А.В., Оскорбин И.П. – сбор и обработка материала;  
Борискин Н.В. – статистическая обработка;  
Борискин Н.В. – написание текста;  
Авдалян А.М., Филипенко М.Л. – редактирование.

#### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

#### Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

#### Благодарности

Коллектив авторов благодарит лаборантов-гистологов патологоанатомического отделения «ММКЦ «Коммунарка» ДЗМ» за помощь в постановке ИГХ, изготовлении гистологических блоков и микропрепаратов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Tzotzos SJ, Fischer B, Fischer H et al. Incidence of ARDS and outcomes in hospitalized patients with COVID-19: a global literature survey // Crit Care. 2020;24(516). doi:10.1186/s13054-020-03240-7
2. Maria Fernanda de Mello Costa, Aaron I. Weiner, Andrew E. Vaughan. Basal-like Progenitor Cells: A Review of Dysplastic Alveolar Regeneration and Remodeling in Lung Repair // Stem Cell Reports. 2020;15, Is. 5:1015–1025. doi:10.1016/j.stemcr.2020.09.006
3. Kathiriyai, Jaymin & Brumwell, Alexis & Jackson, Julia & Tang, Xiaodan & Chapman, Harold. Distinct Airway Epithelial Stem Cells Hide among Club Cells but Mobilize to Promote Alveolar Regeneration // Cell Stem Cell. 2020;26. doi:10.1016/j.stem.2019.12.014
4. Самсонова М.В., Михалева Л.М., Зайратьянц О.В. и др. Патология легких при COVID-19 в Москве // Архив патологии. 2020;82(4):32–40 [Samsonova M.V., Mikhalova L.M., Zairatyants O.V. et al. Lung pathology of COVID-19 in Moscow // Arkhiv patologii. 2020;82(4):32–40 (In Russ.)]. doi:10.17116/patol20208204132
5. Calabrese F, Pezzuto F, Fortarezza F et al. Pulmonary pathology and COVID-19: lessons from autopsy. The experience of European Pulmonary Pathologists // Virchows Archiv: an international journal of pathology. 2020;477(3):359–372. doi:10.1007/s00428-020-02886-6
6. Polak SB, Van Gool IC, Cohen D et al. A systematic review of pathological findings in COVID-19: a pathophysiological timeline and possible mechanisms of disease progression // Mod Pathol. 2020;33:2128–2138. doi:10.1038/s41379-020-0603-3
7. Цинзерлинг В.А., Вашукова М.А., Васильева М.В. и др. Вопросы патоморфогенеза новой коронавирусной инфекции (COVID-19) // Журнал инфектологии. 2020;12(2):5–11 [Zinserling V.A., Vashukova M.A., Vasilyeva M.V. et al. Issues of pathology of a new coronavirus infection CoVID-19 // Journal Infectologii. 2020;12(2):5–11 (In Russ.)]. doi:10.22625/2072-6732-2020-12-2-5-11
8. Xu Z, Shi L, Wang Y et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome [published correction appears in Lancet Respir Med. 2020 Feb 25] // Lancet Respir Med. 2020;8(4):420–422. doi:10.1016/S2213-2600(20)30076-X
9. Shuji Ogino, Teri J. Franks, Mona Yong, Michael N. Koss. Extensive squamous metaplasia with cytologic atypia in diffuse alveolar damage mimicking squamous cell carcinoma: A report of 2 cases // Human Pathology. 2002;33(10):1052–1054. doi:10.1053/hupa.2002.128246
10. Черняев А.Л., Самсонова М.В. Диффузное альвеолярное повреждение: этиология, патогенез и патологическая анатомия // Пульмонология. 2005;(4):65–69 [Chernyaev A.L., Samsonova M.V. Diffuse alveolar lesion: etiology, pathogenesis, pathology // Pulmonologiya. 2005;(4):65–69 (In Russ.)]. doi:10.18093/0869-0189-2005-0-4-65-69
11. Webster GA, Perkins ND. Transcriptional cross talk between NF-kappaB and p53 // Mol Cell Biol. 1999;19(5):3485–3495. doi:10.1128/MCB.19.5.3485
12. Uehara I, Tanaka N. Role of p53 in the Regulation of the Inflammatory Tumor Microenvironment and Tumor Suppression // Cancers (Basel). 2018;10(7):219. doi:10.3390/cancers10070219
13. Romagosa C, Simonetti S, López-Vicente L et al. p16Ink4a overexpression in cancer: a tumor suppressor gene associated with senescence and high-grade tumors // Oncogene. 2011;30:2087–2097. doi:10.1038/onc.2010.614

