

Петров С.В.^{1,2,3}, Гордиев М.Г.^{1,3}, Ахметов Т.Р.^{1,2,3}

Современная морфологическая и генетическая характеристика опухолей лёгких в Приволжском федеральном округе

1 - ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер МЗ РТ», Казань; 2 - ГБОУ ВПО «Казанский медицинский университет», Казань; 3 - Приволжский филиал ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Казань

Petrov S.V., Gordiev M.G., Akmetov T.R.

Modern morphological and genetic evaluation of lung tumors in the Volga federal district of Russian Federation

Резюме

Обзор литературы посвящен клинически значимым характеристикам злокачественных новообразований лёгкого. Приводится собственный опыт оценки новых иммуногистохимических и генетических маркеров-мишеней при лечении аденокарцином лёгкого. Современная морфологическая диагностика аденокарцином лёгкого с последующим молекулярно-генетическим анализом мутаций гена EGFR, транслокации гена ALK позволяет формировать оптимальную тактику лечения пациентов. Маркерами эффективности анти-тирозинкиназы, кроме мутационного статуса EGFR и отсутствия транслокации гена ALK, могут служить диагноз аденокарциномы лёгкого, женский пол, принадлежность к тюркской (монголоидной) группе, статус курения.

Ключевые слова: аденокарцинома лёгкого, иммуногистохимия, транслокация гена ALK, мутация гена EGFR

Summary

Review is dedicated to the clinically important –characteristics of malignant neoplasms of lung. Own experience of new immunohistochemical and genetic markers – targets for the therapy of lung adenocarcinomas is demonstrated.

Modern morphological assessment of lung adenocarcinomas with subsequent molecular-genetic analysis of EGFR mutations, translocations of ALK gene, leads to optimal therapeutical tactics. Predictors of efficiency of anti-tyrosine-kinases in addition to EGFR mutation and normal ALK status may include diagnosis of lung adenocarcinoma, female gender, turkic (mongoloid) ethnical group and smoker status.

Keywords: adenocarcinoma of lung, immunohistochemistry, ALK translocation, EGFR mutation

Введение

Одной из основных проблем практического здравоохранения является рост онкологической заболеваемости в России. В 2012 г. в России был выявлен 525 931 новый случай злокачественного новообразования (54,2% у женщин, 45,8% у мужчин), что на 16,0% больше по сравнению с 2002 г. (453 256) [1].

По заболеваемости рак лёгкого занимает 1-е место среди других злокачественных опухолей у мужчин в России, а по смертности — 1-е место среди мужчин и женщин как в России, так и в мире. В России в 2012 г. раком лёгкого заболели 55 475 человек (24 % всех злокачественных опухолей), умерли 49 908 человек (35,1 % среди других злокачественных опухолей) [1]. Таким образом, каждый четвертый больной среди общего числа вновь зарегистрированных онкологических больных

и каждый третий, умирающий от этих болезней, — это больные раком лёгкого. От рака лёгкого ежегодно умирает больше больных, чем от рака простаты, молочной железы и толстой кишки вместе взятых.

Частота морфологического подтверждения диагноза у впервые выявленных пациентов раком лёгкого в 2012 г. в среднем по России составила 65,3%. Без точного морфологического заключения, подтверждающего диагноз на основе на современной международной гистологической классификации, невозможно назначить адекватное современное лечение [2,3,4].

В классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) [5, 6, 7] описаны следующие основные варианты рака лёгкого: плоскоклеточный рак, мелко-клеточный рак, аденокарцинома, крупноклеточный рак, железисто-плоскоклеточный рак, саркоматоидный рак,

карциноид (типичный - атипичный), опухоли типа новообразований слонных желез.

При морфологическом анализе рака легкого перед патологом может появиться ряд диагностических трудностей, основными из которых являются [8]:

- определение происхождения аденокарциномы (метастаз или первичная опухоль); её классификационная характеристика

- дифференциальная диагностика крупноклеточно-аналастического рака и крупноклеточной лимфомы;

- верификация мелкоклеточных, лимфоэпителиальных, недифференцированных и нейроэндокринных опухолей.

Для решения этих задач получен ряд моноклональных антител (МКАТ) к некоторым антигенам легкого. Среди них особое место занимает тиреоидный фактор транскрипции (ТТФ1), который присутствует в нормальном бронхоальвеолярном эпителии, нейроэндокринных опухолях и немужинозных аденокарциномах легкого (до 90% таких опухолей позитивны на этот маркер) [9, 10]. Также предложены для практического применения антитела к апопротеину сурфактанта, которые метят в нормальном легком пневмоциты II типа, а среди опухолей – аденокарциномы (до 50% карцином позитивны). В диагностической практике наиболее часто применяются МКАТ к ТТФ1, в то время как антитела к сурфактанту из-за своей низкой чувствительности используются редко [11,12].

