

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**  
**ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПОМНОЇ ОСВІТИ**  
**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**  
**ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**ЯНЧЕВСЬКИЙ ОЛЕКСАНДР ВАЛЕРІЙОВИЧ**

УДК 616.24 – 006.6 – 091.8+577.21

ДИСЕРТАЦІЯ

**КЛІНІКО-МОРФОЛОГІЧНІ ТА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ**  
**ОСОБЛИВОСТІ ДРІБНОКЛІТИННОГО РАКУ ЛЕГЕНЬ**

за спеціальністю 222 «Медицина»  
спеціалізація «Патологічна анатомія»

Подається на здобуття ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело  
\_\_\_\_\_ Янчевський О.В.

Науковий керівник: Ірина Іванівна Яковцова, докторка медичних наук,  
професор

Харків – 2023

## АНОТАЦІЯ

*Янчевський О.В.* **Клініко-морфологічні та молекулярно-генетичні особливості дрібноклітинного раку легень.** – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина», спеціалізацією 14.03.02 патологічна анатомія. Харківський Національний медичний університет, Харків, 2023. Захист відбудеться у Харківському національному медичному університеті.

Дрібноклітинний рак легень (ДКРЛ) становить близько 15% від злоякісних новоутворень (ЗН) легень та визначається як одні з найбільш агресивних пухлин людського організму. Прогноз перебігу ДКРЛ залежить перш за все від стадії пухлинного процесу згідно системи TNM, проте індивідуалізований підхід до лікування пацієнтів повинен урахувати низку молекулярно-генетичних критеріїв. Саме диференційно-діагностичні та прогностичні фактори ДКРЛ можуть відігравати вагомую роль у визначенні клінічної поведінки пухлини й обранні лікувальної тактики.

Дисертаційна робота присвячена удосконаленню діагностики й морфологічних критеріїв прогнозу перебігу ДКРЛ на підставі дослідження клініко-морфологічних і молекулярно-біологічних характеристик первинних пухлин з різною клінічною поведінкою та прогнозом.

Для вирішення поставлених завдань щодо визначення лікувального патоморфозу ДКРЛ та диференційної діагностики з недрібноклітинним раком легень (НДРЛ) схожої морфології, було досліджено матеріал представлений 25 випадками біоптатів ДКРЛ до лікування, 25 випадками аутопсійних ДКРЛ після проведеної хіміотерапії, 15 випадками біоптатів анаплазованих форм раку легень та карциноїдів, гістологічно схожих з ДКРЛ.

Для визначення прогностичних критеріїв ДКРЛ були сформовані такі групи дослідження: 14 випадків локалізованих форм ДКРЛ (Л-ДКРЛ) за даними

хірургічного та аутопсійного матеріалу та 25 випадків розповсюджених форм ДКРЛ (Р-ДКРЛ), виявлених під час аутопсії після лікування та генералізації пухлинного процесу, що призвела до смерті.

Було вираховано середній термін з моменту встановлення діагнозу до смерті, що становив  $10,5 \pm 1,3$  місяця, найменший – 1 місяць, найбільший – 28 місяців. Середній термін з моменту встановлення діагнозу до смерті серед Л-ДКРЛ становив  $19,7 \pm 1,9$  місяця, серед Р-ДКРЛ –  $9,1 \pm 1,3$  місяця.

Для проведення імуногістохімічного дослідження використовувалася така панель маркерів: CD56, p16ink4A(p16), TTF-1, CD117, Ki-67, панцитокератин, віментин, Е-кадгерин, N-кадгерин, CD44.

Установлено, що ДКРЛ становить 28,8% від усіх випадків раку легень пацієнтів, які померли в багатопрофільних стаціонарах. Серед причин смерті пацієнтів з ДКРЛ прогресія та генералізація пухлинного процесу була лише в 73,2%, відповідно в 26,8% була встановлена поєднана патологія, а ДКРЛ не був безпосередньою причиною смерті та не призвів до смертельних ускладнень. Виявлення пухлинного процесу в померлих з діагнозом ДКРЛ на I, II, III, IV стадіях було в 2,8%, 7,0%, 7,0%, 21,1% та 62,1% відповідно. Найчастіше метастазування відзначалося в печінку (у 36,6%), іншу легеню (у 30,9%), головний мозок (у 18,3%), кісткову систему (у 12,7%). Серед пацієнтів з верифікованим морфологічно діагнозом ДКРЛ, які отримували відповідне лікування (286 спостережень) пухлинний процес у 42,3% належав до IV клінічної стадії, 46,9% – до III стадії, і лише 10,8% – до I та II стадії.

Установлені імуногістохімічні диференційно-діагностичні критерії ДКРЛ з іншими раками легень (РЛ) схожої морфології в біопсіях малого об'єму. Найбільш значущими маркерами є p16 і CD 117 з достовірно більшими рівнями експресії в ДКРЛ (р значення точного критерію Фішера = 0,00035 та 0,0003 відповідно). Для диференційної діагностики ДКРЛ із плоскоклітинним раком найбільш цінними можна вважати маркери TTF1 та p40. Плоскоклітинний рак демонструє негативну експресію TTF1 та виражену експресію p40, ДКРЛ –

відсутність реакції з p40 або його слабку експресію у 8% досліджених пухлин. Ki-67 може використовуватися для диференційної діагностики ДКРЛ з карциноїдами, але не для диференційної діагностики з іншими злоякісними новоутвореннями. CD 56 дозволяє визначити нейроендокринну природу пухлини. Запропоновано поєднання імуногістохімічних маркерів: TTF-1/CD56 (2-4 бали)/p16/CD117, що (з чутливістю – 80,0% та специфічністю – 86,67%;  $p=0,0003$ ) дозволить провести диференційний діагноз між ДКРЛ та іншими новоутвореннями зі схожою морфологією.

Визначені імуногістохімічні особливості лікувального патоморфозу ДКРЛ. Доведено нижчу експресію Ki-67 ДКРЛ після хіміотерапії за даними дослідження аутопсійного матеріалу ніж у цих пухлинах до лікування за даними біопсії (U-критерій Манна-Уїтні=159,  $p=0,0029$ ), однак для підтвердження значущості цієї ознаки необхідно дослідження випадків ДКРЛ до та після лікування. Також визначена тенденція до нижчої експресії TTF-1, CD117 та p16 після хіміотерапії ( $p>0,05$ ). Експресія CD56 не мала істотних відмінностей.

Високий рівень експресії Ki-67 є сприятливим прогностичним критерієм. Доведено, що рівень проліферативної активності Р-ДКРЛ нижчий ніж Л-ДКРЛ ( $p<0,001$ ). Установлена пряма статистично значуща залежність між терміном виживаності та рівнем експресії Ki-67 ( $p<0,03$ ).

Віментин є значущим маркером біологічної поведінки й прогнозу ДКРЛ. Встановлено достовірно менший термін загальної виживаності (ЗВ) пацієнтів хворих на ДКРЛ серед випадків з позитивною експресією віментину ( $p<0,001$ ). Установлено зворотню кореляційну залежність з нейроендокринним статусом ДКРЛ та позитивною реакцією до CD44 ( $p<0,01$ ), що слід пояснювати процесами втрати тканинної специфічності ракових клітин у разі появи молекулярно-біологічних свідчень стовбурового фенотипу. Установлена тенденція до прямої залежності між появою експресії раковими клітинами віментину й ознаками стовбурового фенотипу – експресії CD44, а також

зворотної залежності з експресією CD56 – маркеру нейроендокринних тканин. Доведено, що в пацієнтів з ДКРЛ, які мали більший рівень експресії E-кадгерину, термін ЗВ був більший ( $p < 0,001$ ). E-кадгерин є маркером, який характеризує збереження тканинної специфічності ракових клітин, що було доведено зворотною кореляційною залежністю між рівнем експресії E-кадгерину та CD44 ( $p < 0,01$ ), а також прямою кореляційною залежністю між експресією E-кадгерину та CD56 ( $p < 0,05$ ). Доведено, що поява N-кадгерину має значення для прогнозу метастазування Л-ДКРЛ та ЗВ, що обумовлено асоціацією слабкої сили між приналежністю Л-ДКРЛ до форм що метастазують та позитивною експресією N-кадгерину ( $p < 0,05$ ), а також коротшим терміном ЗВ пацієнтів з позитивною реакцією ракових клітин до N-кадгерину ( $p < 0,03$ ). Установлено пряму кореляційну залежність помірної сили між рівнем експресії N-кадгерину та віментину ( $p < 0,01$ ), а також зворотну залежність між експресією N – кадгерину та Ki-67 ( $p < 0,01$ ), як проявів процесу епітеліально-мезенхімальної трансформації (EMT).

EMT ДКРЛ, що характеризується частковою втратою імуногістохімічних маркерів епітеліального фенотипу та появою молекулярно-біологічних ознак мезенхімального фенотипу, спостерігалася в 69,2% (27/39) спостережень. Наявність EMT (3 – 5 ст.) асоціювалася з Р-ДКРЛ і відповідно не була характерною для Л-ДКРЛ ( $p < 0,01$ ); а наявність EMT серед Л-ДКРД – асоціювалася з метастазуванням у регіонарні лімфатичні вузли ( $p < 0,01$ ). Також встановлено зворотну залежність між терміном ЗВ пацієнтів і стадією EMT ( $p < 0,01$ ). ЗВ більше за 1 рік асоціювалася з відсутністю EMT ДКРЛ ( $p < 0,001$ ), а летальний наслідок впродовж 1-го року – з 3 – 5 стадією EMT ( $p < 0,001$ ).

Поява стовбурового фенотипу ракових клітин, що досліджувався за експресією CD44, спостерігалась у 30,8% (12/39) випадків та мала обмежене прогностичне значення.

Отримані дані дозволили сформулювати прогностичні критерії сприятливого перебігу захворювання та летального наслідку в пацієнтів з ДКРЛ.

Запропоновано оптимальну панель ПГХ маркерів для діагностики ДКРЛ, визначення їх біологічної поведінки та прогнозу захворювання.

**Ключові слова:** дрібноклітинний рак легень, ДКРЛ, морфологічна діагностика, прогноз, епітеліально-мезенхімальна трансформація, ЕМТ, імуногістохімічне дослідження.

## ANNOTATION

**Yanchevskyi Oleksandr Valeriyovych.** Clinical-morphological and molecular-genetic features of small cell lung cancer. – Qualifying scientific work on the rights of manuscript.

Dissertation for obtaining the degree of Doctor of Philosophy in specialty 222 "Medicine", specialization 14.03.02 pathological anatomy. Kharkiv National Medical University, Kharkiv, 2023. The defense will be held at Kharkiv National Medical University.

Small cell lung cancer (SCLC) accounts for about 15% of lung malignancies and is defined as one of the most aggressive tumors of the human body. The prognosis of the course of DCRL depends primarily on the stage of the tumor process according to the TNM system, however, an individualized approach to the treatment of patients should be based on a number of molecular genetic criteria. It is the differential diagnostic and prognostic factors of DCRL that can play an important role in determining the clinical behavior of the tumor and choosing treatment tactics.

The dissertation is devoted to the improvement of diagnosis and morphological criteria for the prognosis of the course of SCRL based on the study of clinical-morphological and molecular-biological characteristics of primary tumors with different clinical behavior and prognosis.

In order to solve the problems of determining the therapeutic pathomorphosis of SCLC and differential diagnosis with non-small cell lung cancer (SCLC) of similar morphology, the material represented by 25 cases of SCLC biopsies before treatment, 25 autopsy SCLC cases after chemotherapy, and 15 cases of biopsies of anaplastic forms of lung cancer and carcinoids was studied, histologically similar to DCRL.

To determine the prognostic criteria of DCRL, the following study groups were formed: 14 cases of localized forms of DCRL (L-DCRL) according to surgical and autopsy material and 25 cases of widespread forms of DCRL (W-DCRL),

detected at autopsy after treatment and generalization of the tumor process, which led to death.

The average period from the moment of diagnosis to death was calculated, which was  $10.5 \pm 1.3$  months, the smallest - 1 month, the largest - 28 months. The average time from the moment of diagnosis to death among L-DCRL was  $19.7 \pm 1.9$  months, among P-DCRL –  $9.1 \pm 1.3$  months.

The following panel of markers was used for the immunohistochemical study: CD56, p16ink4A (p16), TTF-1, CD117, Ki-67, pancytokeratin, vimentin, E-cadherin, N-cadherin, CD44.

It was established that DCRL accounts for 28.8% of all lung cancers in patients who died in multidisciplinary hospitals. Among the causes of death of patients with DCRL, the progression and generalization of the tumor process was only in 73.2%, respectively, in 26.8% a combined pathology was established, and DCRL was not a direct cause of death and did not lead to fatal complications. Detection of the tumor process in the deceased with a diagnosis of DCRL at I, II, III, IV stages was 2.8%, 7.0%, 7.0%, 21.1% and 62.1%, respectively. Metastasis was most often observed in the liver (in 36.6%), other lung (in 30.9%), brain (in 18.3%), bone system (in 12.7%). Among patients with a morphologically verified diagnosis of DCRL who received appropriate treatment (286 observations), the tumor process in 42.3% belonged to the IV clinical stage, 46.9% to the III stage, only 10.8% to the I and II stages.

The immunohistochemical differential diagnostic criteria of SCRL with other lung cancers (RL) of similar morphology in small-volume biopsies have been established. The most significant markers are p16 and CD 117 with significantly higher expression levels in DCRL (p value of Fisher's exact test = 0.00035 and 0.0003, respectively). TTF1 and p40 markers can be considered the most valuable for the differential diagnosis of SCRL with squamous cell carcinomas. Squamous cell carcinoma shows a negative expression of TTF1 and a pronounced expression of p40, DCRL - no reaction with p40 or its weak expression in 8% of the studied tumors. Ki-

67 can be used for the differential diagnosis of DCRL with carcinoids, but not for the differential diagnosis with other malignant neoplasms. CD 56 allows to determine the neuroendocrine nature of the tumor. A combination of immunohistochemical markers: TTF-1/CD56 (2-4 points)/p16/CD117 is proposed, which (with sensitivity – 80.0% and specificity – 86.67%;  $p=0.0003$ ) will allow differential diagnosis between DSCLC and other neoplasms with similar morphology.

Identified immunohistochemical features of the medical pathomorphosis of SCRL. A lower expression of Ki-67 in DSCLC after chemotherapy according to the study of autopsy material than in these tumors before treatment according to biopsy data was proved (Mann-Whitney U-test=159,  $p=0.0029$ ), however, to confirm the significance of this sign, a study of cases of DSCLC is needed before and after treatment. A trend towards lower expression of TTF-1, CD117 and p16 after chemotherapy was also determined ( $p>0.05$ ). CD56 expression had no significant differences.

A high level of Ki-67 expression is a favorable prognostic criterion. It has been proven that the level of proliferative activity of P-DCRL is lower than that of L-DCRL ( $p<0.001$ ). A direct statistically significant relationship was established between the survival time and the Ki-67 expression level ( $p<0.03$ ).

Vimentin is a significant marker of the biological behavior and prognosis of SCRL. A significantly shorter overall survival (OS) of patients with DCRL was established among cases with positive expression of vimentin ( $p<0.001$ ). An inverse correlation was established with the neuroendocrine status of SCRL and a positive reaction to CD44 ( $p<0.01$ ), which should be explained by the processes of loss of tissue specificity of cancer cells when molecular biological evidence of the stem phenotype appears. A tendency towards a direct relationship between the appearance of vimentin expression by cancer cells and signs of the stem phenotype - CD44 expression, as well as an inverse relationship with the expression of CD56 - a marker of neuroendocrine tissues, was established. It was proved that in patients with DCRL, who had a higher level of E-cadherin expression, the duration of ZV was longer

( $p < 0.001$ ). E-cadherin is a marker that characterizes the preservation of tissue specificity of cancer cells, which was proven by the inverse correlation between the expression level of E-cadherin and CD44 ( $p < 0.01$ ), as well as the direct correlation between the expression of E-cadherin and CD56 ( $p < 0.05$ ). It has been proven that the appearance of N-cadherin is important for the prognosis of metastasis of L-DCRL and ZV, which is due to a weak association between L-DCRL belonging to metastasizing forms and positive expression of N-cadherin ( $p < 0.05$ ), as well as a shorter term of ZV patients with a positive reaction of cancer cells to N-cadherin ( $p < 0.03$ ). A direct correlation of moderate strength was established between the expression level of N-cadherin and vimentin ( $p < 0.01$ ), as well as an inverse relationship between the expression of N-cadherin and Ki-67 ( $p < 0.01$ ), as manifestations of the process of epithelial-mesenchymal transformation (EMT).

EMT DCRL, which is characterized by a partial loss of immunohistochemical markers of the epithelial phenotype and the appearance of molecular biological signs of the mesenchymal phenotype, was observed in 69.2% (27/39) of observations. The presence of EMT (3-5 years) was associated with R-DCRL and, accordingly, was not characteristic of L-DCRL ( $p < 0.01$ ); and the presence of EMT among L-SCRD was associated with metastasis to regional lymph nodes ( $p < 0.01$ ). An inverse relationship was also established between the term of the patient's hospital stay and the EMT stage ( $p < 0.01$ ). ZV for more than 1 year was associated with the absence of EMT DCRL ( $p < 0.001$ ), and a fatal outcome within 1 year – with stage 3-5 EMT ( $p < 0.001$ ).

The appearance of the stem phenotype of cancer cells, which was investigated by CD44 expression, was observed in 30.8% (12/39) of cases and had a limited prognostic value.

The obtained data made it possible to form prognostic criteria for the favorable course of the disease and the fatal outcome of patients with DCRL.

An optimal panel of IGH markers for the diagnosis of DCRL, determination of their biological behavior and prognosis of the disease is proposed.

**Key words:** small cell lung cancer, DCRL, morphological diagnosis, prognosis, epithelial-mesenchymal transformation, EMT, immunohistochemical study.

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

**Видання, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:**

1. Яковцова І. І., Янчевський О. В., Чертенко Т. Н., Долгая О. В., Олійник А. Є. «Молекулярні характеристики раків легень та сучасні уявлення щодо їх молекулярно – біологічної діагностики». Вісник проблем біології і медицини. 2019; Вип. №3 (152): 41-45. *(Здобувач проаналізував дані літератури, визначив проблемні питання).*

2. «Immunohistochemical diagnosis and prognosis of small cell lung cancer: the search for new strategies» Irina Yakovtsova, Olexandr Yanchevskiy, Taisiia Chertenko, Andriy Kis, Andriy Oliyinyk. Scientific Journal «ScienceRise: Medical Science», 2022; Вип. №1 (46): 31-36. *(Здобувач проаналізував звітну документацію, узагальнив одержані дані, провів імуногістохімічне дослідження сформулював висновки та підготував статтю до друку).*

3. Янчевський О.В. «Особливості та стадіювання епітеліально-мезенхімальної трансформації дрібноклітинних раків легень». Вісник проблем біології і медицини. 2023; Вип.№1 (168): 352-359. *(Здобувач провів імуногістохімічне дослідження, обробив результати, зробив висновки).*

4. Яковцова І.І., Янчевський О.В. «Імуногістохімічні критерії прогнозу епітеліально-мезенхімальної трансформації та стовбурового фенотипу дрібноклітинних раків легень». Східноєвропейський журнал внутрішньої та сімейної медицини. 2023; Вип. №1 (20): 92-96. *(Здобувач провів імуногістохімічне дослідження, обробив результати, зробив висновки).*

5. Яковцова І.І., Янчевський О.В. «Окремі клініко-морфологічні та імуногістохімічні критерії прогнозу дрібноклітинного раку легень». Morphologia. 2022; Т16 №4: 41-46. *(Здобувач провів імуногістохімічне дослідження, сформулював висновки, підготував статтю до друку).*

### **Видання, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації**

1. Науково-практична конференція м. Стокгольм, Швеція, 15-17 січня 2023р. Innovation and prospects in modern science. «Особливості експресії та прогностичне значення CD44 в дрібноклітинних раках легень». С.125-130. *(Здобувач провів дослідження мікропрепаратів, провів імуногістохімічне дослідження, обробив результати, сформулював висновки, підготував тези до друку).*

2. Науково-практична конференція м. Мадрид, Іспанія. 09.05-10.05.2023. Modern science: theoretical and practical view. «Діагностичне та прогностичне значення експресії TTF-1 та CD56 в дрібноклітинних раках легень». С.22-24. *(Здобувач провів дослідження мікропрепаратів, провів імуногістохімічне дослідження, обробив результати, сформулював висновки, підготував тези до друку).*

## ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ .....	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ .....	16
ВСТУП .....	18
Розділ 1 СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО ПИТАННЯ БІОЛОГІЧНОЇ ПОВЕДІНКИ ТА ПРОГНОЗУ ДРІБНОКЛІТИННОГО РАКУ ЛЕГЕНЬ (огляд літератури) .....	26
1.1 Епідеміологія РЛ та місце ДКРЛ в морфологічній класифікації пухлин ВООЗ.....	26
1.2 Методи морфологічної діагностики та молекулярні характеристики РЛ, диференційна діагностика ДКРЛ .....	28
1.3 Клінічні характеристики та прогностичні критерії ДКРЛ...	36
Розділ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	49
2.1 Дизайн дослідження та клінічна характеристика хворих ...	49
2.2 Методи дослідження .....	54
Розділ 3 КЛІНІЧНІ ТА МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ДКРЛ....	59
3.1 Клінічні особливості ДКРЛ, верифікованих за даними цитологічного, біопсійного чи операційного матеріалу ...	59
3.2 Клініко-морфологічна характеристика ДКРЛ за даними результатів аутопсії померлих хворих.....	61
3.3 Морфологічні особливості ДКРЛ .....	67
3.3.1. Гістологічна та цитологічна характеристика ДКРЛ...	67
3.3.2. Імуногістохімічні особливості лікувального патоморфозу ДКРЛ.....	69
3.3.3. Імуногістохімічні диференційно-діагностичні критерії ДКРЛ в біопсіях малого об'єму.....	74
Розділ 4 ПРОГНОСТИЧНІ КЛІНІКО-МОРФОЛОГІЧНІ ТА МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНІ КРИТЕРІЇ ДКРЛ .....	82
4.1 Клініко-морфологічні критерії прогнозу ДКРЛ .....	82

4.2	Прогностичні імуногістохімічні критерії ДКРЛ.....	83
	4.2.1 Проліферативна активність ДКРЛ.....	83
	4.2.2 Прогностичне значення маркерів нейроендокринного фенотипу ДКРЛ .....	85
	4.2.3 Експресія CD44 ДКРЛ.....	87
4.3	ЕМТ ДКРЛ.....	91
	4.3.1 Експресія панцитокератину .....	91
	4.3.2 Експресія віментину.....	93
	4.3.3 Експресія E-кадгерину.....	97
	4.3.4 Експресія N-кадгерину.....	100
	4.3.5. Стадія ЕМТ .....	103
Розділ 5 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ		
	ДОСЛІДЖЕННЯ.....	111
	ВИСНОВКИ .....	133
	ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ .....	136
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	137
	Додатки .....	163

## ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ ТА УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БВ	Безрецидивна виживаність
ВООЗ	Всесвітня організація охорони здоров'я
ВКНЕК	Великоклітинна нейроендокринна карцинома
ВКНЕР(П)	Великоклітинний нейроендокринний рак (пухлина)
ДКРЛ	Дрібноклітинний рак легень
ЕМА	Епітеліальний мембранний антиген
ЕМТ	Епітеліально-мезенхімальна трансформація
ЗВ	Загальна виживаність
ЗН	Злоякісні новоутворення
ІГХ	Імуногістохімія
ІМ	Індекс мітки
ІП	Індекс проліферації Ki-67
Л-ДКРЛ	Локалізована форма ДКРЛ
МІ	Мітотичний індекс
МКАТ	Моноклональні антитіла
НАПХТ	Неoad'ювантна поліхіміотерапія
НДКРЛ	Недрібноклітинний рак легень
НЕ	Нейроендокринний

ПХТ	Поліхіміотерапія
ПТ	Променева терапія
Р-ДКРЛ	Розповсюджена форма ДКРЛ
РЛ	Рак легень
ЦК	Цитокератин
цпДНК	Циркулюючі пухлинні ДНК
ЦПК	Циркулюючі пухлинні клітини
ХТ	Хіміотерапія
ASCL1	Achaete- scute complex homologue 1
CD	Кластер диференціювання
Ki-67	Маркер проліферативної активності
SCLC	Small cell lung cancer
p40	Скорочена, нетрансактивована ізоформа p63
p16	p16ink4A – білок-супресор пухлин, кодований геном CDKN2A (9p21.3)
TGFb	Трансформівний фактор росту beta
TILs	Tumor infiltrated lymphocytes – Лімфоцити що інфільтрують пухлину
TNM	T – tumor, N – nodes, M – metastasis
TTF-1	Thyroid transcription factor – 1

## ВСТУП

### Обґрунтування вибору теми дослідження

РЛ є злужкісною пухлиною з найвищою захворюваністю та смертністю в Україні та світі [Національний канцер реєстр, Yuuna Sung, 2021]. Так за даними Національного канцер реєстру України, серед чоловіків рак трахеї, бронхів та легень посідає перше місце серед усіх ЗН за показниками як захворюваності, так і смертності, та становить 14,5 % та 21,2% відповідно.

Дрібноклітинний рак легень (ДКРЛ) відповідно до сучасної морфологічної класифікації ВООЗ (2021р.) є окремим гістологічним типом РЛ. ДКРЛ становить 13 – 15 % від ЗН легень та є однією з найбільш агресивних пухлин людського організму, який характеризується швидким ростом і метастазуванням, тимчасовою відповіддю до хіміопроменевої терапії [Lokuhetty D, 2021]. 5-річна виживаність пацієнтів становить за різними даними лише 2 – 7 % [Lokuhetty D, 2021, Raso MG, 2021], а для пацієнтів на ранній стадії ДКРЛ, які отримали комбіновану променево та хіміотерапію – до 34 % [Lokuhetty D, 2021].

ДКРЛ має велику кількість генетичних мутацій, що з одного боку зумовлює дуже добру первинну відповідь цих пухлин на цитотоксичну хіміотерапію, а з іншого боку призводить до швидкого розвитку хіміорезистентності [Raso, M., 2021]. На відміну від недрібноклітинних раків легень (НДКРЛ) для ДКРЛ за останні роки все ще не знайдено ефективних методів лікування [Schulze, A., 2019].

Сучасні стратегії лікування ДКРЛ передбачають проведення хіміотерапії до оперативного втручання, за малим винятком випадків, коли не виявлено ураження регіонарних лімфовузлів, тому патоморфологічна діагностика ДКРЛ виконується на біопсійному матеріалі малого об'єму (близько 75 % випадків) або цитологічних зразках (близько 2 %) [Koinis, F., Kotsakis, A., & Georgoulas, V..2016].

Гістологічна діагностика ДКРЛ у біопсіях малого об'єму подекуди може бути викликом для лікаря-патоморфолога, особливо за наявності в біоптаті артефактів та некрозів. Диференційну діагностику ДКРЛ виконують з іншими нейроендокринними пухлинами легень (переважно типовими та атипovими карциноїдами), плоскоклітинним раком легень (особливо його базалоїдним варіантом), круглоклітинними саркомами (наприклад, саркомою Юінга), лімфомами та подекуди з низькодиференційованими аденокарциномами легень або інших первинних локалізацій. У важких випадках для диференційної діагностики використовують імуногістохімічний метод. У біопсіях малого об'єму кількість зрізів є обмеженою, тому важливо вибрати оптимальну панель маркерів, що дозволили б не тільки чітко поставити діагноз, але й, бажано, надати додаткові можливості для прогнозу пухлини та стратегії вибору хіміотерапії [D. Lokuhetty, etc.2021].

Одним з маркерів в діагностичній панелі обов'язково має бути TTF-1, що дозволить підтвердити саме легенеve походження пухлини, однак слід зазначити, що карциноїди дуже часто є негативними до TTF-1 з позитивною реакцією лише на периферії пухлини. Також негативними до TTF-1 є плоскоклітинний рак легень [Lokuhetty D, 2021, Leslie, 2018, Travis, W., 2018]. Крім того, натеper вважається обов'язковим використання хоча б одного з нейроендокринних маркерів, таких як CD56, chromogranin A чи synaptophysin, проте проблема визначення їхньої чутливості та специфічності для вирішення завдань диференційної діагностики та відповідно доцільності їхнього використання в панелі для біопсій малого об'єму залишається актуальною [Dorantes-Heredia, R., 2016, Shuifang, C.,2019].

Також в науковій літературі наявні рекомендації щодо використання комбінації з трьох маркерів TTF-1+CD56+p16 для диференційної діагностики ДКРЛ, що дозволяє чітко відрізнити ДКРЛ від НДКРЛ [M. Swajdler та співавтори, 2018]. Корисним в диференційній діагностиці між карциноїдами та ДКРЛ може бути Ki-67, який, проте, є не достатньо надійним у випадках

атипових карциноїдів [Lokuhetty D, 2021, Travis, W., 2018]. Ще одним цікавим додатковим маркером як для диференційної діагностики, так і для вибору таргетної терапії може бути CD117, позитивна експресія якого наявна у 60 – 80 % ДКРЛ, що теоретично може бути використано для призначення інгібіторів тирозинкінази [Švajdler M. та співавтори, 2018].

Впровадження концепту щодо індивідуалізованого підходу в терапії раку легень, що засновується на урахуванні низки клініко-морфологічних критеріїв і відкритті великого спектру молекулярно-біологічних особливостей цих пухлин, зробило особливо важливим точну класифікацію ДКРЛ.

Серед прогностичних критеріїв ДКРЛ найбільш значущим вважається характеристика поширення пухлинного процесу, що визначається за системою TNM і за поділом на локалізовану форму ДКРЛ (Л-ДКРЛ) та розповсюджену форму ДКРЛ (Р-ДКРЛ) [L. Wang та співавтори, 2018].

Класифікація ДКРЛ також спирається на сучасні методи молекулярно-біологічної діагностики, до арсеналу яких входять імуногістохімічний, цитогенетичний і метод рідинної біопсії.

Не зважаючи на великий обсяг накопичених знань щодо молекулярних особливостей раку легень, розуміння онкогенезу й тригерних факторів, що сприяють метастазуванню та прогресії дрібноклітинного раку, досі не є повним. Найбільшими викликами сучасної онкоморфології є визначення тригерних факторів агресивної поведінки ДКРЛ і визначення таких молекулярно-генетичних змін у них, вплив на які дозволить уникнути розвитку хіміорезистентності [Raso M., 2021, A. Schulze, etc, 2019].

Зокрема, одним з факторів, що обумовлює пухлинну прогресію та резистентність до променевої та хіміотерапії є поява в пухлині субпопуляції стовбурових ракових клітин. CD44 є одним з маркерів стовбурового фенотипу, що локалізується у клітинній мембрані та бере участь у регуляції проліферації, диференціюванні, рухливості та інвазії ракових клітин. CD44 є маркером прогнозу перебігу злоякісних пухлин різної локалізації, проте в науковій

літературі бракує даних щодо прогностичного значення CD44 в ДКРЛ [Wang Y, 2021].

Іншим важливим прогностичним критерієм раку різної локалізації є ЕМТ. На рівні світлової мікроскопії ДКРЛ мають ознаки, притаманні раку з ЕМТ, а саме: втрата міжклітинних зв'язків, будова з дрібних незрілоподібних округлих та веретеноподібних клітин, а також характеризуються високою мітотичною активністю. ДКРЛ з ознаками ЕМТ характеризується початковою чутливістю до хіміотерапії з подальшим набуттям до неї резистентності [Ito T. та співавтори, 2017].

ЕМТ є процесом втрати епітеліальних характеристик з набуттям мезенхімального фенотипу. ЕМТ сприяє інвазії пухлини та прогресуванню раку, а також пов'язана із метастазуванням і гіршою виживаністю пацієнтів на рак легень. На сьогодні в науковій літературі переважно висвітлюється прогностичне значення ЕМТ недрібноклітинного раку легень, тоді як дані щодо процесів ЕМТ та її клінічне значення при ДКРЛ залишаються недостатньо дослідженими [Taichi M., 2019].

Отже, наведені дані свідчать про необхідність подальшого ретельного визначення впливу клініко-морфологічних та молекулярно-біологічних критеріїв на механізми прогресії та перебігу ДКРЛ.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконана в рамках планової науково-дослідної роботи кафедри патологічної анатомії Харківської медичної академії післядипломної освіти «Патогістологічна та імуногістохімічна діагностика та прогноз перебігу злоякісних пухлин різної локалізації з урахуванням їх біологічних властивостей та клінічного перебігу» (№ державної реєстрації 0117U000594, 2017-2022).

**Мета дослідження** – удосконалення діагностики та морфологічних критеріїв прогнозу перебігу ДКРЛ на підставі дослідження клініко-морфологічних та молекулярно-біологічних характеристик цих пухлин з різною клінічною поведінкою.

**Для досягнення визначеної мети було поставлено такі завдання:**

1. Провести аналіз місця ДКРЛ серед причин смерті пацієнтів лікарень м. Харкова за 2010 – 2020 рр. та встановити клініко-морфологічні особливості ДКРЛ.
2. Визначити оптимальну диференційно-діагностичну панель імуногістохімічних маркерів ДКРЛ на матеріалі біоптатів малого об'єму.
3. Встановити імуногістохімічні особливості лікувального патоморфозу ДКРЛ.
4. Оцінити імуногістохімічні критерії ДКРЛ для визначення біологічної та клінічної поведінки пухлини.
5. Провести аналіз наявності та особливостей ЕМТ та стовбурового імунофенотипу первинного ДКРЛ на гістологічному й молекулярно-генетичному рівні, визначити їхню роль у клінічній поведінці пухлини.
6. Визначити найбільш інформативні прогностичні гістологічні й імуногістохімічні критерії ДКРЛ.

**Об'єкт дослідження:** дрібноклітинний рак легень.

**Предмет дослідження:** клінічні, морфологічні, молекулярно-генетичні характеристики ДКРЛ.

**Методи дослідження:** загально-клінічні, гістологічні, імуногістохімічні та статистичні.

**Наукова новизна отриманих результатів.**

Уперше на підставі комплексного клініко-морфологічного та ІГХ дослідження матеріалу біопсій малого об'єму ДКРЛ отримані нові дані щодо діагностичних та диференційно-діагностичних критеріїв пухлин.

Визначені ІГХ особливості лікувального патоморфозу ДКРЛ. Доведено нижчу експресію Ki-67 ( $p < 0,05$ ) і тенденцію до нижчої експресії TTF-1, CD117, p16 після хіміотерапії ДКРЛ за даними дослідження аутопсійного матеріалу, ніж в цих пухлинах до лікування за даними біопсії.

Надано оцінку та прогностичне значення феномену ЕМТ, що досліджено на молекулярно-біологічному рівні, уперше запропоновано класифікацію ЕМТ ДКРЛ з визначенням її стадії та прогностичного значення перебігу захворювання. Простежено зворотну залежність між терміном ЗВ пацієнтів і стадією ЕМТ ( $p < 0,01$ ). Надано оцінку появи стовбурового фенотипу ракових клітин, що досліджувалося за експресією CD44, визначено прогностичне значення цього маркера.

На підставі комплексного клініко-морфологічного та ІГХ дослідження визначені несприятливі критерії ДКРЛ, запропонована найбільш раціональна панель імуногістохімічних маркерів, що дозволить визначити клінічну поведінку пухлини й надати прогностичну оцінку перебігу захворювання.

### **Практичне значення отриманих результатів**

Результати дисертаційної роботи підтверджують цінність імуногістохімічного дослідження для діагностики, визначення клінічного перебігу та прогнозу ДКРЛ. У біопсіях малого об'єму РЛ при диференційній діагностиці ДКРЛ з пухлинами схожої морфології доведено доцільність застосування таких маркерів: TTF-1, p40 – для виключення плоскоклітинного раку, CD56 – для визначення нейроендокринних пухлин, p16 та CD117 – як додаткові маркери ДКРЛ. Сформовані рекомендації щодо урахування комбінацій зазначених маркерів з визначенням ступеню експресії та відповідної специфічності, що може мати цінність для підбору таргетної терапії пацієнтам з ДКРЛ.

Установлене прогностичне значення комплексу морфологічних та імуногістохімічних ознак ДКРЛ, що дозволить у процесі морфологічної діагностики пухлини встановити основні критерії сприятливого або несприятливого прогнозу захворювання й сприятиме індивідуалізованому підходу до лікування пацієнтів.

**Особистий внесок дисертанта.** Ідея дисертаційної роботи, обґрунтування мети, завдань та способів їх вирішення належать авторові.

Здобувачем проведено науково-патентний пошук, узагальнено дані літератури. Автор самостійно провів набір клінічного матеріалу, даних аутопсій, статистичну обробку отриманих даних. На підставі результатів проведених досліджень здобувачем були визначені диференціально-діагностичні імуногістохімічні критерії ДКРЛ в біопсіях малого об'єму, встановлені клініко-морфологічні та молекулярно-генетичні критерії прогнозу ДКРЛ. Усі розділи дисертації, висновки та практичні рекомендації сформульовано і написано автором самостійно.

Результати дисертаційної роботи впроваджено в практичну діяльність ДУ «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва НАМН України» (м. Харків), КП «Полтавське обласне патологоанатомічне бюро», КП «Дніпропетровське обласне патолого-анатомічне бюро» ДОР, патологоанатомічного відділення КНП «Обласний центр онкології» Харківської обласної ради, у навчальний процес кафедри загальної та клінічної патології медичного факультету ХНУ ім. В.Н. Каразіна (м. Харків), кафедри патологічної анатомії та судової медицини Полтавського державного медичного університету, кафедри патологічної анатомії Харківського національного медичного університету.

#### **Апробація результатів дисертації.**

Основні результати досліджень оприлюднені на The 1st International scientific and practical conference “Innovations and prospects in modern science” (Stockholm, Sweden, 15 – 17 January 2023) та IV International Scientific and Practical Conference «Modern science: theoretical and practical view», (Madrid, Spain, 09 – 10 May, 2023 ).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 5 наукових праць у фахових виданнях України, 2 тези – у матеріалах міжнародних конференцій (Швеція, Іспанія).

**Структура та обсяг роботи.** Дисертація викладена на 171 сторінці комп'ютерного тексту й складається з анотацій, вступу, огляду літератури,

опису матеріалів і методів дослідження, двох розділів з результатами власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел та додатків. Усі морфологічні дослідження проаналізовані відповідними статистичними методами з висновками про достовірність. Результати роботи ілюстровані 17 таблицями, 26 рисунками, що покращують сприйняття матеріалу. Джерела використаної літератури містять 191 найменування (1 кирилицею і 190 латиницею). Наукові положення, висновки та методичні рекомендації дисертації аргументовано впливають із результатів дослідження, є достатньо обґрунтованими, повністю відповідають та завданням дисертації.

## Розділ 1

# СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО ПИТАННЯ БІОЛОГІЧНОЇ ПОВЕДІНКИ ТА ПРОГНОЗУ ДРІБНОКЛІТИННОГО РАКУ ЛЕГЕНЬ (огляд літератури)

### 1.1 Епідеміологія РЛ та місце ДКРЛ в морфологічній класифікації ВООЗ

Рак легень (РЛ) є злоякісною пухлиною з найвищою захворюваністю та смертністю в Україні та світі [1, 57]. Так за даними Національного канцер реєстру України, серед чоловіків рак трахеї, бронхів і легень посідає перше місце від усіх злоякісних новоутворень (ЗН) за показниками як захворюваності, так і смертності та становить 14,5 % та 21,2 % відповідно [1, 191]. За статистичними даними інших країн світу, РЛ також є однією з найбільш поширених причин смерті серед пацієнтів з онкологічними захворюваннями [86, 154].

РЛ є гетерогенною групою злоякісних пухлин, що за даними сучасної морфологічної класифікації ВООЗ (2021р) [84], включає в себе: аденокарциноми, плоскоклітинні раки, лімфоепітеліальну карциному, великоклітинну карциному, аденосквамозну карциному, саркоматоїдну карциному, плеоморфну карциному, карциносаркому, нейроендокринні пухлини, до яких окремо відносять: карциноїди, дрібноклітинний рак легень та великоклітинну нейроендокринну карциному.

ДКРЛ становить близько 13 % від РЛ та 95 % від усіх нейроендокринних пухлин високого ступеню злоякісності (high grade) різної локалізації. Водночас іншими позалегеновими локалізаціями нейроендокринних пухлин, найчастіше є назофарингіальна та гастроінтестинальна локалізація [40, 53, 141].

Одним з факторів, що впливають на виникнення ДКРЛ вважається куріння [48]. За окремими даними 55 – 95 % хворих на ДКРЛ є курцями. Слід зазначити, що зниження захворюваності на ДКРЛ за останні 30 років з 17 % –

20 % від загальної кількості РЛ до 15 % перш за все обумовлено зниженням числа курців та використанням цигаркових фільтрів [22].

Іншою нейроендокринною пухлиною легень є великоклітинна нейроендокринна пухлина, що становить близько 3 % раків легень, які видаляються хірургічно. Карциноїди становлять 1 – 2 %, серед них атипові карциноїди виявляються в 10% випадків [155].

Часто карциноїдні пухлини розглядаються разом з ДКРЛ чи ВКРЛ, що обумовлено дуже схожою морфологією. Класифікація ВООЗ від 2021р. включає в себе також категорії комбінованих ВКРЛ та ДКРЛ, що трапляються у 25% випадків. Обидві категорії пухлин включають у себе ВКРЛ та ДКРЛ у комбінації з компонентом НДКРЛ, найчастіше аденокарциномою, плоскоклітинною пухлиною або карциноїдною пухлиною [101].

Слід зазначити, що карциноїдні пухлини лише віддалено пов'язані зі значно більш злоякісними ДКРЛ та ВКРЛ з великими відмінностями в клінічних, епідеміологічних, патоморфологічних і молекулярних особливостях [77, 155]. Так 5-річна виживаність пацієнтів з типовим карциноїдом становить 90 %, а з атиповим карциноїдом – 40 – 60 % [155, 161], з великоклітинною нейроендокринною карциномою – дуже низька, залежить від ефективності хірургічного лікування і загалом дещо вища порівняно з ДКРЛ [163].

Сучасна класифікація ВООЗ пухлин легень враховує останні відкриття в молекулярній структурі цих пухлин та їхні генетичні особливості [84, 152,155]. У минулих класифікаціях ВООЗ діагноз раку легень засновувався переважно на світловій мікроскопії з рутинним забарвленням гематоксиліном та еозином і подеколи з використанням забарвлення на муцин. Імуногістохімічний метод, як важлива частина діагностичного алгоритму, був уперше згаданий у класифікації 1999 року, і навіть у класифікації 2004 року його роль була обмежена лише застосуванням для підтвердження діагнозів крупноклітинної нейроендокринної та саркоматоїдної карциноми, а також випадками диференційної діагностики між раком легень та злоякісною мезотеліомою. У

класифікації 2015 року імуногістохімічний метод нарешті набув широкого використання. Сьогодні він рекомендований для використання не тільки у випадках біопсій з малою кількістю матеріалу та під час цитологічного дослідження, а й під час дослідження післяопераційного матеріалу таких гістологічних підтипів раку легень, як: солідна аденокарцинома, незроговілий плоскоклітинний рак легень, крупноклітинний рак легень, усі нейроендокринні та саркоматоїдні пухлини [161].

Упровадження концепту щодо індивідуалізованого підходу в терапії раку легень, що засновується на відкритті великого спектру молекулярно-біологічних особливостей цих пухлин, зробило особливо важливим точну класифікацію та діагностику. Зараз сучасний лікар-патолог усвідомлює важливість молекулярного типування раків легень, бо мутації в EGFR та перебудови в генах ALK та ROS1, що характерні для аденокарцином, свідчать про ефективність такого протипухлинного препарату, як пеметрексед, тоді як моноклональне антитіло до VEGF-A (бевацизумаб) є ефективним лікарським засобом переважно в пацієнтів з плоскоклітинним раком легень, так само як і антитіло проти PD-1 (ніволумаб), що відібране для таргетної терапії пацієнтів з пізньою стадією плоскоклітинного раку [157,158]. Усе зазначене вище відкриває нові можливості в роботі лікаря-патологоанатома й потребує від нього доброго знання молекулярних характеристик раків легень і володіння низкою сучасних методів їхньої молекулярно-біологічної діагностики.

## **1.2 Методи морфологічної діагностики та молекулярні характеристики РЛ, диференційна діагностика ДКРЛ**

Сучасні стратегії лікування ДКРЛ передбачають проведення хіміотерапії до оперативного втручання, за малим винятком випадків, коли не виявлено ураження регіональних лімфовузлів, тому патоморфологічна діагностика ДКРЛ виконується на біопсійному матеріалі малого об'єму (близько 75 % випадків) або цитологічних зразках (близько 2 %) [70].

Гістологічна діагностика ДКРЛ у біопсіях малого об'єму подекуди може бути викликом для лікаря-патоморфолога, особливо за наявності в біоптаті артефактів і некрозів. Диференційну діагностику ДКРЛ виконують з іншими нейроендокринними пухлинами легень (переважно типовими та атипovими карциноїдами), плоскоклітинним раком легень (особливо його базалоїдним варіантом), круглоклітинними саркомами (наприклад, саркомою Юінга), лімфомами та подеколи з низькодиференційованими аденокарциномами легень. У важких випадках для диференційної діагностики використовують імуногістохімічний метод дослідження [12, 84, 119]. У біопсіях малого об'єму кількість зрізів є обмеженою, тому важливо обрати оптимальну панель маркерів, що дозволило би не тільки поставити правильний діагноз, а й бажано надати додаткові можливості для прогнозу перебігу захворювання та вибору хіміотерапії.

Зазвичай дуже важко бути впевненим у нейроендокринній морфології без значного взяття проби пухлини. Тож термін «великоклітинна карцинома з нейроендокринною морфологією» за цитологічними характеристиками може бути використаний для пухлин, що нагадують ВКНЕК за світловою мікроскопією без доказу нейроендокринного їхнього походження на молекулярному рівні [155, 163].

ВКНЕР є високозлоякісною недрібноклітинною нейроендокринною карциномою, що відповідає таким критеріям: нейроендокринна морфологія (органоїдність, палісадність, наявність трабекулярних або розеткоподібних патернів росту); недрібноклітинні цитологічні ознаки (великий розмір, багатокутна форма, низьке ядерно-цитоплазматичне співвідношення, грубий або везикулярний ядерний хроматин); високий мітотичний індекс ( $\geq 11$  на  $2 \times 10^{-6}$  м<sup>2</sup> із в середньому 60 мітозами на  $2 \times 10^{-6}$  м<sup>2</sup>); часті некрози; наявність позитивної реакції принаймні з одним маркером, який дозволяє визначити нейроендокринну природу пухлини [155].

Нейроендокринні пухлини характеризуються однорідністю клітинної популяції, органоїдним типом будови, помірною еозинофілією клітин, дрібнозернистою цитоплазмою та дисперсністю ядерного хроматину. Гістологічні й цитологічні характеристики також можуть бути варіабельними, можливі утворення фолікулярних і папілярних структур, поява перснеподібних клітин тощо.

Клітини ДКРЛ мають меншу площу цитоплазми, що зумовлює більш базофільний вигляд цієї пухлини при мікроскопії порівняно з карциноїдами. Залежно від наявності ознак нейроендокринного генезу ДКРЛ ці пухлини можна розділити на два клітинні підтипи: класичні ДКРЛ – за наявності позитивної реакції з маркерами, що визначають нейроендокринну природу пухлин, як-от молекула адгезії нервових клітин (NCAM), синаптофізін (SYN) і хромогранін А (CHGA) та варіантні ДКРЛ – за відсутності реакцій зі вказаними маркерами [190]. 16 % ДКРЛ мають низький нейроендокринний тип [190].

