

Мастер-классы «Нейроэндокринные опухоли»
10-12 мая 2016, Москва



Медицинское Общество по Лечению Нейроэндокринных Опухолей

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА НЭО ЛЕГКИХ И ТИМУСА

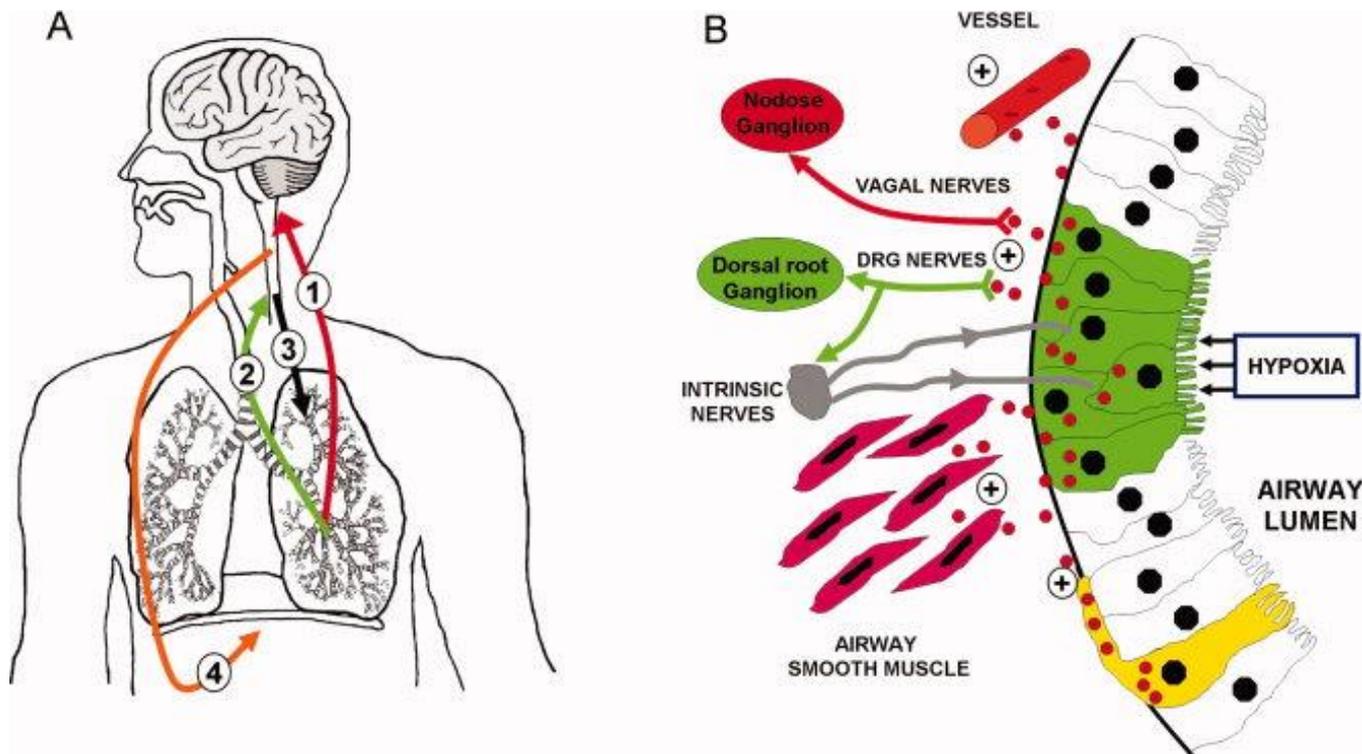
Делекторская Вера Владимировна

НЭО легких и тимуса

1. **Определение**
2. **Классификация WHO 2004/2015**
3. **Диагностика: основные категории**

 - Терминология
 - Система градации
4. **ИГХ маркеры / дифференциальная диагностика**

Диффузная нейроэндокринная система легкого



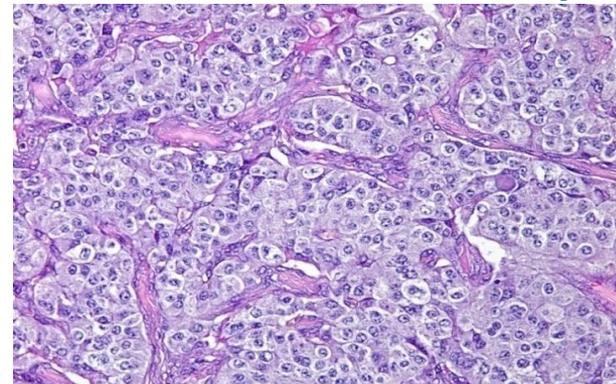
- Появление на ранних этапах эволюции
- Эндодермальное происхождение
- Роль в адаптации к процессу дыхания
- Связь с развитием и репарацией легкого