Широкое распространение в практике получили также антитела к цитокератинам (ЦК), белку р63, эпителиальному мембранному антигену (ЭМА), раково-эмбриональному антигену (РЭА), нейроэндокринным антигенам [13, 14]. Антитела к широкому спектру цитокератинов (PAN-антитела), к ЭМА выявляют практически все раковые опухоли легкого [11, 15]. Антитела к ЦК №№1, 4, 5, 6, 10, 13, 14, 16 арко окрашивают высокодифференцированные плоскоклеточные раки и значительно слабее - низкодифференцированные. Цитокератины, характерные для плоского эпителия (№№ 4, 5, 13, 14) в аденокарциномах легкого могут выявляться только очагово [16, 17]. Антитела к цитокератинам "простого" эпителия №№ 7, 8, 18, 19 (но не №20) интенсивно связываются с немужинозной аденокарциномой легкого и, менее ярко, с плоскоклеточными и нейроэндокринными раками. Виментин в раковых опухолях легкого, как правило, не выявляется. Но в низкодифференцированном/веретенчатом плоскоклеточном раке зачастую отмечается коэкспрессия цитокератинов и виментина, причем, в ряде опухолей отмечается преобладание экспрессии виментина [11]. Плоскоклеточный рак и его варианты (папиллярный, мелкоклеточный, базалоидный) позитивны на р63, ЦК 5/6 (в 90% случаев), ЦК высокого молекулярного веса (HMW), ЦК низкого молекулярного веса (LMW), РЭА-топо, ЭМА, CD138, CD141 [18]. Примерно в половине случаев отмечена реакция с поликлональными антителами к РЭА, а также на эпителиальный антиген BerEP4 [8, 13, 19].

Плоскоклеточный рак негативен на ЦК 7 (в 80%), ЦК 20, калретинин (calretinin), CD15, антиген WT-1. Опухолевые клетки лишь в 9% случаев могут окрашиваться на ТТФ-1. Необходимо подчеркнуть, что иммуногистохимически плоскоклеточные раки легкого исследуются только в случаях диагностики низкодифференцированных вариантов. Если в плоскоклеточном раке антитела к компонентам базальной мембраны (БМ) окрашивают БМ опухолевых гнезд в виде непрерывной линии, то такие новообразования принято считать высокодифференцированными и менее агрессивными, чем раки с разрушенной базальной мембраной [11, 13].

В новой международной мультисциплинарной классификации аденокарцином легких Международной ассоциации по изучению рака легких совместно с Американским торакальным обществом и Европейским респираторным обществом - IASLC/ATS/ERS [2, 20] выделены преинвазивные поражения, минимально инвазивная аденокарцинома~ и инвазивные аденокарциномы:

Преинвазивные состояния

- атипическая аденоматозная гиперплазия~

- аденокарцинома in situ (опухоль менее 3 см в диаметре, ранее называлась бронхоалоальвеолярной карциномой), может быть мужиной, немужиной или смешанной [21, 22]. Имеет чисто "чешуйчатый"-lepidic - характер роста клеток по межальвеолярным перегородкам, без признаков плевральной, стромальной или сосудистой инвазии. Межальвеолярные перегородки утолщены, но не разрушены. Аденокарцинома мужиной типа in situ позитивна на РЭА, ЭМА, ЦК 7, 8, 18, ЦК 20, CDX-2, BER-EP4 и негативна на виментин, ТТФ-1, сурфактант. Немужинозный тип аденокарциномы окрашивается на ЦК 7, 8, 18, ТТФ-1, BER-EP4, сурфактант, РЭА, ЭМА и негативен на виментин, ЦК 20, CDX-2 [8,13].

Минимально инвазивная аденокарцинома (менее 3 см. в диаметре, преимущественно "чешуйчатый" (lepidic)/альвеолоподобный тип строения с инвазией глубиной менее 5 мм.), мужиная, немужиная или смешанная. Отсутствуют признаки инвазии в сосуды и плевру. Прогноз хороший [15].

Инвазивную аденокарциному классифицируют по преобладающему гистологическому подтипу [2, 23], выделяют следующие гистологические подтипы:

- преимущественно чешуйчатый подтип - или альвеолоподобная (ранее называлась немужиной бронхоалоальвеолярная карцинома). Имеется сосудистая, плевральная и стромальная инвазия.

- преимущественно ацинарная карцинома. Выявляются округлые или овальные железы с просветом в центре, в котором может содержаться слизь. Крибозные и ацинарные структуры могут быть без слизи.

- преимущественно папиллярная. Определяются сосочковые структуры, выстланные цилиндрическими или кубоидальными клетками.

- преимущественно микропапиллярная. Выявляются скопления кубоидальных клеток, не имеющие фиброваскулярной стромы, нередко нередко в виде свободно «плавающих» сосочковых структур. Определяется стро-

мальная и сосудистая инвазия, видны псаммомные тельца. У этой опухоли неблагоприятный прогноз.

- преимущественно солидная инвазивная карцинома с выработкой муцина – прогностически неблагоприятная опухоль. Слизь должна быть обнаружена не менее чем в пяти клетках двух полей зрения при большом увеличении.

Варианты аденокарциномы: - инвазивная муцинозная (ранее называлась муцинозной бронхолюмоалвеолярной карциномой), зачастую мультилобарная, билатеральная состоит из призматических клеток с массивным слизиобразованием. Атипизм в клетках может быть слабо выражен.

- смешанная муцинозно-немучинозная аденокарцинома, верифицируется в тех случаях, если имеется не менее 10% каждого из компонентов.

- коллоидная - характеризуется озёрами слизи, в которых плавают скопления опухолевых бокаловидных клеток. Цитологическая атипия, как правило, минимальная. Чаще сочетается с другими подтипами карциномы.

- фетальная – состоит из железистых богатых гликогеном клеток, организованных в тубулярные структуры, что напоминает тубулы в фетальном лёгком. Опухоли могут быть низкой и высокой степени злокачественности. В фетальной карциноме имеются мутации в гене бета-катенина и наблюдается aberrantная ядерная и цитоплазматическая иммуногистохимическая реакция на этот белок.