Атиповий карциноїд характеризується високою мітотичною активністю клітин з мітотичним індексом від 2 до 10 на 2 мм<sup>2</sup> або наявністю невеликих осередків некрозів, що характеризує їх як ЗН меншого ступеня злоякісності ніж ДКРЛ чи ВКНЕР, які демонструють мітотичну активність з числом мітозів більше ніж 10 на 2 мм<sup>2</sup> та більш поширені поля некрозів [122].

Одним з маркерів у діагностичній панелі обов'язково має бути TTF-1, що дозволить підтвердити саме легеневе походження пухлини, однак слід зазначити, що карциноїди дуже часто є негативними до TTF-1 з позитивною реакцією лише на периферії пухлини, також негативним до цього маркера є плоскоклітинний рак легень [80, 84, 155]. Дані щодо експресії TTF-1 неоднозначні. За окремими даними периферичні карциноїдні пухлини є частіше позитивними до TTF-1 ніж центральні. Карциноїдні пухлини позитивні до нейроендокринних маркерів, таких як хромогранін А, синаптофізін і CD56 [80, 84, 170]. Водночас CD 56 є найбільш чутливим, але найменш специфічним маркером, тому його використання в панелі маркерів для біопсій малого об'єму

може бути розумним вибором [84, 150]. Так в одній з наукових праць рекомендується використовувати для диференційної діагностики ДКРЛ комбінацію з трьох маркерів TTF-1+CD56+p16. У роботі відзначено позитивну експресію p16 у 94 % ДКРЛ, а комбінація з CD56 дозволила чітко відрізнити ДКРЛ від НДКРЛ [150].

Нейроендокринні маркери експресуються в ДКРЛ та відповідно застосовуються в діагностиці [152]. Хоча, навіть при використанні повної панелі нейроендокринних маркерів, деякі ДКРЛ демонструють відсутність їхньої експресії [119,120]. Дослідження, що були проведені переважно на доклінічних моделях з використанням клітинних ліній ДКРЛ і генетично модифікованих мишачих моделях, виявили окремі підтипи ДКРЛ, які визначаються різними програмами експресії генів, що у свою чергу можуть керуватись факторами транскрипції нейронів ASCL1 і NEUROD1 – це підтипи ДКРЛ-А та ДКРЛ-Н відповідно [123]. Підтип ДКРЛ-А пов'язаний з високою експресією нейроендокринних маркерів [17, 93, 62], тоді як пухлини підтипу ДКРЛ-Н демонструють нижчу експресію нейроендокринних маркерів [15, 17, 93]. Згодом було встановлено, що підгрупа подвійно негативних ASCL1/NEUROD1 ДКРЛ, так званих ненеуроендокринних ДКРЛ, експресує POU2F3 – маркер хемосенсорних пучкових клітин (brush cells). Ця підгрупа ДКРЛ склала підтип ДКРЛ-Р [56, 100, 62]. Наступна підгрупа характеризується експресією YAP1, який є регулятором транскрипції в сигнальному шляху росту HIPPO, що переважно визначається серед ненеуроендокринних ДКРЛ, ця група пухлин склала підтип ДКРЛ-У [44, 45, 92].

POU2F3 є нещодавно відкритим маркером ДКРЛ, що враховується для визначення підтипу пухлин ДКРЛ-Р. Раки цього підтипу асоціюються з резистентністю до хіміотерапії, становлять близько 12 % пухлин ДКРЛ та переважно пов'язані із низькою експресією стандартних нейроендокринних маркерів (синаптофізину, хромограніну А, CD56, INSM1) [8, 9]. POU2F3 не експресується в аденокарциномах легень, карциноїдах, лімфомах і меланомах

[45, 119, 123]. Проте POU2F3 експресується в базалоїдному плоскоклітинному раку [72], тимоммах [182]. На практиці маркер до POU2F3 може бути застосованим, як маркер діагностики ДКРЛ з низькою або відсутньою експресією нейроендокринних маркерів. Проте питання про те, чи може POU2F3 мати практичне застосування як додатковий маркер у діагностиці ДКРЛ залишається відкритим [8, 10, 140].

Слід зазначити, що ці чотири підтипи ДКРЛ були відомі й досліджувалися на генетичному рівні, тоді як установлення експресії маркерів, котрі визначають ці підтипи, та відповідно встановлення білків ІГХ методом, не є детально дослідженим, хоча сам ІГХ метод має велике значення в клінічній практиці [9, 176].

Корисним маркером у діагностиці ДКРЛ і диференційній діагностиці між карциноїдами та ДКРЛ може бути Ki-67. Типові й атипіві карциноїди мають рівень експресії Ki-67 від 5 до 20 % клітин, і цей маркер може бути використаний для диференціальної діагностики з ДКРЛ, у яких відсоток Ki-67 – позитивних клітин – становить більше за 50 – 70 % [142, 162]. ПП вище за 30 % у переважній більшості випадків свідчить на користь ДКРЛ, але іноді можливі помилки у випадках атипівіх карциноїдів [84, 155].

Ще одним цікавим додатковим маркером, як для диференційної діагностики, так і для вибору таргетної терапії може бути CD117 [36, 155, 139]. За різними даними від 60 до 80 % ДКРЛ можуть експресувати CD117 [36, 155], що теоретично може бути використано для призначення інгібіторів тирозинкінази.

ІГХ метод діагностики вже багато років є поширеним не тільки закордоном, але й в практиці українських лікарів-патологоанатомів та дозволяє провести об'єктивну диференційну діагностику пухлин легень, визначити їхній гістогенез і гістологічний тип згідно з морфологічною класифікацією. Для аденокарцином легень зазвичай використовується така панель маркерів, як: TTF1 (маркер пневмоцитів), AE1/AE3, ЦК7, Beta catenin, Napsin A [10, 21]. Для

особливого типу інвазивної аденокарциноми легень – кишкової аденокарциноми (аденокарцинома з превалюванням компонента, який нагадує аденокарциному, що походить з колоректального епітелію) використовують імуногістохімічний маркер CDX2, з яким вона часто показує позитивну реакцію [60]. Також не слід забувати про визначення експресії таких маркерів, як EGFR та ALK, бо це є необхідним для правильного призначення таргетної терапії пацієнтам [161]. Для плоскоклітинних раків легень використовують таку панель маркерів, як: p63 (позитивна експресія майже в усіх випадках), цитокератини 5/6 (87 – 100 % випадків), ЕМА й тромбомодулін (87 – 100 %). Варіабельною буде експресія таких маркерів, як: CD15, СЕА, HPV, mesothelin (16 – 31 %), p53, p40 та S100. Негативною буде реакція на vimentin, TTF-1 та Napsin A [21], а також визначення експресії VEGF та PD-1 для призначення таргетної терапії [160, 161].

Загалом для аденокарцином легень виділено 18 статистично значущих мутацій, що трапляються з такою частотою: TP53 (46 %), KRAS (33 %), KEAP1 (17 %), STK11 (17 %), EGFR (14 %), NF1 (11 %), BRAF (10 %), SETD2 (9 %), RBM10 (8 %), MGA (8 %), MET (7 %), ARID1A (7 %), PIK3CA (7 %), SMARCA4 (6 %), RB1 (4 %), CDKN2A (4 %), U2AF1 (3 %), RIT1 (2 %) [60,153]. Також приблизно 75 % аденокарцином легень мають генетичні зміни, що активують RTK/RAS/RAF сигнальний шлях онкогенезу. Визначення таких змін надає можливість лікарям-онкологам призначати ефективну таргетну терапію інгібіторами тирозинкінази. Із зазначених вище 75 % пухлин, 62 % становлять зміни в пускових молекулах, а саме мутації KRAS (32 %), EGFR (11 %) та BRAF (7 %). До інших генетичних змін, що активують RTK/RAS/RAF-сигнальний шлях, належить втрата 14 екзона – MET (4,3 %), ERBB2 (або HER2) мутація (1,7 %), ROS1 з'єднання (1,7 %), ALK з'єднання (1,3 %), MAP2K1 мутація (0,9 %), RET з'єднання (0,9 %), NRAS мутація (0,4 %) та HRAS мутація (0,4 %). Дослідження ДНК решти 38 % пухлин, які не мали змін у генах, що стимулювали активацію RTK/RAS/RAF сигнального шляху, виявило зміни в

онкогенах самого RTK/RAS/RAF сигнального шляху, а саме: ERBB2 ампліфікація (0,9 %) та MET ампліфікація (2,2 %). Були також виявлені нові генетичні зміни в цьому сигнальному шляху: мутації NF1 та RIT1. NF1 – пухлиносупресуючий ген, що регулює RTK/RAS/RAF сигнальний шлях, частота мутацій у NF1 дорівнювала 8,3 %; частота RIT1 мутацій становила 2,2 % [60, 153].

Для плоскоклітинного раку легень встановлено 11 значущих мутацій: TP53 (90 % усіх мутацій), CDKN2A, PTEN, PIK3CA, KEAP1, MLL2, HLA-A, NFE2L2, NOTCH1, RB1 та PDYN. Мутація в гені гістосумісності HLA-A клас I, що призводила до втрати функції цього гену, також була типовою тільки для плоскоклітинного раку легень. Аналіз механізмів онкогенезу виявив мутації в шляхах, що були пов'язані з кисневим ушкодженням (до них належали мутації KEAP1 та NFE2L2) – 34 %; мутації в шляхах, пов'язані з плоскоклітинним диференціюванням (гіперекспресія SOX2 та TP63) – 44 %; активація PI3K/АКТ шляху – 47 %; інактивація CDKN2A – у 72 % плоскоклітинних раків легень [60, 153].

ДКРЛ має велику кількість зазначених вище генетичних мутацій, зокрема NOTCH, MYC, ASCL1, NEUROD1, POU2F3, YAP1, STK11, KEAP1, метилювання ДНК тощо [6, 9, 20, 110, 140, 174]. Біологічна гетерогенність ДКРЛ почала визначатися порівняно нещодавно. Велика кількість генетичних мутацій, з одного боку, зумовлює дуже добру первинну відповідь цих пухлин на цитотоксичну хіміотерапію, а з іншого – призводить до швидкого розвитку хіміорезистентності [116, 133]. На відміну від НДКРЛ для ДКРЛ за останні роки все ще не знайдено ефективних методів лікування [99, 133].

ДКРЛ характеризувався значущою мінливістю в гені SOX2. Також виявляються мутації в генах, що кодують модифікацію гістонних білків, а саме мутації генів CREBBP, EP300 та MLL. Вірогідно, що модифікація гістонних білків є однією з головних рис ДКРЛ [60, 153]. Важливу роль у проліферації та метастазуванні ДКРЛ відіграє NOTCH шлях. Порушення функціонування цього

сигнального шляху є ключовою подією в пухлинній прогресії ДКРЛ та в розвитку хіміорезистентності. Зокрема, дельтоподібний протеїн-3 (DLL3) – ліганд, що інгібує NOTCH шлях і чия експресія пов’язана з транскрипційним фактором ASCL1, експресується у 85 % ДКРЛ, хоча в нормальній тканині легень він демонструє мінімальну чи негативну мембранну експресію. Це робить DLL3 потенційно цікавим біомаркером для розробки таргетної терапії ДКРЛ. Натепер уже проводилися клінічні дослідження з використанням таргетної анти-DLL3 терапії ровалпітузумабом, однак отримані результати потребують подальшої доробки схем терапії, бо незважаючи на дуже добрі результати в першій фазі клінічних досліджень, препарат показав суперечливі результати на подальших етапах [79].

Молекулярно-генетична діагностика з ІГХ методом наразі використовується у випадках ДКРЛ з великою кількістю некрозів і за невеликої кількості біопсійного матеріалу, коли постановка діагнозу з використанням лише забарвлення гематоксиліном та еозином може спричиняти труднощі. ДКРЛ демонструє позитивну експресію таких маркерів, як: SOX2, синаптофізин, хромогранін А, INSM1 (90 – 100 % специфічність, але низька чутливість), CD56, TTF-1 (негативна реакція тільки в 15 – 20 % пухлин), papsin А (перинуклеарна точкова реакція), p16, CD117, PAX5, p53, кальретинін (48 %), ЦК8, ЦК7 (точкова слабка чи дифузна). Негативна реакція на CD138, CD57, p63, PAX8, ЦК20 [21, 78].

ЦК7 та ЦК20 не є достатньо корисними для діагностики ДКРЛ, адже позитивна реакція до ЦК7 визначається лише в половині випадків, а до ЦК20 – у близько 10% [14, 175]. Можливий так званий «dot-like» паттерн ракових клітин, що характеризується появою точкового перинуклеарного забарвлення цитоплазми на маркери цитокератинів, переважно низької молекулярної ваги та описано в раку клітин Меркеля, нейроендокринних пухлинах, дрібноклітинних раках яєчників, ниркових онкоцитомах, гранульозоклітинних пухлинах [127].

Імуногістохімічний аналіз для діагностики ДКРЛ зазвичай включає такі маркери: панцитокератин, CD56, хромогранін А, синаптофізин, TTF-1 та Ki-67. Якщо зразки не реагують з антитілами до панцитокератину, слід виключити інші пухлини, такі як: лімфома (CD45 і CD20), примітивні нейроектодермальні пухлини (CD99) і меланома (S100). Приблизно 80% ДКРЛ демонструють позитивну реакцію з TTF-1. ІІ Ki-67 коливається від 80% до 100% і може бути використаний для диференціювання ДКРЛ та карциноїду. Диференціювати ДКРЛ від базалоїдного плоскоклітинного раку можна за допомогою імуногістохімічного аналізу. Так експресія нейроендокринних маркерів і TTF-1 спостерігається в ДКРЛ, тоді як експресія рб3 (4A4) і високомолекулярних цитокератинів (ЦК5/6 або 34bE12) наявна в базалоїдному плоскоклітинному раку[22].

Сучасна патоморфологічна діагностика раку легень неможлива без визначення їхніх молекулярних особливостей, оскільки це є важливою складовою як в постановці точного гістологічного діагнозу так і в подальшому лікуванні хворих за допомогою таргетної хіміотерапії [111]. До арсеналу сучасних методів молекулярно-біологічної діагностики входять такі методи як: імуногістохімічний, цитогенетичний та метод рідинної біопсії. Найбільшими викликами сучасної онкоморфології є визначенням тригерних факторів агресивної поведінки ДКРЛ та визначення таких молекулярно-генетичних змін в них, вплив на які дозволить уникнути розвитку хіміорезистентності.

### **1.3 Клінічні характеристики та прогностичні критерії ДКРЛ**

Одним з найбільш злоякісних гістологічних типів ЗН легень як серед нейроендокринних, так і серед усіх раку легень – є дрібноклітинний рак легень (ДКРЛ). ДКРЛ становить близько 15% вперше діагностованих РЛ та характеризується швидким ростом та раннім метастазуванням [69, 167]. Метастази виявляються у 60-70% хворих на ДКРЛ [22]. 5-річна виживаність хворих з діагнозом ДКРЛ за різними даними становить 2-7% [16, 19, 84, 116,

184]. За окремими даними, середній час від встановлення діагнозу до настання смерті без лікування становить 2-4 місяця [22], а у випадках з лікуванням –  $123 \pm 89$  днів. ДКРЛ часто дуже чутливий до хіміотерапії, проте при початковому зменшенні пухлини, в подальшому прогресія пухлини зберігається та смерть настає у перші 2 роки після встановлення діагнозу[22].

Прогноз перебігу ДКРЛ залежить від низки клінічних факторів, таких як вік пацієнта, стать, працездатність, клінічна стадія, тощо [167]. Так, якщо 5-річна виживаність пацієнтів становить в середньому близько 6%, то для пацієнтів на ранній стадії ДКРЛ, які отримали комбіновану променевою та хіміотерапію – до 34% [84].

Серед прогностичних критеріїв ДКРЛ найбільш значущим вважається характеристика поширення пухлинного процесу, що визначається за системою TNM та за поділом на локалізовані ДКРЛ (Л-ДКРЛ) та поширення ДКРЛ (Р-ДКРЛ). Іншими найбільш важливими несприятливими прогностичними критеріями є поганий загальний статус пацієнта (poor performance status), втрата маси тіла, окремі маркери сироватки крові, зокрема підвищення лактатдегідрогенази. Факторами сприятливого прогнозу є: молодий вік пацієнтів, добрий загальний стан, нормальний рівень креатиніну крові, серед пацієнтів з Р-ДКРЛ – одиничне метастазування [22].

До Л-ДКРЛ належать випадки без метастазування з іпсилатеральним чи контралатеральним ураженням середостіння, а також можливим ураженням надключичних лімфатичних вузлів [22]. ДКРЛ виявляється на стадії Л-ДКРЛ лише в 30 % випадків. 5-річна виживаність пацієнтів з Л-ДКРЛ, за окремими даними, становить 10 – 15 %, зі середньою виживаністю 15 – 20 місяців [22], за іншими даними – в 30 – 35 %, 2-річна виживаність до 56 % зі середньою виживаністю 45 місяців при ПХТ platinum/etoposide та променевої терапії грудної клітки в режимі 45 Гр фракційно 30 сеансами з рекомендованою наступною профілактичною променевою терапією головного мозку [37, 53].

Залишається також актуальною проблематика комбінованої ПХТ, променевої та таргетної терапії ДКРЛ, зокрема імунотерапії.

Р-ДКРЛ становить близько 70 % вперше виявлених ДКРЛ, з середньою виживаністю при лікуванні – 8-12 місяців [58, 167]. 5-річна виживаність пацієнтів становить 1 – 2 %, 2-річна виживаність – 10 %, зі середньою виживаністю 8 – 10 місяців [22]. Показник виживаності пацієнтів залежить від терапії. Так серед пацієнтів з Р-ДКРЛ частота відповіді на терапію етопозид/цисплатином становить 60 – 80 % з медіаною виживаності близько 8 - 12 місяців та 5-річною виживаністю менше за 5% [22].

Незважаючи на відносно високої частоти відповіді на першу лінію комбінованої терапії, приблизно 80 % пацієнтів з Л-ДКРЛ та майже всі пацієнти з Р-ДКРЛ мають в подальшому рецидивування чи прогресування захворювання [22]. Серед пацієнтів, у яких спостерігався рецидив протягом 3 місяців після початкової терапії (рефрактерне або резистентне захворювання), рівень відповіді на додаткову хіміотерапію становив менше 15 %. Однак, якщо час між початковою терапією та рецидивом перевищував 3 місяці, рівень відповіді на додаткову хіміотерапію становив 15 – 60 % [69, 91].

Іншим вагомим прогностичним критерієм ДКРЛ є стадіювання захворювання за системою TNM, яке враховує розмір пухлини, її інвазійні властивості, наявність чи відсутність метастазів у лімфатичні вузли та внутрішні органи. За окремими даними, середня виживаність пацієнтів на ДКРЛ IIIA стадії становить 11 місяців, серед яких при пухлині з найбільшим розміром  $\leq 4$  см – 16 місяців, а при  $> 4$  см – 8 місяців [167]. За отриманими даними, розмір пухлини та число уражених лімфатичних вузлів мали вплив на виживаність пацієнтів, тоді як вік, стать, паління та навіть методи терапії не мали суттєвого впливу на наслідок захворювання [167].

Відповідно до прогностичних характеристик, перш за все – стадії захворювання, згідно з міжнародними рекомендаціями, призначається лікування пацієнтів [55].

Питання доцільності хірургічного лікування ДКРЛ досі залишається відкритим [179]. Окремі ретроспективні дослідження показали, що хірургічне лікування може покращити виживання пацієнтів I стадії ДКРЛ порівняно з I стадією при променевої терапії або одночасному застосуванні хіміопроменевої терапії [85, 183]. Сучасні рекомендації Current American Society of Clinical Oncology, National Comprehensive Cancer Network та European Society for Medical Oncology вказують на те, що хірургічну резекцію слід розглядати лише в пацієнтів з I стадією ДКРЛ [98, 179]. Однак у реальності хірургічне втручання було проведено як на ранніх, так і на пізніх стадіях ДКРЛ, або як частина комплексного лікування та як засіб підтвердження діагнозу [179].

В масштабному дослідженні Xu Long та співавт. [179] встановлено, що з 26659 пацієнтів на ДКРЛ хірургічне лікування було проведено в 627 (2.4 %) випадках. Хірургічне лікування ДКРЛ асоціювалося з більшим терміном ЗВ пацієнтів порівняно з такими, тільки без хірургічного лікування, на IA стадії (45,0 проти 20,0 місяців,  $p < 0,001$ ), IB стадії (47,0 проти 19,0 місяців,  $p = 0,001$ ), ПА стадії (16,0 проти 12,  $p = 0,007$ ), III стадії (18,0 проти 12,0 місяців,  $P < 0,001$ ) і IV стадії (9,0 проти 5,0 місяців,  $P < 0,001$ ) захворювання, хоча різниця не була статистично значущою для пацієнтів з IIB стадією. Багатофакторний аналіз визначив хірургічне лікування як незалежний предиктор покращення виживаності для всіх стадій ДКРЛ за винятком IIB стадії. 3-річна виживаність серед пацієнтів з хірургічним видаленням пухлини та нехірургічним лікуванням становила при IA стадії – 59,7 % та 27,1 %, при IB стадії 52,4 % та 33,0 %, при ПА стадії 75,0 % та 20,5 %, при III стадії 29,3 % та 16,9 %, та при IV стадії 6,8 % та 2,7 % [179].

Незважаючи на велику кількість препаратів, ефективних при ДКРЛ, комбінації етопозиду з цисплатином (схема XT-EP) та з циклофосфаном, доксорубіцином, вінкрістином (схема XT-CAV) стали стандартними режимами хіміотерапії. Для Л-ДКРЛ режим EP є найбільш оптимальним у поєднанні з

опроміненню пухлини. Початок променевої терапії (ПТ) має бути максимально наближений до початку хіміотерапії, тобто найкраще ПТ починати або на тлі проведення 1-2 курсів хіміотерапії, або після проведення оцінки ефективності лікування двох курсів ХТ. Хворим, у яких досягнуто повну ремісію, рекомендується проведення профілактичного опромінення головного мозку в сумарній дозі 30 Гр у зв'язку з високим ризиком (до 70 %) метастазування в головний мозок [179].

У хворих на розповсюджену форму ДКРЛ основним методом лікування є комбінована хіміотерапія в тих самих режимах, а опромінення проводиться лише за спеціальними показаннями на окремі осередки ураження. Застосовуються схеми EP, CAV або CDE (4 – 6 курсів). Загальна ефективність хіміотерапії становить 70 %, але повна регресія досягається лише у 20 % хворих [179].

Низька ефективність наявних методів хіміотерапії ДКРЛ обумовлена хіміорезистентністю пухлини, що розвивається за короткий проміжок часу [79,125]. Саме тому найбільшими викликами сучасної онкоморфології є визначення тригерних факторів агресивної поведінки ДКРЛ та визначення критеріїв морфологічних та молекулярно-генетичних змін в них, вплив на які дозволить уникнути розвитку хіміорезистентності [134].

Так, окрім молекулярно-біологічних характеристик безпосередньо пухлинних клітин, до прогностичних критеріїв ДКРЛ включено також характеристики пухлинного мікрооточення, ангиогенезу, реакції імунокомпетентних клітин, інших стромальних факторів [71, 122]. Нині триває багато досліджень щодо використання та ефективності нових цільових методів лікування, як от: інгібітори рецепторів фактору росту, інгібітори ангиогенезу та промотори апоптозу, проте ці препарати не були схвалені для лікування ДКРЛ [22].

За даними Liu L. та співавт. [81] серед значущих прогностичних критеріїв Л-ДКРЛ відзначаються стать, паління, розмір пухлини,

метастазування у регіонарні лімфатичні вузли, метастазування у внутрішні органи, веретеноподібна морфологія клітин та наявність TILs. Водночас маркери нейроендокринного фенотипу ДКРЛ не мали прогностичного значення. За результатами дослідження саме TILs мали вплив на ЗВ. Визначено, що TILs >30 % негативно корелювали з виживаністю пацієнтів [81].

На сьогодні досліджуються нові імуномодельючі фактори, які можуть потенціювати дію анти-PD-L1 антитіл, як от: LAG3, що експресується у активованих Т- і NK-клітинах [47]; TIGIT – у активованих Т-клітинах та Т-хелперах [28]; ILT4, що експресується в мієлоїдних клітинах [42]; CD27, що бере участь у проліферації Т-клітин і диференціації до клітин пам'яті та ефекторних клітин [42]. Інгібітори полі-АДФ-рибозополімерази (PARPi), були схвалені для лікування раку яєчників, раку передміхурової залози, раку молочної залози та наразі досліджуються в ДКРЛ, ураховуючи їхній потенціал цитотоксичної відповіді на хіміотерапію, радіотерапію та імунотерапію [11, 47]. Триває клінічне випробування олапарибу PARPi, доданого до хіміоімунотерапії як терапії першої лінії у пацієнтів з Р-ДКРЛ. Проте наразі PARPi продемонстрував обмежену активність у пацієнтів з ДКРЛ, що свідчить про необхідність кращого відбору пацієнтів [73].

Інші препарати, досліджувані в комбінації з хіміоімунотерапією – <sup>177</sup>Lu-DOTATATE, радіонуклідна терапія – націлені на рецептор соматостатину; BMS-986012 – моноклональне антитіло – проти фукозил-GM1; LB-100 – інгібітор протеїн-фосфатази 2A (PP2A). Також дослідження були зосереджені на визначенні конкретних підгруп пацієнтів, на яких імунотерапія має позитивний чи інший вплив. Останніми роками імунні сигнатури були розроблені та вивчені в кількох типах раку [159]. Спеціально для ДКРЛ дві нещодавно опубліковані роботи проливають світло на цю тему. Хіе та співавт., 2021 [178] визначили прогностичну систему оцінки фенотипу ДКРЛ, що складається з визначених мутацій у 10 генах ракових клітин, а саме: ARAF, HDGF, INHBE, LRSAM1, NR1D2, NR3C1, PLXNA1, PML, SP1 і TANK. Ця

система здатна сприяє прогнозу ЗВ пацієнтів на ДКРЛ, проте потребує подальших досліджень і визначення прогностичних критеріїв щодо імунотерапії.

Останніми роками комбінування імунотерапії та антиангіогенних препаратів було досліджено як стратегію лікування кількох типів раку на основі потенційної синергії між цими двома класами засобів [143]. Антиангіогенні препарати можуть сприяти Т-клітинній інфільтрації в пухлинах і зменшувати імуносупресію, таким чином посилюючи ефект імунотерапії. На сьогодні існує кілька клінічних досліджень, у яких вивчалася що комбінація хіміоімунотерапії з антиангіогенними препаратами в першій лінії лікування та комбінацію інгібіторів імунних контрольних точок та антиангіогенних агентів, як підтримувальної терапії. Примітно, що АК112 – біспецифічне антитіло проти PD-L1 і VEGF – зараз досліджується з карбоплатином та етопозидом у фазі I дослідження [143].

Нині встановлена роль окремих факторів неоангіогенезу в розвитку та прогресії ДКРЛ. Фактор росту ендотелію судин (VEGF) і його рецептор (VEGFR) є ключовими факторами неоангіогенезу, що мають вплив на клінічну поведінку раку різної локалізації та ДКРЛ зокрема [87, 157, 158]. Більш висока концентрація VEGF у сироватці корелює з поганою виживаністю хворих на ДКРЛ [128]. Проте, бевацизумаб – моноклональне антитіло проти VEGF – не подовжував виживаність пацієнтів із поширеним ДКРЛ [118, 145]. Антиангіогенні інгібітори тирозинкінази (ІТК), як-от сорафеніб і вандетаніб, не змогли покращити виживаність пацієнтів з хіміорезистентними пухлинами [132], хоча наразі вони оцінюються разом із монокліматерапією у першій лінії лікування [47].

Доведено прогностичне значення розподілу первинних ДКРЛ на молекулярні підтипи ASCL1, NEUROD1, POU2F3 та YAP1, визначення яких може бути проведено ІГХ методом. Пацієнти з пухлинами підтипу YAP1 та ASCL1 мають найкращий і найгірший прогноз відповідно, як при генетичному

досліджені на рівні мРНК, так і при застосуванні ПХХ методу [35, 90, 114]. Виражена експресія білка POU2F3 та YAP1 корелює з чутливістю та резистентністю до стандартних хіміотерапевтичних препаратів відповідно. Також було виявлено кореляційну залежність між ефективністю таргетної терапії та експресією специфічного до підтипів ДКРЛ білка [91]. Зараз з'являється все більше робіт, що визначають молекулярно-біологічні особливості та клінічне значення цієї нової молекулярної класифікації ДКРЛ [71, 115].

Натепер до критеріїв прогнозу ДКРЛ включено низку морфологічних та молекулярно-біологічних чинників, що задіяні у процесі ЕМТ та набуття пухлинними клітинами ознак стовбурового фенотипу.

ЕМТ є фундаментальним процесом періоду ембріогенезу, під час якого поляризовані епітеліальні клітини набувають більш веретеноподібної мезенхімальної морфології. Цей процес пов'язаний зі збільшенням пластичності ракових клітин, інвазійністю, резистентністю до терапії та поганим прогнозом при багатьох видах раку, включно з раком легень. [131] Також при ДКРЛ резистентність до хіміотерапії пов'язують саме з ЕМТ [146, 148].

Окремий науковий інтерес ЕМТ в ДКРЛ обумовлений можливим існуванням ДКРЛ як форми трансформації, під час якої ракові клітини демонструють фенотип не нейроендокринних (не-НЕ) тканин з власними молекулярно-біологічними та клінічними ознаками [29]. Визначено активацію експресії деяких генів, що сприяють ЕМТ саме в процесі трансформації НЕ/не-НЕ ДКРЛ [50, 62, 64], проте зв'язки між молекулярно-генетичними підтипами ДКРЛ та ЕМТ залишаються невизначеними [50, 131]. На підставі дослідження ДКРЛ на мишачих клітинних лініях і пухлин людини виявлена залежність між спектром змін, що відповідають ЕМТ з наявним як епітеліальним фенотипом ракових клітин, так і одночасно кількома розбіжним частковим станам ЕМТ та відношенням ДКРЛ до визначених ВООЗ молекулярно-генетичних підтипів

пухлин. ДКРЛ з мезенхімальним фенотипом більш характерні для YAP1 підтипу цих пухлин [29]. Також за даними Sarah M. Groves [131] виявлено частковий EMT-статус HE підтипів ДКРЛ-A і ДКРЛ-N, тоді як HE підтип ДКРЛ-A2 був повністю епітеліальним. У свою чергу експресія мезенхімальних генів була статистично значуще відмінна між підтипами ДКРЛ-N (HE) і ДКРЛ-Y (не-HE). Автори зазначають, що виявлені наявні нетривіальні зв'язки між HE/не-HE підтипами ДКРЛ і прогресуванням EMT, сприятимуть майбутнім роботам з покращення розуміння неоднорідності ДКРЛ [131].

У науковій літературі існують дані щодо різної експресії мезенхімальних факторів. Однією з ознак EMT є ремоделювання цитоскелету у вигляді зниження експресії епітеліальних кератинів, що призводить до змін міжклітинної адгезії та зміни полярності та рухливості клітин [75]. Ці зміни були описані в більшості типів аденокарцином, як такі, що сприяють інвазійності пухлин, утворенню метастазів і стійкості до хіміотерапії [129].

Теоретичні й експериментальні дослідження показали, що EMT є багатоетапним процесом з активацією різних транскрипційних генів [32]. Низка факторів транскрипції (EMT-TF), що активують EMT, взаємодіє з епігенетичними регуляторами, які контролюють експресію білків, що в свою чергу беруть участь у формуванні клітинної полярності, клітино-клітинних контактах, структур цитоскелету та деградації позаклітинного матриксу [54, 171]. Одним з таких факторів транскрипції є zinc-finger E-box-binding homeobox-1 (ZEB1). Індукована ZEB1 EMT є критичною подією в прогресуванні раку легень [54, 189], а також бере участь у регуляції мікроРНК-200-залежної експресії PD-L1 на клітинах раку легень [149]. Залученість ZEB1 в EMT ДКРЛ була продемонстрована *in vivo* та *in vitro*, пороте його висока експресія може бути відсутня у деяких ДКРЛ з частковою EMT [24, 52, 171].

Висока експресія групи генів EMT, що залежали від ZEB1, але не від TGF- $\beta$ , асоціювалася з кращим прогнозом у пацієнтів з раком молочної залози [171]. Цілком можливо, що ZEB1 тимчасово наявний у нейроендокринних

клітинах під час прогресування ДКРЛ, а перехід ДКРЛ до більш резистентних підтипів може вимагати пригнічення ZEB1[131]. Також добре відомо, що EMT є зворотнім процесом, як в ембріональному, так і в постнатальному розвитку, і цей зворотний процес також може запускатися в лініях ракових клітин та бути індукованими через динамічні позаклітинні (наприклад, TGF- $\beta$ ) або внутрішньоклітинні фактори (наприклад, TF або мікроРНК) [49, 54, 171].

Ці та інші процеси, що лежать в основі EMT, а також розуміння інших молекулярних основ генетичної та негенетичної гетерогенності пухлини має вирішальне значення для визначення біологічної поведінки пухлини, обрання лікувальної тактики та майбутньої розробки терапії пацієнтів [43, 67, 126, 136].

Порівняно швидко набуває розвитку метод рідинної біопсії, що є значно менш поширеним ніж ІГХ метод, проте має низку переваг. На сьогодні рідинна біопсія раку легень, особливо його недрібноклітинних варіантів, не обмежується лише виявленням ЦПК в периферійній крові, але й дозволяє визначати молекулярні зміни в ЦПК, виявляти циркулюючі пухлинні ДНК з аналізом мутацій в них, а також аналізувати мікроРНК та тромбоцити, що оточують пухлинне РНК в крові [106, 121].

ЦПК можуть бути корисними для моніторингу перебігу захворювання у пацієнтів, оскільки дають можливість оцінювати зміни експресії генів, що мають прогностичне значення та дозволяють ідентифікувати резистентні до терапії пухлини [121].

Визначення цпДНК є дуже чутливим методом рідинної біопсії та показує сильну кореляцію з даними, що отримані під час тканинної біопсії. Завдяки такій чутливості цей метод може бути рекомендований у випадках, коли проведення тканинної біопсії не можливе або ускладнене з якихось причин, а також для моніторингу розвитку рецидиву пухлини.

Маркери ЦПК можуть бути корисними для моніторингу перебігу захворювання у пацієнтів та дозволяють швидко ідентифікувати резистентні до терапії пухлини є EGFR та ALK-EML4.

Дані щодо мутації EGFR в ЦПК є дещо суперечливими. Так, за даними Mahesvaran та співавторів, виявлення EGFR в ЦПК є дуже чутливим методом та точно збігається з даними EGFR-статусу біопсій пацієнтів [121]. За даними ж Punnoose, який визначав EGFR статус ЦПК за допомогою FISH методу, отримані результати погано корелювали з результатами тканинної біопсії хворих [113].

За даними Rolfo C. [121] визначення активації мутації EGFR del19/L858R у пацієнтів на пізніх стадіях НДКРЛ мала специфічність 100 % та чутливість 74 – 82 %. За даними низки досліджень, у 80 % пацієнтів з НДКРЛ можна визначити цпДНК. Найбільш часто мутації спостерігаються в генах TP53, KRAS та EGFR. Також використання секвенування цпДНК дозволяє виявляти резистентні до хіміотерапії мутації та прогнозувати розвиток рецидиву [121]. Chen та співавтори [30] в своїй роботі визначали мутації цпДНК на ранніх стадіях (IA, IB, IIA) НДКРЛ та порівнювали отримані результати зі зразками тканинної біопсії пацієнтів. Вони визначили значущу концентрацію цпДНК в плазмі у 52 з 58 пацієнтів, що може вказувати на зв'язок цпДНК з збільшенням пухлини та метастазуванням. Мутації цпДНК були визначені у 35 пацієнтів з 58, що становило 50% збігу з виявленням аналогічних мутацій в тканинних біоптатах [30]. Визначення цпДНК з прогностичною метою також довело свою ефективність. Так пацієнти, у яких зростала кількість циркулюючих маркерів T790M під час проведення терапії інгібіторами тирозинкінази (ІТК)-EGFR, мали кращі показники безрецидивної та ЗВ. Також було доведено, що пацієнти у яких в плазмі виявляли циркулюючі маркери T790M мали кращий прогноз ніж пацієнти без наявності маркерів T790M в плазмі крові [34,168].

Незважаючи на той факт, що досі ще не зрозуміла точна структура та функції екзосом, їх вивчення є найбільш перспективним для подальшого розвитку рідинної біопсії. Це зумовлено тим, що екзосоми містять велику кількість матеріалу, як-от мікроРНК, білки та матричну (інформаційну) РНК,

яка оточена подвійним шаром ліпідів. Екзосоми відрізняються від інших структур, тим що їх можливо виявити завдяки рідинній біопсії оскільки вони безпосередньо виділяються клітинами, які відіграють важливу роль в пухлинній прогресії. Визначення типу мікроРНК може бути корисним не тільки в діагностиці пухлин, але й під час їхнього моніторингу. Наприклад мікроРНК-373 та -512 обмежують можливість пухлини до росту та інвазії. Однак у пацієнтів з раком ці РНК часто перебувають у неактивному мовчазному стані, що свідчить про поганий прогноз, проте, якщо ці РНК активувати, то відновлена експресія мікроРНК пригнічує міграцію пухлинних клітин. Гіперекспресія мікроРНК-208а та 1246 вказує на резистентність до хіміотерапії у пацієнтів з НДКРЛ. Гіперекспресія мікроРНК- 221-3р та -222-3р у пацієнтів, які лікувалися інгібітором тирозинкінази третього покоління (озимертиніб), асоціюється з кращим прогнозом [46]. Також завдяки розвитку сучасних систем детекції стало можливим визначення EGFR та EML4-ALK в екзосомах. Рівень EGFR на мембранах екзосом виділених від пацієнтів з НДКРЛ був достовірно вищим ніж рівень цього білку у здорових людей [117]. Sandfeld-Paulsen також описує, що наявність CD171 на мембрані екзосом є маркером більш сприятливого прогнозу виживаності в пацієнтів з НДКРЛ [130]. Сприятливим прогностичним фактором у пацієнтів з плоскоклітинним раком легень є визначення маркера FAM3C в екзосомах [121].

Дослідження останніх років довели, що тромбоцити мають властивість оточувати пухлинні РНК, у такий спосіб захищаючи їх від руйнування. Цей факт робить багатонадійну перспективу визначення типу пухлини у великій кількості складних випадків, а також точно відповісти на питання чи ця пухлина вже метастазує чи ні [121]. 2016 року Nilsson та співавтори першими виявили транслокацію EML4 – ALK в РНК, що була пов'язана з тромбоцитами завдяки методу полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією. Цей метод показав 65 % чутливість та 100% специфічність [102].

У діагностиці ДКРЛ методи рідинної біопсії є менш уживаними та зазвичай обмежуються визначенням ЦПК. Кількість ЦПК в 7,5 мл крові зазвичай становить від 20 до 20000. За даними низки наукових досліджень кількість ЦПК більше 50 асоціюється із загальною виживаністю 4 - 5 місяців, тоді як як пацієнти з кількістю клітин менше за 50 живуть 5 - 11 місяців. Кількість ЦПК різко знижується після першого курсу хіміотерапії у пацієнтів з доброю відповіддю. Гірша виживаність спостерігається серед пацієнтів, у яких не відзначається зниження кількості ЦПК після хіміотерапії. Якщо у пацієнтів на ранніх стадіях ДКРЛ (уражена тільки одна легень, може бути уражений регіонарний лімфовузол) нижня межа ЦПК становить більше ніж 15 клітин на 7,5 мл крові, то це свідчить, що пацієнт буде мати прогресію пухлини та помре протягом 2-х років після виявлення перших симптомів. Виживаність більше за 2 роки була характерна для пацієнтів, кількість ЦПК в яких становило менше ніж 15 клітин на 7,5 мл крові [151]. Цікавим може бути також визначення деяких біомаркерів у ЦПК для оцінки ефективності хіміотерапії. Наприклад, визначення високої експресії SLFN11 корелює з відповіддю пацієнтів з ДКРЛ на лікування інгібіторами PARP [4, 83].

Дотепер актуальною проблемою залишається визначення специфічних мутацій в ДКРЛ та розробка біомаркерів, які б дозволяли ці мутації виявляти. Незважаючи на великий обсяг накопичених знань щодо молекулярних особливостей раку легень, розуміння онкогенезу та тригерних факторів, що сприяють метастазуванню та прогресії дрібноклітинного раку донині не є повним.

**За матеріалами розділу «Розділ 1» опублікована стаття:**

Яковцова І. І., Янчевський О. В., Чертенко Т. Н., Долгая О. В., Олійник А. Є. «Молекулярні характеристики раків легень та сучасні уявлення щодо їх молекулярно-біологічної діагностики». Вісник проблем біології і медицини. 2019;                      Вип.                      №3                      (152):                      41-45.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

#### 2.1 Дизайн дослідження і клінічна характеристика хворих

Для досягнення поставленої мети і вирішення завдань у нашій роботі було досліджено біопсійний матеріал пухлин, хірургічно видалені пухлини, а також пухлини, що були отримані під час аутопсії померлих хворих з основним діагнозом рак легень.

Для проведення дослідження з визначення лікувального патоморфозу ДКРЛ і диференційної діагностики з НДРЛ схожої морфології було сформовано 3 групи: перша група включала 25 випадків біоптатів ДКРЛ, отриманих до лікування, друга група – 25 випадків ДКРЛ після проведеної хіміотерапії, які було отримано під час аутопсії, третя – 15 випадків біоптатів анаплазованих форм раку легень і гістологічно схожих з ДКРЛ ??? карциноїдів.

Біоптати ДКРЛ, НДКРЛ та карциноїдів були відібрані в «Національному інституті раку» м. Київ та лабораторії «Прайм – тест» м. Харків за період 2010-2020 р.р., аутопсійний матеріал ДКРЛ – у патологоанатомічному відділенні КНП «МКБЛ 17» ХМР за період 2015-2020 роки.

Дизайн дослідження та всі методи дослідження використовувалися з дотриманням прав людини, відповідно до чинного в Україні законодавства, відповідають міжнародним етичним вимогам і не порушують етичних норм у науці та стандартів проведення біоетичних досліджень, про що свідчить висновок комісії з питань етики та біоетики Харківського національного медичного університету (протокол № 8 від 03.05.2023 року). Із закладами де здійснювався відбір матеріалу є чинні договори про науково-практичної співпраці.

Для визначення прогностичних критеріїв ДКРЛ були сформовані такі групи дослідження: Л-ДКРЛ, які було видалено хірургічно або отримано під час аутопсії з лікуванням та без лікування разом та Р-ДКРЛ, які було отримано під

час аутопсії після лікування з генералізацією пухлинного процесу, що призвів до смерті.

До Л-ДКРЛ входили випадки з такими критеріями: локалізація пухлини в межах однієї ділянки грудної клітки з лімфатичними вузлами включно, що дозволяє проводити променеву терапію [187]. Р-ДКРЛ вважались пухлини з ураженням додатково другої легені, метастазами у віддаленні лімфатичні вузли чи кістки та внутрішні органи на момент встановлення діагнозу, який було верифіковано морфологічно. Поділ на такі форми ДКРЛ був обумовлений широким використанням цієї класифікації ДКРЛ у клінічній практиці, більш вживаним ніж класифікацію TNM, що визначало обрання пацієнтам з Л-ДКРЛ більш агресивного лікування [173].

Як видно з таблиці 2.1, групу Л-ДКРЛ становили випадки різного рівня ураження легені та лімфатичних вузлів.

Таблиця 2.1

Розподіл випадків ДКРЛ на групи дослідження відповідно до системи TNM 8-го перегляду

Стадія захворювання за TNM	Л-ДКРЛ, n = 14	Р-ДКРЛ n = 25
T2aN0M0 (IB)	2	
T3N0M0 (IIB)	5	
T2bN1M0 (IIB)	2	
T3N1M0 (IIIA)	1	
T3N2M0 (IIIB)	2	
T4N2M0 (IIIB)	2	
T2aN2M1a (IVA)		5
T2aN3M1a (IVA)		3
T2bN2M1a (IVA)		1
T2bN3M1b (IVA)		5
T2bN3M1c (IVB)		1
T3N3M1b(IVA)		3

Продовження таблиці 2.1

Стадія захворювання за TNM	Л-ДКРЛ, n = 14	Р-ДКРЛ n = 25
T3N3M1c (IVB)		2
T4N3M1a (IVA)		2
T4N3M1c (IVB)		3

Стадію захворювання встановлювали згідно з VIII виданням класифікації TNM, розробленим Міжнародною протираковою спілкою (UICC) 2022 р. Діагноз ДКРЛ встановлювали згідно з «Classification of Tumours Editorial Board. Thoracic tumours» (BOOЗ, 2021 р.) на підставі гістологічного висновку біопсійного та операційного матеріалу.

Серед досліджених ДКРЛ переважна кількість випадків була відібрана з аутопсійного матеріалу, що обумовлено рідкістю хірургічного лікування хворих на цю патологію та міжнародними рекомендаціями щодо видалення пухлини лише на початкових стадіях захворювання.

Як видно з таблиці 2.2, до Р-ДКРЛ були віднесені 25 випадків після ПХТ з аутопсійного матеріалу.

Таблиця 2.2

Розподіл випадків ДКРЛ із урахування протипухлинної терапії в анамнезі

Стадія захворювання за TNM	ДКРЛ після поліхіміотерапії n=33	ДКРЛ без лікування (вперше виявлені на аутопсії) n=6
T2aN0M0 (IB)	0	2
T3N0M0 (IIB)	2	3
T2bN1M0 (IIB)	1	1
T3N1M0 (IIIA)	1	0
T3N2M0 (IIIB)	2	0
T4N2M0 (IIIB)	2	0
T2aN2M1a (IVA)	5	0

Продовження таблиці 2.2

Стадія захворювання за TNM	ДКРЛ після поліхіміотерапії n=33	ДКРЛ без лікування (вперше виявлені на аутопсії) n=6
T2aN3M1a (IVA)	3	0
T2bN2M1a (IVA)	1	0
T2bN3M1b (IVA)	5	0
T2bN3M1c (IVB)	1	0
T3N3M1b(IVA)	3	0
T3N3M1c (IVB)	2	0
T4N3M1a (IVA)	2	0
T4N3M1c (IVB)	3	0

Наведене в таблиці стадіювання за системою TNM було отримано під час аналізу історій хвороб та з урахуванням пухлинного процесу на момент встановлення діагнозу. Ця сформована група Р-ДКРЛ була обрана для визначення лікувального патоморфозу. Тобто група ДКРЛ, що була сформована з біопсійного матеріалу – відповідно пацієнти не отримували променевої чи ПХТ, порівнювалася з групою Р-ДКРЛ, пацієнти якої отримували ПХТ. Випадки Р-ДКРЛ також порівнювались з групою випадків Л-ДКРЛ для визначення прогнозу перебігу захворювання. До групи Л-ДКРЛ входили випадки після ПХТ та променевої терапії так і без хірургічно видалених пухлин та з аутопсійного матеріалу (табл. 2.2).

Окремо був здійснений розподіл Л-ДКРЛ на дві підгрупи – Л-ДКРЛ без метастазів та Л-ДКРЛ з метастазами.

