



Прогностическое и дифференциально-диагностическое значение экспрессии цитокератинов 7 и 19 и тиреоидного фактора транскрипции-1 в нейроэндокринных опухолях легких разной степени злокачественности

Гуревич Л.Е.¹ • Корсакова Н.А.¹ • Воронкова И.А.² • Казанцева И.А.¹ • Ашевская В.Е.¹ • Титов А.Г.¹ • Когония Л.М.¹ • Мазурин В.С.¹ • Шабаров В.Л.¹

Гуревич Лариса Евсеевна – д-р биол. наук, профессор, вед. науч. сотр. патологоанатомического отделения¹
✉ 25284, г. Москва, ул. Беговая, 6/2–12, Российская Федерация.
Тел.: +7 (495) 631 74 22.
E-mail: larisgur@mail.ru

Корсакова Нина Анатольевна – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. патологоанатомического отделения¹

Воронкова Ия Александровна – канд. мед. наук, врач лаборатории фундаментальной патоморфологии²

Казанцева Ирина Александровна – д-р мед. наук, руководитель патологоанатомического отделения¹

Ашевская Валентина Евгеньевна – науч. сотр. патологоанатомического отделения¹

Титов Андрей Геннадиевич – канд. мед. наук, вед. науч. сотр. хирургического торакального отделения¹

Когония Лали Михайловна – д-р мед. наук, профессор кафедры онкологии и торакальной хирургии факультета усовершенствования врачей¹

Мазурин Валентин Сергеевич – д-р мед. наук, профессор, руководитель хирургического торакального отделения¹

Шабаров Виктор Леонидович – канд. мед. наук, врач хирургического торакального отделения¹

Актуальность. Нейроэндокринные опухоли легких (НЭОЛ) представляют собой целый спектр опухолей, различающихся по степени злокачественности и прогнозу. Несмотря на их распространенность – от 20 до 25% всех случаев рака данной локализации – многие аспекты, определяющие особенности клинического течения НЭОЛ и прогноз, еще недостаточно хорошо изучены. **Цель** – выявить морфологические и иммунофенотипические особенности разных типов НЭОЛ, которые бы более точно отражали их биологический потенциал и позволяли прогнозировать менее благоприятное клиническое течение. **Материал и методы.** Проводили иммуногистохимическое исследование диагностических биопсий и операционного материала от 152 пациентов с НЭОЛ в возрасте 53 ± 13 лет. Были диагностированы 49 типичных карцином, 32 атипичных карциноидов, 60 мелкоклочечных нейроэндокринных карцином/раков и 11 крупноклеточных нейроэндокринных карцином/раков, которые составили 32,2, 21,1, 39,5 и 7,2% соответственно. Использовали маркеры нейроэндокринной дифференцировки – синаптофизин, хромогранин А и CD56, а также цитокератины 7 и 19, тиреоидный фактор транскрипции-1 (TTF-1), Ki67. Результаты подвергли статистической обработке с использованием дисперсионного анализа (ANOVA), критерия χ^2 , апостериорных сравнений с поправкой Бонферрони. **Результаты.** Чаще всего экспрессия цитокератинов 7 и 19 встречалась в группе крупноклеточной нейроэндокринной карциномы – в 72,7 и 90,9% случаев соответственно, реже в группе атипичного карциноида (50 и 53,3%) и мелкоклочечной нейроэндокринной карциномы (41,7 и 64,6%), редко – типичного карциноида (5,9 и 15,9%). Частота экспрессии цитокератинов 7 и 19 была статистически значимо меньше в группе типичного карциноида по сравнению с атипичным карциноидом, мелкоклочечной и крупноклеточной

нейроэндокринными карциномами ($p < 0,05$, χ^2 , апостериорные сравнения). Экспрессия цитокератина 19 значимо чаще наблюдалась в крупноклеточных нейроэндокринных карциномах, чем в мелкоклочечных нейроэндокринных карциномах и атипичных карциноидах ($p < 0,05$, χ^2 , апостериорные сравнения). Экспрессия TTF-1 в клетках типичных карциноидов выявлялась очень редко – в 6,5% случаев, в атипичных карциноидах значительно чаще – в 61,5%, а в мелкоклочечных и крупноклеточных нейроэндокринных карциномах – в подавляющем большинстве случаев: 82,7 и 77,8% соответственно. Частота экспрессии TTF-1 в типичных карциноидах была значимо меньше, чем в атипичных карциноидах, мелкоклочечных и крупноклеточных нейроэндокринных карциномах ($p < 0,01$, χ^2 , апостериорные сравнения). Средний индекс пролиферации опухолевых клеток Ki67 был самым низким в группе типичного карциноида – 2,6%, в группе атипичного карциноида он достигал 12%, крупноклеточной нейроэндокринной карциномы – 44%, а максимальным оказался при мелкоклочечной нейроэндокринной карциноме – 61%. Имелись статистически значимые различия в величине среднего индекса Ki67 во всех 4 группах НЭОЛ ($p < 0,001$, ANOVA, апостериорные сравнения). **Заключение.** Экспрессия в нейроэндокринных опухолях легкого TTF-1, цитокератинов 7 и 19 характеризует менее дифференцированный клеточный иммунофенотип и позволяет выделить среди высокодифференцированных типичных и атипичных карциноидов группу риска с менее благоприятным клиническим течением.

Ключевые слова: нейроэндокринные опухоли легких, Grade, факторы прогноза, экспрессия цитокератинов 7, 19, TTF-1

doi: 10.18786/2072-0505-2016-44-5-613-623

¹ ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»; 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2, Российская Федерация

² ФБГУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России; 117036, г. Москва, ул. Дмитрия Ульянова, 11, Российская Федерация

Нейроэндокринные опухоли бронхолегочной локализации (НЭОЛ) составляют 20–25% от всех случаев рака легких и представляют целый спектр опухолей, различающихся по степени злокачественности и прогнозу. В соответствии с последней классификацией Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ, 2015) [1] НЭОЛ делят на 4 основные группы: высокодифференцированные опухоли – типичный и атипичный карциноиды – и низкодифференцированные опухоли – мелко-клеточная и крупноклеточная нейроэндокринная карцинома/рак [2]. Только около 5% НЭОЛ дают гиперфункциональные гормональные синдромы – карциноидный, акромегалии, синдром Кушинга, все остальные растут бессимптомно [3].

Высокодифференцированные НЭОЛ (типичные и атипичные карциноиды) в странах Европы и США долгое время встречались с частотой 0,2–2 случая на 100 тыс. населения в год, но в последние 30 лет их количество каждый год увеличивается на 6%, чему пока нет объяснения [3, 4]. Типичные карциноиды составляют до 2% опухолей легкого, относятся к опухолям низкой степени злокачественности и по своим морфологическим характеристикам аналогичны высокодифференцированным нейроэндокринным опухолям других локализаций. Они характеризуются медленным ростом, низкой пролиферативной активностью (до 2 митозов на 10 репрезентативных полей зрения при большом увеличении микроскопа ($\times 400$), индекс Ki67 до 5%) и отсутствием некрозов. Атипичные карциноиды составляют до 0,2% всех опухолей легких, обладают более выраженным по сравнению с типичными инвазивным потенциалом, повышенной пролиферативной активностью (митотический индекс 2–10 на 10 репрезентативных полей зрения, индекс Ki67 более 5%), в них могут встречаться единичные фокальные некрозы. После радикальной резекции карциноидов легких могут быть достигнуты хорошие отдаленные результаты. Однако, по разным данным, у 5–70% пациентов с типичными и атипичными карциноидами легких через годы и даже через десятилетия после операции выявляют метастазы, чаще всего в регионарные лимфатические узлы, реже в отдаленные органы – печень, кости, подкожную жировую клетчатку, молочную железу [5, 6]. Для типичного карциноида 5-летняя выживаемость составляет 88%, для атипичного – 50%, для крупноклеточной нейроэндокринной карциномы – от 15 до 57%, а для мелко-клеточной – уже только менее 5% [3, 7]. При типичном карциноиде метастазы в регионарные

лимфатические узлы выявляются в 10–15% наблюдений, еще в 3–5% возникают отдаленные метастазы, чаще всего в печень и кости. В случае атипичного карциноида метастазы в регионарные лимфатические узлы встречаются у 60%, а отдаленные метастазы – почти у 20% больных. При наличии метастазов 5-летняя выживаемость пациентов с карциноидами легкого заметно снижается – до 14–25%.

