

Нейроэндокринные опухоли легкого: современная классификация и алгоритм морфологической диагностики

В.В. Делекторская

ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;
Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Вера Владимировна Делекторская delektorskaya@yandex.ru

Нейроэндокринные опухоли (НЭО) бронхолегочной локализации объединяют одну из наиболее распространенных категорий, входящих в гетерогенную группу нейроэндокринных новообразований человека. Опухоли данного типа часто встречаются в практической диагностической работе морфолога, однако их классификация и гистологическая градация не являются точным повторением подходов, разработанных для НЭО желудочно-кишечного тракта и поджелудочной железы. Номенклатура НЭО легких до сих пор основана на использовании термина «карциноид». В последней классификации опухолей легких Всемирной организации здравоохранения, опубликованной в 2015 г., все НЭО данной локализации впервые представлены в одной общей главе. В соответствии с данной классификационной схемой в группу нейроэндокринных пролиферативных процессов входят карциноидные опухоли (включая типичный и атипичный карциноиды), крупноклеточный нейроэндокринный рак, мелкоклеточный рак легкого и диффузная идиопатическая гиперплазия нейроэндокринных клеток как преинвазивное поражение, которое может предшествовать развитию карциноидных опухолей. Каждый вариант НЭО легких имеет характерные морфологические и иммуногистохимические признаки, которые являются ключевыми критериями для диагностики этих опухолей. Морфологические параметры определения степени злокачественности НЭО легких остались неизменными в новой редакции. Однако имеются противоречивые моменты в отношении роли антигена Ki-67 в системе градации НЭО легких при анализе резецированных образцов и малого диагностического материала. Данный обзор обобщает основные ключевые вопросы в области классификации и морфологической диагностики бронхопульмональных НЭО, ответы на которые все еще не являются окончательными. Таким образом, необходимы дополнительные исследования для того, чтобы улучшить наши представления о НЭО данной локализации.

Ключевые слова: легкое, нейроэндокринная опухоль, рак, карциноид, крупноклеточный нейроэндокринный рак, мелкоклеточный рак, классификация, диагностика, иммуногистохимия

DOI: 10.17650/2313-805X-2017-4-2-46-58

Neuroendocrine tumors of the lung: the current classification and pathology diagnosis algorithm

V.V. Delektorskaya

N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

Bronchopulmonary neuroendocrine tumors (NET) comprise one of the most common categories within the heterogeneous group of human neuroendocrine neoplasms. Tumors of this type often occur in practical pathology diagnosis; however, their classification and histological grading are not the same as for the gastrointestinal and pancreatic NET. Terminology of lung NET is still based on using the term «carcinoid». In the recent World Health Organization classification of lung tumors published in 2015, all NETs of this localization for the first time were presented in one single chapter. According to the current classification scheme the group of neuroendocrine proliferation processes consists of carcinoid tumors (including typical carcinoid and atypical carcinoid), large-cell neuroendocrine carcinoma and small cell lung carcinoma, along with diffuse idiopathic pulmonary neuroendocrine cell hyperplasia as a pre-invasive lesion with a potential toward the development of carcinoids. Each tumor category has characteristic morphological and immunohistochemical features, which are the key diagnostic criteria of these tumors. Histology parameters for grading have remained unchanged in new edition. However, uncertainties remain in relation to the role of Ki-67 in tumor grading in resection specimens and small samples. This review outlines the main key questions in the field of classification and pathology diagnosis of lung NET, the answers to which are still inconclusive. Thus additional research is required to improve our understanding on NET of this localization.

Key words: lung, neuroendocrine tumor, carcinoma, carcinoid, large cell neuroendocrine carcinoma, small cell carcinoma, classification, diagnosis, immunohistochemistry

Введение

Нейроэндокринные опухоли (НЭО) бронхолегочной локализации объединяют одну из наиболее типичных и распространенных категорий в общем спектре новообразований, развивающихся из клеток диффузной нейроэндокринной системы. Эти образования пред-

ставляют собой важную группу первичных опухолей данной локализации и самостоятельную категорию злокачественных эпителиальных новообразований, которые демонстрируют общие морфологические и биологические нейроэндокринные характеристики, выделяющие их среди других типов опухолей легкого [1–4].

Бронхолегочные НЭО составляют, по последним данным, 27 % среди всех разновидностей НЭО различных анатомических локализаций, следуя за пищеварительной системой, и примерно 20–25 % от общего числа злокачественных опухолей легкого. Несмотря на то, что НЭО легкого относятся к относительно редким опухолям, частота их выявления постоянно увеличивается на протяжении нескольких последних десятилетий (исключение составляет мелкоклеточный рак легкого (МРЛ)) [5, 6].

НЭО легкого, также как НЭО желудочно-кишечного тракта и других локализаций, образуют крайне разнородную группу в отношении биологического поведения и клинических проявлений [7, 8].

Большинство НЭО бронхопьюльмональной системы – спорадические новообразования, однако приблизительно в 15–20 % случаев они могут развиваться в рамках наследственного синдрома множественной эндокринной неоплазии 1-го и 2-го типов или других наследственных синдромов. Эти опухоли делятся на функционирующие и нефункционирующие новообразования в зависимости от уровня гормональной активности и клинической симптоматики. Они обладают способностью синтезировать биологически активные вещества и пептидные гормоны, такие как серотонин, кальцитонин, бомбезин, гастрин, соматостатин, адренкортикотропный гормон, гормон роста и могут быть клинически ассоциированы с карциноидным или другими синдромами гормональной гиперпродукции [9–11].

НЭО легкого часто встречаются в практической диагностической работе морфолога, однако критерии их морфологической классификации и гистологической градации не являются точным повторением подходов, разработанных для НЭО пищеварительной системы.

Современная классификация и подходы к морфологической диагностике нейроэндокринных опухолей легкого

Морфологический диагноз НЭО бронхопьюльмональной локализации определяется на основе системы гистологических критериев, включенных в классификацию опухолей плевры, легкого, тимуса и сердца, 4-я редакция которой разработана Всемирной организацией здравоохранения (World Health Organization, WHO) в 2015 г., и является наиболее широко используемой в настоящее время [12].

Несмотря на достаточно распространенное мнение о необходимости создания одинаковой системы для классификации НЭО различной локализации, в том числе для легкого по аналогии с НЭО желудочно-кишечного тракта и поджелудочной железы, ведущая организация Европейское общество по изучению НЭО (the European Neuroendocrine Tumor Society, ENETS) одобрила классификацию WHO (2015), разработанную для бронхопьюльмональных НЭО [13].

Классификация (WHO, 2015), по сути, подтвердила целесообразность выделения 4 основных общепринятых гистологических вариантов НЭО легких, детальная характеристика которых была представлена в 2 предыдущих редакциях 1999 [14] и 2004 гг. [15]. В соответствии с данной классификацией к основным гистологическим вариантам НЭО легкого относятся типичный карциноид (ТК), атипичный карциноид (АК), крупноклеточный нейроэндокринный рак (КНЭР) и МРЛ [12].

Следует обратить внимание на то, что в последней редакции (WHO, 2015) предложена новая классификационная схема, согласно которой все нейроэндокринные пролиферативные процессы легких впервые представлены в одной общей главе (табл. 1). В предыдущих классификациях WHO карциноидные опухоли, МРЛ и КНЭР располагались в отдельных главах [14, 15]. В настоящей классификации они впервые сгруппированы вместе. МРЛ более не рассматривается как отдельная нозологическая единица, которая противопоставляется мелкоклеточному раку легкого (НМРЛ). КНЭР перемещен в данную главу из раздела, объединяющего различные варианты крупноклеточного рака легких. Опухоли представлены в порядке уменьшения частоты их развития, начиная с МРЛ как наиболее распространенного типа НЭО бронхолегочной локализации.

Таким образом, все 4 основных варианта бронхолегочных НЭО объединены в группу опухолей, демонстрирующих наличие общих признаков нейроэндокринной морфологии и дифференцировки. Кроме того, инвазивные опухоли были объединены с преинвазивными поражениями путем добавления в данную главу диффузной идиопатической гиперплазии нейроэндокринных клеток легкого (diffuse idiopathic pulmonary neuroendocrine cell hyperplasia), которая может предшествовать развитию карциноидных опухолей [12].

