

**І.В. Ліскіна
Л.М. Загаба**

ДУ «Національний інститут фізіатрії і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського НАМН України», Київ, Україна.

Надійшла: 24.01.2023

Прийнята: 15.01.2023

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.1.29-41>

УДК: 616.24-006.04-091.8

МОЖЛИВОСТІ ІМУНОГІСТОХІМІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ В ПРАКТИЧНІЙ ДІАГНОСТИЦІ ОДИНОЧНИХ ЗЛОЯКІСНИХ ВОГНИЩЕВИХ УРАЖЕНЬ ЛЕГЕНЬ

Liskina I.V. , Zagaba L.M.  ✉ Capabilities of immunohistochemistry in the diagnostics of malignant solitary pulmonary nodules in practice.

SO «National institute of phthisiology and pulmonology named after F. G. Yanovsky NAMS of Ukraine», Kyiv, Ukraine.

ABSTRACT. Background. At present morphological diagnostics with immunohistochemistry (IHC) examination offers to objectively establish the histological type of malignant solitary pulmonary nodules (SPN). **The aim** is to present our own experience and evaluate the possibilities of immunohistochemistry in diagnostics of solitary malignant focal lung lesions in clinical practice. **Methods.** A retrospective cohort study was conducted, which included 56 cases of primary malignant SPNs that were surgically removed. Conventional histological examination was performed in all cases followed by IHC study according to a standard protocol. The antigen reaction was assessed as diffuse ($\geq 60\%$ of stained tumors cells), focal (10–59 % of stained tumors cells) and negative (less than 10 % of stained tumors cells). **Results.** Lung adenocarcinomas of various histological subtypes were diagnosed by conventional morphological examination in 34 (60,7 %) cases. Squamous cell carcinoma, large cell carcinoma and neuroendocrine tumour were diagnosed (6 cases, 10,7 %, respectively) less frequently. In 3 (5,4 %) cases salivary gland-type lung tumors were diagnosed, and in 1 (1,8 %) case, the need for differential diagnosis of a precancerous process and a true tumor arose. The IHC study made it possible to identify lung adenocarcinomas of various histological structure in 36 cases. A positive reaction with TTF-1, Napsin A and CK7 was detected in all cases of their use. In 2 cases mucinous adenocarcinoma (positive reaction with CK20) and in 2 cases fetal adenocarcinoma (positive reaction with Synaptophysin and/or Chromogranin A) were confirmed. In the case of squamous cell lung carcinoma, diffuse expression of p40 and/or p63 was observed, with diffuse and focal expression of CK5/6 in all cases of their use. In adenosquamous carcinoma, diffuse and focal positive reaction with CK7, TTF-1, Napsin A, p63 and CK5/6 was detected. In the case of large cell carcinoma, a diffuse positive reaction with CK7, CK8 and TTF-1 was observed, with a negative reaction with Napsin A, CK5/6, p40, p63, Synaptophysin and CD56. In cases of previously diagnosed lung carcinoids, staining with Synaptophysin and CD56 showed a diffuse positive reaction, with a focal reaction with Chromogranin A, TTF-1, CK7, CK8 and CK18 in all cases of their use. The proliferation index (Ki-67) was in the range of 5–20 %. In the case of large cell neuroendocrine carcinoma, a diffuse positive reaction was observed with Synaptophysin, TTF-1 and CD56 when use, and in one case with Chromogranin A and CK7. The proliferation index (Ki-67) was 40–80 %. In cases of salivary gland-type lung tumors, the panel of IHC markers was selected individually, and included a relatively large number of antibodies. Comparison of conventional histological examination and the results of the IHC study confirmed the previously determined histological type/subtype of lung tumor in 47 (83,9 %) cases. In 9 (16,1 %) cases, the determined immunoprofile led to a change in the histological type of lung tumor, which is crucial important for the further medical management of such patients. **Conclusion.** Today morphological diagnostics using immunohistochemistry has leading value for the most accurate determination of the histological type and clarification of malignancy degree of malignant solitary pulmonary nodules. The marker panels that are appropriate for use in IHC study in cases of the most common primary lung tumors have been proposed.


Key words: solitary malignant pulmonary nodule, diagnostics, immunohistochemistry.

Citation:

Liskina IV, Zagaba LM. [Capabilities of immunohistochemistry in the diagnostics of malignant solitary pulmonary nodules in practice]. Morphologia. 2023;17(1):29-41. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2023.1.29-41>

 Liskina I.V. 0000-0001-8879-2345

 Zagaba L.M. 0000-0002-2593-8893

✉ morphol@ifp.kiev.ua

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Солітарні вогнищеві легеневі утвори або утворення (СЛУ) є досить розповсюдженою клінічною проблемою, оскільки вони можуть виникати не тільки при багатьох захворюваннях легень, але й при системній патології, інфекційних хворобах. Загальноприйняте наступне визначення СЛУ – це утворення не більше за 3 см, відносно округлої форми, з досить чіткими межами, та яке не поєднане з ателектазом, лімфаденопатією межистіння та плевральним випотом [1, 2].

Ймовірні причини розвитку легневих вузлів охоплюють багато як доброякісних, так і злоякісних процесів. Принциповим та першочерговим завданням при виявленні СЛУ є диференціальна діагностика саме його доброякісного або злоякісного характеру. Злоякісні утвори можуть мати первинну або вторинну природу, тобто бути одиночними метастазами пухлин позалегенової локалізації. Точна ідентифікація та характеристика злоякісних вузлів з визначенням їх гістологічного типу, розробка чіткого та адекватного алгоритму медичного ведення таких пацієнтів дозволяє досягнути успішного лікування ранньої стадії раку легень, оскільки великі розміри пухлини та пізня стадія хвороби пов'язані з вкрай несприятливим прогнозом життя [1].

Відомо, що серед різних органів і систем організму за частотою метастатичного ураження у разі злоякісних новоутворень різної позалегенової локалізації легені займають одне з перших місць. Причому далеко не завжди за даними анамнезу хвороби діагностовано первинну пухлину [3], першим проявом просунутого пухлинного процесу можуть бути саме виявлені вузли в легнях.

За даними літератури [2, 4], хірургічна резекція СЛУ залишається «золотим стандартом» як діагностичних, так і лікувальних заходів, зокрема, у випадках клініко-рентгенологічних ознак високого ризику злоякісності вузла. Дискусійним питанням залишається тип хірургічного лікування таких пацієнтів, оскільки первинні пухлини легень з характеристиками СЛУ вважаються початковою виліковною стадією розвитку злоякісного процесу. В джерелах літератури наводяться різні погляди щодо проведення лобектомії або резекції легені, але, як правило, перевага віддається лобектомії. За даними низки сучасних досліджень з'ясовано, що виживаність при резекціях легень зазвичай нижча, ніж при лобектомії [5–7].

Враховуючи сучасний медичний менеджмент раку легень, принципове значення має морфологічна характеристика пухлини за традиційним дослідженням з гематоксиліном і еозинном. Наступним кроком об'єктивізації гістологічного типу та/або підтипу пухлини вважається імуногістохімічне (ІГХ) дослідження.

Імуногістохімія – це метод виявлення наяв-

ності та локалізації антигенів (білків) у певних тканинних компонентах, клітинах різного типу та клітинних структурах [8]. В останні роки ІГХ метод набув широкого впровадження в медичній практиці та перестав бути методом суто наукових досліджень. ІГХ дослідження наразі широко застосовують не тільки в діагностиці доброякісних та злоякісних новоутворень легень [9, 10], але й при різних неопластичних процесах. У випадках пухлинного процесу ІГХ метод дозволяє визначати гістогенез, ступінь злоякісності та проліферативної активності пухлинних клітин, прогнозувати подальший розвиток захворювання та слугує основою для вибору подальшого молекулярного-генетичного дослідження за потреби, та найбільш раціональних та ефективних методів лікування.

Наразі існує та постійно збільшується кількість комерційних антитіл (маркерів), які застосовують при ІГХ дослідженні. В умовах клінічної практики слід враховувати, що ІГХ дослідження дотепер залишається досить дорогим, технологічно складним у виконанні (багатокроковий метод) та потребує досить тривалого часу. Тому при підборі панелі маркерів в кожному випадку пухлинного процесу важливо мінімізувати їх кількість, спираючись на результати традиційного гістологічного дослідження.