- кишечная - это редкая опухоль, имеющая сходство с колоректальным раком, но отличается гетерогенностью структуры, когда присутствуют различные подтипы легочной аденокарциномы. Кишечный компонент должен составлять не менее чем 50% объема опухоли. Характерна экспрессия кишечных маркеров CDX2, ЦК 20, MUC-2, а также ЦК 7, TTF-1 (50% случаев), что позволяет отличить легочную карциному от метастаза колоректального рака (ЦК № 20, CDX-2 - позитивного и ЦК №7, TTF1 – негативного). Следует помнить, что могут наблюдаться ЦК 7 – отрицательные случаи кишечной карциномы легкого [19, 24].

Перстневидная и светлоклеточная карциномы~ выведены из классификации, так как подобные клеточные изменения могут встречаться в разных гистологических подтипах аденокарцином [25].

До 72-96% опухолей позитивны на TTF-1, однако экспрессия его в муцинозной карциноме чаще не наблюдается. До 50% аденокарцином экспрессируют белки сурфактанта~ А или В со специфичностью 100%. Окраска бывает лишь очаговая и в высокодифференцированных участках. Некоторые авторы считают, что сочетанное определение TTF-1 и белков сурфактанта повышает специфичность диагностики низкодифференцированных аденокарцином или их метастазов до 70% [13,14].

Аденокарциномы позитивны на ЭМА, РЭА, ЦК 7,8,18,19, VегEP4 (70% опухолей), негативны на ЦК 5/6, ЦК-НМW, р63. CDX-2 и ЦК20 выявляются в муцинозном подтипе аденокарциномы легкого. Надо также помнить, что до 30% опухолей (преимущественно низкодифференцированных) окрашиваются на виментин [8, 11].

Дифференциальная диагностика аденокарциномы легкого проводится с плоскоклеточным раком, метастатическими аденокарциномами, мезотелиомой, атипической аденоматозной гиперплазией, реактивными изменениями в рубце. РЭА, а также ЭМА не могут использоваться для дифференциальной диагностики первичного рака и метастатического поражения легкого, так как обнаруживаются в раковых опухолях различного происхождения [8,19].

W. D. Travis и соавт. предложили иммуногистохимический алгоритм для дифференциальной диагностики аденокарциномы и плоскоклеточного рака легкого, отмечено в операционном и биопсийном материале [12, 26, 27]. Им применялась следующая панель антител: TTF-1, р63, ЦК 5/6, ЦК-34BE12, причем наиболее информативными оказались первые 3. В операционном материале диффузная реакция на TTF-1 при негативной окраске на р63 была характерна для аденокарциномы, в то время как равномерная реакция на р63 при негативной окраске на TTF-1 была присуща плоскоклеточному раку. Если же оба маркера оказывались позитивными (при диффузной реакции на TTF-1 и фокальной – на р63), то делается заключение в пользу аденокарциномы. Опухоли с негативным статусом на оба маркера должны быть отнесены к аденокарциноме, так как р63-негативных плоскоклеточных раков не бывает, а 10% аденокарцином не экспрессируют TTF-1. Новый маркер Napsin-A (напсин А) не выявляется в плоскоклеточном раке и всегда обнаруживается в аденокарциномах [9].

Антитела к ЦК 5/6 связываются с элементами плоскоклеточного рака и не определяются в аденокарциномах. Из-за низкой специфичности для плоскоклеточного рака цитокератиновых антител клона 34BE12 авторы не рекомендуют включать их в диагностическую панель. Ряд новых маркеров плоскоклеточной дифференцировки (Desmocollin-3, Sox2, S100A7, микро РНК miR-205) нуждается в дальнейшем изучении их пригодности для повседневной диагностической практики. В биопсийном материале авторы показали полезность двух маркеров (TTF-1 и р63), которые практически во всех случаях позволяли отличить аденокарциному от плоскоклеточного рака.

Крупноклеточный рак (9% всех раков легкого) имеет несколько подвидов: базалоидный, лимфоэпителиоподобный, с рабдоидным фенотипом и смешанный крупноклеточный нейроэндокринный рак. Характерной его особенностью является отсутствие гистологических признаков мелкоклеточного, железистого или плоскоклеточного рака. При иммуногистохимическом исследовании опухоль оказывается либо низкодифференцированной аденокарциномой (ЦК 7+, TTF-1+), либо низкодифференцированным плоскоклеточным раком (ЦК-НМW/34BE12+, р63+). Лишь небольшая часть случаев крупноклеточного рака - это крупноклеточный нейроэндокринный рак (хромогранин+, синаптофизин+, CD56+, TTF-1+ в 50%, но ЦК 5/6-, р63-). Изредка встречаются случаи крупноклеточного рака, которые не могут быть отнесены ни к одной из указанных групп, экспрес-

сирующие лишь ЭМА и цитокератины (клон "рап"). В то же время крупноклеточный рак необходимо дифференцировать с атипичным карциноидом, с воспалительной псевдоопухолью, лимфомой, первичной лимфоидной гиперплазией легкого, с метастазами светлоклеточных опухолей (почек, слюнной железы, тимуса) [8].

Нейроэндокринные опухоли легкого на основе их морфологии и иммуногистохимических характеристик сейчас принято подразделять на 4 типа: типичный карциноид, атипичный карциноид, мелкоклеточный рак и крупноклеточный нейроэндокринный рак. Не применяются устаревшие термины: высокодифференцированный нейроэндокринный рак, нейроэндокринный рак (G1-3), нейроэндокринный рак из промежуточных клеток, злокачественный карциноид, периферический мелкоклеточный рак [2, 26].