Для бронхопьюльмональной локализации НЭО сохранили терминологию, основанную на использовании термина «карциноид». При этом, несмотря на критику

Таблица 1. Классификация нейроэндокринных поражений легкого (Всемирная организация здравоохранения, 2015)

№	Тип опухоли
1.	Преинвазивные нейроэндокринные поражения легкого • Диффузная идиопатическая гиперплазия нейроэндокринных клеток легкого
2.	Типичная карциноидная опухоль
3.	Атипичная карциноидная опухоль
4.	Крупноклеточный нейроэндокринный рак • Чистый • Комбинированный
5.	Мелкоклеточный рак легкого • Чистый • Комбинированный

и существование других синонимов для нейроэндокринных новообразований пищеварительной системы (WHO, 2010), определения «типичный карциноид» и «атипичный карциноид» продолжают употребляться как диагностические термины для обозначения высокодифференцированных НЭО легкого, а термин «нейроэндокринные опухоли» используют для обозначения всей группы нейроэндокринных новообразований данной локализации, включая низкодифференцированные варианты (КНЭР и МРЛ).

В соответствии с действующей классификацией WHO [12] и последними рекомендациями ENETS [13] НЭО легких различают по степени дифференцировки и степени злокачественности. Если расположить опухоли в порядке возрастания их биологической агрессивности, то ТК и АК образуют группу высокодифференцированных НЭО низкой и промежуточной степени злокачественности соответственно, а КНЭР и МРЛ составляют группу низкодифференцированных НЭО высокой степени злокачественности.

В целом диагностические критерии для разграничения основных вариантов НЭО легкого остались неизменными в новой редакции, отдельные рекомендации даны для анализа малого диагностического материала.

Современное состояние проблемы градации нейроэндокринных опухолей легкого

Гистологическая градация НЭО является одним из основных способов оценки их биологической агрессивности.

Для НЭО легкого неоспоримая и основополагающая система градации включена в последнюю гистологическую классификацию WHO (2015) [12]. Данная система выделяет ключевые критерии для межвариантной морфологической диагностики 4 основных подтипов НЭО легкого, которые включают митотическую активность и присутствие некрозов.

Поскольку показано, что уровень пролиферативной активности обеспечивает точную прогностическую информацию, последняя была использована наряду с выраженностью некрозов для того, чтобы разделить группу НЭО легкого на 3 прогностически значимые подгруппы по степени злокачественности. Проллиферативная активность выражается как количество митозов, которое определяется при большом увеличении микроскопа на единицу площади опухоли (обычно

на 2 мм²). При гистологическом исследовании НЭО легкого демонстрируют прогрессивное увеличение числа митотических фигур и распространенности некрозов, при этом для ТК характерны наименьшие значения, для МРЛ – наибольшие (табл. 2).

Классификация WHO (2015) выделяет 3 степени злокачественности НЭО легкого, при этом каждый уровень градации основан на объективных морфологических признаках и имеет высокие достоверную клиническую значимость и прогностическую ценность.

Следует отметить, что некоторые исследования предлагают проводить дополнительный анализ порогового уровня митозов, чтобы определить оптимальные значения для разграничения 3 степеней злокачественности [10, 16]. Так, С.А. Moran и соавт. выделяют в качестве пороговых значений для разграничения 3 категорий НЭО легкого (ТК, АК, МРЛ/КНЭР) показатели ≤ 3 , 4–9 и ≥ 10 митозов в 10 полях зрения при большом ($\times 400$) увеличении микроскопа [17]. Поэтому морфологическое заключение должно содержать помимо степени злокачественности НЭО конкретные показатели пролиферативной активности опухолевых клеток.

Индекс пролиферативной активности опухолевых клеток Ki-67 (клон MIB-1) является важным параметром для уточнения степени злокачественности НЭО различной локализации и неотъемлемой, прогностически значимой частью системы определения степени злокачественности НЭО пищеварительной системы (WHO, 2010) [18–20].

В последние годы определение индекса Ki-67 как дополнительного показателя градации НЭО легкого также приобрело большую популярность. Данный показатель впервые включен в классификацию НЭО легкого (WHO, 2015) как дополнительный критерий межвариантной диагностики, однако его использование имеет некоторые ограничения (табл. 3). Иммуногистохимическое (ИГХ) определение индекса Ki-67 рекомендовано для разграничения категории карциноидных опухолей, в которой он, как правило, составляет $< 20\%$, и НЭО высокой степени злокачественности, где данный показатель обычно $> 50\%$ положительно окрашенных ядер опухолевых клеток. Этот показатель особенно полезен при рассмотрении малого диагностического материала, в котором часто невозможно оценить адекватное поле зрения микроскопа и отразить точную пролиферативную активность при подсчете

Таблица 2. Система гистологической градации нейроэндокринных опухолей легкого (Всемирная организация здравоохранения, 2015) [12]

Дифференцировка	Степень злокачественности (Grade)	Митотическая активность	Диагноз
Высокодифференцированные	Низкая (Low Grade) – уровень 1	0–1 митоз на 2 мм ² и нет некрозов	Типичный карциноид
	Промежуточная (Intermediate Grade) – уровень 2	2–10 митозов на 2 мм ² или фокусы некрозов	Атипичный карциноид
Низкодифференцированные	Высокая (High Grade) – уровень 3	> 10 митозов на 2 мм ² и обширные некрозы	Мелкоклеточный рак легкого Крупноклеточный нейроэндокринный рак

митозов. Целесообразность использования данного маркера при исследовании скудного и часто деформированного материала биопсий доказана целым рядом исследований и необходима для исключения вероятной гипердиагностики карциноидных опухолей как мелкоячеистого рака [21, 22].

Вместе с тем пороговые уровни Ki-67, коррелирующие с выживаемостью больных ТК и АК легкого, пока не определены [23, 24]. В соответствии с классификацией WHO (2015) показатель индекса Ki-67 для разграничения ТК и АК условно составляет <5 % (варьирует между 2,5 и 5,8 %), однако считается окончательно не установленным и не рекомендован для практического применения [12].

На протяжении нескольких лет предпринимаются попытки оценить значение индекса Ki-67 в качестве одного из параметров для определения степени злокачественности бронхолегочных НЭО. Вместе с тем совсем немного известно об альтернативных системах градации НЭО легких [25–28].

Таблица 3. Критерии определения степени злокачественности нейроэндокринных опухолей легкого (Всемирная организация здравоохранения, 2015) [12]

Степень злокачественности/ Пороговый уровень	Критерий		
	Митозы (× 2 мм ²)	Индекс Ki-67, %	Некрозы
Низкая/Уровень 1	0–1	≤5	Нет
Промежуточная/ Уровень 2	2–10	≤20	Фокальные
Высокая/Уровень 3	>10	>40–50	Обширные

Одна из попыток разработки прогностически значимой системы градации бронхолегочных НЭО по аналогии с НЭО пищеварительного тракта ранее была предпринята G. Rindi и соавт. [29]. Показано, что сочетание 3 параметров, таких как количество митозов, индекс пролиферации Ki-67 и выраженность некрозов с установленными специально для данной локализации пороговыми уровнями позволяет создать простую и эффективную систему градации НЭО легкого

Таблица 5. Интегрированная система определения степени злокачественности нейроэндокринных опухолей легкого [30]

Категория	Гистология	Решение	Критерий		
			Митозы (× 2 мм ²)	Индекс Ki-67, %	Некрозы, %
Л-НЭО G ₁	ТК, АК	2 критерия на уровне 1	2	<4	Нет
Л-НЭО G ₂	АК, КНЭР, МРЛ	2 критерия на уровне 2	>2–47	4–25	<10
Л-НЭО G ₃	КНЭР, МРЛ, АК	2 критерия на уровне 3	>47	≥25	>10

Примечание. Л-НЭО – легочные нейроэндокринные опухоли; G – Grade, степень злокачественности; ТК – типичный карциноид; АК – атипичный карциноид; КНЭР – крупноклеточный нейроэндокринный рак; МРЛ – мелкоячеистый рак легкого.

Таблица 4. Критерии определения степени злокачественности нейроэндокринных опухолей легкого (адаптировано из [29])

Пороговый уровень	Критерий		
	Митозы (× 10 полей зрения или 2 мм ²) ¹	Индекс Ki-67, % ²	Некрозы, % ³
Уровень 1	2	<4	Нет
Уровень 2	>2–47	4–25	<10
Уровень 3	>47	≥25	>10

¹Оценены как минимум в 50 полях зрения при увеличении 400 в областях наибольшей плотности митозов.

²Антитела MIB-1 как процент от 500–2000 клеток, подсчитанных в областях наибольшего ядерного окрашивания.

³Некрозы как процент от образца: фокальные составляют <10 %, обширные – >10 %.

(табл. 4). Кроме того, результаты исследования позволили установить, что различия в индексе пролиферативной активности между ТК и АК с пороговым уровнем Ki-67 4 % обеспечивают достоверные различия в общей выживаемости.