Чаще всего встречаются мелко-клеточные нейроэндокринные карциномы – на их долю приходится без малого 20% всех опухолей легкого. Это опухоль высокой степени злокачественности, характеризующаяся высокой пролиферативной активностью (с митотическим индексом и индексом Ki67 от 30 до 90–100%), наличием обширных очагов некроза, инвазией и ранним метастазированием. При мелко-клеточных нейроэндокринных карциномах большинство пациентов на момент выявления опухоли уже имеют множественные метастазы в регионарные лимфатические узлы, а у $\frac{2}{3}$ пациентов выявляются отдаленные метастазы в головной мозг, печень, надпочечники, кости. Крупноклеточный вариант встречается значительно реже – примерно в 1% случаев. Для этих двух типов опухолей не существует более радикального лечения, чем операция, если она возможна.

Низкодифференцированные опухоли – наименее изученная группа НЭОЛ. Важно отметить, что среди них встречаются смешанные опухоли, в которых сочетаются компоненты новообразований легкого с разным типом дифференцировки, такие как плоскоклеточный рак, аденокарцинома или саркома.

Несмотря на распространенность НЭОЛ, многие аспекты, определяющие особенности их клинического течения и прогноз, еще недостаточно хорошо изучены. Морфологическое разнообразие этих опухолей, их гетерогенность создают трудности при постановке правильного диагноза как на материале малых биопсий, так и на операционном материале. В последние годы в медицинской практике получили широкое распространение молекулярно-биологические методы исследования. Использование иммуногистохимического метода для определения иммунофенотипа опухолевых клеток значительно облегчает дифференциально-диагностический поиск, позволяет выявить патогенетические механизмы опухолевой прогрессии и молекулярные мишени для выбора современной и наиболее эффективной терапии.

Цель исследования – определить морфологические и иммунофенотипические особенности



Экспрессия цитокератинов 7, 19, TTF-1 и средний индекс Ki67 в нейроэндокринных опухолях легких разных типов (n = 152)

| Тип опухолей | Частота встречаемости маркера, абс. (%) | | | Ki67, %* |
|---|---|----------------|--------------|---------------|
| | цитокератин 7 | цитокератин 19 | TTF-1 | |
| Типичный карциноид (n = 49) | 2/32 (5,9) | 7/37 (16,3) | 2/29 (6,5) | 2,6 ± 1,26 |
| Атипичный карциноид (n = 32) | 12/24 (50) | 16/30 (53,3) | 16/26 (61,5) | 12,02 ± 6,68 |
| Мелкоклеточная нейроэндокринная карцинома (n = 60) | 20/48 (41,7) | 31/48 (64,6) | 43/52 (82,7) | 61,06 ± 12,83 |
| Крупноклеточная нейроэндокринная карцинома (n = 11) | 8/11 (72,7) | 10/11 (90,9) | 7/9 (77,8) | 44,18 ± 8,58 |

*Данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартного отклонения

Частота экспрессии цитокератинов 7, 19 и TTF-1 статистически значимо различается в группе типичного карциноида по сравнению с группами атипичного карциноида, мелкоклеточной и крупноклеточной нейроэндокринных карцином ($p < 0,05$, χ^2 , апостериорные сравнения)

Частота экспрессии цитокератина 19 статистически значимо различается в группе крупноклеточной нейроэндокринной карциномы по сравнению с группами мелкоклеточной нейроэндокринной карциномы и атипичного карциноида ($p < 0,05$, χ^2 , апостериорные сравнения)

По уровню индекса пролиферации Ki67 все группы попарно различаются ($p < 0,001$, множественные попарные сравнения с поправкой Бонферрони)

разных типов НЭОЛ, которые бы более точно отражали их биологический потенциал и позволяли прогнозировать менее благоприятное клиническое течение. Особенно важно выделить группы риска среди типичного и атипичного карциноидов, поскольку часть из этих опухолей без явных гистологических признаков злокачественности могут быстро прогрессировать и давать метастазы.

Материал и методы

Материалом исследования послужили диагностические биопсии и операционный материал от 152 пациентов с НЭОЛ в возрасте от 14 до 80 лет. После гистологического и иммуногистохимического исследования были диагностированы 49 (32,2%) типичных и 32 (21,1%) атипичных карциноида, 60 (39,5%) мелкоклеточных и 11 (7,2%) крупноклеточных нейроэндокринных карцином (рис. 1).

Материал фиксировали в 10% формалине, забуференном по Лилли при pH 7,4, заливали в парафин по обычной методике. Серийные срезы толщиной 5 мкм депарафинировали, окрашивали гематоксилином и эозином или проводили иммуногистохимическое исследование в соответствии со стандартным протоколом в автоматическом режиме с помощью Автостейнера в комплексе с РТ Модулем (Thermo Fisher 480, Thermo

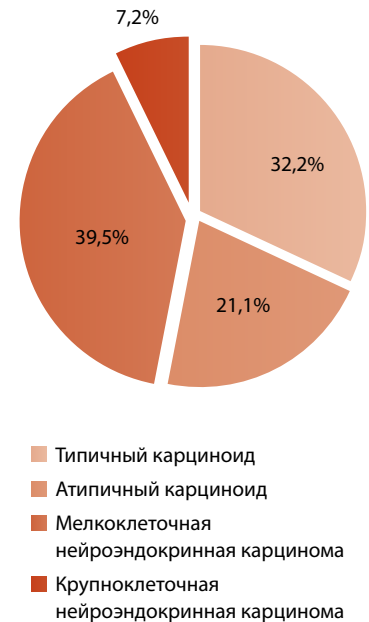


Рис. 1. Процентное соотношение между нейроэндокринными опухолями легких разных типов

Scientific). В качестве маркеров-антител использовали общие маркеры нейроэндокринной дифференцировки: синаптофизин (rabbit, клон MRQ-40, Cell Marque), хромогранин А (mouse, клон LK2H10, Cell Marque) и CD56 (mouse, клон 123C3. D5, Cell Marque), цитокератины 7 (mouse, клон OV-TL12/30, Cell Marque) и 19 (mouse, клон A53-B/A2.26, Cell Marque), тиреоидный фактор транскрипции-1 (TTF-1; клон T311, Cell Marque), Ki67 (клон MIB-1, DAKO). Цитоплазматическую экспрессию маркеров в клетках опухолей оценивали полуколичественным методом в соответствии с наличием или отсутствием окрашивания («+» или «0») и интенсивностью окрашивания «1–3+», а для ядерного маркера Ki67 – по стандартной методике как средний процент меченых ядер на 100 опухолевых клеток при учете 500–1000 клеток.

Использовали следующие методы статистического анализа результатов исследования. Для анализа количественных данных строили таблицы сопряженности. Рассчитывали абсолютные и относительные значения (% по столбцам). Анализ различий в группах проводили с помощью критерия хи-квадрат (χ^2) и сравнения пропорций столбцов с помощью z-критерия (с поправкой Бонферрони на множественные сравнения). В ходе анализа количественных данных рассчитывали средние арифметические

значения и стандартные отклонения. Сравнение данных в нескольких группах проводили с использованием дисперсионного анализа и множественных сравнений с поправкой Бонферрони. Статистически значимым считали уровень $p < 0,05$. Статистическая обработка данных проводилась в программе IBM SPSS Statistics v23.

Результаты

Дисперсионный анализ показал, что группы НЭОЛ значимо различаются по возрасту. Множественные попарные сравнения с поправкой Бонферрони продемонстрировали наличие различий по возрасту между группами типичного карциноида и мелкоклеточной нейроэндокринной карциномы – $47 \pm 14,8$ против $59,4 \pm 6,3$ года ($p < 0,001$), атипичного карциноида и мелкоклеточной нейроэндокринной карциномы – $51,5 \pm 16,4$ против $59,4 \pm 6,3$ ($p < 0,05$). Средний возраст больных крупноклеточной нейроэндокринной карциномой составил $56,8 \pm 8,7$ года. Последующие множественные сравнения с помощью z-критерия с поправкой Бонферрони показали: значимые различия наблюдаются между группами типичного карциноида и мелкоклеточной нейроэндокринной карциномы, типичного карциноида и крупноклеточной нейроэндокринной карциномы, атипичного карциноида и мелкоклеточной нейроэндокринной карциномы ($p < 0,05$).