До 85% всех этих новообразований реагирует с антителами к цитокератинам "простых" эпителиев. Около 50% карциноидов может давать негативную реакцию с пан-цитокератиновыми антителами различных клонов, в то время как мелкоклеточные раки окрашиваются на эти маркеры всегда. Иммунофенотип карциноида - включает в себя также позитивную реакцию на хромогранин, нейрон-специфическую энлазу (NSE), CD56, и чаще негативную - на белок S100. В части карциноидов может отмечаться положительная окраска на синаптофизин, адренокортикотропный гормон (АКТГ), кальцитонин, РЭА (моноклональные антитела) и, изредка, на белки нейрофиламентов и вазоактивный интестинальный пептид (VIP). Необходимо отметить неровную реакцию на цитокератины при использовании антител различных клонов. До 40% карциноидов экспрессирует мутантный белок p53.

Фенотип атипичного карциноида - отличается более низкой частотой экспрессии цитокератинов (до 40%), синаптофизина, АКТГ, РЭА. Постоянно выявляются NSE, Leu7, хромогранин А, CD56. Ki-67- позитивных клеток больше в атипичном карциноиде, чем в типичном. В обоих вариантах карциноида реакция на TTF1 положительна в 60-100% случаев.

Мелкоклеточные нейроэндокринные раки ЭМА и цитокератин - позитивны, однако характер окрашивания цитоплазмы у них другой, в виде перинуклеарных глыбок (dot-like), присущий всем нейроэндокринным опухолям. Выявляются в основном ЦК простых эпителиев №№ 8,18, 19, в то время как ЦК № 7, ЦК №20 обнаруживаются лишь в 10-15% случаев. Виментин в подавляющем числе наблюдений отсутствует. Почти всегда отмечается позитивная реакция на синаптофизин, РЭА (моноклональные антитела), CD56. В 50-60% случаев мелкоклеточного рака обнаруживаются следующие маркеры: NSE, АКТГ, хромогранин А, CD57, мутантный белок гена tp53. Более 90% опухолей дают ядерную реакцию на TTF-1 и менее 10% опухолей негативны на все нейроэндокринные маркеры [8, 13, 19].

Эксперты ВОЗ рекомендуют разделять нейроэндокринные новообразования легкого по уровню пролиферации на 3 группы [2]:

- Высокодифференцированная нейроэндокринная опухоль - менее 2% Ki-67-позитивных клеток
- Высокодифференцированный нейроэндокринный рак - от 2% до 15% Ki-67-позитивных клеток
- Низкодифференцированный нейроэндокринный рак - более 15% Ki-67-позитивных клеток.

Для отличия нейроэндокринных мелкоклеточных раков от других новообразований легкого (например, мелкоклеточного плоскоклеточного рака) применяют панель из антител к нейрон-специфической энлазе, хромогранину, синаптофизину, Leu-7, TTF1, которые в первом случае дают положительную реакцию. По мнению некоторых авторов, высокий уровень пролиферации (по белку Ki-67) и экспрессия Her2/neu позволяет выделить группу агрессивно-текущих мелкоклеточных раков [28,29, 30].

Крупноклеточный нейроэндокринный рак отличается постоянной экспрессией цитокератинов, РЭА (моноклональные антитела), антигена PGP9.5, высокой частотой (более 80%) окрашивания на NSE, хромогранин А, CD56. Менее чем в 40% случаев выявляются синаптофизин, АКТГ, Leu7, кальцитонин. TTF-1 обнаруживается лишь в 50% опухолей, позитивная реакция на ЦК №№ 8/18 встречается не всегда (нередко в виде dot-like) [8].

Необходимо отметить, что до 30% первичных плоскоклеточных раков, аденокарцином и крупноклеточных раков легкого могут экспрессировать нейроэндокринные маркеры с различной интенсивностью.

Базалоидный рак состоит из гнезд относительно малодифференцированных клеток с палисадоподобным их расположением по периферии гнезда. Может наблюдаться слабая железистая или плоскоклеточная дифференцировка. Подобные опухоли необходимо дифференцировать с крупно- и мелкоклеточным нейроэндокринным раком, атипичным карциноидом. В отличие от нейроэндокринных раков базалоидная карцинома экспрессирует высокомолекулярные цитокератины плоских эпителиев и не окрашивается на нейроэндокринные маркеры.

Гигантоклеточный рак легкого с клеточными элементами диаметром более 40 мкм характеризуется неровной окраской на ЭМА, РЭА, ЦК №№ 7,18 и, нередко, негативной на ЦК №№ 8,19. Может отмечаться коэкспрессия виментина. Характерен высокий уровень пролиферации, оцениваемый по Ki-67. Этот рак необходимо дифференцировать с меланомой и с метастазами мягкотканых сарком [6,8].

В легочной бластоме, состоящей из эпителиального и веретенноклеточного компонентов, эпителиальные клетки экспрессируют цитокератины, РЭА, ЭМА, а веретеновидные - виментин и, в зависимости от направления дифференцировки, десмин, актин, белок S100 или нейроэндокринные маркеры. Бета-катенин в легочной бластоме окрашивает цитоплазму и/или ядро, в отличие от карциносаркомы, где видна мембранная реакция.