На основе данной системы недавно был предложен инновационный метод интегрированного определения степени злокачественности бронхолегочных НЭО [30] с учетом 3 вышеописанных основных критериев, каждый из которых оценивался с помощью многофакторного анализа (табл. 5).

Новообразования легкого расценивались как НЭО G₁, НЭО G₂ и НЭО G₃, если как минимум 2 фактора из 3 находились на уровне 1, 2 и 3 соответственно. Интересно, что все ТК вошли в категорию G₁, в то время как небольшая фракция МРЛ и КНЭР была классифицирована как категория G₂, что соответствует клиническим наблюдениям, которые демонстрируют неожиданно менее агрессивное течение, несмотря на гистологический диагноз. Важно, что АК могли соответствовать любой из 3 степеней злокачественности, что отражает гетерогенность их биологического поведения: известно, что некоторые АК ведут себя аналогично ТК, а другие протекают агрессивно и мало отличаются от высокозлокачественных вариантов. Таким образом, одинаковые гистологические варианты НЭО

легкого могут быть распределены между различными категориями риска и вариантами лечения. Подобная пошаговая комбинация градации и гистологии может обеспечить для бронхолегочных НЭО более точную корреляцию с клиническим поведением и вариантами лечения [31–34].

Несомненно, потребуется приложить еще много усилий для решения таких важных и актуальных задач, как разработка и внедрение в повседневную практику точной и прогностически обоснованной системы градации НЭО легкого.

Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика различных типов нейроэндокринных опухолей легкого

Анализ НЭО всегда начинается с распознавания морфологии, которая верифицируется в случае необходимости с помощью выявления ИГХ-экспрессии нейроэндокринных маркеров.

Диагностические признаки нейроэндокринной дифференцировки в опухоли включают органоидную модель роста, мелкогранулярный (“salt and pepper”) хроматин и экспрессию нескольких ключевых нейроэндокринных маркеров.

Для подтверждения диагноза НЭО легкого, особенно в малом диагностическом материале, в соответствии с последними рекомендациями ENETS и классификацией WHO необходимо использовать ИГХ-выявление общих нейроэндокринных (хромогранин А, синаптофизин) и эпителиальных (цитокератины (СК)) маркеров [12, 13].

Поскольку новообразования данной группы демонстрируют различную степень дифференцировки, все перечисленные характеристики в основном наблюдаются в высокодифференцированных опухолях, при этом выраженность некоторых или даже большей их части значительно уменьшается в низкодифференцированных вариантах. Гистологическую дифференцировку дополняет уровень пролиферативной активности клеток опухоли (количество митозов и индекс Ki-67), который, в свою очередь, коррелирует с агрессивностью опухолевого процесса и прогнозом заболевания. Следует также отметить, что определение индекса Ki-67 важно для оценки лекарственной чувствительности НЭО легкого.

Каждая категория бронхолегочных НЭО имеет характерные морфологические и ИГХ-особенности.

Диффузная идиопатическая гиперплазия нейроэндокринных клеток легкого развивается из нейроэндокринных элементов, которые расположены в респираторном эпителии бронхов в виде отдельных клеток или небольших кластеров, называемых нейроэпителиальными тельцами. Эти клетки способны претерпевать серию гиперпластических изменений, которые выявляются в виде диффузной линейной пролиферации нейроэндокринных клеток, часто в зонах фиброза или воспаления. Эти процессы относятся к преинва-

зивным изменениям, которые могут предшествовать развитию карциноидных опухолей. Подобные изменения не описаны для низкодифференцированных аналогов. Когда нейроэндокринные клетки выходят за пределы базальной мембраны, пролиферативный процесс обозначается термином «опухольки» (tumourlets).

Легочные нейроэндокринные опухольки могут быть локализованными или диффузными и определяются как узловатая пролиферация нейроэндокринных клеток размером $<0,5$ см. Узлы в легком, которые возникают в результате пролиферации нейроэндокринных клеток и имеют размер $\geq 0,5$ см в диаметре, классифицируются как карциноидные опухоли [35, 36].

Карциноидные опухоли составляют 1–2 % среди других типов новообразований легкого. Они имеют хорошо организованную гистологическую структуру с формированием гнезд, анастомозирующих цепочек, лент и структур типа периферических «палисадов» и «розеток» из однотипных клеток с характерным ядерным хроматином. Опухоли могут демонстрировать значительный ядерный плеоморфизм и различные варианты клеточных изменений, включая веретенчаточные, папиллярные, онкоцитарные, светлоклеточные, муцинозные и другие варианты гистологического строения. Важно отметить, что особенности роста и гистологической структуры, ядерный плеоморфизм, местная и сосудистая инвазия и даже наличие регионарных метастазов не помогают отличить ТК и АК, разграничение которых основано только на оценке количества митозов и/или появлении некрозов [37, 38].

ТК относятся к редким новообразованиям, составляющим около 80 % в общей группе карциноидных опухолей. В большинстве случаев они имеют центральную локализацию и диагностируются, в отличие от других видов рака легкого, в относительно молодом возрасте (средний возраст — 45–55 лет), нередко наблюдаются у детей. Эти опухоли не связаны непосредственно с курением, часто обнаруживаются на ранних стадиях (70 % на I стадии) и имеют хороший прогноз (5-летняя общая выживаемость — 82–100 %). Вместе с тем в 10–23 % случаев при ТК в регионарных лимфатических узлах развиваются метастазы [39].

Диагностические признаки ТК (рис. 1) объединяют характерные морфологические проявления нейроэндокринной дифференцировки и низкую пролиферативную активность клеток: <2 митозов на 2 мм^2 и индекс Ki-67 <4 –5 %. Некрозы в опухоли отсутствуют [12].

ИГХ-особенности ТК позволяют выявить в большинстве клеток опухоли диффузную и интенсивную экспрессию общих нейроэндокринных маркеров, таких как хромогранин А и синаптофизин.

АК аналогично ТК часто наблюдаются в относительно молодой возрастной группе (в среднем — 50 лет) и обнаруживаются на ранних стадиях заболевания. АК в основном встречаются в периферических отделах