Принципове значення має аналітичний етап ІГХ дослідження, а саме – інтерпретація отриманих результатів експресії окремих антигенів в пухлинних клітинах. Розповсюджена наступна загальна оцінка експресії антигену – дифузної, фокальної (вогнищева) та негативна. Також нерідко застосовують інший підхід оцінювання реакції, а саме метод напівкількісного аналізу з підрахуванням відношення позитивно забарвлених клітин пухлини до загальної кількості пухлинних клітин, що визначається у відсотках. Виділяють 4 градації за величиною відсотку: 0, < 1 %; 1+, 1 – 33 %; 2+, 34 – 66 %; 3+, > 66 % за аналізом зображень у декількох полях зору мікроскопу. Додатково враховують інтенсивність забарвлення клітин: негативне, слабе, помірне та інтенсивне [11–13].

Нагепер у практичній діяльності оптимальним вважається застосування 1–4 маркерів для уточнення або встановлення гістологічного типу пухлини легені [14]. Правильно підібрана панель ІГХ маркерів в подальшому може зберегти кошти щодо проведення додаткових, більш дорогих діагностичних процедур, значно звужує набір відомих генних мутацій різних підтипів пухлин легень, що пов'язано з подальшим вибором таргетної терапії.

В практичній медицині ІГХ дослідження вимагає глибокого розуміння сутності даного методу, його переваг та обмежень, навичок та виваженого вибору найбільш адекватної панелі маркерів з метою уникнення хибних висновків за

результатами дослідження.

В процесі діагностики злоякісних утворів, у тому числі і пухлин легень, зростає значущість молекулярно-генетичних досліджень та FISH-методу. Не дивлячись на те, що ці методи дослідження є дорогі та трудомісткими [15], їх принципове значення полягає у можливості адекватного вибору таргетної терапії в кожному випадку пухлинного враження.

Сучасна класифікація пухлин легень базується на результатах традиційного морфологічного дослідження з подальшим підтвердженням типу/підтипу пухлини при необхідності за додатковим ІГХ дослідженням та з урахуванням генно-молекулярних порушень. Згідно до останнього перегляду ВООЗ класифікації пухлин легень (2021 р.) [16] новоутворення поділяють на пухлини епітеліального типу, нейроендокринні пухлини, пухлини з ектопічних тканин, мезенхімальні пухлини, специфічні для легень, пухлини типу слинних залоз та пухлини гематолімфатичної системи.

З практичного досвіду відомо, що найбільшу групу злоякісних пухлин легень складають пухлини епітеліального типу, серед них переважають аденокарциноми різних гістологічних підтипів, плоскоклітинна та крупноклітинна карциноми. За даними різних авторів частота різних підтипів аденокарциноми легень складає біля 40–50 % випадків пухлин легень, плоскоклітинної карциноми – 25–30 % та великоклітинної карциноми – 5–10 % випадків [14, 17, 18].

Мета – представити власний досвід та оцінити можливість імуногістохімічної діагностики солітарних злоякісних вогнищевих уражень легень в умовах клінічної практики.

Матеріали та методи

Проведено ретроспективне когортне дослідження, до якого увійшли 56 пацієнтів зі злоякісними СЛУ, які отримали лікування в стаціонарі клініки ДУ «Національний інститут фізіотрії і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського НАМН України» впродовж 2017–2021 рр. Серед них було 39 (69,6 %) жінок та 17 (30,4 %) чоловіків. Середній вік жінок склав $54,8 \pm 9,7$ р. (діапазон 29–69 років), чоловіків – $59,0 \pm 13,2$ р. (діапазон 16–76 років).

В усіх випадках на час госпіталізації пацієнтам було проведено рентгенологічне дослідження та/або комп'ютерна томографія органів грудної порожнини. В 47 (84,0 %) випадках за рентгенологічними даними не було визначено природу утвору, попередній клінічний діагноз був – «новоутворення легень невідомої етіології». В 5 (8,9 %) випадках була запідозрена злоякісна пухлина легень за характеристиками утворення на томограмах, ще у 4 (7,1 %) випадках діагностовано інші патологічні процеси (ателектаз легень, постзапальний фіброз, ретенційна кіста, вогнищева пневмонія). У кожного з пацієнтів було

виявлено 1–2 вогнищевих утвори в легенях, причому максимальні розміри кожного вузла не перевищували 3 см. У групу дослідження були включені лише пацієнти із первинними пухлинами легень. Пацієнти з одиночними метастазами в легені були виключені з дослідження.

В усіх випадках було здійснено хірургічне видалення злоякісних вогнищевих легеневи утворів. В 31 (55,4 %) випадку виконано лобектомію, в 22 (39,3 %) випадках – атипичну або сегментарну резекцію легень, в 2-х (3,6 %) випадках – здійснена енуклеація утвору та в 1-му (1,7 %) випадку – пульмонектомія. У випадку пульмонектомії інтраопераційно було встановлено, що утвір, основний об'єм якого був розташований у верхній частці лівої легені, вросав у нижню частку. В ході операції консиліумом хірургів прийнято рішення про недоцільність виконання комбінованої резекції легень через ризик виникнення важких післяопераційних ускладнень.

При надходженні операційного матеріалу в патогістологічну лабораторію проводили традиційну вирізку матеріалу – вирізали шматочки тканини з пухлинним ростом на межі з візуально незміненою легеневою тканиною та в центральних ділянках пухлини, орієнтовними середніми розмірами $1,0 \times 1,0 \times 0,4$ см. Шматочки фіксували у 10,0 % розчині забуференого (нейтрального) формаліну впродовж 24–48 годин, потім піддавали стандартній проводці у висхідних розчинах спиртів, остаточно зневоднювали у хлороформі та заливали в парафінові блоки. З парафінових блоків виготовляли серійні зрізи тканини товщиною 4–5 мкм. Традиційне морфологічне дослідження проводили із застосуванням рутинного забарвлення зразків гематоксиліном та еозином [19]. Мікроскопічне дослідження здійснювали на мікроскопі Olympus BX41, робочі збільшення $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$. Імуногістохімічне дослідження проводили згідно до стандартного протоколу, який рекомендується країною-виробником антитіл. Для ідентифікації реакцій використовували високочутливу систему візуалізації DAB Quanto, з нанесенням в якості хромогену 3-діамінобензидин тетрагідрохлорид (Thermo Scientific, США). В роботі використані моноклональні антитіла виробництва Master Diagnostica (Іспанія) та Thermo Scientific (США).

Були застосовані наступні маркери (табл. 1).

В гістологічній діагностиці первинних злоякісних вузлів легень керувалися класифікацією ВООЗ пухлин легень останнього перегляду [16].

Результати реакції в гістологічному зразку при ІГХ дослідженні оцінювали наступним чином: дифузна позитивна – ≥ 60 % забарвлених клітин пухлини; фокальна позитивна (вогнищева) – 10–59 % забарвлених клітин пухлини та негативна – менше 10 % забарвлених клітин пухлини [20, 21].

Імуногістохімічні маркери для діагностики злоякісних вогнищевих уражень легень

Антитіло	Клон	Розведення	Особливості забарвлення
Thyroid transcription factor-1 (TTF-1)	SPT24	RTU	ядро
Napsin A	BS10	RTU	цитоплазма
Cytokeratin AE1-AE3 (Pan-CK)	AE1/AE3	RTU	цитоплазма, мембрана
Cytokeratin 5/6 (CK5/6)	EP67+EP24	RTU	цитоплазма
Cytokeratin 7 (CK7)	OVTL 12/30	RTU	цитоплазма
Cytokeratin 8 (CK8)	EP17	RTU	цитоплазма, мембрана
Cytokeratin 18 (CK18)	DC-10	RTU	цитоплазма
Cytokeratin 20 (CK20)	Ks20.8	RTU	цитоплазма
CD56	123C3	RTU	цитоплазма, мембрана
Synaptophysin	EP158	RTU	цитоплазма
Chromogranin A	LK2H102	RTU	цитоплазма
p40	ZR8	RTU	ядро
p63	4A4	RTU	ядро
Ki-67	SP6	1:200	ядро
Vimentin	SP20	RTU	цитоплазма, ядро
S100	4 C4.9	RTU	цитоплазма, ядро
Smooth Muscle Actin (SMA)	1A4	RTU	цитоплазма
SOX-10	EP268	RTU	ядро
Epithelial membrane antigen (EMA)	E29	RTU	мембрана
CD34	QB-End/10	RTU	мембрана
Раково-ембріональний антиген (CEA)	COL-1	RTU	цитоплазма
CD117 (c-Kit)	Ab-1	RTU	цитоплазма, мембрана

Таблиця 2

Результати рутинної морфологічної діагностики одиночних злоякісних вогнищевих уражень легень

Гістологічний висновок	Кількість випадків	
	абс.	%
Аденокарцинома легень	34	60,7
Плоскоклітинна карцинома	6	10,7
Нейроендокринні пухлини	6	10,7
Великоклітинна карцинома, в тому числі з нейроендокринним компонентом	6	10,7
Пухлини типу слинних залоз	3	5,4
Диференційна діагностика між атиповою аденоматозною гіперплазією та аденокарциномою in situ	1	1,7
Загалом	56	100,0

Результати та їх обговорення

За результатами традиційного гістологічного дослідження були отримані наступні висновки, результати наведені в таблиці 2.