В НЭОЛ экспрессия цитокератина 7 выявлялась в виде равномерного диффузного или очагового окрашивания цитоплазмы клеток. Как видно из таблицы, чаще всего экспрессия цитокератинов 7 и 19 встречалась в группе крупноклеточной нейроэндокринной карциномы – в 72,7 и 90,9% случаев соответственно, реже в группе атипичного карциноида – 50 и 53,3% и мелкоклеточной нейроэндокринной карциномы – 41,7 и 64,6%, редко – типичного карциноида – 5,9 и 15,9%. Частота экспрессии цитокератинов 7 и 19 была статистически значимо меньше в клетках типичного карциноида, чем атипичного, мелкоклеточной и крупноклеточной нейроэндокринных карцином ($p < 0,05$, χ^2 , апостериорные сравнения) (рис. 2 и 3, А, Б, Г, Д). Экспрессия цитокератина 19 статистически значимо чаще наблюдалась в группе крупноклеточной нейроэндокринной карциномы по сравнению с группами мелкоклеточной нейроэндокринной карциномы и атипичного карциноида ($p < 0,05$, χ^2 , апостериорные сравнения). Экспрессия ТТФ-1 в клетках типичного карциноида выявлялась очень редко – в 6,5% случаев, атипичного карциноида

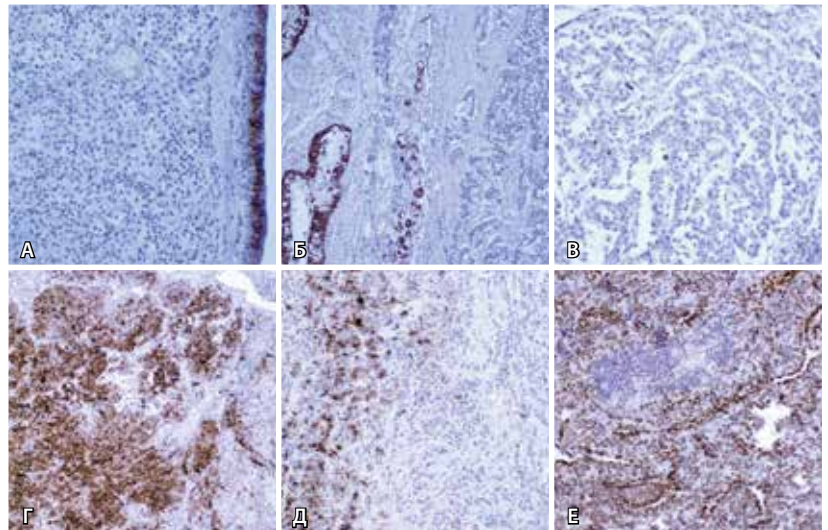


Рис. 2. Экспрессия цитокератинов 7, 19 и ТТФ-1 в высокодифференцированных типичных (А–В) и атипичных (Г–Е) карциноидах легкого по данным иммуногистохимического исследования: экспрессия цитокератина 7 отсутствует в клетках типичного карциноида и окружающей ткани легкого (А, $\times 250$) и неравномерно выражена в клетках атипичного карциноида (Г, $\times 125$); экспрессия цитокератина 19 отсутствует в клетках типичного карциноида, но наблюдается в эпителии окружающей ткани легкого (Б, $\times 250$), очаговая – в клетках атипичного карциноида (Д, $\times 125$); ядерная экспрессия ТТФ-1 – в единичных клетках типичного карциноида (В, $\times 250$) и в большинстве клеток атипичного карциноида (Е, $\times 400$)

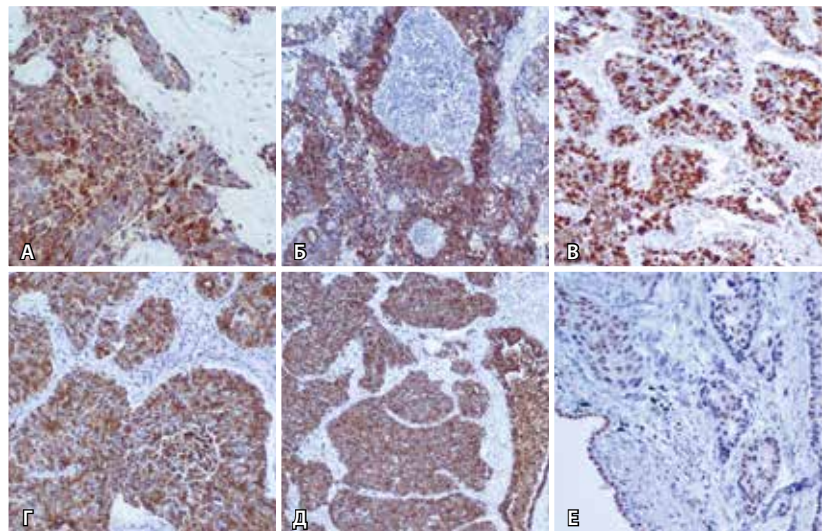


Рис. 3. Экспрессия цитокератинов 7, 19 и ТТФ-1 в низкодифференцированных мелкоклеточных (А–В) и крупноклеточных (Г–Е) карциномах легкого по данным иммуногистохимического исследования: экспрессия цитокератина 7 слабая и очаговая в мелкоклеточном раке (А, $\times 400$), интенсивная и неравномерно выраженная в крупноклеточном раке (Г, $\times 400$); экспрессия цитокератина 19 dot-like типа в мелкоклеточном раке (Б, $\times 250$), интенсивная в крупноклеточном раке (Д, $\times 250$); ядерная экспрессия ТТФ-1 в большинстве клеток мелкоклеточного (В, $\times 250$) и крупноклеточного (Е, $\times 250$) нейроэндокринных раков



значительно чаще – в 61,5%, а при мелкоклеточной и крупноклеточной нейроэндокринных карциномах – в подавляющем большинстве случаев: 82,7 и 77,8% опухолей соответственно (рис. 2 и 3, В, Е). Полученные данные свидетельствуют о том, что частота экспрессии TTF-1 в группе типичного карциноида была статистически значимо меньше, чем в группах атипичного карциноида, мелкоклеточной и крупноклеточной нейроэндокринных карцином ($p < 0,05$, χ^2 , апостериорные сравнения). Средний индекс пролиферации опухолевых клеток Ki67 был самым низким в группе типичного карциноида – $2,6 \pm 1,26\%$, а в клетках атипичного карциноида он достигал уже $12,02 \pm 6,68\%$ (см. таблицу). Максимальный средний индекс Ki67 отмечен в группе мелкоклеточной нейроэндокринной карциномы – $61,06 \pm 12,83\%$, в то время как в группе крупноклеточной нейроэндокринной карциномы он был значительно ниже – $44,18 \pm 8,58\%$. При этом имелись достоверные различия по величине среднего индекса Ki67 во всех 4 группах НЭОЛ ($p < 0,001$, множественные парные сравнения с поправкой Бонферрони).

На основании полученных результатов установлено, что среди типичных и атипичных карциноидов можно выделить группу опухолей с повышенным риском прогрессирования и метастазирования, для иммунофенотипа которых характерна экспрессия цитокератинов 7 и 19, а также TTF-1 – маркеров, чаще всего свойственных иммунофенотипу менее дифференцированных типов НЭОЛ – мелкоклеточной и крупноклеточной нейроэндокринных карцином.

Обсуждение

В условиях потенциальной таргетной терапии и персонализированной медицины задачей морфолога становится проведение дифференциальной диагностики между аденокарциномой, плоскоклеточным, мелкоклеточным раком и всеми другими типами опухолей легкого. В последние 30 лет в мире наблюдается снижение выживаемости пациентов с карциноидами легких. Возможно, это объясняется лучшей диагностикой атипичных карциноидов и более тщательным обследованием пациентов с этим типом опухолей [3]. Анализ данных крупных регистров по НЭОЛ показал: соотношение между типичным и атипичным карциноидами примерно соответствует 8–10:1 [4]. Однако многие авторы полагают, что эти результаты нельзя считать достоверными, поскольку многие регистры отличаются друг от друга по критериям кодирования разных типов рака легкого [8, 9].

По своим генетическим особенностям и гистогенетическому происхождению высокодифференцированные опухоли легких отличаются от низкодифференцированных. По злокачественному потенциалу и клиническим особенностям типичный и атипичный карциноиды легких во многом аналогичны высокодифференцированным нейроэндокринным опухолям желудочно-кишечного тракта G1 и G2, а мелкоклеточная и крупноклеточная нейроэндокринные карциномы легких аналогичны соответствующим опухолям желудочно-кишечного тракта G3. В течение последних лет активно обсуждалась возможность унифицировать терминологию для нейроэндокринных опухолей желудочно-кишечного тракта, легких и тимуса [3, 10, 11], но недавно принятая классификация НЭОЛ (ВОЗ, 2015) оставила терминологию без изменений.

Рецидивы типичного и атипичного карциноидов могут возникнуть через много лет после операции, поэтому только многолетние наблюдения за пациентами с этими опухолями позволяют установить истинные сроки их выживания [12–14]. По данным B.S. Wu и соавт. [15], 5-летняя выживаемость пациентов с типичным и атипичным карциноидами, мелкоклеточной и крупноклеточной нейроэндокринными карциномами составила 75,1, 51,7, 26,7 и 38,8% соответственно. При многофакторном анализе достоверными факторами прогноза у этих пациентов были возраст, стадия по системе TNM и проводившееся лечение, но не гистологический подтип опухоли.