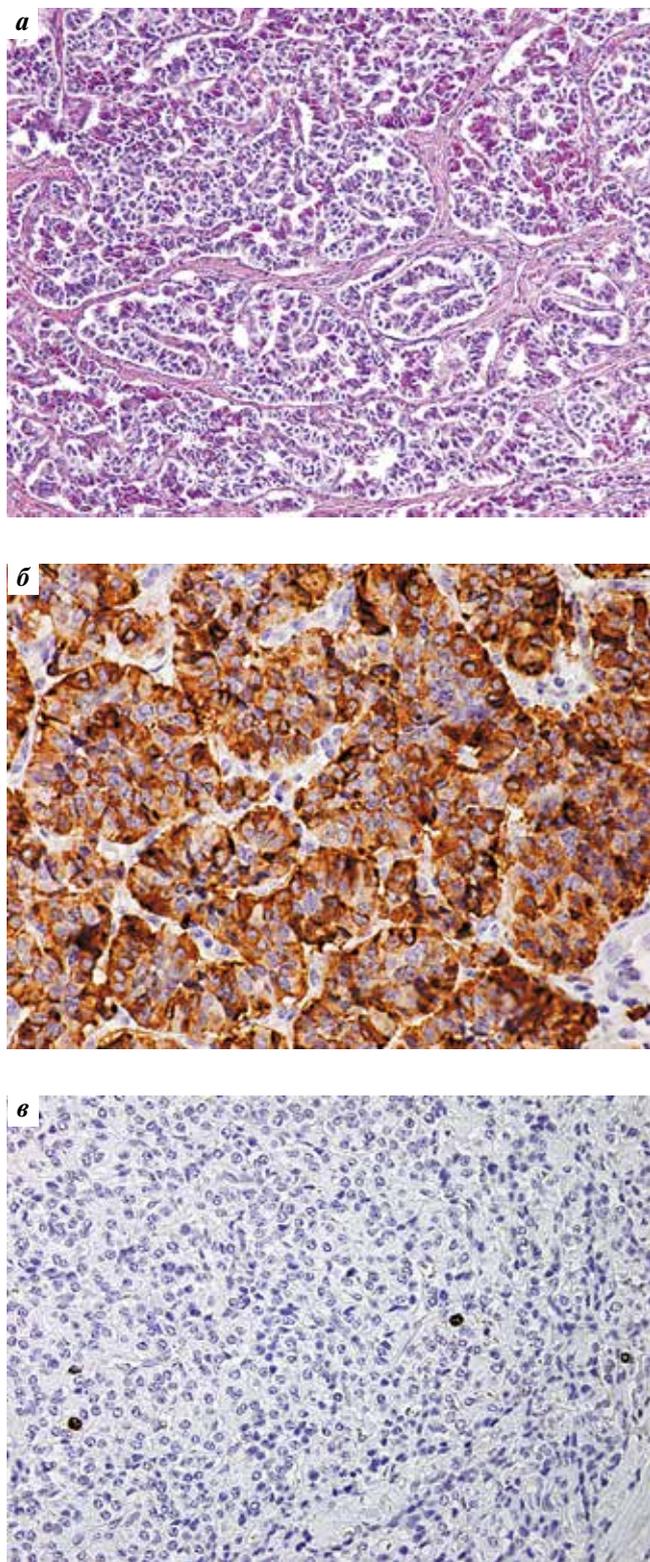


Рис. 1. Типичный карциноид (операционный материал): а — гистологическое исследование: опухоль органоидного строения состоит из мелких однотипных клеток, формирующих анастомозирующие трабекулярные структуры (окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$); б — иммуногистохимическое исследование: клетки опухоли демонстрируют сильную диффузную экспрессию синаптофизина (ядра клеток докрашены гематоксилином Майера, $\times 600$); в — иммуногистохимическое исследование: клетки опухоли демонстрируют низкий уровень пролиферативной активности, индекс Ki-67 составляет 1 % (ядра клеток докрашены гематоксилином Майера, $\times 400$)

легкого и составляют $<20\%$ в группе карциноидных опухолей. Среди больных АК связь с курением наблюдается чаще, чем при ТК. Данный тип опухолей имеет значительно менее благоприятный прогноз, чем ТК (5-летняя выживаемость — $25\text{--}80\%$). В $40\text{--}50\%$ случаев при АК развиваются метастазы в регионарных лимфатических узлах [40, 41].

Диагностические признаки АК (рис. 2) объединяют высокодифференцированную нейроэндокринную морфологию и умеренно выраженную пролиферативную активность: $2\text{--}10$ митозов на 2 мм^2 и индекс Ki-67 $<20\text{--}25\%$. Оценка индекса Ki-67 очень важна при анализе малого биопсийного материала для того, чтобы избежать гипердиагностики АК как опухоли высокой степени злокачественности. Другой значимый диагностический признак, который дополняет клеточную пролиферацию или выявляется самостоятельно, — некрозы, обычно фокальные или точечные, составляющие $<10\%$ объема опухоли [12].

ИГХ-особенности АК аналогично ТК позволяют продемонстрировать экспрессию общих нейроэндокринных маркеров, таких как хромогранин А и синаптофизин, однако иммунореактивность может быть неравномерной или фокальной. Важно отметить, что в небольшой части АК может отсутствовать экспрессия цитокератинов. Поскольку некрозы и митозы иногда появляются в опухоли только фокально, маленькие биоптаты могут быть нерепрезентативны и часто не позволяют разграничить ТК и АК. В настоящее время предложен дополнительный критерий для более объективной оценки количества митозов в окрашенных препаратах, такой как митозспецифичный маркер фосфогистон НЗ, однако опыт его использования пока ограничен [42].

Рекомендуемая ИГХ-панель для исследования ТК и АК включает ключевые общие нейроэндокринные маркеры (хромогранин А и синаптофизин) и маркеры клеточной пролиферации (индекс Ki-67 и фосфогистон НЗ).

Бронхопульмональные НЭО рассматриваются как единая группа новообразований на основании наличия общих гистологических и ИГХ-признаков нейроэндокринной дифференцировки. Вместе с тем последние данные, основанные на молекулярно-генетических и ИГХ-исследованиях, дают основание предполагать, что группа бронхопульмональных карциноидов значительно отличается от группы высокозлокачественных опухолей, представленной КНЭР и МРЛ [43–46].

Низкодифференцированные НЭО легкого демонстрируют солидную модель роста, обширные/географические некрозы, высокую пролиферативную активность, неоднородное окрашивание на общие нейроэндокринные маркеры. Клеточные характеристики используют для того, чтобы отличить МРЛ от КНЭР, хотя имеется значительный перекрест морфологических критериев между этими 2 категориями, что делает их разграничение достаточно субъективной и трудно выполнимой задачей [47–51].

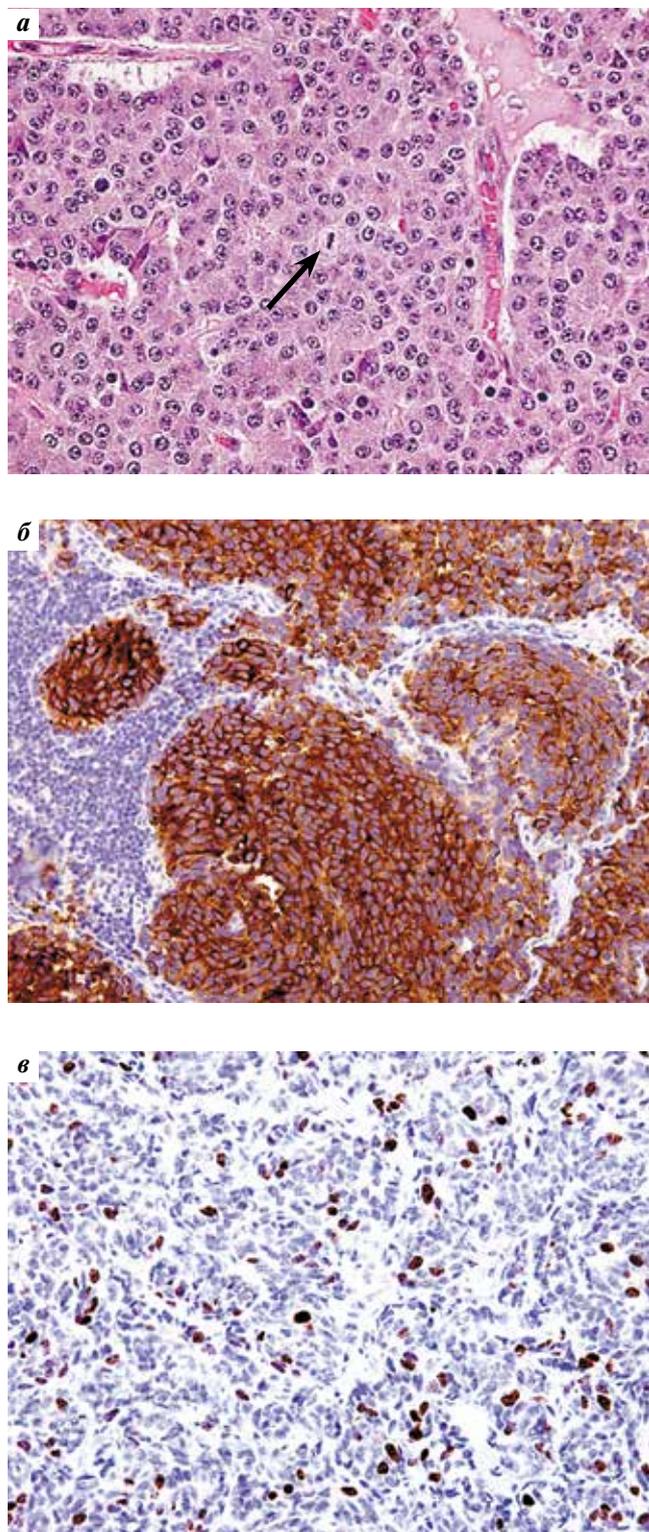


Рис. 2. Атипичный карциноид. Метастаз в лимфатическом узле (биопсийный материал): а – гистологическое исследование: опухоль состоит из клеток, формирующих солидно-альвеолярные структуры, ядра с характерным хроматином, видна фигура митоза (стрелка; окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$); б – иммуногистохимическое исследование: клетки опухоли демонстрируют неравномерную экспрессию синаптофизина (ядра клеток докрашены гематоксилином Майера, $\times 400$); в – иммуногистохимическое исследование: клетки опухоли демонстрируют промежуточный индекс пролиферативной активности Ki-67, который составляет 12 % (ядра клеток докрашены гематоксилином Майера, $\times 400$)

КНЭР является крайне агрессивным вариантом бронхопульмональных НЭО, насчитывающим примерно 3 % среди всех типов новообразований легкого. КНЭР часто ассоциирован с курением. Общая 5-летняя выживаемость при КНЭР намного ниже, чем при других типах НМРЛ и составляет около 30 %. В легком КНЭР обычно имеет периферическую локализацию [52, 53].