14. Yoh K, Prywes R. Pathway Regulation of p63, a Director of Epithelial Cell Fate // Front Endocrinol (Lausanne). 2015;6:51. doi:10.3389/fendo.2015.00051

Поступила в редакцию 17.03.2022 г.

*N.V. Boriskin<sup>1</sup>, A.M. Avdalyan<sup>1</sup>, M.A. Koryukov<sup>2</sup>,  
A.V. Shilov<sup>1</sup>, I.P. Oskorbin<sup>2</sup>, D.N. Protsenko<sup>1</sup>,  
M.L. Filipenko<sup>2</sup>*

**Immunohistochemical profile of cell cycle control, proliferation and differentiation proteins of the pulmonary atypical alveolar epithelium with COVID-19-induced diffuse alveolar damage as compared to pulmonary [lepidic-growth] adenocarcinoma**

<sup>1</sup> Moscow Multi-field Clinical Center «Kommunarka» of the Moscow City Health Department

<sup>2</sup> Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences

Aim. We aim to compare immunophenotypic characteristics of atypical epithelium (AE) with COVID-19-induced diffuse alveolar damage (DAD) and pulmonary lepidic-growth

adenocarcinoma, accounting for cell cycle control, proliferation and differentiation].

Methods. We examined pulmonary tissue specimens from twenty-four fatal cases of COVID-19-induced acute respiratory damage syndrome confirmed by autopsy (Group 1) and four cases of pulmonary lepidic-growth adenocarcinoma (Group 2). Perpendicular dimensions of 10 nuclei were measured on the H&E slides, means of their sums of products (SPNM) were calculated. We have used p53, Ki67, p16, p63 antibodies for immunohistochemical staining in each case. We evaluate colour intensity, rate of stained cells of AE and the product of these parameters. We evaluated separately Nuclear and cytoplasmic staining (couple) and only cytoplasmic staining (cyt) for p16 expression. We measured proliferative index only at KI-67 stained slides. U-test and Spearman rank correlation test were used for statistical analysis.

Results. Expression of p63 was higher in group 1 ( $p=0.001$ ), while p16 was more frequently expressed in group 2 ( $p=0.002$ ). We have found no statistically significant differences ( $p>0.1$ ) in the p53 and Ki67 expression. Group 1 showed There was negative correlation between the number of days from onset of symptoms and the following variables: Ki67 ( $r=-0.587$ ,  $p=0.003$ ); SPNM ( $r=-0.406$ ,  $p=0.049$ ).

Conclusion. The present study has shown heterogeneity in levels of cell cycle control expression, proliferation and differentiation of atypical epithelium in the pulmonary lepidic-growth adenocarcinoma and COVID-19-induced diffuse alveolar damage.

