

DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.1.2024.32-43>
УДК: 616.24-006;577.21



Морфологічні та імуногістохімічні критерії прогнозу дрібноклітинних раків легень

Яковцова І.І.¹, <https://orcid.org/0000-0002-1027-9215>, e-mail: docpathomorph@gmail.com
Старіков В.І.¹, <https://orcid.org/0000-0001-9577-8760>, e-mail: Star.onco@i.ua
Янчевський О.В.², <https://orcid.org/0000-0002-1243-598X>, e-mail: yanchevskiyalex1985@gmail.com
Івахно І.В.¹, <https://orcid.org/0000-0002-5229-0068>, e-mail: igorv.ivakhno@gmail.com
Абдуллаєва А.Б.¹, <https://orcid.org/0009-0009-4417-1964>, ab.abdullaieva@knu.edu.ua
Мірзєбасов М.А.², <https://orcid.org/0000-0002-4287-8829>, e-mail: Mirzebasovmaksym@gmail.com

¹Харківській національній медичній університет
Міністерства охорони здоров'я України, Харків, Україна
²Державний заклад «Луганський державний медичний університет
Міністерства охорони здоров'я України», Рівне, Україна

Morphological and immunohistochemical prognostic criteria for small cell lung cancers

Yakovtsova I.I.¹, <https://orcid.org/0000-0002-1027-9215>, e-mail: docpathomorph@gmail.com
Starikov V.I.¹, <https://orcid.org/0000-0001-9577-8760>, e-mail: Star.onco@i.ua
Yanchevskiy O.V.², <https://orcid.org/0000-0002-1243-598X>, e-mail: yanchevskiyalex1985@gmail.com
Ivakhno I.V.¹, <https://orcid.org/0000-0002-5229-0068>, e-mail: igorv.ivakhno@gmail.com
Abdullaieva A.B.¹, <https://orcid.org/0009-0009-4417-1964>; e-mail: ab.abdullaieva@knu.edu.ua
Mirzebasov M.A.², <https://orcid.org/0000-0002-4287-8829>, e-mail: Mirzebasovmaksym@gmail.com

¹Kharkiv National Medical University
of the Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, Ukraine
²State Establishment «Luhansk State Medical University
of the Ministry of Health of Ukraine», Rivne, Ukraine

Ключові слова:

дрібноклітинний рак легень, епітеліально-мезенхімальна трансформація, прогноз.

Для кореспонденції:

Івахно Ігор Володимирович
Харківський національний медичний університет Міністерства охорони здоров'я України;
просп. Науки, буд. 4., м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: igorv.ivakhno@gmail.com

© Яковцова І.І., Старіков В.І.,
Янчевський О.В., Івахно І.В.,
Абдуллаєва А.Б., Мірзєбасов М.А.,
2024

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Незважаючи на накопичення великого обсягу знань щодо молекулярно-генетичних змін у раках легень, визначення ключових чинників онкогенезу та тригерних факторів, які сприяють метастазуванню та прогресії дрібноклітинного раку легень (ДКРЛ), досі не є повним. Наразі залишається актуальною проблема комплексної оцінки прогностичного значення молекулярно-генетичних змін, низки імуногістохімічних (ІГХ) маркерів, які використовуються для діагностики та прогнозування ДКРЛ, впливу процесів епітеліально-мезенхімальної трансформації (ЕМТ) на ризик розповсюдження пухлинного процесу та летального наслідку захворювання.

Мета роботи – удосконалення морфологічних критеріїв прогнозу перебігу ДКРЛ на підставі дослідження клініко-морфологічних та молекулярно-біологічних характеристик первинних пухлин з різною клінічною поведінкою та прогнозом.

Матеріали і методи. Матеріал був представлений даними аутопсії, а також хірургічно видаленими пухлинами у хворих із клінік м. Харкова. Сформовані дві групи дослідження: локалізовані та розповсюджені ДКРЛ (Л-ДКРЛ та Р-ДКРЛ), а також враховувався термін загальної виживаності (ЗВ) пацієнтів. ІГХ дослідження проводили з використанням таких маркерів: CD56, CD117, Ki-67, панцитокератин, Е-кадгерин, віментин, N-кадгерин, CD44. Було враховано стадію ЕМТ з визначенням коекспресії епітеліальних маркерів: панцитокератину і Е-кадгерину та мезенхімальних – віментину та N-кадгерину.

Результати та їх обговорення. Визначено, що до несприятливих критеріїв прогнозу слід відносити: появу експресії віментину в ракових клітинах, підвищений рівень експресії N-кадгерину, наявність ЕМТ та ЕМТ більше за 3 стадію (3–5 стадій). Високий рівень експресії Е-кадгерину та Ki-67 є сприятливими критеріями прогнозу. Мають обмежене прогностичне значення низка клініко-морфологічних ознак, дані гістологічного дослідження, експресія панцитокератину, CD44, маркерів нейро-ендокринного фенотипу.

Висновки. Встановлено прогностичні критерії ДКРЛ щодо загальної виживаності та приналежності до стадії локалізованого чи розповсюдженого процесу. До реко-

мендованої панелі ІГХ маркерів слід включати: Ki-67, E-кадгерин, N-кадгерин, виментин, панцитокератин із урахуванням стадії EMT.

Для цитування:

Яковцова І.І., Старіков В.І., Янчевський О.В., Івахно І.В., Абдуллаєва А.Б., Мірзєбасов М.А. Морфологічні та імуногістохімічні критерії прогнозу дрібноклітинних раків легень. *Український радіологічний та онкологічний журнал*. 2024. Т. 32. № 1. С. 32–43. DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.1.2024.32-43>

Key words:

small cell lung cancer, epithelial-mesenchymal transformation, prognosis.

For correspondence:

Ivakhno Ihor Volodymyrovych
Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine;
4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: igorv.ivakhno@gmail.com

© *Yakovtsova I.I., Starikov V.I., Yanchevskiy O.V., Ivakhno I.V., Abdullaieva A.B., Mirzebasov M.A., 2024*

ABSTRACT

Background. Despite the fact that a lot of information on molecular genetic changes in lung cancers has been accumulated, there is still a knowledge gap regarding determination of the key factors of oncogenesis and trigger factors that cause metastasis and progression of small cell lung cancer (SCLC). The problem of comprehensive assessment of prognostic importance of molecular genetic changes, a range of IHC markers that are used for diagnosing and prognosing SCLC, and impact of the epithelial-mesenchymal transformation (EMT) processes on the risk of development of the tumor process and lethal outcome of the disease remains relevant.

Purpose – to improve morphological prognostic criteria for the course of SCLC based on the research of clinical morphological and molecular biological characteristics of primary tumors with different clinical behavior and prognosis.

Materials and methods. The material of the research was autopsy data and surgically removed tumors in hospitals in Kharkiv. We formed two groups based on the type of SCLC (limited-stage (LSCLC) and extensive-stage (ESCLC)) and overall survival (OS) of patients. IHC studies were performed using the following markers: CD56, CD117, Ki-67, pan-cytokeratin, E-cadherin, vimentin, N-cadherin, and CD44. We took into account EMT stage with determination of coexpression of the epithelial (pan-cytokeratin and E-cadherin) and mesenchymal (vimentin and N-cadherin) markers.

Results. We have found that poor prognostic criteria should include: emergence of vimentin expression in cancer cells, increased expression level of N-cadherin, presence of EMT and stage 3+ EMT (stages 3–5). High levels of E-cadherin and Ki-67 expression are favorable prognostic criteria. Some factors such as clinical morphological features, data of the histological study, expression of pan-cytokeratin, CD44, and markers of the neuroendocrine phenotype have limited prognostic value.

Conclusions. We have identified prognostic criteria for SCLC regarding overall survival and belonging to the stage of limited or extensive process. The recommended panel of the IHC markers should include: Ki-67, E-cadherin, N-cadherin, vimentin, pan-cytokeratin, taking into account the stage of EMT.

For citation:

Yakovtsova II, Starikov VI, Yanchevskiy OV, Ivakhno IV, Abdullaieva AB, Mirzebasov MA. Morphological and immunohistochemical prognostic criteria for small cell lung cancers. *Ukrainian journal of radiology and oncology*. 2024;32(1):32–43. DOI: <https://doi.org/10.46879/ukroj.1.2024.32-43>

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами

Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи кафедри патологічної анатомії Харківської медичної академії післядипломної освіти Міністерства охорони здоров'я України: «Патогістологічна та імуногістохімічна діагностика і прогноз злоякісних пухлин різної локалізації з урахуванням їх біологічних властивостей та клінічного перебігу», номер державної реєстрації: 0117U000594, прикладна, термін виконання: 2016–2020 рр., керівник – завідувачка кафедри патологічної анатомії та судово-медичної експертизи Харківського національного медичного університету, доктор медичних наук, професор І.І. Яковцова.

Relationship with academic programs, plans and themes

The article is a fragment of the planned research project of the Department of Pathological Anatomy of Kharkiv Medical Academy of Post-graduate Education «Pathohistological and immunohistochemical diagnosis and prognosis of malignant tumors of different localization taking into account their biological features and clinical course», state registration number: 0117U000594, applied, period for performance: 2016–2020, led by Head of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Examination of Kharkiv National Medical University, Doctor of Medical Sciences, Professor I.I. Yakovtsova.