Для верификации диагноза КНЭР необходима комбинация морфологических признаков нейроэндокринной дифференцировки и ИГХ-экспрессии нейроэндокринных маркеров.

Диагностические признаки КНЭР (рис. 3) помимо клеточных характеристик, в основном соответствующих НМРЛ, включают высокую митотическую активность, которая составляет >10 митозов на 2 мм^2 и в среднем может достигать 60–70 митозов на 2 мм^2 , индекс Ki-67 >40 %, а также обширные, комедоподобные некрозы. КНЭР может быть представлен как солидными участками, так и органоидными комплексами с формированием клеточных «палисадов», розеткоподобных и трабекулярных структур. Клетки опухоли имеют более крупные размеры, чем в МРЛ, полигональную форму и широкую цитоплазму. Ядра содержат характерный грубый или везикулярный хроматин и выраженные ядрышки.

При **ИГХ-исследовании КНЭР**, составляющем обязательную часть диагностики данного типа НЭО легкого, необходимо выявить экспрессию как минимум 1 нейроэндокринного маркера более чем в 10 % клеток опухоли. Во многих случаях при ИГХ-исследовании следует доказать одновременно эпителиальную и нейроэндокринную природу опухоли. Поскольку известно потенциальное сходство морфологии КНЭР и базалоидного плоскоклеточного рака, полезным может быть подтверждение отрицательного статуса плоскоклеточных маркеров (например, p40) в опухолях, негативных к тиреоидному транскрипционному фактору 1 (thyroid transcription factor-1, TTF-1), что в случае отрицательной реакции подтвердит диагноз КНЭР [54, 55].

Интересным является тот факт, что современные генетические исследования позволили выделить несколько молекулярных подтипов данной сложной и недостаточно изученной категории НЭО легкого. К молекулярным подтипам КНЭР, которые имеют характерные морфологические и ИГХ-признаки, относятся КНЭР по типу МРЛ (SCLC-like), по типу НМРЛ (NSCLC-like) и редко – по типу карциноидной опухоли (Carcinoid-like) [56]. Возможно, с подобным морфологическим разнообразием опухолей связаны сложности в подходах к лечению КНЭР легкого [57].

Комбинированный КНЭР содержит дополнительный компонент, который состоит из любого гистологического типа НМРЛ, обычно аденокарциномы или плоскоклеточного рака.

Дифференциальная диагностика КНЭР должна проводиться с такими вариантами опухолей, как база-

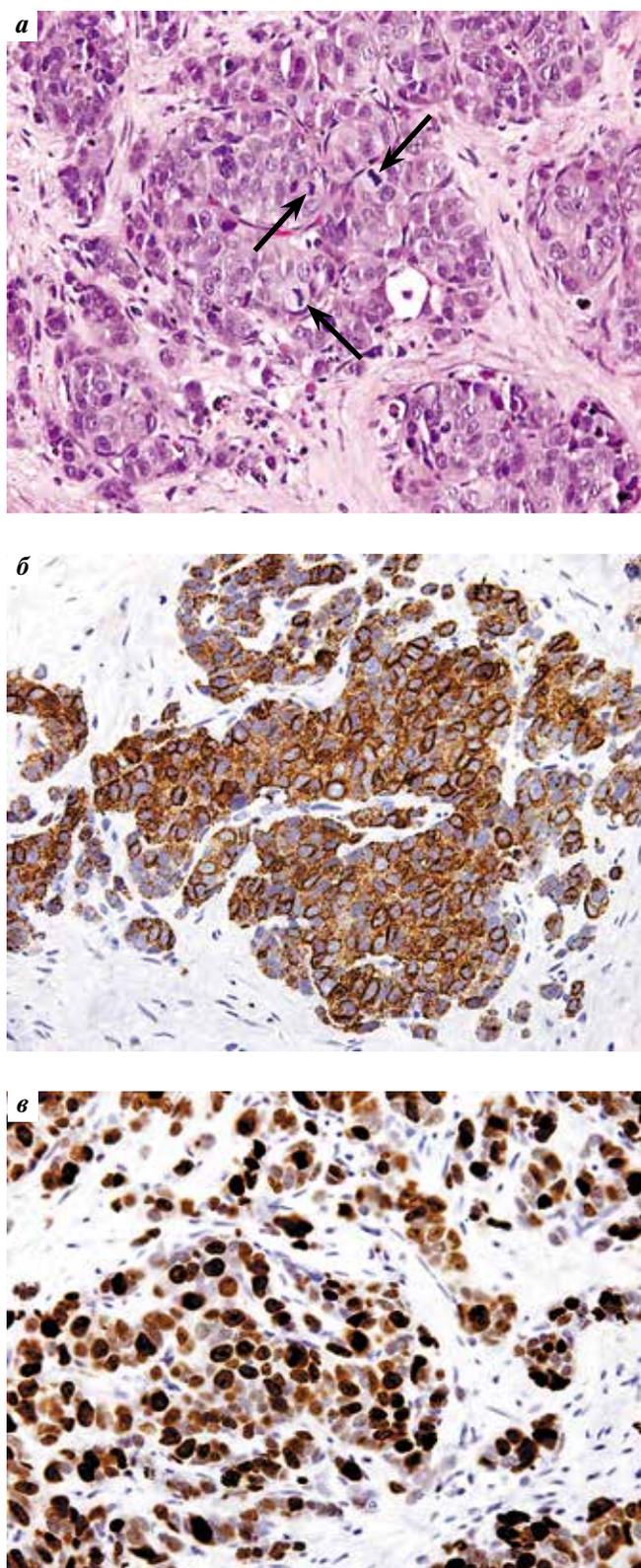


Рис. 3. Крупноклеточный нейроэндокринный рак (операционный материал): а — гистологическое исследование: органоидная структура опухоли из клеток среднего размера с частыми фигурами митозов (стрелки; окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$); б — иммуногистохимическое исследование: в клетках опухоли видна неравномерная экспрессия хромогранина А (ядра клеток докрашены гематоксилином Майера, $\times 400$); в — иммуногистохимическое исследование: в клетках опухоли видна высокая пролиферативная активность, индекс Ki-67 составляет 70 % (ядра клеток докрашены гематоксилином Майера, $\times 400$)

лоидный плоскоклеточный рак, аденокарцинома, мелкоклеточный рак, АК, крупноклеточный рак.

МРЛ составляет немногим более 10 % всех видов рака легкого. Это самая распространенная форма НЭО данной локализации, заболеваемость которой уменьшается, по последним данным. МРЛ обычно развивается как быстро растущая центральная опухоль, которая в основном поражает крупные бронхи. Связь с курением наблюдается практически во всех случаях заболевания. МРЛ является наиболее злокачественным низкодифференцированным подтипом в группе бронхопульмональных НЭО. Высокая степень злокачественности опухоли определяет крайне агрессивное клиническое течение, раннее и распространенное метастазирование, неблагоприятный прогноз заболевания с худшей 5-летней выживаемостью среди всех гистологических типов рака легкого. В большинстве наблюдений на момент презентации заболевания определяются массивные метастазы в бронхопульмональных и медиастинальных лимфатических узлах, а 2/3 больных имеют отдаленные метастазы таких локализаций, как головной мозг, печень, кости, костный мозг, надпочечники [7, 58, 59].

Морфологический диагноз МРЛ базируется преимущественно на оценке гистологических особенностей опухоли, которые выявляются на светооптическом уровне при анализе срезов, окрашенных гематоксилином и эозином.

Диагностические признаки МРЛ (рис. 4) включают диффузный рост в виде широких тяжей и пучков клеток, часто ориентированных в одном направлении. Для опухоли характерны обширные зоны некроза и высокая митотическая активность: >10 митозов на 2 мм^2 , в среднем количество митозов может достигать 80 фигур на 2 мм^2 , индекс Ki-67 — 50–100 %. Выявляется также большое число апоптотических телец.

МРЛ состоит из мелких, не превышающих диаметр 3 покоящихся малых лимфоцитов, однотипных клеток округлой или вытянутой формы со скудной цитоплазмой и нечеткими клеточными границами. Ядра содержат характерный нежный, напоминающий «матовое стекло» хроматин, при этом ядрышки незаметны или отсутствуют. Хрупкую структуру ядер отражают податливость и удлинение их формы, налипание и отпечатки поверхности (nuclear moulding), частые артефакты раздавливания (crush artifact). Зоны диффузного роста опухоли иногда могут сочетаться с типичными карциноидными структурами.

ИГХ-особенности МРЛ играют важную роль в установлении диагноза и исключении других морфологически схожих категорий при анализе малого биопсийного материала с выраженными артефактами раздавливания [59].