Диагноз типичного карциноида основывается на четко определенных в классификации ВОЗ (2015) критериях, одним из которых является значение индекса Ki67 (до 5%). Однако клиническая практика показала: в 15% случаев эти опухоли быстро прогрессируют и дают метастазы, чаще всего в регионарные лимфатические узлы, с медианой времени до возникновения рецидива около 4 лет [16]. Стало очевидно, что для объяснения этого феномена потребуется более углубленное изучение биологического потенциала и иммунофенотипических характеристик таких быстро прогрессирующих типичных карциноидов.

Значению и особенностям экспрессии TTF-1 в опухолях различного гистогенеза посвящено большое количество работ, но имеющиеся данные о частоте экспрессии этого маркера в типичном и атипичном карциноидах легкого очень противоречивы. К тому же пока опубликовано слишком мало статей с анализом этих двух типов опухолей легкого на основе последней классификации ВОЗ (2015), где принципы их

градации изменились с учетом введения новых критериев: митотического и пролиферативного (Ki67) индексов. Напомним: TTF-1 представляет собой 38-кДа ядерный протеин, который является членом семейства генов *Nkx2* и играет роль транскрипционного фактора в процессе эмбриогенеза щитовидной железы и респираторного эпителия. У взрослых организмов TTF-1 в норме вовлечен в кальцийзависимый гомеостаз и выявляется в ядрах клеток тиреоидного эпителия, включая С-клетки, а также в эпителии легких – клетках альвеол, бронхов, базальных клетках, пневмоцитах 2-го порядка, в клетках опухолей легких и щитовидной железы [17, 18]. TTF-1 не экспрессирует клетки плоскоклеточных и крупноклеточных не-нейроэндокринных карцином легких, но его интенсивная экспрессия в сочетании с экспрессией поверхностно-активного белка А – сурфактанта А, В и С – характерна для аденокарцином легких. Дифференциальный диагноз первичных опухолей легкого проводят с помощью спектра специфических маркеров – спектра цитокератинов, напсина А, TTF-1, p63, p40 и некоторых других [19–22]. Экспрессия TTF-1 обычно коррелирует с фенотипом высокодифференцированных аденокарцином легкого, поэтому слабо выражена в низкодифференцированных вариантах этих опухолей [18]. Экспрессия цитокератинов, TTF-1, синаптофизина, хромогранина А и CD56 выявляется примерно в 100, 80, 60, 60, 90% операционных образцов мелкоклеточной нейроэндокринной карциномы и в 100, 50–60, 60, 60, 90% случаев крупноклеточной соответственно [23, 24]. Диагноз крупноклеточной нейроэндокринной карциномы легкого ставится на операционном материале и требует обязательного проведения иммуногистохимического исследования, поскольку иначе эти опухоли практически невозможно дифференцировать с крупноклеточным вариантом рака легкого [25]. В.І. Gustafsson и соавт. [3] показали, что экспрессия TTF-1 чаще наблюдается в периферических НЭОЛ, чем при центральной локализации опухолей. Данные о частоте экспрессии TTF-1 в разных типах НЭОЛ легких варьируют в очень широких пределах: маркер выявляется в 27,8–35% при типичном карциноиде, 29,4–100% при атипичном карциноиде, 85,5–96% при мелкоклеточной и 37,5–75% при крупноклеточной нейроэндокринной карциноме [18, 26–30]. Такой большой разброс данных, особенно в отношении атипичного карциноида и крупноклеточной нейроэндокринной карциномы, свидетельствует о существовании проблемы правильной диагностики этих двух типов НЭОЛ.

TTF-1-позитивными были 96% мелкоклеточной нейроэндокринной карциномы и 89% атипичного карциноида легкого [18]. Экспрессия TTF-1 в клетках мелкоклеточной нейроэндокринной карциномы, как полагают, является для этих опухолей фактором очень плохого прогноза [31]. Выявление TTF-1 в метастазах мелкоклеточной нейроэндокринной карциномы и других типов опухолей без известного первичного очага позволяет с большой вероятностью предполагать первичную локализацию опухоли в легких. Однако некоторые первичные мелкоклеточные нейроэндокринные карциномы и раки внелегочной локализации (простаты, мочевого пузыря, шейки матки, яичников) могут также быть TTF-1-позитивными, что в определенной степени снижает тканеспецифическую ценность этого маркера [26, 32, 33].

Известно, что для каждого типа эпителия характерен свой набор цитокератинов – структурных компонентов промежуточных филаментов, формирующих цитоскелет и обеспечивающих нормальную архитектуру тканей, а также определенные межклеточные и клеточно-матриксные взаимодействия (контакты). При мутациях генов, контролирующих синтез цитокератинов, нарушается гистоструктура тканей, что способствует запуску различных патологических процессов, в том числе неопластической трансформации.

Особенностям экспрессии цитокератинов 7 и 19 в НЭОЛ по сравнению с TTF-1 посвящены немногочисленные публикации [31, 34–37]. Экспрессия цитокератинов непосредственно связана с определением уровня дифференцировки клеток эпителия. В норме клетки простого железистого эпителия многих органов (желудка, протоков поджелудочной железы, вне- и внутрипеченочных протоков, яичников и некоторых других) экспрессируют цитокератины 7 и 19. В легких эти цитокератины экспрессируют клетки столбчатого мерцательного эпителия, базальные клетки бронхов и альвеолярной выстилки. Цитокератины 7 часто экспрессируют мелкоклеточные и крупноклеточные нейроэндокринные карциномы легкого [38]. Экспрессия цитокератинов 19 наблюдается в 94,7% случаев плоскоклеточного рака легкого, 92,1% аденокарциномы и 91,3% неклассифицируемых типов опухолей [34, 35]. Экспрессия цитокератинов 7 и 19 чаще встречается в крупноклеточной нейроэндокринной карциноме легкого, чем в мелкоклеточной [33, 36]. Существует мнение, что экспрессия цитокератинов 19 ассоциирована с нестабильным, мобильным и способным к передифференцировке фенотипом клеток эпителия.



Коэкспрессия цитокератинов 7 и TTF-1 отмечалась в 75% крупноклеточной нейроэндокринной карциномы, 88,9% аденокарциномы легкого, но отсутствовала в клетках плоскоклеточного рака [36]. Экспрессия в клетках опухоли цитокератинов может также помочь дифференцировать НЭОЛ от параганглиом легких [31].

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что определение экспрессии цитокератинов 7 и 19 позволяет более точно предсказать биологический потенциал и степень дифференцировки типичного и атипичного карциноидов. Так, в наиболее дифференцированных вариантах НЭОЛ, таких как типичный карциноид, экспрессия цитокератинов 7 и 19 наблюдается очень редко – в 5,9 и 15,9% случаев соответственно. В то же время экспрессия этих цитокератинов является важной характеристикой иммунофенотипа менее дифференцированных вариантов опухолей легкого – аденокарциномы, плоскоклеточного рака, а по нашим данным также в 41,7 и 64,6% случаев мелкоклеточной и 72,7 и 90,9% крупноклеточной нейроэндокринной карциномы соответственно. Особое внимание обращает на себя то, что почти в половине случаев атипичного карциноида мы наблюдали экспрессию цитокератинов 7 (50%) и 19 (53,3%), что значительно больше, чем при типичном карциноиде (5,9 и 15,9% случаев соответственно). Частота экспрессии цитокератинов 7 и 19 была достоверно меньше в клетках типичного карциноида, чем атипичного карциноида, мелкоклеточной и крупноклеточной нейроэндокринной карцином (p < 0,05).

Таким образом, можно сделать вывод, что типичный и атипичный карциноиды, для иммунофенотипа которых характерна экспрессия цитокератинов 7 и 19, являются менее дифференцированными вариантами этих опухолей, чем можно было предположить при гистологическом исследовании препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином. Это позволяет выделить такие опухоли в группу риска менее благоприятного клинического течения прогрессирования и появления метастазов.