ВСТУП

Дрібноклітинний рак легень (ДКРЛ), згідно з класифікацією пухлин ВООЗ (2021 р.), є окремим морфологічним типом раку легень, становить 13–15% від

INTRODUCTION

According to the 2021 WHO tumor classification, small cell lung cancer (SCLC) is a separate morphological type of lung cancer that accounts for 13–15% of malig-

злюжкісних новоутворень та є однією з найбільш агресивних пухлин людського організму [2]. ДКРЛ характеризується швидким ростом та метастазуванням, тимчасовою відповіддю на хіміопроменеву терапію [2, 11]. П'ятирічна загальна виживаність (ЗВ) пацієнтів з ДКРЛ становить 2–7% [11, 16]. Серед пацієнтів, які отримували комбіноване лікування, та з пухлиною ранньої стадії, ЗВ досягає 34% [11].

ДКРЛ має велику кількість генетичних мутацій, що навіть при гарній первинній відповіді на цитотоксичну хімотерапію, зумовлює швидкий розвиток хіміорезистентності [16]. Одним з найбільших викликів сучасної онкоморфології є визначення тригерних факторів агресивної поведінки пухлин ДКРЛ. Зокрема, необхідний пошук молекулярно-генетичних змін, вплив на які дозволить обрати ефективне лікування та уникнути розвитку хіміорезистентності [9, 16, 18].

Одним із важливих прогностичних критеріїв раків різної локалізації визнається епітеліально-мезенхімальна трансформація (EMT), що є процесом втрати раковими клітинами епітеліальних характеристик з набуттям мезенхімального фенотипу. Наразі в науковій літературі висвітлюється прогностичне значення EMT та інших окремих мутацій генів переважно недрібноклітинного раку легень. Серед ДКРЛ особливості EMT та її клінічне значення залишаються недостатньо дослідженими [13].

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

nancies and is one of the most aggressive tumors of the human body [2]. SCLC is characterized by rapid growth, metastasis, and a temporary response to chemotherapy [2, 11]. The 5-year overall survival (OS) of patients with SCLC is 2–7% [11, 16]. The OS of patients with an early-stage tumor who receive combined treatment is up to 34% [11].

SCLC has a large number of genetic mutations, which causes rapid development of chemoresistance in case of a good primary response to cytotoxic chemotherapy [16]. One of the biggest challenges of modern oncomorphology is to determine trigger factors of aggressive behavior of the tumors and SCLC, specifically with the search for molecular genetic changes, the impact on which will allow more effective treatment to be chosen and development of chemoresistance to be avoided [9, 16, 18].

One of important prognostic criteria for cancers of different localization is the epithelial-mesenchymal transformation (EMT), which is a process of cancer cells losing epithelial characteristics and obtaining a mesenchymal phenotype. As of now, the research literature describes the prognostic value of the EMT and other separate mutations of genes of mainly non-small cell lung cancer. As for SCLC, the features of the EMT and its clinical value remain insufficiently studied [13].

The objective of the work is to improve morphological prognostic criteria for the course of SCLC based on the research of clinical morphological and molecular biological characteristics of primary tumors with different clinical behavior and prognosis.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

MATERIALS AND METHODS

Матеріал був представлений даними аутопсій, що проводились у централізованому патологоанатомічному відділенні Комунального некомерційного підприємства «Міська клінічна багатопрофільна лікарня № 17» Харківської міської ради за період 2015–2020 роки, а також хірургічно видалених пухлин у пацієнтів з клінік м.Харкова.

Сформовані дві групи дослідження: локалізовані ДКРЛ (Л-ДКРЛ) – пухлини, що мають локалізацію в межах однієї ділянки грудної клітки, включно з лімфатичними вузлами; розповсюджені ДКРЛ (Р-ДКРЛ) – при ураженні обох легень, з метастазами у віддалені лімфатичні вузли чи внутрішні органи на момент встановлення діагнозу, який було верифіковано морфологічно. До групи Л-ДКРЛ входили випадки різного рівня ураження легень та лімфатичних вузлів, згідно з класифікацією TNM: T2aN0M0 – 2, T3N0M0 – 5, T2bN1M0 – 2, T3N1M0 – 1, T3N2M0 – 2, T4N2M0 – 2 випадки. Група Р-ДКРЛ була представлена випадками: T2aN2M1a – 5, T2aN3M1a – 3, T2bN2M1a – 1, T2bN3M1b – 5, T2bN3M1c – 1, T3N3M1b – 3, T3N3M1c – 2, T4N3M1a – 2, T4N3M1c – 3.

Серед 39 досліджених хворих на ДКРЛ дана пухлина була вперше виявлена під час аутопсії в 7 випадках – це були раки I–II стадій та один випадок T2bN1M0. Відповідно, ці хворі не отримували лікування. Чотири випадки Л-ДКРЛ було видалено хірургічно, хворі в подальшому отримували поліхімотерапію (ПХТ). Решта 29 спостережень – пацієнти, які отримували протипухлинне лікування, але з подальшою прогресією пухлинного процесу та несприятли-

The material of the research was autopsy data and surgically removed tumors in hospitals in Kharkiv. The autopsies were performed in the centralized department of anatomic pathology of municipal non-profit enterprise «City Clinical Multi-profile Hospital №17» of Kharkiv City Council over the period from 2015 to 2020.

We formed two groups based on the type of SCLC: limited-stage SCLC (LSCLC) – tumors that are localized within one area of the chest including lymph nodes; extensive-stage SCLC (ESCLC) – tumors that affected both lungs and metastasized to the distant lymph nodes or internal organs at the time of establishment of the diagnosis that was morphologically verified. The LSCLC group included cases of different stages of lung and lymph node involvement according to the TNM classification: T2aN0M0 – 2, T3N0M0 – 5, T2bN1M0 – 2, T3N1M0 – 1, T3N2M0 – 2, T4N2M0 – 2 cases. The ESCLC group included the following cases: T2aN2M1a – 5, T2aN3M1a – 3, T2bN2M1a – 1, T2bN3M1b – 5, T2bN3M1c – 1, T3N3M1b – 3, T3N3M1c – 2, T4N3M1a – 2, T4N3M1c – 3.

Among 39 patients with SCLC, this tumor was primarily detected during the autopsy in 7 cases: 6 cases of I–II stage cancers and 1 case of T2bN1M0. Thus, these patients did not receive any treatment. In 4 cases, LSCLC was surgically removed, and the patients received palliative chemotherapy afterwards. The other 29 cases were the patients who received antitumor treatment with further progression of the tumor process and an unfavorable outcome. According to the autopsy data,

вим наслідком. За даними аутопсії основним захворюванням у всіх 29 випадках був ДКРЛ, також проаналізовано показник загальної виживаності пацієнтів.

Імуногістохімічне (ІГХ) дослідження проводили з використанням таких маркерів: CD56 (клон 123C3, 1:100), CD117 (поліклональне антитіло A4502, 1:250), Ki-67 (клон SP6, 1:400) панцитокератин (AE1/AE3), E-кадгерин (EP700Y), виментин (V9), N-кадгерин (клон 3B9), CD44 (DF1485), виробництва DAKO (Данія).

Класифікація EMT розподілялася на 6 стадій: 0 – раки без EMT (з негативною реакцією на мезенхімальні маркери виментин та N-кадгерин); 1 стадія – раки з ознаками EMT, переважно епітеліального фенотипу (ІГХ реакція епітеліальних маркерів (панцитокератин та E-кадгерин) переважає над реакцією мезенхімальних маркерів, $p < 0,05$); 2 стадія – проміжного епітеліального фенотипу, коли реакція епітеліальних маркерів переважає над реакцією мезенхімальних маркерів, $p > 0,05$); 3 стадія – проміжного мезенхімального фенотипу; 4 стадія – з переважно мезенхімальним фенотипом; 5 – раки з мезенхімальним фенотипом без експресії епітеліальних маркерів.

Для оцінки інтенсивності експресії ІГХ маркерів використовували напівкількісну шкалу від 0 до 3+: 0 – відсутність експресії, «+» – слабка, «++» – помірна, «+++» – виражена експресія. Також підраховували відсоток імунопозитивних клітин у полі зору: 0 – відсутність експресії, 1 – 1–33% клітин, 2 – 34–66% клітин, 3 – 67–100% клітин.

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

Статистичну обробку результатів дослідження проводили з використанням пакета «MedCalc» (Version 20.009, trial). Для оцінки зв'язку між ознаками використовували точний критерій Фішера та непараметричний критерій χ^2 -квдрат Пірсона. Отримані значення показників груп дослідження подано з обчисленням стандартної помилки середнього. Для підтвердження або спростування нульової гіпотези про залежність між виразністю показників експресії імуногістохімічних маркерів використовували непараметричний критерій Спірмана. Для графічного зображення із статистичним обчисленням відмінностей загальної виживаності пацієнтів в залежності від досліджуваних критеріїв використовувався метод кривих Каплана–Майєра. Статистично значущими вважали результати при $p < 0,05$.

the main disease in all 29 cases was SCLC. The overall survival of patients was analyzed.