Для подтверждения эпителиальной природы опухоли используется ИГХ-окрашивание на кератины. Большинство НЭО легкого, включая низкодифференцированные подтипы, демонстрируют положительную

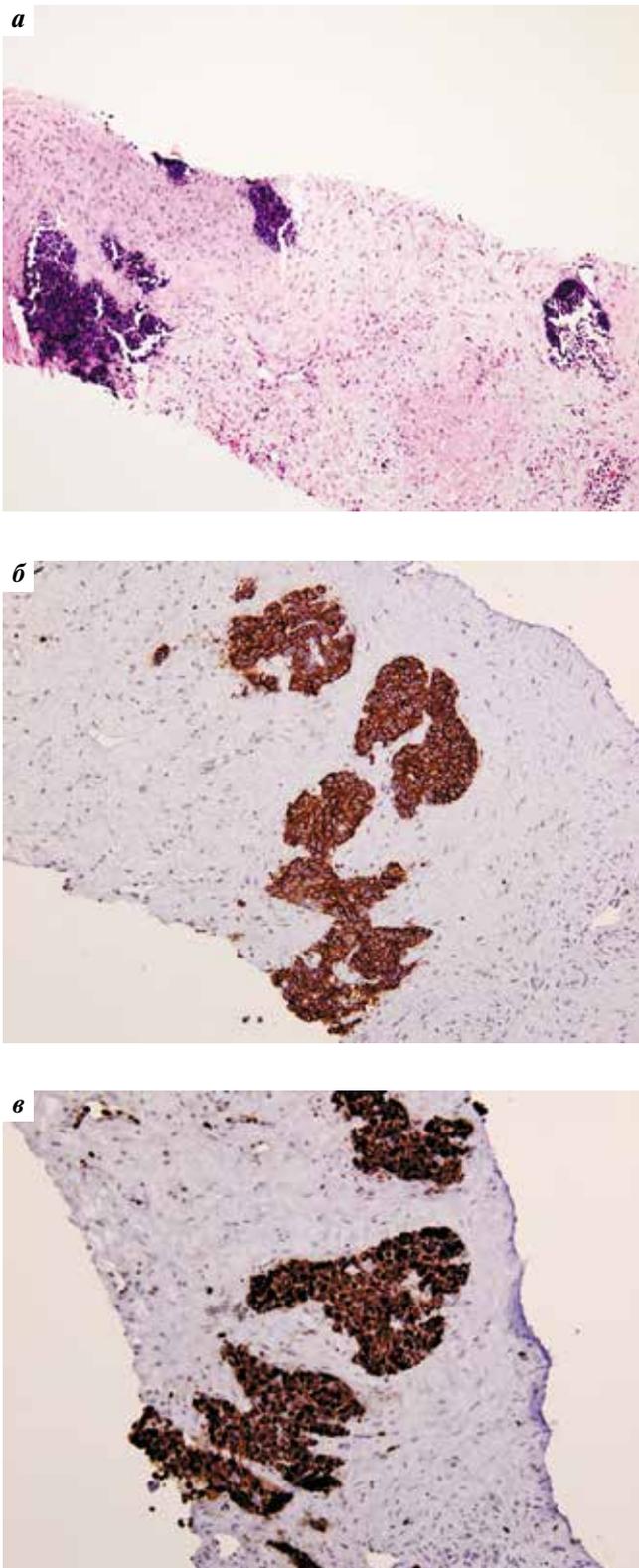


Рис. 4. Мелкоклеточный рак легкого (биопсийный материал): а – гистологическое исследование: небольшие комплексы мелких гиперхромных, частично деформированных клеток (окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$); б – иммуногистохимическое исследование: в клетках видна мембранная экспрессия CD56 (ядра клеток докрашены гематоксилином Майера, $\times 200$); в – иммуногистохимическое исследование: в клетках видна высокая пролиферативная активность в виде ядерной экспрессии антигена Ki-67, индекс Ki-67 составляет 100 % (ядра клеток докрашены гематоксилином Майера, $\times 200$)

экспрессию при окрашивании антителами к панци-токератину (СК AE1/AE3) и антителами к низкомолекулярным цитокератинам, такими как СК8, СК18 и САМ 5.2. Типичным для МРЛ является слабое точечное (dot-like) окрашивание на цитокератины, которое отличается от сильной диффузной реакции, характеризующей НМРЛ.

Для выявления нейроэндокринной дифференцировки при МРЛ наиболее эффективной считается панель общих нейроэндокринных маркеров, которая в порядке возрастающей значимости включает CD56 (NCAM), синаптофизин и хромогранин А [59, 60]. Хотя CD56 рассматривается как наименее специфичный маркер при других типах НЭО, он является наиболее чувствительным для МРЛ: примерно 90–100 % случаев положительны к нему. С учетом низкой специфичности данного маркера интерпретировать ИГХ-данные всегда следует в контексте соответствующей морфологической структуры опухоли. Обычно МРЛ демонстрируют слабую, а примерно в 2/3 случаев негативную иммунореактивность к синаптофизину и хромогранину А, в отличие от выраженной окраски, типичной для карциноидных опухолей. TTF-1 – чувствительный маркер для МРЛ, демонстрирующий положительную иммунореактивность в 70–90 % случаев. TTF-1 часто отсутствует в ТК и может выявляться в части АК и КНЭР.

При отсутствии характерных для МРЛ ИГХ-маркеров важно провести дифференциальную диагностику для того, чтобы исключить возможность морфологически сходных новообразований другого гистогенеза (лимфомы, меланомы, опухолей семейства саркомы Юинга, десмопластической мелкокруглоклеточной опухоли, синовиальной саркомы, базалоидного плоскоклеточного рака).

Рекомендуемая ИГХ-панель для исследования КНЭР и МРЛ включает антитела к кератинам (panCK AE1/AE3, СК8, СК18, САМ 5.2), хромогранину А, синаптофизину, CD56, TTF-1 и Ki-67 (MIB-1).

По классификации WHO (2015) МРЛ подразделяется на 2 подтипа: чистый и комбинированный, содержащий компоненты НМРЛ. Комбинированный МРЛ обычно содержит дополнительный компонент, который состоит из любого гистологического типа НМРЛ, обычно аденокарциномы, плоскоклеточного рака, реже – веретенноклеточного или гигантоклеточного рака [59–61]. Сочетание КНЭР и МРЛ также классифицируются как комбинированный МРЛ, при этом компонент крупноклеточного рака должен составлять как минимум 10 % всей популяции клеток опухоли. Нет каких-либо требований к процентному соотношению компонентов других типов НМРЛ, которые обнаруживаются в структуре комбинированной опухоли.

С учетом того, что МРЛ в большинстве случаев выявляется на поздних стадиях, диагноз, как правило, базируется на анализе маленьких образцов ткани опухоли, полученных в результате бронхоскопических

биопсий. При этом морфологический диагноз должен также соответствовать классификации WHO (2015), что является основой успешной химиотерапии.

Система определения стадии нейроэндокринных опухолей легкого

Стадия заболевания при бронхопульмональных НЭО определяется на основе критериев 7-й редакции классификации TNM (tumor, nodus и metastasis) Американского объединенного комитета по онкологии (American Joint Commission on Cancer, AJCC) и Международного противоракового союза (International Union Against Cancer, UICC) 2010 г. для НМРЛ и модификации данной классификации, основанной на рекомендациях Международной ассоциации по изучению рака легкого (International Association for the Study of Lung Cancer, IASLC). Рассматриваются предложения для предстоящей 8-й редакции данной классификации [62].

С учетом особенностей течения МРЛ общепринятым является выделение 2 стадий процесса: локализованный и распространенный МРЛ. Вместе с тем обсуждается эффективность использования для данной нозологии критериев TNM-стадирования.

Гистологическая классификация (WHO) и определение параметров TNM-стадирования (AJCC/UICC) вносят большой вклад в прогнозирование течения и лечение НЭО легкого.

Спорные моменты в диагностике нейроэндокринных опухолей легкого

Классификация. Схема действующей классификации WHO (2015) имеет четкую направленность на предсказание прогноза заболевания, однако она основана на нескольких морфологических параметрах (митозы и некрозы), которые часто трудно воспроизводимы и не всегда могут быть оценены достоверно (особенно в малом диагностическом материале), что влияет на согласованность диагнозов между различными исследователями. Кроме того, остается пограничная или «серая» зона, в которой субъективная оценка данных критериев вызывает сложности при анализе сходных вариантов, например ТК vs АК, АК vs КНЭР и КНЭР vs МРЛ. Уточняющие критерии для диагностики данных пограничных категорий НЭО легких, демонстрирующие несоответствие морфологии и клинического поведения, пока отсутствуют.