Работы, имеющие своей целью создание новых систем градации НЭОЛ, свидетельствуют о целесообразности использования индекса Ki67, в том числе при исследовании маленьких биопсийных образцов. Однако ряду исследований присущ такой недостаток, как анализ слишком маленьких групп карциноидов легкого (типичного и атипичного) [39, 40]. В небольших диагностических биопсиях определение значения индекса мечения Ki67 (при условии строгой

стандартизации метода его определения, с помощью клонированного антитела М1В-1) дает возможность разделить высокодифференцированные и низкодифференцированные НЭОЛ, но не всегда позволяет четко дифференцировать типичный и атипичный карциноиды [3, 24]. Согласно F. Grimaldi и соавт. [41] и А.Е. Walts и соавт. [16], значение индекса Ki67 коррелирует с выживаемостью пациентов с типичным и атипичным карциноидами. Подсчет митотического индекса по наличию митотических фигур в условно выделенных участках (репрезентативные поля зрения при большом увеличении или в мм²) из-за большой гетерогенности опухолей, особенно при оценке их «клеточности» (то есть по относительному содержанию в них стромального и клеточного компонентов), также может приводить к ошибкам при диагностике между типичным и атипичным карциноидами, а также между атипичным карциноидом и крупноклеточной нейроэндокринной карциномой. По нашим данным, имеется статистически достоверная разница в значениях индекса Ki67 не только между высокодифференцированными нейроэндокринными опухолями (типичный и атипичный карциноиды) и нейроэндокринными карциномами (мелкоклеточный и крупноклеточный варианты), но между всеми этими четырьмя типами НЭОЛ.

Выводы и практические рекомендации

1. В подавляющем большинстве высокодифференцированных типичных карциноидов легкого отсутствует экспрессия TTF-1, цитокератинов 7 и 19. Наличие в опухоли экспрессии данных маркеров позволяет выделить эти новообразования в группу риска прогрессирования и отнести их к атипичным карциноидам легкого.
2. Для подавляющего большинства низкодифференцированных нейроэндокринных карцином (крупно- и мелкоклеточных) характерна экспрессия TTF-1, а также цитокератинов 7 и 19. Цитокератин 19 чаще выявляется в крупноклеточных нейроэндокринных карциномах, чем в мелкоклеточных, что свидетельствует о разном гистогенетическом происхождении этих двух типов опухолей легкого.
3. Высокодифференцированные атипичные карциноиды легкого по иммунофенотипу и злокачественному потенциалу являются группой опухолей, промежуточной между типичными карциноидами и низкодифференцированными нейроэндокринными карциномами (мелкоклеточный и крупноклеточный варианты): в них



чаще выявляется экспрессия TTF-1 и цитокератинов 7 и 19.

4. Чтобы избежать диагностических ошибок, следует обязательно проводить иммунофенотипирование всех НЭОЛ.
5. В алгоритм иммуногистохимического исследования НЭОЛ следует включать не только

общие нейроэндокринные маркеры и Ki67, но и цитокератины 7, 19 и TTF-1. Использование такой расширенной панели маркеров позволит поставить точный диагноз и определить Grade опухоли, а также выделить среди типичных и атипичных карциноидов группы риска с менее благоприятным клиническим течением. ☺

Литература

1. Travis WD, Brambilla E, Burke AP, Marx A, Nicholson AG, editors. WHO Classification of tumours of the lung, pleura, thymus and heart. 4th ed. Lyon: IARC; 2015. 412 p.
2. Тер-Ованесов МД, Полоцкий БЕ. Карциноидные опухоли торакальной локализации – современное состояние проблемы. Практическая онкология. 2005;6(4):220–6.
3. Gustafsson BI, Kidd M, Chan A, Malfertheiner MV, Modlin IM. Bronchopulmonary neuroendocrine tumors. *Cancer*. 2008;113(1):5–21. doi: 10.1002/cncr.23542.
4. Caplin ME, Baudin E, Ferolla P, Filosso P, Garcia-Yuste M, Lim E, Oberg K, Pelosi G, Perren A, Rossi RE, Travis WD. Pulmonary neuroendocrine (carcinoid) tumors: European Neuroendocrine Tumor Society expert consensus and recommendations for best practice for typical and atypical pulmonary carcinoids. *Ann Oncol*. 2015;26(8):1604–20. doi: 10.1093/annonc/mdv041.
5. Granberg D, Eriksson B, Wilander E, Grimfjard P, Fjallskog ML, Oberg K, Skogseid B. Experience in treatment of metastatic pulmonary carcinoid tumors. *Ann Oncol*. 2001;12(10):1383–91.
6. Okereke IC, Taber AM, Griffith RC, Ng TT. Outcomes after surgical resection of pulmonary carcinoid tumors. *J Cardiothorac Surg*. 2016;11:35. doi: 10.1186/s13019-016-0424-0.
7. Hamanaka W, Motoi N, Ishikawa S, Ushijima M, Inamura K, Hatano S, Uehara H, Okumura S, Nakagawa K, Nishio M, Horai T, Aburatani H, Matsuura M, Iwasaki A, Ishikawa Y. A subset of small cell lung cancer with low neuroendocrine expression and good prognosis: a comparison study of surgical and inoperable cases with biopsy. *Hum Pathol*. 2014;45(5):1045–56. doi: 10.1016/j.humpath.2014.01.001.
8. Travis WD, Giroux DJ, Chansky K, Crowley J, Asamura H, Brambilla E, Jett J, Kennedy C, Rami-Porta R, Rusch VW, Goldstraw P; International Staging Committee and Participating Institutions. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the inclusion of broncho-pulmonary carcinoid tumors in the forthcoming (seventh) edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2008;3(11):1213–23. doi: 10.1097/JTO.0b013e31818b06e3.
9. Phan AT, Oberg K, Choi J, Harrison LH Jr, Hassan MM, Strosberg JR, Krenning EP, Kocha W, Woltering EA, Maples WJ; North American Neuroendocrine Tumor Society (NANETS). NANETS consensus guideline for the diagnosis and management of neuroendocrine tumors: well-differentiated neuroendocrine tumors of the thorax (includes lung and thymus). *Pancreas*. 2010;39(6):784–98. doi: 10.1097/MPA.0b013e3181ec1380.
10. Rindi G, Klersy C, Inzani F, Fellegara G, Ampollini L, Ardizzone A, Campanini N, Carbognani P, De Pas TM, Galetta D, Granone PL, Righi L, Rusca M, Spaggiari L, Tiseo M, Viale G, Volante M, Papotti M, Pelosi G. Grading the neuroendocrine tumors of the lung: an evidence-based proposal. *Endocr Relat Cancer*. 2013;21(1):1–16. doi: 10.1530/ERC-13-0246.
11. Klimstra D, Modlin IR, Coppola D, Lloyd RV, Suster S. The pathologic classification of neuroendocrine tumors a review of nomenclature, grading, and staging systems. *Pancreas*. 2010;39(6):707–12. doi: 10.1097/MPA.0b013e3181ec124e.
12. Perez EA, Koniaris LG, Snell SE, Sumner WE 3rd, Lee DJ, Hodgson NC, Livingstone AS, Franceschi D. 7201 carcinoids: increasing incidence overall and disproportionate mortality in the elderly. *World J Surg*. 2007;31(5):1022–30. doi: 10.1007/s00268-005-0774-6.
13. Yao JC, Hassan M, Phan A, Dagohoy C, Leary C, Mares JE, Abdalla EK, Fleming JB, Vauthey JN, Rashid A, Evans DB. One hundred years after “carcinoid”: epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35,825 cases in the United States. *J Clin Oncol*. 2008;26(18):3063–72. doi: 10.1200/JCO.2007.15.4377.
14. Lou F, Sarkaria I, Pietanza C, Travis W, Roh MS, Sica G, Healy D, Rusch V, Huang J. Recurrence of pulmonary carcinoid tumors after resection: implications for postoperative surveillance. *Ann Thorac Surg*. 2013;96(4):1156–62. doi: 10.1016/j.athoracsurg.2013.05.047.
15. Wu BS, Hu Y, Sun J, Wang JL, Wang P, Dong WW, Tao HT, Gao WJ. Analysis on the characteristics and prognosis of pulmonary neuroendocrine tumors. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(5):2205–10.
16. Walts AE, Ines D, Marchevsky AM. Limited role of Ki-67 proliferative index in predicting overall short-term survival in patients with typical and atypical pulmonary carcinoid tumors. *Mod Pathol*. 2012;25(9):1258–64. doi: 10.1038/modpathol.2012.81.
17. Lau SK, Luthringer DJ, Eisen RN. Thyroid transcription factor-1: a review. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2002;10(2):97–102. doi: 10.1097/00022744-200206000-00001.
18. Nakamura N, Miyagi E, Murata S, Kawaoi A, Kato R. Expression of thyroid transcription factor-1 in normal and neoplastic lung tissues. *Mod Pathol*. 2002;15(10):1058–67. doi: 10.1097/01.MP.0000028572.44247.CF.
19. DeLellis RA, Shin SJ, Treaba OD. Chapter 10: Immunohistology of endocrine tumors. In: Dabbs DJ, editor. *Diagnostic immunohistochemistry: theranostic and genomic applications*. 3rd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2010. p.291–329. doi: http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-4160-5766-6.00014-5.
20. Jagirdar J. Application of immunohistochemistry to the diagnosis of primary and metastatic carcinoma to the lung. *Arch Pathol Lab Med*. 2008;132(3):384–96. doi: 10.1043/1543-2165(2008)132[384:AOITTD]2.0.CO;2.
21. Mukhopadhyay S, Katzenstein AL. Subclassification of non-small cell lung carcinomas lacking morphologic differentiation in biopsy specimens: Utility of an immunohistochemical panel containing TTF-1, napsin A, p63, and CK5/6. *Am J Surg Pathol*. 2011;35(1):15–25. doi: 10.1097/PAS.0b013e3182036d05.
22. Lin F, Liu H. Immunohistochemistry in undifferentiated neoplasm/tumor of uncertain origin. *Arch Pathol Lab Med*. 2014;138(12):1583–610. doi: 10.5858/arpa.2014-0061-RA.
23. Govindan R, Page N, Morgensztern D, Read W, Tierney R, Vlahiotis A, Spitznagel EL, Piccirillo J. Changing epidemiology of small cell lung cancer in the United States over the last 30 years: analysis of the surveillance, epidemiologic, and end results database. *J Clin Oncol*. 2006;24(28):4539–44. doi: 10.1200/JCO.2005.04.4859.
24. Pelosi G, Rindi G, Travis WD, Papotti M. Ki-67 antigen in lung neuroendocrine tumors: unravelling a role in clinical practice. *J Thorac Oncol*. 2014;9(3):273–84. doi: 10.1097/JTO.0000000000000092.
25. Ustaalioglu BB, Ulas A, Esbah O, Turan N, Biliçi A, Demirci U, Alkis N, Seker M, Oksuzoglu B, Gumus M, ASMO (Anatolian Society of Medical Oncology). Large cell neuroendocrine carcinoma: retrospective analysis of 24 cases from four oncology centers in Turkey. *Thorac*