The immunohistochemical (IHC) study was performed using the following DAKO markers (made in Denmark): CD56 (123C3 clone, 1:100), CD117 (A4502 polyclonal antibody, 1:250), Ki-67 (SP6 clone, 1:400), pan-cytokeratin (AE1/AE3), E-cadherin (EP700Y), vimentin (V9), N-cadherin (3B9 clone), CD44 (FD1485).

According to the EMT classification, we distinguished 6 stages: 0 – cancers without the EMT (with negative reaction to such mesenchymal markers as vimentin and N-cadherin); stage 1 – cancers with the EMT features, mainly of epithelial phenotype (IHC reaction of the epithelial markers (pan-cytokeratin and E-cadherin) prevails over the reaction of the mesenchymal markers, $(p < 0.05)$); stage 2 – cancers of the transitional epithelial phenotype when the reaction of the epithelial markers prevails over the reaction of the mesenchymal markers, $p > 0.05$; stage 3 – cancers of the transitional epithelial phenotype; stage 4 – cancers of mainly mesenchymal phenotype; 5 – cancers of the mesenchymal phenotype without expression of the epithelial markers.

For assessment of expression intensity of the IHC markers, we used a semi-quantitative scale from 0 to 3+: 0 – no expression, «+» – mild expression, «++» – moderate expression, «+++» – strong expression. We also calculated percentage of immunopositive cells in the field of view: 0 – no expression, 1 – 1–33% of cells, 2 – 34–66% of cells, 3 – 67–100% of cells.

The correlation level between two pathologists regarding percentage of the expression of the markers was measured using the intraclass correlation coefficient (ICC) that was calculated in «MedCalc» program (Version 20.009, trial).

The results of the study were statistically processed using «MedCalc» software (Version 20.009, trial). We used the Fisher's exact test and the non-parametric Pearson's chi-squared test to assess correlation between the features. The obtained values of parameters of the studied groups are presented with calculation of the standard error of the mean. To confirm or reject the null hypothesis about correlation between severity of parameters of expression of the immunohistochemical markers, we used the non-parametric Spearman rank correlation coefficient. Kaplan–Meier curves were used for graphic visualization with statistical calculation of differences in overall survival of patients depending on the studied criteria. The results were considered statistically significant when $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Серед пацієнтів з ДКРЛ переважали чоловіки 82,1%, жінок було 17,9% та, як видно з таблиці 1, пацієнти чоловічої та жіночої статі були представлені в майже однаковому співвідношенні серед Л-ДКРЛ та Р-ДКРЛ. Показник віку пацієнтів в обох групах дослідження також був практично однаковим.

Серед морфологічних ознак на рівні забарвлення гематоксилином та еозином також не виявлені статистично значущі відмінності між групами дослідження. Мітотична активність ДКРЛ була варіабельною від 10 до 78 мітозів в 10^{-6} m^2 , в середньому $39,5 \pm 2,7$, ядерні характеристики, такі як: форма ядра, його площа, розподіл хроматину, особливості яде-

RESULTS AND DISCUSSION

Among the patients with SCLC, there were more men than women – 82.1% and 17.9%, respectively, and, as can be seen from Table 1, men and women were presented at almost the same ratio in LSCLC and ESCLC. The age of patients in both groups was also approximately the same.

At the stage of staining with hematoxylin and eosin, no statistically significant differences in morphological features between the studied groups were detected. The mitotic activity of SCLC varied from 10 to 78 mitoses per 10^{-6} m^2 , mean 39.5 ± 2.7 . There was no difference in such characteristics of the nucleus, as its shape and area, chromatin distribution, features of nucleoli,

рець, їх наявність чи відсутність, округла, овально- чи веретеноподібна форма клітин, наявність та розповсюдженість некрозів, гістологічний тип будови (солідний, часто гніздний, можливо, трабекулярний) – не відрізнялись серед ДКРЛ груп дослідження.

their absence or presence, round, oval or fusiform shape of the cells, presence and advancement of necroses, histological structure type (solid, often nested, possibly trabecular) between the studied groups.

Таблиця 1. Клініко-морфологічні особливості ДКРЛ груп дослідження
Table 1. Clinical morphological features of SCLC in the studied groups

Ознаки / Features	Л-ДКРЛ / LSCLC	Р-ДКРЛ / ESCLC
Стать / Sex Ч / M Ж / W	11 (78,6%) 3 (21,4%)	21 (84,0%) 4 (16,0%)
Вік / Age	60,3 ± 2,1	62,3 ± 1,7
Площа ракових клітин Area of cancer cells	3 діаметра лімфоцита 3 lymphocyte diameters	3 діаметра лімфоцита 3 lymphocyte diameters
Форма ракових клітин// Shape of cancer cells	Кругла та овальна, можлива веретеноподібна Round and oval, possibly fusiform	Кругла та овальна, можлива веретеноподібна Round and oval, possibly fusiform
Середня кількість мітозів у 10 ⁻⁶ м ² Mean number of mitoses per 10 ⁻⁶ m ²	41,1 ± 2,6	38,6 ± 2,7
Некроз / Necrosis	Вогнищеві та розповсюджені в 100% (14) пухлин Focal and advanced in 100% (14) of tumors	Вогнищеві та розповсюджені в 100% (25) пухлин Focal and advanced in 100% (25) of tumors

Таким чином, наведені результати доводять відсутність прогностичного значення гістологічних критеріїв ДКРЛ та підкреслюють необхідність оцінки молекулярно-біологічних ознак для прогнозування біологічної та клінічної поведінки ДКРЛ.

Інші дані було отримано щодо впливу проліферативної активності на клінічну поведінку ДКРЛ при урахуванні рівня експресії Ki-67. Реакція маркера в пухлині була варіабельною з відсотком ракових клітин, що демонстрували експресію від 18 до 77%, середній показник експресії Ki-67 становив 41,3% ± 3,1. Отриманий показник серед Л-ДКРЛ був меншим (t = -2,9, p < 0,01) (див. табл. 2).

Thus, the given results prove the absence of prognostic value of the histological criteria for SCLC and highlight the necessity of assessing molecular biological features for the prognosis of biological and clinical behavior of SCLC.

We obtained different data on the impact of proliferative activity on the clinical behavior of SCLC, taking into account the expression level of Ki-67. The reaction of the marker in the tumor was variable, with percentage of cancer cells that demonstrated expression from 18% to 77%, mean 41.3%±3.1. The obtained value in patients with LSCLC was lower (t = -2.9, p < 0.01) (see Table 2).

Таблиця 2. Рівень експресії Ki-67 Л-ДКРЛ та Р-ДКРЛ
Table 2. Ki-67 expression level of LSCLC and ESCLC

Ознаки / Features	Л-ДКРЛ / LSCLC	Р-ДКРЛ / ESCLC	Достовірність / Statistical significance
Ki-67 Медіана / Median Діапазон / Range	51,4% ± 4,8 25–75%	35,0% ± 3,4 18–77%	p < 0,01
Відсутність EMT / Absence of EMT Наявність EMT / Presence of EMT	8 (57,1%) 6 (42,9%)	4 (16%)/ 21(84%)	$\chi^2 = 7,1; p < 0,01$
EMT 0–2 ст. / St. 0–2 EMT EMT 3–5 ст. / St. 3–5 EMT	14 (100%) 0	17(68%) 8(32%)	$\chi^2 = 5,6; p < 0,05$

Встановлено, що у пацієнтів з ДКРЛ термін ЗВ мав пряму статистично значущу залежність з рівнем експресії Ki-67. При розподілі ДКРЛ за рівнем експресії Ki-67 ≥ 33% та < 33%, виявлена пряма залежність з терміном загальної виживаності ($\chi^2 = 5,8, p < 0,05$). Тобто, при зростанні рівня проліферативної активності ДКРЛ, виживаність пацієнтів збільшувалася.

Схожі дані щодо більш сприятливого перебігу захворювання при більшому рівні експресії Ki-67 отримано іншими авторами [6, 21]. Проте метааналіз впливу проліферативної активності на клінічний перебіг РЛ, переважно недрібноклітинних, показав протилежні результати, як і в раках інших локалізацій [21, 23].

It was found that the OS period in patients with SCLC had a direct statistically significant relationship with the Ki-67 expression level. When distributing SCLC according to the Ki-67 expression level (≥33% and <33%), we found a direct relationship with the OS period ($\chi^2 = 5.8, p < 0.05$), meaning that the OS improved in patients who had an increase in the proliferative activity of SCLC.

Similar data on a more favorable course of the disease in the increased expression level of Ki-67 were obtained by other authors [6, 21]. However, the meta-analysis of the impact of proliferative activity on the clinical course of lung cancers (mainly small cell ones) showed opposite results, as in cancers of other localizations [21, 23].

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 довшої виживаності пацієнтів. Це може бути зумовлено не характеристикою ракових клітин чи асоціацією експресії Ki-67 з активацією тих чи інших сигнальних шляхів, а перш за все залежністю з відповіддю ракових клітин на ПХТ.