Gustafsson B.I. et al, Cancer 2008

Общие морфологические и биологические характеристики НЭО легких и тимуса

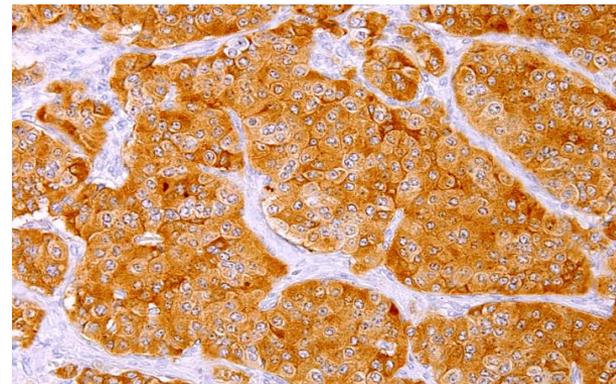
■ Гистологическая структура

- ✓ Органоидный тип строения



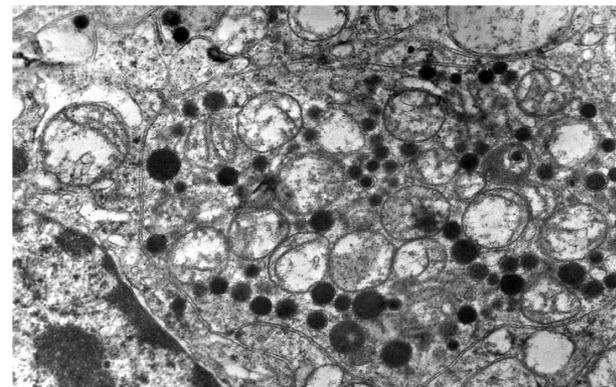
■ Иммуногистохимия

- ✓ Хромогранин А, синаптофизин, CD56



■ Электронная микроскопия

- ✓ Секреторные гранулы



НЭО легкого - WHO 2004/2015. Основные категории

- Карциноидные опухоли

- Типичный карциноид
- Атипичный карциноид

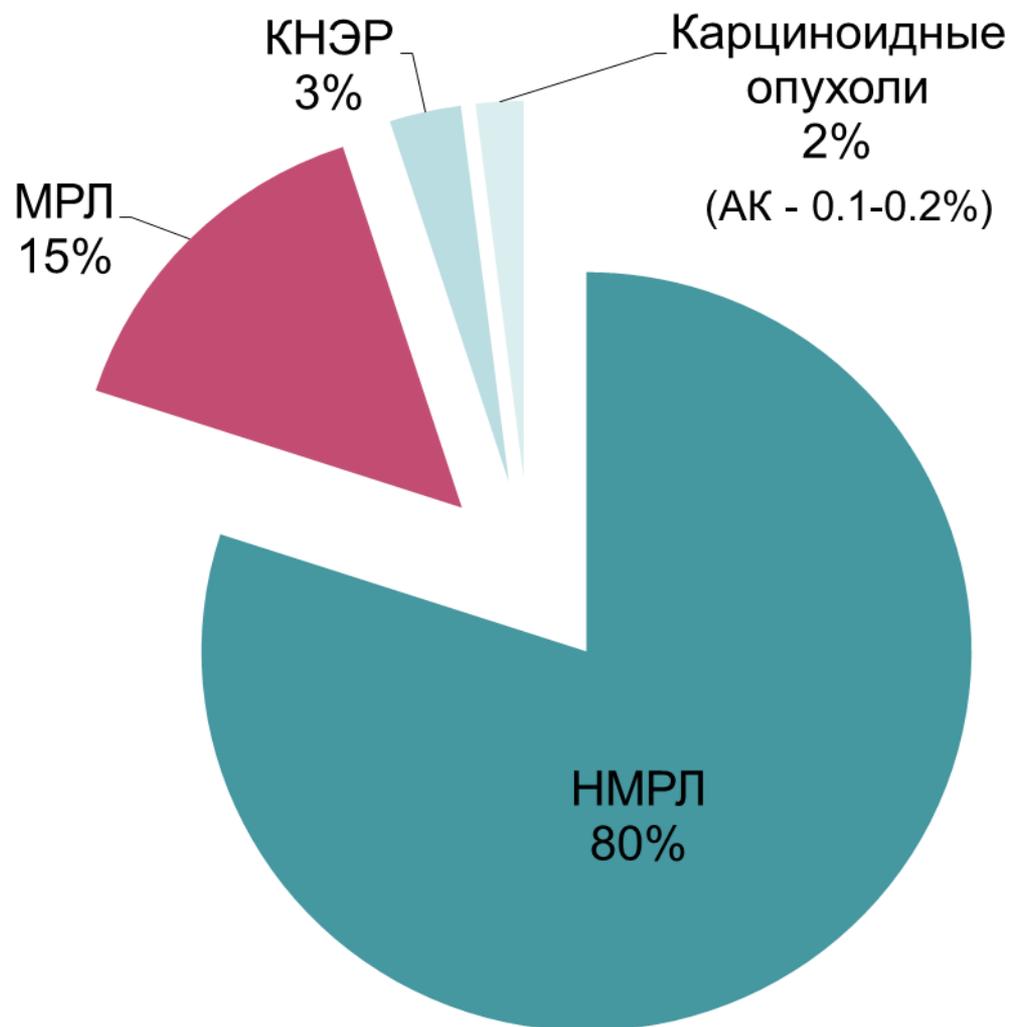


- Низкодифференцированные НЭО

- Мелкоклеточный рак легкого
- Крупноклеточный нейроэндокринный рак

Диагностика НЭО проводится на основе критериев WHO/IASLC 2015 и системы TNM стадирования AJCC

Спектр НЭО легкого



Нейроэндокринные опухоли легкого

2004 WHO

Карциноидные опухоли

- Типичный карциноид
- Атипичный карциноид

2015 WHO

Нейроэндокринные опухоли

- Типичный карциноид
- Атипичный карциноид

- МРЛ
 - Комбинированный МРЛ

- КНЭР
 - Комбинированный КНЭР

WHO (World Health Organization) –
Всемирная Организация Здравоохранения

IASLC (International Association for the Study of Lung Cancer) –
Международная ассоциация по изучению рака легкого

Крупноклеточный рак (WHO 2004)

- Крупноклеточный нейроэндокринный рак
- Базалоидный рак
- Лимфоэпителиомоподобный рак
- Светлоклеточный рак
- Рак с рабдоидным фенотипом

Крупноклеточный рак: переоценка на основе ИГХ и молекулярных исследований

Table 1. Use of immunohistochemistry to reclassify morphologic large-cell carcinoma^a