Найбільш часто було діагностовано аденокарциноми легень (34 випадки, 60,7 %), причому в 41,2 % випадків визначені аденокарциноми змішаної гістологічної будови, без муциноутворення. Більш рідко діагностували плоскоклітинну, великоклітинну карциному та нейроендокринну пухлину – по 6 (10,7 %) випадків відповідно. Наші дані узгоджуються з результатами подібних досліджень, в яких аденокарциноми легень, за традиційним гістологічним дослідженням, переважали серед інших гістологічних типів пухлин, а саме визначалися у 50–60 % випадків. На другому та третьому місці за частотою діагностували плоскоклітинну та великоклітинну карциному – 20–30 % та 7–10 % випадків відпо-

відно [18, 22, 23].

З метою уточнення гістологічного типу злоякісної пухлини та для визначення подальшої медичної тактики в усіх випадках було проведено ІГХ дослідження, яке базувалося на попередньому гістологічному висновку. Отримані нами результати застосування різних антитіл у разі злоякісних СЛУ наведено в таблицях 3–4.

Основними широкоживаними діагностичними маркерами у випадках розвитку аденокарциноми легень є TTF-1, Napsin A та CK7 [22, 24–26]. За результатами нашого дослідження (табл. 3), в усіх випадках їх застосування вищезгадані маркери продемонстрували дифузну позитивну реакцію, незалежно від гістологічного підтипу пухлини. Napsin A представляє собою фермент, який відноситься до аспарагінових протеїназ, та є високоспецифічним маркером саме в діагностиці аденокарцином легень. Як правило, позитив-

Таблиця 3

Позитивні реакції основної панелі антитіл в одиночних злоякісних вогнищевих утворах легень

Тип пухлини, абс.	Діагностичні маркери:									
	кількість позитивних реакцій/загальна кількість проведених реакцій (%)									
	CK7	TTF-1	Napsin A	CK20	CK5/6	p40	p63	Chromogranin A	Synaptophysin	CD56
Аденокарцинома легені (n=36)	34/34 (100)	36/36 (100)	36/36 (100)	2/20 (10,0)	1/5 (20,0)	0/2	0/3	1/5 (20,0)	2/4 (50,0)	0/1
Плоскоклітинна карцинома легені (n=6)	0/6	0/2	0/2		6/6 (100)	4/4 (100)	5/5 (100)	0/3	0/2	0/1
Аденосквамозна карцинома (n=2)	2/2 (100)	2/2 (100)	2/2 (100)		2/2 (100)		2/2 (100)			
Нейроендокринна пухлина (карциноїд) (n=5)	1/1 (100)	4/4 (100)			0/1			5/5 (100)	4/4 (100)	2/2 (100)
Великоклітинна карцинома (n=1)	1/1 (100)	1/1 (100)	0/1		0/1	0/1	0/1		0/1	0/1
Великоклітинна нейроендокринна карцинома (n=3)	1/3 (33,3)	2/2 (100)	0/1		0/2		0/1	1/3 (33,3)	3/3 (100)	1/1 (100)
Пухлини типу слинних залоз (n=3)	2/2 (100)	0/2	1/1 (100)		2/2 (100)	0/1	1/1 (100)	0/1	0/2	

Таблиця 4

Позитивні реакції додаткової панелі антитіл в одиночних злоякісних вогнищевих утворах легень

Тип пухлини, абс.	Діагностичні маркери:									
	кількість позитивних реакцій/загальна кількість проведених реакцій (%)									
	Pan-CK	CK8	CK18	Vimentin	S100	SMA	CD34	CEA	CD117	Ki-67
Аденокарцинома легені (n=36)	1/1 (100)	2/2 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)						
Плоскоклітинна карцинома легені (n=6)			0/1		0/1					2/2 (100)
Аденосквамозна карцинома (n=2)		1/1 (100)		1/1 (100)						
Нейроендокринна пухлина (карциноїд) (n=5)		2/2 (100)	2/2 (100)	0/2	0/1	0/1	0/1			5/5 (100)
Великоклітинна карцинома (n=1)		1/1 (100)								
Великоклітинна нейроендокринна карцинома (n=3)				1/2 (50,0)						3/3 (100)
Пухлини типу слинних залоз (n=3)	1/1 (100)	1/1 (100)		1/2 (50,0)	1/2 (50,0)	1/1 (100)		1/1 (100)	0/1	1/1 (100)

В одиночних випадках аденокарцином легень були застосовані маркери, більш специфічні та чутливі для плоскоклітинної карциноми та пухлин з нейроендокринним компонентом. Лише в одному випадку спостерігали дифузну позитивну реакцію з CK5/6, яка може визначатися у 10–50 % випадків аденокарцином легень [24, 27]. Експресію p63 та p40 спостерігали тільки в залишкових структурах нормальної легеневої паренхіми. В окремих випадках, з метою уточнення гістологічного підтипу аденокарциноми легені, а саме – фетального, застосовані нейроендокринні маркери. В одному випадку чітка вогнищева експресія була визначена з Synaptophysin та Chromogranin A, в іншому – тільки з Synaptophysin, при негативній реакції з Chromogranin A, що підтвердило їх належність до відповідного гістологічного підтипу [24, 25]. У 2-х випадках отримано дифузну позитивну реакцію з CK20, який є специфічним маркером аденокарцином легені зі слизоутворенням [24, 25].

Можна зауважити, що згідно сучасним керівництвом у випадках підозри на аденокарциному легені зі слизоутворенням та за відсутності скупчень слизових мас позаклітинно і негативної реакції з CK20, рекомендується застосовувати ШИК-реакцію з діастазою [16, 24, 25].

В одиночних випадках спостерігали дифуз-

ну позитивну реакцію з Pan-CK, CK8 та CK18, але ці маркери не мали вирішального діагностичного значення у визначенні підтипу аденокарциноми, оскільки вони підтверджують лише належність до пухлин епітеліального типу.

В 3-х випадках з попереднім гістологічним діагнозом «аденокарцинома легені», з метою виключення метастатичного ураження, були застосовані маркери, специфічні при пухлинах кишечника, молочної залози та жіночих статевих органів (Wilms Tumor, CDX-2, SATB-2, GATA3, PDX-1). Результати реакції з відповідними маркерами були негативними.

За визначеними імунoproфілями первинної аденокарциноми легень, яка за радіологічним описом відповідала солітарному вогнищевому (вузловому) ураженню легені розмірами до 3 см, отримані наступні результати:

- аденокарцинома легені різної гістологічної будови – 32 (88,8 %) випадки;
- аденокарцинома легені фетального типу – 2 (5,6 %) випадки;
- аденокарцинома легені муцинозного типу – 2 (5,6 %) випадки.

Таким чином, основна панель маркерів у випадках аденокарцином легень, діагностованих за гематоксилін-еозином, включає TTF-1, Napsin A та CK7 (рис. 1 (A–D)).