Всі ДКРЛ мали позитивну реакцію до маркерів нейроендокринного фенотипу – CD56 чи синаптофізину, проте в межах кожної з пухлин інтенсивність та відносна кількість клітин, що експресують маркери, була різною, це вказує на неоднорідність популяції ДКРЛ та часткову втрату нейроендокринного фенотипу. За даними окремих авторів [24] до 20% ДКРЛ не експресують маркери нейроендокринних тканин, що свідчить про гетерогенність ДКРЛ, навіть в межах однієї пухлини [17].

Різниця у рівні експресії CD56 серед ДКРЛ груп дослідження була статистично незначуща. Так, виражена реакція визначалась в 92,8% Л-ДКРЛ та в 72,0% Р-ДКРЛ ($\chi^2 = 2,3$, $p = 0,1$).

Позитивна реакція до CD44 визначалась у 30,8% (12/39) ДКРЛ і була переважно слабкою, та не залежала від приналежності пухлин до груп дослідження. Так, серед Л-ДКРЛ позитивна реакція до CD44 спостерігалась у 21,4% (3/14), серед Р-ДКРЛ – у 36,0% (9/25). Також була відсутня статистично значуща залежність між позитивною реакцією маркера CD44 та терміном ЗВ пацієнтів ($p = 0,7$). Встановлено зворотню кореляційну залежність між реакцією до CD44 та CD56 ($r = -0,65$, $p < 0,01$), що слід пояснювати процесами втрати тканинної специфічності ракових клітин, зокрема, нейроендокринного фенотипу при появі молекулярно-біологічних свідчень стовбурового фенотипу.

Отримані результати щодо тенденції більш агресивної біологічної та клінічної поведінки ДКРЛ, які мають експресію CD44, не протирічать даним світової літератури [15, 22]. На думку окремих авторів [10], оцінка молекулярних особливостей та шляхів стовбурового фенотипу може стати рутинною частиною діагностики та терапії ДКРЛ [14, 20]. Резистентні до хіміотерапії ракові стовбурові клітини, які складають дуже незначну субпопуляцію, можуть відповідати за лікувальну резистентність та агресивність ДКРЛ. За даними Wang Y. et al., 2021 [22] позитивна експресія CD44 корелює з «poor performance status», проте не виявлено кореляційної залежності з несприятливим прогнозом ДКРЛ.

Стовбуровий фенотип у ДКРЛ часто ідентифікують з мезенхімальними маркерами, такими як CD44, CD90, CD87 та CD133 [1, 4, 15]. За окремими даними, аденокарциноми легень характеризуються відсутністю залежності між наявністю EMT та стовбуровим фенотипом ракових клітин [19]. Переважна більшість досліджень не стосується ДКРЛ, і таким чином не можуть бути застосовані до ДКРЛ, які мають значні молекулярно-генетичні відмінності.

Процеси EMT можуть бути зумовлені експресією низки основних факторів транскрипції, таких як: фактор транскрипції SNAIL, ZEB (zinc-finger E-box-binding), bHLH (basic helix-loop-helix transcription), TGF β (трансформуючий фактор росту – beta), Notch тощо [12]. В окремих роботах доведена критична роль TGF- β

In other words, unlike in other cancers (lung cancers, as well as cancers of other localizations), Ki-67 in SCLC acts as a favorable prognostic criterion for a good response to the antitumor therapy and longer survival of the patients. This can be caused not only by the characteristics of the tumor cells or the association of the Ki-67 expression with an activation of any particular signal pathways, but primarily by the relationship with the response of the tumor cells to palliative chemotherapy.

All SCLC had a positive reaction to the markers of the neuroendocrine phenotype (CD56 or synaptophysin), but the intensity and the relative number of the cells that expressed the markers were different within the area of each tumor, which is indicative of heterogeneity of the SCLC population and partial loss of the neuroendocrine phenotype. According to the data of some authors [24], up to 20% of SCLC do not express markers of the neuroendocrine tissues, which indicates heterogeneity of SCLC, even within the area of one tumor [17].

The difference in expression level of CD56 between the studied groups was not statistically significant. A strong reaction was determined in 92.8% of LSCLC and 72.0% of ESCLC ($\chi^2 = 2.3$, $p = 0.1$).

A positive reaction to CD44 was detected in 30.8% (12/39) of SCLC. It was mostly mild and was not impacted by the tumors belonging to a specific study group. Among LSCLC, a positive reaction to CD44 was observed in 21.4% (3/14) of cases; among ESCLC – in 36.0% (9/25). There was also no statistically significant relationship between the positive reaction to CD44 marker and the OS period of the patients ($p = 0.7$). We established an inverse correlational relationship between the reactions to CD44 and CD56 ($r = -0.65$, $p < 0.01$), which should be explained by the cancer cells losing their tissue specificity, in particular, the neuroendocrine phenotype, and emergence of molecular biological evidence of the stem phenotype.

The obtained results about the tendency towards more aggressive biological and clinical behavior of SCLC that have CD44 expression do not contradict the data of world literature [15, 22]. According to some authors [10], assessment of molecular features and pathways of the stem phenotype can become a routine part of diagnosis and therapy of SCLC [14, 20]. Chemotherapy-resistant cancer stem cells that account for a small subpopulation might be responsible for treatment resistance and aggressiveness of SCLC. According to Wang Y. et al., 2021 [22], although positive expression of CD44 correlates with poor performance status, no correlation with unfavorable prognosis of SCLC was found.

The stem phenotype in SCLC is often identified with such mesenchymal markers, as CD44, CD90, CD87, and CD133 [1, 4, 15]. According to some data, lung adenocarcinomas are characterized by the absence of the relationship between the presence of the EMT and the stem phenotype of the cancer cells [19]. The overwhelming majority of the studies are not concerned with SCLC and cannot be applied to SCLC that have significant molecular genetic differences.

The EMT processes may be caused by the expression of a range of the main transcription factors: SNAIL, ZEB (zinc-finger E-box-binding), bHLH (basic helix-loop-helix transcription), TGF- β (transforming growth factor beta), Notch, etc. [12]. In some works, the critical role of TGF- β in the development of hetero-

у розвитку гетерогенності та метастазуванні ДКРЛ, а інгібування передачі сигналу TGF- β значно знижує метастатичну активність ДКРЛ, що, в свою чергу, зумовлює потенційний терапевтичний ефект при лікуванні хворих на ДКРЛ [8]. Notch є сигнальним шляхом, який зумовлює внутрішньопухлинну гетерогенність, розвиток EMT, регулює нейроендокринне диференціювання, проліферацію, міжклітинну адгезію та хіміорезистентність [17]. Після проведення хіміотерапії та променевої терапії доведена активація Notch сигнальних шляхів, що має супресивний ефект до нейроендокринного диференціювання, появи процесів EMT та розвитку хіміопроменевої резистентності [5, 7, 17].

Молекулярно-генетична гетерогенність ДКРЛ з різноманітним транскрипційною регуляцією зумовлює спроби класифікації ДКРЛ. Проте методика оцінки появи та ступеня EMT не є достатньо розробленою та невпорядкованою до загального використання, що може бути зумовлено перш за все різною активністю молекулярних проявів процесу та варіабельністю реалізації тих чи інших сигнальних шляхів [3]. У даному дослідженні запропоновано визначення EMT та її ступеня за ознаками появи ІГХ критеріїв мезенхімального фенотипу та статистичного підрахунку рівня співвідношення між епітеліальними та мезенхімальними характеристиками в клітинах пухлини.

Визначено, що серед ДКРЛ ступінь EMT був варіабельним, її поява спостерігалась в 69,3% та була переважно проміжною або неповною.

Позитивна реакція до панцитокератину спостерігалась у 69,2% (27/39), а зі слабким рівнем експресії – у 43,5% (17/39). Статистично значуща залежність між рівнем експресії панцитокератину та прогнозом захворювання відсутня. Спостерігалась відсутність залежності між виживаністю пацієнтів та рівнем експресії панцитокератину ($\chi^2 = 0,5$, $p > 0,05$).

Експресія виментину визначалась в 28,2% від усіх 39 досліджених випадках ДКРЛ, з яких у 90,9% (10/11) реакція була слабкою. Простежена тенденція, що не є статистично значущою, до більшого рівня експресії виментину серед Р-ДКРЛ, ніж серед Л-ДКРЛ. В одному спостереженні Л-ДКРЛ (1/14) було виявлено експресію виментину, тоді як серед Р-ДКРЛ позитивна реакція досліджуваного маркера визначалась в 40% випадків (10/25). Таким чином, отримані дані не свідчать про те, що більш агресивні Р-ДКРЛ характеризуються експресією виментину. З іншого боку простежена залежність між рівнем експресії виментину та терміном летального наслідку пацієнтів з ДКРЛ ($\chi^2 = 13,5$, $p < 0,01$) (рис. 1, b). Так, середній термін ЗВ пацієнтів з негативною реакцією ДКРЛ до виментину склав $16,9 \pm 2,2$ міс., з позитивною реакцією – $6,2 \pm 1,7$ міс. ($t = -2,7$, $p < 0,01$).