Reference	# of cases	Immunohistochemistry panel	Other studies	# reclassified as ADC	# reclassified as SQC	# unclassified
Monica <i>et al.</i> [12]	54	DSC3, TTF-1	N/A	24 (44%)	26 (48%)	4 (8%)
Barbareschi <i>et al.</i> [51]	56	TTF-1, p63, CK5, CK7, Napsin A, p40, DSC3	miR205 and miR21 profiling	19 (34%) with IHC alone 37 (66%) with IHC and miRNA profile	14 (25%) with IHC alone 19 (34%) with IHC and miRNA profile	23 (41%) with IHC alone 0 with IHC and miRNA profile
Rekhtman <i>et al.</i> [11 ^{***}]	102	TTF-1, p40	N/A	62 (61%) ^b	20 (20%)	20 (20%)
Rossi <i>et al.</i> [52 [■]]	74	TTF-1, p63, CK5/6, CK7, Napsin A, p40, DSC3, chromogranin, synaptophysin, CD56	N/A	40 (80%)	6 (12%)	4 (8%)

Soll L.M. *Curr Opin Pulm Med.* 2014; 20(4):324-331

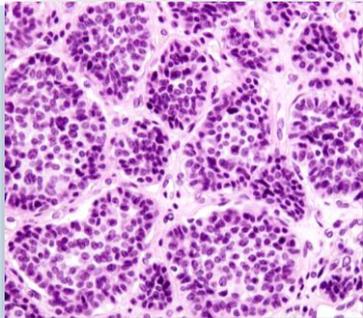
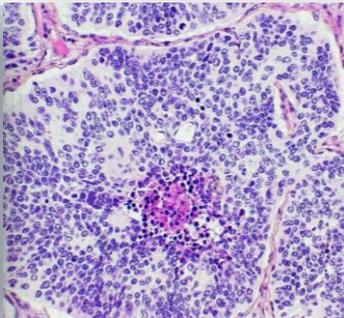
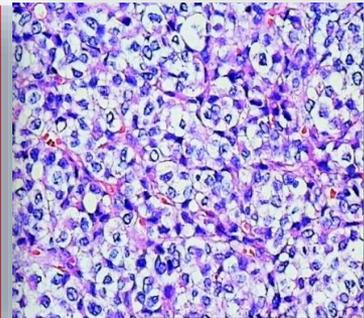
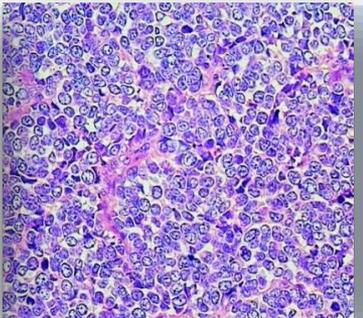
Large-cell carcinoma of the lung: a diagnostic category redefined by immunohistochemistry and genomics
Lynette M. Sholl *Curr Opin Pulm Med* 2014, 20:324-331

ADC
55%

SCC
26%

Null
19%

Основные категории НЭО легких и тимуса – WHO 2015

Критерии	ТК	АК	КНЭР	МКР
Морфология				
Митозы X 2 мм ²	0 - 1	2-10	> 10 (~ 70)	> 10 (~ 80)
Некрозы	нет	нет/фокальные	да/обширные	да/обширные
Ki-67%	до 5%	до 20%	40-80%	50-100%

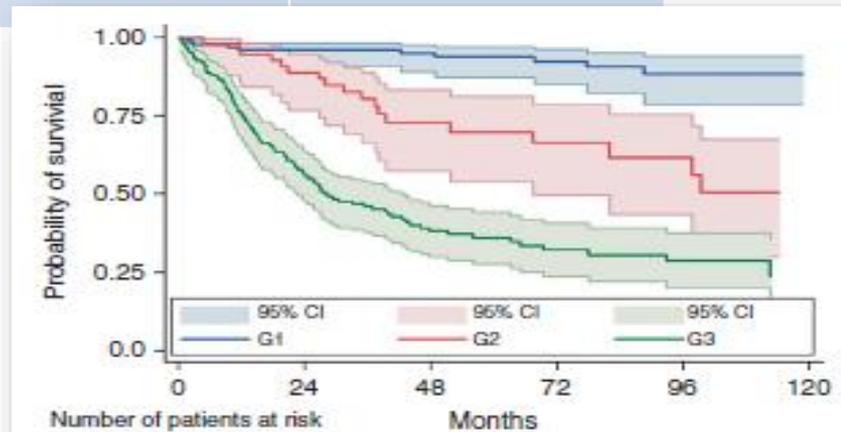
Travis WD, Brambilla E, Burke AP, Marx, A., Nicholson AG. *WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart*. Lyon: IARC; 2015

Гистологическая градация НЭО легкого – G. Rindi 2014

Grade	Митозы X 10 HPF	Ki67 (%)	Некрозы (%)
G1	2	< 4	Нет
G2	> 2 - 47	4 - < 25	<10
G3	> 47	≥ 25	>10

Table 4 Grading parameters with cutoff definitions based on present cohort findings (see note for application details)

G. Rindi et al. Grading the neuroendocrine tumors of the lung: an evidence-based proposal. // Endocrine-Related Cancer (2014) 21, 1–16



Гистологическая градация НЭО тимуса – С. Moran 2000

Grade	Митозы X 10 HPF	Атипия	Другие признаки
G1	< 3	Минимальная	Мелкие фокусы некрозов и хорошо сохраненная классическая органоидная модель строения
G2	4-9	Цитоплазматическая атипия	Потеря классической органоидной модели строения, более выраженные некрозы . Возможна сосудистая инвазия
G3	= 10	Ядерная атипия	Обширные области некрозов . Сосудистая инвазия

Table 2. Histological Classification of Thymic NETs

Moran & Suster *Am J Clin Pathol* 2000, 14: 100-110

НЭО тимуса - WHO 2015. Основные категории

• Высокодифференцированные НЭО

- Типичный карциноид
- Атипичный карциноид

• Низкодифференцированные НЭО

- Мелкоклеточный рак
- Крупноклеточный нейроэндокринный рак

Лечение опухоли непосредственно зависит от типа НЭН (места возникновения!), степени злокачественности (Grade) и стадии

Выживаемость при Тимических НЭО vs. *Легочных НЭО*

Grade	5-летняя выживаемость	10-летняя выживаемость
Low grade vs. <i>Low grade Легочный карциноид</i>	50% <i>85-90%</i>	9% <i>70%</i>
Intermediate grade vs. <i>Intermediate grade Легочный карциноид</i>	20% <i>55%</i>	0% <i>30%</i>
High grade vs. <i>High grade Легочный карциноид</i>	0% <i>10-20%</i>	0% <i>5%</i>

Эндокринопатии ассоциированы почти с 50% НЭО тимуса.