Л-ДКРЛ без метастазів у лімфатичні вузли чи наявності не більше ніж один вузол в легені – це ДКРЛ ІВ стадій (T2a), пухлини розміром 3 – 4 см – 2 випадки та ІІВ стадії (T3N0), пухлини розміром 5 – 7 см з можливим залученням стінки грудної клітини або перикарду – 3 випадки. Два випадки ІВ стадії були взяті з аутопсійного матеріалу, випадки ІІВ стадії – із хірургічного та аутопсійного матеріалу.

До Л-ДКРЛ з метастазами входили випадки ураження іпсилатеральних перибронхіальних та інтрапульмональних лімфатичних вузлів (N1) – 3 спостереження та випадки ураження іпсилатеральних медіастенальних чи підключичних лімфатичних вузлів (N2) – 4 випадки (табл. 2.3).

Таблиця 2.3

Розподіл досліджених Л-ДКРЛ відповідно системи TNM

Групи Стадія за TNM	Л-ДКРЛ без метастазів (I-II стадія)	Л-ДКРЛ з метастазами (III стадія)
T2aN0M0 (IB)	2	
T3N0M0 (IIB)	5	
T2bN1M0 (IIB)		2
T3N1M0 (IIIA)		1
T3N2M0 (IIIB)		2
T4N2M0 (IIIB)		2
<b>УСЬОГО</b>	<b>7</b>	<b>7</b>

З історій хвороб і протоколів розтинів було взято дані щодо статі, віку пацієнтів, отриманого лікування. З даних історій хвороб померлих пацієнтів було враховано дату морфологічного верифікування діагнозу ДКРЛ та отриману ними протипухлинну терапію.

Серед 39 досліджених ДКРЛ ця пухлина була вперше виявлена під час аутопсії в 7 випадках – це був рак I-II стадій та один випадок T2bN1M0. Вочевидь, що ці хворі не отримували лікування, термін виявлення клінічних симптомів ДКРЛ не з'ясований. Основним захворюванням, що призвело до смерті була поєднана патологія. 4 випадки Л-ДКРЛ було видалено хірургічно, хворі пацієнти в подальшому отримували ПХТ. Решта 29 спостережень – пацієнти, які отримували протипухлинне лікування, але з подальшою прогресією пухлинного процесу та несприятливим наслідком. За даними

аутопсії основним захворюванням у всіх 29 випадках був ДКРЛ, стадії захворювання наведено у таблиці 2.2.

Увесь відібраний матеріал був представлений шматочками пухлинної тканини фіксованими у формаліні й залитими в парафінові блоки. Критеріями включення до досліджуваних груп були наявність повної клінічної інформації про пацієнта, інформації щодо подальшого лікування або проведеного лікування у випадках аутопсій, достатня кількість матеріалу для проведення імуногістохімічного дослідження, та належна якість матеріалу.

Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри патологічної анатомії Харківської медичної академії післядипломної освіти: «Патогістологічна та імуногістохімічна діагностика та прогноз злоякісних пухлин різної локалізації з урахуванням їх біологічних властивостей та клінічного перебігу» (№ держреєстрації 0117U000594).

## **2.2. Методи дослідження**

Морфологічне дослідження було проведене з використанням гістологічних, ІГХ, морфометричних методів.

Для проведення морфологічного дослідження операційний, аутопсійний та біопсійний матеріал пацієнтів фіксували в 10 % розчині нейтрального забуферованого формаліну протягом 12 годин, після проводки за стандартною методикою матеріал заливали в парафін. Парафінові зрізи після забарвлення гематоксиліном та еозином піддавали гістологічному дослідженню з використанням мікроскопа Primo Star (об'єктиви  $\times 4$ ,  $\times 10$ ,  $\times 40$ ,  $\times 100$ ,  $\times 400$ ).

ІГХ дослідження проводили на кафедрі патологічної анатомії Харківської медичної академії післядипломної освіти МОЗ України, лабораторії «Прайм-Тест».

Матеріал для ІГХ дослідження фіксували 10 % нейтральним формаліном упродовж 24 годин, заливали в парафін, готували зрізи товщиною 4 мкм, які наносили на високоадгезивні скельця Super Frost і висушували за температури

37 C° упродовж 18 годин. Демаскуюча термічна обробка була виконана за методом кип'ятіння зрізів у цитратному буфері (pH 6,0). Для візуалізації первинних антитіл застосовували систему детекції UltraVision Quanto Detection Systems HRP Polymer (Thermo scientific).

Як хромоген використовували DAB (діамінобензидин). Кожне дослідження мало негативний контроль без додавання первинних антитіл. Для кожного маркера для виключення хибнопозитивного або помилкового результатів застосовували контрольні дослідження, для яких використовували зрізи з тканин, рекомендованих виробником антитіл для позитивного контролю.

Використовували первинні моноклональні антитіла фірми DAKO (Данія) та ThermoScientific.

Для проведення імуногістохімічного дослідження використовувалася така панель маркерів:

- CD56 (моноклональне антитіло, клон 123C3, Dako, 1:100) для визначення нейроендокринного фенотипу ракових клітин,
- p16 (p16ink4A моноклональне антитіло, клон 1D7D2, ThermoScientific, 1:200) – маркер апоптозу,
- p40-маркер плоскостітинного диференціювання;
- TTF-1 (поліклональне антитіло, PA5 – 78209, ThermoScientific, 1:500) – для визначення гістогенезу та тканинної специфічності раку,
- CD117 (поліклональне антитіло A4502, Dako, 1:250) – додатковий маркер клітин нелімфоїдного ряду,
- Ki-67 (моноклональне антитіло, клон SP6, ThermoScientific, 1:400) – маркеру проліферативної активності,
- Панцитокератин – проміжні філаменти, для визначення епітеліального фенотипу клітин;
- E-кадгерин (EP700Y) – маркер міжклітинної адгезії, для визначення епітеліального фенотипу клітин;

- Віментин V9 – проміжний філамент, для визначення мезенхімального фенотипу ракових клітин;
- N-кадгерин – маркер міжклітинної адгезії, для визначення мезенхімального фенотипу ракових клітин;
- CD44-для визначення фенотипу стовбурових клітин.

Експресію таких маркерів як TTF-1, CD56, p16 оцінювали напівкількісно: виконували підрахунок імунопозитивних клітин у пухлині з подальшим використанням шкали, де 0 балів відповідало рівню експресії < 5 % пухлинних клітин, 1 бал – рівень експресії від 5 % до 25 %, 2 бали – рівень експресії 26 – 50 %, 3 бали – 51 – 75 % та 4 бали – більше за 75 %.

III було визначено за допомогою маркера Ki-67 шляхом підрахунку співвідношення імунопозитивних ядер пухлинних клітин до загальної кількості ядер пухлинних клітин без урахування інтенсивності забарвлення. Підрахунок проводився в трьох ділянках з найбільш виразною імуногістохімічною реакцією («гарячі точки») на збільшенні  $\times 400$ . Визначалося відносне число для кожного випадку без розподілу на групи.

Мембранна та цитоплазматична експресія CD117 оцінювалася напівкількісним методом, де «0» – забарвлення відсутнє або менше ніж в 1 % пухлинних клітин; «1+» – осередкова експресія або слабка інтенсивність забарвлення менш ніж у 60 % пухлинних клітин; «2+» – слабке забарвлення більше ніж у 60 % пухлинних клітин або помірна інтенсивність у 30 – 79 % пухлинних клітин чи виразна інтенсивність менше ніж у 30 % пухлинних клітин; «3+» – помірна інтенсивність забарвлення більше ніж у 80 % пухлинних клітин або виразне забарвлення в більше ніж 30 % пухлинних клітин.

Цитоплазматична експресія панцитокератину вважалась позитивною у разі реакції не менш ніж в 1 % пухлинних клітин. За позитивної реакції проводився розподіл рівня експресії маркера на слабкий, помірний та виражений у 1 – 33 %, 34 – 66 %, 66 – 100 % ракових клітин відповідно, без урахування інтенсивності забарвлення на збільшенні  $\times 400$ .

Оцінювання реакції з віментином проводилося при експресії цього маркера тільки в цитоплазмі ракових клітин. У нашому дослідженні реакція з віментином була переважно відсутня або слабка. Позитивною реакція з віментином вважалась у разі наявності імунопозитивного забарвлення не менше ніж в 1 % ракових клітин без урахування інтенсивності.

Для оцінки інтенсивності експресії ІГХ маркерів EMT (віментину, E- та N-кадгерину) і CD44 використовували напівкількісну шкалу від 0 до 3+: 0 – відсутність експресії, «1+» – слабка, «2+» – помірна, «3+» – виражена експресія. Також підраховували відсоток імунопозитивних клітин у полі зору: 0 – відсутність експресії; «1+» – у діапазоні 1 – 33 % клітин; «2+» – у діапазоні 34 – 66 % клітин; «3+» – у діапазоні 67 – 100 % клітин.

Для оцінки кількості клітин з позитивною ІГХ реакцією використовували індекс мітки, у % визначали кількість пофарбованих ІГХ методом клітин з 900 – 1000 ПК.

Рівень узгодженості між двома патологами щодо відсотка експресії маркерів оцінювався за допомогою коефіцієнту міжкласової кореляції (ICC), що розраховувався в програмі «MedCalc» (Version 20.009, trial).

Статистичну обробку результатів дослідження проводили за загальноприйнятими методиками з використанням пакета «MedCalc» (Version 20.009, trial). Достовірними вважали результати при  $p < 0,05$ .

Порівняння груп дослідження проводили з оцінюванням імовірності відмінностей із застосуванням параметричних і непараметричних методів варіаційної та рангової статистики. Для оцінки зв'язку між ознаками використовували точний критерій Фішера та непараметричний критерій  $\chi^2$ -квадрат Пірсона. Методи непараметричної рангової статистики використовували, обробляючи дані імуногістохімічного дослідження. Для підтвердження або спростування нульової гіпотези про залежність між виразністю показників експресії імуногістохімічних маркерів, а також взаємозв'язку між індексом мітки цих маркерів і прогностичними клініко-

морфологічними характеристиками ДКРЛ використовували непараметричний критерій Спірмана. Для виявлення статистичної значущості відмінностей між групами дослідження для двох вибірок застосовували непараметричний критерій Манна-Уїтні. Для графічного зображення зі статистичним обчисленням відмінностей виживаності в групах дослідження використовувався метод кривих Каплана-Мейера. Також для якісного опису отриманих даних розраховувався екстенсивний показник (%). Де це було можливо розраховувалася медіана, яка краще ніж середнє арифметичне описує вибірку. Також була проведена покрокова логістична регресія з ROC-аналізом і побудовою ROC-кривої. Первинні таблиці для обчислення були сформовані в програмі «Microsoft Excel 2013» з подальшою статистичною обробкою в програмі «MedCalc».

## РОЗДІЛ 3

### КЛІНІЧНІ ТА МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ДКРЛ

#### 3.1 Клінічні особливості ДКРЛ, верифікованих за даними цитологічного, біопсійного, секційного чи операційного матеріалу

У нашому дослідженні за період з 2005 р. до 2019 р. було виявлено 492 випадки ДКРЛ від пацієнтів, які проходили лікування в «Національному інституті раку» м. Київ, що було верифіковано морфологічними методами.

Із цих випадків 484 пацієнти (98,4 %) мали діагноз дрібноклітинний рак легень (код ICD – O 8041/3) та 8 пацієнтів (1,6 %) – комбінований дрібноклітинний рак легень (код ICD – O 8045/3). Другим компонентом у комбінованому ДКРЛ був плоскоклітинний рак у 6 з 8 випадків та аденокарцинома у 2 випадках.

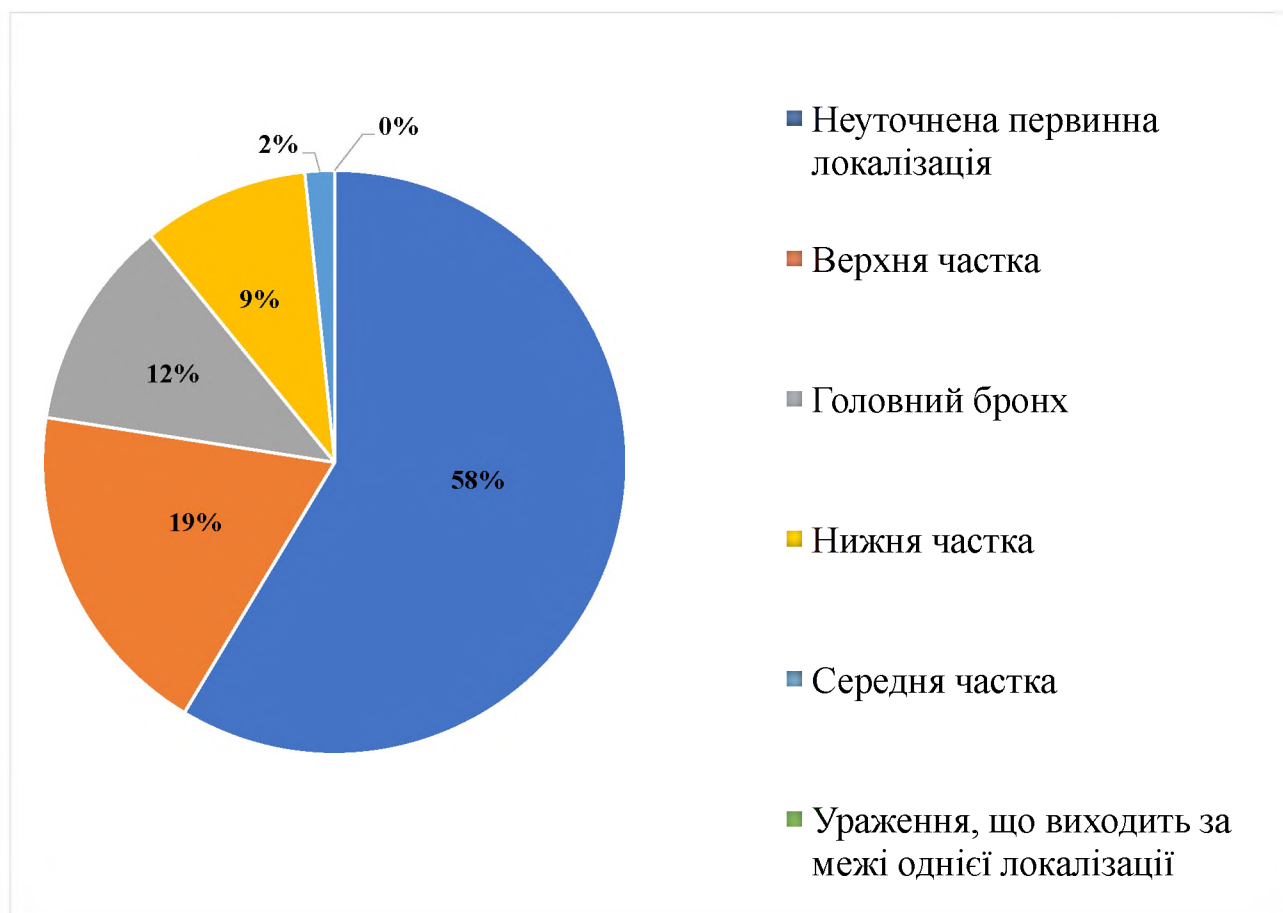
У цьому дослідженні більшість пацієнтів з ДКРЛ були чоловіками (444/90,2 %). У жінок ця патологія була виявлена відповідно в 9,8 % спостережень (48 випадків). Середній вік чоловіків хворих на ДКРЛ становив  $58,3 \pm 8,9$  років, жінок –  $57,6 \pm 10,8$ . Різниці в захворюваності за віком серед чоловіків і жінок виявлено не було.

У більш ніж половині випадків ДКРЛ (286/58 %) точну локалізацію первинної пухлини за даними історій хвороб виявити не вдалося, тому такі пухлини кодувалися як C34.9. Варто зазначити, що із цих 286 випадків пухлин 121 (42,3 %) випадок було діагностовано на IV клінічній стадії, 134 (46,9 %) – на III стадії, і лише 31 випадок (10,8 %) припадав на I та II клінічну стадію.

Там, де первинна локалізація була вказана (206 випадків), спостерігалася така картина: переважало ураження верхньої частки легені (92/44,7 %), потім йшло ураження головних бронхів (57/27,7 %), ураження нижньої частки посідало останнє місце (45/21,8 %). Докладніший розподіл за локалізацією представлений на рисунку 3.1.

Повертаючись до питання морфологічної верифікації діагнозу, слід зазначити, що близько половини ДКРЛ верифікувалися цитологічно в

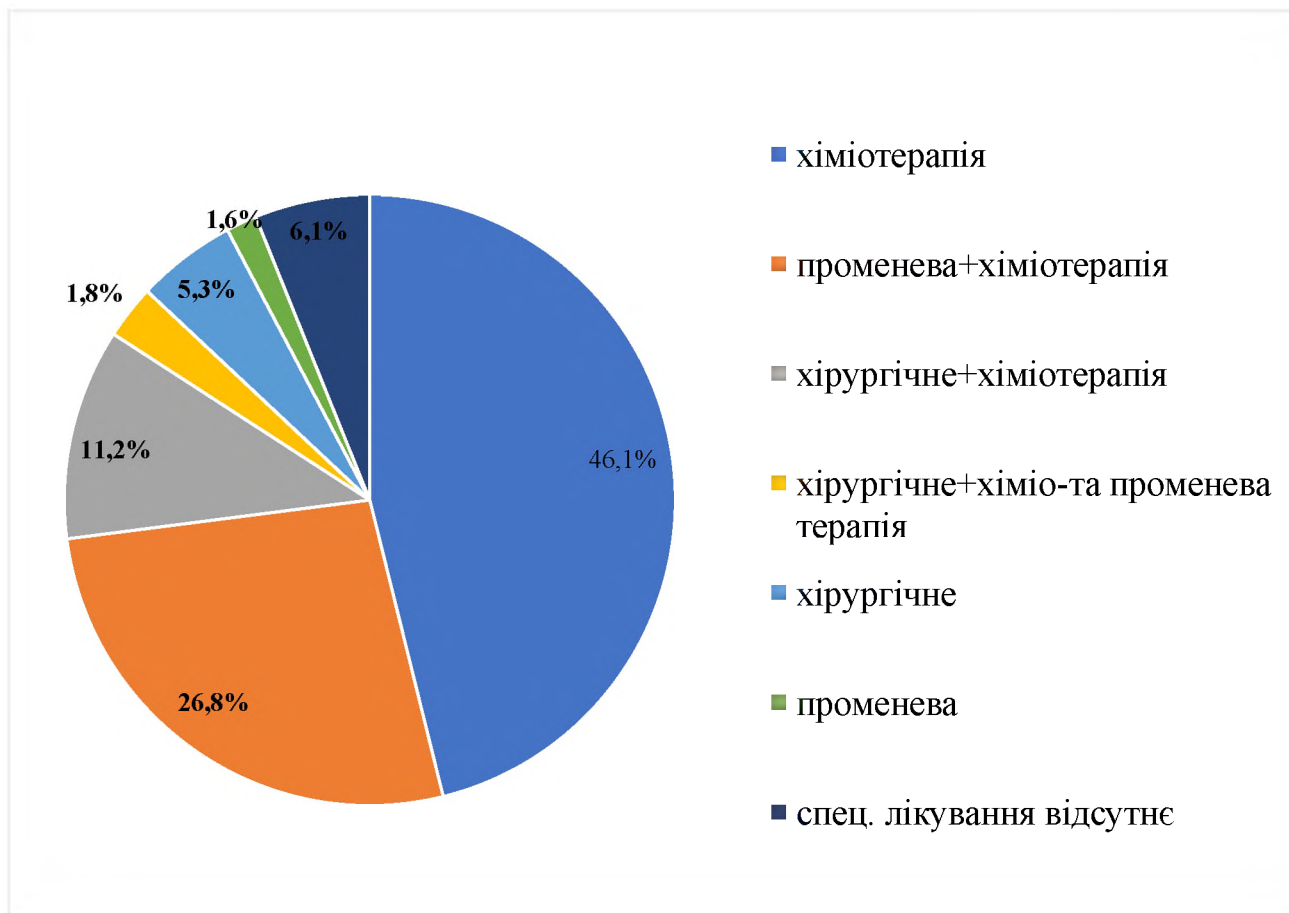
лікувальному закладі (232/47,2 %). Первинний діагноз ДКРЛ за даними гістологічного дослідження було встановлено у 260 випадках (52,8 %). У всіх випадках діагноз ставився на основі малого об'єму матеріалу (тонкоголкові біопсії, бронхобіопсії, трепанбіопсії, цитологічний зіскрібок пухлини під час бронхоскопії).



**Рис. 3.1** Розподіл ДКРЛ за локалізацією

Сучасне лікування ДКРЛ часто не передбачає хірургічного втручання, чому ми знаходимо підтвердження в даних нашої вибірки. Більшість пацієнтів отримували лише хіміотерапію (227/46,1 %), на другому місці за частотою було поєднання променевої та хіміотерапії (132/26,8 %) і лише на третьому місці – хірургічне видалення пухлини з подальшою хіміотерапією (55/11,2 %). Тільки хірургічне лікування застосовувалося у 26 випадках (5,3 %). У 30 випадках

пацієнти не отримували жодного спеціального лікування (6,1 %). Докладніше розподіл пацієнтів з МКРЛ представлено на рисунку 3.2.



**Рис. 3.2** Розподіл пацієнтів з ДКРЛ за видами лікування

Окремим пунктом слід зазначити наявність метакронної або синхронної пухлини іншої локалізації у пацієнтів із ДКРЛ. Усього таких випадків було 7, з них у 5 випадках спостерігалось поєднання ДКРЛ із злоякісною пухлиною нирки та 2 – злоякісні пухлини шлунково-кишкового тракту (шлунок та пряма кишка).

### **3.2 Клініко-морфологічна характеристика ДКРЛ за даними результатів аутопсії померлих хворих.**

За період з 2010 р. до 2020 р. було проведено аналіз протоколів розтину та історій хвороби пацієнтів, які померли в лікарнях м. Харкова: Комунальне некомерційне підприємство «Міська клінічна багатопрофільна лікарня №17» Харківської міської ради, Комунальне некомерційне підприємство «Міська

багатопрофільна лікарня №18» Харківської міської ради, Комунальне некомерційне підприємство «Міська клінічна лікарня №13» Харківської міської ради, Комунальне некомерційне підприємство «Міська клінічна лікарня № 2 імені проф. О. О. Шалімова» Харківської міської ради, розтини проводилися в централізованому патологоанатомічному відділенні Комунального некомерційного підприємства «Міська клінічна багатопрофільна лікарня № 17» Харківської міської ради, що є базою кафедри патологічної анатомії та судово-медичної експертизи ХНМУ.

Усього в зазначених лікарнях аутопсій було 6635 випадків, серед них рак легень, як основне захворювання, що призвело до смерті, безпосередньо чи через ускладнення, встановлено в 3,7 % (246/6635). ДКРЛ становив 28,9 % (71/246) від раку легень, що призвів до смерті. Зазначимо, що через значне підвищення числа померлих у 2020 р., спричиненого інфекцією COVID-19, знизилося відносне число раку легень (РЛ) з 4 – 6 % у 2010 – 2019 рр. до 1,2 % у 2020 р.

ДКРЛ серед гістологічних типів раку легень посідав друге місце після аденокарцином. Так аденокарциноми різного ступеню диференціювання становили 35,8 % (88/246), плоскоклітинні раки – 23,6 % (58/246), великоклітинні раки – 7,3 % (18/246), недиференційовані – 3,3 % (8/246), інші рідкісні форми, у т. ч. лепідоїдна та змішані форми – у 1,2 % (3/246). Визначення гістологічних типів раку було проведено згідно з морфологічною класифікацією ВООЗ (2021) на підставі урахування протоколів розтину та перегляду архівного матеріалу гістологічних препаратів без проведення ІГХ дослідження. Бронхіоло-альвеолярну форму РЛ було віднесено до аденокарцином, деякі суперечливі типи раку без чіткого гістологічного диференціювання було віднесено до недиференційованих чи великоклітинних форм.

Середній вік хворих на ДКРЛ становив  $60,8 \pm 11,3$  роки, найменший вік – 41 рік, найбільший – 83 роки. Найчастіше смерть наставала у віковому

інтервалі 60 – 69 р. – у 32,4 %, тоді як у 50 – 59 р. – у 23,9 %, а в 70 – 79 р. – у 25,4 % (табл. 3.1).

Відносна кількість чоловіків була значно вищою ніж відносна кількість жінок, співвідношення становило 4:1. Так чоловіків було 80,3 % (57/71), жінок – 19,7 % (14/71). Середній вік чоловіків становив  $58,1 \pm 10,5$ , жінок –  $62,5 \pm 12,8$  ( $p > 0,05$ ). Співвідношення між чоловіками та жінками серед вікових груп було теж приблизно однаковим зі слабкою тенденцією до збільшення числа чоловіків у віковій групі 40 – 49 (80 %) і зменшення у віковій групі 80 – 89 (66,7 %) (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Розподіл померлих хворих за віком і статтю

Вікові групи \ Стать	Чоловіки	Жінки	Усього
40 – 49	8	2	10
50 – 59	13	4	17
60 – 69	18	5	23
70 – 79	16	2	18
80 – 89	2	1	3
Усього	57	14	71

Первинна пухлина локалізувалася в правій частці в 38 (53,5 %), у лівій – 33 (46,5 %). Локалізація первинної пухлини у верхній частці спостерігалася в 32,4 % (23/71) випадків, у головному бронху – у 25,4 % (18/71), поширене ураження легені із залученням двох часток – у 22,5 % (16/71) та на останньому місці за частотою ураження стала локалізація в нижній частці – у 19,7 % (14/71).

Переважає кількість випадків становили пухлини центральної локалізації, тобто виникали з головного, дільового чи великого бронху. Число таких випадків становило 74,6 % (53/71), а 16,9 % (12/71) були з поширеним ростом, що не дозволило визначити походження саме з великого бронху. Периферична локалізація пухлини встановлена у 8,5 % (6/71).

Розмір пухлини коливався від менше за 3 см до поширеного ураження легені. Розмір пухлини до 3 см був у 19,7 % (14/71) у вигляді єдиного вузла або численних метастазів легені, розмір первинної пухлини більше за 3 см відзначався в 35,2 % (25/71), поширене зростання без чіткого вузла було в 45,1 % (32/71). Проростання в середостіння визначалося в 10 випадках, ураження плеври з її карциноматозом – у 22 випадках, залучення двох часток чи субтотальне ураження легені – у 16 випадках.

Метастази в лімфатичні вузли було виявлено в 83,1 % (59/71), серед них N1, N2, N3 – в 8,5 % (6/71), 53,5 % (38/71), 21,1 % (15/71) відповідно (табл. 3.2). Отже, метастази в перибронхіальні та інтрапульмональні лімфатичні вузли однієї легені визначалися лише в 10,2 % (6/59), ураження іпсилатеральних медіастинальних і субкарінальних лімфатичних вузлів – у 64,4 % (38/59), більш поширене й масивне ураження лімфатичних вузлів медіастинальної локалізації та в межах грудної клітки, включно надключичні лімфатичні вузли, визначалось у 25,4 % (15/59).

Згідно з TNM класифікацією пухлин легень 8-го перегляду (2017 р.) при віддалених метастазах у лімфатичні вузли (нерегіонарні, поза грудною кліткою) пухлинний процес слід відносити до IV стадії у зв'язку з урахуванням цього рівня ураження як M1 (M1a чи M1b).

Метастази у внутрішні органи визначалися в 62 % (44/71). З них метастази в іншу легеню спостерігались у 27,3 % (12/44), виявлення одного метастазу поза грудною кліткою було в 13,6 % (6/44) – у печінку в 3 випадках, у головний мозок – 1 випадок та у віддалені лімфатичні вузли – 2 випадки. Локалізаціями метастазів були: найбільш часто – печінка та інша легеня – у 59,1 % (26/44) та 50,0 % (22/44) відповідно, на третьому місці за частотою метастатичного ураження – головний мозок – 29,5 % (13/44), потім кістки – 20,5 % (9/44). Метастази також виявлялися в надниркових залозах, підшлунковій залозі, селезінці, заочеревинному просторі тощо.

Частота метастатичного ураження внутрішніх органів у досліджених випадках ДКРЛ розподілилася таким чином: у печінку – 36,6 % (26/71), другу легень – 31 % (22/71), головний мозок – 18,3 % (13/71), кісткову систему – 12,7 % (9/71).

Діагноз ДКРЛ під час аутопсії був установлений уперше в 40,8 % (29/71) спостережень з розбіжністю клінічного та патологоанатомічного діагнозів. Водночас ще у 23,9 % (17/71) РЛ був установлений чи запідозрений уперше в стаціонарі та лише в 35,2 % (25/71) РЛ був виявлений попередньо, пацієнти отримували неoad'ювантну поліхіміотерапію. Отже, діагноз ДКРЛ, що призвів до смерті, був установлений уперше в стаціонарі в 69,0 % (49/71) випадків.

Таблиця 3.2

Поширеність ДКРЛ згідно зі системою TNM 8-го перегляду в померлих у багатопрофільних лікарнях м. Харкова за даними аутопсії.

Поширеність ДКРЛ	Число випадків (%)
T2	20 (28,2%)
T3	19 (26,8%)
T4	32 (45,1%)
N0	12 (16,9%)
N1	14 (19,7%)
N2	16 (22,5%)
N3	29 (40,8%)
M1a	12 (16,9%)
M1b	6 (8,5%)
M1c	26 (36,6%)
IB	2 (2,82%)
IIB	5 (7,04%)
IIIA	5 (7,04%)
IIIB	15 (21,13%)
IV	44 (61,97%)

Серед ускладнень ДКРЛ, що призвели до смерті, були генералізація пухлинного процесу з інтоксикацією, дихальною та поліорганною недостатністю – у 73,2% (52/71) спостережень. Це були випадки з метастатичним ураженням внутрішніх органів, перш за все, головного мозку (з набряком мозку) і масивним ураженням печінки або субтотальним ураженням легені, що призводило до розвитку дихальної недостатності та інтоксикації, або карциноматозом плеври та плевритом, або ателектазом легені. Пневмонія, як ускладнювала РЛ була виявлена в 11,3% (8/71) і це були випадки з генералізацією пухлинного процесу.

У 26,8% (19/71) пухлинний процес не був поширеним, а ДКРЛ був однією з поєднаних патологій, тобто сам по собі ДКРЛ не міг призвести до смерті пацієнта, а в поєднанні з іншим захворюванням призвів до смертельних ускладнень (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Патологічні стани, що призвели до смерті хворих на ДКРЛ

Патологічний стан	Число (%)
Прогресія пухлинного процесу	52 (73,2%)
Масивне ураження легень з дихальною недостатністю та інтоксикацією	32 (45,1%)
Метастатичне ураження головного мозку з набряком мозку	13 (18,3%)
Пневмонія	8 (11,3%)
Поєднана патологія	19 (26,8%)
ІХС, постінфарктний кардіосклероз, гострий інфаркт міокарда	9
Гостра виразка шлунку чи ДПК з кровотечею	3
Гостра виразка шлунку чи ДПК з перфорацією	4
COVID-19 з вірусною пневмонією	2
Гострий тубулоінтерстиційний нефрит	1

Серед поєднаної патології відзначалися ІХС, постінфарктний кардіосклероз, гострий інфаркт міокарда, що призвели до розвитку гострої серцевої недостатності чи серцевої декомпенсації; хронічна виразка шлунка або дванадцятипалої кишки з перфорацією та перитонітом або серцевою недостатністю після операції; хронічна виразка шлунка або дванадцятипалої кишки з кровотечею; COVID-19 з вірусною пневмонією та легенево-серцевою недостатністю; гострий тубулоінтерстиційний нефрит з уросепсисом та інтоксикацією (табл. 3.3). ДКРЛ ІВ, ІІВ та ІІІА стадій входили до цих випадків РЛ з поєднаною патологією. Водночас можна вважати, що ДКРЛ навіть на ІВ клінічній стадії (тобто при пухлині T2a – розміром 3 – 4 см без метастазів) може відіграти провідну роль у розвитку смертельних станів через ускладнення або через сприяння розвитку чи декомпенсації іншої патології (наприклад, виразкової хвороби шлунка та ДПК).

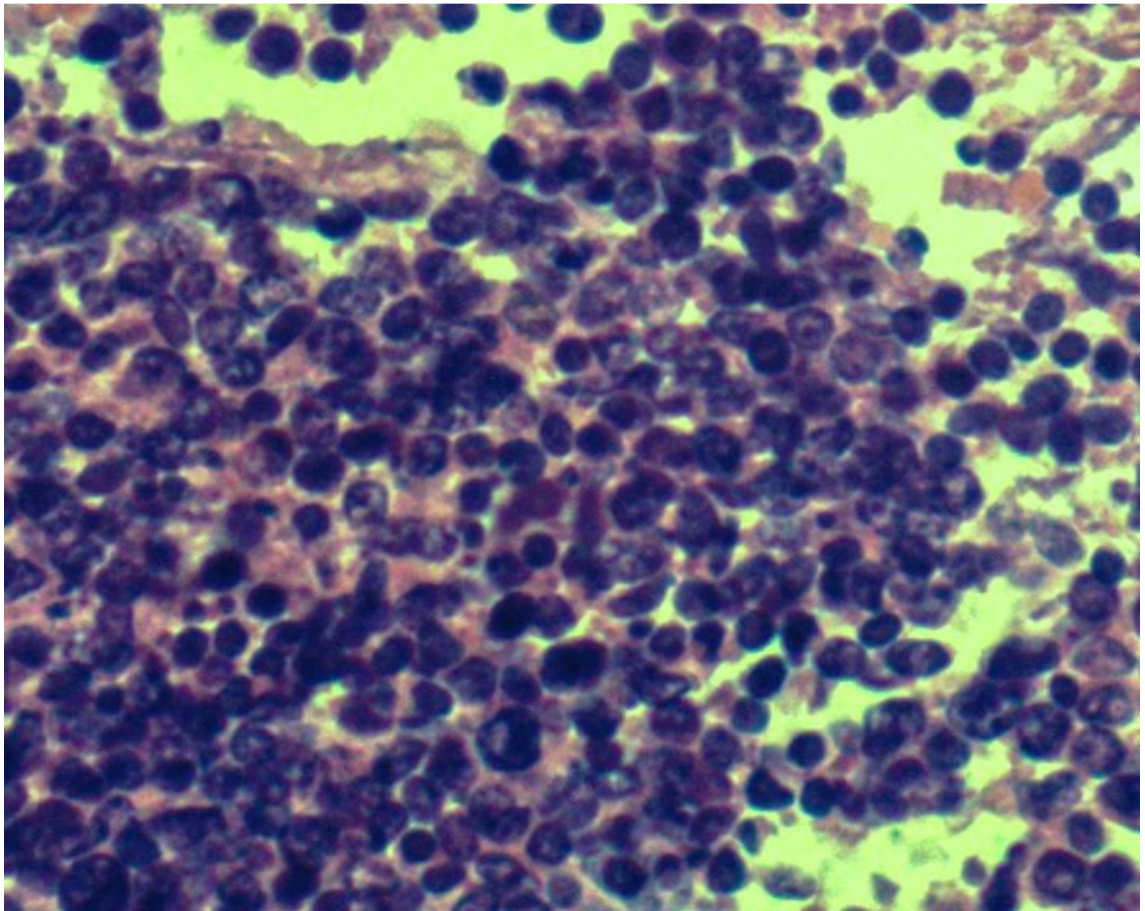
### **3.3. Морфологічні особливості ДКРЛ**

#### **3.3.1 Гістологічна та цитологічна характеристика ДКРЛ.**

Враховуючи той факт, що ряд ДКРЛ було виявлено у пацієнтів на третій та четвертій клінічній стадії пухлинної прогресії, первинну діагностику (перед тим, як пацієнт потрапляв до «Національного інституту раку») проводили за допомогою гістологічного та цитологічного методів дослідження метастазів у лімфовузлах або інших органах. У частині випадків (3,7% (18/492)) дані метастази було неправильно інтерпретовано як первинні пухлини іншої локалізації: атиповий карциноїд або атипова карцинома підшлункової залози, низькодиференційований рак тонкої кишки, низькодиференційована саркома грудної клітки. Особливу складність представляли метастази комбінованого ДКРЛ, коли в біопсії метастазу домінував плоскоклітинний компонент і діагностували плоскоклітинний рак, а дрібноклітинний компонент, що був менш вираженим, ігнорувався або не потрапляв у біоптат.

За гістологічною будовою ДКРЛ у біоптатах представляв зазвичай кластери дрібних овоїдних або дещо веретеноподібних клітин з великим

ядерно-цитоплазматичним співвідношенням або практично відсутньою цитоплазмою. Розмір клітин становив  $15 - 20 \times 10^{-6}$  м. Ядра ракових клітин були гіперхромними, ядерця непомітними або відсутніми, ядерний хроматин дрібнозернистий. Розмазування ядерного хроматину, яке також називають подрібненим артефактом, є спільною ознакою разом із ядерним формуванням. Характерною ознакою ДКРЛ було й дуже тісне розташування клітин з нібито пресованими ядрами (рис. 3.3).



**Рис. 3.3** ДКРЛ. Дрібні, незрілі на вигляд, овоїдні або дещо веретеноподібні клітини, зі слаборозвиненою цитоплазмою. Забарвлення гематоксиліном та еозином,  $\times 400$ .

Стромальний пухлинний компонент часто міг мати базофільні властивості, площа стромы завжди була меншою за площу паренхіматозного компонента. Часто вираженими як у біоптатах, так і в операційному або секційному матеріалі досліджуваних пухлин, відстежувалися некрози, а також

були наявні апоптичні тільця. Так некрози були наявні в переважній-більшості досліджених ДКРЛ та в усіх 25 випадках раків секційного матеріалу, що дозволяє віднести цю ознаку до характерних для ДКРЛ. Також слід зазначити, що некрози мали характер масивних з поширенням на велику площу. Часто в зонах некрозу можна було спостерігати базофільні відкладання у стінках судин – ефект Аззопарді.

Мітотична активність була високою у випадках біоптатів від пацієнтів, які ще не проходили хіміо- або променевої терапії. Число мітозів значно варіювало серед пухлин та навіть в межах однієї пухлини. Середнє число мітозів становило  $40 \text{ в } 10^{-6} \text{ м}^2$ .

Гістологічно всі ДКРЛ мали солідну будову, тобто ракові клітини розташовувалися дифузно із щільним розташуванням одна до одної, проте спостерігались також ділянки з тенденцією до формування характерних патернів, а саме: псевдорозеток, гнізд органоїдної будови, тяжів ракових клітин і навіть тубулярних і протокових структур, що нагадували, але не являли собою, залозисте диференціювання. Поява несправжніх папілярних структур спостерігалася завдяки збереженню ракових клітин навколо судин і некрозів, що розташовувалися на більшій відстані.

ДКРЛ у поодиноких випадках мали на невеликій площі окремі нетипові клітинні характеристики. Наприклад, могли з'являтися ділянки пухлини з великими та плеоморфними клітинами, ядрами, з дисперсністю хроматину та наявними ядерцями, проте для діагнозу ДКРЛ обов'язковою умовою повинна бути наявність ділянок недрібноклітинного раку менше за 10 % площі пухлини.

### **3.3.2 Імуногістохімічні особливості лікувального патоморфозу ДКРЛ**

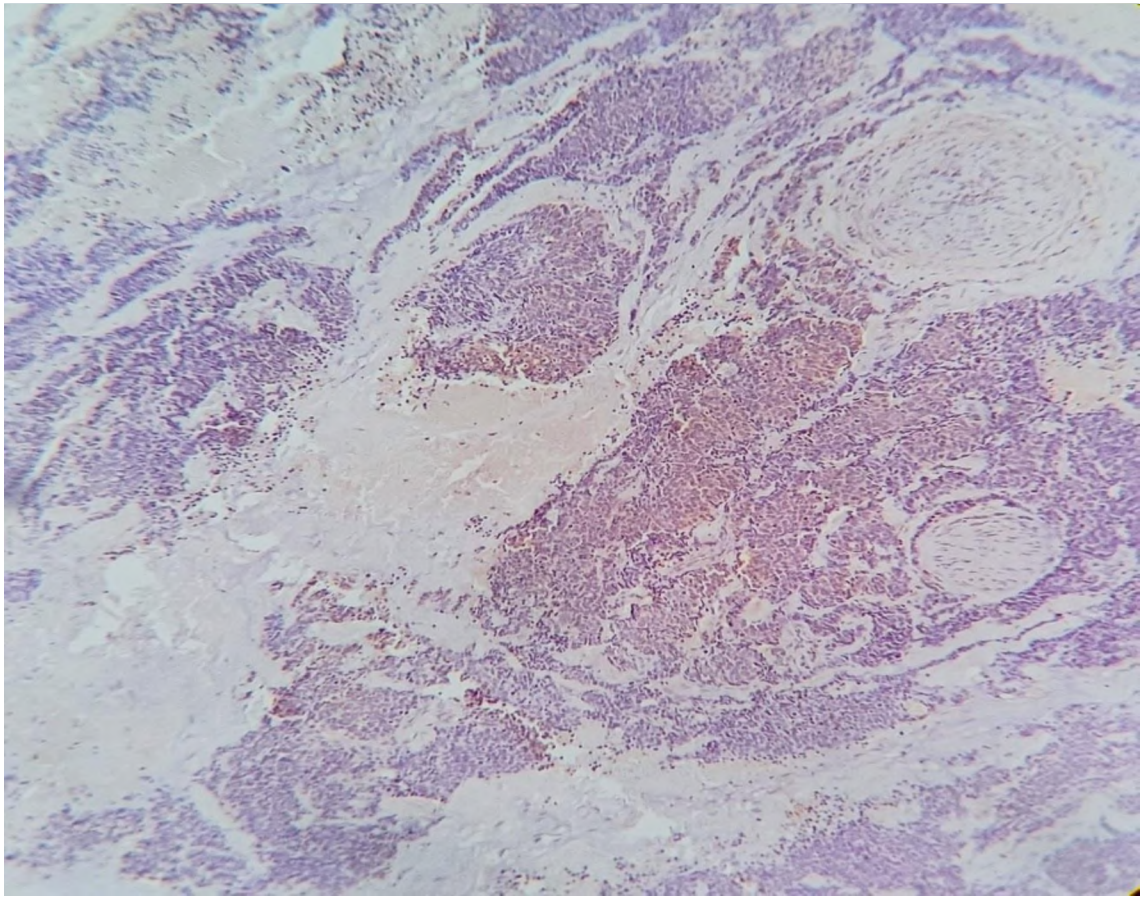
Підтвердження діагнозу ДКРЛ у складних випадках ґрунтувалося на ІГХ дослідженні з використанням таких маркерів: Ki-67 (для оцінки індексу проліферації), два нейроендокринних маркери (частіше CD56 і синаптофізін, рідше синаптофізін і хромогранін), TTF-1 (для визначення гістогенезу пухлини)

та p40 (маркер плоскоклітинного диференціювання). Панель маркерів могла змінюватися залежно від обсягу матеріалу.

У відібраних нами випадках ДКРЛ (25 біопсій ДКРЛ до лікування та 25 випадків аутопсійного матеріалу ДКРЛ після лікування) для визначення фенотипічних особливостей ДКРЛ ми обов'язково використовували маркери TTF-1, CD56 та Ki-67. Перший маркер дозволяв переконатися в первинній легеневій локалізації, другий вказував на нейроендокринне диференціювання, а третій дозволяв згідно з рекомендаціями ВООЗ провести диференційну діагностику з карциноїдами, що було актуальним у разі біопсій малого об'єму.

Експресія TTF-1 спостерігалася в усіх випадках ДКРЛ, але виразність експресії різнилася в групі біопсій до лікування та в групі аутопсійного матеріалу після лікування. У групі біопсій експресія TTF-1 була виражена в 51 – 75 % пухлинних клітин у 23 (92 %) випадках з 25. У групі аутопсійного матеріалу ДКРЛ у 13 випадках з 25 (52 %) експресія була виражена в 50 % і менше пухлинних клітин, а у 12 випадках (48 %) була від 51 % до 75 %.

Експресія CD56 була нерівномірною за інтенсивністю та часто осередковою, проте вона була наявна в 100 % досліджуваних нами ДКРЛ (рис. 3.4). Експресія маркера не мала істотних відмінностей у біопсійному матеріалі до лікування та в аутопсійному матеріалі після лікування. У 90 % усіх ДКРЛ експресія маркера відзначалася більш ніж 25 % пухлинних клітин. Достовірно значущої різниці в експресії CD56 у біоптатах ДКРЛ до хіміотерапії та в аутопсійному матеріалі ДКРЛ після хіміотерапії не виявлено (р-значення точного критерію Фішера = 0,674).



**Рис. 3.4** Експресія CD56 у ДКРЛ . Додаткове забарвлення гематоксиліном Майєра,  $\times 40$ .

Медіана експресії Ki-67 у біоптатах дорівнювала 58 % (діапазон 31 – 73 %), в аутопсійному матеріалі 35 % (діапазон 18 – 77 %) (табл. 3.4). Досліджуючи проліферативну активність пухлинних клітин у біопсійному та аутопсійному матеріалі, було встановлено, що ІІ був більший у випадках біопсій (до хіміотерапії), ніж у випадках аутопсійного матеріалу (після хіміотерапії). Різниця в рівні експресії Ki-67 між цими двома групами була значущою (U – критерій Манна-Уїтні = 159,  $p = 0,0029$ ).

Як додаткові маркери, що можуть бути цінними для діагностики ДКРЛ, ми використовували CD117 і p16. Експресія цих маркерів мала переважно осередковий характер із зонами більш і менш вираженого забарвлення пухлинних клітин. Оцінюючи ступінь забарвлення, крайові зони та зони біля масивних некрозів не враховувалися.