Лимфоэпителиальный рак (CD45-негативный) может походить на лимфому и диагностируется с помощью МКАТ к ЦК широкого спектра, ЭМА, BER-EP4, которые, нередко, выявляются в немногих эпителиальных клетках только после процедуры демаскировки антигенов [8,19].

Саркоматоидный рак гистологически имеет картину низкодифференцированной немелко-клеточной опухоли с веретено- и/или гигантоклеточным компонентом. Для выявления эпителиальной дифференцировки полезны ЦК-пан, ЭМА, ЦК 7 (50-60% случаев), TTF-1 (позитивен в 40-70% наблюдений). Реакция на сурфактант негативна. В зависимости от направления дифференцировки саркоматоидного рака (железистый или плоский эпителий) клетки опухоли могут окрашиваться соответственно на эпителиальный антиген МОС-31 (40-100%) или р63 (50% случаев) [8].

Карциносаркома - двухкомпонентная злокачественная опухоль, где саркоматозным компонентом могут быть мышечные, хрящевые или остеобластные клетки. Карциноматозный компонент в карциносаркоме легкого может быть представлен плоскоклеточным раком, аденокарциномой или недифференцированным крупноклеточным раком и характеризуется позитивной реакцией на эпителиальные антигены (ЦК №№ 7,8,18, р63, TTF-1, РЭА, ЭМА, ВЕР-EP4 и др.) при негативной окраске на виментин. Саркоматозный компонент ярко реагирует на виментин и слабее/или негативен на эпителиальные маркеры. Саркоматозный компонент может быть представлен мышечными, хрящевыми или остеобластными клетками с соответствующей реакцией на десмин, миоглобин, S100, SOX 9, остеонектин [26, 31].

До 50% крупноклеточных недифференцированных раков и низкодифференцированных аденокарцином легкого дают гетерогенную коэкспрессию цитокератинов и виментина, а также содержат группы клеток, реагирующих с антителами к нейроэндокринным антигенам. Некоторые авторы предлагают относить такие новообразования к крупноклеточным нейроэндокринным ракам и проводить во всех крупноклеточных опухолях анализ нейроэндокринных маркеров. Это связано с плохим прогнозом течения заболевания и необходимостью проведения у таких больных различных режимов химиотерапии [8].

Надо отметить, что важную роль в патогенезе и развитии так называемого немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) играет рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), который представляет собой трансмембранный белок; эпидермальный фактор роста (EGF) связывается с той частью рецептора, которая находится снаружи клетки. Это приводит к активации EGFR, в результате чего запускается сложный сигнальный каскад внутри клетки, приводящий к её ускоренному росту и делению, а также способствует метастазированию [32,33]. Иммуногистохимически экспрессию белка EGFR в НМРЛ не выявляют. На сегодня существуют препараты (ингибиторы тирозинкиназы-ТК EGFR) которые селективно ингибируют этот рецептор [34, 35]. При лечении ингибиторами ТК EGFR улучшение состояния наблюдается у 80% пациентов с мутациями EGFR и менее чем у 10% пациентов без мутаций. У отдельных пациентов с мутациями EGFR положительный эффект очень сильный и длительный [36]. Однако лишь около 10% случаев НМРЛ чувствительны к ингибиторам ТК EGFR. Это связано с гетерогенностью активирующих мутаций в экзонах 18, 19, 21 гена EGFR. По рекомендациям Европейского Общества Медицинских Онкологов (ESMO) наличие мутаций в гене EGFR является показанием к применению ингибиторов ТК EGFR [37, 38, 39]. Самый распространенный метод определения мутаций EGFR является аллель специфическая полимеразная цепная реакция (ПЦР), с применением зондов типа Scorpions. Надо отметить, что мутации в гене k-ras (15-30% больных) приводят к нечувствительности опухоли к ингибиторам ТК EGFR. Недавно обнаружены другие генетические аномалии – транслокации генов EML4-ALK, которые делают клетки аденокарциномы легкого чувствительными к новой группе таргетных препаратов-ингибиторам ALK [40, 41, 42, 43].

Метастатические поражения легкого встречаются чаще первичных опухолей этого органа. К тому же нередко гистоструктура метастазов и первичных опухолей в легком бывает сходной [44, 45]. Наиболее часто для дифференциальной диагностики аденокарцином используют антитела к ЦК №№ 7,20, к TTF1 [8]. Многие опухоли желудочно-кишечного тракта (но не кишечный рак), некоторые почечноклеточные раки, эпителиальные опухоли тела и шейки матки, яичников, переходноклеточные раки также экспрессируют ЦК №7 [24, 46].

Рак молочной железы может метастазировать в легкие и плевру через много лет после постановки диагноза и комбинированного лечения. Выявление гормонов-рецепторов и онкобелка HER2/neu, маммаглобина, белка GCDFF-15, белка ВСА-225, подтверждает диагноз метастаза рака молочной железы. Опухоли легкого не проявляют иммунореактивности на рецепторы эстрогенов и прогестерона, лишь в редких случаях позитивную очаговую ядерную реакцию на гормонорецепторы дает мелко-клеточный рак [19, 47].

Для определения органной принадлежности других метастазов в легком применяются современные алгоритмы и наборы органо- и цитоспецифических антител [8, 48, 49].

Приводим опыт внедрения систем маркёров для иммуногистохимической и генетической диагностики злокачественных опухолей лёгкого в Приволжском Федеральном округе.