Експресія E-кадгерину спостерігалась у 43,5% (17/39) ДКРЛ. Реакція була мембранною, переважно слабкою, наявною в 7,6% клітин у полі зору. Не виявлено залежності між втратою експресії E-кадгерину та приналежністю ДКРЛ до групи Р-ДКРЛ, проте, відсутність реакції до E-кадгерину дещо частіше спостерігалась серед Р-ДКРЛ. Встановлено, що ЗВ пацієнтів була більшою при позитивній експресії даного маркера ($\chi^2 = 9,3$, $p < 0,01$) (рис. 1, c). Так, середній термін виживаності пацієнтів при негативній реакції E-кадгерину ДКРЛ становив $8,1 \pm 1,4$ міс.,

geneity and metastasis of SCLC has been proved. Inhibition of TGF- β signal transmission significantly reduces metastatic activity of SCLC, which, in its turn, causes potential therapeutic effect in the treatment of patients with SCLC [8]. Notch is a signal pathway that causes internal tumor heterogeneity and development of the EMT, regulates neuroendocrine differentiation, proliferation, cell-cell adhesion, and chemoresistance [17]. The activation of Notch signal pathways that has a suppressive effect on neuroendocrine differentiation, development of the EMT processes and chemoradiation resistance after radiation and chemotherapy has been proved [5, 7, 17].

The attempts to classify SCLC explain molecular genetic heterogeneity of SCLC with a variety in transcriptional regulation. However, the methods for assessing emergence and stage of the EMT are underdeveloped and not structured for general use. The main reason for this may be different activity of molecular manifestations of the process and variability of realization of any particular signal pathways [3]. In this study, we suggest determining EMT and its stage according to the signs of emergence of IHC criteria of the mesenchymal phenotype and statistical calculation of the ratio level between the epithelial and mesenchymal characteristics in the cells of the tumor.

We found that the stage of the EMT was variable in SCLC patients. It was observed in 69.3% and was mainly transitional or incomplete.

A positive reaction to pan-cytokeratin was observed in 69.2% (27/39) of cases; with mild expression level – in 43.5% (17/39). There was no statistically significant relationship between the pan-cytokeratin expression level and prognosis of the disease. We also found no statistically significant relationship between the survival of the patients and the pan-cytokeratin expression level ($\chi^2 = 0.5$, $p > 0.05$).

Vimentin expression was determined in 28.2% out of all 39 cases of SCLC. In 90.9% (10/11) of them, the reaction was mild. We observed a tendency that was not statistically significant towards a more increased expression level of vimentin in ESCLC than in LSCLC. In one case of LSCLC (1/14), vimentin expression was detected, whereas in ESCLC, a positive reaction of this marker was determined in 40% of cases (10/25). Thus, the obtained data do not indicate that more aggressive LSCLC are characterized by the expression of vimentin. However, we observed a relationship between the vimentin expression level and the date of the lethal outcome in SCLC patients ($\chi^2 = 13.5$, $p < 0.01$) (Fig. 1, b). The average OS period of patients with a negative reaction of SCLC to vimentin was 16.9 ± 2.2 months, with a positive reaction – 6.2 ± 1.7 months ($t = -2.7$, $p < 0.01$).

The expression of E-cadherin was observed in 43.5% (17/39) of SCLC cases. The reaction was membranous, mostly mild, and present in 7.6% of the cells in the field of view. No relationship between the loss of expression of E-cadherin and SCLC belonging to the ESCLC group was found. However, the absence of reaction to E-cadherin was observed somewhat more often among patients with ESCLC. We determined that the OS of patients was longer in cases of the positive expression of this marker ($\chi^2 = 9.3$, $p < 0.01$) (Fig. 1, c). The mean survival period of patients with a negative reaction of

при позитивній реакції Е-кадгерину – $19,1 \pm 3,0$ міс. ($p < 0,01$).

Мембранна експресія N-кадгерину спостерігалась у 64,1% (25/39) спостережень ДКРЛ. Реакція була переважно слабкою, лише в 5,1% (2/39) – помірною. Усі Л-ДКРЛ мали слабку експресію N-кадгерину чи її відсутність. Встановлено також залежність між появою експресії N-кадгерину ДКРЛ та ЗВ ($\chi^2 = 5,8$, $p < 0,05$) (рис. 1, d). Так, середній термін виживаності пацієнтів з відсутністю експресії N-кадгерину становив $20,5 \pm 3,6$ міс., тоді як з позитивною експресією – $10,4 \pm 1,8$ міс. ($t = 2,8$, $p < 0,01$).

E-cadherin to SCLC was 8.1 ± 1.4 months, with a negative reaction of E-cadherin – 19.1 ± 3.0 months ($p < 0.01$).

The membranous expression of N-cadherin was observed in 64.1% (25/39) of cases of SCLC. The reaction was mainly mild and only in 5.1% (2/39) it was moderate. All LSCLC had the mild expression of N-cadherin or its absence. We found the relationship between the emergence of the expression of N-cadherin in ESCLC and the OS ($\chi^2 = 5.8$, $p < 0.05$) (Fig. 1, d). The mean survival period of patients with no expression of N-cadherin was 20.5 ± 3.6 months, with a positive reaction – 10.4 ± 1.8 months ($t = 2.8$, $p < 0.01$).

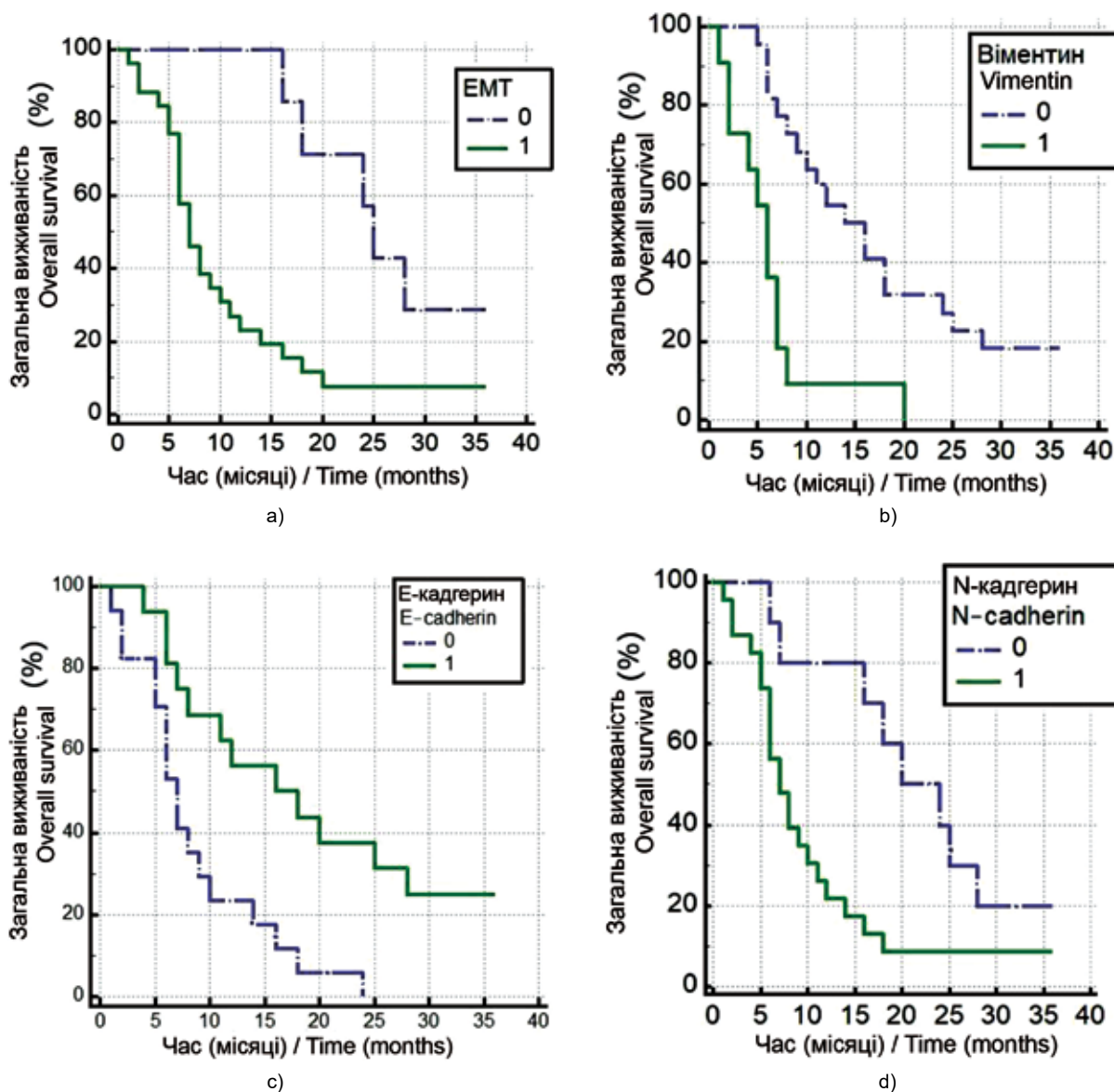


Рис. 1. Загальна виживаність пацієнтів в залежності від наявності EMT (a), експресії віментину (b), Е-кадгерину (c), N-кадгерину (d)
Fig. 1. Overall survival of patients depending on the presence of the EMT (a), expression of vimentin (b), E-cadherin (c), N-cadherin (d)