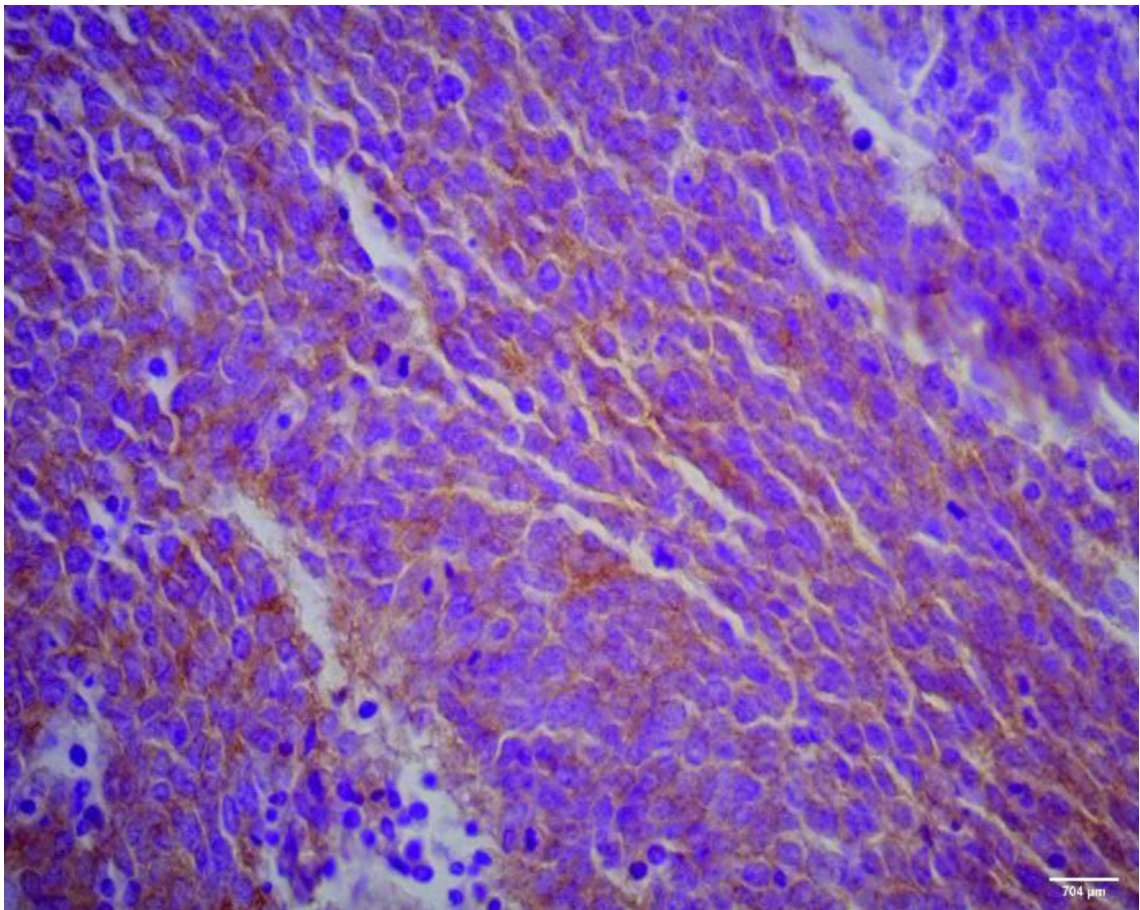
Таблиця 3.4

Експресія TTF-1, CD56, p16, Ki-67 та CD117 у двох досліджуваних групах ДКРЛ (дані представлені в абсолютній кількості випадків N)

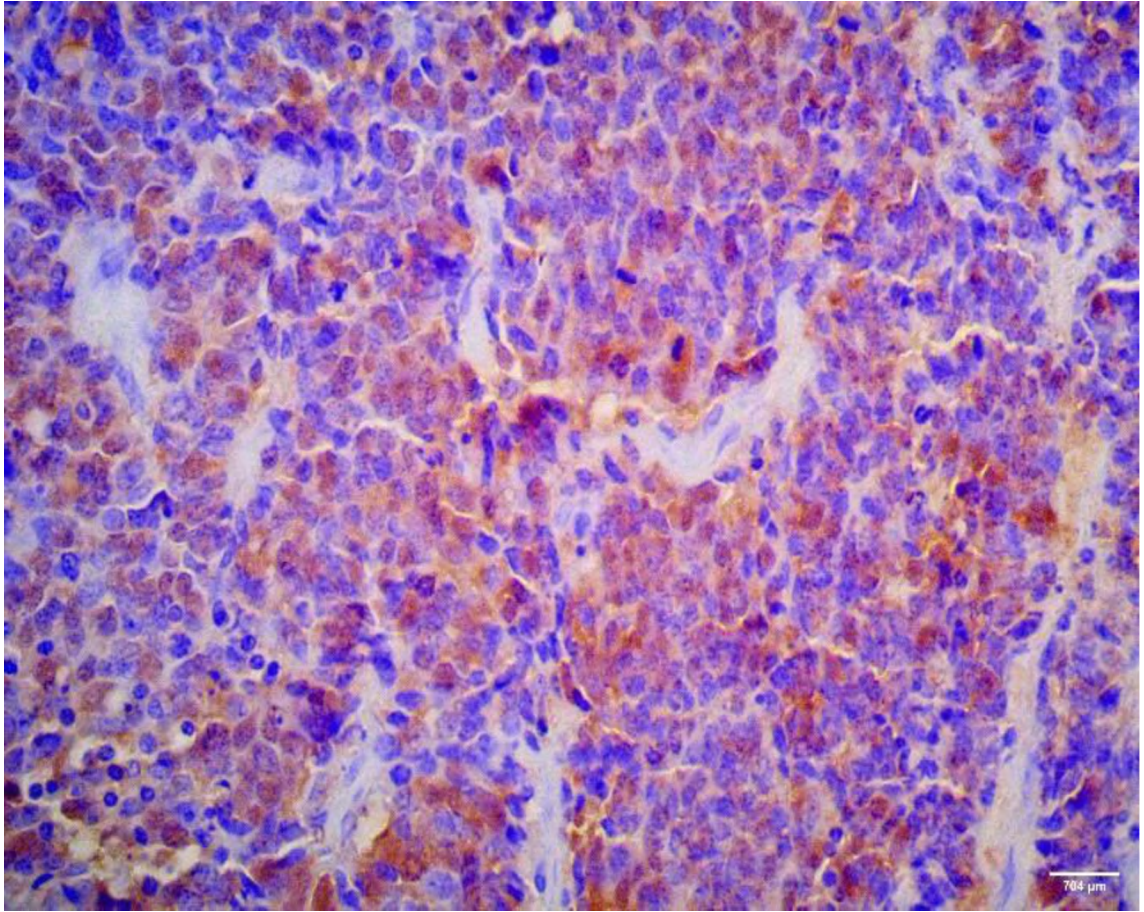
Маркер, рівень експресії	Групи	ДКРЛ (1 група – біопсії) N=25	ДКРЛ (2 група – аутопсії) N=25	Достовірність
TTF -1	0	0	0	p>0,05
	1	0	1	
	2	2	12	
	3	23	12	
	4	0	0	
CD56	0	0	0	p>0,05
	1	2	3	
	2	19	18	
	3	4	4	
	4	0	0	
p16	0	0	3	p>0,05
	1	7	9	
	2	9	8	
	3	5	5	
	4	4	0	
Ki-67				
Медіана		58%	35%	p = 0,0029
Діапазон		31 – 73%	18 – 77%	
CD117	0	5	9	p>0,05
	1	4	6	
	2	9	6	
	3	6	4	

Експресія CD117 відзначалася у 80 % біоптатів ДКРЛ та в 64 % аутопсійних випадках ДКРЛ, проте ця різниця не була статистично значуща (р-значення точного критерію Фішера = 0,156). Експресія CD 117 у ДКРЛ представлена на рисунку 3.5.

У пропорційному відношенні 100 % пухлин з групи біопсій ДКРЛ експресували p16 (рис. 3.6), з них 72 % (18 випадків) мали позитивне забарвлення більш за 25 % пухлинних клітин. У випадках аутопсійного матеріалу експресія p16 відзначалась у 88 % (22 випадки), з них експресія цього маркера більш ніж у 25 % пухлинних клітин була відмічена в 52 % випадків. Як і у випадку з експресією CD117, різниця в експресії p16 у біопсійних випадках до хіміотерапії та в аутопсійних випадках після хіміотерапії не була статистично значущою (р-значення точного критерію Фішера = 0,24).



**Рис. 3.5** Експресія CD117 у ДКРЛ (2 бали). Додаткове забарвлення гематоксиліном Майєра,  $\times 400$ .



**Рис. 3.6** Експресія p16 у ДКРЛ (3 бали), додаткове забарвлення гематоксиліном Майєра,  $\times 400$ .

### **3.3.3 Імуногістохімічні диференційно-діагностичні критерії ДКРЛ у біопсіях малого об'єму**

Для диференційної діагностики ДКРЛ нами було окремо сформовано групу гістологічно схожих з ДКРЛ пухлин легень. Групу становили з—15 пухлин, представлених переважно карциноїдами (5 типових та 4 атипівих), так само до групи входили плоскоклітинний рак (3 випадки), низькодиференційована аденокарцинома (2 випадки) та 1 саркома Юінга. У таблиці 3.5 представлена експресія різних маркерів у вказаних вище/зазначених вище пухлинах, а також у групі біоптатів ДКРЛ.

Експресія ТТF-1 у нашому дослідженні визначалася в ДКРЛ, атипівих карциноїдах, половині випадків типових карциноїдів та всіх аденокарциномах. Найбільш вираженою експресія ТТF-1 була в аденокарциномах, у ДКРЛ

експресія була також виражена, але часто мала осередковий характер з неоднорідною інтенсивністю фарбування. Експресії TTF-1 не було в плоскоклітинних раках і випадку саркоми. У карциноїдах експресія TTF-1 так само, як у ДКРЛ, мала осередковий характер з нерівномірною інтенсивністю забарвлення, проте на відміну від ДКРЛ визначалася переважно в діапазоні від 5 до 25 % позитивно забарвлених пухлинних клітин.

Експресія CD56 була наявною як у ДКРЛ, так і в карциноїдах, але була відсутня в інших схожих з ДКРЛ пухлинах з нашої вибірки. Виражена експресія p40 визначалася в усіх плоскоклітинних випадках раку, проте слабка експресія p40 у 5 – 6 % пухлинних клітин визначалася також у 2 випадках ДКРЛ (8 %). В інших схожих з ДКРЛ пухлинах експресії p40 не було.

Медіана ІІ дорівнювала 58 % (31 – 73 %) для ДКРЛ та 20 % (0 – 64 %) для не ДКРЛ. Проте суттєва різниця в експресії Ki-67 помітна лише між ДКРЛ та карциноїдами.

Також ми оцінили експресію двох додаткових маркерів у ДКРЛ – p16 та CD117. Експресія p16 відзначалася в 100 % ДКРЛ та в 53 % схожих з ДКРЛ пухлин, але водночас експресія p16 (2 – 4 бали) відзначалася лише в 6,7 % не ДКРЛ (табл. 3.5). Різниця в експресії p16 між ДКРЛ та іншими пухлинами статистично значуща (р-значення точного критерію Фішера = 0,00035).

Експресія CD117 була наявною у 80 % ДКРЛ та у 20 % інших пухлин, з яких одна пухлина була саркомою Юінга та 2 – карциноїдами (табл. 3.5). Виявлена різниця в експресії є статистично значущою (р- значення точного критерію Фішера = 0,0003).

Таблиця 3.5.

Експресія TTF-1, CD56, p16, CD117 CD117, p40 и Кі-67 у біоптатах  
ДКРЛ та схожих з ДКРЛ пухлин

Групи Маркер, рівень експресії	ДКРЛ (1 група) N=25	Атипові карциної- ди N=5	Типові карциної- ди N=4	Саркома N=1	Плоско- клітинний рак N=3	Адено- карци- нома N=2
TTF-1						
0	0	0	2	1	3	0
1	0	3	2	0	0	0
2	2	2	0	0	0	0
3	23	0	0	0	0	2
4	0	0	0	0	0	0
CD56						
0	0	0	0	1	3	2
1	2	0	0	0	0	0
2	19	1	0	0	0	0
3	4	4	1	0	0	0
4	0	0	3	0	0	0
p16						
0	0	1	4	0	1	1
1	7	4	0	1	1	1
2	9	0	0	0	1	0
3	5	0	0	0	0	0
4	4	0	0	0	0	0

Продовження таблиці 3.5

Групи Маркер, рівень експресії	ДКРЛ (1 група) N=25	Атипові карциної- ди N=5	Типові карциної- ди N=4	Саркома N=1	Плоско- клітинний рак N=3	Адено- карци- нома N=2
CD117						
0	5	3	4	0	3	2
1	4	1	0	0	0	0
2	9	1	0	1	0	0
3	7	0	0	0	0	0
p40						
0	23	5	4	1	0	2
1	2	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	3	0
4	0	0	0	0	0	0
Ki-67						
Медіана	58 %	18 %	2 %	37 %	56 %	62 %
Діапазон	3 –73 %	10–27 %	0 – 4 %	–	46–58 %	64 %

Для визначення більш ефективного набору ІГХ-маркерів для диференційної діагностики ДКРЛ у біопсіях малого об'єму була виконана покрокова логістична регресія, до якої були включені всі досліджувані маркери та їхні різні комбінації. У розрахунках найбільш ефективною виявилася комбінація таких маркерів: TTF-1/CD56(2-4 бали)/p16/CD117 (чутливість – 80,0 %, специфічність – 86,67 %;  $p=0,0003$ ). Тобто враховувалася експресія TTF-1 5 % та більше імунопозитивних пухлинних клітин, експресія CD56 – 26 % та більше імунопозитивних пухлинних клітин, експресія p16  $\geq 5$  % та експресія CD117 «1+» та більше. Проведений також ROC-аналіз із побудовою ROC-кривої. Площа під ROC-кривою (AUC) =0,833 (ДІ<sub>95</sub>:0,682-0,93; S=0,0611; z-score=5,458; індекс Youden=0,6667).

## Резюме

Рак легень, як основне захворювання, що призвело до смерті, безпосередньо чи через ускладнення, встановлено в 3,7 % (246/6635) від усіх випадків смертей пацієнтів стаціонарів багатoproфільних лікарень м. Харкова. ДКРЛ становив 28,9 % (71/246) від раків легень, що призвели до смерті та серед гістологічних типів раків легень посідав друге місце після аденокарцином (35,8 % та 28,8 % відповідно).

ДКРЛ найбільш часто вражав чоловіків (444/90,2 % серед пацієнтів та 57/80,3 % серед померлих на ДКРЛ), водночас найчастіше ці пухлини виявлялись у віковій категорії 50 – 70 років.

Найбільш притаманною локалізацією ДКРЛ, при її уточненні, була верхня частка легені (92/44,7 % серед пацієнтів та 23/32,4 % серед померлих хворих), на другому місці – головні бронхи (57/27,7 % серед пацієнтів та 18/25,3 % серед померлих), на третьому – нижня частка (45/21, 8%) та поширення ураження легені серед померлих хворих (16/22,5 %).

Важливим також є той факт, що лише 19,3 % пацієнтів (95/492) зазнавали хірургічного видалення пухлини з або без подальшої хіміо- та променевої терапії. 46,1 % пацієнтів піддавалися хіміотерапії без видалення пухлини (227/492). Це спостереження є важливим, оскільки вказує на те, що первинний діагноз ДКРЛ встановлюється здебільшого лише на підставі дослідження мізерного обсягу матеріалу (біопсійного чи цитологічного). Так, у нашій вибірці первинний діагноз ДКРЛ був встановлений на підставі гістологічного дослідження в 52,8 % випадків (260/492), інші випадки ДКРЛ було верифіковано за допомогою цитологічного методу – 47,2 % (232/492), що ще раз вказує на те, що на сучасному етапі лікар-патологоанатом повинен однаково володіти методами як гістологічної, так і цитологічної діагностики.

Під час аутопсії діагноз ДКРЛ було встановлено вперше в 40,8 % (29/71) з відповідною розбіжністю клінічного та патологоанатомічного

діагнозу. Водночас ще у 23,9 % (17/71) РЛ було встановлено чи запідозрено вперше в стаціонарі та лише в 35,2 % (25/71) спостережень РЛ було виявлено попередньо, й пацієнти отримували неoad'ювантну поліхіміотерапію. Отже, ДКРЛ, що призвів до смерті, було встановлено вперше в стаціонарі в 69,0 % (49/71) випадків.

Серед причин смерті пацієнтів з ДКРЛ прогресія та генералізація пухлинного процесу була лише в 73,3 %, відповідно у 26,7 % була встановлена поєднана патологія, а ДКРЛ не був безпосередньою причиною смерті та не призвів до смертельних ускладнень. Серед поєднаної патології відзначались: ІХС, постінфарктний кардіосклероз, гострий інфаркт міокарда, хронічна виразка шлунку або дванадцятипалої кишки з перфорацією або кровотечею, COVID-19 з вірусною пневмонією, гострий тубулоінтерстиційний нефрит.

Серед пацієнтів з верифікованим морфологічно ДКРЛ (286 випадків) пухлинний процес у 42,3 % належав до IV клінічної стадії, 46,9 % – до III стадії, лише 10,8 % – до II стадії та I стадії разом. Серед пацієнтів, які померли від ДКРЛ виявлення пухлинного процесу на першій, другій, третій, четвертій стадіях було у 2,8 %, 7,0 %, 7,0 %, 21,1 % та 62,1 % відповідно. Найчастіше метастазування відбувалося в печінку, другу легеню, головний мозок, кісткову систему – у 36,6 %, 30,9 %, 18,3 %, 12,7 % відповідно. Метастази також виявлялися в наднирниках, підшлунковій залозі, селезінці, заочеревинному просторі тощо.

Гістологічно більшість ДКРЛ було представлено групами дрібних пухлинних клітин, що тісно прилягають одна до одної, мають овоїдну або веретеноподібну форму зі слаборозвиненою цитоплазмою та вираженою гіперхромністю ядер. Із проаналізованих 492 випадків 8 випадків (1,6 %) були представлені комбінованою формою ДКРЛ, у 6 з 8 випадків другим компонентом пухлини був плоскоклітинний рак, у 2 – аденокарцинома.

Для дослідження фенотипу ДКРЛ у випадках біопсій до терапії та у випадках аутопсій після терапії, а також для диференціальної діагностики ДКРЛ у біопсіях малого об'єму ми проводили дослідження в трьох групах: 25 біопсій ДКРЛ до терапії, 25 випадків аутопсій ДКРЛ, 15 випадків схожих з ДКРЛ пухлин. Експресія CD117 та p16 в аутопсійному матеріалі ДКРЛ після хіміотерапії порівняно з біопсійним матеріалом ДКРЛ до хіміотерапії мала тенденцію до зниження ( $p > 0,05$ ). Статистично значуще зниження експресії Ki-67 спостерігалось в аутопсійних випадках ДКРЛ після хіміотерапії (U-критерій Манна-Уїтні = 159,  $p = 0,0029$ ). Експресія CD56 не мала істотних відмінностей.

Для диференційної діагностики ДКРЛ з плоскоклітинними раками найбільш цінними можна вважати маркери TTF-1 (експресії нема в у плоскоклітинних раках) та p40 (у ДКРЛ експресія може спостерігатися; у нашому дослідженні це 2 пухлини (8%), але буде слабо вираженою). Ki-67 може бути використано для диференційної діагностики ДКРЛ з карциноїдами, але не для диференційної діагностики з іншими злоякісними новоутвореннями. Використання маркера CD56 дозволяє визначити нейроендокринну природу пухлини. Як додаткові маркери для диференційної діагностики ДКРЛ можуть бути рекомендовані p16 та CD 117. Експресія цих двох маркерів достовірно вища в ДКРЛ порівняно з гістологічно схожими з ними пухлинами ( $p$ -значення точного критерію Фішера = 0,00035).

Для диференційної діагностики ДКРЛ у біопсіях малого об'єму ми рекомендуємо таке поєднання імуногістохімічних маркерів: TTF-1/CD56 (2 – 4 бали)/p16/CD117 (чутливість – 80,0 %, специфічність – 86,67 %;  $p = 0,0003$ ), де під терміном «2 – 4 бали» мається на увазі наявність позитивної експресії CD56 більше ніж у 25 % пухлинних клітин. Запропонована комбінація маркерів також у перспективі може мати цінність для підбору таргетної терапії пацієнтам з ДКРЛ.

**За матеріалами розділу «Розділ 3» опублікована стаття:**

- «Immunohistochemical diagnosis and prognosis of small cell lung cancer: the search for new strategies» Irina Yakovtsova, Olexandr Yanchevskiy, Taisiia Chertenko, Andriy Kis, Andriy Oliyinyk. Scientific Journal «ScienceRise: Medical Science», 2022; Вип. №1 (46): 31-36.

## РОЗДІЛ 4

### ПРОГНОСТИЧНІ КЛІНІКО-МОРФОЛОГІЧНІ ТА МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНІ КРИТЕРІЇ ДКРЛ

#### 4.1. Клініко-морфологічні критерії прогнозу ДКРЛ

Пацієнти з ДКРЛ були переважно чоловічої статі – у 82,1 %, жіночої – у 17,9 % та, були представлені в майже однаковому співвідношенні серед груп Л-ДКРЛ та Р-ДКРЛ (табл. 4.1).

Не виявлено також різниці між групами дослідження за показником віку пацієнтів. Середній вік становив  $61,7 \pm 1,9$  років (табл. 4.1).

Таблиця 4.1

Клініко-морфологічні особливості ДКРД груп дослідження

Ознаки \ Групи	Л-ДКРЛ	Р-ДКРЛ
Стать Ч	11 (78,6%)	21 (84,0%)
Ж	3 (21,4%)	4 (16,0%)
Вік	$60,3 \pm 2,1$	$62,3 \pm 1,7$
Площа ракових клітин	3 діаметра лімфоцита	3 діаметра лімфоцита
Форма ракових клітин	Кругла та овальна, можлива веретеноподібна	Кругла та овальна, можлива веретеноподібна
Середнє число мітозів у $10^{-6} \text{ м}^2$	$41,1 \pm 2,6$	$38,6 \pm 2,7$
Некроз	Осередкові та поширені в 10 % (14) пухлин	Осередкові та поширені в 100 % (25) пухлин

Серед морфологічних ознак на рівні рутинного забарвлення гематоксиліном та еозином також не виявлені статистично значущі відмінності між групами дослідження. Мітотична активність ДКРЛ була варіабельною від

10 до 78 мітозів у  $10^{-6} \text{ м}^2$ , у середньому  $39,5 \pm 2,7$ ; ядерні характеристики, такі як: площа, форма ядра, відсутність чи непомітність ядерець, гранулярність хроматину, форма ракових клітин, наявність і поширеність некрозів, гістологічний тип будови (солідний, часто гніздовий, можливо трабекулярний), не відрізнялись серед ДКРЛ груп дослідження. Як для Л-ДКРЛ, так і для Р-ДКРЛ не була властива десмоплазія та гіаліноз строми.

Серед 33 спостережень хворих, що отримували лікування у вигляді ПХТ, смерть настала у 29 випадках. Середній термін з моменту встановлення діагнозу до смерті становив  $10,5 \pm 1,3$  місяця, найменший – 1 місяць, найбільший – 28 місяців.

Серед померлих пацієнтів, які отримували лікування було 4 випадки ІІВ стадії, решта 25 випадків – ІV стадії. Простежена статистично значуща різниця між терміном виживаності та приналежності пухлин до Л-ДКР чи Р-ДКРД ( $p < 0,005$ ). Середній термін з моменту встановлення діагнозу до смерті серед Л-ДКРЛ становив  $19,7 \pm 1,9$  місяця, серед Р-ДКРЛ  $9,1 \pm 1,3$  місяця.

## 4.2 Прогностичні імуногістохімічні критерії ДКРЛ

### 4.2.1 Проліферативна активність ДКРЛ

Рівень проліферативної активності ДКРЛ був варіабельним від 18 до 77 % середній рівень експресії Ki-67 дорівнював  $41,3 \pm 3,1$  (рис. 4.1).

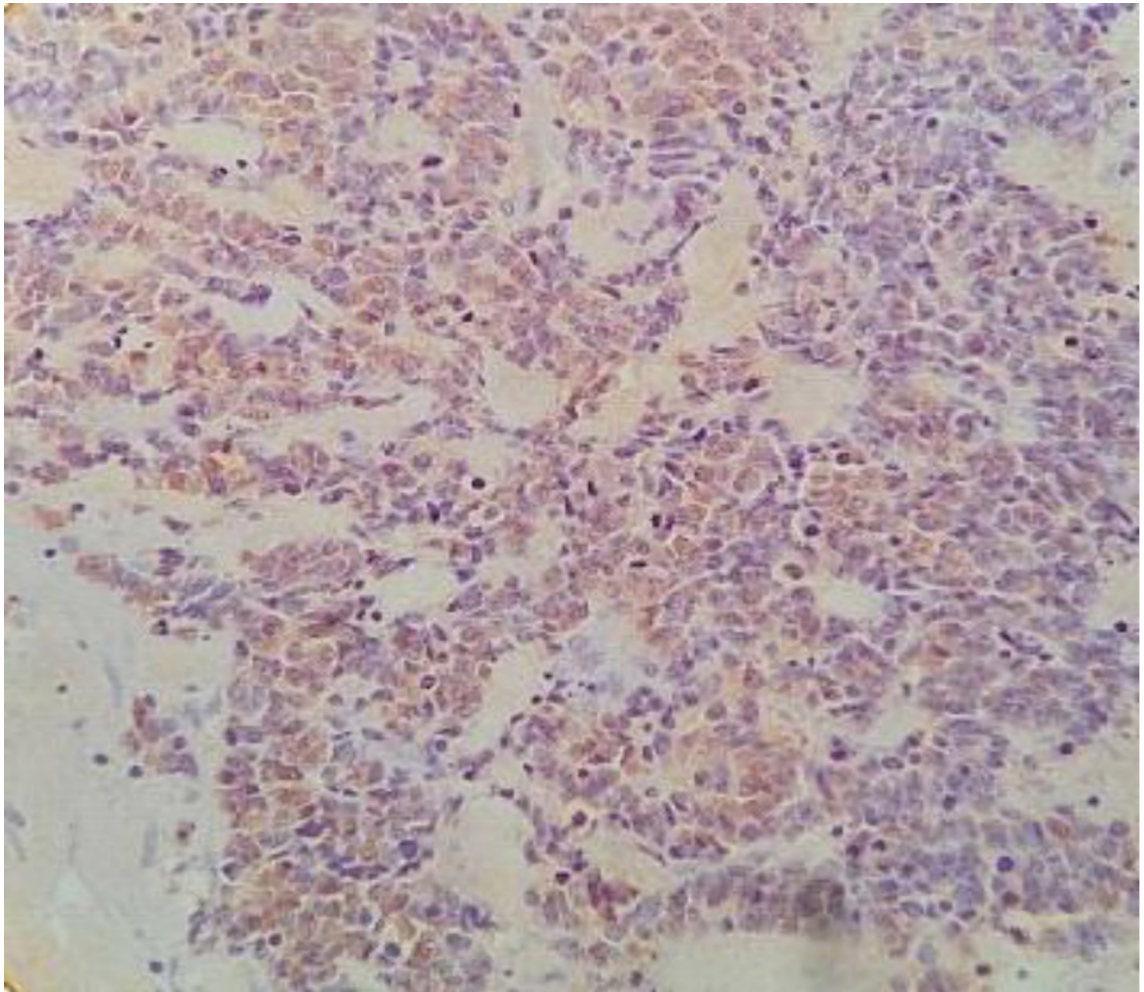
Установлено статистично значущу різницю в рівні проліферативної активності між Л-ДКРЛ –  $51,4 \pm 4,8$  та Р-ДКРЛ –  $35,0 \% \pm 3,4$  ( $p < 0,001$ ) (табл. 4.2).

Таблиця 4.2

Рівень експресії Ki-67 Л-ДКРЛ та Р-ДКРЛ

Групи Ознаки	Л-ДКРЛ	Р-ДКРЛ	Достовір ність
Ки-67			
Медіана	51%	35%	$p < 0,001$
Діапазон	25-75%	18-77%	

Порівнюючи рівень експресії Ki-67 серед групи Л-ДКРЛ, встановлено, що ІМ Ki-67 Л-ДКРЛ, що не метастазують, дорівнював  $60,3 \pm 4,6$  %, Л-ДКРЛ, що метастазують –  $45,0 \pm 7,7$  % ( $p=0,06$ ). Отже, простежується тенденція до збільшення рівня експресії Ki-67 серед Л-ДКРЛ, що не метастазують, проте залежність недостовірна.



**Рис. 4.1** Помірна реакція з Ki-67 в пухлинних клітинах ДКРЛ. ІГХ-метод, додаткове забарвлення гематоксиліном Майєра,  $\times 100$ .

У пацієнтів з ДКРЛ встановлена пряма статистично значуща залежність між терміном виживаності та рівнем експресії Ki-67. Як видно на рис. 4.2, при поділі ДКРЛ на пухлини, що експресують  $Ki-67 \geq 33$  % та  $< 33$  %, виявлена пряма залежність з терміном загальної виживаності ( $p < 0,03$ ). Тобто, у разі

зростання рівня проліферативної активності ДКРЛ, виживаність пацієнтів збільшувалася.

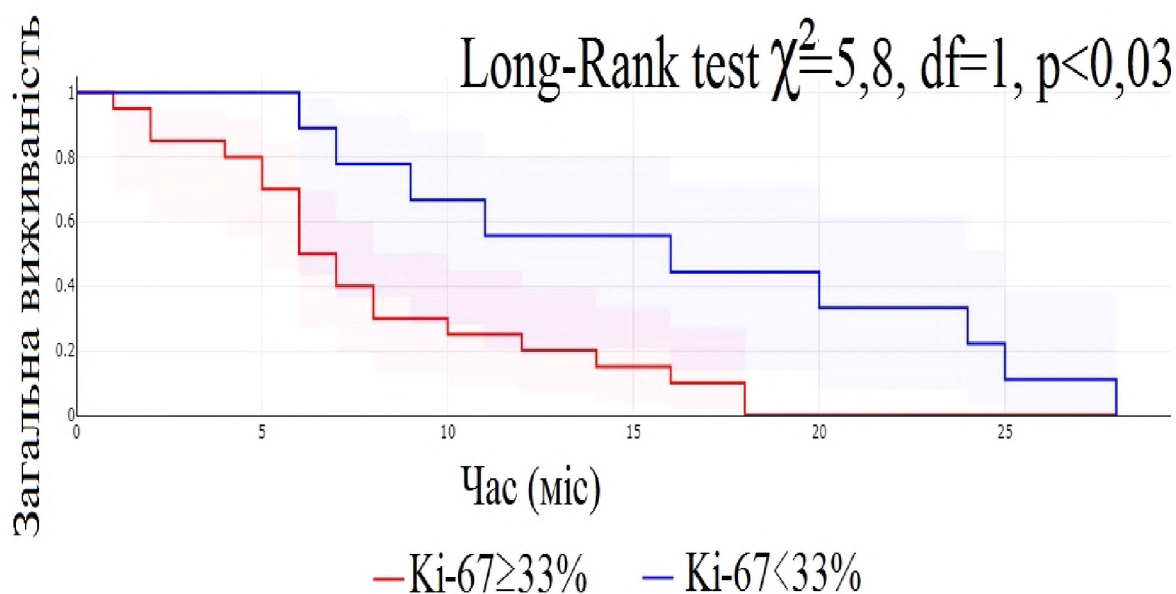


Рис. 4.2 Загальна виживаність пацієнтів залежно від рівня експресії Ki-67.

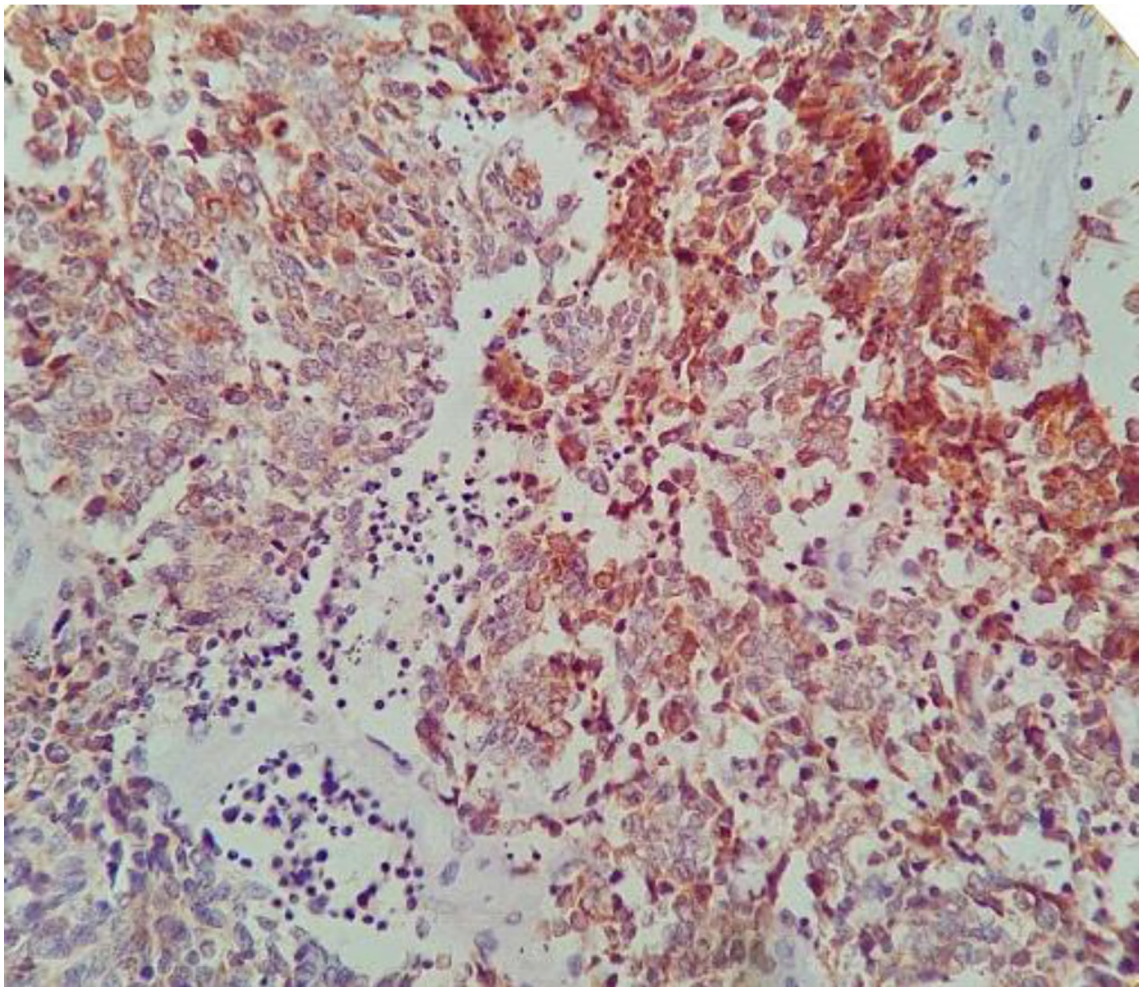
#### 4.2.2 Прогностичне значення маркерів нейроендокринного фенотипу ДКРЛ

Усі ДКРЛ мали позитивний до маркерів нейроендокринного фенотипу статус. У нашій роботі оцінка проводилась із визначення реакції з CD56 або синаптофізину. Для визначення впливу зазначених маркерів на прогноз захворювання було проведено оцінку рівня експресії маркерів з урахуванням відсотків ракових клітин з позитивною реакцією. У випадках позитивної реакції як CD56, так і синаптофізину рівнем експресії вважався найбільший.

Реакція цих маркерів була цитоплазматичною, наявною в усіх випадках ДКРЛ, проте з різною інтенсивністю (помірною чи вираженою) та була наявною не в усіх ракових клітинах. Більш чутливим нейроендокринним маркером, ніж синаптофізин, був CD56. Виражена експресія маркерів була в 61,5 % (24/39), у решти 38,5 % (15/39) – спостерігали помірну експресію маркерів із забарвленням 33 – 66 % ракових клітин (рис. 4.3).

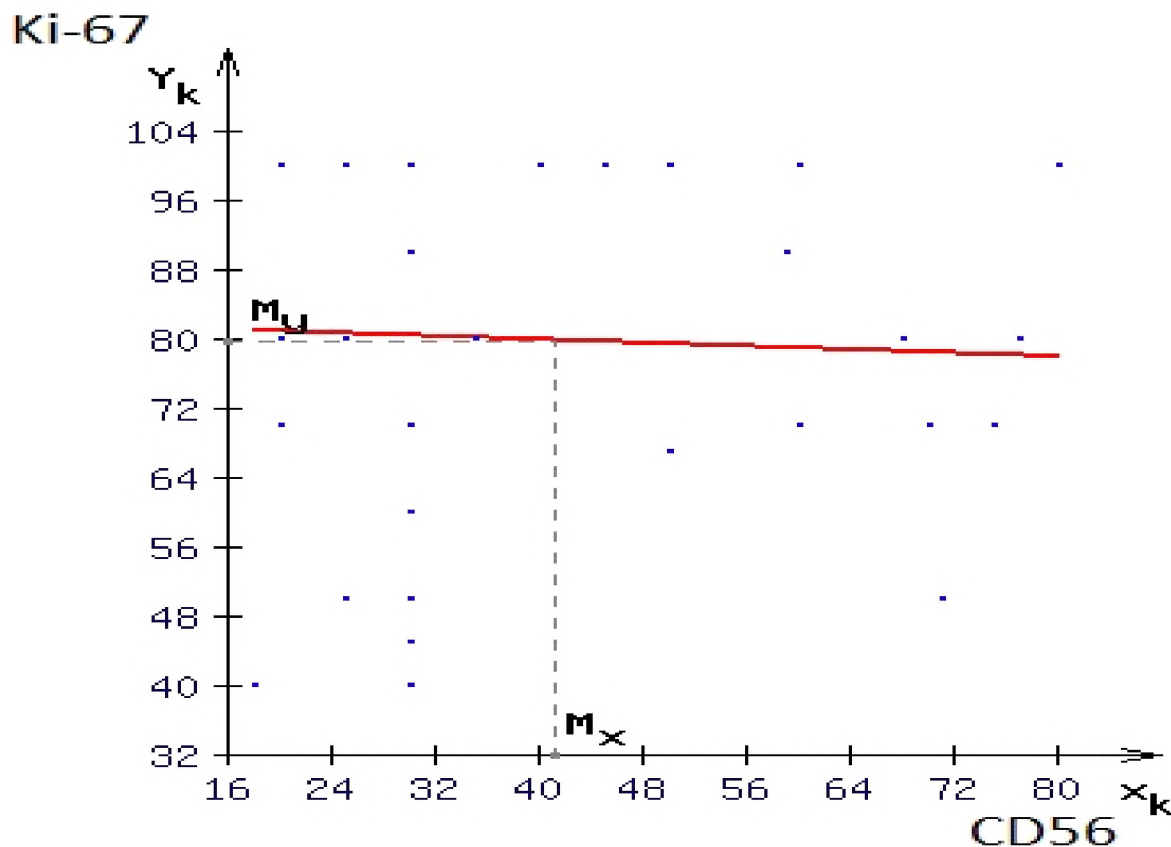
Не було виявлено залежності між групами дослідження за інтенсивністю експресії досліджених маркерів ДКРЛ. Так, виражена реакція визначалась у 92,8 (13/14) Л-ДКРЛ та в 72,0 % (18/25) ( $\chi^2=2,3$ ,  $p=0,1$ ), що визначає тенденцію до меншого рівня експресії цих маркерів серед Р-ДКРЛ. Аналогічна тенденція зниження інтенсивності реакції простежена й серед Л-ДКР, що метастазують порівняно з Л-ДКР, що не метастазують. Середній ІМ маркерів Л-ДКР, що не метастазують становив  $82,8 \pm 5,2$  %, що метастазують –  $76,7 \pm 6,8$  % ( $p=0,4$ ).

Отже, маркери нейроендокринного фенотипу мають обмежене прогностичне значення для ДКРЛ.



**Рис. 4.3** Виражена експресія CD56 в цитоплазмі ДКРЛ. ІГХ-метод,  $\times 100$ .

Простежена слабка тенденція меншого рівня експресії маркерів нейроендокринного фенотипу при більшій проліферативній активності ДКРЛ ( $r = -0,04$ ) (рис. 4.4).

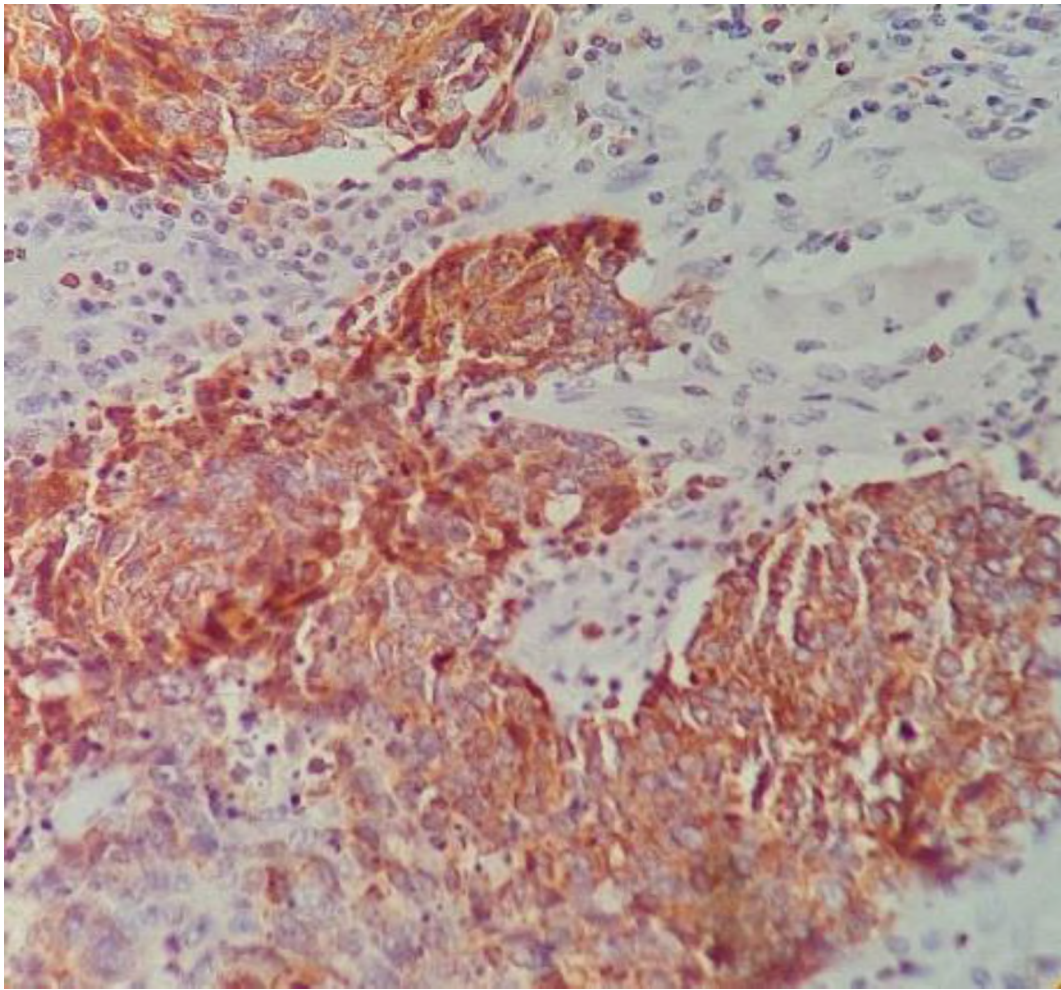


**Рис. 4.4** Графік лінії регресії демонструє слабку тенденцію до взаємозв'язку між рівнем експресії Ki-67 та CD56 ДКРЛ ( $p > 0,05$ ).

#### 4.2.3 Експресія CD44 у ДКРЛ

Визначення особливостей експресії CD44 у ДКРЛ груп дослідження було виконано для встановлення прогностичного критерію цих пухлин та оцінки біологічних особливостей стовбурового фенотипу клітин, що виникає в процесі прогресії раку.

Позитивна реакція з CD44 визначалась в 30,8% (12/39) та була переважно слабкою з експресією даного маркеру більш ніж в 1% ракових клітин (рис. 4.5).



**Рис. 4.5** Виражена цитоплазматична експресія CD44 в ДКРЛ. ІГХ метод,  $\times 100$ .

Порівнюючи рівень відносного числа експресуючих маркер CD44 ДКРЛ серед груп дослідження, встановлено відсутність залежності між позитивним CD44 статусом та приналежності пухлини до поширеної чи локалізованої форми за наявності тенденції до підвищення експресії цього маркера серед Р-ДКРЛ (табл. 4.3).

Число позитивних з CD44 ДКРЛ серед груп дослідження

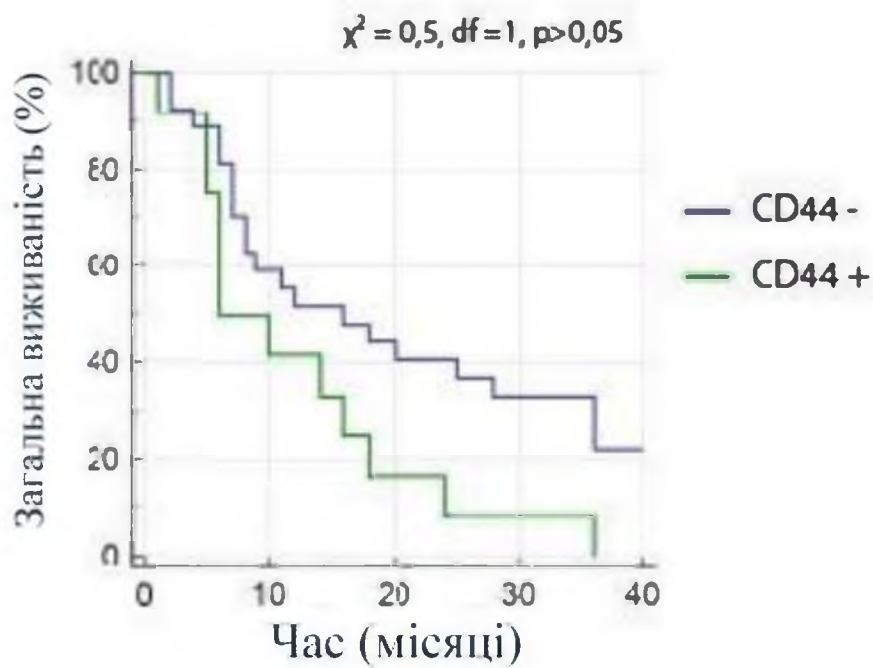
Ознаки \ Групи	Л-ДКРЛ	Р-ДКРЛ	Достовірність
Позитивна реакція, n=12	3 (21,4%)	9 (36%)	p > 0,05
Негативна реакція, n=27	11 (78,6%)	16 (64%)	

Більш сильна тенденція агресивної клінічної поведінки та позитивного CD44 статусу простежується під час розгляду ДКРЛ, що метастазують ( $p=0,1$ ). Усі ДКРЛ з позитивною експресією CD44 були такими що метастазують (100 %), тоді як у спостереженнях з відсутньою реакцією з CD44 метастази було виявлено в 50 % (7/14) випадків. Не виявлено також статистично значущої залежності між позитивною реакцією маркера CD44 та терміном ЗВ пацієнтів ( $p=0,7$ ) (рис. 4.6).

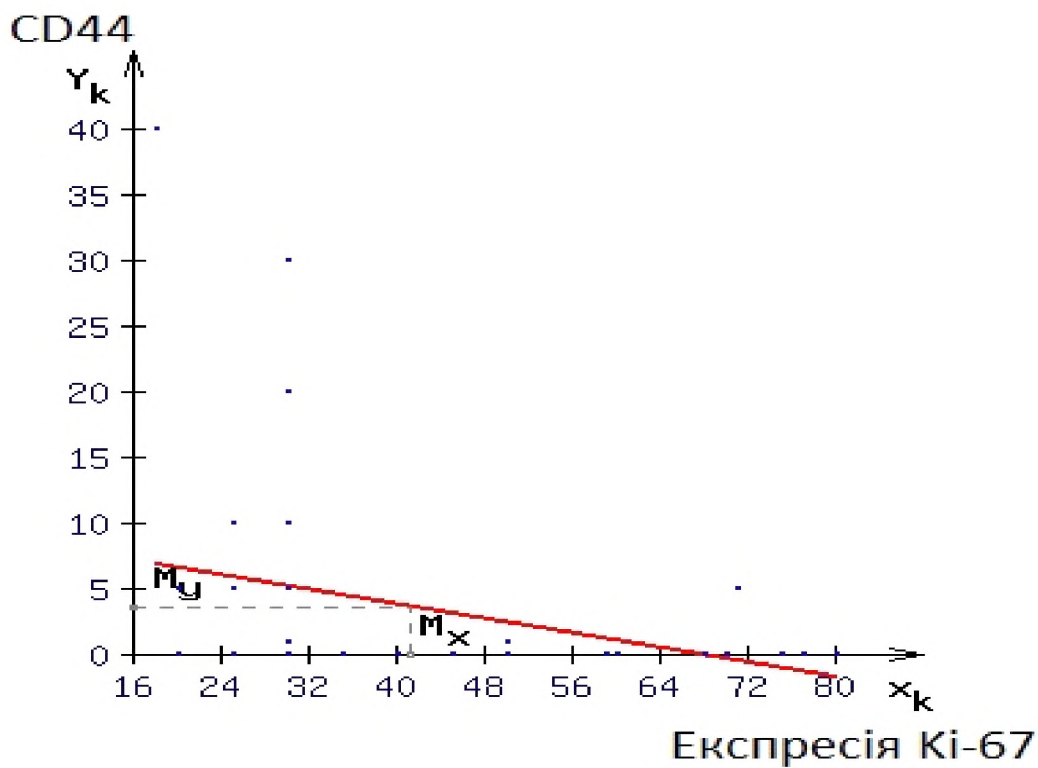
Оцінюючи експресію CD44 з дослідженими маркерами, встановлено зворотню кореляційну залежність з нейроендокринним статусом ДКРЛ.