Нами в РКОД МЗ Татарстана в 2012-2013 гг. дифференциальная диагностика 365 аденокарцином легкого проводилась с плоскоклеточным раком (ПКР), метастатическими аденокарциномами, с мезотелиомой, с атипической аденоматозной гиперплазией, с реактивными изменениями в рубце. Использовался предложенный Rekhman N. и соавт. [12, 50] иммуногистохимический алгоритм, состоящий из следующих антител: TTF-1, р63, цитокератины №5/6, цитокератин №7, напсин-А. В операционном материале диффузная реакция на TTF-1, ЦК №7, напсин-А при негативной окраске на р63 была характерна для аденокарциномы, в то время как равномерная реакция на р63 при негативной окраске на TTF-1 была присуща плоскоклеточному раку. Если же оба маркера оказывались позитивными (при диффузной реакции на TTF-1 и фокальной – на р63), то делалось заключение

в пользу аденокарциномы. Опухоли с негативной реакцией на оба маркера были отнесены к аденокарциноме. Napsin-A не выявлялся в плоскоклеточном раке и всегда обнаруживался в аденокарциномах. Антитела к ЦК 5/6 связывались с элементами плоскоклеточного рака и не реагировали с аденокарциномами. Таким образом, мы смогли достоверно подтвердить диагноз аденокарциномы и отвергнуть диагноз ПКР. Затем на архивном фиксированном в формалине материале изучали мутации в гене EGFR с помощью смеси праймеров и зондов. ДНК выделяли с помощью наборов ООО «Тест-Ген». Для персонализированного подхода к выбору терапии тестировали статус мутаций, имеющих практическую значимость – это, в первую очередь, делеции экзона 19 и мутации L858R и L861Q, определяющие около 90% спектра мутаций тирозинкиназного домена гена EGFR [51, 52]. Всего за 2012 год было проведено 391 исследование EGFR статуса больным Приволжского ФО с аденокарциномой лёгкого. Из них 83 больной имел мутации в гене EGFR (делеции в 19 экзоне и мутации L858R), что составляет 21,2%. По регионам Приволжского федерального округа результаты были следующими: Татарстан – проведено 119 определений и у 30 выявлены мутации (25%), Саратовская область - из 129 определений выявлены мутации у 22 больных (17%). Башкортостан - из 50 определений у 14 выявлены мутации (28%), Самарская область - из 40 определений у 2 выявлены мутации (4%), Пензенская область - из 78 определений у 8 выявлены мутации (5%), Нижегородская область - из 41 определения у 7 выявлены мутации (17%). Из всех носителей мутаций 68% составляли женщины, статус курильщиков имели 10%.

Заключение

Иммуногистохимический метод позволяет достоверно верифицировать аденокарциному лёгкого, что служит основанием для дальнейшего молекулярно-генетического исследования мутационного статуса опухоли с последующим адекватным назначением таргетной терапии. Маркерами эффективности анти-тирозинкиназы, кроме мутационного статуса EGFR и отсутствия транслокации гена ALK, могут служить также диагноз аденокарциномы лёгкого, женский пол, принадлежность к тюркской (монголоидной) группе, статус курения. Современная морфологическая диагностика аденокарцином лёгкого с последующим молекулярно-генетическим анализом мутаций гена EGFR, транслокации гена ALK позволяет формировать оптимальную тактику лечения пациентов. ■

Петров Семён Венидиктович – д.м.н., профессор кафедры общей патологии Казанского государственного медицинского университета; Гордиев Марат Гордиевич — заведующий молекулярно-генетической лабораторией; Республиканского клинического онкологического диспансера МЗ РТ, Казань; Ахметов Тимур Рустамович – к.м.н., старший преподаватель кафедры общей патологии Казанского государственного медицинского университета, г. Казань; Автор, ответственный за переписку Петров С.В., 420012, г.Казань, ул. Бутлерова, д.49, кафедра общей патологии

Литература:

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.М. *Злокачественные новообразования в России в 2012 г., М., НИИ им. Герцена, 2014: 250. Режим доступа: свободный http://www.oncology.ru/service/statistics/malignant_tumors/2012.pdf*
2. Travis W.D., Brambilla E., Noguchi M. et al. *The new IASLC/ATS/ERS international multidisciplinary lung adenocarcinoma classification. J. Thoracic Oncol., 2011; 6: 244-85.*
3. Hirsch F. R., Vignani A., Novello S., Wood M. D., Simms L., Papotti M. *The prognostic and predictive role of histology in advanced non-small cell lung cancer: a literature review // Journal of Thoracic Oncology 2008; 3 (12): 1468-81.*
4. Spiro S. G., Tanner N. T., Silvestri G. A., et al. *Lung cancer: Progress in diagnosis, staging and therapy. Respirology 2010; 15 (1): 44-50.*
5. Gibbs A.R., Whimster W.F. *Tumors of the lung and pleura. In: Fleicher CDM, ed. Diagnostic histopathology of tumors. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1995: 127-50.*
6. Travis W.D., Brambilla E., Muller-Hermelink H.K., Harris C.C. *Pathology and Genetics of Tumors of the Lung, Pleura, Thymus and Heart, in: World Health Organization Histological Classification of Tumors, IARC Press, Lyon, France, 2004: 9-144.*
7. Travis W. D., Brambilla E., Noguchi M., et al. / *International Association for the Study of Lung Cancer/ American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Classification of Lung Adenocarcinoma. Journal of Thoracic Oncology 2011; 6 (2): 244-85.*
8. Петров С.В., Раихлин Н.Т. *Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. 4-е изд. 2012. Казань: Тумул: 624.*
9. Mukhopadhyay S., Katzenstein A. L. *Subclassification of Non-small Cell Lung Carcinomas Lacking Morphologic Differentiation on Biopsy Specimens: Utility of an Immunohistochemical Panel Containing TTF-1, Napsin A, p63, and CK5/6. Am. J. Surg. Pathol. 2011; 35 (1): 15-25.*
10. Whithaus K., Fukuoka J., Prihoda T J., Jagirdar J. *Evaluation of napsin A, cytokeratin 5/6, p63, and thyroid transcription factor 1 in adenocarcinoma versus squamous cell carcinoma of the lung. Archives in Pathology & Laboratory Medicine 2012; 136 (2): 155-*