Часть синдрома МЭН-1; Синдром Кушинга – 1/3 больных;

Синдром Итона Ламберта, периферическая нейропатия; проксимальная миопатия

Дифференциальная диагностика НЭО легкого – WHO/IARC 2015

Критерий	ТК	АК	КНЭР	МРЛ
Митозы x 2 мм ²	0-1	2-10	>10 (сред. 70)	>10 (сред. 80)
Некрозы	нет	нет/фокальные	да	да
Индекс Ki-67	< 5%	< 20%	40-80%	50-100%
TTF-1	-	-	+ (50%)	+ (85%)
Syn/CgA	+	+	+ (80-90%)	+ (80-90%)
CD56	+	+	+ (80-90%)	+ (80-90%)
Не-НЭ компонент	нет	нет	иногда	иногда

Нейроэндокринная морфология

Table 1.16 Differential diagnosis of neuroendocrine tumours based on clinicopathological characteristics

Travis WD, Brambilla E, Burke AP, Marx, A., Nicholson AG. *WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart*. Lyon: IARC; 2015

Карциноид & морфология

- 
- Органоидный тип строения с формированием гнезд, розеток, палисадов, трабекул
 - Однотипные клетки
 - Гранулярный хроматин (“salt & pepper”) и отсутствие ядрышек

Преинвазивные поражения

Преинвазивное поражение

- **DIPNECH** (диффузная идиопатическая гиперплазия НЭ клеток)

НЭО

- Карциноидные опухоли
 - Типичный карциноид
 - Атипичный карциноид

Преинвазивное поражение

- Не распознано

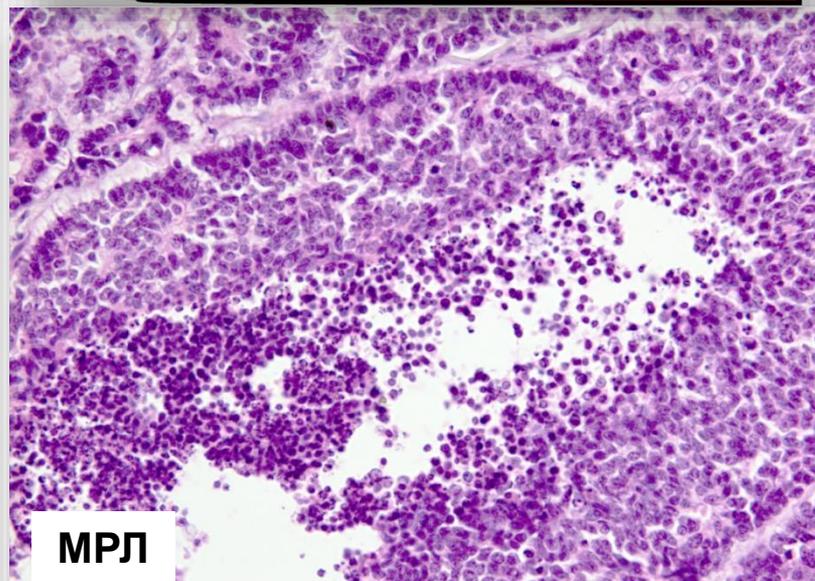
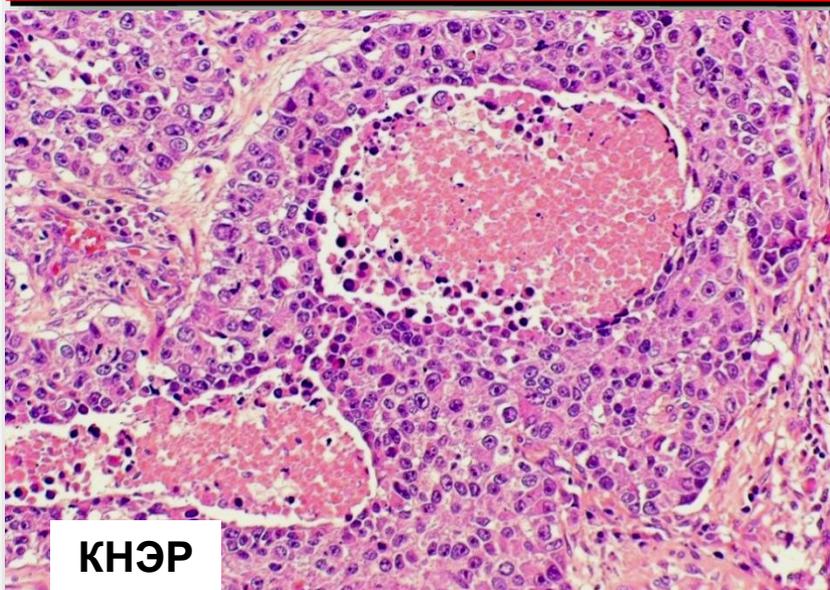
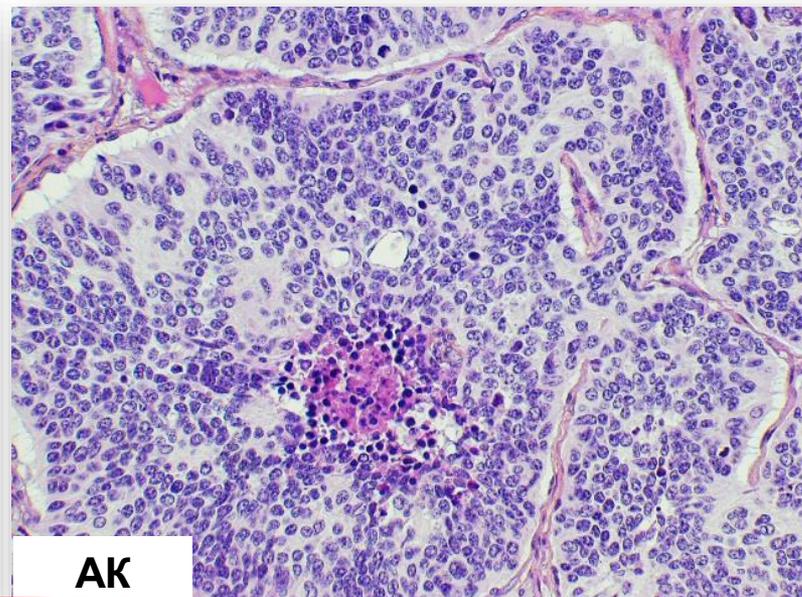
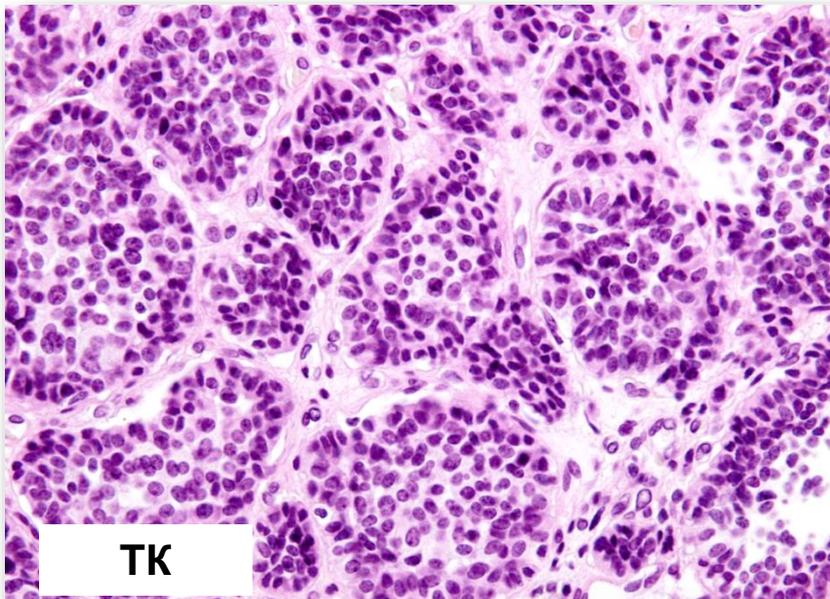
- КНЭР
- МРЛ