Досліджуючи зв'язок експресії CD44 з Ki-67, (під час дослідження зв'язку експресії CD44 з Ki-67) не встановлено статистично значущої залежності, проте відзначається тенденція зворотного зв'язку – чим більша проліферативна активність ДКРЛ, тим менша вірогідність наявності стовбурового фенотипу (рис. 4.7).

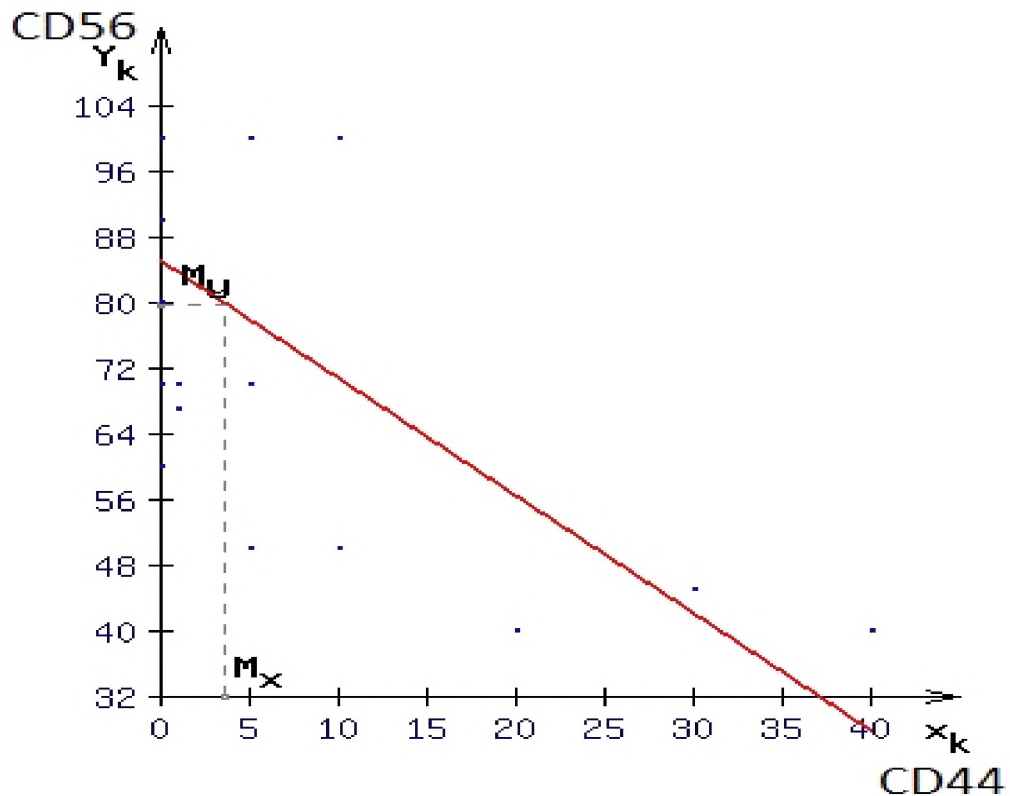
Простежено зворотню кореляційну залежність між рівнем експресії CD44 та реакцією маркерів нейроендокринного фенотипу ( $r= - 0,65$ ,  $p<0,01$ ) (рис.4.8).



**Рис. 4.6** Загальна виживаність пацієнтів залежно від позитивної та негативної реакції до CD44.



**Рис. 4.7** Графік лінії регресії демонструє слабку тенденцію до зворотного взаємозв'язку між рівнем експресії CD44 та Ki-67 ( $p > 0,05$ ).



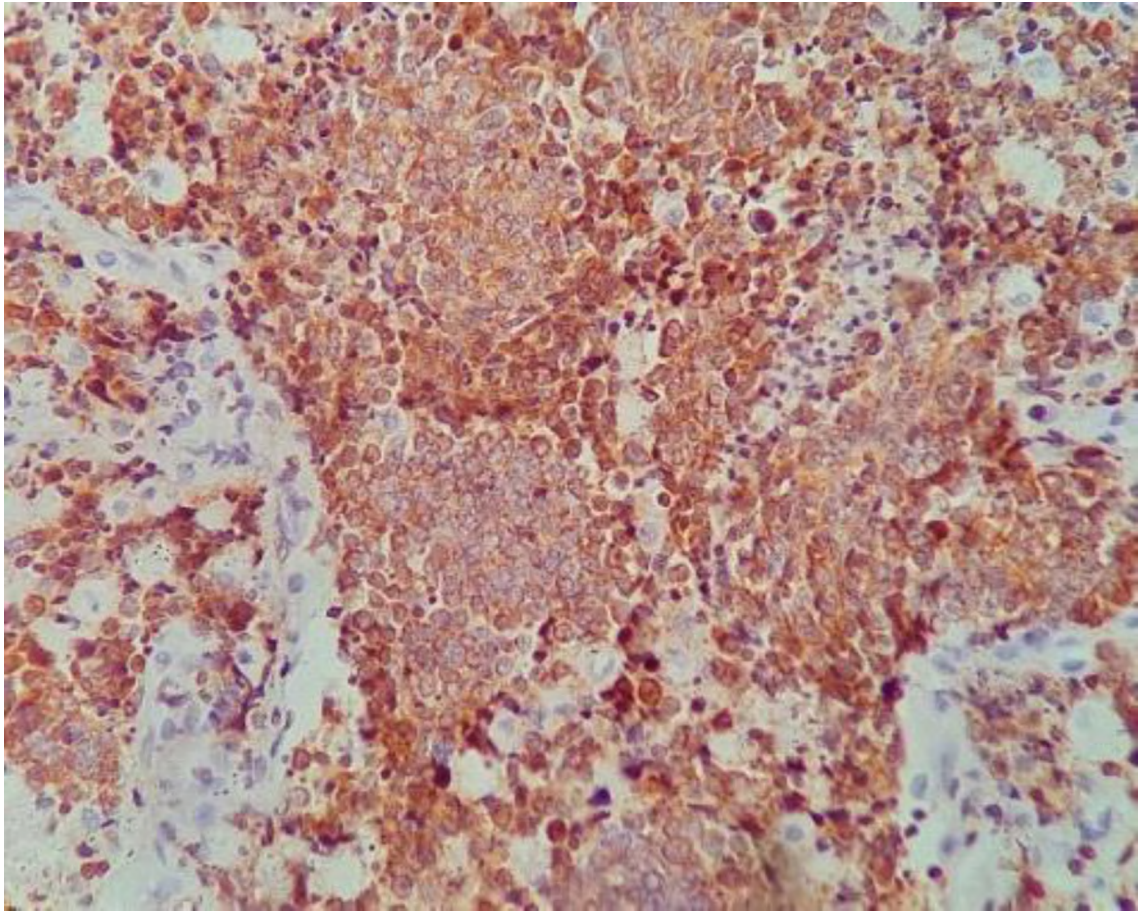
**Рис.4.8** Графік лінії регресії демонструє зворотну кореляційну залежність між рівнем експресії CD44 та CD56 ( $p < 0,01$ ).

Отже, для ДКРЛ зі стовбуровим імунофенотипом властиве зниження експресії нейроендокринних маркерів за наявності їхньої експресії.

### 4.3 ЕМТ ДКРЛ

#### 4.3.1 Експресія панцитокератину

У досліджених ДКРЛ експресія панцитокератину була непостійною, часто слабкою. В окремих випадках експресія маркера була ледь помітна, виражалась у зернистому перинуклеарному забарвленні до чи близько 1 % РК. Ці випадки вважалась такими, що мають негативну реакцію до панцитокератину. Позитивна реакція до панцитокератину спостерігалася в 69,2 % (27/39) (рис. 4.9), а зі слабким рівнем експресії – у 43,5 % (17/39).



**Рис.4.9** Виражена цитоплазматична експресія панцитокератину в ДКРЛ. ІГХ-метод,  $\times 100$ .

Статистично значущої залежності між рівнем експресії панцитокератину та прогнозом захворювання не було. Як видно з таблиці 4.4, відсутність і слабка експресія маркера спостерігалася дещо частіше серед Р-ДКРЛ ніж серед Л-ДКРЛ, а виражена та помірною реакція – серед Л-ДКРЛ ніж серед Р-ДКРЛ.

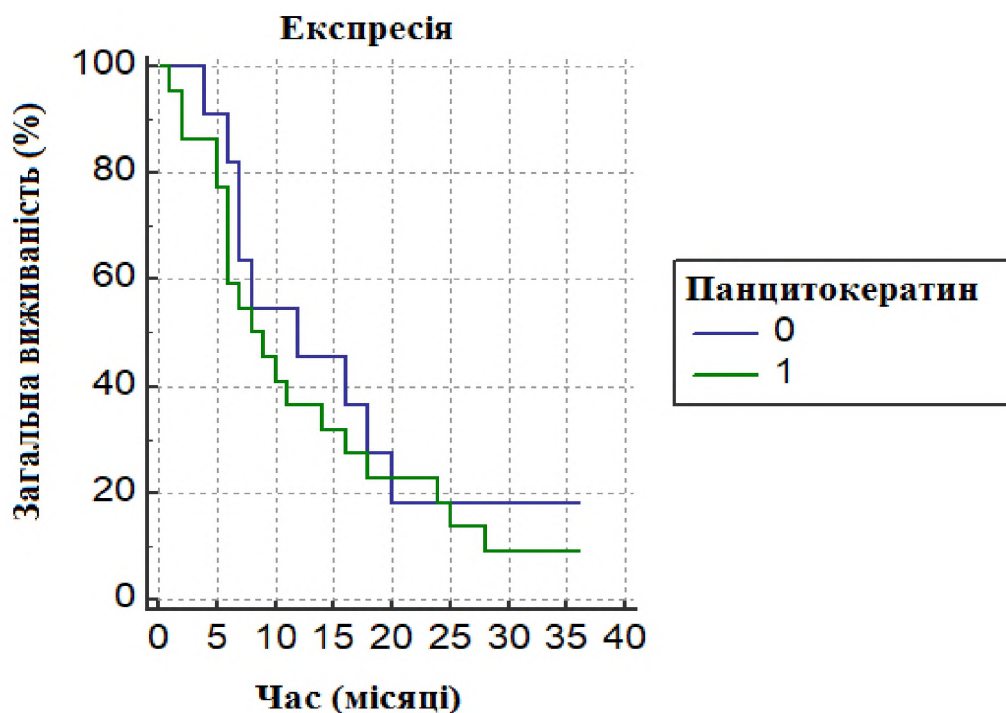
Таблиця 4.4

Рівень експресії панцитокератину ДКРЛ серед груп дослідження

Ознаки \ Групи	Л-ДКРЛ	Р-ДКРЛ	Достовірність
Відсутність	3 (21,4%)	9 (36,0%)	$p > 0,05$
Слабка	6 (42,8%)	11 (44,0%)	
Помірною	2 (14,3%)	3 (12,0%)	
Виражена	3 (21,4%)	2 (8,0%)	

Не спостерігалася також залежність між Л-ДКРЛ, що метастазують та Л-ДКРЛ, що не метастазують за рівнем експресії панцитокератину. Так, відсутність реакції визначалась у 7,1 % (1/14) Л-ДКРЛ, що не метастазують та у 14,3 % (2/14) Л-ДКРЛ, що метастазують; виражена реакція – у 21,4 % (3/14) Л-ДКРЛ, що не метастазують і у 7,1 % (1/14) -ДКРЛ, що метастазують.

Як видно з рисунка 4.10, спостерігалась відсутність залежності між виживаністю пацієнтів і рівнем експресії панцитокератину ( $\chi^2 = 0,5$ ,  $p > 0,05$ ).

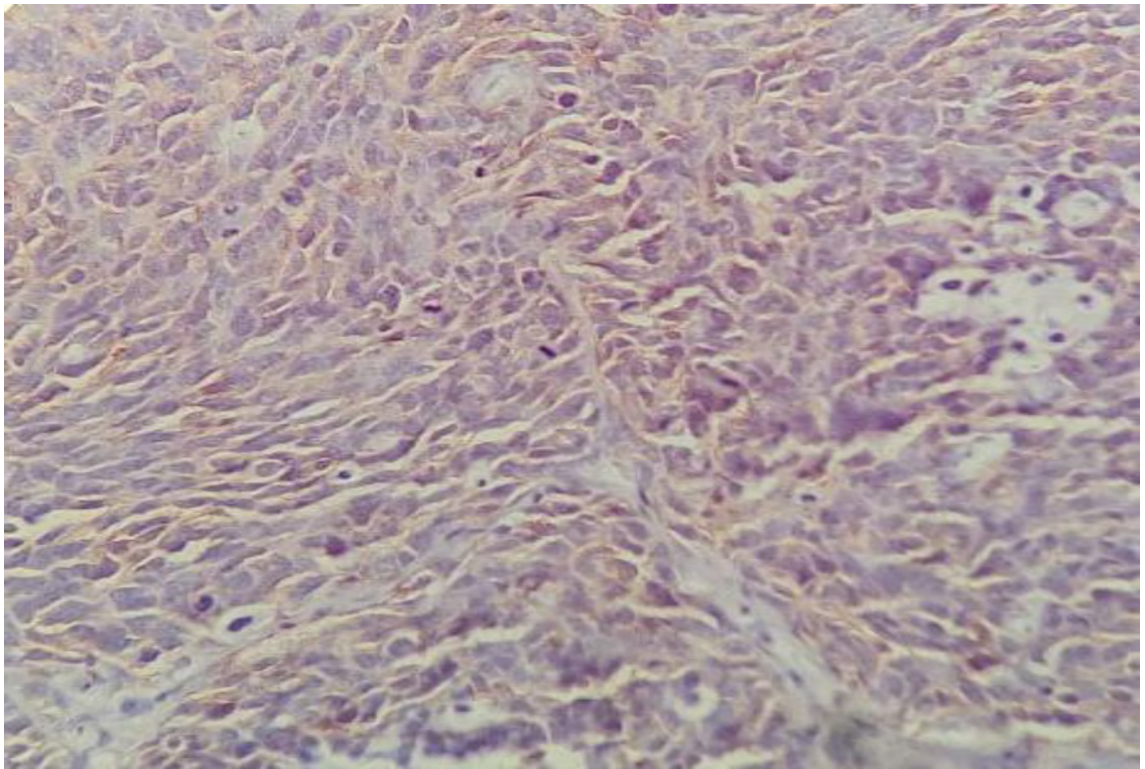


**Рис.4.10** Загальна виживаність пацієнтів залежно від позитивної (1) та негативної (0) експресії панцитокератину.

Під час коекспресії маркерів не виявлено кореляційної залежності між реакцією панцитокератину та Ki-67 ( $r=0,2$ ,  $p>0,05$ ), панцитокератину та CD56 ( $r=0,05$ ,  $p>0,05$ ) та панцитокератину з CD44 ( $r=0,06$ ,  $p>0,05$ ).

#### 4.3.2 Експресія віментину

Експресія віментину спостерігалася у 28,2 % (11/39) ДКРЛ, з яких у 90,9 % (10/11) реакція була слабкою в цитоплазмі до 33 % ракових клітин (рис. 4.11).



**Рис.4.11** Слабка цитоплазматична експресія віментину раковими клітинами. ІГХ-метод, додаткове забарвлення гематоксилін Майєра,  $\times 100$ .

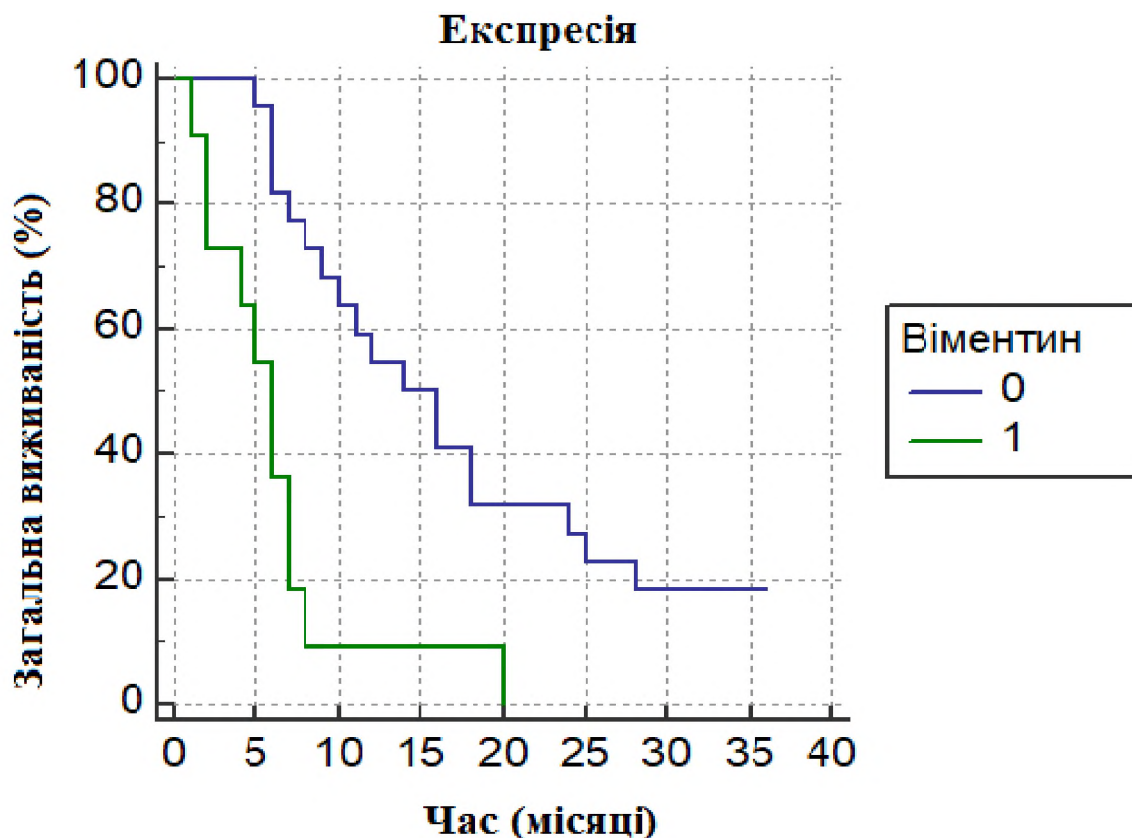
Простежена тенденція до збільшення експресії віментину серед Р-ДКРЛ порівняно з Л-ДКРЛ. Як видно з таблиці 4.5, лише в одному випадку Л-ДКРЛ з 14 було виявлено експресію віментину, тоді як серед Р-ДКРЛ позитивна реакція досліджуваного маркера визначалась у 40 % випадків (10/25). Проте отримані дані свідчать про відсутність статистично значущої залежності між Л-ДКРЛ та Р-ДКРЛ за рівнем експресії віментину.

Таблиця 4.5

Рівень експресії віментину ДКРЛ груп дослідження

Групи Ознаки	Л- ДКРЛ	Р-ДКРЛ	Достові рність
Відсутність	13	15	$\chi^2 = 4,8,$ $p > 0,05$
Слабка	(92,8%)	(60,0%)	
Помірна	1 (7,2%)	9	
	0	(36,0%)	
		1 (4,0%)	

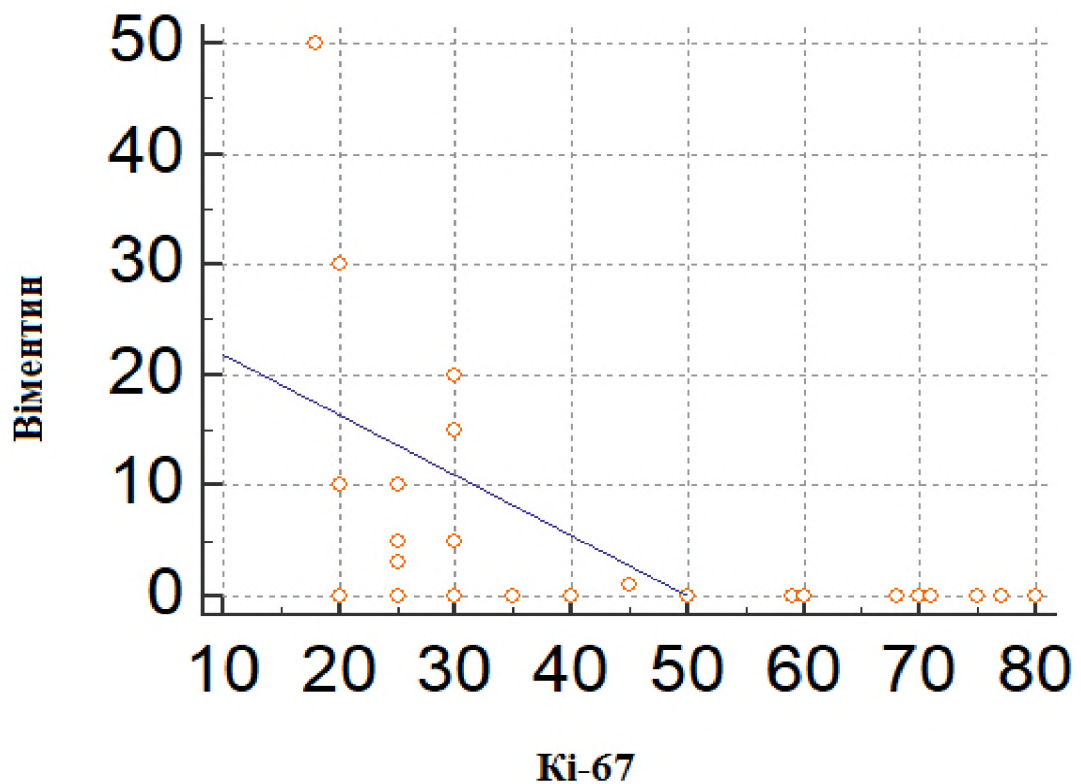
Простежено залежність між рівнем експресії віментину та терміном летального кінця пацієнтів ДКРЛ ( $\chi^2 = 13,5$ ,  $p < 0,001$ ) (рис. 4.12). Середній термін виживаності пацієнтів без реакції ДКРЛ до віментину становив  $16,9 \pm 2,2$  міс., у разі позитивної реакції –  $6,2 \pm 1,7$  міс. ( $p < 0,001$ ).



**Рис. 4.12** Загальна виживаність пацієнтів залежно від позитивної (1) та негативної (0) експресії віментину.

Отже, можна вважати, що віментин є значущим маркером у визначенні клінічної поведінки та прогнозу ДКРЛ.

Простежено зворотну кореляційну залежність між експресією віментину раковими клітинами та Ki-67 ( $r = -0,4$ ,  $p < 0,01$ ) (рис. 4.13). Оцінка коекспресії маркерів показала, що при появі реакції віментину раковими клітинами, спостерігалось зниження їхньої проліферативної активності, що так само є однією з ознак EMT.



**Рис. 4.13** Графік лінії регресії демонструє зворотну кореляційну залежність між рівнем експресії віментину та Ki-67 ( $p < 0,01$ ).

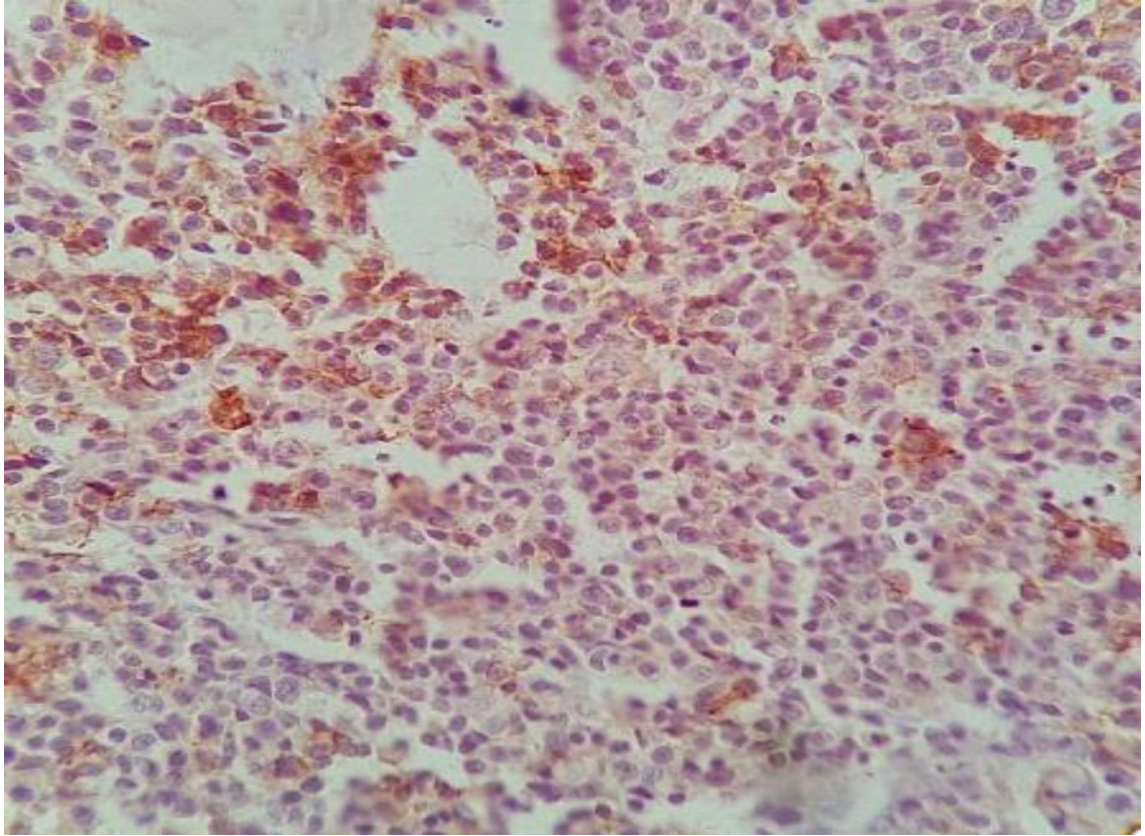
Простежено тенденцію до зниження експресії CD56 при появі експресії віментину ДКРЛ. Ця зворотня залежність не набувала статистичної значущості ( $r = 0,3$ ,  $p > 0,05$ ).

Молекулярно-біологічною особливістю стала тенденція до прямої залежності між експресією віментину та CD44 ( $r = 0,13$ ,  $p > 0,05$ ). Отримані дані дають підстави вважати взаємозалежними тенденцію появи стовбурового та мезенхімального імунофенотипів у ДКРЛ, у подальшому буде показана статистично значуща залежність між появою експресії CD44 та ЕМТ.

Віментин, що є мікрофіламентом цитоскелету клітин мезенхімального гістогенезу, у процесі ЕМТ заміщує цитокератини, що складають цитоскелет клітин епітеліального походження. У нашому матеріалі серед ДКРЛ з позитивною експресією віментину часто спостерігалось зниження реакції до панцитокератину. Оцінка коекспресії цих маркерів вказує на тенденцію до зворотної залежності ( $r = -0,27$ ,  $p > 0,05$ ).

### 4.3.3 Експресія Е-кадгерину

Експресія Е-кадгерину спостерігалась у 43,5% (17/39) ДКРЛ. Реакція була мембранною, переважно слабкою, наявною в 7,6% клітин у полі зору рис. 4.14.



**Рис. 4.14** Експресія Е-кадгерину раковими клітинами. ІГХ-метод,  $\times 100$

Не виявлено залежності між втратою експресії Е-кадгерину та приналежністю ДКРЛ до групи Р-ДКРЛ, проте, як це видно з таблиці 4.6, відсутність реакції до Е-кадгерину дещо частіше спостерігалась серед Р-ДКРЛ.

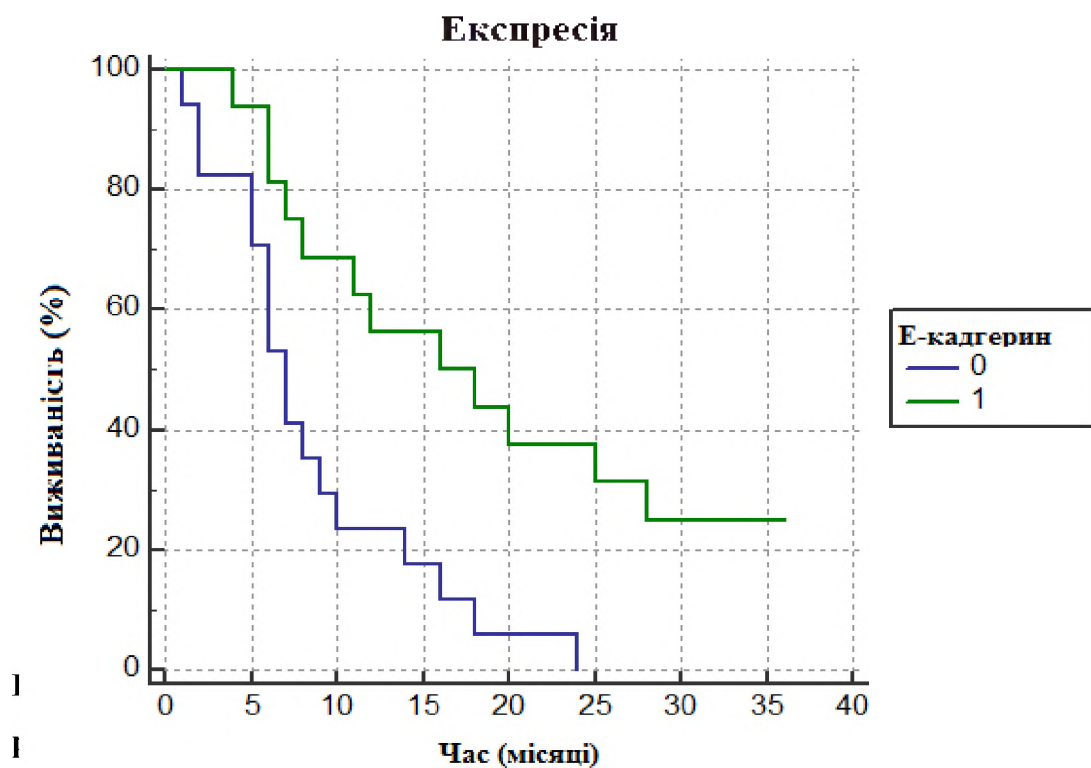
Не виявлено також залежності між Л-ДКРЛ, що метастазують та Л-ДКРЛ, що не метастазують за рівнем експресії Е-кадгерину. Так, відсутність реакції з цим маркером спостерігалась у 71,4 % (5/7) випадків Л-ДКРЛ, що метастазують і у 57,1 % (4/7) Л-ДКРЛ, що не метастазують; слабка, помірна та виражена реакція з Е-кадгерином серед Л-ДКРЛ, що метастазують становила 28,5 %, 0 %, 14,2 % відповідно, серед Л-ДКРЛ, що не метастазують – 42,8 %, 14,2 %, 0 % відповідно.

Таблиця 4.6

Рівень експресії Е-кадгерину ДКРЛ груп дослідження

Групи Ознаки	Л-ДКРЛ	Р- ДКРЛ	Достовірність
Відсутність		15	$\chi^2 = 0,6, p > 0,05$
Слабка	7	(60,0%)	
Помірна	(50,0%)	6	
Виражена	5	(24,0%)	
	(35,2%)	2	
	1 (7,1%)	(8,0%)	
	1 (7,1%)	2	
		(8,0%)	

Аналізуючи ІГХ-реакції з Е-кадгерином, було встановлено, що ЗВ пацієнтів була більшою за позитивної експресії цього маркера ( $\chi^2 = 9,3, p < 0,01$ ) (рис. 4.15).



**Рис. 4.15** Загальна виживаність пацієнтів залежно від позитивної (1) та негативної (0) експресії Е-кадгерину.

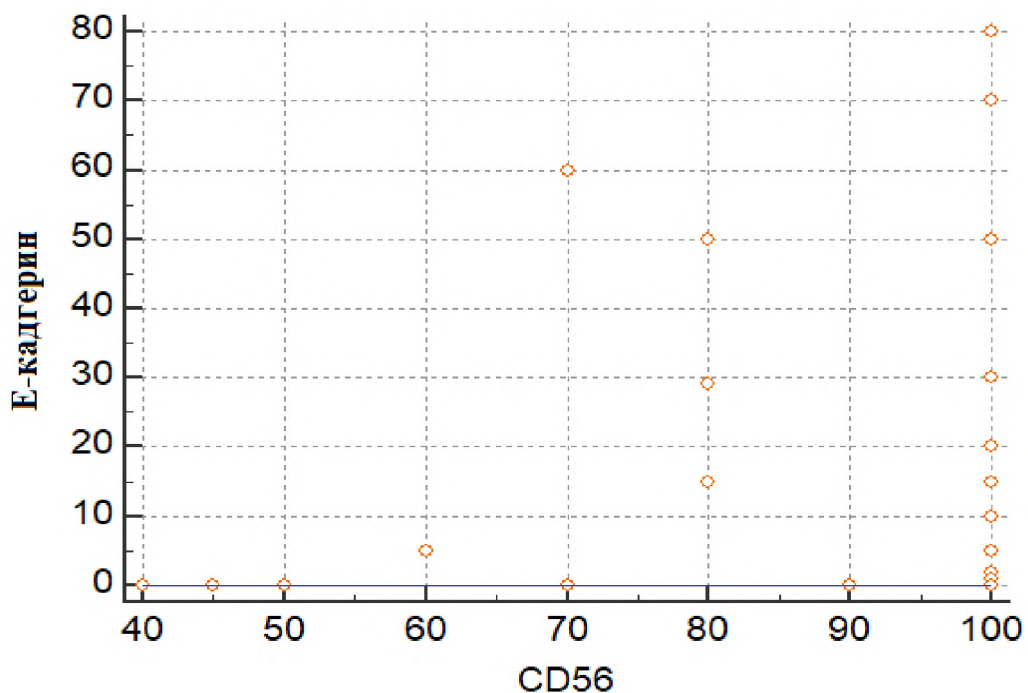
Середній термін виживаності пацієнтів за негативної реакції Е-кадгерину ДКРЛ становила  $8,1 \pm 1,4$  міс., за позитивної реакції Е-кадгерину –  $19,1 \pm 3,0$  міс. ( $p < 0,01$ ).

Урахування коекспресії Е-кадгерину з досліджуваними маркерами показало такі результати.

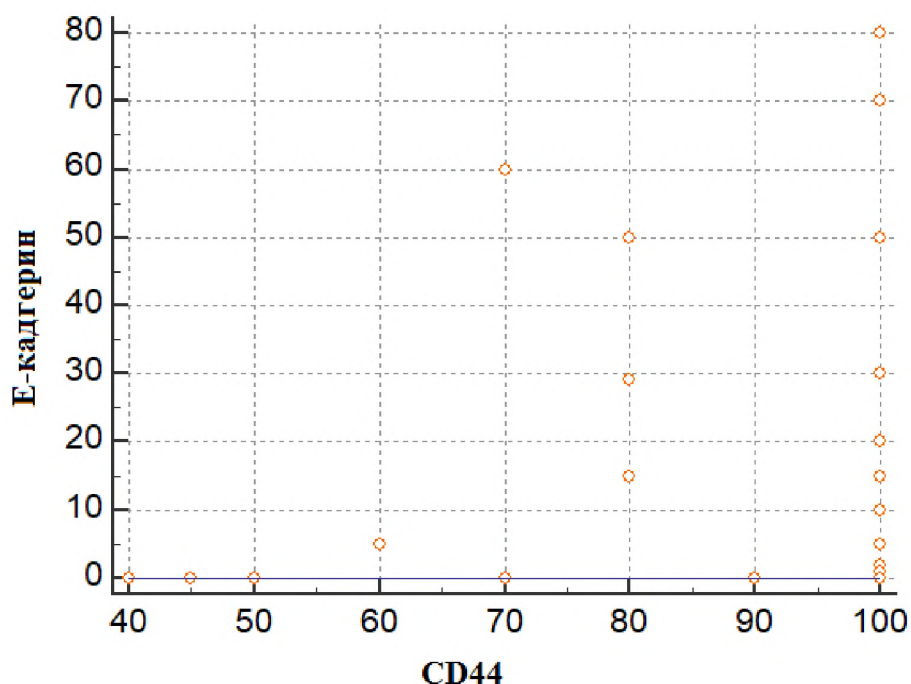
Доведено відсутність залежності між експресією К-67 та Е-кадгерину ( $r = 0,1$ ,  $p > 0,05$ ).

Виявлена слабка пряма статистично значуща залежність між експресією Е-кадгерину та CD56 ( $r = 0,26$ ,  $p < 0,05$ ) (рис. 4.16), що спостерігалася під час урахування відсотка ракових клітин, що демонстрували реакцію маркерів. Отже, зі збільшенням виразності реакції з Е-кадгерином спостерігається більш виразна реакція до маркера нейроендокринних тканин – CD56.

Протилежна залежність спостерігалася між рівнем експресії Е-кадгерину та CD44. Зі зниженням експресії Е-кадгерину визначалася поява та збільшення експресії маркера стовбурового імунофенотипу CD44 ( $r = -0,4$ ,  $p < 0,01$ ) (рис. 4.17).



**Рис. 4.16** Графік лінії регресії кореляційної залежності між рівнем експресії Е-кадгерину та CD56 ( $p < 0,05$ ).



**Рис. 4.17** Графік лінії регресії зворотної кореляційної залежності між рівнем експресії E-кадгерину та CD44 ( $p < 0,01$ ).

Залежності між експресією E-кадгерину та панцитокератину, а також E-кадгерину та віментину не виявлено.

#### 4.3.4 Експресія N-кадгерину

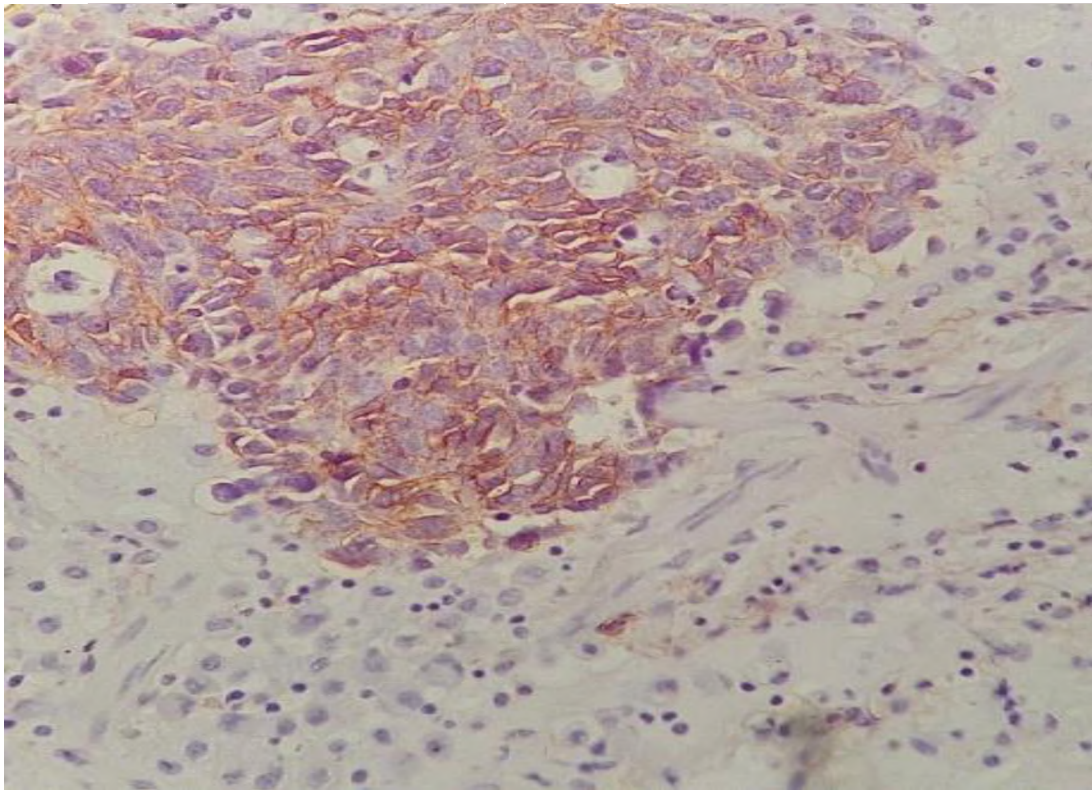
Мембранна експресія N-кадгерину спостерігалась в 64,1 % (25/39) спостережень ДКРЛ (рис. 4.18). Реакція була переважно слабкою, лише в 5,1 % (2/39) – помірною. Випадків з вираженою експресією цього маркера не було.

Більшим відносно число випадків наявної експресії N-кадгерину було серед Р-ДКРЛ, проте достовірно значущої відмінності між групами дослідження за рівнем експресії маркера не встановлено (табл. 4.7).

Таблиця 4.7

Рівень експресії N-кадгерину ДКРЛ груп дослідження

Ознаки	Групи	Л-ДКРЛ	Р-ДКРЛ	Достовірність
Відсутність		8 (57,1%)	6 (24,0%)	$\chi^2 = 4,8, p > 0,05$
Слабка		6 (42,9%)	17 (68,0%)	
Помірна		0	2 (8,0%)	



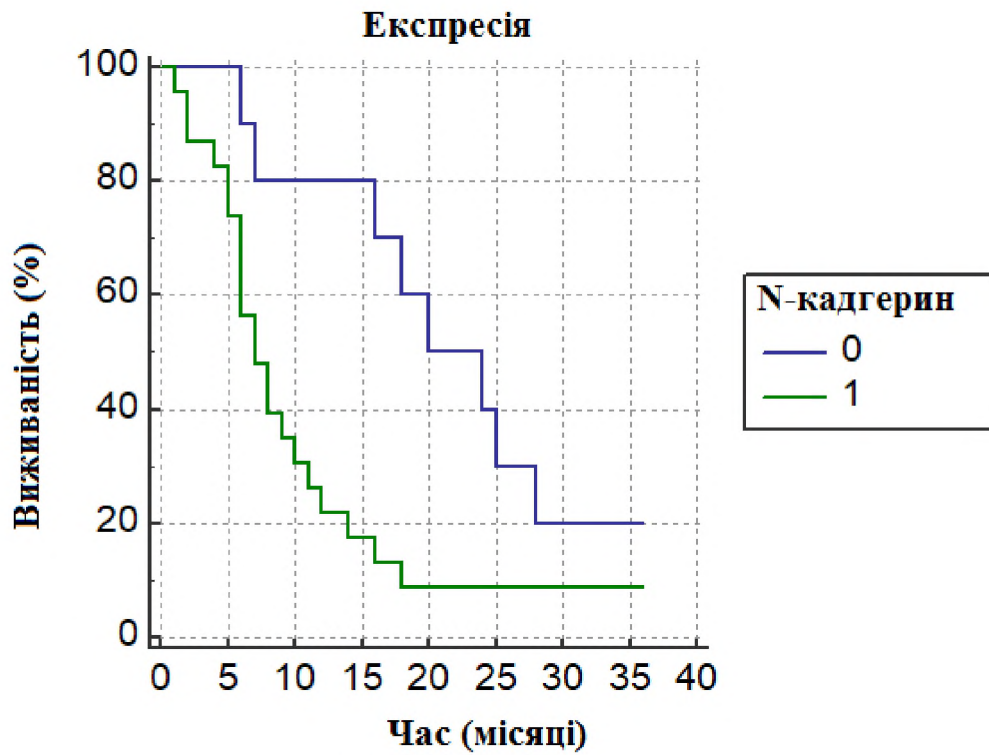
**Рис.4.18** Виражена мембранна експресія N-кадгерину. ІХ-метод,  $\times 100$

Усі Л-ДКРЛ мали слабку експресію N-кадгерину або ж її не було. Серед Л-ДКРЛ, що метастазують позитивна реакція визначалась у 71,4 % (5/7), тоді як позитивна реакція серед Л-ДКРЛ, що не метастазують – лише в 14,3 % (1/7) ( $\chi^2 = 4,6$ ,  $p < 0,05$ ). Отже, установлена слабка залежність між появою експресії N-кадгерину та метастатичною активністю Л-ДКРЛ.

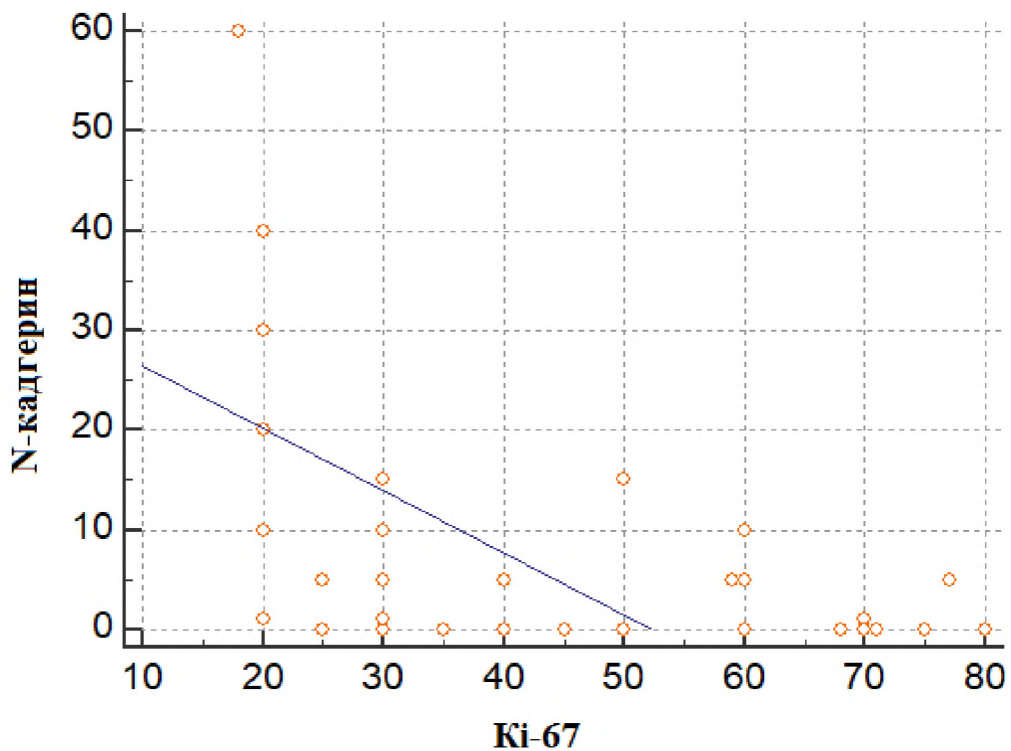
Установлено також залежність між появою експресії N-кадгерину ДКРЛ та ЗВ ( $\chi^2 = 5,8$ ,  $p < 0,03$ ) (рис. 4.19).