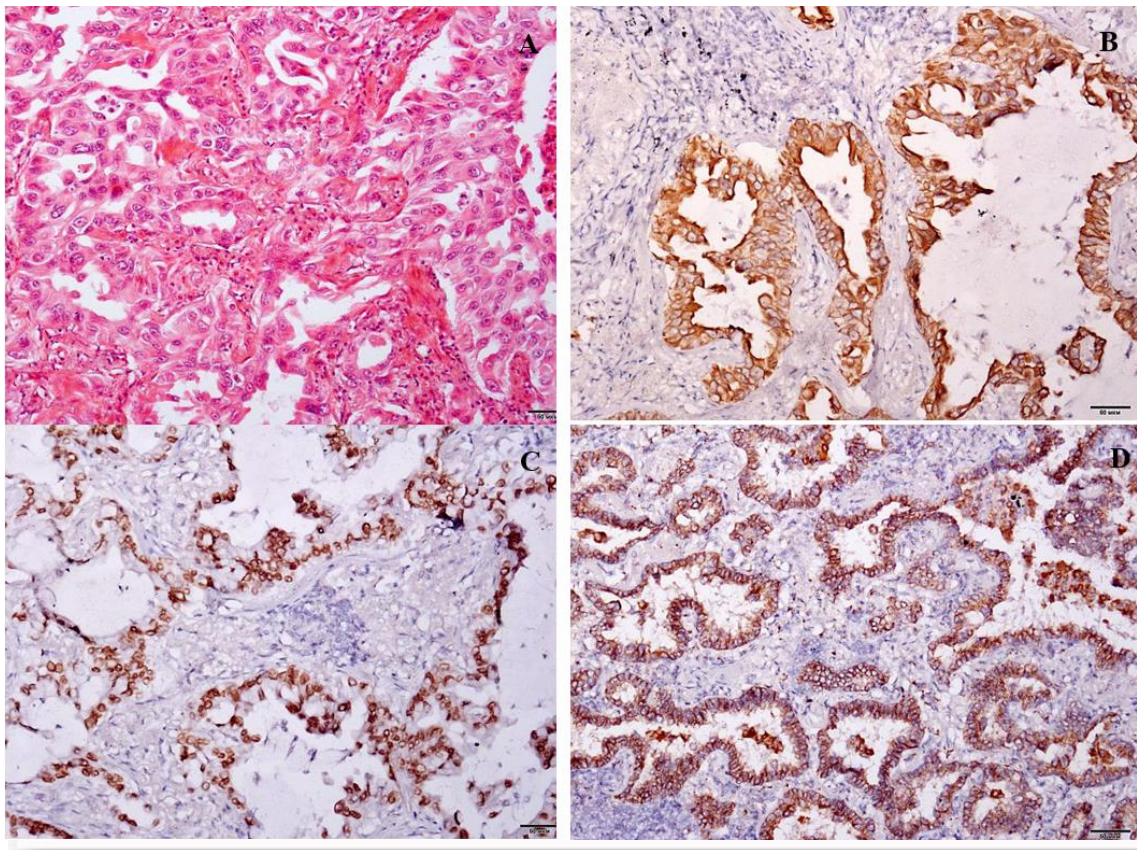


Рис. 1. А. Аденокарцинома легені. Забарвлення гематоксиліном і еозином. В. Експресія CK7, клон OVTL 12/30. С. Експресія TTF-1, клон SPT24. D. Експресія Napsin A, клон BS10. $\times 100$.

Корисні додаткові маркери – CK20 та Chromogranin A (та/або Synaptophysin) (рис. 2.) для уточнення окремих підтипів аденокарциноми.

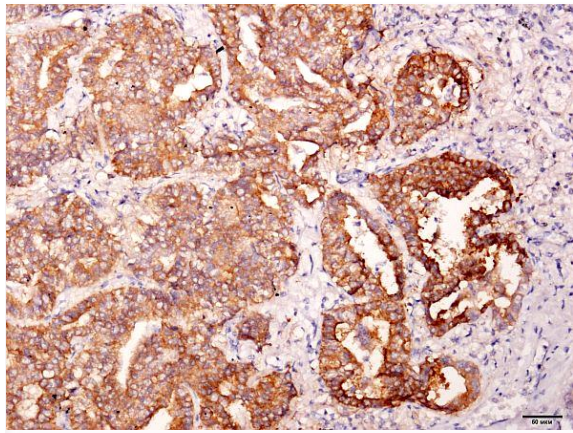


Рис. 2. Аденокарцинома легень фетального типу. Експресія Synaptophysin, клон EP158. $\times 100$.

На сьогоднішній день з'ясовано, що високочутливими та специфічними маркерами плоскоклітинної карциноми легень є наступні антитіла – p40, p63 та CK5/6 [28]. Вважається, що p40 є більш специфічним маркером плоскоклітинної карциноми порівняно з p63, оскільки останній може вказувати вогнищеве позитивне забарвлення у випадках деяких аденокарцином легень [11, 14]. З інших джерел літератури відомо, що специфічність p63 підвищується в комбінації з CK5/6 [10]. У нашому дослідженні дифузна позитивна реакція з основними маркерами плоскоклітинної карциноми (p40, p63 та CK5/6) спостерігалася в 3-х випадках. Ще в 2-х випадках застосовано маркери p63 та CK5/6, при цьому експресія з p63 мала дифузний характер, а позитивна реакція з CK5/6 визначалась як дифузна та вогнищева. Та в одному випадку застосували маркери p40 та CK5/6, дифузну позитивну реакцію спостерігали з обома маркерами. Використання в одиночних випадках підозри на можливість нейроендокринного компоненту пухлини 1–2 додаткових маркерів (Chromogranin A, Synaptophysin та CD56) продемонструвало негативну реакцію. В 2-х випадках було застосовано маркер Ki-67. Проліферативна активність клітин пухлини в одному випадку склала 65 %, в іншому – 70–80 %, що є характерною ознакою злоякісних пухлини. За даними літератури, у випадках плоскоклітинної карциноми високий індекс проліферації (Ki-67) вказує на агресивний характер пухлини та може застосовуватися як показник прогнозу ризику рецидиву пухлини [26, 29].

Таким чином, основними корисними діагностичними маркерами плоскоклітинної карциноми за результатами нашого дослідження виявилися p40, p63 та CK5/6 (рис. 3 (А–С)).

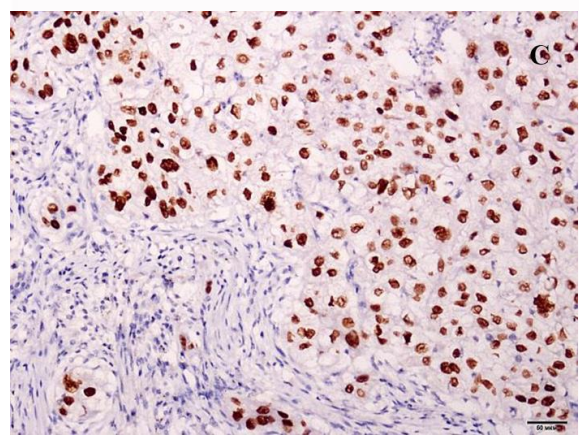
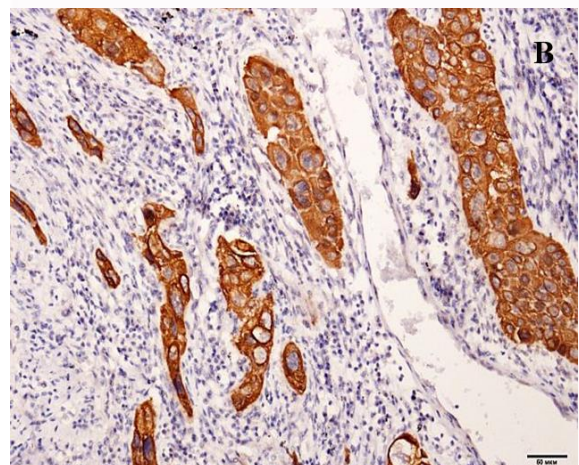
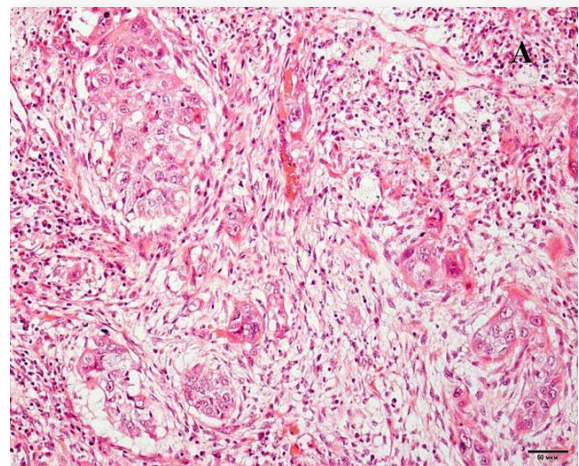


Рис. 3. А. Плоскоклітинна карцинома легень. Забарвлення гематоксиліном і еозином. В. Експресія CK5/6, клон EP67+EP24. С. Експресія p63, клон 4A4. $\times 100$.