НЭ поражения легкого

- Гиперплазия НЭ клеток
 - DIPNECH (Diffuse Idiopathic NE Cell Hyperplasia)
 - Tumorlets (< 0.5 см)
-

- Нейроэндокринные опухоли
 - Типичный карциноид
 - Атипичный карциноид
 - Крупноклеточный нейроэндокринный рак
 - Мелкоклеточный рак легкого

Спектр НЭО легких и тимуса



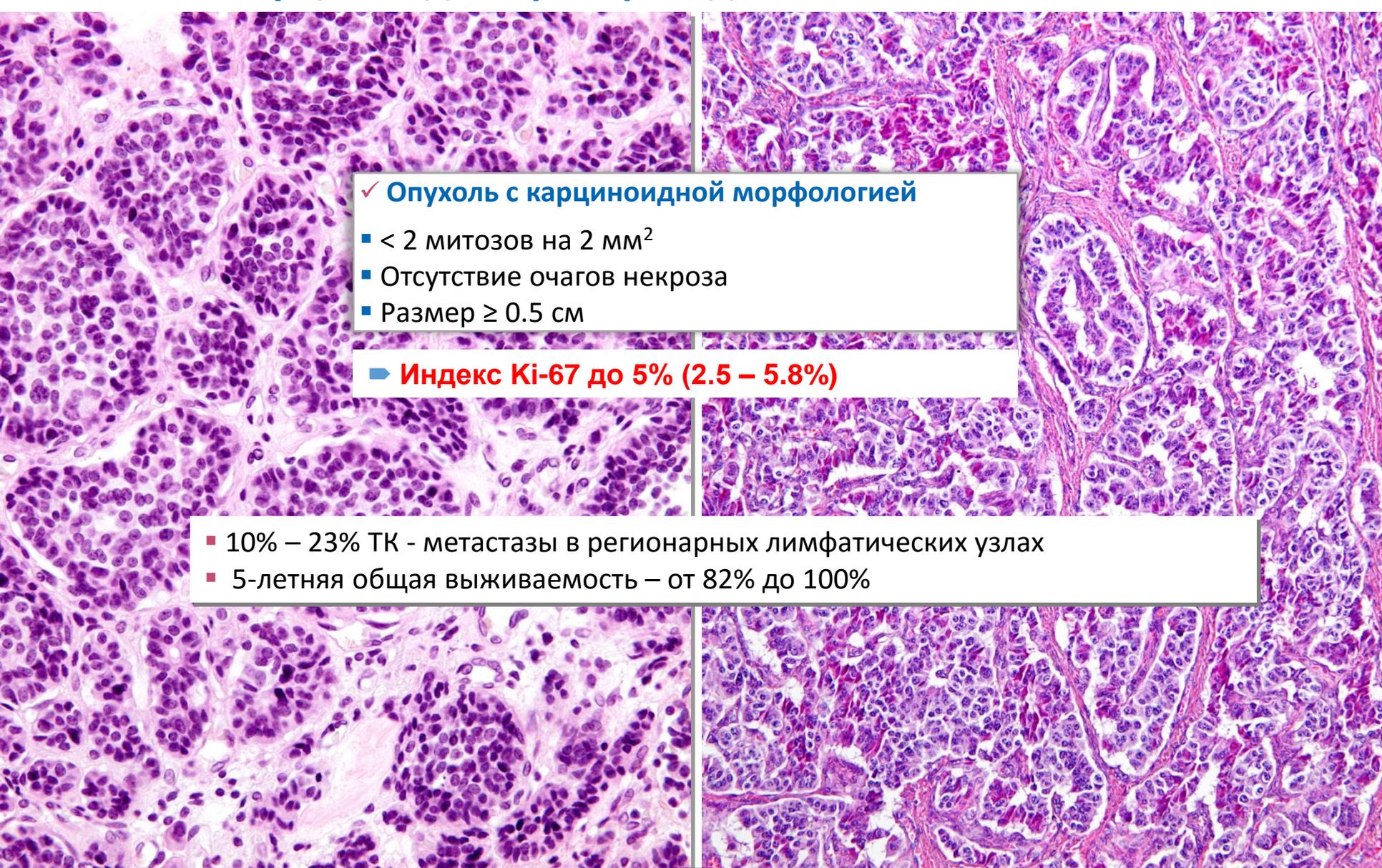
Определение

Классификация

Диагностика

ИГХ маркеры

Типичный карциноид & Критерии диагностики



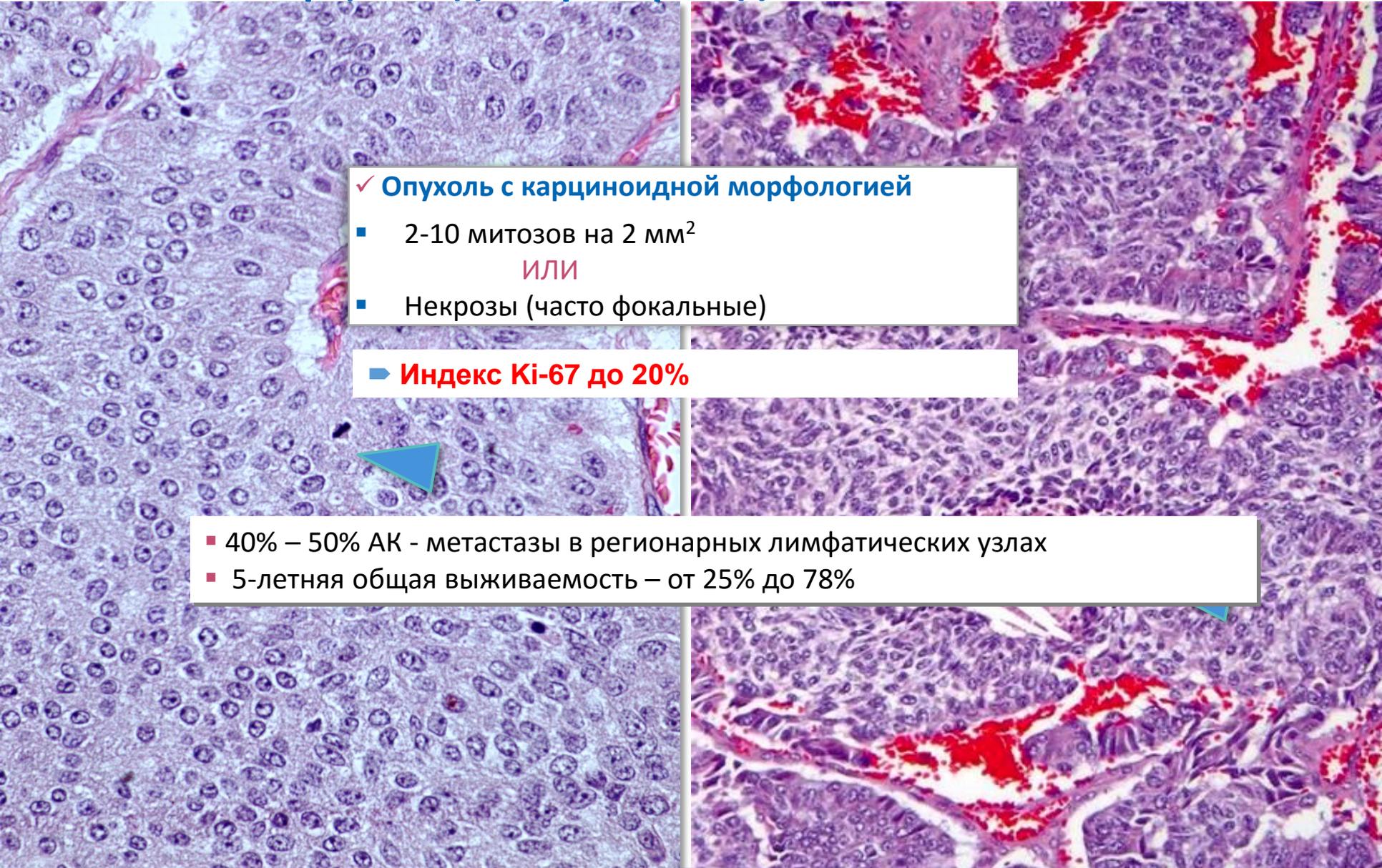
✓ Опухоль с карциноидной морфологией

- < 2 митозов на 2 мм²
- Отсутствие очагов некроза
- Размер ≥ 0.5 см

➔ Индекс Ki-67 до 5% (2.5 – 5.8%)