Встановлено, що епітеліальний імунотип без наявного мезенхімального імунотипу спостерігався у 30,7% (12/39), що визначало відсутність EMT. Поява ІГХ реакції до хоча б одного з маркерів мезенхімального фенотипу – віментину чи N-кадгерину спостерігалась в 69,3%. 1 стадія EMT визначалась як статистично значуще переважання експресії маркерів

An epithelial immunophenotype without the presence of a mesenchymal immunophenotype was observed in 30.7% (12/39) of cases, and it determined the absence of the EMT. The emergence of an IHC reaction to at least one of the markers of the mesenchymal phenotype (vimentin or N-cadherin) was observed in 69.3% of cases. Stage 1 EMT, which was considered as statisti-

епітеліального імунофенотипу над мезенхімальним у 28,2% (11/39) випадків. Повна відсутність експресії епітеліальних маркерів при позитивній реакції мезенхімальних спостерігалась лише в 1 з 39 випадків, у 2 випадках експресія мезенхімальних маркерів статистично значуще переважала над епітеліальними.

Оцінка коекспресії маркерів ЕМТ показала пряму кореляційну залежність помірної сили між N-кадгерином та виментином ($r = 0,4$, $p < 0,01$), а також між N-кадгерином та Ki-67 ($r = -0,5$, $p < 0,01$), що є свідченням процесів ЕМТ.

Експресія E-кадгерину демонструвала пряму кореляційну залежність з експресією CD56 ($r = 0,26$, $p < 0,05$) та зворотно – з CD44 ($r = -0,4$, $p < 0,01$). Перше свідчить про збереження тканинної специфічності ДКРЛ, тоді як зворотня кореляційна залежність між рівнем експресії E-кадгерину та CD44 може вказувати, що поява стовбурового імунофенотипу супроводжується втратою епітеліального імунофенотипу ракових клітин.

Виявлено залежність між наявністю ЕМТ, її стадією, з одного боку, та прогнозом захворювання з іншого, що визначалось при порівнянні Л-ДКРЛ та Р-ДКРЛ. Так, поява ЕМТ асоціюється з Р-ДКРЛ ($\chi^2 = 7,1$, $p < 0,01$). Відсутність ЕМТ спостерігалась у 57,1% Л-ДКРЛ та 16,0% Р-ДКРЛ. Л-ДКРЛ не були 3, 4 та 5 стадій, тоді як Р-ДКРЛ мали 3 стадію ЕМТ у 20%, 4 стадію – у 8%, а 5 стадію – в 4%. Різниця між групами за кожною із стадій не була статистично значущою через малу кількість випадків ДКРЛ: лише 1 випадок 5 стадії ЕМТ, 2 випадки 4 стадії та 5 випадків 3 стадії.

Виявлено статистично значущу залежність між наявністю ЕМТ і стадією ЕМТ та терміном летального наслідку. Так, встановлено зворотно залежність між терміном ЗВ та наявністю ЕМТ ($\chi^2 = 7,6$, $p < 0,01$) (див. рис. 1, а). Також визначено зростання ступеня ЕМТ при порівнянні спостережень з ЗВ до 1 року та ЗВ більшого терміну відповідно до стадій ЕМТ ($\chi^2 = 16,6$, $p < 0,01$). Таким чином, ЗВ більше за 1 рік асоціювалася з відсутністю ЕМТ ($p < 0,01$), тоді як летальний наслідок впродовж одного року асоціювався з наявністю 3–5 стадій ЕМТ ($p < 0,01$).

За даними окремих авторів, на клінічний перебіг ДКРЛ мають вплив певні молекулярно-генетичні ознаки ЕМТ. Зокрема, CXCR4, що залучений до CD133 – індукованої ЕМТ раків легень, є незалежним прогностичним фактором виживаності пацієнтів з ДКРЛ [17]. Іншими факторами ЕМТ ДКРЛ, що є несприятливими критеріями перебігу захворювання, є високий рівень експресії MMP-9, TGF- β 1, flotillin-1, зниження експресії E-кадгерину, тощо [25]. Існують роботи на підставі дослідження ліній клітин ДКРЛ, що також доводять вплив ЕМТ на біологічну поведінку пухлин [7].

Протилежні висновки за даними окремих авторів [15] визначають, що ДКРЛ з ЕМТ, а саме з високою експресією c-MET та низькою E-кадгерину – характеризуються довшою ЗВ та меншою кількістю циркулюючих пухлинних клітин.

Отримані нами дані дозволили надати більш систематизованого підходу до оцінки ЕМТ ДКРЛ та визначити її як критерій несприятливого прогнозу.

Отримані результати дослідження дозволяють робити рекомендації щодо розподілу ДКРЛ на пухлини з ЕМТ та без неї, а також доцільність визначати її ступінь.

cally significant superiority of the expression markers of the epithelial immunophenotype over the ones of the mesenchymal immunophenotype, was detected in 28.2% (11/39) of cases. Complete absence of expression of the epithelial markers in a positive reaction of the mesenchymal ones was observed in only 1 out of 39 cases. In 2 cases, the expression of the mesenchymal markers statistically significantly prevailed over the epithelial ones.

The assessment of the coexpression of the EMT markers showed a direct moderate correlation between N-cadherin and vimentin ($r = 0.4$, $p < 0.01$), as well as between N-cadherin and Ki-67 ($r = -0.5$, $p < 0.01$), which is indicative of the EMT processes.

The E-cadherin expression demonstrated a direct correlation with the CD56 expression ($r = 0.26$, $p < 0.05$) and an inverse one with CD44 ($r = -0.4$, $p < 0.01$). The former indicated the preservation of SCLC tissue specificity, whereas the inverse correlation between the expression level of E-cadherin and CD44 may indicate the fact that the emergence of the stem immunophenotype was accompanied by the loss of the epithelial immunophenotype of the cancer cells.

We found a relationship between the presence of the EMT and its stage on the one side and prognosis of the disease on the other side, which was determined in comparison between LSCLC and ESCLC. The emergence of the EMT was associated with ESCLC ($\chi^2 = 7.1$, $p < 0.01$). The absence of the EMT was observed in 57.1% of LSCLC and 16.0% of ESCLC. No stage 3, 4, and 5 EMT in patients with LSCLC were observed, whereas in patients with ESCLC, stage 3 EMT was observed in 20%, stage 4 EMT – in 8%, and stage 5 EMT – in 4%. The difference between the groups in each of the stages was not statistically significant due to the small number of SCLC cases: only 1 case of stage 5 EMT, 2 cases of stage 4 EMT, and 5 cases of stage 3 EMT.

We found a statistically significant difference between the presence of the EMT, its stage, and the date of the lethal outcome. An inverse relationship between the OS period and the presence of the EMT was determined ($\chi^2 = 7.6$, $p < 0.01$) (see Fig. 1, a). Moreover, we observed an increase in the stage of the EMT when comparing cases with the OS of up to 1 year and OS of a longer period according to the EMT stages ($\chi^2 = 16.6$, $p < 0.01$). Therefore, the OS of up to 1 year was associated with the absence of the EMT ($p < 0.01$), whereas lethal outcome within 1 year was associated with the presence of stage 3–5 EMT ($p < 0.01$).

According to the data of some authors, the clinical course of SCLC is impacted by some molecular genetic features of the EMT. CXCR4, which is involved in CD133-induced EMT of lung cancers, is an independent prognostic survival factor of patients with SCLC [17]. Other factors of the EMT of SCLC that are unfavorable criteria for the course of the disease are a high level of expression of MMP-9, TGF- β 1, Flotillin-1, a decrease in the expression of E-cadherin, etc. [25]. There are some works based on the research of the SCLC cell lines that also prove the impact of the EMT on the biological behavior of the tumors [7].

According to the opposite conclusions made on the basis of the data of other authors [15], SCLC with the EMT, namely with the high expression of c-MET and the low expression of E-cadherin, are

Таким чином, аналіз клініко-морфологічних та молекулярно-біологічних характеристик ДКРЛ, зокрема особливостей експресії та коекспресії досліджених ІГХ маркерів дозволяє судити про біологічну поведінку пухлин та визначати критерії сприятливого прогнозу або летального наслідку пацієнтів. Реакція окремих маркерів також дає підставу оцінювати обмежене їх прогностичне значення.

characterized by the longer OS and a lower number of circulating tumor cells.

The obtained data allowed us to have a better systematized approach to the assessment of the EMT of SCLC and consider it as a criterion of an unfavorable prognosis.

The obtained results allow the recommendations on categorizing SCLC tumors into tumors with and without EMT to be made and the expediency of determining its stage to be assessed.