- 62.
11. Dabbs D. J. *Diagnostic immunohistochemistry*. Edinburgh: Churchill Livingstone 2010: 752.
 12. Rekhtman N., Ang D.C., Sima C.S., Travis W., Moreira A.L. *Immunohistochemical algorithm for differentiation of lung adenocarcinoma and SCC based on large series of whole-tissue sections with validation in small specimens*. *Modern Pathol.* 2011; 24: 1348-59.
 13. Taylor C.R., Cote C.R. *Immunomicroscopy: a diagnostic tool for the surgical pathologist*. Philadelphia. 3d edition. Saunders. 2006: 452.
 14. Nonaka D. *A Study of ΔNp63 Expression in Lung Non-Small Cell Carcinomas*. *The American Journal of Surgical Pathology* 2012; 36(6): 895-9.
 15. Полежаев Д. А., Раскин Г. А., Феденко А. А. *Рекомендации по диагностике рака легкого*. М: ГистоЛогика 2011: 30.
 16. Ang D. C., Ghaffar H., Zakowski M. F. *Expression of squamous markers in lung adenocarcinoma (AD): clinicopathologic and molecular correlates, and implications for differentiation from squamous cell carcinoma (Sq CC)*. *Modern Pathology*; 2010; 90 (Suppl.): 397A.
 17. Terry J., Leung S., Laskin J., Leslie K. O., Gown A. M., Ionescu D. N. *Optimal immunohistochemical markers for distinguishing lung adenocarcinomas from squamous cell carcinomas in small tumor samples*. *The American Journal of Surgical Pathology* 2010; 34 (12): 1805-11.
 18. Rekhtman N., Ang D. C., Sima C. S., Travis W. D., Moreira A. L. *Immunohistochemical algorithm for differentiation of lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma based on large series of whole-tissue sections with validation in small specimens*. *Modern Pathology* 2011; 24 (10): 1348-59.
 19. Jagirdar J. *Application of immunohistochemistry to the diagnosis of primary and metastatic carcinoma to the lung*. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2008; 132: 384-96.
 20. Russell P. A., Wainer Z., Wright G. M., Daniels M., Conron M., Williams R. A. *Does Lung Adenocarcinoma Subtype Predict Patient Survival?: A clinicopathologic Study Based on the New International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Lung Adenocarcinoma Classification*. *J. of Thoracic Oncology* 2011; 6 (9): 1496-504.
 21. Бычков М.Б., Горбунова В.А. *Клинические рекомендации по диагностике и лечению больных раком легкого*. М. 2014: 26. Режим доступа: свободный <http://www.oncology.ru/association/clinical-guidelines/2014/19.pdf>
 22. Васин В. А., Мншнович М. В., Васин И. В., Снегур С. В. *Клинико-морфологическое наблюдение бронхоалопаальвеолярного рака легкого*. *Архив патологии*. 2008; 2: 43-5.
 23. Zakowski M. F., Hussain S., Pao W., et al. *Morphologic features of adenocarcinoma of the lung predictive of response to the epidermal growth factor receptor kinase inhibitors erlotinib and gefitinib*. *Archives in Pathology & Laboratory Medicine* 2009; 133: 470-7.
 24. Паклина О.В., Сетдинова Г.Р., Гордиенко Е.Н., Никитин П.Н. *Гепатоидная аденокарцинома легкого с множественными метастазами в тонкую кишку*. *Архив патологии* 2011; 2: 40-2.
 25. Yoshida A., Tsuta K., Watanabe S., et al. *Frequent ALK rearrangement and TTF-1/p63 co-expression in lung adenocarcinoma with signet-ring cell component*. *Lung Cancer* 2011; 72 (3): 309-15.
 26. Павловская А. И., Кондратьева Т. Т., Петров С. В. и др. *Современные принципы морфологической диагностики немелкоклеточного рака легкого на малом биопсийном и цитологическом материале*. *Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН*. 2012; 23 (1): 62-8.
 27. Sigel C. S., Friedlander M. A., Zakowski M. F., et al. *Subtyping of non-small cell lung carcinoma (NSCLC): comparison of cytology and small biopsy specimens*. *Modern Pathology* 2010; 23: 414A.
 28. Иванцов А. О., Имянитов Е. Н., Моисеенко В. М., Мацко Д. Е. *Особенности экспрессии молекулярно-биологических маркеров пролиферации и апоптоза у больных раком легкого с мутацией рецептора эпидермального фактора роста*. *Архив патологии* 2009; 6: 9-12.
 29. Козан Е.А., Узрямов Д.А. *Соотношение процессов пролиферации и клеточной гибели в немелкоклеточном раке легкого с железистой дифференцировкой на разных стадиях опухолевой прогрессии*. *Архив патологии* 2002; 1: 33-6.
 30. Zakowski M. F. *Pathology of small cell carcinoma of the lung*. *Seminars in Oncology* 2003; 30 (1) – P. 3-8.
 31. Павловская А. И., Кондратьева Т. Т., Петров С. В. и др. *Морфологическая диагностика в распределении гистологических типов и вариантов рака легкого: анализ данных в рамках проекта «ГистоЛогика»*. *Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН*. – 2011; 4: 97-105.
 32. Rekhtman N., Brandt S. M., Sigel C. S. *Suitability of thoracic cytology for new therapeutic paradigms in non-small cell lung carcinoma: high accuracy of tumor subtyping and feasibility of EGFR and KRAS molecular testing*. *Journal of Thoracic Oncology* 2011; 6 (3): 451-8.
 33. Wu S. G., Gow C. H., Yu C. J., et al. *Frequent EGFR mutations in malignant pleural effusion of lung adenocarcinoma*. *European Respiratory Journal* 2008; 32: 924-30.
 34. Marks J. L., Broderick S., Zhou Q. *Prognostic and therapeutic implications of EGFR and KRAS mutations in resected lung adenocarcinoma*. *Journal of Thoracic Oncology* 2008; 3(2): 111-6.
 35. Ciuleanu T., Brodowicz T., Zielinski C., et al. *Maintenance pemetrexed plus best supportive care versus placebo plus best supportive care for non-small-cell lung cancer: a randomised, double-blind, phase 3 study*. *Lancet* 2009; 374 (9699): 1432-40.
 36. Pirker R., Filipits M. *Targeted therapies in lung cancer*.