- ic Cancer. 2013;4:161–6. doi: 10.1111/j.1759-7714.2012.00129.x.
26. Folpe AL, Gown AM, Lamps LW, Garcia R, Dail DH, Zarbo RJ, Schmidt RA. Thyroid transcription factor-1: immunohistochemical evaluation in pulmonary neuroendocrine tumors. *Mod Pathol*. 1999;12(1):5–8.
27. Sturm N, Rossi G, Lantuejoul S, Papotti M, Frachon S, Claraz C, Brichon PY, Brambilla C, Brambilla E. Expression of thyroid transcription factor-1 in the spectrum of neuroendocrine cell lung proliferations with special interest in carcinoids. *Hum Pathol*. 2002;33(2):175–82. doi: <http://dx.doi.org/10.1053/hupa.2002.31299>.
28. Fisseler-Eckhoff A, Demes M. Neuroendocrine tumors of the lung. *Cancers (Basel)*. 2012;4(3):777–98. doi: 10.3390/cancers4030777.
29. Rekhtman N. Neuroendocrine tumors of the lung: an update. *Arch Pathol Lab Med*. 2010;134(11):1628–38. doi: 10.1043/2009-0583-RAR.1.
30. Hiroshima K, Iyoda A, Shida T, Shibuya K, Iizasa T, Kishi H, Tanizawa T, Fujisawa T, Nakatani Y. Distinction of pulmonary large cell neuroendocrine carcinoma from small cell lung carcinoma: a morphological, immunohistochemical, and molecular analysis. *Mod Pathol*. 2006;19(10):1358–68. doi: 10.1038/modpathol.3800659.
31. Zhang H, Liu J, Cagle PT, Allen TC, Laga AC, Zander DS. Distinction of pulmonary small cell carcinoma from poorly differentiated squamous cell carcinoma: an immunohistochemical approach. *Mod Pathol*. 2005;18(1):111–8. doi: 10.1038/modpathol.3800251.
32. Agoff SN, Lamps LW, Philip AT, Amin MB, Schmidt RA, True LD, Folpe AL. Thyroid transcription factor-1 is expressed in extrapulmonary small cell carcinomas but not in other extrapulmonary neuroendocrine tumors. *Mod Pathol*. 2000;13(3):238–42. doi: 10.1038/modpathol.3880044.
33. Verset L, Arvanitakis M, Loi P, Closset J, Delhaye M, Rimmelink M, Demetter P. TTF-1 positive small cell cancers: Don't think they're always primary pulmonary! *World J Gastrointest Oncol*. 2011;3(10):144–7. doi: 10.4251/wjgo.v3.i10.144.
34. Nagashio R, Sato Y, Matsumoto T, Kageyama T, Satoh Y, Ryuge S, Masuda N, Jiang SX, Okayasu I. Significant high expression of cytokeratins 7, 8, 18, 19 in pulmonary large cell neuroendocrine carcinomas, compared to small cell lung carcinomas. *Pathol Intern*. 2010;60(2):71–7. doi: 10.1111/j.1440-1827.2009.02487.x.
35. Naseem N, Reyaz N, Nagi AH, Ashraf M, Sami W. Immunohistochemical expression of cytokeratin-19 in non-small cell lung carcinomas – an experience from a Tertiary Care Hospital in Lahore. *Intern J Pathol*. 2010;8(2):54–9.
36. Rossi G, Marchioni A, Milani M, Scotti RF, Foroni M, Cesinaro AM, Longo L, Migaldi M, Cavazza A. TTF-1, Cytokeratin 7, 34βE12, and CD56/NCAM immunostaining in the subclassification of large cell carcinomas of the lung. *Am J Clin Pathol*. 2004;122(6):884–93. doi: <http://dx.doi.org/10.1309/9W8D3XCVLRA3858A>.
37. Nitadori J, Ishii G, Tsuta K, Yokose T, Murata Y, Kodama T, Nagai K, Kato H, Ochiai A. Immunohistochemical differential diagnosis between large cell neuroendocrine carcinoma and small cell carcinoma by tissue microarray analysis with a large antibody panel. *Am J Clin Pathol*. 2006;125(5):682–692. doi: <http://dx.doi.org/10.1309/DT6BJ698LDX2NGGX>.
38. Aslam BM, Sahasrabudhe N. Cytokeratin (CK7 and CK20) switching in the natural history of pulmonary small cell carcinoma: an interesting but unpublished phenomenon. *J Clin Pathol*. 2011;64(4):367–8. doi: 10.1136/jcp.2010.083816.
39. Райхлин НТ, Букаева ИА, Смирнова ЕА, Пономарева МВ, Чекини АК, Павловская АИ, Шабанов МА. Проллиферативная активность, степень злокачественности и прогноз при карциноидных опухолях легких. *Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН*. 2012;23(4):17–24.
40. Чекини АК, Павловская АИ, Смирнова ЕА. Карциноидные опухоли легких и тимуса. Морфологические особенности. *Архив патологии*. 2012;74(2):40–1.
41. Grimaldi F, Muser D, Beltrami CA, Machin P, Morelli A, Pizzolitto S, Talmassons G, Marciello F, Colao AA, Monaco R, Monaco G, Faggiano A. Partitioning of bronchopulmonary carcinoids in two different prognostic categories by Ki-67 score. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2011;2:20. doi: 10.3389/fendo.2011.00020.