Аденоскваозна карцинома, яка знову увійшла до класифікації пухлин легень у вигляді окремої одиниці [16], є рідкісним гістологічним типом серед злоякісних пухлин легень [30–32], та за традиційним гістологічним дослідженням представлена елементами як аденокарциноми, так і плоскоклітинної карциноми, причому частка кожного з компонентів пухлини має складати не менше 10 % [31–33]. В цих випадках нами визначено дифузну та вогнищеву позитивну реакцію

кцію з CK7, TTF-1, Napsin A, p63 та CK5/6. В одному випадку спостерігали вогнищеву позитивну реакцію з CK8 та Vimentin.

Тобто, у випадках аденосквамозної карциноми, за нашими результатами, панель основних діагностичних маркерів складалася з CK7, TTF-1, Napsin A, p63 та CK5/6.

У випадку великоклітинної карциноми легень дифузна позитивна реакція спостерігалася з CK7, CK8 та TTF-1, при негативній реакції з Napsin A. Позитивна реакція з CK5/6, p40, p63, Synaptophysin та CD56 визначена в одиночних клітинах пухлини, що, на нашу думку, було пов'язано із залишковими бронхіальними структурами, таку реакцію розцінювали як негативну. Тобто, у випадках великоклітинної карциноми, попередньо так діагностованої за гематоксилін-еозином, позитивні діагностичні маркери були наступні – CK7, CK8 та TTF-1 у поєднанні з негативною експресією Napsin A, p40 (p63) та маркерів нейроендокринного диференціювання.

Класичними маркерами діагностики нейроендокринних пухлин легень вважаються Synaptophysin (та/або Chromogranin A) та CD56 [34, 35]. Відомо, що Synaptophysin є більш чутливим маркером порівняно до Chromogranin A, проте специфічність останнього вища. Експресія цих двох маркерів відображає функціональний стан секреторних гранул всередині клітин пухлини. Проте в деяких нейроендокринних пухлинах позитивна реакція спостерігається тільки з одним із антитіл, тому доцільно застосувати обидва маркери, оскільки часто вони доповнюють один одного [25, 36].

При нейроендокринних пухлинах (карциномах) застосування Synaptophysin та CD56 виказало дифузну позитивну реакцію в усіх випадках їх застосування. Спостерігалася вогнищева позитивна реакція з Chromogranin A, TTF-1, CK7, CK8 та CK18, при негативній реакції з CK5/6, S100, SMA, CD34 та Vimentin. В усіх випадках визначено проліферативну активність клітин пухлини (Ki-67), вона була в межах 5–20 %.

У випадках діагностики великоклітинної нейроендокринної карциноми легень була визначена дифузна експресія Synaptophysin та CD56 в усіх випадках їх застосування, а Chromogranin A – лише в одному випадку. Наші результати узгоджуються з подібними дослідженнями, в яких встановлено, що може визначатися експресія лише одного чи одразу декількох нейроендокринних маркерів [35, 37]. В 2-х випадках спостерігали дифузну позитивну реакцію з TTF-1, що за даними літератури може визначатися у 40–50 % випадків великоклітинної нейроендокринної карциноми легень [24, 35, 38], та виключило можливість метастатичного враження легень. В одному випадку виявлено дифузну позитивну реакцію з CK7. Вогнищеву експресію з Vimentin спостерігали також в одному випадку, а реакція з

p63, Napsin A та CK5/6 була негативною. В 2 із 3-х випадків діагноз великоклітинної нейроендокринної карциноми був підтверджений в спеціалізованих онкологічних установах, з урахуванням отриманого нами ІГХ профілю пухлини.

Широковживаним маркером проліферації є антитіло Ki-67, що представляє білковий комплекс, який з'являється в цитоплазмі клітин в синтетичну фазу клітинного циклу після виходу клітин із стану спокою та переходу до фази підготовки до мітозу. Він дозволяє визначити кількість клітин, які вступають в мітотичний цикл, і, таким чином, характеризує проліферативний потенціал досліджуваної пухлини [39]. Рівень експресії Ki-67 тісно пов'язаний зі ступенем злоякісності пухлин, особливо у випадках нейроендокринних та великоклітинних нейроендокринних пухлин [24, 40]. В усіх випадках великоклітинної нейроендокринної карциноми визначено високий рівень проліферативної активності. В одному випадку від становив 80 %, в інших двох – 40–50 %, що характерно цьому типу злоякісних пухлин легень [24].

Таким чином, панель основних діагностичних маркерів у випадках нейроендокринних пухлин легень різного ступеня злоякісності – Synaptophysin (та/або Chromogranin A), CD56, CK7, TTF-1 та Ki-67.

Досить непростим завданням є правильний підбір панелі ІГХ-маркерів у випадках пухлин легень типу слинних залоз, оскільки існує значна кількість різних гістологічних типів цих утворень, причому як доброякісних, так і злоякісних [16, 41, 42]. Слід намагатися отримати максимальну інформацію ще на етапі традиційного гістологічного дослідження зразків тканини пухлини. Нами було детально проаналізовано макроскопічні характеристики (особливості розташування злоякісного СЛУ, особлива увага надавалася наявності зв'язку зі структурами бронхів), особливості гістологічної будови (клітинний склад пухлини, її гістологічний паттерн, ядерні та цитоплазматичні особливості окремих типів клітин пухлини), оскільки усі зазначені чинники впливають на остаточний вибір панелі антитіл, і такий підхід наразі є загальноприйнятим [41, 42].

В одному випадку при традиційному гістологічному дослідженні клітини пухлини формували залозисті структури, внутрішній шар яких був представлений клітинами епітеліального типу, а зовнішній – клітинами міоепітеліального типу. Просвіт залозистих структур був вивупнений щільними еозинофільними масами. Попередній висновок: ймовірно, пухлина легені типу слинних залоз та було рекомендовано проводити диференційну діагностику між епітеліально-міоепітеліальною карциномою та плеоморфною аденомою за додатковим ІГХ дослідженням. При ІГХ визначена дифузна позитивна реакція з Pan-CK та SMA, реакція з S100 та CEA мала вогни-

щевий характер. Реакція з CD117 та TTF-1 була негативною. Позитивна реакція з Pan-CK свідчила про епітеліальну природу клітин пухлини, а реакція з SMA та S100 дозволила ідентифікувати міоепітеліальні клітини [24, 41–43]. Враховуючи результат ІГХ дослідження, імунопрофіль пухлини відповідав епітеліально-міоепітеліальній карциномі.

В іншому випадку за традиційним гістологічним дослідженням клітини пухлини формували фолікулярні та кріброзні структури. Клітини пухлини були помірно поліморфні, середніх розмірів. Некротичні зміни були відсутні. В результаті була запідозрена аденоїд-кістозна карцинома із групи пухлин легень типу слинних залоз. У цьому випадку за результатами ІГХ дослідження визначена дифузна позитивна реакція з CK7, CK5/6, p63 та Vimentin. Реакція з Synaptophysin була негативною. Показник проліферативної активності з маркером Ki-67 склав біля 20 %, що дало змогу верифікувати гістологічний тип пухлини, а саме – аденоїд-кістозну карциному із групи пухлин саліваторного типу.