Так, середній термін виживаності пацієнтів з відсутністю експресії N-кадгерину становила  $20,5 \pm 3,6$  міс., тоді як з позитивною експресією –  $10,4 \pm 1,8$  міс. ( $p < 0,03$ ).

На підставі оцінки коекспресії досліджуваних маркерів установлена зворотна залежність між рівнем експресії N-кадгерину та Ki-67 ( $r = -0,5$ ,  $p < 0,01$ ) (рис. 4.20), що як і виявлена зворотна залежність між експресією віментину та Ki-67 свідчить про зниження проліферативної активності ДКРЛ при процесах ЕМТ.

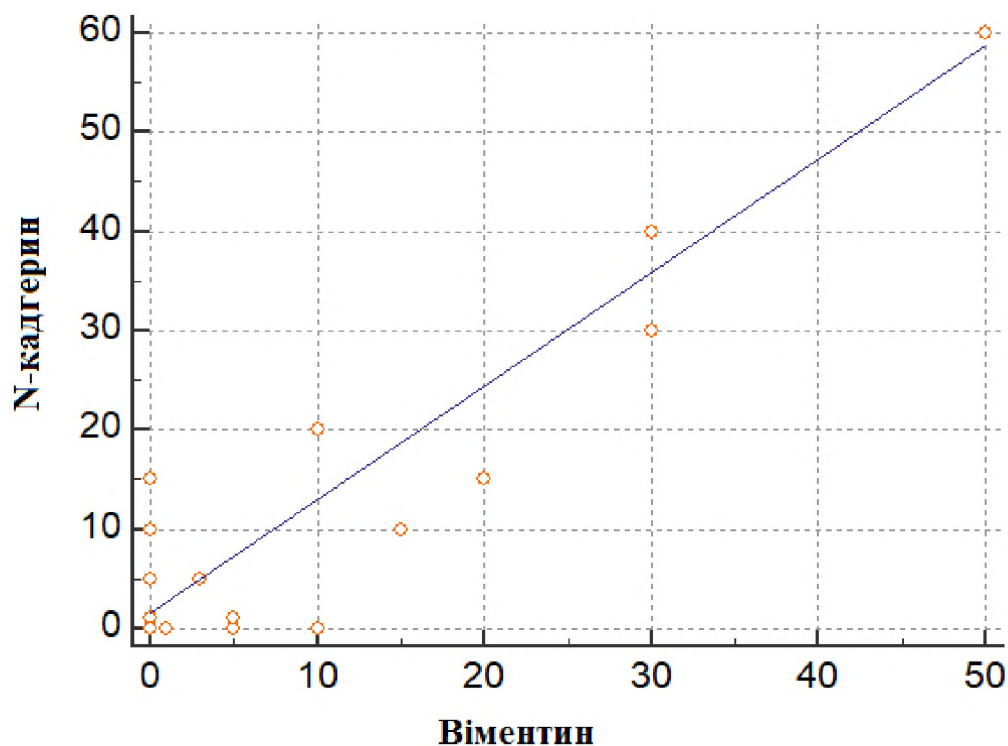


**Рис. 4.19** Загальна виживаність пацієнтів залежно від позитивної (1) та негативної (0) експресії N-кадгерину.



**Рис. 4.20** Графік лінії регресії демонструє зворотню кореляційну залежність між рівнем експресії N-кадгерину та Ki-67 ( $p < 0,01$ ).

Простежена також пряма кореляційна залежність між експресією маркерів мезенхімального фенотипу – N-кадгерину та віментину ( $r=0,4$ ,  $p<0,01$ ) (рис. 4.21).



**Рис. 4.21** Графік лінії регресії демонструє пряму кореляційну залежність між рівнем експресії N – кадгерину та віментину ( $p<0,01$ ).

Статистично значуща залежність між рівнем експресії N-кадгерину та CD56 ( $r= - 0,17$ ,  $p>0,05$ ), N-кадгерину та CD44 ( $r=0,18$ ,  $p>0,05$ ), N-кадгерину та панцитокератину ( $r=0,07$ ,  $p>0,05$ ), N-кадгерину та E-кадгерину не виявлена ( $r= - 0,12$ ,  $p>0,05$ ).

#### 4.3.5. Стадія ЕМТ.

Простежено ЕМТ ДКРЛ, ступень якої ми оцінили за коекспресією чотирьох маркерів. Установлено, що епітеліальний імунофенотип без коекспресії мезенхімальних маркерів спостерігався в 30,8 % (12/39), що відповідало відсутності ознак ЕМТ. Поява експресії одного з маркерів мезенхімального фенотипу – віментину чи N-кадгерину спостерігалась

відповідно в 69,3 % спостережень. Статистично значуще переважання експресії маркерів епітеліального фенотипу над мезенхімальним, що відповідає 1-й ст. ЕМТ, визначалось у 28,2 % (11/39) випадків. Повна відсутність експресії епітеліальних маркерів при позитивній реакції мезенхімальних спостерігалось в одному випадку (2,5 %), у 2 випадках (5,1 %) експресія мезенхімальних маркерів статистично значущо переважала над епітеліальними.

Виявлена залежність між наявністю та стадією ЕМТ та прогнозом захворювання. Так, порівнюючи Л-ДКРЛ та Р-ДКРЛ, встановлено, що поява ЕМТ асоціюється з Р-ДКРЛ ( $p < 0,01$ ). Відсутність ЕМТ спостерігалась у 57,1 % Л-ДКРЛ та 16,0 % Р-ДКРЛ, тоді як поява ЕМТ (0 – 5 ст.) – у 42,8 % та 84,0 % (табл. 4.8). Як видно з таблиці 4.8, різниця між групами дослідження за кожною зі стадій ЕМТ менша ніж різниця між групами дослідження за показниками наявності чи відсутності ЕМТ, або 0 – 2 стадії чи 3 – 5 стадії ЕМТ. Проте Л-ДКРЛ не були 3, 4 та 5 стадій, тоді як Р-ДКРЛ 3 стадію мали у 20 %, 4 стадію – у 8 %, а 5 стадію – у 4 %. Різниця між групами за кожною зі стадій не була достовірно значущою через малу кількість випадків ДКРЛ: лише 1 випадок 5 стадії ЕМТ, 2 випадки 4 стадії та 5 випадків 3 стадії.

Таблиця 4.8

Кількість ДКРЛ з ознаками ЕМТ серед груп дослідження

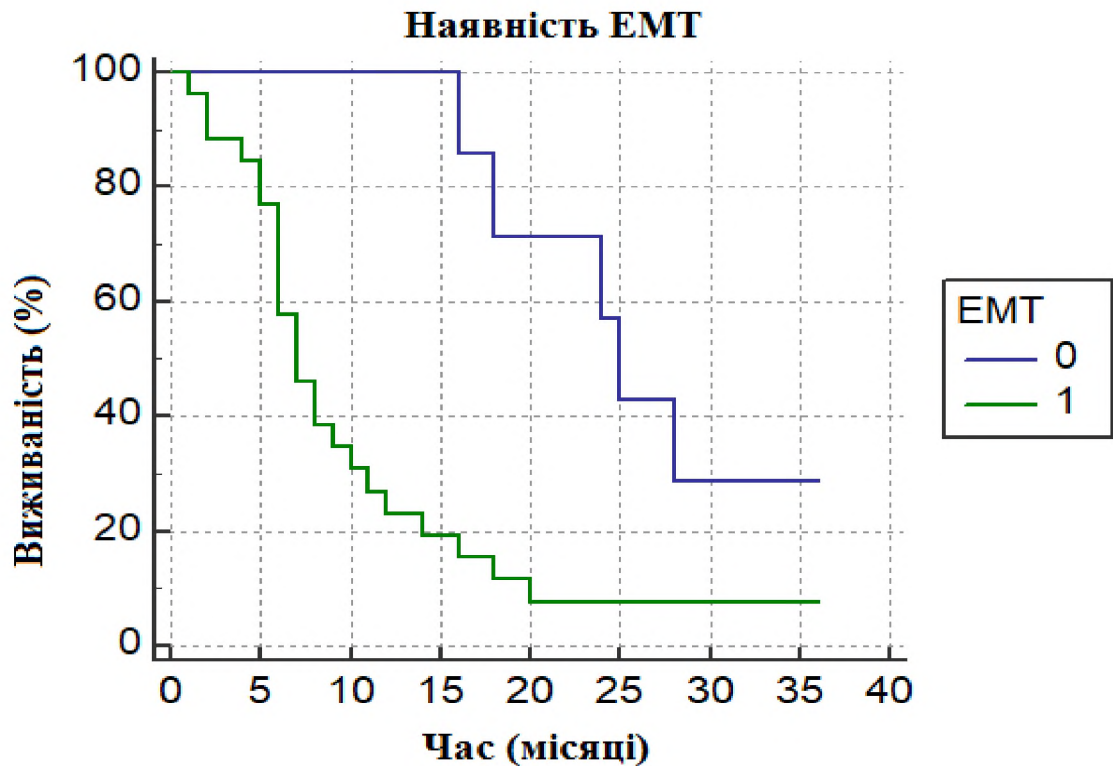
Ознаки, стадії ЕМТ	Групи	Л-ДКРЛ, n=14	Р-ДКРЛ, n=25	Достовірність
0		8 (57,1%)	4 (16%)	$\chi^2$ з поправкою Йейтса = 5,4, p=0,3
1		4 (28,6%)	7 (28%)	
2		2 (14,2%)	6 (24%)	
3		0	5 (20%)	
4		0	2 (8%)	
5		0	1 (4%)	

Ознаки, стадії ЕМТ \ Групи	Л-ДКРЛ, n=14	Р-ДКРЛ, n=25	Достовірність
Відсутність ЕМТ	8 (57,1%)	4 (16%)	$\chi^2 = 7,1, p < 0,01$
ЕМТ 1-5 ст.	6 (42,9%)	21(84%)	
ЕМТ 0-2 ст.	14 (100%)	17(68%)	
ЕМТ 3-5 ст.	0	8(32%)	

Порівнюючи Л-ДКРЛ, що метастазують з Л-ДКРЛ, що не метастазують за критерієм стадій ЕМТ, також виявлено статистично значущу відмінність ( $\chi^2 = 7,3, p < 0,05$ ). Так, відносне число випадків з ЕМТ 0, 1, 2 стадій серед Л-ДКРЛ, що не метастазують становило 85,7 % (6/7), 14,3 % (1/7), 0 спостережень, а серед Л-ДКРЛ, що метастазують – 14,2 % (1/7), 57,2 % (4/7), 28,6 % (2/7). Таким чином Отже, наявність ЕМТ (1 – 2 ст.) асоціюється з більш інтенсивним метастазуванням Л-ДКРЛ ( $\chi^2 = 7,1, p < 0,01$ ).

Виявлено статистично значущу залежність між наявністю ЕМТ та стадією ЕМТ й терміном летального наслідку.

Так, встановлено зворотню залежність між терміном ЗВ та наявністю ЕМТ ( $\chi^2 = 7,6, p < 0,01$ ) (рис. 4.22), а також із зростанням її ступеня, порівнюючи випадки з виживаністю до 1 року та виживаністю більшого терміну відповідно до стадій ЕМТ ( $\chi^2 = 16,6, p < 0,01$ ) (табл.4.9). Отже, ЗВ більше за 1 рік асоціювалася з відсутністю ЕМТ в ДКРЛ ( $p < 0,001$ ), а летальний наслідок упродовж 1 року – з наявністю 3 – 5 стадій ЕМТ ( $p < 0,001$ ).



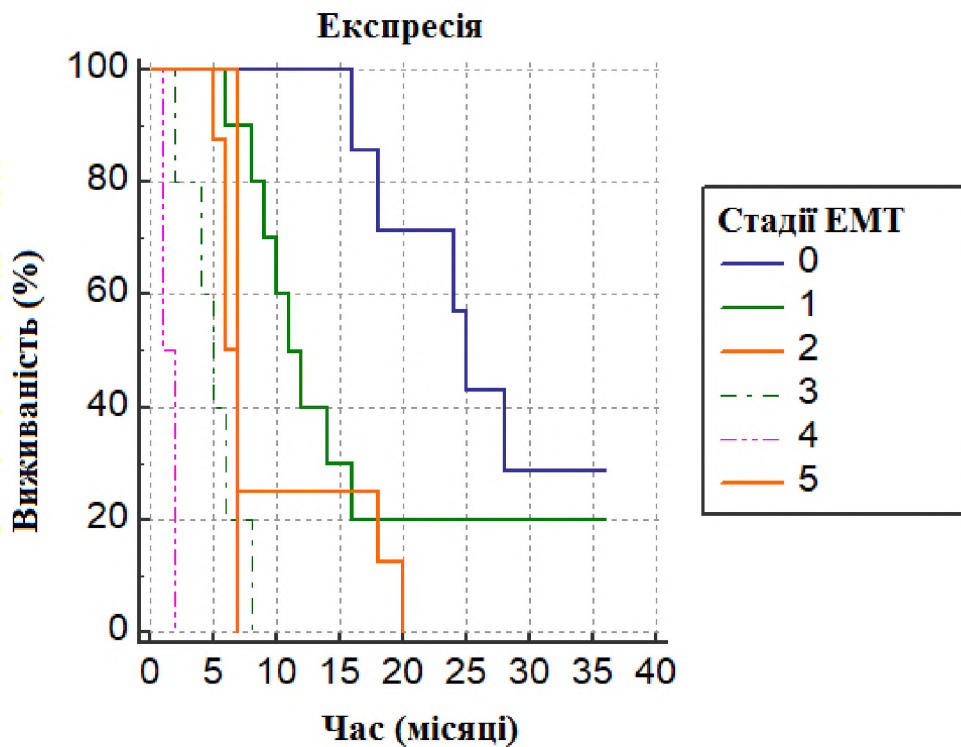
**Рис. 4.22** Загальна виживаність пацієнтів залежно від наявності (1) та відсутності (0) ЕМТ

Таблиця 4.9

Число ДКРЛ з ознаками ЕМТ серед груп дослідження

Стадія ЕМТ	Термін виживаності Більше року, n=20	Термін виживаності до року, n=13	Достовірність
0	0	7 (53,8%)	$\chi^2 = 16,6, p < 0,01$
1	6 (30%)	4 (30,6%)	
2	6 (30%)	2 (15,3%)	
3	5 (25%)	0	
4	2 (10%)	0	
5	1 (5%)	0	

Простежено також сильну залежність між ЗВ пацієнтів та стадіями ЕМТ ( $\chi^2 = 51, p < 0,001$ ) (рис. 4.23).



**Рис. 4.23** Загальна виживаність пацієнтів залежно від стадії ЕМТ.

Розглядаючи взаємозв'язок між процесами ЕМТ та експресії CD44+ДКРЛ, виявлено слабку пряму залежність між появою та виразністю експресії CD44+ і стадією ЕМТ ( $r=0,3$ ,  $p<0,05$ ). Так, серед ДКРЛ без ЕМТ число пухлин з CD44+ імунофенотипом становило 9,1 % (1/11), з ЕМТ 1 ст. – 33,3 % 128 (4/12), з ЕМТ 2 ст. – 50% (4/8), 3 стадії – 40% (2/5), 4 стадій – 50,0 % (1/2) та пухлина з ЕМТ 5 стадії була негативна до CD44+.

### Резюме

Дослідження клініко-морфологічних ознак, зокрема мікроскопічних, на рівні рутинного забарвлення гематоксиліном та еозином – не виявило значущих відмінностей між групами дослідження, що доводить відсутність прогностичного значення гістологічних критеріїв ДКРЛ та підкреслює необхідність оцінки молекулярно-біологічних ознак для прогнозування біологічної та клінічної поведінки ДКРЛ.

Рівень проліферативної активності ДКРЛ був варіабельним від 18 % до 77 % середній рівень експресії Ki-67 дорівнював  $41,3\pm 3,1$ . Установлено

статистично значущу різницю в рівні проліферативної активності між Л-ДКРЛ – 51,4 %±4,8 та Р-ДКРЛ – 35,0 %±3,4 ( $p < 0,001$ ). При поділі ДКРЛ на пухлини, що експресують Ki-67 $\geq$ 33% та <33%, виявлено пряму залежність із терміном загальної виживаності ( $p < 0,03$ ). При урахуванні терміну виживаності пацієнтів з ДКРЛ встановлено пряму статистично значущу залежність між терміном виживаності та рівнем експресії Ki-67 ( $p < 0,03$ ). Тобто при зростанні рівня проліферативної активності ДКРЛ, виживаність пацієнтів збільшувалася.

Усі ДКРЛ мали позитивний до маркерів нейроендокринного фенотипу статус. Реакція до CD56 та синаптофізину була цитоплазматичною, визначалася з інтенсивністю помірного чи вираженого ступеня та була наявна не в усіх ракових клітинах. Установлено, що маркери нейроендокринного фенотипу мають обмежене прогностичне значення для ДКРЛ, із тенденцією до нижчого рівня експресії маркерів серед ДКРЛ з більш агресивною клінічною поведінкою.

Експресія CD44 має обмежене прогностичне значення зі слабкою тенденцією до більш агресивної клінічної поведінки при позитивному статусі. Установлено зворотну кореляційну залежність між нейроендокринним статусом ДКРЛ і позитивною реакцією до CD44, що слід пояснювати процесами втрати тканинної специфічності ракових клітин у разі появи молекулярно-біологічних ознак стовбурового фенотипу.

Експресія панцитокератину більше ніж в 1% ракових клітин спостерігалася в 69,2% (27/39) ДКРЛ та була у більшості випадків слабкою. Доведено відсутність статистично значущого зв'язку між рівнем експресії панцитокератину й приналежності ДКРЛ до груп дослідження та кореляційної залежності коекспресії досліджуваних маркерів, а саме: панцитокератину та віментину, N-кадгерину, E-Кадгерину, CD44.

Віментин є значущим маркером біологічної поведінки та прогнозу ДКРЛ. Установлена тенденція до прямої залежності між появою експресії раковими клітинами віментину та ознаками стовбурового фенотипу – експресії

CD44, а також зворотної залежності з експресією CD56 – маркера нейроендокринних тканин. Установлена статистично значуща залежність до меншого терміну ЗВ пацієнтів на ДКРЛ серед випадків з позитивною експресією віментину ( $p < 0,001$ ).

Позитивна реакція з E-кадгерином, що спостерігалася в 43,5 % (17/39) спостережень ДКРЛ, є сприятливим прогностичним критерієм перебігу ДКРЛ. Так, доведено, що в пацієнтів з ДКРЛ, які мали більший рівень експресії E-кадгерину, термін ЗВ був достовірно більший ( $p < 0,001$ ). E-кадгерин є маркером, який характеризує збереження тканинної специфічності ракових клітин, що було доведено зворотною кореляційною залежністю між рівнем експресії E-кадгерину та CD44 ( $p < 0,01$ ), а також прямою кореляційною залежністю між експресією E-кадгерину та CD56 ( $p < 0,05$ ).

N-кадгерин є маркером міжклітинної адгезії тканин мезенхімального походження. Поява експресії цього маркера, переважно слабкого ступеня, спостерігалася в 64,1 % (25/39) досліджених випадків ДКРЛ. Доведено, що наявність N-кадгерину має значення для прогнозу метастазування Л-ДКРЛ та ЗВ, що обумовлено асоціацією слабкої сили між приналежністю Л-ДКРЛ до таких, що метастазують форм та позитивною експресією N-кадгерину ( $p < 0,05$ ), а також коротшим терміном ЗВ пацієнтів з позитивною реакцією ракових клітин з N-кадгерином ( $p < 0,03$ ). Простежена пряма кореляційна залежність помірної сили між рівнями експресії N-кадгерину та віментину ( $p < 0,01$ ), а також зворотна залежність між експресією N-кадгерину та Ki-67 ( $p < 0,01$ ), як проявами процесу ЕМТ.

Наявність ЕМТ (1 – 5 ст.) асоціюється з Р-ДКРЛ та, відповідно, є не властивою для Л-ДКРЛ ( $p < 0,01$ ), серед Л-ДКРЛ наявність ЕМТ (1 – 5 ст.) асоціюється з метастазуванням у регіонарні лімфатичні вузли ( $p < 0,01$ ). Простежена також зворотна залежність між терміном ЗВ пацієнтів і стадією ЕМТ ( $p < 0,01$ ). ЗВ більше за 1 рік асоціювалася з відсутністю ЕМТ в ДКРЛ

( $p < 0,001$ ), а летальний наслідок упродовж 1 року – з 3 – 5 стадією ЕМТ ( $p < 0,001$ ).

**За матеріалами розділу «Розділ 4» опубліковані статті:**

• Янчевський О.В. «Особливості та стадіювання епітеліально-мезенхімальної трансформації дрібноклітинних раків легень». Вісник проблем біології і медицини. 2023; Вип.№1 (168): 352 - 359.

• Яковцова І.І., Янчевський О.В. «Імуногістохімічні критерії прогнозу епітеліально-мезенхімальної трансформації та стовбурового фенотипу дрібноклітинних раків легень». Східноєвропейський журнал внутрішньої та сімейної медицини. 2023; Вип. №1 (20): 92 - 96.

• Яковцова І.І., Янчевський О.В. «Окремі клініко-морфологічні та імуногістохімічні критерії прогнозу дрібноклітинного раку легень». Morphologia. 2022; T16 №4: 41- 46.

## РОЗДІЛ 5

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дисертаційній роботі було проведено системний аналіз досліджених випадків ДКРЛ випадків, що були верифіковані морфологічно під час цитологічного та гістологічного дослідження пухлин пацієнтів, які проходили лікування в «Національному інституті раку» м. Київ та випадків секційного матеріалу померлих у багатопрофільних лікарнях м. Харкова.

Робота проведена на біопсійному, операційному та секційному матеріалі. Мала кількість операційного матеріалу обумовлена тим, що ДКРЛ переважно не підлягають хірургічному лікуванню. За останні кілька років хірургічно видалених ДКРЛ було дуже мало як у Національному інституті раку м. Києва, так і в клініках м. Харкова. У міжнародних рекомендаціях вказано, що хірургічне втручання є виправданим лише для окремих пацієнтів з ДКРЛ I стадії ( $T_{1-2}, N_0 M_0$ ) та повинно супроводжуватися хіміопроменевою терапією (остання є стандартом лікування решти пацієнтів) у тому числі з, так званими, Л-ДКРЛ формами, що не мають метастазів у внутрішні органи та особливо за наявності метастазів у лімфатичні вузли [97, 23]. За даними літератури ДКРЛ на I стадії виявляються лише в 5 % випадків. За даними американських дослідників, з 26659 пацієнтів на ДКРЛ IA, IB, IIA, IIB, III та IV стадії ДКРЛ становила 547 (2,1 %), 265 (1,0 %), 113 (0,4 %), 599 (2,2 %), 6298 (23,6 %) та 18837 (70,7 %) відповідно. Водночас число пацієнтів (і відсоток від відповідних стадій), яким було проведено оперативне видалення пухлини становило при IA, IB, IIA, IIB, III та IV стадіях ДКРЛ 163 (29,8 %), 80 (30,2 %), 11 (9,7 %), 83 (13,9 %), 145 (2,3 %) та 145 (0,8 %) відповідно [179].

Хірургічне видалення пухлини при комбінованій хіміотерапії на стадії локалізованого росту не впливало на виживаність пацієнтів або рецидивування пухлини порівняно з лікуванням без хірургічного втручання. Тим не менш, пацієнти I стадії ДКРЛ зазвичай розглядаються такими, що підходять для

хірургічної резекції пухлини, а саме: лобектомії з можливим видаленням лімфатичних вузлів середостіння [63].

У матеріалі секційних випадків відносно число РЛ становило 3,7 % від загальної кількості досліджуваних проведених розтинів у багатопрофільних лікарнях м. Харкова (6635 випадків), ДКРЛ – 28,8 % від усіх РЛ. Останній показник, безумовно, є дуже високим, адже за літературними даними ДКРЛ становить 10 – 15 %, а за окремими даними 9 % від усіх варіантів РЛ [41, 94]. Отримані дані щодо великого відносного числа ДКРЛ слід пояснювати високим показником смертності хворих саме на ДКРЛ. Так, за даними літератури, 5-річна виживаність хворих на ДКРЛ становить лише 5 – 10 %, а середня тривалість життя хворих становить за окремими даними близько 6 місяців [177], зокрема серед пацієнтів з Л-ДКРЛ – 19 – 27 міс., серед Р-ДКРЛ – 13 - 26 тижнів [33]. Слід також зазначити, що за даними нашого дослідження серед гістологічних варіантів РЛ було багато високозлоякісних форм: великоклітинний рак – у 7,3 %, недиференційований – у 3,2 %, аденокарциноми були представлені G2-G3 – у 35,8 %, плоскоклітинний рак – у 23,5 %. За даними секційного матеріалу відносно число аденокарцином становило дещо менше ніж за даними літератури серед загальної структури захворюваності на РЛ. Так ацинарні, папілярні, бронхіолоальвеолярні та муцинозні аденокарциноми легень становлять близько 40 – 45 % від усіх РЛ [95].

Клініко-морфологічна характеристика ДКРЛ уперше виявлених у пацієнтів «Національного інституту раку» м. Київ та ДКРЛ померлих не мали значущих відмінностей за віком та статтю, і загалом отримані дані співпадають збігаються з даними світової літератури. Так, чоловіків серед обстежених пацієнтів було 90,2 %, серед померлих хворих – 80,3 %, що, при деяких розбіжностях загалом, збігається з літературними даними [41, 68]. Середній вік чоловіків серед обстежених хворих становив  $58,3 \pm 8,9$  років, для жінок –  $57,6 \pm 10,8$  років; середній вік чоловіків серед померлих становив  $58,1 \pm 10,5$  року,

жінок –  $62,5 \pm 12,8$  року. Вочевидь, наявність відсутності різниці у віці між пацієнтами та померлими хворими також слід пояснювати дуже швидкою прогресією захворювання з коротким терміном до настання смерті, яка відбувається в середньому через 6 місяців після встановлення діагнозу [177].

Не виявлено також значних відмінностей серед обстеженими пацієнтами та померлими хворими і за локалізацією пухлини. Проте, у 22,5 % (16/71) випадків померлих хворих пухлинний ріст був поширений і виходив за межі однієї частки легені. Переважна кількість випадків були центральної локалізації та лише 8,4 % (6/71) випадків пухлин були периферичними, що збігається з даними літератури. Центральні ДКРЛ, що походять з головного, дольового чи великого бронха, становлять 90 – 95 % випадків [22].

Про кількість випадків віддаленого метастазування ДКРЛ можна було мати уявлення за даними аутопсії та даними пацієнтів, які отримували лікування. Проте дані щодо віддалених метастазів серед пацієнтів, яким було проведено біопсію, були неповні та не підлягали порівнянню. Так, відзначався низький відсоток випадків IV стадії захворювання – лише 42,3 %, тоді як за даними світової літератури відносно число пацієнтів на ДКРЛ з метастазами у внутрішні органи на момент встановлення діагнозу становить 60 – 70 % випадків [13, 96]. Відповідно Л-ДКРЛ трапляються приблизно в 30 %, за окремими даними – у 15 % [41]. Тим не менш, за даними аутопсії ми отримали теж низький відсоток випадків IV стадії захворювання. Метастази у внутрішні органи в померлих пацієнтів з основним діагнозом ДКРЛ спостерігались у 61,9 % (44/71).

Поясненням малому відносному числу випадків ДКРЛ, що метастазує у померлих хворих може бути особливість структури основного діагнозу як патологічного процесу, що призводив до смерті, коли смерть наставала від поєднаної патології – ДКРЛ та іншого суттєвого стану, наприклад, хронічної виразки шлунка з перфорацією. Крім того, велика кількість ДКРЛ була виявлена вперше в стаціонарі чи лише під час аутопсії. Так, ДКРЛ, що призвів

до смерті, було встановлено вперше в стаціонарі в 64,7 % (46/71) спостережень. Надзвичайно низький рівень діагностики ДКРЛ обумовлений швидким поширенням пухлинного процесу, часто безсимптомним перебігом, низьким рівнем звернення населення за медичною допомогою та профілактичним оглядом.

Труднощі клінічної діагностики РЛ також були пов'язані з тим, що ДКРЛ, як основне захворювання, що призвело до смерті було лише в 73,2 % спостережень. Тобто у 26,8 % (19/71) випадків пухлинний процес не був поширеним та сам по собі чи через ускладнення не призвів до смерті. Серед поєднаної патології найбільш часто визначались ІХС та виразкова хвороба шлунка та дванадцятипалої кишки з ускладненнями. Саме виразкова хвороба шлунка та ДПК, що спостерігалась у 36,8 % (7/19) випадків померлих пацієнтів з поєднаною патологією, є суттєвим захворюванням при ДКРЛ, і отримані дані вказують на необхідність особливої уваги до цього захворювання та доцільність його профілактики.

Генералізація пухлинного процесу, як причина смерті, спостерігалась в 73,2 % випадків. Це були випадки як масивного ураження легень з розпадом пухлини, інтоксикацією, дихальною недостатністю, ателектазом легені, в окремих випадках – пневмонією, так і метастатичного ураження внутрішніх органів, зокрема, головного мозку з його набряком, печінки, нирок, підшлункової залози, наднирників тощо.

У цьому дослідженні метастатичний процес найбільш часто вражав печінку, другу легеню, головний мозок і кістки. Наведена інформація збігається з даними світової літератури. Так, за даними окремих авторів, при ДКРЛ метастази в лімфатичні вузли спостерігаються в більше за 80 % випадків, у печінку – у 12 – 30,2 % випадків, кістки – у 18 – 23,3 % випадків, головний мозок – у 10 – 25 % випадків, легені – 6 - 14,4 % випадків, наднирники – 10 – 17 % випадків, T1, T2, T3, T4 – у 12,1 %, 26,2 %, 21,8 %, 38,5 % випадків відповідно [22, 96, 188]. Наведені дані стосуються кількості випадків з

метастазами у внутрішні органи на момент установлення діагнозу. Водночас слід звернути увагу на наявні деякі розбіжності між даними літератури та власними даними у відносному числі уражень тих чи інших органів. Зокрема, за нашими даними метастазування в кісткову систему було виявлено лише у 12,7 % (9/71) випадків та спостерігались рідше ніж метастазування в печінку, легені, головний мозок. Це можна пояснити великим відсотком уперше виявлених випадків ДКРЛ під час останньої госпіталізації або навіть під час аутопсії, що не дозволило виявити метастази в кістки. Вочевидь, такі методи дослідження як МРТ чи КТ дозволяють більш точно провести діагностику осередкових уражень кісток.

На жаль, навіть найбільш точні методи діагностики не дозволяють вичерпно встановити поширеність пухлинного процесу. Так, виявлення ДКРЛ на етапі місцево поширеної форми абсолютне не виключає наявності ЦРК в системі кровообігу та наявності мікрометастазів у внутрішніх органах. Саме тому вивчення біології ДКРЛ, пошук прогностичних критеріїв клінічної поведінки та перебігу захворювання є актуальною проблематикою.

Серед гістологічних характеристик ДКРЛ некрози є характерною ознакою, що доведено при порівнянні з групою НДКРЛ ( $p < 0,05$ ), де вони були наявні в 100 % випадках Р-ДКРЛ та 10 % Л-ДКРЛ і мали поширений характер. Серед ДКРЛ, що було досліджено на аутопсійному матеріалі, некрози були наявні в усіх 25 випадках, проте серед біопсійного матеріалу – у 10 % випадків, що можна пояснити передусім малим об'ємом наявної пухлинної тканини. Так само можна пояснити велику розбіжність у показнику числа мітозів серед ДКРЛ, що становили від 20 до 80 та склали в середньому 40 в  $10^{-6} \text{ м}^2$ . Ще однією ознакою, яка пов'язана з некрозом, є феномен Аззопарді, названий на ім'я автора, який уперше описав відкладання базофільних мас у стінках судин з їхньою інкрустацією [7]. Ці відкладання є наслідком некрозу ракових клітин і складаються переважно з матеріалу та залишків ядер [172].

Також більшим об'ємом наявного матеріалу з пухлин Р-ДКРЛ слід пояснювати наявність окремих не властивих для ДКРЛ патернів, таких як: псевдорозетки, гнізда органоїдної будови, тяжи ракових клітин, тубуляні та протокові структури. Загалом ці патерни є типовими для нейроендокринних пухлин і не протирічать діагнозу ДКРЛ, що згідно з класифікацією ВООЗ належить до пухлин нейроендокринного походження. Наявність навіть тих структур, що схожі на залози, не є свідченням залозистого диференціювання [155]. Проте завжди слід мати на увазі, що в разі наявності в ДКРЛ більше за 10 % карциноми іншого гістологічного типу, слід указувати її комбінований варіант [155]. До наших груп дослідження такі випадки не були включені. Серед комбінованих типів карцином трапляються: ДКРЛ та ВКРЛ, ДКРЛ та плоскоклітинний рак, аденокарцинома, з веретеноподібними клітинами та гігантоклітинною карциномою. За даними окремих авторів, комбіновані варіанти ДКРЛ трапляються у 28 % ДКРЛ, серед яких з великоклітинним компонентом – у 16 % , аденокарциномою – у 9 % та плоскоклітинним ??? – у 3 % випадків [99]. Ці важливі дані повинні завжди враховуватися патоморфологами, які часто орієнтовані на визначення лише однієї популяції ракових клітин.

Диференційну діагностику ДКРЛ слід проводити з окремими злоякісними пухлинами. Труднощі в диференційній діагностиці ДКРЛ та карциноїдів можуть бути обумовлені малим об'ємом біопсійного матеріалу та механічного його здавлення чи подріблення зі втратою типової для карциноїду будови [155]. Пухлини з клітин Меркеля та PNET (примітивна нейроектодермальна пухлина) також іноді мають схожу з ДКРЛ морфологію, проте характеризуються наявністю клітин, що розташовані більш відокремлено одна від одної та мають менший рівень мітотичної активності.

Розбіжності серед експертів-патологів з раку легень щодо відмінності між плоскоклітинним раком легені та плоскоклітинним раком можуть виникати в 5 – 7 % випадків [39, 164]. Окрім об'єктивних труднощів, що зумовлені

морфологічною подібністю цих пухлин, існує вплив на заключення інших факторів. Так, малий об'єм матеріалу під час дослідження біоптатів, некротичні зміни пухлини, погана фіксація та виготовлення мікропрепаратів можуть бути причинами розбіжностей судження лікарів-патологоанатомів.

Відмінність ДКРЛ від окремих НДРЛ, що мають схожу морфологію, не повинна спиратися на одну особливість, таку як розмір клітини або ядер, а ще й на додаткових ознаках. Так, розмір клітин залежить від особливостей фіксації тканин під час виготовлення препарату, від розміру біоптатів [99], крім того, наявність клітин проміжного розміру, а саме: дещо більших за 3 діаметри лімфоцитів, не може повністю виключити діагноз ДКРЛ. До диференційно-діагностичних морфологічних критеріїв слід відносити ядерно-цитоплазматичне співвідношення, розподіл ядерного хроматину, візуалізацію ядерця, форму ядра, форму клітини (веретеноподібна чи полігональна), базофілії судин та строми. [155]. Так, за нашими даними, можна вважати, що окремі ознаки є характерними для ДКРЛ, зокрема, наявність кластерів дрібних овоїдних або дещо веретеноподібних клітин з великим ядерно-цитоплазматичним співвідношенням або практично відсутньою цитоплазмою; розмір клітин до 3 діаметрів малих лімфоцитів; гіперхромні ядра ракових клітин; ядерця непомітні або відсутні, ядерний хроматин дрібнозернистий; висока мітотична активність; тісне розташування клітин з нібито пресованими ядрами; площа строми завжди менша за площу паренхіматозного компонента; виражені некрози, а також наявність апоптотичних тілець.

Важливим диференційно-діагностичним критерієм також слід вважати солідний гістологічний характер пухлини, тоді як для базалоїдного плоскоклітинного раку властиве формування осередків та гнізд ракових клітин зі стромою, яка демонструє ознаки десмоплазії або за базальномембранним типом з гіалінозом або пухкою ламінарною структурою [155].

Тим не менш, за нашими даними, доведено, що гістологічний тип будови не є характерною ознакою ДКРЛ (гістологічний тип будови (солідний,

часто гніздний, можливо трабекулярний) – не відрізнялись серед ДКРЛ груп дослідження), а саме: як серед ДКРЛ, так і НДКРЛ солідний характер росту був наявним в усіх випадках, проте визначалась також тенденція до формування осередків, гнізд і тяжів з ракових клітин.

У разі невластивої стромальної реакції з вираженою десмоплазією, строма все ж таки також демонструвала варіабельність. Майже в кожному випадку спостерігалася лімфоцитарно-макрофагальна інфільтрація пухлини, явища неоангіогенезу.

Отже, рутинна морфологічна діагностика із забарвленням гематоксиліном та еозином ДКРЛ має певні обмеження, що часто вимагає пошуку більш надійних методів верифікації. Саме імуногістохімічне дослідження є найбільш виправданим методом, серед методів, що застосовуються для діагностики у випадках з обмеженою кількістю досліджуваного матеріалу. Відсутність можливості застосування широкої панелі ІГХ-маркерів, малий об'єм біопсійного матеріалу спонукає до найбільш раціонального підходу обрання маркерів.

За окремими даними, у диференційній діагностиці слід проводити дослідження з використанням маркера до цитокератину, р63 (який має експресію у базалоїдних плоскоклітинних раках), TTF-1 та нейроендокринні маркери, що властиві ДКРЛ [155].

Прикладом кератиннегативної пухлини, схожої з ДКРЛ морфологією, є пухлина з клітин Меркеля та PNET. У разі підозри на ці пухлини, окрім панцитокератину та TTF-1, слід проводити реакцію також на CD99 та Ki-67 [82]. Також кератиннегативними пухлинами можуть бути лімфоми, метастази меланоми, карциноїд, що потребує використання таких маркерів як: CD45, CD20 та S100, HMB – 45 [155]. Слід також мати на увазі, що серед ДКРЛ можуть бути кератиннегативні форми, або втрата експресії цитокератинів може мати осередковий характер у межах однієї пухлини. Такі випадки в цій дисертаційній роботі ми відносили до однієї з ключових ознак явища ЕМТ при

доведеній приналежності пухлини до ДКРЛ. А саме: у разі негативної реакції до панцитокератину обов'язковою умовою приналежності пухлини до ДКРЛ вважалася позитивна реакція до TTF-1 та маркера нейроендокринних пухлин – CD56.

Іншою ознакою, що спричиняє труднощі в морфологічній діагностиці, є зменшена проліферативна активність у ДКРЛ після хіміотерапії або в комбінованому ДКРЛ та ВКРЛ. Такі зміни передусім утворюють труднощі в диференційній діагностиці з карциноїдами. Інші труднощі в діагностиці ДКРЛ можуть бути обумовлені подрібненням біоптатів, деформацією та сплюсненням ракових клітин, що спричинено їхнім механічним ушкодженням під час біопсії.

Отже, в умовах варіабельності змін пухлини та часто малому об'єму взятої біопсії слід обирати ІГХ-маркери найбільш раціонально. За даними літературних джерел, до таких першочергових маркерів, що дозволяють провести диференційну діагностику ДКРЛ з іншими пухлинами схожої морфології, слід відносити p63, Ki67, хромогранін, CD56, TTF-1 і CD45 [155]. ІГХ-метод із застосуванням цих чи інших маркерів можна проводити навіть на малих подрібнених біоптатах. [155]. Так, у нашому експерименті ІГХ-дослідження було проведено в тому числі й на біоптатах пухлин. Проте слід зазначити, що матеріал до цієї групи було відібрано з певними труднощами у зв'язку з необхідністю отримання великої кількості інформативних зрізів. Відбір парафінових блоків ДКРЛ показав, що часто дрібні шматочки пухлинних біоптатів після зрізання для подальшого забарвлення гематоксилином та еозином, ставлять під сумнів можливість проведення ІГХ-дослідження із застосуванням кількох маркерів. Саме тому важливим є розуміння доцільності обрання певних ІГХ-маркерів і визначення серед них таких, що повинні бути обрані першочергово.

У нашому дослідженні ми використовували як традиційні маркери для диференційної діагностики (TTF-1, CD56 та Ki-67), так і маркери, які крім діагностичної цінності можуть використовуватися також для формування

прогнозу та підбору нових схем таргетної хіміотерапії (p16 та CD117). Отримані нами дані щодо експресії TTF-1 та CD56 не суперечили даним останньої гістологічної класифікації пухлин грудної клітини ВООЗ [84].

Ki67 є більш інформативним у диференційній діагностиці з карциноїдними пухлинами в механічно ушкоджених тканинних фрагментах [109]. У нашому дослідженні ІІ Ki-67 також був вищий у ДКРЛ ніж у типових карциноїдах і навіть атипівих карциноїдах, що відповідає світовим даним [84, 109, 155], але отримані результати свідчать про те, що рівні експресії Ki-67 в інших злоякісних пухлинах, що не були ДКРЛ, не мали істотної різниці з ДКРЛ.

Нами отримані дані про статистично значущу різницю в експресії p16 між ДКРЛ та іншими пухлинами (р-значення точного критерію Фішера = 0,00035). Отримані дані збігаються з даними групи вчених, які відмічали значно вищу експресію p16 у ДКРЛ (95 %) порівняно з плоскоклітинним раком легень (50 %) та аденокарциномою легень (41 %) [150]. Зважаючи на те, що p16 не є специфічним маркером для ДКРЛ, а є маркером, що характеризує порушення клітинного циклу шляхом втрати специфічного антиапоптичного фактору – білку ретинобластоми (pRB) [61], його можна використовувати для диференційної діагностики ДКРЛ лише в комбінації з іншими антитілами, наприклад, TTF-1/CD56/p16, як пропонує М. Svajdler та співавтори [150], або в комбінації, яку шляхом покрокової логістичної регресії отримали ми в нашому дослідженні: TTF-1/CD56 (2-4 бали)/p16/CD117 (чутливість – 80,0 %, специфічність – 86,67 %;  $p=0,0003$ ). Отримана нами комбінація виявилася більш ефективною, ніж використання маркерів поодинці, або будь-які інші комбінації досліджуваних нами маркерів, зокрема комбінації з Ki-67, комбінації, де не враховувалося, наскільки виразною була експресія CD56, а також комбінації без CD117.

Рішення щодо можливого включення до діагностичної схеми CD117 спиралося як на дані гістологічної класифікації ВООЗ 2015 року, де було

вказано, що CD117 може бути важливим в диференційній діагностиці ДКРЛ, бо експресується більше ніж в 60 % цих пухлин [155], так і на дані отримані з нашого дослідження, де ми побачили, що експресія CD117 спостерігалась у 80 % ДКРЛ. Ці дані також збігаються з даними Pelosi J та співавторів [109], згідно з яким експресія CD117 спостерігалася в 67 – 80 % випадках ДКРЛ, але тільки в 7 % карциноїдів (однак не зазначено, були це типові або атипіві карциноїди) [36, 109]. Нами не була виявлена експресія CD117 у плоскоклітинному раку легень та аденокарциномі легень, хоча за даними Vidya Jha та співавторів, [65] вона може спостерігатись у 70,17 % аденокарцином та у 23,4 % плоскоклітинного раку легень [65], що також свідчить про те, що CD117 не є специфічним біомаркером для ДКРЛ. Така різниця в експресії CD117 між нашими випадками НДКРЛ та даними інших досліджень насамперед зумовлена невеликою кількістю випадків аденокарцином і плоскоклітинного раку в нашій виборці (2 та 3 відповідно), однак наявність експресії CD117 у саркомі Юїнга, що була в нашій виборці, не суперечить світовим даним [56].

Однак слід зазначити, що використання CD117 може мати не стільки діагностичне, скільки прогностичне значення та бути важливим для відбору кандидатів для специфічної таргетної терапії інгібіторами тирозинкінази. Дослідження клітинних ліній ДКРЛ, що експресували CD117, виявило чутливість цих клітин до таргетної терапії с-Kit та с-Met інгібіторами (імаїнібом і кризотинібом) [139, 156].

Інша розглянута в роботі проблематика стосувалася питання лікувального патоморфозу ДКРЛ, що важливо для розуміння біології пухлини під впливом ПХТ, особливостей клінічної поведінки, прогнозу захворювання та подальшого індивідуалізованого лікування.

Для визначення молекулярно-біологічних особливостей ДКРЛ після ПХТ були проведено ІГХ-дослідження ДКРЛ на біопсійному матеріалі та в померлих хворих, які за життя отримували лікування. Слід зазначити, що для підтвердження чи спростування отриманої гіпотези щодо прогностичної

значущості експресії окремих маркерів, зокрема Ki-67, необхідне дослідження парних випадків ДКРЛ від пацієнтів до та після радіотерапії чи ПХТ.

Порівнюючи аутопсійні випадки ДКРЛ після отриманої поліхіміотерапії та випадки первинних ДКРЛ у біопсійному матеріалі від пацієнтів, які ще не проходили лікування, ми відмітили, що хоча відсотково експресія CD56, CD117 та p16 була нижча у випадках після ПХТ, статистично значимою різниці між групами виявлено не було. Єдина статистична значуща різниця відмічалася в експресії Ki-67, що була нижчою в групі після ПХТ (U-критерій Манна-Уїтні=159,  $p=0,0029$ ). N. Ishibashi та співавтори [63] у своїй статті зазначають, що пацієнти з ДКРЛ з більш низьким Ki-67 гірше відповідають на радіотерапію, яка в частині випадків була поєднана з ПХТ, і мають гіршу виживаність [63], що збігається частково з нашими даними, бо всі наші випадки раку у пацієнтів після лікування є випадками аутопсій. Однак, з іншого боку, більш низький ІІ за Ki-67 у групі аутопсійних випадків ДКРЛ може бути наслідком проведеного лікування.

У подальшому нами було досліджено прогностичні клініко-морфологічні та імуногістохімічні критерії ДКРЛ. Задля вирішення поставлених задач було проведено розподіл ДКРЛ на Л-ДКРЛ – 14 випадків – ті, що обмежуються однією ділянкою грудної клітки без метастазів у другу легеню чи внутрішні органи, та на Р-ДКРЛ – 25 випадків. Так само Л-ДКРЛ було розподілено на ті, що не мають метастазів у лімфатичні вузи (7 випадків), та з наявними метастазами в іпсилатеральні лімфатичні вузли (7 випадків).

Серед досліджених 39 випадків ДКРЛ лікування було проведено в 33 випадках. Смерть від ДКРЛ спостерігалась у 29 випадках.

У нашій роботі було проведено також оцінку клініко-морфологічних характеристик і встановлено особливості експресії окремих ІГХ-маркерів задля визначення їхнього прогностичного значення. Мали судження про прогноз та клінічну поведінку пухлини через визначення приналежності раку до Л-ДКРЛ

чи Р-ДКРЛ, наявності чи відсутності метастазування в лімфатичні вузли серед Л-ДКРЛ і за оцінкою ЗВ та терміну летального наслідку пацієнтів.

Серед груп дослідження було однакове співвідношення чоловіків і жінок та однакове співвідношення за віковими критеріями. Серед морфологічних особливостей також не виявлено суттєвих відмінностей.