References

1. Travis WD, Brambilla E, Burke AP, Marx A, Nicholson AG, editors. *WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart*. 4th ed. Lyon: IARC; 2015. 412 p.
2. Ter-Ovanesov MD, Polotskiy BE. Kartsinoidnye opukholi torakal'noy lokalizatsii – sovremennoe sostoyaniye problemy [Carcinoid tumors of thoracic localization – state of the problem]. *Prakticheskaya onkologiya [Practical Oncology]*. 2005;6(4):220–6 (in Russian).
3. Gustafsson BI, Kidd M, Chan A, Malfertheiner MV, Modlin IM. Bronchopulmonary neuroendocrine tumors. *Cancer*. 2008;113(1):5–21. doi: 10.1002/cncr.23542.
4. Caplin ME, Baudin E, Ferolla P, Filosso P, Garcia-Yuste M, Lim E, Oberg K, Pelosi G, Perren A, Rossi RE, Travis WD. Pulmonary neuroendocrine (carcinoid) tumors: European Neuroendocrine Tumor Society expert consensus and recommendations for best practice for typical and atypical pulmonary carcinoids. *Ann Oncol*. 2015;26(8):1604–20. doi: 10.1093/annonc/mdv041.
5. Granberg D, Eriksson B, Wilander E, Grimfjard P, Fjallskog ML, Oberg K, Skogseid B. Experience in treatment of metastatic pulmonary carcinoid tumors. *Ann Oncol*. 2001;12(10):1383–91.
6. Okereke IC, Taber AM, Griffith RC, Ng TT. Outcomes after surgical resection of pulmonary carcinoid tumors. *J Cardiothorac Surg*. 2016;11:35. doi: 10.1186/s13019-016-0424-0.
7. Hamanaka W, Motoi N, Ishikawa S, Ushijima M, Inamura K, Hatano S, Uehara H, Okumura S, Nakagawa K, Nishio M, Horai T, Aburatani H, Matsuura M, Iwasaki A, Ishikawa Y. A subset of small cell lung cancer with low neuroendocrine expression and good prognosis: a comparison study of surgical and inoperable cases with biopsy. *Hum Pathol*. 2014;45(5):1045–56. doi: 10.1016/j.humpath.2014.01.001.
8. Travis WD, Giroux DJ, Chansky K, Crowley J, Asamura H, Brambilla E, Jett J, Kennedy C, Rami-Porta R, Rusch VW, Goldstraw P; International Staging Committee and Participating Institutions. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the inclusion of broncho-pulmonary carcinoid tumors in the forthcoming (seventh) edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2008;3(11):1213–23. doi: 10.1097/JTO.0b013e-31818b06e3.
9. Phan AT, Oberg K, Choi J, Harrison LH Jr, Hassan MM, Strosberg JR, Krenning EP, Kocha W, Woltering EA, Maples WJ; North American Neuroendocrine Tumor Society (NANETS). NANETS consensus guideline for the diagnosis and management of neuroendocrine tumors: well-differentiated neuroendocrine tumors of the thorax (includes lung and thymus). *Pancreas*. 2010;39(6):784–98. doi: 10.1097/MPA.0b013e3181ec1380.
10. Rindi G, Klersy C, Inzani F, Fellegara G, Ampollini L, Ardizzone A, Campanini N, Carbone P, De Pas TM, Galetta D, Granone PL, Righi L, Rusca M, Spaggiari L, Tiseo M, Viale G, Volante M, Papotti M, Pelosi G. Grading the neuroendocrine tumors of the lung: an evidence-based proposal. *Endocr Relat Cancer*. 2013;21(1):1–16. doi: 10.1530/ERC-13-0246.
11. Klimstra D, Modlin IR, Coppola D, Lloyd RV, Suster S. The pathologic classification of neuroendocrine tumors: a review of nomenclature, grading, and staging systems. *Pancreas*. 2010;39(6):707–12. doi: 10.1097/MPA.0b013e3181ec124e.



12. Perez EA, Koniari LG, Snell SE, Sumner WE 3rd, Lee DJ, Hodgson NC, Livingstone AS, Franceschi D. 7201 carcinoids: increasing incidence overall and disproportionate mortality in the elderly. *World J Surg.* 2007;31(5):1022–30. doi: 10.1007/s00268-005-0774-6.
13. Yao JC, Hassan M, Phan A, Dagohoy C, Leary C, Mares JE, Abdalla EK, Fleming JB, Vauthey JN, Rashid A, Evans DB. One hundred years after “carcinoid”: epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35,825 cases in the United States. *J Clin Oncol.* 2008;26(18):3063–72. doi: 10.1200/JCO.2007.15.4377.
14. Lou F, Sarkaria I, Pietanza C, Travis W, Roh MS, Sica G, Healy D, Rusch V, Huang J. Recurrence of pulmonary carcinoid tumors after resection: implications for postoperative surveillance. *Ann Thorac Surg.* 2013;96(4):1156–62. doi: 10.1016/j.athoracsur.2013.05.047.
15. Wu BS, Hu Y, Sun J, Wang JL, Wang P, Dong WW, Tao HT, Gao WJ. Analysis on the characteristics and prognosis of pulmonary neuroendocrine tumors. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(5):2205–10.
16. Walts AE, Ines D, Marchevsky AM. Limited role of Ki-67 proliferative index in predicting overall short-term survival in patients with typical and atypical pulmonary carcinoid tumors. *Mod Pathol.* 2012;25(9):1258–64. doi: 10.1038/modpathol.2012.81.
17. Lau SK, Luthringer DJ, Eisen RN. Thyroid transcription factor-1: a review. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2002;10(2):97–102. doi: 10.1097/00022744-200206000-00001.
18. Nakamura N, Miyagi E, Murata S, Kawaoi A, Katoh R. Expression of thyroid transcription factor-1 in normal and neoplastic lung tissues. *Mod Pathol.* 2002;15(10):1058–67. doi: 10.1097/01.MP.0000028572.44247.CF.
19. DeLellis RA, Shin SJ, Treaba OD. Chapter 10: Immunohistology of Endocrine Tumors. In: Dabbs DJ, editor. *Diagnostic Immunohistochemistry: Theranostic and Genomic Applications.* 3rd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2010. p. 291–329. doi: http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-4160-5766-6.00014-5.
20. Jagirdar J. Application of immunohistochemistry to the diagnosis of primary and metastatic carcinoma to the lung. *Arch Pathol Lab Med.* 2008;132(3):384–96. doi: 10.1043/1543-2165(2008)132[384:AOITTD]2.0.CO;2.
21. Mukhopadhyay S, Katzenstein AL. Subclassification of non-small cell lung carcinomas lacking morphologic differentiation on biopsy specimens: utility of an immunohistochemical panel containing TTF-1, napsin A, p63, and CK5/6. *Am J Surg Pathol.* 2011;35(1):15–25. doi: 10.1097/PAS.0b013e3182036d05.
22. Lin F, Liu H. Immunohistochemistry in undifferentiated neoplasm/tumor of uncertain origin. *Arch Pathol Lab Med.* 2014;138(12):1583–610. doi: 10.5858/arpa.2014-0061-RA.
23. Govindan R, Page N, Morgensztern D, Read W, Tierney R, Vlahiotis A, Spitznagel EL, Piccirillo J. Changing epidemiology of small cell lung cancer in the United States over the last 30 years: analysis of the surveillance, epidemiologic, and end results database. *J Clin Oncol.* 2006;24(28):4539–44. doi: 10.1200/JCO.2005.04.4859.
24. Pelosi G, Rindi G, Travis WD, Papotti M. Ki-67 antigen in lung neuroendocrine tumors: unravelling a role in clinical practice. *J Thorac Oncol.* 2014;9(3):273–84. doi: 10.1097/JTO.0000000000000092.
25. Ustaalioglu BB, Ulas A, Esbah O, Turan N, Bilici A, Demirci U, Alkis N, Seker M, Oksuzoglu B, Gumus M, ASMO (Anatolian Society of Medical Oncology). Large cell neuroendocrine carcinoma: retrospective analysis of 24 cases from four oncology centers in Turkey. *Thoracic Cancer.* 2013;4:161–6. doi: 10.1111/j.1759-7714.2012.00129.x.
26. Folpe AL, Gown AM, Lamps LW, Garcia R, Dail DH, Zarbo RJ, Schmidt RA. Thyroid transcription factor-1: immunohistochemical evaluation in pulmonary neuroendocrine tumors. *Mod Pathol.* 1999;12(1):5–8.
27. Sturm N, Rossi G, Lantuejoul S, Papotti M, Frachon S, Claraz C, Brichon PY, Brambilla C, Brambilla E. Expression of thyroid transcription factor-1 in the spectrum of neuroendocrine cell lung proliferations with special interest in carcinoids. *Hum Pathol.* 2002;33(2):175–82. doi: http://dx.doi.org/10.1053/hupa.2002.31299.
28. Fisseler-Eckhoff A, Demes M. Neuroendocrine tumors of the lung. *Cancers (Basel).* 2012;4(3):777–98. doi: 10.3390/cancers4030777.
29. Rekhman N. Neuroendocrine tumors of the lung: an update. *Arch Pathol Lab Med.* 2010;134(11):1628–38. doi: 10.1043/2009-0583-RAR.1.
30. Hiroshima K, Iyoda A, Shida T, Shibuya K, Iizasa T, Kishi H, Tanizawa T, Fujisawa T, Nakatani Y. Distinction of pulmonary large cell neuroendocrine carcinoma from small cell lung carcinoma: a morphological, immunohistochemical, and molecular analysis. *Mod Pathol.* 2006;19(10):1358–68. doi: 10.1038/modpathol.3800659.
31. Zhang H, Liu J, Cagle PT, Allen TC, Laga AC, Zander DS. Distinction of pulmonary small cell carcinoma from poorly differentiated squamous cell carcinoma: an immunohistochemical approach. *Mod Pathol.* 2005;18(1):111–8. doi: 10.1038/modpathol.3800251.
32. Agoff SN, Lamps LW, Philip AT, Amin MB, Schmidt RA, True LD, Folpe AL. Thyroid transcription factor-1 is expressed in extrapulmonary small cell carcinomas but not in other extrapulmonary neuroendocrine tumors. *Mod Pathol.* 2000;13(3):238–42. doi: 10.1038/modpathol.3880044.
33. Verset L, Arvanitakis M, Loi P, Closset J, Delhaye M, Rimmelinck M, Demetter P. TTF-1 positive small cell cancers: Don't think they're always primary pulmonary! *World J Gastrointest Oncol.* 2011;3(10):144–7. doi: 10.4251/wjgo.v3.i10.144.
34. Nagashio R, Sato Y, Matsumoto T, Kageyama T, Satoh Y, Ryuge S, Masuda N, Jiang SX, Okayasu I. Significant high expression of cytokeratins 7, 8, 18, 19 in pulmonary large cell neuroendocrine carcinomas, compared to small cell lung carcinomas. *Pathol Intern.* 2010;60(2):71–7. doi: 10.1111/j.1440-1827.2009.02487.x.
35. Naseem N, Reyaz N, Nagi AH, Ashraf M, Sami W. Immunohistochemical expression of cytokeratin-19 in non-small cell lung carcinomas – an experience from a Tertiary Care Hospital in Lahore. *Intern J Pathol.* 2010;8(2):54–9.
36. Rossi G, Marchioni A, Milani M, Scotti RF, Foroni M, Cesinaro AM, Longo L, Migaldi M, Cavazza A. TTF-1, cytokeratin 7, 34βE12, and CD56/NCAM immunostaining in the subclassification of large cell carcinomas of the lung. *Am J Clin Pathol.* 2004;122(6):884–93. doi: http://dx.doi.org/10.1309/9W8D3XCVLRA3858A.
37. Nitadori J, Ishii G, Tsuta K, Yokose T, Murata Y, Kodama T, Nagai K, Kato H, Ochiai A. Immunohistochemical differential diagnosis between large cell neuroendocrine carcinoma and small cell carcinoma by tissue microarray analysis with a large antibody panel. *Am J Clin Pathol.* 2006;125(5):682–692. doi: http://dx.doi.org/10.1309/DT6BJ698LDX2NGGX.
38. Aslam BM, Sahasrabudhe N. Cytokeratin (CK7 and CK20) switching in the natural history of pulmonary small cell carcinoma: an interesting but unpublished phenomenon. *J Clin Pathol.* 2011;64(4):367–8. doi: 10.1136/jcp.2010.083816.
39. Raykhlin NT, Bukaeva IA, Smirnova EA, Ponomareva MV, Chekini AK, Pavlovskaya AI, Shabanov MA. Proliferativnaya aktivnost', stepen' zlokachestvennosti i prognoz pri kartsinoidnykh opukholyakh legkikh [Pulmonary carcoid: proliferative activity, grade and prognosis]. *Vestnik RONTs im. N.N. Blokhina RAMN [Journal NN Blokhin Russian Cancer Research center].* 2012;23(4):17–24 (in Russian).
40. Chekini AK, Pavlovskaya AI, Smirnova EA. Kartsinoidnye opukholi legkikh i timusa. Morfologicheskie osobennosti [Morphological features of pulmonary and thymic carcinoid tumor]. *Arkhiv patologii [Archive of Pathology].* 2012;74(2):40–1 (in Russian).
41. Grimaldi F, Muser D, Beltrami CA, Machin P, Morelli A, Pizzolitto S, Talmassons G, Marciello F, Colao AA, Monaco R, Monaco G, Faggiano A. Partitioning of bronchopulmonary carcinoids in two different prognostic categories by Ki-67 score. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2011;2:20. doi: 10.3389/fendo.2011.00020.