У третьому випадку при традиційному гістологічному дослідженні виявлено, що клітини пухлини формували так звані «кісти» (залозистоподібні структури), серед крупних вузлуватих розростань сполучної тканини та масивних осередків некрозу. Клітинний склад пухлинних роз-

ростань був представлений різними клітинами – епідермоїдного типу, клітинами зі слиноутворенням та епітеліальними клітинами проміжного типу. Висновок – ймовірний розвиток мукоепідермоїдної карциноми, додатково слід виключити розвиток аденокарциноми фетального типу. ІГХ дослідження визначило дифузну позитивну реакцію з CK8, а реакція CK7, CK5/6 та Napsin A була вогнищевою. Експресія Synaptophysin, Vimentin та TTF-1 була визначена в поодиноких клітинах, загалом до 5 % усіх клітин пухлини, реакція була розцінена як негативна. Експресія p40, Chromogranin A та S100 була негативною. В цьому випадку імунофенотип пухлини найбільш відповідав мукоепідермоїдній карциномі. За даними зарубіжних джерел літератури саме в мукоепідермоїдній карциномі може визначитися позитивна реакція з CK7, CK8, CK5/6 та p63, при варіабельній експресії Napsin A, TTF-1, S100 та Vimentin [42, 44].

Усі випадки пухлин легень типу слинних залоз були консультовані в профільних установах та встановлений нами гістологічний тип пухлини на основі ІГХ профілю було підтверджено.

Проведено співставлення гістологічного висновку за традиційним забарвленням та заключних гістологічних висновків за результатами ІГХ дослідження (табл. 5).

Таблиця 5
Попередній та заключний гістологічні висновки у випадках первинних злоякісних легневих вузлів

Попередній гістологічний висновок	Кількість випадків, абс.	Заключний гістологічний висновок	Кількість випадків, абс.
Диференційна діагностика між атиповою аденоматозною гіперплазією та аденокарциномою in situ	1	аденокарцинома легені	1
Аденокарцинома легені	34	аденокарцинома легені	33
		аденосквамозна карцинома	1
		плоскоклітинна карцинома	4
Плоскоклітинна карцинома	6	великоклітинна карцинома з нейроендокринним компонентом	2
Нейроендокринна пухлина (карциноїд)	6	нейроендокринна пухлина (карциноїд)	5
		плоскоклітинна карцинома	1
		аденокарцинома легені	2
Великоклітинна карцинома, в тому числі з нейроендокринним компонентом	6	плоскоклітинна карцинома	1
		великоклітинна карцинома	1
		великоклітинна карцинома з нейроендокринним компонентом	1
		аденосквамозна карцинома	1
Пухлини типу слинних залоз	3	пухлини типу слинних залоз	3

Зіставлення отриманого гістологічного висновку при рутинному забарвленні та результатів ІГХ дослідження (див. табл. 5) показало, що в 47 (83,9 %) випадків було підтверджено попередньо встановлений гістологічний тип/підтип пухлини

легені. У 9 (16,1 %) випадках застосування ІГХ дослідження із визначенням імунопрофілю пухлин призвело до зміни гістологічного підтипу пухлини легені, що, як вище згадувалося, принципово важливо для подальшого медичного ве-

дення таких пацієнтів.

Таким чином, результати ІГХ дослідження дозволяють уточнити гістологічний тип/підтип пухлини, ступінь її злоякісності та визначити подальшу тактику лікування пацієнтів і прогноз захворювання. Комплекс таких медичних заходів має метою підвищити якість подальшого життя пацієнтів та знизити рівень смертності від онкологічних захворювань.

Висновки

Морфологічна діагностика з імуногістохімічним дослідженням наразі має провідне значення для найбільш точного та об'єктивного визначення гістологічного типу та уточнення ступеня злоякісності солітарних пухлинних вогнищевих уражень легень в практичній медицині.

За результатами нашого дослідження встановлено доцільні діагностичні маркери та їх комбінації (панелі) у випадках найбільш розповсюджених первинних пухлин легень невеликих розмірів, попередньо діагностованих як солітарні вогнищеві ураження легень неясної природи.

У випадках розвитку аденокарцином легень найбільш доцільне застосування 3-х маркерів: TTF-1, Napsin A та CK7. З метою уточнення окремих підтипів пухлини використовують додаткові маркери – CK20, Chromogranin A (та/або Synaptophysin).

У разі плоскоклітинної карциноми легень можливо обмежитися панеллю з маркерів p40, p63 та CK5/6. При наявності чітких гістологічних ознак плоскоклітинної карциноми при традиційному забарвленні гематоксиліном і еозином імуногістохімічне дослідження проводиться лише за потреби.

У випадках аденосквамозної карциноми найбільше діагностичне значення мають маркери: CK7, TTF-1, Napsin A, CK5/6 та p63.

У випадках нейроендокринних пухлин ле-

гень різного ступеня злоякісності діагностична панель традиційно включає 1-2 маркери нейроендокринного диференціювання – Synaptophysin (та/або Chromogranin A), CD56, а також TTF-1, Ki-67 та один з маркерів низькомолекулярних цитокератинів (CK7, CK8, CK18, CK19).

При попередньому висновку про розвиток великоклітинної карциноми легень діагностична панель має обов'язково враховувати як позитивні, так і негативні реакції панелі маркерів, зокрема, позитивні CK7, CK8 та TTF-1 та негативні Napsin A, p40 (p63).

При попередньому гістологічному висновку за традиційним дослідженням щодо пухлини легень типу слинних залоз панель ІГХ-маркерів має індивідуалізований характер та включає досить велику кількість антитіл.

Перспективи подальших досліджень

Подальше накопичення досвіду застосування ІГХ дослідження в практичній медицині дозволить більш раціонально підбирати панель маркерів у кожному випадку первинних пухлин легень, аналізувати реальні сучасні дані щодо поширеності окремих гістологічних типів та підтипів пухлин легень серед населення України. Безперервна розробка нових, більш специфічних та чутливих маркерів у випадках різних гістологічних типів пухлин легень також дозволить покращити якість та результативність власне ІГХ дослідження.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Дослідження виконано в рамках науково-дослідної теми «Удосконалити морфологічну діагностику вогнищевих уражень легень» (номер державної реєстрації 0122U000553).

Літературні джерела References

1. Ost DE, Gould MK. Decision making in patients with pulmonary nodules. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012;185(4):363–72. doi: 10.1164/rccm.201104-0679CI.
2. Khan T, Usman Y, Abdo T, Chaudry F, Keddissi JI, Youness HA. Diagnosis and management of peripheral lung nodule. *Ann Transl Med.* 2019 Aug;7(15):348. doi: 10.21037/atm.2019.03.59.
3. Bororov LV, Semivolos AV, Kobzev OI, Sovenko VM, Borisyuk BO, Shevchenko AI, Klapchuk OG. [Treatment of patients with malignancies of various localizations spread into the lungs]. *Oncology.* 2009;11:286–287. <http://dspace.nbuv.gov.ua/handle/123456789/19707>. Ukrainian.
4. Raad RA, Suh J, Harari S, Naidich DP, Shiau M, Ko JP. Nodule characterization: subsolid nodules. *Radiol Clin North Am.* 2014 Jan;52(1):47–67. doi: 10.1016/j.rcl.2013.08.011.
5. Bertolaccini L, Batirel H, Brunelli A, Gonzalez-Rivas D, Ismail M, Ucar AM, Ng CSH, Scarci M, Sihoe ADL, Ugalde PA, Akar FA, Bedetti B, Nadal SB, Brandolini J, Crucitti P, Enyedi A, Fernando HC, Furak J, Gallego-Poveda J, Galvez-Munos C, Hanke I, Hernandez-Arenas LA, Janik M, Juhos P, Libretti L, Lucciarini P, Macri P, Margaritora S, Mahoozi HR, Nachira D, Pardolesi A, Pischik V, Sagan D, Schreurs H, Sekhniaidze D, Succi L, Tosi D, Turna A, Vannucci F, Zielinski M, Rocco G. Corrigendum to 'Uniportal video-assisted thoracic surgery lobectomy: a consensus report from the Uniportal VATS Interest Group (UVIG) of the Eu-