Градация. Система гистологической градации НЭО легкого и роль индекса Ki-67 в оценке этих опухолей до сих пор остаются предметом споров и дискуссий. Пороговые уровни индекса Ki-67 уточняются, и продолжаются исследования, посвященные созданию более совершенной системы градации этих опухолей.

Стадия. Для карциноидов бронхолегочной локализации, в отличие от НЭО желудочно-кишечного тракта, не разработана собственная специфическая система TNM-стадирования, несмотря на то, что эти

опухоли имеют характерные особенности, которые значительно отличают их от других типов рака легкого.

Ключевые практические моменты для морфологической диагностики нейроэндокринных опухолей легкого (Всемирная организация здравоохранения, 2015)

1. ТК:

- карциноидная морфология;
- митозы – 0–1 на 2 мм², некрозы отсутствуют;
- размер $\geq 0,5$ см.

Дополнительный критерий – индекс Ki-67 ≤ 5 %.

2. АК:

- карциноидная морфология;
- митозы – 2–10 на 2 мм² и/или некрозы фокальные/точечные.

Дополнительный критерий – индекс Ki-67 ≤ 20 %.

3. КНЭР:

- нейроэндокринная морфология;
- цитологические признаки НМРЛ;
- грубый или везикулярный хроматин;
- выраженные ядрышки;
- митозы >10 на 2 мм², в среднем 70, некрозы обширные;
- экспрессия как минимум 1 общего нейроэндокринного маркера.

Дополнительный критерий – индекс Ki-67 40–80 %.

4. МРЛ:

- диффузный рост;
- маленький размер клеток (менее диаметра 3 лимфоцитов);
- низкое ядерно-цитоплазматическое соотношение;
- нежный гранулярный ядерный хроматин;
- незаметные ядрышки;
- митозы >10 на 2 мм², в среднем 80, некрозы обширные.

Дополнительный критерий – индекс Ki-67 50–100 %.

Таким образом, для распознавания 4 различных вариантов, составляющих спектр НЭО легких, классификация WHO (2015) и другие системы, получившие практическое применение, комбинируют структурные модели роста опухоли (органойдная vs мелкоклеточная диффузная) с морфологическими признаками, из которых митотический индекс и наличие некрозов являются наиболее значимыми параметрами. Индекс пролиферативной активности опухолевых клеток Ki-67 включен в действующую классификацию (WHO, 2015), но пока рассматривается как дополнительный диагностический критерий, наиболее важный для разграничения опухолей низкой/промежуточной и высокой степеней злокачественности, особенно при исследовании малого диагностического материала (рис. 5).

Заключение

НЭО бронхолегочной локализации образуют особую, очень сложную и крайне разнородную категорию злокачественных эпителиальных новообразований,



Рис. 5. Алгоритм морфологической диагностики нейроэндокринных опухолей легкого

которая включает спектр опухолей различной дифференцировки, демонстрирующих разнообразное клиническое и биологическое поведение. Большие отличия в эпидемиологических, морфологических, генетических и прогностических характеристиках различных вариантов этих опухолей значительно усложняют понимание их биологических особенностей. В связи с этим очевидно, что наиболее важным аспектом морфологической диагностики НЭО легкого является обоснованная характеристика биологического потенциала опухоли, что нашло отражение как в классификации WHO (2015), так и в большинстве исследований, посвященных данной проблеме. Разграничение вариан-

тов НЭО легких с выделением 3 степеней злокачественности помогает определить в значительной мере отличные прогностические группы пациентов и соответствующие подходы к терапии заболевания. Данная область морфологической диагностики продолжает развиваться в целях разработки оптимальной классификации и градации основных категорий НЭО легкого с учетом достижений современных молекулярно-биологических, генетических и ИГХ-исследований, включающих поиск новых диагностических параметров, маркеров оценки индивидуального прогноза и мишеней для таргетной противоопухолевой терапии заболевания.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Travis W.D. Pathology and diagnosis of neuroendocrine tumors: lung neuroendocrine. *Thorac Surg Clin* 2014;24(3):257–66.
2. Asamura H., Kameya T., Matsuno Y. et al. Neuroendocrine neoplasms of the lung: a prognostic spectrum. *J Clin Oncol* 2006;24(1):70–6.
3. Swarts D.R., Ramaekers F.C., Speel E.J. Molecular and cellular biology of neuroendocrine lung tumors: evidence for separate biological entities. *Biochim Biophys Acta* 2012;1826(2):255–71.
4. Wick M.R. Neuroendocrine neoplasia. Current concepts. *Am J Clin Pathol* 2000;113(3):331–5.
5. Huang Q., Muzitansky A., Mark E.J. Pulmonary neuroendocrine carcinomas. A review of 234 cases and a statistical analysis of 50 cases treated at one institution using a simple clinicopathologic classification. *Arch Pathol Lab Med* 2002;126(5):545–53.
6. Rekhtman N. Neuroendocrine tumors of the lung: an update. *Arch Pathol Lab Med* 2010;134(11):1628–38.
7. Travis W.D. Advances in neuroendocrine lung tumors. *Ann Oncol* 2010; 21(Suppl 7):65–71.
8. Travis W.D., Brambilla E., Nicholson A.G. et al. The 2015 World Health Organization classification of lung