Thus, the analysis of clinical morphological and molecular biological characteristics of SCLC, in particular, the features of expression and coexpression of the researched IHC markers, allows biological behavior of tumors to be assessed and criteria for favorable prognosis and lethal outcome in patients to be determined. The reaction of some markers also gives the grounds for assessing its prognostic value.

ВИСНОВКИ

Встановлено прогностичні критерії ДКРЛ щодо загальної виживаності та приналежності до стадії локалізованого чи розповсюдженого процесу (Л-ДКРЛ та Р-ДКРЛ).

До сприятливих критеріїв прогнозу ДКРЛ слід відносити: високий рівень експресії Е-кадгерину та Ki-67. До несприятливих критеріїв: появу експресії віментину в ракових клітинах, підвищений рівень експресії N-кадгерину, наявність EMT та EMT більше за 3 стадію (3–5 стадій).

Мають обмежене прогностичне значення такі критерії: низка клініко-морфологічних ознак, дані гістологічного дослідження (площа ракових клітин, їх форма, кількість мітозів, наявність та вираженість некрозу), експресія панцитокератину, CD44, маркерів нейроендокринного фенотипу (CD56 та синаптофізин).

CONCLUSIONS

We have identified prognostic criteria for SCLC regarding overall survival and belonging to the stage of limited or extensive process (LSCLC and ESCLC).

We have identified prognostic criteria for SCLC regarding overall survival and belonging to the stage of limited or extensive process.

Favorable prognostic criteria for SCLC should include a high expression level of E-cadherin and Ki-67. As for unfavorable criteria, they should include the following: emergence of vimentin expression in cancer cells, an increased expression level of N-cadherin, presence of the EMT, and stage 3+ EMT (stage 3–5).

The following criteria have limited prognostic value: a range of clinical morphological features, the data of a histological study (area of cancer cells, their shape, number of mitoses, presence and severity of necrosis), expression of pan-cytokeratin, CD44, markers of the neuroendocrine phenotype (CD56 and synaptophysin).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Aponte P.M., Caicedo A. Stemness in Cancer: Stem Cells, Cancer Stem Cells and Their Microenvironment. *Stem cells international*. 2017. Vol. 2017. 5619472 p. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/5619472>
2. Blackhall F., Girard N., Livartowski A. et al. Treatment patterns and outcomes among patients with small-cell lung cancer (SCLC) in Europe: a retrospective cohort study. *BMJ Open*. 2023. Vol. 13(2). e052556 p. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2021-052556>
3. Chakraborty P., George J., Tripathi S. et al. Comparative Study of Transcriptomics – Based Scoring Metrics for the Epithelial – Hybrid – Mesenchymal Spectrum. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*. 2020. Vol. 20(8). P. 220–230. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00220>
4. Codony-Servat J., Verlicchi A., Rosell R. Cancer stem cells in small cell lung cancer. *Translational lung cancer research*. 2016. Vol. 5. P. 16–25.
5. George J., Lim J.S., Jang S.J. et al. Comprehensive genomic profiles of small cell lung cancer. *Nature*. 2015. Vol. 524(7563). P. 47–53. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature14664>
6. Ishibashi N., Maebayashi T., Aizawa T. et al. Correlation between the Ki-67 proliferation index and response to radiation therapy in small cell lung cancer. *Radiation Oncology*. 2017. Vol. 12(1). DOI: <https://doi.org/10.1186/s13014-016-0744-1>
7. Ito T., Kudoh S., Ichimura T. et al. 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. *Human cell*. 2017. Vol. 30. P. 1–10.
8. Jin Y., Ji H. P66.03 The Functional Role of TGF – β Signaling in SCLC Heterogeneity and Metastasis. *Journal of Thoracic Oncology*. 2021. Vol. 16. P. 1192–1193. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2021.08.679>

REFERENCES

1. Aponte PM, Caicedo A. Stemness in Cancer: Stem Cells, Cancer Stem Cells and Their Microenvironment. *Stem cells international*. 2017;2017:5619472. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/5619472>
2. Blackhall F, Girard N, Livartowski A et al. Treatment patterns and outcomes among patients with small-cell lung cancer (SCLC) in Europe: a retrospective cohort study. *BMJ Open*. 2023;13(2):e052556. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2021-052556>
3. Chakraborty P, George J, Tripathi S et al. Comparative Study of Transcriptomics – Based Scoring Metrics for the Epithelial – Hybrid – Mesenchymal Spectrum. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*. 2020;20(8):220–30. (In English). DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00220>
4. Codony-Servat J, Verlicchi A, Rosell R. Cancer stem cells in small cell lung cancer. *Translational lung cancer research*. 2016;5:16–25. (In English).
5. George J, Lim JS, Jang SJ et al. Comprehensive genomic profiles of small cell lung cancer. *Nature*. 2015;524(7563):47–53. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1038/nature14664>
6. Ishibashi N, Maebayashi T, Aizawa T et al. Correlation between the Ki – 67 proliferation index and response to radiation therapy in small cell lung cancer. *Radiation Oncology*. 2017;12(1). (In English). DOI: <https://doi.org/10.1186/s13014-016-0744-1>
7. Ito T, Kudoh S, Ichimura T et al. 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. *Human cell*. 2017;30:1–10. (In English).
8. Jin Y, Ji H. P66.03 The Functional Role of TGF – β Signaling in SCLC Heterogeneity and Metastasis. *Journal of Thoracic Oncology*. 2021;16:1192–3. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2021.08.679>