Простежено, що число мітозів серед Л-ДКРД було дещо більшим ніж серед Р-ДКРЛ. Отримані дані слід пояснювати наявністю 6 випадків пухлин без лікування в анамнезі. Саме в цих пухлинах мітотична активність була дещо нижчою. Слід також зазначити велику варіабельність мітотичної активності в мм<sup>2</sup>.

Отже, серед досліджених клініко-морфологічних ознак були розглянуті стать, вік пацієнтів, мікроскопічні характеристики на рівні рутинного забарвлення гематоксиліном та еозином. За отриманими результатами не виявлено значущих відмінностей між групами дослідження, що доводить відсутність прогностичного значення гістологічних критеріїв ДКРЛ і підкреслює необхідність оцінки молекулярно-біологічних ознак для прогнозування біологічної та клінічної поведінки ДКРЛ.

Інші дані було отримано щодо впливу проліферативної активності на клінічну поведінку ДКРЛ з урахуванням рівня експресії Ki-67. Установлено пряму кореляційну залежність між ІІ Ki-67 і терміном виживаності пацієнтів та асоціацію більш високого значення ІІ Ki-67 зі стадією Л-ДКРЛ. Схожі дані щодо більш сприятливого перебігу захворювання за умови більшого рівня експресії Ki-67 отримано іншими авторами [63, 166]. Проте метааналіз впливу проліферативної активності на клінічний перебіг РЛ, переважно недрібноклітинних, показав протилежні результати, як і в раку інших локалізацій [166, 180]. Тобто в ДКРЛ, на відміну від інших раків як легень, так і інших локалізацій, Ki-67 виступає як сприятливий прогностичний критерій доброї відповіді на протипухлинну терапію та тривалішої виживаності пацієнтів. Це може бути обумовлено не характеристикою ракових клітин чи

асоціацією експресії Ki-67 з активацією тих чи інших сигнальних шляхів, а передусім залежністю з відповіддю ракових клітин на ПХТ, що було доведено в нашому дослідженні.

Серед ІГХ-маркерів, що мають вплив на прогноз перебігу ДКРЛ, згідно з літературними даними слід розглядати маркери проліферації, маркери, пов'язані з інвазією та метастазуванням, апоптозом, ангиогенезом, імунною регуляцією [185].

Нами було приділено увагу іншим ІГХ-маркерам, зокрема маркерам нейроендокринного імунофенотипу – CD56 чи синаптофізину ???. Позитивна реакція визначалася в усіх випадках, проте в межах кожної з пухлин інтенсивність та відносне число клітин, що експресують маркери, була різною, що вказує на неоднорідність популяції ДКРЛ та часткову втрату пухлинами нейроендокринного фенотипу. Отримані дані загалом збігаються з даними світової літератури. За даними літератури [190], 20 % ДКРЛ не мали експресії маркерів нейроендокринних тканин, що свідчить про гетерогенність ДКРЛ, навіть у межах однієї пухлини [138]

За отриманими даними, часткова втрата експресії маркерів CD56 та синаптофізину має обмежене прогностичне значення через тенденцію до більш агресивної клінічної поведінки, проте зазначені маркери не слід застосовувати як окремі критерії прогнозу захворювання.

Виявлена відсутність взаємозв'язку рівня проліферативної активності та експресії маркерів нейроендокринного імунофенотипу, простежено слабку тенденцію нижчої експресії Ki-67 серед ДКРЛ з більшим рівнем експресії CD56 чи синаптофізину.

Наступним дослідженим маркером став CD44, який є критерієм стовбурового імунофенотипу клітин різної локалізації. Експресія CD44 переважно була відсутня, у 30 % ДКРЛ з позитивною реакцією – була слабкою (1 – 30 % ракових клітин). Загалом отримані дані збігаються з даними світової літератури щодо низького рівня експресії CD44 серед ДКРЛ.

Отримані результати дослідження свідчать про тенденцію до більш агресивної клінічної поведінки ДКРЛ серед пухлин з позитивною експресією CD44. Ці результати не протирічать даним світової літератури [112, 169]. За судженням окремих авторів [76], оцінка молекулярних особливостей та шляхів стовбурового фенотипу може стати рутинною частиною діагностики та терапії ДКРЛ [111, 156]. Проте слід зазначити, що робіт, у яких досліджується CD44 саме в ДКРЛ недостатньо. Водночас наявні дані щодо експресії CD44 серед НДКРЛ дозволяють стверджувати інше та навіть протилежне прогностичне значення CD44 в НДКРЛ та ДКРЛ [144, 147].

Резистентні до хіміотерапії ракові стовбурові клітини, які становлять дуже незначну субпопуляцію, відповідають за лікувальну резистентність та агресивність ДКРЛ. За даними Wang Y. et al., 2021 [169], позитивна експресія CD44 корелює з «poor performance status», проте не виявлено кореляційної залежності з несприятливим прогнозом ДКРЛ, зокрема була відсутня значуща залежність щодо показника ЗВ при тенденції до меншого терміну ЗВ серед пацієнтів з позитивною експресією маркеру.

У нашому дослідженні експресія CD44 має обмежене прогностичне значення зі слабкою тенденцією до більш агресивної клінічної поведінки при позитивному статусі. Зокрема, серед локалізованих ДКРЛ усі пухлини з позитивною експресією CD44 були такими, що метастазують (100 %), тоді як з негативною реакцією – у 50 % випадків. Не виявлено також статистично значущої залежності між позитивною реакцією маркеру та терміном ЗВ пацієнтів ( $p=0,7$ ).

Установлено зворотню кореляційну залежність з нейроендокринним статусом ДКРЛ та позитивною реакцією з CD44 ( $r= - 0,65$ ,  $p<0,01$ ), що слід пояснювати процесами втрати тканьової специфічності ракових клітин у разі появи молекулярно-біологічних свідчень стовбурового фенотипу.

Загалом, з урахуванням відсутності статистично значущої залежності між групами дослідження за рівнем експресії CD44 отримані нами дані не дозволяють вважати цей маркер значущим прогностичним критерієм ДКРЛ.

Водночас, нами встановлено закономірності змін молекулярного фенотипу ДКРЛ у процесі набуття раковими клітинами стовбурового фенотипу.

Ще однією трансформацією ракових клітин з втратою експресії генів епітеліального фенотипу завдяки появі білків мезенхімального фенотипу є ЕМТ, що є ключовими факторами інвазійного росту та метастазування раків. ЕМТ супроводжується перебудовою цитоскелету, зокрема втратою епітеліальних цитокератинів, що супроводжується порушенням міжклітинної адгезії та змінами клітинної полярності та рухливості. Ці зміни описані в більшості типів аденокарцином та вважаються критеріями формування інвазійних, метастатичних властивостей та резистентності до хіміотерапії [18, 76].

Стовбуровий фенотип у ДКРЛ часто ідентифікують з мезенхімальними маркерами, як-от: CD44, CD90, CD87 та CD133 [5, 31, 112]. За окремими даним, серед аденокарцином легень відсутня залежність між ознаками появи ЕМТ та стовбурового фенотипу [144]. Ці та інші дослідження більше стосуються не ДКРЛ, що мають значні молекулярно-біологічні відмінності від ДКРЛ.

За отриманими нами даними, у ДКРЛ ЕМТ та стовбуровий фенотип ракових клітин є взаємозалежними –у разі зростання стадії ЕМТ стовбуровий фенотип з експресією CD44 з'являється частіше. Ці властивості ДКРЛ на молекулярному рівні є більш значущими ніж клінічні або прогностичні характеристики пухлин.

За даними Taichi Matsubara та співавт., ЕМТ спостерігається серед раку легень на (в у/м не ВЗАГАЛІ використовується «самий» на означення ступеня порівняння) початкових етапах росту пухлини. Аденокарциноми легень ІА стадії мали експресію віментину та Е-кадгерину у 18,6 % та 68,3 % відповідно, водночас ЕМТ мала вплив на зниження ЗВ пацієнтів [24].

Залишається багато нез'ясованих і суперечливих даних щодо морфологічних, молекулярно-біологічних, генетичних особливостей та клінічного значення ЕМТ серед ДКРЛ.

За морфологічними ознаками на рівні світлової мікроскопії ЕМТ характеризується процесами дисоціації з'єднань епітеліальних клітин між собою, втратою апікально-базальної полярності з набуттям передньо-задньої полярності, реорганізацію архітектури зі зміною цитоскелету та форми клітин, збільшенням клітинних протрузій і рухливості, збільшенням здатності клітин до протелізу позаклітинного матриксу й відповідно інвазії [64, 89]. Указані ознаки є здебільшого властивими для ДКРЛ, а саме ці пухлини складаються з дрібних незрілих на вигляд клітин з округлою чи веретеноподібною формою, втратою апікально-базальної полярності, нерегулярною та переривчастою базальною пластинкою, слабкою міжклітинною адгезією. Навіть одною з назв ДКРЛ, що раніше використовувалася, була вівсяноклітинна саркома, що підкреслює мезенхімальну морфологію пухлини [64].

Свідченнями ЕМТ є експресія низки молекулярно-генетичних маркерів. Одним з ключових критеріїв втрати епітеліального фенотипу ракових клітин у моделях *in vivo* та видалених пухлинах пацієнтів є зниження чи втрата експресії кератинів. Втрата кератину призводить до втрати клітинних з'єднань, зокрема десмосомних міжклітинних контактів та щільних з'єднань [74]. Цитокератин-7 експресується в майже половині (для «близько» - мало б бути «половини»), тоді «в» не тулиться) ДКРЛ, цитокератин-20 менше ніж у 10 % раку з так званим «dots pattern» [160]. За даними Charles E [27], у ДКРЛ експресія високомолекулярних цитокератинів була негативною, проте низькомолекулярні цитокератини (ЦК8, ЦК18, або ЦК19) разом з панцитокератином давали позитивну реакцію в 43 % випадків.

ДКРЛ з ЕМТ, а саме: з високою експресією с-MET та низькою – E-кадгерину, характеризуються вищою ЗВ. Водночас стовбуровий фенотип, що визначався маркерами SOX2 та CD44, не впливав на ЗВ хворих [112].

Протилежні дані отримані Chang, M [26], який встановив пряму залежність між експресією E-кадгерину та ЗВ пацієнтів. За даними Cañadas I. та співавт. [18], EMT є критерієм несприятливого прогнозу перебігу захворювання.

Молекулярні характеристики ДКРЛ також демонструють ознаки EMT через зниження експресії E-кадгерину, підвищення експресії N-кадгерину та активності металопротеїназ [64, 136].

Зниження регуляції експресії епітеліальних генів та активація генів мезенхімального фенотипу може бути обумовлена низкою основних факторів транскрипції, разом із фактором транскрипції SNAIL, zinc-finger E-box-binding (ZEB), basic helix-loop-helix transcription (bHLH), сигнальними шляхами трансформісного фактору росту – beta (TGFb), Notch тощо [89].

В окремих роботах доведена критична роль TGF-b в розвитку гетерогенності та метастазуванню ДКРЛ, а інгібування передачі сигналу TGF-b значно знижує метастатичну активність ДКРЛ, що зі свого боку обумовлює потенційний терапевтичний ефект під час лікування хворих на ДКРЛ [66]. Notch є сигнальним шляхом, який обумовлює внутрішньопухлинну гетерогенність, і розвиток EMT, регулює нейроендокринне диференціювання, проліферацію, міжклітинну адгезію та хіміорезистентність [138]. Втрата міжклітинних зв'язків реалізується через регуляцію Notch1 експресії E-кадгерину. Водночас хіміо- та променева терапія активує Notch сигнальні шляхи, що має супресивний ефект до нейроендокринного диференціювання, появи процесів EMT та розвитку хіміопроменевої резистентності. [44, 64, 138]. Також реалізація EMT та нейроендокринного диференціювання пов'язана з ASCL1 (achaete – scute complex homologue 1), що регулюється Notch1 у ДКРЛ. За окремими даними, ДКРЛ демонструють позитивну реакцію до SNAIL, SLUG та ZEB2 [9, 43].

Молекулярно-генетичну гетерогенність ДКРЛ з різноманітним транскрипційною регуляцією обумовлює спроби класифікацій ДКРЛ. Так, за даними Rudin SM та співавт. [123], можна відокремити 4 субтипи ДКРЛ:

ASCL1, також відомий як ASH1 (ДКРЛ-А), NeuroD1 (neurogenic differentiation factor 1) (ДКРЛ-N), YAP1 (yes-associated protein 1) (ДКРЛ-Y) та POU2F3 (POU class 2 homeobox 3) (ДКРЛ-P).

Не є розробленою та уніфікованою методика оцінювання появи та ступеня ЕМТ, що може бути обумовлено передусім різною активністю молекулярних проявів процесу та варіабельністю реалізації тих чи інших сигнальних шляхів [25]. ЕМТ є динамічним процесом, часто виявляється в частині клітин пухлини та за певних умов може бути оборотним. Крім того, ЕМТ не є бінарним процесом з неухильно/твердо/точно визначеним епітеліальними чи мезенхімальними фенотипами, а натомість визначається спектром станів від часткової втрати епітеліальних характеристик, порушенням міжклітинних контактів, зміною клітинної полярності до повної стадії, на якій мезенхімальні гени збільшують ??що? чи збільшуються ??? [64, 89].

В науковій літературі є різний підхід до класифікації ЕМТ. По-перше, розрізняють ЕМТ 1-го типу, яка виникає під час ембріогенезу, 2-го типу – під час репарації ран, у процесі фіброзування, 3-го типу – у раках та визначається ступенем ЕМТ карцином [89]. Окремі автори згідно зі ступенем ЕМТ розрізняють субпопуляції пухлинних клітин, які циркулюють, на ті раки, що мають епітеліальний фенотип, мезенхімальний фенотип і змішаний епітеліальний та мезенхімальний фенотип. До маркерів входили, наприклад: ЕрСАН, Е-кадгерин, цитокератини 8/18/19 та віментин [38]. Серед добре відомих маркерів ЕМТ, що застосовуються під час класифікації ЕМТ та для пошуку кореляційних зв'язків з іншими генами, відокремлюють Е-кадгерин (CDH1), віментин (VIM), N-кадгерин (CDH2) і фібронектин 1 (FN1). [30]

Можна побачити поділ ракових пухлин на ті, що мають повний тип ЕМТ – характеризуються втратою епітеліального фенотипу з набуттям мезенхімального фенотипу, неповний тип 1 (гібридний тип), характеризується пухлиною, демонструє як мезенхімальний, так і епітеліальний фенотип, неповний тип 2 (нульовий тип), що визначається втратою епітеліального

фенотипу без набуття мезенхімального фенотипу та дикий тип, що характеризується пухлиною без ознак епітеліально-мезенхімального переходу [57].

Іншим методом оцінки ЕМТ був розрахунок на основі зваженої суми рівнів експресії 76 генів, визначенням коефіцієнту ваги гена – коефіцієнта кореляції між рівнем експресії гена й рівня експресії CDH1 (E-кадгерину) та в подальшому визначенні раку з переважанням мезенхімального чи епітеліального фенотипу [25, 51].

Існує багато інших методів оцінки та розрахунків ЕМТ раку різної локалізації. Велика кількість методів та систем оцінки вказує на відсутність уніфікованого підходу та завжди наявні певні переваги та недоліки. У більшості робіт ЕМТ представлена в досить зручному для сприйняття та подальшої роботи способі, без зайвих поділів, проте, на наш погляд, не приділяється достатньо уваги саме гібридному типу ЕМТ із визначенням не лише переважання експресії маркерів епітеліального чи мезенхімального фенотипу, але й урахуванням ступеня наявності цих маркерів, що може надати більшої інформації та бути корисним у визначенні прогнозу пухлини.

У цій роботі було запропоновано визначення ступеня ЕМТ за ознаками появи імуногістохімічних критеріїв мезенхімального фенотипу та статистичного підрахунку рівня співвідношення між епітеліальними та мезенхімальними характеристиками в клітинах пухлини.

Було показано, що ступінь ЕМТ серед ДКРЛ була варіабельною, спостерігалась у 69,3 % (27/39) та ЕМТ була здебільшого проміжною або неповною.

Дуже важливим висновком стала доведена прогностична значущість ЕМТ щодо загальної виживаності пацієнтів, та її вплив на поширеність пухлинного процесу.

Запропонована нами система оцінки рівня ЕМТ передбачає оцінку рівня експресії маркерів з подальшою статистичною обробкою даних, що безумовно

не є зручним у практичній діяльності лікарів, проте дає змогу мати ґрунтовний підхід до оцінки ЕМТ з доказовим визначенням ступеня ЕМТ та впливу того чи іншого ступеня ЕМТ на клінічну поведінку пухлини. У подальшому для практичної роботи лікарів-онкологів можна скористатися іншими, більш швидкими методами оцінювання ступеня ЕМТ, оцінка якої також завжди залежить не лише від методу математичної обробки даних, але й від обрання маркерів, їхньої кількості, постановки реакції, методу генетичної чи імуногістохімічної оцінки тощо.

За поодинокими даними наукової літератури, окремі молекулярно-біологічні ознаки ЕМТ мають вплив на клінічний перебіг ДКРЛ. Зокрема за деякими даними [138] CXCR4, що залучений до CD133 – індукованої ЕМТ раку легень, є незалежним прогностичним фактором виживаності пацієнтів на ДКРЛ. Також несприятливими критеріями ДКРЛ є високий рівень експресії MMP-9, TGF- $\beta$ 1, flotillin-1, зниження експресії E-кадгерину, які є факторами ЕМТ [191]. Є роботи на підставі дослідження ліній клітин ДКРЛ, що також доводять вплив ЕМТ на біологічну поведінку пухлин [64].

З іншого боку, за даними Pore M et al. [112], ДКРЛ з ЕМТ, а саме: з високою експресією c-MET та низькою E-кадгерину – характеризуються тривалішою ЗВ та меншою кількістю ЦПК.

Отримані нами дані дозволили надати більш систематизованого підходу до оцінки ЕМТ ДКРЛ та визначити його як несприятливий критерій прогнозу. Так, встановлено, що ІГХ-ознаки процесу ЕМТ у вигляді появи експресії маркерів мезенхімального фенотипу віментину чи N-кадгерину спостерігалися в 69,3 % ДКРЛ. Порівнюючи локалізовані та поширені ДКРЛ, встановлено, що наявність ЕМТ асоціюється з поширеними формами ДКРЛ ( $p < 0,01$ ), проте виявлено відсутність кореляційного зв'язку при розподілі ДКРЛ за стадією ЕМТ. Серед локалізованих форм ДКРЛ ЕМТ спостерігалася в 50 % (7/14) та була 1-ї – 2-ї стадій. Наявність ЕМТ серед Л-ДКРЛ асоціювалося з метастазуванням у регіонарні лімфатичні вузли ( $p < 0,01$ ). Показник загальної

виживаності пацієнтів на ДКРЛ залежав від наявності ЕМТ ( $p < 0,01$ ) та її стадії ( $p < 0,01$ ), що визначає ЕМТ ДКРЛ як прогностичний критерій захворювання.

Отримані результати дослідження дозволяють зробити рекомендації щодо відокремлення ДКРЛ на пухлини з та без ЕМТ та доцільність визначати її ступінь.

Отже, аналіз клініко-морфологічних і молекулярно-біологічних характеристик ДКРЛ, зокрема особливостей експресії та коекспресії досліджених ІГХ-маркерів дозволяє мати судження щодо біологічної поведінки пухлин та визначити критерії сприятливого прогнозу, летального наслідку пацієнтів. Реакція окремих маркерів також дає підставу оцінювати обмежене їхнє прогностичне значення.

## ВИСНОВКИ

1. ДКРЛ становить 28,8 % від усіх гістологічних форм раку легень пацієнтів, які померли у багатопрофільних стаціонарах м. Харкова. Серед померлих від ДКРЛ діагноз раку було встановлено вперше (клінічно чи під час аутопсії) у 64,7 % (46/71) спостережень. Серед причин смерті пацієнтів прогресію та генералізацію пухлинного процесу було визначено в 73,2 % спостережень, відповідно у 26,7 % випадків було встановлено поєднану патологію, водночас ДКРЛ не був безпосередньою причиною смерті та не призвів до розвитку смертельних ускладнень. Пухлинний процес у померлих з ДКРЛ на ІВ, ІІВ, ІІІА, ІІІАВ, ІV стадіях було визначено у 2,82 %, 7,04 %, 7,04 %, 21,13 % та 61,97 % відповідно. Найчастіше метастази вражали печінку (36,6 %), другу легеню (30,9 %), головний мозок (18,3 %), кісткову систему (12,7 %). Серед пацієнтів з морфологічно верифікованим ДКРЛ та тих, які отримували відповідне лікування (286 спостережень) пухлинний процес у 42,3 % належав до ІV клінічної стадії, 46,9 % – до ІІІ стадії, і лише 11,1 % – до 2 стадії.

2. Найбільш значущими маркерами є p16 і CD117 з достовірно більшим рівнем експресії в ДКРЛ (р-значення точного критерію Фішера = 0,00035 та 0,0003 відповідно). Для диференційної діагностики ДКРЛ з плоскоклітинним раком найбільш цінними можна вважати маркери TTF-1 та p40. Плоскоклітинний рак демонструє негативну експресію TTF-1 та виражену експресію p40, ДКРЛ – відсутність реакції до p40 або слабку його експресію у 8 % пухлин. Ki-67 може використовуватися для диференційної діагностики ДКРЛ з карциноїдами, але не для диференційної діагностики з іншими злоякісними новоутвореннями. CD56 дозволяє визначити нейроендокринну природу пухлини. Запропоновано поєднання імуногістохімічних маркерів: TTF-1/CD56 (2 – 4 бали)/p16/CD117, що (з чутливістю 80,0 % та специфічністю 86,67%;  $p=0,0003$ ) дозволить провести диференційний діагноз між ДКРЛ та іншими новоутвореннями зі схожою морфологією.

3. Визначені імуногістохімічні особливості лікувального патоморфозу

ДКРЛ. Доведено нижчу експресію Ki-67 ДКРЛ після хіміотерапії (за даними дослідження аутопсійного матеріалу) ніж серед пухлин до лікування (за даними біопсії) (U-критерій Манна-Уїтні=159,  $p=0,0029$ ), однак для підтвердження значущості цієї ознаки необхідно дослідження парних випадків ДКРЛ до та після лікування в того самого пацієнта. Також визначена тенденція до нижчої експресії TTF-1, CD117 та p16 після хіміотерапії ( $p>0,05$ ). Експресія CD56 не мала істотних відмінностей.

4. Установлено прогностичну значущість маркерів Ki-67, віментину, CD44, CD56, E-кадгерину та N-кадгерину. Високий рівень експресії Ki-67 є сприятливим прогностичним критерієм, що доведено через виявлену пряму залежність між терміном виживаності та рівнем експресії Ki-67 ( $p<0,03$ ). Віментин, навпаки, є значущим маркером агресивної клінічної поведінки ДКРЛ. Поява позитивної реакції віментину корелювала з меншим терміном ЗВ пацієнтів ( $p<0,001$ ). Установлена тенденція до прямої залежності між появою експресії раковими клітинами віментину та ознаками стовбурового фенотипу – експресії CD44, а також зворотної залежності з експресією CD56 – маркеру нейроендокринних тканин. Втрата тканинної специфічності ДКРЛ зі зниженням експресії нейроендокринних маркерів супроводжувалася появою стовбурового фенотипу ракових клітин ( $p<0,05$ ). E-кадгерин характеризує збереження тканинної специфічності ДКРЛ, його експресія демонструвала пряму кореляційну залежність з експресією CD56 ( $p<0,05$ ) та зворотною з CD44 ( $p<0,01$ ). Пацієнти з високим рівнем експресії E-кадгерину мали триваліший термін ЗВ ( $p<0,001$ ). N-кадгерин демонструє кореляційну залежність помірної сили з експресією віментину ( $p<0,01$ ) та Ki-67 ( $p<0,01$ ), як свідчення процесів ЕМТ та його експресія була вищою серед Л-ДКРЛ, що метастазує ( $p<0,05$ ) та меншим терміном ЗВ ( $p<0,03$ ) пацієнтів.

5. ЕМТ ДКРЛ, що характеризується частковою втратою експресії імуногістохімічних маркерів епітеліального фенотипу та появою молекулярно-біологічних ознак мезенхімального фенотипу, спостерігалась у 69,3 % (27/39)

випадків. Наявність ЕМТ (1 – 5 ст.) асоціювалася з Р-ДКРЛ та відповідно була не властивою для Л-ДКРЛ ( $p < 0,01$ ); серед Л-ДКРЛ – асоціювалася з метастазуванням у регіонарні лімфатичні вузли ( $p < 0,01$ ). Простежена зворотна залежність між терміном ЗВ пацієнтів та стадією ЕМТ ( $p < 0,01$ ). ЗВ більша за 1 рік асоціювалася з відсутністю ЕМТ ДКРЛ ( $p < 0,001$ ), а летальний наслідок упродовж 1-го року – з 3 – 5 стадією ЕМТ ( $p < 0,001$ ). Поява стовбурового фенотипу ракових клітин, що досліджувалася за оцінкою експресії CD44, спостерігалась у 30,8 % (12/39) випадках та мала обмежене прогностичне значення.

6. Установлені прогностичні критерії ДКРЛ щодо загальної виживаності, приналежності до стадії локалізованого чи поширеного процесу (Л-ДКРЛ та Р-ДКРЛ) та метастазування Л-ДКРЛ. До сприятливих критеріїв прогнозу ДКРЛ слід відносити: високий рівень експресії Е-кадгерину та Кі-67. До несприятливих критеріїв прогнозу – появу експресії віментину в ракових клітинах, підвищений рівень експресії N-кадгерин, наявність ЕМТ (1 – 5 ст.) та ЕМТ більшу за 3 стадію (3 – 5 стадій). Мають обмежене прогностичне значення: низка клініко-морфологічних ознак, дані гістологічного дослідження (площа ракових клітин, їхня форма, число мітозів, наявність та враженість некрозу), експресія панцитокератину, CD44, маркерів нейроендокринного фенотипу (CD56 та синаптофізин).

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для диференційної діагностики ДКРЛ у біопсіях малого об'єму рекомендоване застосування таких маркерів як: TTF-1, p40 – для виключення діагнозу плоскоклітинного раку, CD56 – для визначення нейроендокринних пухлин, p16 та CD117 – як додаткові маркери для диференціальної діагностики ДКРЛ.

2. Для диференційної діагностики ДКРЛ з іншими раками легень схожої морфології рекомендовано урахування поєднання таких імуногістохімічних маркерів як: TTF-1/CD56 (2-4 бали)/p16/CD117 (чутливість – 80,0 %, специфічність – 86,67 %;  $p=0,0003$ ), де під терміном «2 – 4 бали» мається на увазі наявність позитивної експресії CD56 більше ніж у 25 % пухлинних клітин. Запропонована комбінація маркерів у перспективі може мати цінність для підбору таргетної терапії пацієнтам з ДКРЛ.

3. Доведена відсутність прогностичного значення низки клінічних та гістологічних критеріїв ДКРЛ, що обумовлює необхідність оцінки молекулярно-біологічних ознак пухлин для визначення можливого прогнозу їхньої біологічної та клінічної поведінки. Доведена значущість ІГХ-методу для визначення прогнозу ДКРД.

4. До найбільш значущих ІГХ-маркерів, які рекомендовано включати до діагностичної панелі ДКРЛ з метою встановлення прогнозу перебігу захворювання, належать віментин, N-кадгерин, E-кадгерин, Ki-67, панцитокератин, експресію яких слід оцінювати окремо та з урахуванням коекспресії з визначенням стадії ЕМТ.

Результати дисертаційної роботи впроваджено в практичну діяльність Інституту медичної радіології ім. С. П. Григор'єва НАМН України (м. Харків), КП «Полтавське обласне патологоанатомічне бюро», Дніпропетровського обласного патологоанатомічного бюро, патологоанатомічного відділення комунального некомерційного підприємства «Обласний центр онкології» Харківської обласної ради, у навчальний процес кафедри клінічної патології

ХНУ ім. В. Н. Каразіна (м. Харків), кафедри патологічної анатомії та судової медицини Полтавського державного медичного університету, кафедри патологічної анатомії Харківського національного медичного університету.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Федоренко З.П., Гулак Л.О., Михайлович Ю.Й., Горох Є.Л., Рижов А.Ю., Сумкіна О.В., Куценко Л.Б. (2022). Рак в Україні, 2020-2021. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. Гол. ред. О.О. Колеснік. Бюлетень національного канцер-реєстру України, 23, 101.
2. Янчевський О.В. «Особливості та стадіювання епітеліально-мезенхімальної трансформації дрібноклітинних раків легень». Вісник проблем біології і медицини. 2023; Вип.№1 (168): 352-359. *(Здобувачем проведено імуногістохімічне дослідження, оброблено результати, зроблені висновки).*
3. Aida Y., Nakazawa K., Shiozawa T., Ogawa R., Kiwamoto T., Morishima Y., Sakamoto T., et al. Small – Cell Lung Cancer Treatment of Newly Diagnosed Patients with Poor Performance Status. Case Rep Oncol. 2019. Vol. 12. P. 613 – 620. doi: 10.1159/000501548
4. Allison Stewart C., Tong P., Cardnell R.J., Sen T., Li L., Gay C.M., et al. Dynamic variations in epithelial – to mesenchymal transition (EMT), ATM, and SLFN11 govern response to PARP inhibitors and cisplatin in small cell lung cancer. Oncotarget. 2017. Vol. 8. P. 28575 – 87.
5. Aponte P.M., Caicedo A. Stemness in cancer: stem cells cancer stem cells, and their microenvironment. Stem Cells Int. 2017:5619472
6. Augert A., Eastwood E., Ibrahim A.H. Targeting NOTCH activation in small cell lung cancer through LSD1 inhibition. Sci Signal. 2019. Vol. 12: eaau2922.
7. Azzopardi J.G. Oat – cell carcinoma of the bronchus. J Pathol Bacteriol 1959. Vol. 78. P. 513 – 519.
8. Baine M. K., Febres – Aldana C. A., Chang J. C., Jungbluth A. A., Sethi S., Antonescu C. R., Travis W. D., et al. POU2F3 in SCLC: Clinicopathologic and Genomic Analysis With a Focus on Its Diagnostic Utility in Neuroendocrine – Low SCLC. Journal of thoracic oncology: official publication of the International

Association for the Study of Lung Cancer. 2022. Vol. 17 (9). P. 1109 – 1121.  
<https://doi.org/10.1016/j.jtho.2022.06.004>

9. Baine M.K., Hsieh M – S., Lai W.V. SCLC subtypes defined by ASCL1, NEUROD1, POU2F3, and YAP1: a comprehensive immunohistochemical and histopathologic characterization. *J Thorac Oncol.* 2020. Vol. 15. P. 1823 – 1835.

10. Baine M.K., Sinard J.H., Cai G., Homer R.J. A semiquantitative scoring system may allow biopsy diagnosis of pulmonary large cell neuroendocrine carcinoma. *Am J Clin Pathol.* 2020. Vol. 153. P. 165 – 174.

11. Barayan R., Ran X., Lok B.H. PARP inhibitors for small cell lung cancer and their potential for integration into current treatment approaches. *J Thorac Dis.* 2020. Vol. 12. P. 6240 – 52. doi: 10.21037/jtd.2020.03.89

12. Beasley M.B., Brambilla E., MacMahon H., et al. Chapter 1. Small cell lung carcinoma. In: *WHO Classification of Tumours.* Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2021.

13. Birgitta  
I. Hiddinga, Jo Raskin, Annelies Janssens, Patrick Pauwels, Jan P. Van Meerbeeck  
*European Respiratory Review.* 2021.  
Vol. 30 (161). 210079. DOI: 10.1183/16000617.0079 – 202.

14. Bobos M., Hytiroglou P., Kostopoulos I. Immunohistochemical distinction between merkel cell carcinoma and small cell carcinoma of the lung. *Am J Dermatopathol.* 2006. Vol. 28. P. 99 – 104.

15. Borromeo M.D., Savage T.K., Kollipara R.K. ASCL1 and NEUROD1 reveal heterogeneity in pulmonary neuroendocrine tumors and regulate distinct genetic programs. *Cell Rep.* 2016. Vol. 16. P. 1259 – 1272.

16. Bunn P., Minna J., Augustyn A., Gazdar A., Ouadah Y., Krasnow M. Small Cell Lung Cancer: Can Recent Advances in Biology and Molecular Biology Be Translated into Improved Outcomes? *Journal of thoracic oncology.* 2016. Vol. 11 (4). P. 453 – 474. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtho.2016.01.012>

17. Calbo J., van Montfort E., Proost N. A functional role for tumor cell heterogeneity in a mouse model of small cell lung cancer. *Cancer Cell*. 2011. Vol. 19. P. 244 – 256.
18. Cañadas I., Rojo F., Taus Á., Arpí O., Arumí – Uría M., Pijuan L., Menéndez S., et al. Targeting epithelial – to – mesenchymal transition with Met inhibitors reverts chemoresistance in small cell lung cancer. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2014. Vol. 20(4). P. 938 – 950. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-1330>
19. Cancer Research UK. <https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/lung-cancer/survival>. 2017.
20. Cardnell R.J., Li L., Sen T. Protein expression of TTF1 and cMYC define distinct molecular subgroups of small cell lung cancer with unique vulnerabilities to aurora kinase inhibition, DLL3 targeting, and other targeted therapies. *Oncotarget*. 2017. Vol. 8. P. 73419 – 73432.
21. Carolyn Glass, Philippe Joubert, Paul J.L. Zhang. Lung tumor [Internet]. *PathologyOutlines.com*. 2019 [cited 17 June 2019]. Available from: <https://www.pathologyoutlines.com/lungtumor.html>
22. Carter B. W., Glisson B. S., Truong M. T., Erasmus J. J. Small cell lung carcinoma: staging, imaging, and treatment considerations. *Radiographics: a review publication of the Radiological Society of North America, Inc*. 2014. Vol. 34(6). P. 1707 – 1721. <https://doi.org/10.1148/rg.346140178>
23. Casiraghi M., Sedda G., Del Signore E., Piperno G., Maisonneuve P., Petrella F., et al. Surgery for Small Cell Lung Cancer: When and How. *Lung Cancer*. 2021. 152:71 – 7. doi: 10.1016/j.lungcan.2020.12.006
24. Celià – Terrassa T., Bastian C., Liu D., Ell B., Aiello N.M., Wei Y., Zamalloa J., et al. Hysteresis control of epithelial – mesenchymal transition dynamics conveys a distinct program with enhanced metastatic ability. *Nat. Commun*. 2018. Vol. 9. P. 5005 – 10. 10.1038/s41467-018-07538-7.

25. Chakraborty P., George J.T., Tripathi S., Levine H., Jolly M.K. Comparative Study of Transcriptomics – Based Scoring Metrics for the Epithelial – Hybrid – Mesenchymal Spectrum. *Front Bioeng Biotechnol.* 2020. Vol. 20 (8). P. 220 – 230. doi: 10.3389/fbioe.2020.00220. PMID: 32266244; PMCID: PMC7100584.
26. Chang M. H., Lee K., Lee K. Y., Kim Y. S., Kim Y. K., Kang, J. H. Prognostic role of integrin  $\beta$ 1, E – cadherin, and rac1 expression in small cell lung cancer. *APMIS: acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica.* 2012. Vol. 120(1). P. 28 – 38. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2011.02788.x>
27. Charles E. Rengifo, Rancés Blanco, Mercedes Cedeño, Milagros Frómata, Enrique Rengifo. Tissue Expression of Low and High Molecular Weight Cytokeratins in Lung Carcinoma Sections: Its Correlation with Some Clinic – Pathological Features. *Journal of Histology.* 2014. Vol. 14., 9 pages. Article ID 410952. <https://doi.org/10.1155/2014/410952>
28. Chauvin J.M., Zarour H.M. TIGIT in cancer immunotherapy. *J Immunother Cancer.* 2020. Vol. 8. P. 57 – 66. doi: 10.1136/jitc-2020-000957
29. Cho H.J., Hong S.A., Ryu D., Hong S – H, Kim T – M. Transcriptional Profiling Reveals Mesenchymal Subtypes of Small Cell Lung Cancer with Activation of the Epithelial – to – Mesenchymal Transition and Worse Clinical Outcomes. *Cancers.* 2022. Vol. 14(22):5600. <https://doi.org/10.3390/cancers14225600>
30. Chen Q., Kuai Y., Wang S., Zhu X., Wang H., Liu W., Cheng L., Yang, D. Deep Learning – Based Classification of Epithelial – Mesenchymal Transition for Predicting Response to Therapy in Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Frontiers in oncology.* 2022. Vol. 11. 782515.
31. Codony – Servat J., Verlicchi A., Rosell R. Cancer stem cells in small cell lung cancer. *Transl Lung Cancer Res.* 2016. Vol. 5. P. 16 – 25.

32. Cook D.P., Vanderhyden B.C. Context specificity of the EMT transcriptional response. *Nat. Commun.* 2020. Vol. 11. P. 1 – 9.
33. Corso C.D., Rutter C.E., Park H.S., et al. Role of chemoradiotherapy in elderly patients with limited – stage small – cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2015. Vol. 33. P. 4240 – 4246. doi:[10.1200/JCO.2015.62.4270](https://doi.org/10.1200/JCO.2015.62.4270).
34. Dietz S., Schirmer U., Merce C., von Bubnoff N., Dahl E., Meister M., et al. Low input whole – exome sequencing to determine the representation of the tumor exome in circulating DNA of non – small cell lung cancer patients. *PLoS One.* United States. 2016. Vol. 11(8):e0161012.
35. Ding X. L., Su Y. G., Yu L., Bai Z. L., Bai X. H., Chen X. Z., Yang X., et al. Clinical characteristics and patient outcomes of molecular subtypes of small cell lung cancer (SCLC). *World journal of surgical oncology.* 2022. Vol. 20(1). P. 54 – 63. <https://doi.org/10.1186/s12957-022-02528-y>
36. Dorantes – Heredia R., Ruiz – Morales J., Cano – García F. Histopathological transformation to small – cell lung carcinoma in non – small cell lung carcinoma tumors. *Translational Lung Cancer Research.* 2016. 5(4). P. 401 – 412. <https://doi.org/10.21037/tlcr.2016.07.10>
37. Faivre – Finn C., Snee M., Ashcroft L. Concurrent once – daily versus twice – daily chemoradiotherapy in patients with limited – stage small – cell lung cancer (CONVERT): an open – label, phase 3, randomised, superiority trial. *Lancet Oncol.* 2017. Vol. 18. P. 1116 – 25.
38. Fang J., Wang W., Fang J., Wang H., Lin L., Li F., Sun Q., et al. Epithelial – mesenchymal transition classification of circulating tumor cells in lung and colon cancer patients: potential role in clinical practice. *Transl Cancer Res.* 2020. Vol. 9(11). P. 6639 – 6651. doi: 10.21037/tcr – 20 – 2235. PMID: 35117274; PMCID: PMC8799278.
39. Feld R., Sagman U., Leblanc M. Staging and prognostic factors for small cell carcinoma. In: Pass HI, Mitchell JB, Johnson DH, Turrisi AT, Minna JD.

(eds). Lung Cancer, Principles and Practice, 2nd edn. Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, 2000, pp. 612 – 627.

40. Frazier S.R., Kaplan P.A., Loy T.S. The pathology of extrapulmonary small cell carcinoma. *Semin Oncol.* 2007. Vol. 34(1). P. 30 – 38.

41. Ganguly S., Biswas B., Bhattacharjee S., Ghosh J., Mukhopadhyay S., Midha D., Dabkara D. Clinicopathological characteristics and treatment outcome in small cell lung cancer: A single institutional experience from India. *Lung India : official organ of Indian Chest Society.* 2020. Vol. 37(2). P. 134 – 139. [https://doi.org/10.4103/lungindia.lungindia\\_370\\_19](https://doi.org/10.4103/lungindia.lungindia_370_19)

42. Gao A., Sun Y., Peng G. ILT4 functions as a potential checkpoint molecule for tumor immunotherapy. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2018. Vol. 1869. P. 278 – 85. doi: 10.1016/j.bbcan.2018.04.001

43. Gay C.M., Stewart C.A., Park E.M., Diao L., Groves S.M., Heeke S., Nabet B.Y., et al. Patterns of transcription factor programs and immune pathway activation define four major subtypes of SCLC with distinct therapeutic vulnerabilities. *Cancer Cell.* 2021. Vol. 39. P. 346 – 360.

44. George J. , Lim J.S. , Jang S.J. Comprehensive genomic profiles of small cell lung cancer. *Nature.* 2015. Vol. 524. P. 47 – 53.

45. George J., Walter V., Peifer M. Integrative genomic profiling of large – cell neuroendocrine carcinomas reveals distinct subtypes of high – grade neuroendocrine lung tumors. 2018. *Nat Commun.* Vol. 9:1048.

46. Giallombardo M., Chacórtégui Borrós J., Castiglia M., Van Der Steen N., Mertens I., Pauwels P., et al. Exosomal miRNA analysis in non – small cell lung cancer (NSCLC) patients' plasma through qPCR: a feasible liquid biopsy tool. *JVisExp.* 2016. Vol. 111:e53900. Available from: <http://www.jove.com/video/53900>

47. Giunta E.F., Addeo A., Rizzo A., Banna G.L. First – Line Treatment for Advanced SCLC: What Is Left Behind and Beyond Chemoimmunotherapy. *Front. Med.* 2022. Vol. 9: 924853. doi: 10.3389/fmed.2022.924853

48. Goldfarbmuren K.C., Jackson N.D., Sajuthi S.P. Dissecting the cellular specificity of smoking effects and reconstructing lineages in the human airway epithelium. *Nat Commun.* 2020. Vol. 11. P. 2485.
49. Grande M.T., Sanchez – Laorden B., Lopez – Blau C., De Frutos C.A., Boutet A., Arevalo M., Rowe R.G., et al. Snail1 – induced partial epithelial – to – mesenchymal transition drives renal fibrosis in mice and can be targeted to reverse established disease. *Nat. Med.* 2015. Vol. 21. P. 989 – 997. 10.1038/nm.3901.
50. Groves S.M., Ildfonso G.V., McAtee C.O., Ozawa P.M.M., Ireland A.S., Stauffer P.E., Wasdin P.T., et al. Archetype tasks link intratumoral heterogeneity to plasticity and cancer hallmarks in small cell lung cancer. *Cell Systems.* 2022. Vol. 13. P. 690 – 710.e617.
51. Guo C. C., Majewski T., Zhang L., Yao H., Bondaruk J., Wang Y. Dysregulation of EMT drives the progression to clinically aggressive sarcomatoid bladder cancer. *Cell Rep.* 2019. Vol. 27. P 1781 – 1793.
52. Han Y., Villarreal – Ponce A., Gutierrez Jr G., Nguyen Q., Sun P., Wu T., Sui B., et al. Coordinate control of basal epithelial cell fate and stem cell maintenance by core EMT transcription factor Zeb1. *Cell Reports.* 2022. Vol. 38. P. 110240.
53. Higgins K. A., Gorgens S., Sudmeier L. J., Faivre – Finn C. Recent developments in limited stage small cell lung cancer. *Translational lung cancer research.* 2019. Vol. 8 (Suppl 2). P. 147 – S152. <https://doi.org/10.21037/tlcr.2019.05.13>
54. Hong T., Watanabe K., Ta C.H., Villarreal – Ponce A., Nie Q., Dai X. An *Ovol2* – *Zeb1* Mutual Inhibitory Circuit Governs Bidirectional and Multi – step Transition between Epithelial and Mesenchymal States. *PLoS Comput. Biol.* 2015. Vol. 11. e1004569. 10.1371/journal.pcbi.1004569.
55. Howlader N. Forjaz G., Mooradian M.J., Meza R., Kong C.Y., Cronin K.A., Mariotto A.B., et al. The Effect of Advances in Lung – Cancer Treatment on Population Mortality. *N. Engl. J. Med.* 2020. Vol. 383. P. 640 – 649.

56. Huang Y., Chang Y., Wu C. EP1.09 – 10 A Diagnostic Pitfall in Posterior Mediastinal Tumor: Expression of CD117 in Atypical Ewing Sarcoma Masquerading as Classic Seminoma. *Journal Of Thoracic Oncology*. 2019. Vol. 14 (10). P. 1001 – 1002. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2019.08.2206>
57. Hyuna S., Jacques F., Rebecca L. Siegel, Mathieu L., Isabelle S., Ahmedin J., Freddie B. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA CANCER J CLIN* 2021. Vol. 71. P. 209 – 249
58. Imai H., Mori K., Watase N., Fujimoto S., Kaira K., Yamada M., Minato K. Clinical Significance of the Relationship between Progression – Free Survival or Postprogression Survival and Overall Survival in Patients with Extensive Disease – Small – Cell Lung Cancer Treated with Carboplatin plus Etoposide. *Canadian respiratory journal*. 2016. 5405810. <https://doi.org/10.1155/2016/5405810>
59. Inamura K. Lung Cancer: Understanding Its Molecular Pathology and the 2015 WHO Classification. *Frontiers in Oncology*. 2017. Vol. 7. P. 59 – 62.
60. Inamura K., Satoh Y., Okumura S., Nakagawa K., Tsuchiya E., Fukayama M., et al. Pulmonary adenocarcinomas with enteric differentiation: histologic and immunohistochemical characteristics compared with metastatic colorectal cancers and usual pulmonary adenocarcinomas. *Am J Surg Pathol*. 2005. Vol. 29 (5). P. 660 – 5. DOI: 10.1097/01.pas.0000160438.00652.8b.
61. Inoue K., A. Fry E. Aberrant expression of p16INK4a in human cancers – a new biomarker?. *Cancer Reports And Reviews*. 2018. Vol. 2(2). <https://doi.org/10.15761/crr.1000145>.
62. Ireland A.S., Micinski A.M., Kastner D.W., Guo B., Wait S.J., Spainhower K.B., Conley C.C., et al. MYC drives temporal evolution of small cell lung cancer subtypes by reprogramming neuroendocrine fate. *Cancer Cell*. 2020. Vol. 38. P. 60 – 78.

63. Ishibashi N., Maebayashi T., Aizawa T., Sakaguchi M., Nishimaki H., Masuda S. Correlation between the Ki – 67 proliferation index and response to radiation therapy in small cell lung cancer. *Radiation Oncology*, 2017. Vol. 12(1). <https://doi.org/10.1186/s13014-016-0744-1>
64. Ito T., Kudoh S., Ichimura T., Fujino K., Hassan W.A.M.A., Udaka N. Small cell lung cancer, an epithelial to mesenchymal transition (EMT) – like cancer: significance of inactive Notch signaling and expression of achaete – scute complex homologue 1. *Hum. Cell*. 2017. Vol. 30, 1 – 10.
65. Jha V., Sharma P., Mandal A. Utility of Cluster of Differentiation 5 and Cluster of Differentiation 117 Immunoprofile in Distinguishing Thymic Carcinoma from Pulmonary Squamous Cell Carcinoma: A Study on 1800 Nonsmall Cell Lung Cancer Cases. *Indian Journal Of Medical And Paediatric Oncology*. 2017. Vol. 38(04). P. 430 – 433. [https://doi.org/10.4103/ijmpo.ijmpo\\_148\\_16](https://doi.org/10.4103/ijmpo.ijmpo_148_16)
66. Jin Y., Ji H.. P66.03 The Functional Role of TGF –  $\beta$  Signaling in SCLC Heterogeneity and Metastasis. *Journal of Thoracic Oncology*. Vol. 16, Issue 10, Supplement, 2021, P. 1192 – 1193. ISSN 1556 – 0864, <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2021.08.679>.
67. Jordan N.V., Bardia A., Wittner B.S., Benes C., Ligorio M., Zheng Y., Yu M., Sundaresan T.K., Licausi J.A., Desai, R. HER2 expression identifies dynamic functional states within circulating breast cancer cells. *Nature*. 2016. Vol. 537, 102 – 106
68. Julka, P. K., Sharma, D. N., Madan, R., Mallick, S., Benson, R., Kunhi P, H., Gupta, S., & Rath, G. K. (2017). Patterns of care and survival among small cell lung cancer patients: Experience from a tertiary center in India. *Journal of the Egyptian National Cancer Institute*, 29(1), 47 – 51. <https://doi.org/10.1016/j.jnci.2016.10.001>
69. Kalemkerian GP, Akerley W, Bogner P, et al. Small cell lung cancer. *J Natl Comp Cancer Netw* 2016;37:783 – 96.