The prognostic and differential diagnostic value of cytokeratin 7 and 19, and thyroid transcription factor-1 expression in lung neuroendocrine tumors of various grades

Gurevich L.E.¹ • Korsakova N.A.¹ • Voronkova I.A.² • Kazantseva I.A.¹ • Ashevskaya V.E.¹ • Titov A.G.¹ • Kogoniya L.M.¹ • Mazurin V.S.¹ • Shabarov V.L.¹

Background: Neuroendocrine tumors of the lung (NETL) are a wide range of tumors with various malignancy grades and prognosis. Despite their prevalence being 20 to 25% of all lung cancers, many aspects that impact their clinical course and prognosis are not well understood. Aim – to identify morphological and immunophenotypic characteristics of various NETL types would that more accurately reflect their biological potential and allow for prediction of their unfavorable clinical outcomes. **Materials and methods:** We performed immunohistochemical assessment of the diagnostic biopsies and surgical specimens from 152 patients with NETL aged 53 ± 13 years and identified 49 typical carcinoids, 32 atypical carcinoids, 60 small cell neuroendocrine carcinomas and 11 large cell neuroendocrine carcinomas, which accounted for 32.2, 21.1, 39.5 and 7.2%, respectively. Markers of neuroendocrine differentiation, such as synaptophysin, chromogranin A and CD56, as well as cytokeratins 7 and 19, thyroid transcription factor-1 (TTF-1), and Ki67 were used. The results were analyzed with analysis of variance (ANOVA), chi-square test (χ^2), and post-hoc comparisons with the Bonferroni correction. **Results:** Most often, the expression of cytokeratins 7 and 19 was found in large cell neuroendocrine carcinoma (72.7 and 90.9%, respectively), less frequently, in atypical carcinoids and small cell neuroendocrine carcinomas (50 and 53.3%; 41.7 and 64.6% of cases, respectively), whereas in typical carcinoids it was rare (5.9 and 15.9%, respectively). The rates of cytokeratin 7 and 19 expression were significantly lower in the typical carcinoids, compared

to the atypical carcinoids, small cell neuroendocrine carcinomas and large cell neuroendocrine carcinomas ($p < 0.05$, χ^2). The expression of cytokeratin 19 was significantly more common for large cell neuroendocrine carcinomas, than for small cell neuroendocrine carcinomas and atypical carcinoids ($p < 0.01$, χ^2). The expression of TTF-1 was very rare in the typical carcinoid cells (6.5% of cases) and significantly more often in atypical carcinoids (61.5%) and in small cell neuroendocrine carcinomas and large cell neuroendocrine carcinomas (82.7 and 77.8% of cases, respectively). TTF-1 expression was significantly less frequent in typical than in atypical carcinoids, small cell neuroendocrine carcinomas and large cell neuroendocrine carcinomas ($p < 0.01$, χ^2). The mean index of tumor cell proliferation (Ki67) was the lowest in typical carcinoids (2.6%), amounted to 12% in atypical carcinoids, to 44% in large cell neuroendocrine carcinomas and reached the maximum of 61% in small cell neuroendocrine carcinomas. There were significant differences in the mean Ki67 index in the NETL 4 groups ($p < 0.001$, ANOVA). **Conclusion:** Expression of TTF-1, cytokeratin 7 and 19 in the neuroendocrine tumors of the lung is characteristic for a less differentiated cell immunophenotype and allows for identification of the risk group with unfavorable clinical outcome among low-grade typical and atypical carcinoids.

Key words: neuroendocrine tumors of the lung, Grade, prognostic factors, cytokeratin 7 expression, cytokeratin 19 expression, TTF-1

doi: 10.18786/2072-0505-2016-44-5-613-623

Gurevich Larisa E. – ScD in Biology, Professor, Leading Research Fellow, Department of Pathological Anatomy¹

✉ 6/2–12 Begovaya ul., Moscow, 125284, Russian Federation. Tel.: +7 (495) 631 74 22. E-mail: larisgur@mail.ru

Korsakova Nina A. – MD, PhD, Senior Research Fellow, Department of Pathological Anatomy¹

Voronkova Iya A. – MD, PhD, Physician, Laboratory of Pathomorphology²

Kazantseva Irina A. – MD, PhD, Head of Department of Pathological Anatomy¹

Ashevskaya Valentina E. – MD, Research Fellow, Department of Pathological Anatomy¹

Titov Andrey G. – MD, PhD, Leading Research Fellow, Department of Thoracic Surgery¹

Kogoniya Lali M. – MD, PhD, Professor of Chair of Oncology and Thoracic Surgery, Postgraduate Training Faculty¹

Mazurin Valentin S. – MD, PhD, Professor, Head of Department of Thoracic Surgery¹

Shabarov Viktor L. – MD, PhD, Physician, Department of Thoracic Surgery¹

¹ Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI); 61/2 Shchepkina ul., Moscow, 129110, Russian Federation

² Endocrinology Research Center; 11 Dmitriya Ul'yanova ul., Moscow, 117036, Russian Federation