- tumors: impact of genetic, clinical and radiologic advances since the 2004 classification. *J Thorac Oncol* 2015;10(9):1243–60.
9. Righi L., Volante M., Rapa I. et al. Neuroendocrine tumours of the lung. A review of relevant pathological and molecular data. *Virchows Arch* 2007;451(Suppl 1):S51–9.
 10. Moran C.A., Suster S. Neuroendocrine carcinomas (carcinoid, atypical carcinoid, small cell carcinoma, and large cell neuroendocrine carcinoma): current concepts. *Hematol Oncol Clin North Am* 2007;21(3):395–407.
 11. den Bakker M.A., Thunnissen F.B. Neuroendocrine tumours – challenges in the diagnosis and classification of pulmonary neuroendocrine tumours. *J Clin Pathol* 2013;66(10):862–9.
 12. Travis W.D., Brambilla E., Burke A.P. et al. WHO classification of tumours of the lung, pleura, thymus and heart. 4th edn. Lyon: IARC Press, 2015.
 13. Caplin M.E., Baudin E., Ferolla P. et al. Pulmonary neuroendocrine (carcinoid) tumors: European Neuroendocrine Tumor Society expert consensus and recommendations for best practice for typical and atypical pulmonary carcinoids. *Ann Oncol* 2015;26(8):1604–20.
 14. Travis W., Colby T., Corrin B. et al. Hystological typing of lung and pleural tumours. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag, 1999.
 15. Travis W., Brambilla E., Muller-Hermelink H., Harris C. Tumours of the lung, pleura, thymus and heart. Lyon: IARC Press, 2004.
 16. Pelosi G., Hiroshima K., Mino-Kenudson M. Controversial issues and new discoveries in lung neuroendocrine tumors. *Diagn Histopathol* 2014;20:392–7.
 17. Moran C.A., Suster S., Coppola D., Wick M.R. Neuroendocrine carcinomas of the lung: a critical analysis. *Am J Clin Pathol* 2009;131(2):206–21.
 18. Klimstra D.S., Modlin I.R., Adsay N.V. et al. Pathology reporting of neuroendocrine tumors: application of the Delphic consensus process to the development of a minimum pathology data set. *Am J Surg Pathol* 2010;34(3):300–13.
 19. Klimstra D.S., Modlin I.R., Coppola D. et al. The pathologic classification of neuroendocrine tumors: a review of nomenclature, grading, and staging systems. *Pancreas* 2010;39(6):707–12.
 20. Yang Z., Tang L.H., Klimstra D.S. Gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms: historical context and current issues. *Semin Diagn Pathol* 2013;30(3):186–96.
 21. Pelosi G., Rodriguez J., Viale G., Rosai J. Typical and atypical pulmonary carcinoid tumor overdiagnosed as small-cell carcinoma on biopsy specimens: a major pitfall in the management of lung cancer patients. *Am J Surg Pathol* 2005;29(2):179–87.
 22. Aslan D.L., Gulbahce H.E., Pambuccian S.E. et al. Ki-67 immunoreactivity in the differential diagnosis of pulmonary neuroendocrine neoplasms in specimens with extensive crush artifact. *Am J Clin Pathol* 2005;123(6):874–8.
 23. Swarts D.R., van Suylen R.J., den Bakker M.A. et al. Interobserver variability for the WHO classification of pulmonary carcinoids. *Am J Surg Pathol* 2014;38(10):1429–36.
 24. Pelosi G., Rindi G., Travis W.D., Papotti M. Ki-67 antigen in lung neuroendocrine tumors: unraveling a role in clinical practice. *J Thorac Oncol* 2014;9(3):273–84.
 25. Grimaldi F., Muser D., Beltrami C.A. et al. Partitioning of bronchopulmonary carcinoids in two different prognostic categories by Ki-67 score. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2011;2:20.
 26. Walts A.E., Ines D., Marchevsky A.M. Limited role of Ki-67 proliferative index in predicting overall short-term survival in patients with typical and atypical pulmonary carcinoid tumors. *Mod Pathol* 2012;25(9):1258–64.
 27. Zahel T., Krysa S., Herpel E. et al. Phenotyping of pulmonary carcinoids and a Ki-67-based grading approach. *Virchows Arch* 2012;460(3):299–308.
 28. Pelosi G., Papotti M., Rindi G., Scarpa A. Unraveling tumor grading and genomic landscape in lung neuroendocrine tumors. *Endocr Pathol* 2014;25(2):151–64.
 29. Rindi G., Klersy C., Inzani F. et al. Grading the neuroendocrine tumors of the lung: an evidence-based proposal. *Endocr Relat Cancer* 2014; 21(1):1–16.
 30. Pelosi G., Pattini L., Morana G. et al. Grading lung neuroendocrine tumors: controversies in search of a solution. *Histol Histopathol* 2017;32(3):223–41.
 31. Righi L., Volante M., Rapa I. et al. Therapeutic biomarkers in lung neuroendocrine neoplasia. *Endocr Pathol* 2014;25(4):371–7.
 32. Pelosi G., Volante M., Papotti M. et al. Peptide receptors in neuroendocrine tumors of the lung as potential tools for radionuclide diagnosis and therapy. *Q J Nucl Med Mol Imaging* 2006;50(4):272–87.
 33. Gridelli C., Rossi A., Airoma G. et al. Treatment of pulmonary neuroendocrine tumours: state of the art and future developments. *Cancer Treat Rev* 2013;39(5):466–72.
 34. Kunz P.L. Carcinoid and neuroendocrine tumors: building on success. *J Clin Oncol* 2015;33(16):1855–63.
 35. Rouquette Lassalle I. Pulmonary neuroendocrine tumors and preneoplastic lesions. *Ann Pathol* 2016;36(1):34–43.
 36. Mete O., Asa S.L. Precursor lesions of endocrine system neoplasms. *Pathology* 2013;45(3):316–30.
 37. Pelosi G., Fabbri A., Cossa M. et al. What clinicians are asking pathologists when dealing with lung neuroendocrine neoplasms? *Semin Diagn Pathol* 2015;32(6):469–79.
 38. Filosso P.L., Guerrero F., Evangelista A. et al. Prognostic model of survival for typical bronchial carcinoid tumours: analysis of 1109 patients on behalf of the European Association of Thoracic Surgeons (ESTS) Neuroendocrine Tumours Working Groupdagger. *Eur J Cardiothorac Surg* 2015;48:441–7.
 39. Zeng M. Classification and pathology of lung cancer. *Surg Oncol Clin N Am* 2016;25(3):447–68.
 40. Travis W.D., Rush W., Flieder D.B. et al. Survival analysis of 200 pulmonary neuroendocrine tumors with clarification of criteria for atypical carcinoid and its separation from typical carcinoid. *Am J Surg Pathol* 1998;22(8):934–44.
 41. Beasley M.B., Thunnissen F.B., Brambilla E. et al. Pulmonary atypical carcinoid: predictors of survival in 106 cases. *Hum Pathol* 2000;31(10):1255–65.
 42. Tsuta K., Liu D.C., Kalhor N. et al. Using the mitosis-specific marker anti-phosphohistone H3 to assess mitosis in pulmonary neuroendocrine carcinomas. *Am J Clin Pathol* 2011;136(2):252–9.
 43. Swarts D.R., Van Neste L., Henfling M.E. et al. An exploration of pathways involved in lung carcinoid progression using gene expression profiling. *Carcinogenesis* 2013;34(12):2726–37.
 44. George J., Lim J.S., Jang S.J. et al. Comprehensive genomic profiles of small cell lung cancer. *Nature* 2015;524(7563):47–53.
 45. Swarts D.R., Scarpa A., Corbo V. et al. MEN1 Gene mutation and reduced expression are associated with poor prognosis in pulmonary carcinoids. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99(2):374–8.
 46. Fernandez-Cuesta L., Peifer M., Lu X. et al. Frequent mutations in chromatin-remodelling genes in pulmonary carcinoids. *Nat Commun* 2014;5:3518.
 47. Warth A., Fink L., Fisseler-Eckhoff A. et al. Interobserver agreement of proliferation index (Ki-67) outperforms mitotic count in pulmonary carcinoids. *Virchows Arch* 2013;462(5):507–13.
 48. Ha S.Y., Han J., Kim W.S. et al. Interobserver variability in diagnosing high-grade neuroendocrine carcinoma of the lung and comparing it with the morphometric analysis. *Korean J Pathol* 2012;46(1):42–7.

49. den Bakker M.A., Willemsen S., Grunberg K. et al. Small cell carcinoma of the lung and large cell neuroendocrine carcinoma interobserver variability. *Histopathology* 2010; 56(3):356–63.
50. Marchevsky A.M., Gal A.A., Shah S., Koss M.N. Morphometry confirms the presence of considerable nuclear size overlap between small cells and large cells in high-grade pulmonary neuroendocrine neoplasms. *Am J Clin Pathol* 2001;116(4):466–72.
51. Wang H., Iyoda A., Roh M.S. et al. WHO histologic classification is an independent predictor of prognosis in lung neuroendocrine(NE) tumors but Ki-67 proliferation rate is not(abstract 1952). *Mod Pathol* 2013;26:469A.
52. Iyoda A., Hiroshima K., Nakatani Y., Fujisawa T. Pulmonary large cell neuroendocrine carcinoma: its place in the spectrum of pulmonary carcinoma. *Ann Thorac Surg* 2007;84(2):702–7.
53. Fasano M., Della Corte C.M., Papaccio F. et al. Pulmonary large-cell neuroendocrine carcinoma: from epidemiology to therapy. *J Thorac Oncol* 2015;10(8):1133–41.
54. Pelosi G., Rossi G., Cavazza A. et al. DeltaNp63 (p40) distribution inside lung cancer: a driver biomarker approach to tumor characterization. *Int J Surg Pathol* 2013;21(3):229–39.
55. Sturm N., Lantuejoul S., Laverriere M.H. et al. Thyroid transcription factor 1 and cytokeratins 1, 5, 10, 14 (34betaE12) expression in basaloid and large-cell neuroendocrine carcinomas of the lung. *Hum Pathol* 2001;32(9):918–25.
56. Rekhtman N., Pietanza M.C., Hellmann M.D. et al. Next-generation sequencing of pulmonary large cell neuroendocrine carcinoma reveals small cell carcinoma-like and non-small cell carcinoma-like subsets. *Clin Cancer Res* 2016;22(14):3618–29.
57. Iyoda A., Travis W.D., Sarkaria I.S. et al. Expression profiling and identification of potential molecular targets for therapy in pulmonary large-cell neuroendocrine carcinoma. *Exp Ther Med* 2011;2(6):1041–5.
58. Quinn A.M., Chaturvedi A., Nonaka D. High-grade neuroendocrine carcinoma of the lung with carcinoid morphology: a study of 12 cases. *Am J Surg Pathol* 2017;41(2):263–70.
59. Nicholson S.A., Beasley M.B., Brambilla E. et al. Small cell lung carcinoma (SCLC): a clinicopathologic study of 100 cases with surgical specimens. *Am J Surg Pathol* 2002;26(9):1184–97.
60. Thunnissen E., Borczuk A.C., Flieder D.B. et al. The use of immunohistochemistry improves the diagnosis of small cell lung cancer and its differential diagnosis. An international reproducibility study in a demanding set of cases. *J Thorac Oncology* 2017;12(2):334–46.
61. Saito T., Tsuta K., Fukumoto K.J. et al. Combined small cell lung carcinoma and giant cell carcinoma: a case report. *Surg Case Rep* 2017;3(1):52.
62. Eberhardt W.E., Mitchell A., Crowley J. et al. The IASLC lung cancer staging project: proposals for the revision of the m descriptors in the forthcoming eighth edition of the tnm classification of lung cancer. *J Thorac Oncol* 2015;10(11):1515–22.