- ropean Society of Thoracic Surgeons (ESTS). *Eur J Cardiothorac Surg.* 2019;56(3): 628-629. doi: 10.1093/ejcts/ezz229.
6. Zappa C, Mousa SA. Non-small cell lung cancer: current treatment and future advances. *Transl Lung Cancer Res.* 2016;5(3):288-300. doi:10.21037/tlcr.2016.06.07.
7. Zhu F, Liu Z, Hou Y, He D, Ge X, Bai C, Jiang L, Li S. Primary salivary gland-type lung cancer: clinicopathological analysis of 88 cases from China. *J Thorac Oncol.* 2013 Dec;8(12):1578-84. doi: 10.1097/JTO.0b013e3182a7d272.
8. Petrov SV, Raikhlin NT. [Manual on immunohistochemical diagnostics of human tumors]. 4th, revised and extended edition. Kazan, 2012, 623 p. Russian.
9. Gurda GT, Zhang L, Wang Y, Chen L, Geddes S, Cho WC, Askin F, Gabrielson E, Li QK. Utility of five commonly used immunohistochemical markers TTF-1, Napsin A, CK7, CK5/6 and P63 in primary and metastatic adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the lung: a retrospective study of 246 fine needle aspiration cases. *Clin Transl Med.* 2015 Apr 21;4:16. doi: 10.1186/s40169-015-0057-2.
10. Umakanthan S, Chalapathi Rao AV, Mohammed W. Role of immunohistochemistry markers in neoplastic lung lesions. *J Cancer Res Ther.* 2021 Oct-Dec;17(6):1382-1388. doi: 10.4103/jcrt.JCRT_187_19.
11. Argon A, Nart D, Veral A. The Value of Cytokeratin 5/6, p63 and Thyroid Transcription Factor-1 in adenocarcinoma, squamous cell carcinoma and non-small-cell lung cancer of the lung. *Turk Patoloji Derg.* 2015;31(2):81-8. doi: 10.5146/tjpath.2015.01302.
12. Rekhman N, Ang DC, Sima CS, Travis WD, Moreira AL. Immunohistochemical algorithm for differentiation of lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma based on large series of whole-tissue sections with validation in small specimens. *Mod Pathol.* 2011 Oct;24(10):1348-59. doi: 10.1038/modpathol.2011.92.
13. Walia R, Jain D, Madan K, Sharma MC, Mathur SR, Mohan A, Iyer VK, Kumar L. p40 & thyroid transcription factor-1 immunohistochemistry: a useful panel to characterize non-small cell lung carcinoma-not otherwise specified (NSCLC-NOS) category. *Indian J Med Res.* 2017 Jul;146(1):42-48. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_1221_15.
14. Carney JM, Kraynie AM, Roggli VL. Immunostaining in lung cancer for the clinician. Commonly used markers for differentiating primary and metastatic pulmonary tumors. *Ann Am Thorac Soc.* 2015 Mar;12(3):429-35. doi: 10.1513/AnnalsATS.201501-004FR.
15. Hofman P. ALK in non-small cell lung cancer (NSCLC) pathobiology, epidemiology, detection from tumor tissue and algorithm diagnosis in a daily practice. *Cancers (Basel).* 2017 Aug 12;9(8):107. doi: 10.3390/cancers9080107.
16. Nicholson AG, Tsao MS, Beasley MB, Borczuk AC, Brambilla E, Cooper WA, Dacic S, Jain D, Kerr KM, Lantuejoul S, Noguchi M, Papotti M, Rekhman N, Scagliotti G, van Schil P, Sholl L, Yatabe Y, Yoshida A, Travis WD. The 2021 WHO classification of lung tumors: impact of advances since 2015. *J Thorac Oncol.* 2022 Mar;17(3):362-387. doi: 10.1016/j.jtho.2021.11.003.
17. Duma N, Santana-Davila R, Molina JR. Non-small cell lung cancer: epidemiology, screening, diagnosis, and treatment. *Mayo Clin Proc.* 2019 Aug;94(8):1623-1640. doi: 10.1016/j.mayocp.2019.01.013.
18. Yang L, Zhang Q, Bai L, Li TY, He C, Ma QL, Li LS, Huang XQ, Qian GS. Assessment of the cancer risk factors of solitary pulmonary nodules. *Oncotarget.* 2017 Apr 25;8(17):29318-29327. doi: 10.18632/oncotarget.16426.
19. Korzhevskiy DE, Gilyarov AV. [Basics of histological technique]. SPb(Rus): SpetsLit, 2010. 63-64 p. Russian.
20. Fedchenko N, Reifenrath J. Different approaches for interpretation and reporting of immunohistochemistry analysis results in the bone tissue – a review. *Diagn Pathol.* 2014 Nov 29;9:221. doi: 10.1186/s13000-014-0221-9.
21. Fletcher CDM. Diagnostic histopathology of tumors. 4th ed. PA: Elsevier; 2013. 1148 p.
22. Brunnström H, Johansson L, Jirstrom K, Jönsson M, Jönsson P, Planck M. Immunohistochemistry in the differential diagnostics of primary lung cancer: an investigation within the Southern Swedish Lung Cancer Study. *Am J Clin Pathol.* 2013 Jul;140(1):37-46. doi: 10.1309/AJCP50RDXSCSBTBO.
23. Neumann JM, Freitag H, Hartmann JS, Niehaus K, Galanis M, Griesshammer M, Kellner U, Bednarz H. Subtyping non-small cell lung cancer by histology-guided spatial metabolomics. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2022 Feb;148(2):351-360. doi: 10.1007/s00432-021-03834-w.
24. Tuffaha SAM, Gichka S, Guski H, Christiansen G. [Immunohistochemistry in the diagnosis of tumors]. 2018. 316 p. Russian.
25. Rekhman N, Braine MK, Bishop JA. [Quick reference handbook for surgical pathologists]; per. from english. Ed. Krivolapova YuA. 2021. 300 p. Russian.
26. Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, Warth A, Russell PA, Lantuejoul S, Beasley MB, Thunnissen E, Pelosi G, Rekhman N, Bubendorf L, Minonkenudson M, Yoshida A, Geisinger KR, Noguchi M, Chirieac LR, Bolting J, Chung JH, Chou TY, Chen G, Poleri C, Lopez-Rios F, Papotti M, Sholl LM, Roden AC, Travis WD, Hirsch FR, Kerr KM, Tsao MS, Nicholson AG, Wistuba I, Moreira AL. Best practices recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2019 Mar;14(3):377-407. doi:

10.1016/j.jtho.2018.12.005.

27. Völkel C, De Wispelaere N, Weidemann S, Gorbokon N, Lennartz M, Luebke AM, Hube-Magg C, Kluth M, Fraune C, Möller K, Bernreuther C, Lebok P, Clauditz TS, Jacobsen F, Sauter G, Uhlig R, Wilczak W, Steurer S, Minner S, Krech RH, Dum D, Krech T, Marx AH, Simon R, Burandt E, Menz A. Cytokeratin 5 and cytokeratin 6 expressions are unconnected in normal and cancerous tissues and have separate diagnostic implications. *Virchows Arch.* 2022 Feb;480(2):433-447. doi: 10.1007/s00428-021-03204-4.

28. Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, Yatabe Y, Austin JHM, Beasley MB, Chirieac LR, Dacic S, Duhig E, Flieder DB, Geisinger K, Hirsch FR, Ishikawa Y, Kerr KM, Noguchi M, Pelosi G, Powell CA, Tsao MS, Wistuba I, WHO Panel. The 2015 World Health Organization classification of lung tumors: impact of genetic, clinical and radiologic advances since the 2004 classification. *J Thorac Oncol.* 2015 Sep;10(9):1243-1260.

29. Masuda D, Masuda R, Matsuzaki T, Imamura N, Aruga N, Tanaka M, Inokuchi S, Kijima H, Iwazaki M. Ki-67 labeling index affects tumor infiltration patterns of lung squamous cell carcinoma. *Mol Med Rep.* 2015 Nov;12(5):7303-9. doi: 10.3892/mmr.2015.4354.

30. Li C, Lu H. Adenosquamous carcinoma of the lung. *Onco Targets Ther.* 2018 Aug 14;11:4829-4835. doi: 10.2147/OTT.S164574.

31. Li C, Zheng X, Li P, Wang H, Hu J, Wu L, Wang Z, Guo H, Wu F, Zhong W, Zhou C, Chu Q, Zhao J, Zheng X, Xiao W, Zhu W, Zhang L, Li Q, Jiang K, Miao Q, Wu B, Xu Y, Wu S, Wang H, Yang S, Li Y, Xia X, Yi X, Huang C, Zhu B, Lin G. Heterogeneity of tumor immune microenvironment and real-world analysis of immunotherapy efficacy in lung adenosquamous carcinoma. *Front Immunol.* 2022 Aug 12;13:944812. doi: 10.3389/fimmu.2022.944812.