- Curr. Pharm. Des.* 2009; 15: 188–206.
37. Scagliotti G., Hanna N., Fossella F. The differential efficacy of pemetrexed according to NSCLC histology: a review of two phase III studies. *Oncologist* 2009; 14 (3): 253–63.
 38. Pirker R., Pereira J. R., Szczesna A. et al. Cetuximab plus chemotherapy in patients with advanced non-small-cell lung cancer (FLEX): an open-label randomised phase III trial. *Lancet* 2009; 373: 1525–31.
 39. Sandler A. Bevacizumab in non-small cell lung cancer. *Clinical Cancer Research* 2007; 13 (15) (part 2): s4613–s4616.
 40. Horn L., Pao W. EML4-ALK: honing in on a new target in non-small-cell lung cancer. *Journal of Clinical Oncology* 2009; 27 (26): 4232–5.
 41. Коган Е.А., Сагиндикова Г.С., Секамова С.М., Жак Г. Морфологические, цитогенетические и молекулярно-биологические особенности рака легкого, развившегося у лиц, длительное время проживавших на радиоактивно-загрязненных территориях Семипалатинской области Казахстана. *Архив патологии* 2002; 5: 13–8.
 42. Thunnissen E., Bubendorf L., Dietel M. et al. EML4-ALK testing in non-small cell carcinomas of the lung: a review with recommendations. *Virchows Arch.* 2012; 461: 245–57.
 43. Kwak E. L., Bang Y. J., Camidge D. R. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *The New England Journal of Medicine* 2010; 363 (18): 1693–703.
 44. Велижева Н. П., Дардык М. В., Петров С. В. и др. Необходимый минимум данных для направления и заключения морфолога при раке легкого: рекомендации для клиницистов и патологов. *Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН* 2013; 24 (1): 40–9.
 45. Черняев А.Л., Самсонова М.В. Патологическая анатомия лёгких: Атлас. 2-е изд.-М.: Изд. дом «Атмосфера» 2011: 112.
 46. Chuang M. T., Marchevsky A., Teirstein A. S., Kirschner P. A., Kleinerman J. Diagnosis of lung cancer by fiberoptic bronchoscopy: problems in the histological classification of non-small cell carcinomas. *Thorax* 1984; 39 (3): 175–8.
 47. Rivera M. P., Mehta A. C. Initial diagnosis of lung cancer: ACCP evidence-based clinical practice guidelines (2nd edition). *Chest* 2007; 132 (Suppl. 3): 131S–148S.
 48. Flieder D. B., Hammar S. P. Common Non-Small-Cell Carcinomas and Their Variants. In Tomaszewski J. F., Cagle P. T., Farver C. F., Fraire A. E. (Editors) *Dail and Hammar's Pulmonary Pathology, Vol. II Neoplastic Lung Disease, Third edition – Springer Science+Business Media: LLC* 2008: 216–308.
 49. Nizzoli R., Tiseo M., Gelsomino F. Accuracy of fine needle aspiration cytology in the pathological typing of nonsmall cell lung cancer. *Journal of Thoracic Oncology* 2011; 6 (3): 489–93.
 50. Kratz J. R., He J., Van Den Eeden S. K. et al. A practical molecular assay to predict survival in resected nonsquamous, non-small-cell lung cancer: development and international validation studies. *Lancet* 2012; 379 (9818): 823–32.
 51. Schneider C. P., Heigener D., Schott-von-Romer K., et al. Epidermal Growth Factor Receptor-Related Tumor Markers and Clinical Outcomes with Erlotinib in Non-small Cell Lung Cancer An Analysis of Patients from German Centers in the TRUST Study. *Journal of Thoracic Oncology* 2008; 3 (12): 1446–53.
 52. Zhang X., Zhao Y., Wang M., et al. Detection and comparison of epidermal growth factor receptor mutations in cells and fluid of malignant pleural effusion in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2008; 60: 175–82.