**Key words:** atypical epithelium, lung adenocarcinoma, lung cancer, COVID-19, diffuse alveolar damage, lung regeneration

**Сведения об авторах**

*Борискин Никита Владимирович*, врач-патологоанатом, ГБУЗ «Московский многопрофильный клинический центр «Коммунарка» ДЗМ», 108814, Россия, Москва, п. Сосенское п. Коммунарка, ул. Сосенский стан, 8, boriskin.nik@gmail.com

*Авдалян Ашот Меружанович*, д.м.н., заведующий патологоанатомическим отделением ГБУЗ «Московский многопрофильный клинический центр «Коммунарка» ДЗМ», 142770, ул. Сосенский Стан, 8, Коммунарка, Москва; проф. кафедры патологической анатомии МГМСУ им. А.И. Евдокимова, 127473, Москва, ул. Делегатская, 20, стр.1; ashot\_avdalyan@mail.ru

*Корюков Максим Александрович*, лаборант, лаборатория фармакогеномики ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8; студент, ФГБОУ ВПО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», 630090, Новосибирская область, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2; mkoryukov@gmail.com

*Шилов Александр Викторович*, врач-патологоанатом, ГБУЗ «Московский многопрофильный клинический центр «Коммунарка» ДЗМ», 108814, Россия, Москва, п. Сосенское п. Коммунарка, ул. Сосенский стан, 8, ТиНАО, ratomorpholog@mail.ru

*Оскорбин Игорь Петрович*, к.б.н., научный сотрудник лаборатории фармакогеномики ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8, osc.igor@gmail.com

*Проценко Денис Николаевич*, к.м.н., главный врач ГБУЗ города Москвы «Московский многопрофильный клинический центр «Коммунарка» Департамента здравоохранения города Москвы», 142770, ул. Сосенский Стан, 8, Коммунарка, Москва; заведующий кафедрой анестезиологии и реаниматологии ФГАОУ ВО "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова", Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1; mmcc@zdrav.mos.ru

*Филипенко Максим Леонидович*, к.б.н., заведующий лабораторией фармакогеномики ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8, mlfilipenko@gmail.com

*Boriskin Nikita Vladimirovich*, pathologist, Moscow Multidisciplinary Clinical Center "Kommunarka" MHD, 108814, Russia, Moscow, Sosensky stan st., 8, boriskin.nik@gmail.com

*Avdalyan Ashot Meruzhanovich*, Doc. Med. Sci, head of pathology department, Moscow Multidisciplinary Clinical Center “Kommunarka” MHD, 108814, Russia, Moscow, Sosensky stan, st. 8; professor of pathology department of The Moscow State University of Medicine and Dentistry, 127473, Russia, Moscow, Delegastkaya st., 20, b. 1; [ashot\\_avdalyan@mail.ru](mailto:ashot_avdalyan@mail.ru)

*Koryukov Maksim Aleksandrovich*, laboratory assistant, Laboratory of Pharmacogenomics, The Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 630090, Russia, Novosibirsk, Ak. Lavrentyeva st, 8; student, Novosibirsk State University, 630090, Russia, Novosibirsk, Pirogova st., 2; [mkoryukov@gmail.com](mailto:mkoryukov@gmail.com)

*Shilov Alexander Viktorovich*, pathologist, Moscow Multidisciplinary Clinical Center Kommunarka MHD, 108814, Russia, Moscow, Sosensky stan st., 8, [patomorpholog@mail.ru](mailto:patomorpholog@mail.ru)

*Oskorbin Igor' Petrovich*, Cand. Bio. Sci., researcher, Laboratory of Pharmacogenomics, The Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 630090, Russia, Novosibirsk, Ak. Lavrentyeva st, 8, [osc.igor@gmail.com](mailto:osc.igor@gmail.com)

*Protsenko Denis Nikolaevich*, Cand. Med. Sci., chief physician, Moscow Multidisciplinary Clinical Center “Kommunarka” MHD, 108814, Russia, Moscow, Sosensky stan st., 8; head of anesthesiology and reanimatology department, Pirogov Russian National Research Medical University, 117997, Russia, Moscow, Ostrovityanova st., 1; [mmcc@zdrav.mos.ru](mailto:mmcc@zdrav.mos.ru)

*Filipenko Maksim Leonidovich*, Cand. Bio. Sci., Head of the Group, Laboratory of Pharmacogenomics, The Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 630090, Russia, Novosibirsk, Ak. Lavrentyeva st, 8, [mlfilipenko@gmail.com](mailto:mlfilipenko@gmail.com)