32. Rao N. Adenosquamous carcinoma. *Semin Diagn Pathol.* 2014 Jul;31(4):271-7. doi: 10.1053/j.semdp.2014.06.004.

33. Borczuk AC. Uncommon types of lung carcinoma with mixed histology: sarcomatoid carcinoma, adenosquamous carcinoma, and mucoepidermoid carcinoma. *Arch Pathol Lab Med.* 2018 Aug;142(8):914-921. doi: 10.5858/arpa.2017-0584-RA. PMID: 30040455.

34. Metovic J, Barella M, Bianchi F, Hofman P, Hofman V, Remmelink M, Kern I, Carvalho L, Pattini L, Sonzogni A, Veronesi G, Harari S, Forest F, Papotti M, Pelosi G. Morphologic and molecular classification of lung neuroendocrine neoplasms. *Virchows Arch.* 2021 Jan;478(1):5-19. doi: 10.1007/s00428-020-03015-z.

35. Andrini E, Marchese PV, De Biase D, Mosconi C, Siepe G, Panzuto F, Ardizzoni A, Campana D, Lamberti G. Large cell neuroendocrine carcinoma of the lung: current understanding and challenges. *J Clin Med.* 2022 Mar 7;11(5):1461. doi: 10.3390/jcm11051461.

36. Modlin I. M., Gustafsson B. I., Moss S. F. et al. Chromogranin A – biological function and clinical utility in neuroendocrine tumor disease. *Ann Surg Oncol* 2010;17 (9):2427–43. doi: 10.1245/s10434-010-1006-3.

37. Hayoune A, Mahfoud I, Thouil A, Kouismi H. Large cell neuroendocrine carcinoma of the lung: a case series of 14 cases. *Cureus.* 2022 Aug 1;14(8):e27559. doi: 10.7759/cureus.27559.

38. Lindsay CR, Shaw EC, Moore DA, Rassl D, Jamal-Hanjani M, Steele N, Naheed S, Dick C, Taylor F, Adderley H, Black F, Summers Y, Evans M, Rice A, Fabre A, Wallace WA, Nicholson S, Haragan A, Taniere P, Nicholson AG, Laing G, Cave J, Forster MD, Blackhall F, Gosney J, Popat S, Kerr KM. Large cell neuroendocrine lung carcinoma: consensus statement from The British Thoracic Oncology Group and the Association of Pulmonary Pathologists. *Br J Cancer.* 2021 Oct;125(9):1210-1216. doi: 10.1038/s41416-021-01407-9.

39. Finkova EP. [The results of immunohistochemical study of signaling pathways' markers of proliferation in uterine leiomyoma in women using hormonal contraception]. *Morphologia.* 2021;15(1):67-72. doi: https://doi.org/10.26641/1997-9665.2021.1.67-72. Ukrainian.

40. Ramirez RA, Beyer DT, Diebold AE, Voros BA, Chester MM, Wang YZ, Boudreaux JP, Woltering EA, Uhlhorn AP, Ryan P, Campeau RJ, Anthony LB. Prognostic factors in typical and atypical pulmonary carcinoids. *Ochsner J.* 2017 Winter;17(4):335-340.

41. Falk N, Weissferdt A, Kalhor N, Moran CA. Primary pulmonary salivary gland-type tumors: A Review and Update. *Adv Anat Pathol.* 2016 Jan;23(1):13-23. doi: 10.1097/PAP.000000000000099.

42. Wang M, Gilani S, Xu H, Cai G. Salivary gland-type tumors of the lung. *Arch Pathol Lab Med.* 2021 Nov 1;145(11):1379-1386. doi: 10.5858/arpa.2021-0093-RA.

43. Weissferdt A., Kalhor N., Moran C. A. Primary pulmonary salivary gland-type tumors: a review and update. *Adv Anat Pathol* 2016;23:13–23.

44. Limaïem F, Lekkala MR, Sharma S. Mucoepidermoid lung tumor. 2023 Jan 1. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan. PMID: 30725962. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537277/.

Ліскіна І.В., Загаба Л.М. **Можливості імуногістохімічного дослідження в практичній діагностиці одиночних злоякісних вогнищевих уражень легень.**

РЕФЕРАТ. Актуальність. Натепер морфологічна діагностика з імуногістохімічним (ІГХ) дослідженням дозволяє об'єктивно установити гістологічну належність злоякісних солітарних легеневиких утворів (СЛУ). **Мета** – представити власний досвід та оцінити можливості імуногістохімічної діагностики солітарних злоякісних вогнищевих уражень легень в умовах клінічної практики. **Методи.** Проведено ретроспективне когортне дослідження, до якого увійшло 56 випадків первинних злоякісних СЛУ, які було видалено при хірургічному втручанні. Всі новоутворення підлягали традиційному гістологічному дослідженню, в подальшому проводили ІГХ дослідження згідно до стандартного протоколу. Реакцію антигенів оцінювали як дифузну (≥ 60 % забарвлених клітин пухлини), фокальну (10–59 % забарвлених клітин пухлини) та негативну (менше 10 % забарвлених клітин пухлини). **Результати.** В 34 (60,7 %) випадках за традиційним морфологічним дослідженням діагностували аденокарциноми легень різних гістологічних підтипів. Рідше – плоскоклітинну, великоклітинну карциному та нейроендокринну пухлину (по 6 випадків, 10,7 % відповідно). В 3 (5,4 %) випадках діагностували пухлини легень саліваторного типу і в 1 (1,8 %) випадку виникла необхідність диференційної діагностики передракового процесу та істинної пухлини. Проведене ІГХ дослідження дозволило в 36 випадках визначити аденокарциноми легень різної гістологічної будови. Позитивна реакція з TTF-1, Napsin A та CK7 була в усіх випадках їх застосування. У 2-х випадках встановлено аденокарциному муцинозного (позитивна реакція з CK20) та в 2-х – аденокарциному фетального типу (позитивна реакція з Synaptophysin та/або Chromogranin A). У разі плоскоклітинної карциноми легень спостерігали дифузну експресію p40 та/або p63, при дифузній та вогнищевій експресії CK5/6 в усіх випадках їх застосування. При аденосквамозній карциномі визначено дифузну та вогнищеву позитивну реакцію з CK7, TTF-1, Napsin A, p63 та CK5/6. У випадку великоклітинної карциноми спостерігали дифузну позитивну реакцію з CK7, CK8 та TTF-1, при негативній реакції з Napsin A, CK5/6, p40, p63, Synaptophysin та CD56. За попередньо діагностованими карциномами легень забарвлення з Synaptophysin та CD56 виказало дифузну позитивну реакцію, при вогнищевій реакції з Chromogranin A, TTF-1, CK7, CK8 та CK18 в усіх випадках їх застосування. Індекс проліферації (Ki-67) був у межах 5–20 %. У разі великоклітинної нейроендокринної карциноми дифузну позитивну реакцію спостерігалась з Synaptophysin, TTF-1 та CD56 в усіх випадках їх застосування, та в одному випадку з Chromogranin A та CK7. Індекс проліферації (Ki-67) склав 40–80 %. У випадках пухлин легень типу слинних залоз панель ІГХ маркерів підбирали індивідуально, до неї включали відносно велику кількість антитіл. Зіставлення гістологічного висновку за традиційним дослідженням та результатів ІГХ підтвердило попередньо визначений гістологічний тип/підтип пухлини легень в 47 (83,9 %) випадках. У 9 (16,1 %) випадках визначений імунопрофіль призвів до зміни гістологічного типу пухлини легень, що принципово важливо для подальшого медичного ведення таких пацієнтів. **Підсумок.** Морфологічна діагностика із застосуванням імуногістохімічного дослідження наразі має провідне значення для найбільш точного встановлення гістологічного типу та уточнення ступеня злоякісності солітарних пухлинних вогнищевих уражень легень. Визначено доцільні для застосування панелі маркерів при ІГХ дослідженні у випадках найбільш розповсюджених первинних пухлин легень.

Ключові слова: солітарний злоякісний легеневий вузол, діагностика, імуногістохімія.