- 10% – 23% ТК - метастазы в регионарных лимфатических узлах
- 5-летняя общая выживаемость – от 82% до 100%

Атипичный карциноид & Критерии диагностики



✓ Опухоль с карциноидной морфологией

- 2-10 митозов на 2 мм²
ИЛИ
- Некрозы (часто фокальные)

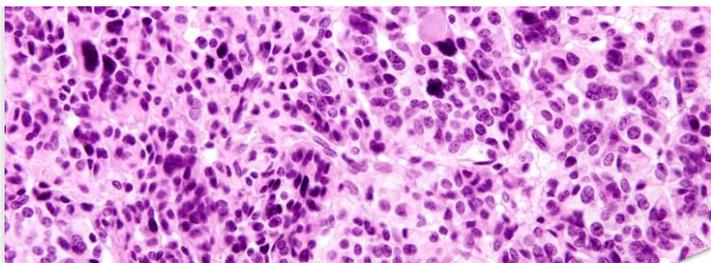
➔ Индекс Ki-67 до 20%

- 40% – 50% АК - метастазы в регионарных лимфатических узлах
- 5-летняя общая выживаемость – от 25% до 78%

Карциноидные опухоли & Дополнительные гистологические параметры

Неблагоприятные гистологические признаки в ТК: плеоморфизм, клеточность; инвазия кровеносных/лимфатических сосудов, метастазы в лимфатических узлах

- Настораживают
- Не дополняют/влиют/изменяют диагноз
- Влияют на выживаемость больных & лечение?



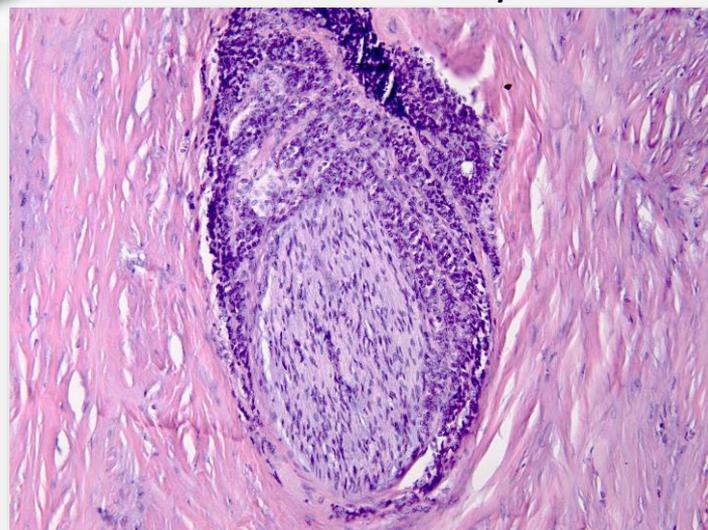
Ядерный плеоморфизм



Метастаз в лу



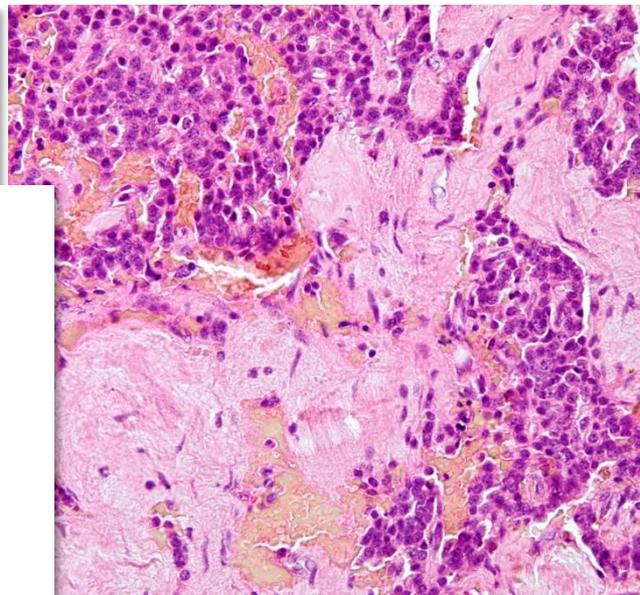
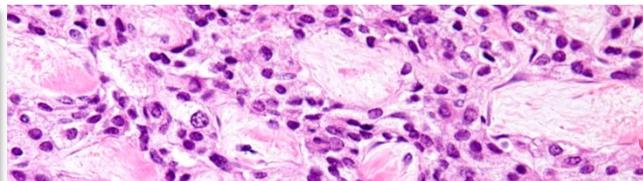
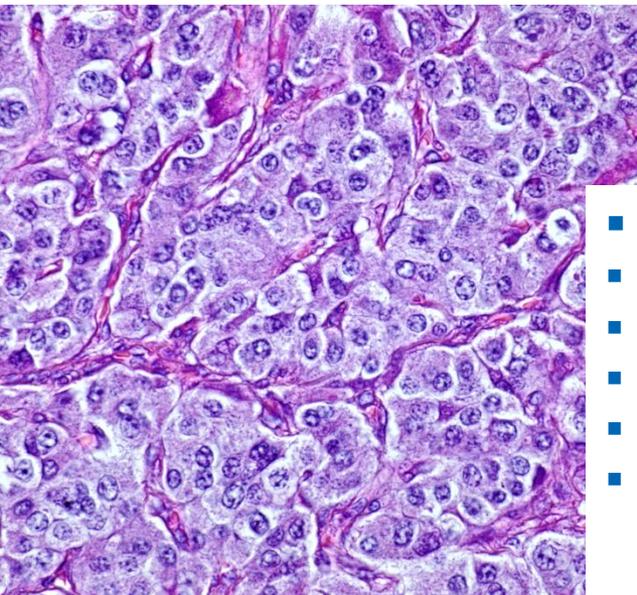
Ангиоинвазия