70. Koinis F., Kotsakis A., Georgoulas V. (2016). Small cell lung cancer (SCLC): no treatment advances in recent years. *Transl Lung Cancer Res*, 5(1). P.39 – 50 [http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2218 – 6751.2016.01.03](http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2218-6751.2016.01.03)
71. Keogh A.; Finn S.; Radonic T. Emerging Biomarkers and the Changing Landscape of Small Cell Lung Cancer. *Cancers*. 2022. Vol. 14. 3772. [https://doi.org/10.3390/ cancers14153772](https://doi.org/10.3390/cancers14153772)
72. Keyhanian K., Phillips W.J., Yeung B.S., Gomes M., Lo B., Sekhon H.S. Neuroendocrine differentiation distinguishes basaloid variant of lung squamous cell carcinoma. *Diagn Pathol*. 2022. Vol.17. P. 46 – 52.
73. Knelson EH, Patel SA, Sands JM. PARP inhibitors in small – cell lung cancer: rational combinations to improve responses. *Cancers*.. 2021. Vol. 13. P. 727 – 35. doi: 10.3390/cancers13040727
74. König K, Meder L, Kröger C, Diehl L, Florin A, Rommerscheidt – Fuss U, et al. Loss of the Keratin Cytoskeleton Is Not Sufficient to Induce Epithelial Mesenchymal Transition in a Novel KRAS Driven Sporadic Lung Cancer Mouse Model. *PLoS ONE*. 2013. Vol. 8 (3). e57996. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057996>
75. Krebs A.M., Mitschke J., Lasierra Losada M., Schmalhofer O., Boerries M., Busch H., Boettcher M., et al. The EMT – activator Zeb1 is a key factor for cell plasticity and promotes metastasis in pancreatic cancer. *Nat. Cell Biol*. 2017. Vol. 19. P. 518 – 525.
76. Krohn A, Ahrens T, Yalcin A, Plönes T, Wehrle J, Taromi S, Wollner S, et al. Tumor cell heterogeneity in Small Cell Lung Cancer (SCLC): phenotypical and functional differences associated with Epithelial – Mesenchymal Transition (EMT) and DNA methylation changes. *PLoS One*. 2014 Jun 24. Vol. 9(6):e100249. doi: 10.1371/journal.pone.0100249. PMID: 24959847; PMCID: PMC4069054.
77. Krug LM, Pietanza MC, Kris MG, et al. Small cell and other neuroendocrine tumors of the lung. In: DeVita VT, Lawrence TS, Rosenberg SA. (eds). *DeVita, Hellman and Rosenberg’s Cancer, Principle and Practice of Oncology*,

9th edn. Wolters Kluwer; Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, 2011, pp 848 – 870.

78. Laddha SV, da Silva EM, Robzyk K, et al. Integrative genomic characterization identifies molecular subtypes of lung carcinoids. *Cancer Res.* 2019. Vol. 79. P. 4339 – 4347.

79. Leonetti A, Facchinetti F, Minari R, Cortellini A, Rolfo C, Giovannetti E, et al. Notch pathway in small – cell lung cancer: from preclinical evidence to therapeutic challenges. *Cellular Oncology.* 2019. Vol. 42 (3). P. 261 – 73.

80. Leslie, K., & Wick, M. (2018). *Practical Pulmonary Pathology: A Diagnostic Approach (Third Edition)* (pp. 412 – 416). Elsevier.

81. Liu L., Wei J., Teng F., Zhu Y., Xing P., Zhang J., Guo Y. et al. Clinicopathological features and prognostic analysis of 247 small cell lung cancer with limited – stage after surgery. *Human pathology*, 2021. Vol. 108. P. 84 – 92. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2020.11.007>.

82. Llombart – Bosch A, Machado I, Navarro S, et al. Histological heterogeneity of Ewing’s sarcoma/PNET: an immunohistochemical analysis of 415 genetically confirmed cases with clinical support. *Virchows Arch.* 2009. Vol. 455. P. 397 – 411.

83. Lok B.H., Gardner E.E., Schneeberger V.E. PARP inhibitor activity correlates with SLFN11 expression and demonstrates synergy with temozolomide in small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2017. Vol. 23. P. 523 – 35.

84. Lokuhetty D (2021), WHO Classification of Tumours Editorial Board. Thoracic tumours. (5th ed.; vol. 5) (pp. 29 – 36, 139 – 143)Lyon (France): International Agency for Research on Cancer. <https://publications.iarc.fr/595>

85. Low M., Ben – Or S. Thoracic Surgery in Early – Stage Small Cell Lung Cancer. *Thoracic surgery clinics*, 2018. Vol. 28(1). P. 9 – 14. <https://doi.org/10.1016/j.thorsurg.2017.08.003>

86. Lozano R, Naghavi M, Foreman K. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012. Vol. 380.P. 2095 – 128.
87. Lucchi M, Mussi A, Fontanini G, Faviana P, Ribechini A, Angeletti CA. Small cell lung carcinoma (SCLC): the angiogenic phenomenon. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2022. Vol. 21. P. 1105 – 10. doi: 10.1016/S1010 – 7940(02)00112 – 4
88. Maheswaran S, Sequist LV, Nagrath S, Ulkus L, Brannigan B, Collura CV, et al. Detection of mutations in EGFR in circulating lung – cancer cells. *N Engl J Med*. 2008. Vol. 359(4). P. 366 – 377. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa0800668>
89. Marconi GD, Fonticoli L, Rajan TS, Pierdomenico SD, Trubiani O, Pizzicannella J, Diomede F. Epithelial – Mesenchymal Transition (EMT): The Type – 2 EMT in Wound Healing, Tissue Regeneration and Organ Fibrosis. *Cells*. 2021. Vol. 10(7). P. 1587. doi: 10.3390/cells10071587. PMID: 34201858; PMCID: PMC8307661.
90. Matsui, S., Haruki, T., Oshima, Y., Kidokoro, Y., Sakabe, T., Umekita, Y., & Nakamura, H. High mRNA expression of POU2F3 in small cell lung cancer cell lines predicts the effect of lurbinectedin. *Thoracic cancer*. 2022. Vol. 13 (8). P. 1184 – 1192. <https://doi.org/10.1111/1759 – 7714.14382>
91. Megyesfalvi, Z., Barany, N., Lantos, A., Valko, Z., Pipek, O., Lang, C., Schwendenwein, A., et al. Expression patterns and prognostic relevance of subtype – specific transcription factors in surgically resected small – cell lung cancer: an international multicenter study. *The Journal of pathology*. 2022. Vol. 257(5). P. 674 – 686. <https://doi.org/10.1002/path.5922>
92. McColl K. , Wildey G. , Sakre N., et al. Reciprocal expression of INSM1 and YAP1 defines subgroups in small cell lung cancer. *Oncotarget*. 2017. Vol 8. P. 73745 – 73756

93. Mollaoglu G. , Guthrie M.R., Böhm S., et al. MYC drives progression of small cell lung cancer to a variant neuroendocrine subtype with vulnerability to Aurora kinase inhibition. *Cancer Cell*. 2017. Vol. 31. P. 270 – 285
94. Murali AN, Radhakrishnan V, Ganesan TS, Rajendranath R, Ganesan P, Selvaluxmy G, Swaminathan R, et al. *J Glob Oncol*. 2017. Vol. 3(5). P. 459 – 468.
95. Myers DJ, Wallen JM. Lung Adenocarcinoma. [Updated 2021 Sep 10]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan – . Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519578/>
96. Nakazawa, K., Kurishima, K., Tamura, T., Kagohashi, K., Ishikawa, H., Satoh, H., Hizawa, N. Specific organ metastases and survival in small cell lung cancer. *Oncology letters*. 2012 Vol. 4(4). P. 617 – 620. <https://doi.org/10.3892/ol.2012.792>
97. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncolog: Small Cell Lung Cancer Version 1.2021 (Accessed August 19, 2020).
98. Network NCC. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: Small Cell Lung Cancer (2019V1).[Internet]. 2018; [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/default.aspx#sclc](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/default.aspx#sclc). (Accessed Feb. 2022).
99. Nicholson SA, Beasley MB, Brambilla E. et al. Small cell lung carcinoma (SCLC): a clinicopathologic study of 100 cases with surgical specimens. *Am J Surg Pathol* 2002. Vol. 26. P. 1184 – 1197.
100. Nevo S., Kadouri N., Abramson J. Tuft cells: from the mucosa to the thymus. *Immunol Lett*, 2019. Vol. 210. P. 1 – 9.
101. Nicholson A., Chansky K., Crowley J., Beyruti R., Kubota K., Turrisi A. et al. The International Association for the Study of Lung Cancer Lung Cancer Staging Project: Proposals for the Revision of the Clinical and Pathologic Staging of Small Cell Lung Cancer in the Forthcoming Eighth Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *Journal of thoracic oncology*. 2016. Vol. 11 (3). P. 300 – 311. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtho.2015.10.008>

102. Nilsson RJA, Karachaliou N., Berenguer J., Gimenez – Capitan A., Schellen P., Teixido C., et al. Rearranged EML4 – ALK fusion transcripts sequester in circulating blood platelets and enable blood – based crizotinib response monitoring in non – small – cell lung cancer. *Oncotarget*. United States. 2016. Vol. 7(1). P. 1066 – 75.
103. Onn A., Vaporciyan A., Chang J., Komaki R., Roth J., Herbst R. Cancer of the lung. In: Kufe DW, Bast RC Jr, Hait WN, et al, eds. *Cancer medicine*. Hamilton, Ont, Canada. American Association for Cancer Research. 2006. Vol. 3. P. 1179 – 1224
104. Panchy, N., Watanabe, K., and Hong, T. (2021). Interpretable, Scalable, and Transferrable Functional Projection of Large – Scale Transcriptome Data Using Constrained Matrix Decomposition. *Frontiers in Genetics*. Vol. 12. P. 1555.
105. Panchy N., Watanabe K., Takahashi M., Willems A., and Hong T. Comparative singlecell transcriptomes of dose and time dependent epithelial – mesenchymal spectrums. *NAR Genomics and Bioinformatics*. 2022. Vol. 4. lqac072. [10.1093/nargab/lqac072](https://doi.org/10.1093/nargab/lqac072).
106. Pearsall S.M., Humphrey S., Revill M., et al. The rare YAP1 subtype of SCLC revisited in a biobank of 39 circulating tumor cell patient derived explant models: a brief report. *J Thorac Oncol*. 2020. Vol. 15. P. 1836 – 1843.
107. Pelosi G., Masullo M., Leon M., Veronesi G., Spaggiari L., & Pasini F. et al. CD117 immunoreactivity in high – grade neuroendocrine tumors of the lung: a comparative study of 39 large – cell neuroendocrine carcinomas and 27 surgically resected small – cell carcinomas. *Virchows Archiv*. 2004. Vol. 445(5). P. 449 – 455. <https://doi.org/10.1007/s00428-004-1106-1>
108. Pelosi G., Rindi G., Travis W., Papotti M. Ki – 67 Antigen in Lung Neuroendocrine Tumors: Unraveling a Role in Clinical Practice. *Journal Of Thoracic Oncology*. 2014. Vol. 9 (3). P. 273 – 284. <https://doi.org/10.1097/jto.0000000000000092>

109. Pelosi G., Rodriguez J., Viale G., et al. Typical and atypical pulmonary carcinoid tumor overdiagnosed as small – cell carcinoma on biopsy specimens: a major pitfall in the management of lung cancer patients. *Am J Surg Pathol* 2005. Vol. 29. P. 179 – 187.
110. Poirier J.T., Gardner E.E., Connis N., et al. DNA methylation in small cell lung cancer defines distinct disease subtypes and correlates with high expression of EZH2. *Oncogene*. 2015. Vol.34. P. 5869 – 5878.
111. Poirier J.T., George J., Owonikoko T.K., et al. New approaches to SCLC therapy: from the laboratory to the clinic. *J Thorac Oncol*. 2020. Vol. 15. Vol. 520 – 540.
112. Pore M., Meijer C., de Bock G.H., Boersma – van Ek. W., Terstappen L.W., Groen H.J., Timens W., et al. Cancer stem cells, epithelial to mesenchymal markers, and circulating tumor cells in small cell lung cancer. *Clin Lung Cancer* 2016. Vol. 17. P. 535 – 542
113. Punnoose EA, Atwal S, Liu W, Raja R, Fine BM, Hughes BGM, et al. Evaluation of circulating tumor cells and circulating tumor DNA in non – small cell lung cancer: association with clinical endpoints in a phase II clinical trial of pertuzumab and erlotinib. *Clin Cancer Res*. United States. 2012. Vol. 18(8). P. 2391 – 401.
114. Qi, J., Zhang, J., Liu, N., Zhao, L., Xu, B. Prognostic Implications of Molecular Subtypes in Primary Small Cell Lung Cancer and Their Correlation With Cancer Immunity. *Frontiers in oncology*. 2022. Vol. 12, 779276. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.779276>
115. Qu S., Fetsch P., Thomas, A., Pommier Y., Schrump D. S., Miettinen M. M., Chen H. Molecular Subtypes of Primary SCLC Tumors and Their Associations With Neuroendocrine and Therapeutic Markers. *Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer*. 2022. Vol. 17(1). P. 141 – 153. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2021.08.763>

116. Raso M., Bota – Rabassedas N., Wistuba,I. Pathology and Classification of SCLC. Cancers. 2021. Vol. 13(4). P. 820. <https://doi.org/10.3390/cancers13040820>
117. Reclusa P., Sirera R., Araujo A., Giallombardo M., Valentino A., Sorber L., et al. Exosomes genetic cargo in lung cancer: a truly Pandora’s box. Transl lung cancer Res. China. 2016. Vol. 5(5). P. 483 – 9.
118. Ready N.E., Dudek A.Z., Pang H.H., Hodgson L.D., Graziano S.L., Green M.R., et al. Cisplatin, irinotecan, and bevacizumab for untreated extensive – stage small – cell lung cancer: CALGB 30306, a phase II study. J Clin Oncol. 2011. 29:4436 – 41. doi: 10.1200/JCO.2011.35.6923
119. Rekhtman N. Lung neuroendocrine neoplasms: recent progress and persistent challenges. Mod Pathol. 2022. Vol. 35. P. 36 – 50.
120. Rekhtman N., Pietanza M.C., Hellmann M.D., et al. Nextgeneration sequencing of pulmonary large cell neuroendocrine carcinoma reveals small cell carcinoma – like and non – small cell carcinoma – like subsets. Clin Cancer Res. 2016. Vol. 22. P. 3618 – 3629.
121. Rolfo C., Castiglia M., Perez A., Reclusa P., Pauwels P., Sober L., et al. Liquid Biopsy in Non – Small Cell Lung Cancer (NSCLC). Current Clinical Pathology. 2017. Vol. 33. P. 103 – 15.
122. Rudin C. M., Brambilla E., Faivre – Finn C., Sage, J. Small – cell lung cancer. Nature reviews. Disease primers. 2021. Vol. 7 (1). P. 3. <https://doi.org/10.1038/s41572 – 020 – 00235 – 0>
123. Rudin C.M., Poirier J.T., Byers L.A., et al. Molecular subtypes of small cell lung cancer: a synthesis of human and mouse model data. Nat Rev Cancer. 2019. Vol. 19. P. 289 – 297.
124. Rudin C.M., Poirier J.T. Small – Cell Lung Cancer in 2016: Shining Light on Novel Targets and Therapies. Nat Rev Clin Oncol . 2017. Vol. 14(2). P. 75 – 6. doi: 10.1038/nrclinonc.2016.203

125. Sabari J.K., Lok B.H., Laird J.H., Poirier J.T., Rudin C.M. Unravelling the biology of SCLC: implications for therapy. *Nat Rev Clin Oncol*. 2017. Vol. 14. P. 549 – 61.

126. Sáez – Ayala M., Montenegro M.F., Sánchez – del – Campo L., Fernández – Pérez M.P., Chazarra S., Freter R., Middleton M., et al. Directed phenotype switching as an effective antimelanoma strategy. *Cancer Cell* . 2013. Vol. 24. P. 105 – 119.

127. Sakata Y., Inaba Y., Kunimoto K., Kaminaka C., Yamamoto Y., Iwahashi Y., Murata S. I., Asamura S., Jinnin M. The clinical significance of cytokeratin 20 staining pattern in Merkel cell carcinoma. *Drug discoveries & therapeutics*. 2021. Vol. 15(3). P. 162 – 165. <https://doi.org/10.5582/ddt.2021.01043>

128. Salven P., Ruotsalainen T., Mattson K., Joensuu H. High pre – treatment serum level of vascular endothelial growth factor (VEGF) is associated with poor outcome in small – cell lung cancer. *Int J Cancer*. 1998. Vol. 79. P. 144 – 6. doi: 10.1002/(sici)1097 – 0215(19980417)79:2<144::aid – ijc8>3.0.co;2 – t

129. Sandra Ortiz – Cuaran, Aurélie Swalduz, Jean – Philippe Foy, Solène Marteau, Anne – Pierre Morel, Frédérique Fauvet, Geneviève De Souza, et al. Epithelial – to – mesenchymal transition promotes immune escape by inducing CD70 in non – small cell lung cancer. *European Journal of Cancer*. 2022. Vol. 169. P. 106 – 122.

130. Sandfeld – Paulsen B, Aggerholm – Pedersen N, Bæk R, Jakobsen KR, Meldgaard P, Folkersen BH, et al. Exosomal proteins as prognostic biomarkers in non – small cell lung cancer. *Mol Oncol*. 2016. Vol. 10 (10). P. 1595 – 602. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1574789116301235>

131. Sarah M. Groves, Nicholas Panchy, Darren R. Tyson, Leonard A. Harris, Vito Quaranta, Tian Hong. Involvement of epithelial – mesenchymal transition genes in small cell lung cancer phenotypic plasticity *bioRxiv*. 2022.09.09.507376; doi: <https://doi.org/10.1101/2022.09.09.507376>

132. Schneider BJ, Kalemkerian GP. Personalized therapy of small cell lung cancer. *Adv Exp Med Biol*. 2016. Vol. 890. P. 149 – 74. doi: 10.1007/978 – 3 – 319 – 24932 – 2\_9
133. Schulze A., Evers G., Kerkhoff A., Mohr M., Schliemann C., Berdel W., Schmidt L. Future Options of Molecular – Targeted Therapy in Small Cell Lung Cancer. *Cancers*. 2019. Vol. 11(5). P. 690. <https://doi.org/10.3390/cancers11050690>
134. Schwendenwein A., Megyesfalvi Z., Barany N., Valko Z., Bugyik E., Lang C., Ferencz B., et al. Molecular profiles of small cell lung cancer subtypes: Therapeutic implications. *Mol. Ther. – Oncolytics*. 2021. Vol. 20. P. 470 – 483.
135. Seute T, Leffers P, Wilmink JT, ten Velde GP, Twijnstra A. Response of asymptomatic brain metastases from small – cell lung cancer to systemic first – line chemotherapy. *J Clin Oncol*. 2006. Vol. 24(13). P. 2079 – 2083.
136. Shaffer S.M., Dunagin M.C., Torborg S.R., Torre E.A., Emert B., Krepler C., Beqiri M., et al. Rare cell variability and drug – induced reprogramming as a mode of cancer drug resistance. *Nature*. 2017. Vol. 546. P. 431 – 446.
137. Shepherd F.A., Crowley J., Van Houtte P., Postmus P.E., Carney D., Chansky K., et al. The International Association for the Study of Lung Cancer lung cancer staging project: proposals regarding the clinical staging of small cell lung cancer in the forthcoming (seventh) edition of the tumor, node, metastasis classification for lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2007. Vol. 2(12). P. 1067 – 77.
138. Shue YT, Lim JS, Sage J. Tumor heterogeneity in small cell lung cancer defined and investigated in pre – clinical mouse models. *Transl Lung Cancer Res*. 2018. Vol. 7(1). P. 21 – 31. doi: 10.21037/tlcr.2018.01.15. PMID: 29535910; PMCID: PMC5835592.
139. Shuifang C., Zeying Z., Jianli, Z. The effects of the combination of imatinib and crizotinib on small cell lung cancer cells expressing c – Met and c – Kit. *Int J Clin Exp Med*. 2019. Vol. 12(5). P. 4870 – 4878. Retrieved from <http://www.ijcem.com/files/ijcem0082071.pdf>

140. Simpson K.L., Stoney R., Frese K.K., et al. A biobank of small cell lung cancer CDX models elucidates inter – and intratumoral phenotypic heterogeneity. *Nat Cancer*. 2020. Vol. 1. P.437 – 451.
141. Society AC. Key Statistics for Small Cell Lung Cancer. [Internet]. 2018; <https://www.cancer.org/cancer/small-cell-lung-cancer/about/key-statistics.html>. (Accessed February 14, 2022).
142. Skov B.G., Holm B., Erreboe A., et al. ERCC1 and Ki67 in small cell lung carcinoma and other neuroendocrine tumors of the lung: distribution and impact on survival. *J Thorac Oncol*. 2010. Vol. 5. P. 453 – 459.
143. Song Y., Fu Y., Xie Q., Zhu B., Wang J., Zhang B. Anti – angiogenic agents in combination with immune checkpoint inhibitors: a promising strategy for cancer treatment. *Front Immunol*. 2020. Vol. 11. P. 1956. doi: 10.3389/fimmu.2020.01956
144. Song J.M., Im J., Nho R.S., Han Y.H., Upadhyaya P., Kassie F. Hyaluronan – CD44/RHAMM interaction – dependent cell proliferation and survival in lung cancer cells. *Mol Carcinog*. 2019. Vol. 58(3). P. 321 – 333. doi:10.1002/mc.22930
145. Spigel DR, Townley PM, Waterhouse DM, Fang L, Adiguzel I, Huang JE, et al. Randomized phase II study of bevacizumab in combination with chemotherapy in previously untreated extensive – stage small – cell lung cancer: results from the SALUTE trial. *J Clin Oncol*. 2011. Vol. 29. P. 2215 – 22. doi: 10.1200/JCO.2010.29.3423
146. Stewart C.A., Gay C.M., Xi Y., Sivajothi S., Sivakamasundari V., Fujimoto J., Bolisetty M., et al. Single – cell analyses reveal increased intratumoral heterogeneity after the onset of therapy resistance in small – cell lung cancer. *Nature Cancer*. 2020. Vol. 1. P. 423 – 436.
147. Sung C., Park CK., Kim SH. Classification of epithelial – mesenchymal transition phenotypes in esophageal squamous cell carcinoma is

strongly associated with patient prognosis. *Mod Pathol* . 2011. Vol. 24. P. 1060 – 1068. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2011.59>

148. Sutherland K.D., Ireland A.S., Oliver T.G. Killing SCLC: insights into how to target a shapeshifting tumor. *Genes Dev*. 2022. Vol. 36. P. 241 – 258.

149. Suda K., Tomizawa K., Fujii M., Murakami H., Osada H., Maehara Y., Yatabe Y., Sekido Y., Mitsudomi T. Epithelial to mesenchymal transition in an epidermal growth factor receptor – mutant lung cancer cell line with acquired resistance to erlotinib. *Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer*. 2011. Vol. 6(7). P. 1152 – 1161. <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e318216ee52>

150. Švajdler M., Mezencev R., Ondič O., Šašková B., Mukenšnábl P., Michal, M. P16 is a useful supplemental diagnostic marker of pulmonary small cell carcinoma in small biopsies and cytology specimens. *Annals Of Diagnostic Pathology*. 2018. Vol. 33, P. 23 – 29. <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2017.11.008>

151. Tamminga M., Groen H., Hiltermann T. Circulating tumor cells as a liquid biopsy in small cell lung cancer, a future editorial. *Translational Cancer Research*. 2017. Vol. 6(S2). P. 353 – 6.

152. Thunnissen E., Borczuk A.C., Flieder D.B., et al. The use of immunohistochemistry improves the diagnosis of small cell lung cancer and its differential diagnosis. An international reproducibility study in a demanding set of cases. *J Thorac Oncol*. 2017. Vol. 12. P. 334 – 346

153. The Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular pro – filing of lung adenocarcinoma. *Nature*. 2014. Vol. 511 (7511). P. 543 – 50. DOI: 10.1038/nature13385

154. Torre L.A., Bray F., Siegel R.L., Ferlay J., Lortet – Tieulent J., Jemal A. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*. 2015. Vol. 65(2). P. 87 – 108. DOI: 10.3322/caac.21262

155. Travis W. D. Update on small cell carcinoma and its differentiation from squamous cell carcinoma and other non – small cell carcinomas. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology*. 2012. Inc, 25 Suppl 1, S18 – S30. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2011.150>.
156. Taniguchi H., Sen T., Rudin C.M. Targeted therapies and biomarkers in small cell lung cancer. *Front Oncol*. 2020. Vol. 10. P. 741 – 750.
157. Tanno S., Ohsaki Y., Nakanishi K., Toyoshima E., Kikuchi K. Human small cell lung cancer cells express functional VEGF receptors, VEGFR – 2 and VEGFR – 3. *Lung Cancer*. 2004. Vol.46. P. 11 – 9. doi: 10.1016/j.lungcan.2004.03.006
158. Tas F., Duranyildiz D., Oguz H., Camlica H., Yasasever V., Topuz E. Serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and interleukin – 8 (IL – 8) levels in small cell lung cancer. *Cancer Invest*. 2006. Vol. 24. P. 492 – 6. doi: 10.1080/07357900600814771
159. Thorsson V., Gibbs D.L., Brown S.D., Wolf D., Bortone D.S., Ouyang T.H., et al. The immune landscape of cancer. *Immunity*. 2018. Vol. 48. P. 812 – 30.e814. doi: 10.1016/j.immuni.2018.03.023
160. Travis W. (2015). WHO classification of tumours of the lung, pleura, thymus and heart (4th edition).(pp.9 – 152) Lyon: Internat. Agency for Research on Cancer.
161. Travis W., Brambilla E., Nicholson A., Yatabe Y., Austin J., Beasley M., et al. The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors. *Journal of Thoracic Oncology*. 2015. Vol. 10(9). P. 1243 – 60.
162. Tsuta K., Liu D.C., Kalhor N., et al. Using the mitosis-specific marker anti – phosphohistone h3 to assess mitosis in pulmonary neuroendocrine carcinomas. *Am J Clin Pathol* 2011. Vol. 136. P. 252 – 259.

163. Varlotto J.M., Medford – Davis L.N., Recht A., et al. Should large cell neuroendocrine lung carcinoma be classified and treated as a small cell lung cancer or with other large cell carcinomas? *J Thorac Oncol.* 2011. Vol. 6. P. 1050 – 1058.
164. Vollmer R.T., Ogden L., Crissman J.D. Separation of small – cell from non – small – cell lung cancer. The Southeastern Cancer Study Group pathologists' experience. *Arch Pathol Lab Med.* 1984. Vol. 108. P. 792 – 794.
165. Wang D., Chen D., Zhang C., Chai M., Guan M., Wang Z., Wei Y., et al. Analysis of the relationship between Ki – 67 expression and chemotherapy and prognosis in advanced non – small cell lung cancer. *Translational cancer research.* 2020. Vol. 9(5). P. 3491 – 3498. <https://doi.org/10.21037/tcr.2020.03.72>
166. Wang D., Ye W., Shi Q. Prognostic Value of Ki – 67 Expression in Advanced Lung Squamous Cell Carcinoma Patients Treated with Chemotherapy. *Cancer Manag Res.* 2021. Vol. 13. P. 6429 – 6436 <https://doi.org/10.2147/CMAR.S326189>
167. Wang L., Dou X., Liu T., Lu W., Ma Y., Yang Y. Tumor size and lymph node metastasis are prognostic markers of small cell lung cancer in a Chinese population. *Medicine.* 2018. Vol. 97(31). e11712. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000011712>
168. Wang W., Song Z., Zhang Y. A comparison of ddPCR and ARMS for detecting EGFR T790M status in ctDNA from advanced NSCLC patients with acquired EGFR – TKI resistance. *Cancer Med.* 2017. Vol. 6(1). P. 154 – 62.
169. Wang Y., Guo Y., Lin H., Zhang L., Zhang H., Wang Q., et al. Expression of CD44 in Tumor Tissue and Serum of Small Cell Lung Cancer and Its Clinical Prognostic Significance. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi.* 2021. Vol. 24(8). P. 583 – 590. doi: 10.3779/j.issn.1009 – 3419.2021.104.10.
170. Wang Y., Wu Y., Li J., Li J., Che G. Clinicopathological and prognostic significance of thyroid transcription factor – 1 expression in small cell lung cancer: A systemic review and meta – analysis. *Pathology, research and practice.* 2019. Vol. 215(12). P. 152706. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2019.152706>

171. Watanabe K., Panchy N., Noguchi S., Suzuki H., Hong T. Combinatorial perturbation analysis reveals divergent regulations of mesenchymal genes during epithelial – tomesenchymal transition. *npj Syst Biol Appl.* 2019. Vol. 5. P. 21 – 17.
172. Weissferdt A. *Diagnostic Thoracic Pathology.* Springer; Cham, Switzerland: 2020. Neuroendocrine tumors of the lung.
173. Wender R., Fontham E., Barrera E, et al. American Cancer Society lung Cancer screening guidelines. *CA Cancer J Clin.* 2013. Vol. 63. P. 106 – 117.
174. Wohlhieter CA, Richards AL, Uddin F, et al. Concurrent mutations in STK11 and KEAP1 promote ferroptosis protection and SCD1 dependence in lung cancer. *Cell Rep.* 2020. Vol. 33:108444.
175. Wu E., Chu P.G., Weiss L.M. Cytokeratin 7 and cytokeratin 20 expression in epithelial neoplasms: a survey of 435 cases. *Mod Pathol* 2000. Vol. 13. P.962 – 972.
176. Wooten D.J., Groves S.M., Tyson D.R., et al. Systems – level network modeling of small cell lung cancer subtypes identifies master regulators and destabilizers. *PLoS Comput Biol.* 2019. Vol. 15. Article e1007343
177. Xhemalaj D., P. Kapisyzi,<sup>1</sup> S. Bala, H. Hafizi,<sup>1</sup> F. Gradica,<sup>2</sup> E. Hila, et al. Clinico – Pathological Features of Small Cell Lung Cancer in Albanian Patients *Journal of Thoracic Oncology* . 2019. Vol. 14 No. 10S. P. 320 – 335.
178. Xie Q., Chu H., Yi J., Yu H., Gu T., Guan Y., et al. Identification of a prognostic immune – related signature for small cell lung cancer. *Cancer Med.* 2021. Vol. 10. P. 9115 – 28. doi: 10.1002/cam4.4402
179. Xu Long MD, Zhang Guanzhong MD, Song Shuxi MS, Zheng Zhendong MD.\* Surgery for small cell lung cancer. *Medicine.* 2019. Vol. 98, Iss. 40. P. e17214 doi: 10.1097/MD.00000000000017214
180. Xu J., Liu P., Da J., Hao J., Peng W., Sun G. Prognostic value of Ki – 67 in stage I non – small – cell lung cancer: A meta – analysis involving 1931

patients. Pathology, research and practice. 2019. Vol. 215(5). P. 855 – 860.  
<https://doi.org/10.1016/j.prp.2019.02.020>

181. Yakovtsova I., Yanchevskiy O., Chertenko T., Oliyinyk A. Immunohistochemical diagnosis and prognosis of small cell lung cancer: the search for new strategies. Scientific Journal «ScienceRise: Medical Science. 2022. №1(46). 140 – 148.

182. Yamada Y., Simon – Keller K., Belharazem – Vitacolonna D., et al. A tuft cell – like signature is highly prevalent in thymic squamous cell carcinoma and delineates new molecular subsets among the major lung cancer histotypes. J Thorac Oncol. 2021. Vol. 16. P. 1003 – 1016.

183. Yang C. J., Chan D. Y., Shah S. A., Yerokun B. A., Wang X. F., D'Amico T. A., Berry M. F., Harpole D. H. Long – term Survival After Surgery Compared With Concurrent Chemoradiation for Node – negative Small Cell Lung Cancer. Annals of surgery. 2018. Vol. 268(6). P. 1105 – 1112.  
<https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000002287>

184. Yang S., Zhang Z., Wang Q. Emerging therapies for small cell lung cancer. Journal Of Hematology & Oncology. 2019. Vol. 12(1).  
<https://doi.org/10.1186/s13045 – 019 – 0736 – 3>

185. Yuan T., Sun S., Cao Z., Feng X., Gao Y. Prognostic immunohistochemical markers for small cell lung cancer: A review. Pathology, research and practice. 2021. Vol. 217. 153311.  
<https://doi.org/10.1016/j.prp.2020.153311>

186. Yu Lian, Xu Jianlin, Qiao Rong, Zhong Hua, Han Baohui, Zhong Runbo. Patterns of Recurrence and Survival Rate After Complete Resection of Pathological Stage N2 Small – Cell Lung Cancer. Frontiers in Oncology. 2021. Vol. 11. 11p.

187. Zelen M. Keynote address on biostatistics and data retrieval. Cancer Chemother Rep 3. 1973. Vol. 4. P. 31 – 42.

188. Zhang C., Shang X., Sun J., Li Z., Lin J., Zhao C., Wang H. Clinicopathological Difference and Survival Impact of Patients with c – SCLC and SCLC. *Int J Gen Med.* 2021. Vol. 14. P. 6899 – 6906 <https://doi.org/10.2147/IJGM.S332725>
189. Zhang T., Guo L., Creighton C. J., Lu Q., Gibbons D. L., Yi E. S., Deng B., Molina J. R., Sun Z., Yang P., Yang, Y. A genetic cell context – dependent role for ZEB1 in lung cancer. *Nature communications.* 2016. Vol. 7. 12231. <https://doi.org/10.1038/ncomms12231>
190. Zhang W., Girard L., Zhang Y. – A., Haruki T., Papari – Zareei M., Stastny V., Ghayee H.K., et al. Small cell lung cancer tumors and preclinical models display heterogeneity of neuroendocrine phenotypes. *Transl. Lung Cancer Res.* 2018. Vol. 7. P. 32 – 49
191. Zhao X., Kallakury B., Chahine J. J., Hartmann D., Zhang Y., Chen Y., Zhang H., et al. Surgical Resection of SCLC: Prognostic Factors and the Tumor Microenvironment. *Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer.* 2019. Vpl. 14(5). P. 914 – 923. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2019.01.019>

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

*Видання, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:*

1. Яковцова І. І., Янчевський О. В., Чертенко Т. Н., Долгая О. В., Олійник А. Є. «Молекулярні характеристики раків легень та сучасні уявлення щодо їх молекулярно – біологічної діагностики». Вісник проблем біології і медицини. 2019; Вип. №3 (152): 41-45. *(Здобувач проаналізував дані літератури, визначив проблемні питання).*

2. «Immunohistochemical diagnosis and prognosis of small cell lung cancer: the search for new strategies» Irina Yakovtsova, Olexandr Yanchevskiy, Taisiia Chertenko, Andriy Kis, Andriy Oliyinyk. Scientific Journal «ScienceRise: Medical Science», 2022; Вип. №1 (46): 31-36. *(Здобувач проаналізував звітну документацію, узагальнив одержані дані, провів імуногістохімічне дослідження сформулював висновки та підготував статтю до друку).*

3. Янчевський О.В. «Особливості та стадіювання епітеліально-мезенхімальної трансформації дрібноклітинних раків легень». Вісник проблем біології і медицини. 2023; Вип.№1 (168): 352-359. *(Здобувач провів імуногістохімічне дослідження, обробив результати, зробив висновки).*

4. Яковцова І.І., Янчевський О.В. «Імуногістохімічні критерії прогнозу епітеліально-мезенхімальної трансформації та стовбурового фенотипу дрібноклітинних раків легень». Східноєвропейський журнал внутрішньої та сімейної медицини. 2023; Вип. №1 (20): 92-96. *(Здобувач провів імуногістохімічне дослідження, обробив результати, зробив висновки).*

5. Яковцова І.І., Янчевський О.В. «Окремі клініко-морфологічні та імуногістохімічні критерії прогнозу дрібноклітинного раку легень».

Morphologia. 2022; T16 №4: 41-46. *(Здобувач провів імуногістохімічне дослідження, сформулював висновки, підготував статтю до друку).*

***Видання, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації***

1. Науково-практична конференція м. Стокгольм, Швеція, 15-17 січня 2023р. Innovation and prospects in modern science. «Особливості експресії та прогностичне значення CD44 в дрібноклітинних раках легень». С.125-130. *(Здобувачем проведено дослідження мікропрепаратів, проведено імуногістохімічне дослідження, оброблено результати, сформульовано висновки, підготовлені тези до друку).*

2. Науково-практична конференція м. Мадрид, Іспанія. 09.05-10.05.2023. Modern science: theoretical and practical view. «Діагностичне та прогностичне значення експресії TTF-1 та CD56 в дрібноклітинних раках легень». С.22-24. *(Здобувачем проведено дослідження мікропрепаратів, проведено імуногістохімічне дослідження, оброблено результати, сформульовано висновки, підготовлені тези до друку).*

ЗАТВЕРДЖУЮ

Генеральний директор  
КОМУНАЛЬНОГО НЕКОМЕРЦІЙНОГО  
ПІДПРИЄМСТВА «ОБЛАСНИЙ ЦЕНТР  
ОНКОЛОГІЇ»



В.М. Лихман

2023 р.

### АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): «Спосіб формулювання прогнозу для пацієнтів з дрібноклітинним раком легень».

2. **Ким і коли запропонований:** асп. Янчевський Олександр Валерійович (61176, м. Харків, вул. Ломосова, 58).

3. **Джерело інформації** (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): Янчевський Олександр Валерійович «МОЛЕКУЛЯРНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАКІВ ЛЕГЕНЬ ТА СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ЩОДО ЇХ МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ», "Вісник проблем біології і медицини 2019 – Вип. 3 (152)".

4. **Де і коли впроваджено:** КОМУНАЛЬНЕ НЕКОМЕРЦІЙНЕ ПІДПРИЄМСТВО «ОБЛАСНИЙ ЦЕНТР ОНКОЛОГІЇ».

5. **Форма впровадження:** гістологічне дослідження особливостей дрібноклітинних раків легень.

6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації** (п. 3): оптимізація прогнозування перебігу дрібноклітинного раку легень.

7. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Відповідальний(і) за впровадження

Завідувач патологоанатомічного  
відділення

І.П. Голич

03.03.2023  
(дата)

(підпис)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор



ДУ «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України»  
**МИКОЛА КРАСНОСЕЛЬСЬКИЙ**

» \_\_\_\_\_ 2023 р.

## АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): «Спосіб формулювання прогнозу для пацієнтів з дрібноклітинним раком легень».
- 2. Ким і коли запропонований:** асп. Янчевський Олександр Валерійович (61176, м. Харків, вул. Амосова, 58).
- 3. Джерело інформації** (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): Янчевський Олександр Валерійович «МОЛЕКУЛЯРНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАКІВ ЛЕГЕНЬ ТА СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ЩОДО ЇХ МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ, "Вісник проблем біології і медицини – 2019 – Вип. 3 (152)".
- 4. Де і коли введено:** Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України.
- 5. Форма впровадження:** Гістологічне дослідження особливостей дрібноклітинних раків легень.
- 6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3):** Оптимізація прогнозування перебігу дрібноклітинного раку легень.
- 7. Зауваження, пропозиції:** немає.

### Відповідальний за впровадження

Завідувачка лабораторії патоморфології  
ДУ «ІМРО НАМН України»

СВІТЛАНА ДАНИЛЮК

\_\_\_\_\_ (дата)

\_\_\_\_\_ (підпис)

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

**В.о. начальника**

**КП «Дніпропетровське обласне  
патолого-анатомічне бюро» ДОР»  
доцент Петро ГРИЦЕНКО**



\_\_\_\_\_ 2023 р.

### АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): «Спосіб формулювання прогнозу для пацієнтів з дрібноклітинним раком легенів».
- 2. Ким і коли запропонований:** асп. Янчевський Олександр Валерійович (61176, м. Харків, вул. Амосова, 58).
- 3. Джерело інформації** (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): Янчевський Олександр Валерійович «МОЛЕКУЛЯРНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАКІВ ЛЕГЕНЬ ТА СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ЩОДО ЇХ МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ, "Вісник проблем біології і медицини – 2019 – Вип. 3 (152)".
- 4. Де і коли впроваджено:** КП «Дніпропетровське обласне патолого-анатомічне бюро» ДОР».
- 5. Форма впровадження:** Гістологічне дослідження особливостей дрібноклітинного раку легень.
- 6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації** (п.3): Оптимізація прогнозування перебігу дрібноклітинного раку легень.
- 7. Зауваження, пропозиції:** немає.

**Відповідальний за впровадження**  
завідувач відділення загальної патології  
КП «ДОПАБ» ДОР»

\_\_\_\_\_ (дата)

Роман ЛІСУНЕНКО

\_\_\_\_\_ (підпис)

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

**Проректор**

**з науково-педагогічної роботи**

**Харківського національного  
університету імені В. Н. Каразіна**

**Антон ПАНТЕЛЕЙМОНОВ**



2023 р.

**АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ**

- 1. Найменування пропозиції** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): «Спосіб формулювання прогнозу для пацієнтів з дрібноклітинним раком легенів».
- 2. Ким і коли запропонований:** проф. І. І. Яковцова, асп. Янчевський Олександр Валерійович (61176, м. Харків, вул. Амосова, 58).  
**Джерело інформації** (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): Яковцова І.І., Янчевський О.В. Окремі клініко-морфологічні та імуногістохімічні критерії прогнозу дрібноклітинного раку легень, MORPHOLOGIA, 2022, Том 16, № 4, стор. 41.
- 3. Де і коли впроваджено:** кафедра загальної та клінічної патології медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна.
- 4. Результати застосування методу за період з грудня 2022 р. по січень 2023 р.:** Впровадження у навчальний процес на кафедрі загальної та клінічної патології медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна в лекційному курсі, при проведенні практичних занять зі студентами, лікарями-інтернами, клінічними ординаторами та аспірантами, а також у науково-дослідну роботу кафедри.
- 5. Форма впровадження:** Гістологічне дослідження особливостей дрібноклітинних раків легень.
- 6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3):** Поглиблення знань студентів, лікарів-інтернів, клінічних ординаторів та аспірантів з питань клініко-морфологічних та імуногістохімічних критеріїв прогнозу дрібноклітинного раку легень.
- 7. Зауваження, пропозиції:** немає.

**Відповідальний(і) за впровадження**

**професор, д. мед. н.**

завідувач кафедри

загальної та клінічної патології

Харківського національного

університету імені В. Н. Каразіна



Олена ПРОЦЕНКО

(дата)

(підпис)

ЗАТВЕРДЖУЮ



Проректор з наукової роботи  
Харківського національного  
медичного університету  
проф. Валерій М'ЯСОЄДОВ

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

## АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): «Спосіб формулювання прогнозу для пацієнтів з дрібноклітинним раком легенів».
- 2. Ким і коли запропонований:** проф. Яковцова І.І., аспірант Янчевський О.В. (61176, м. Харків, вул. Амосова, 58), 2022 р.
- 3. Джерело інформації** (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): Яковцова І.І., Янчевський О.В. Окремі клініко-морфологічні та імуногістохімічні критерії прогнозу дрібноклітинного раку легень. Morphologia, 2022, Том 16, № 4, стор. 41-46.
- 4. Де і коли впроваджено:** кафедра патологічної анатомії Харківського національного медичного університету, 2023 р.
- 5. Результати застосування методу за період з грудня 2022 р. по січень 2023 р.:** Впровадження у навчальний процес на кафедрі патологічної анатомії Харківського національного медичного університету в лекційному курсі, при проведенні практичних занять зі студентами, лікарями-інтернами, клінічними ординаторами та аспірантами, а також у науково-дослідну роботу кафедри.
- 6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3):** Використання результатів роботи в навчальному процесі та науково-дослідній роботі дозволяє поглибити знання студентів, лікарів-інтернів, клінічних ординаторів і аспірантів щодо клініко-морфологічних та імуногістохімічних критеріїв прогнозу дрібноклітинного раку легень.
- 7. Зауваження, пропозиції:** немає.

### Відповідальний(і) за впровадження

В.о. завідувача кафедри  
патологічної анатомії ХНМУ,  
доктор медичних наук, професор

Ірина СОРОКІНА

(підпис)

\_\_\_\_\_ (дата)



ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор КП «Полтавське обласне патологоанатомічне бюро»

Вадим УКРАЇНЕЦЬ



« \_\_\_\_\_ 2023 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): «Спосіб формулювання прогнозу для пацієнтів з дрібноклітинним раком легень».
2. **Ким і коли запропонований:** асп. Янчевський Олександр Валерійович (61176, м. Харків, вул. Амосова, 58).
3. **Джерело інформації** (методичні рекомендації, інформаційний лист, звіт про НДР, дисертація, монографія, з'їзди, конференції, семінари та ін.): Янчевський Олександр Валерійович «МОЛЕКУЛЯРНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАКІВ ЛЕГЕНЬ ТА СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ЩОДО ЇХ МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ, "Вісник проблем біології і медицини – 2019 – Вип. 3 (152)".
4. **Де і коли введено:** КП «Полтавське обласне патологоанатомічне бюро»
5. **Форма впровадження:** Гістологічне дослідження особливостей дрібноклітинних раків легень.
6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації** (п.3): Оптимізація прогнозування перебігу дрібноклітинного раку легень.
7. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Відповідальний(і) за впровадження  
Директор КП «ПОПАБ»

\_\_\_\_\_ (дата)



Онлайн сервіс створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

ПРОТОКОЛ

створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

Дата та час: 11:39:50 27.08.2023

Назва файлу з підписом: Дисертація Янчевський О.В. КЛІНІКО-МОРФОЛОГІЧНІ ТА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ.pdf.p7s  
Розмір файлу з підписом: 4.4 МБ

Перевірені файли:

Назва файлу без підпису: Дисертація Янчевський О.В. КЛІНІКО-МОРФОЛОГІЧНІ ТА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ.pdf  
Розмір файлу без підпису: 4.4 МБ

Результат перевірки підпису: Підпис створено та перевірено успішно. Цілісність даних підтверджено

Підписувач: Янчевський Олександр Валерійович

П.І.Б.: Янчевський Олександр Валерійович

Країна: Україна

РНОКПП: 3133609975

Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від Надавача): 11:39:47 27.08.2023

Сертифікат виданий: "Дія". Кваліфікований надавач електронних довірчих послуг

Серійний номер: 382367105294AF97040000006CA20A00308D6001

Тип носія особистого ключа: ЗНКІ криптомодуль ІІТ Гряда-301

Алгоритм підпису: ДСТУ-4145

Тип підпису: Кваліфікований

Тип контейнера: Підпис та дані в CMS-файлі (CAAdES)

Формат підпису: З повними даними ЦСК для перевірки (CAAdES-X Long)

Сертифікат: Кваліфікований