- Krpina K., Vranić S., Tomić K. et al. Small Cell Lung Carcinoma: Current Diagnosis, Biomarkers, and Treatment Options with Future Perspectives. *Biomedicines*. 2023. Vol. 11(7). 1982 p. DOI: <https://doi.org/10.3390/biomedicines11071982>
- Krohn A., Ahrens T., Yalcin A. 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. Vol. 9(6). e100249 p. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100249>
- Lokuhetty D. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Thoracic tumours. *International Agency for Research on Cancer*. 2021. Vol. 5. P. 29–36. URL: <https://publications.iarc.fr/595>
- Marconi G.D., Fonticoli L., Rajan T.S. et al. Epithelial – Mesenchymal Transition (EMT): The Type – 2 EMT in Wound Healing, Tissue Regeneration and Organ Fibrosis. *Cells*. 2021. Vol. 10(7). 1587 p. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells10071587>
- Matsubara T., Toyokawa G., Takada K. et al. The association and prognostic impact of enhancer of zeste homologue 2 expression and epithelial-mesenchymal transition in resected lung adenocarcinoma. *PLoS One*. 2019. Vol. 14(5). e0215103 p.
- Poirier J.T., George J., Owonikoko T.K. et al. New approaches to SCLC therapy: from the laboratory to the clinic. *Journal of thoracic oncology*. 2020. Vol. 15. P. 520–540.
- Pore M., Meijer C., de Bock G.H. et al. Cancer stem cells, epithelial to mesenchymal markers, and circulating tumor cells in small cell lung cancer. *Clinical lung cancer*. 2016. Vol. 17. P. 535–542.
- Raso M., Bota-Rabassedas N., Wistuba I. Pathology and Classification of SCLC. *Cancers*. 2021. Vol. 13(4). 820 p. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers13040820>
- Shue Y.T., Lim J.S., Sage J. Tumor heterogeneity in small cell lung cancer defined and investigated in pre – clinical mouse models. *Translational lung cancer research*. 2018. Vol. 7(1). P. 21–31. DOI: <https://doi.org/10.21037/tlcr.2018.01.15>
- Schulze A., Evers G., Kerkhoff A. et al. Future Options of Molecular – Targeted Therapy in Small Cell Lung Cancer. *Cancers*. 2019. Vol. 11(5). 690 p. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers11050690>
- Song J.M., Im J., Nho R.S. et al. Hyaluronan – CD44/RHAMM interaction – dependent cell proliferation and survival in lung cancer cells. *Molecular carcinogenesis*. 2019. Vol. 58(3). P. 321–333. DOI: <https://doi.org/10.1002/mc.22930>
- Taniguchi H., Sen T., Rudin C. Targeted therapies and biomarkers in small cell lung cancer. *Frontiers in oncology*. 2020. Vol. 10. P. 741–750.
- Wang D., Ye W., Shi Q. Prognostic Value of Ki – 67 Expression in Advanced Lung Squamous Cell Carcinoma Patients Treated with Chemotherapy. *Cancer management and research*. 2021. Vol. 13. P. 6429–6436. DOI: <https://doi.org/10.2147/CMAR.S326189>
- Wang Y., Guo Y., Lin H. et al. Expression of CD44 in Tumor Tissue and Serum of Small Cell Lung Cancer and Its Clinical Prognostic Significance. *Chinese journal of lung cancer*. 2021. Vol. 24(8). P. 583–590. DOI: <https://doi.org/10.3779/j.issn.1009-3419.2021.104.10>
- Xu J., Liu P., Da J. et al. 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.
- Zhang W., Girard L., Zhang Y. et al. Small cell lung cancer tumors and preclinical models display heterogeneity of neuroendocrine phenotypes. *Transl. Revisiting Lung Cancer*. 2018. Vol. 7. P. 32–49.
- Zhao X., Kallakury B., Chahine J. et al. Surgical Resection of SCLC: Prognostic Factors and the Tumor Microenvironment. *Journal of thoracic oncology*. 2019. Vol. 14(5). P. 914–923. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2019.01.019>
- Krpina K., Vranić S., Tomić K. et al. Small Cell Lung Carcinoma: Current Diagnosis, Biomarkers, and Treatment Options with Future Perspectives. *Biomedicines*. 2023;11(7):1982. (In English). DOI: <https://doi.org/10.3390/biomedicines11071982>
- Krohn A., Ahrens T., Yalcin A. 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;9(6):100249. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100249>
- Lokuhetty D. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Thoracic tumours. *International Agency for Research on Cancer*. 2021;5:29–36. (In English). URL: <https://publications.iarc.fr/595>
- Marconi GD, Fonticoli L, Rajan TS et al. Epithelial – Mesenchymal Transition (EMT): The Type – 2 EMT in Wound Healing, Tissue Regeneration and Organ Fibrosis. *Cells*. 2021;10(7):1587. (In English). DOI: <https://doi.org/10.3390/cells10071587>
- Matsubara T, Toyokawa G, Takada K et al. The association and prognostic impact of enhancer of zeste homologue 2 expression and epithelial-mesenchymal transition in resected lung adenocarcinoma. *PLoS One*. 2019;14(5):e0215103. (In English).
- Poirier JT, George J, Owonikoko TK et al. New approaches to SCLC therapy: from the laboratory to the clinic. *Journal of thoracic oncology*. 2020;15:520–40. (In English).
- Pore M, Meijer C, de Bock GH et al. Cancer stem cells, epithelial to mesenchymal markers, and circulating tumor cells in small cell lung cancer. *Clinical lung cancer*. 2016;17:535–42. (In English).
- Raso M, Bota-Rabassedas N, Wistuba I. Pathology and Classification of SCLC. *Cancers*. 2021;13(4):820. (In English). DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers13040820>
- Shue YT, Lim JS, Sage J. Tumor heterogeneity in small cell lung cancer defined and investigated in pre – clinical mouse models. *Translational lung cancer research*. 2018;7(1):21–31. (In English). DOI: <https://doi.org/10.21037/tlcr.2018.01.15>
- Schulze A, Evers G, Kerkhoff A et al. Future Options of Molecular – Targeted Therapy in Small Cell Lung Cancer. *Cancers*. 2019;11(5):690. (In English). DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers11050690>
- Song JM, Im J, Nho RS et al. Hyaluronan – CD44/RHAMM interaction – dependent cell proliferation and survival in lung cancer cells. *Molecular carcinogenesis*. 2019;58(3):321–33. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1002/mc.22930>
- Taniguchi H, Sen T, Rudin C. Targeted therapies and biomarkers in small cell lung cancer. *Frontiers in oncology*. 2020;10:741–50. (In English).
- Wang D, Ye W, Shi Q. Prognostic Value of Ki – 67 Expression in Advanced Lung Squamous Cell Carcinoma Patients Treated with Chemotherapy. *Cancer management and research*. 2021;13:6429–36. (In English). DOI: <https://doi.org/10.2147/CMAR.S326189>
- Wang Y, Guo Y, Lin H et al. Expression of CD44 in Tumor Tissue and Serum of Small Cell Lung Cancer and Its Clinical Prognostic Significance. *Chinese journal of lung cancer*. 2021;24(8):583–90. (In English). DOI: <https://doi.org/10.3779/j.issn.1009-3419.2021.104.10>
- Xu J, Liu P, Da J et al. Prognostic value of Ki – 67 in stage I non – small – cell lung cancer: A meta – analysis involving 1931 patients. *Pathology, research and practice*. 2019;215(5):855–60. (In English).
- Zhang W, Girard L, Zhang Y et al. Small cell lung cancer tumors and preclinical models display heterogeneity of neuroendocrine phenotypes. *Transl. Revisiting Lung Cancer*. 2018;7:32–49. (In English).
- Zhao X, Kallakury B, Chahine J et al. Surgical Resection of SCLC: Prognostic Factors and the Tumor Microenvironment. *Journal of thoracic oncology*. 2019;14(5):914–23. (In English). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2019.01.019>

Перспективи подальших досліджень

Prospects for further research

Має перспективи подальше дослідження прогностичних критеріїв ДКРЛ на молекулярно-біологічному рівні з використанням імуногістохімічного методу, що є доступним методом діагностики, впровадженням в практику лікарів-патоморфологів.

Further research of prognostic criteria for SCLC at the molecular biological level using an immunohistochemical method, which is an accessible diagnostic method that is implemented into practice of pathomorphologists, is promising.

Конфлікт інтересів

Conflict of interest

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

The authors state no conflict of interest.

Інформація про фінансування

Funding information

Фінансування видатками Державного бюджету України.

Financed by the state budget of Ukraine

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Яковцова Ірина Іванівна – доктор медичних наук, професор, завідувачка кафедри патологічної анатомії та судово-медичної експертизи Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; просп. Науки, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;

e-mail: docpathomorph@gmail.com
моб.: +38 (067) 571-18-11

Внесок автора: формування мети та задач роботи, аналіз отриманих результатів дослідження, формування висновків.

Старіков Володимир Іванович – доктор медичних наук, професор, кафедра онкології Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; просп. Науки, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;

e-mail: Star.onco@i.ua
моб.: +38 (050) 926-67-60

Внесок автора: аналіз отриманих результатів дослідження, формування висновків.

Івахно Ігор Володимирович – кандидат медичних наук, доцент кафедри патологічної анатомії та судово-медичної експертизи Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; просп. Науки, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;

e-mail: igorv.ivakhno@gmail.com
моб.: +38 (095) 665-39-91

Внесок автора: аналіз отриманих даних із застосуванням методів статистики.

Янчевський Олександр Валерійович – асистент кафедри біології, гістології, патоморфології та судової медицини Державного закладу «Луганський державний медичний університет Міністерства охорони здоров'я України»; вул. 16 Липня, буд. 36, м. Рівне, Україна, 33028;

e-mail: yanchevskiyalex1985@gmail.com
моб.: +38 (095) 456-21-39

Внесок автора: виконання дослідження, аналіз отриманих результатів дослідження.

Абдуллаєва Ангеліна Борисівна – асистент кафедри патологічної анатомії та судово-медичної експертизи Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; просп. Науки, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;

e-mail: ab.abdullaieva@knmu.edu.ua
моб.: +38 (093) 791-65-93

Внесок автора: огляд літератури, написання статті.

Мірзєбасов Максим Абдулахович – кандидат медичних наук, доцент кафедри біології, гістології, патоморфології та судової медицини Державного закладу «Луганський державний медичний університет Міністерства охорони здоров'я України»; вул. 16 Липня, буд. 36, м. Рівне, Україна, 33028;

e-mail: Mirzebasovmaksym@gmail.com
моб.: +38 (066)282-66-59

Внесок автора: автор ідеї, вступ, формування висновків.

Yakovtsova Iryna Ivanivna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Examination of Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022;

e-mail: docpathomorph@gmail.com
tel.: +38 (067) 571-18-11

Author's contribution: formulating the purpose and objectives of the work, analysis of the obtained results, formulating conclusions.

Starikov Volodymyr Ivanovych – Doctor of Medical Sciences, Professor, Department of Oncology of Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022;

e-mail: Star.onco@i.ua
tel.: +38 (050) 926-67-60

Author's contribution: analysis of the obtained results, formulating conclusions.

Ivakhno Ihor Volodymyrovych – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Examination of Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022;

e-mail: igorv.ivakhno@gmail.com
tel.: +38 (095) 665-39-91

Author's contribution: analysis of the obtained data using statistical methods.

Yanchevskiy Oleksandr Vitaliyovych – Teaching Assistant of the Department of Biology, Histology, Pathomorphology and Forensic Medicine of State Establishment «Luhansk State Medical University» of the Ministry of Health of Ukraine; 36, 16 Lypnya Str., Rivne, Ukraine, 33028;

e-mail: yanchevskiyalex1985@gmail.com
tel.: +38 (095) 456-21-39

Author's contribution: performing the examination, obtaining the results of the examination.

Abdullaieva Anhelina Borysivna – Teaching Assistant of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Examination of Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022;

e-mail: ab.abdullaieva@knmu.edu.ua
tel.: +38 (093) 791-65-93

Author's contribution: reviewing literature, writing the article.

Mirzebasov Maksym Abdulakhovych – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Biology, Histology, Pathomorphology and Forensic Medicine of State Establishment «Luhansk State Medical University» of the Ministry of Health of Ukraine; 36, 16 Lypnya Str., Rivne, Ukraine, 33028;

e-mail: Mirzebasovmaksym@gmail.com
tel.: +38 (066) 282-66-59

Author's contribution: idea of the work, writing introduction, formulating conclusions.

Рукопис надійшов
Manuscript was received
20.01.2024

Отримано після рецензування
Received after review
03.02.2023

Прийнято до друку
Accepted for printing
20.02.2024

Опубліковано
Published
28.02.2024