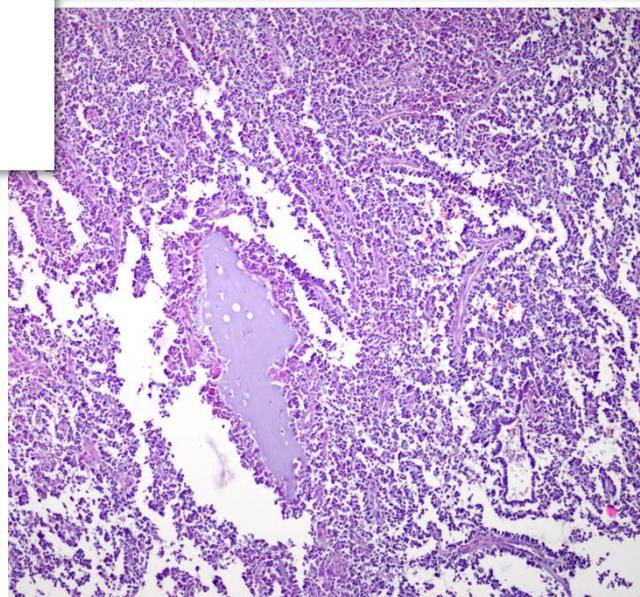
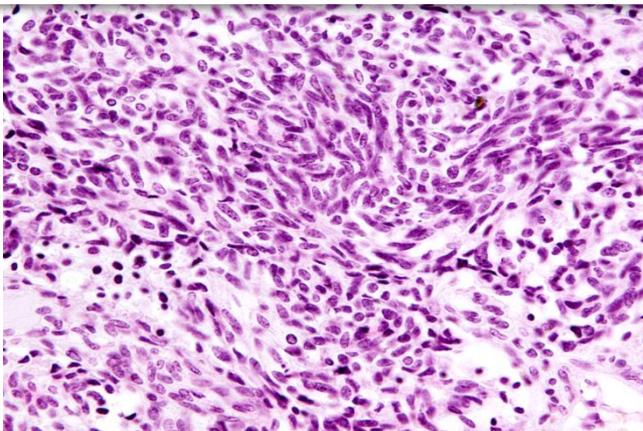
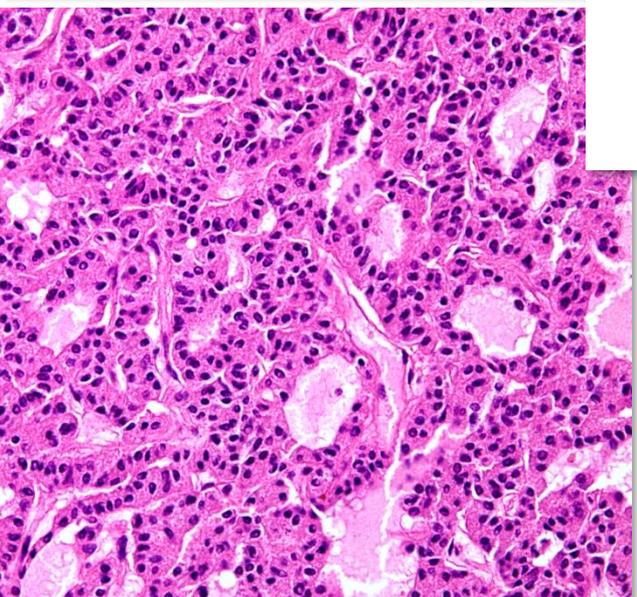
Нейроинвазия

Не являются критериями межвариантной диагностики (ТК vs АК)

Разнообразие моделей гистологического строения



- Онкоцитарный
- Пигментный
- Муцинозный
- Светлоклеточный
- Веретеноклеточный
- С образованием в строме
 - гиалина
 - амилоида
 - хряща
 - кости
 - псаммомных телец



КНЭР & Критерии диагностики

- НЭ Морфология
- Митозы (≥ 10 на 2мм^2 ; среднее – 70)
- Некрозы (обширные)
- Признаки немелкоклеточного рака
 - Большой размер клеток ($>$ диаметра 3 лимфоцитов)
 - Низкое Я/Ц соотношение (выраженная цитоплазма)
 - Округло-овальная или полигональная форма клеток
 - Четкие ядрышки (не в каждом случае)
 - Грубый или везикулярный хроматин (может быть нежно гранулярный)
- НЭ дифференцировка при ЭМ или ИГХ

➔ Индекс Ki-67 40 -80%

МРЛ & Критерии диагностики

- Высокая митотическая активность ($\geq 2/\text{mm}^2$; в среднем 60-80/ 2mm^2)
- Некроз отдельных клеток
- Обширные зоны некроза
- “Маленькие клетки” (размер менее диаметра 3 лимфоцитов)
- Высокое ядерно/цитоплазматическое соотношение
- Характерные ядерные характеристики
- Отсутствие ядрышек

➔ Индекс Ki-67 50 - 100%

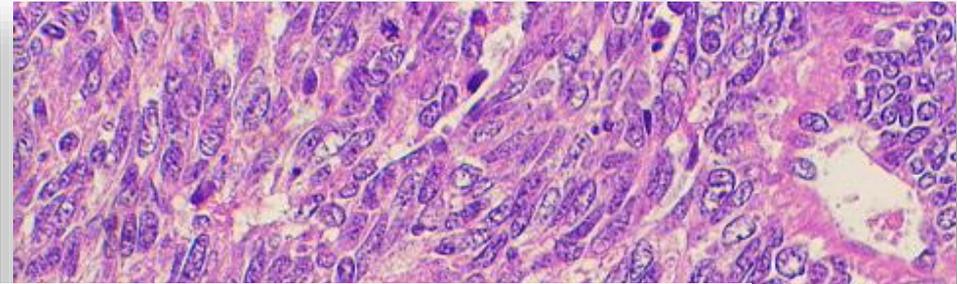
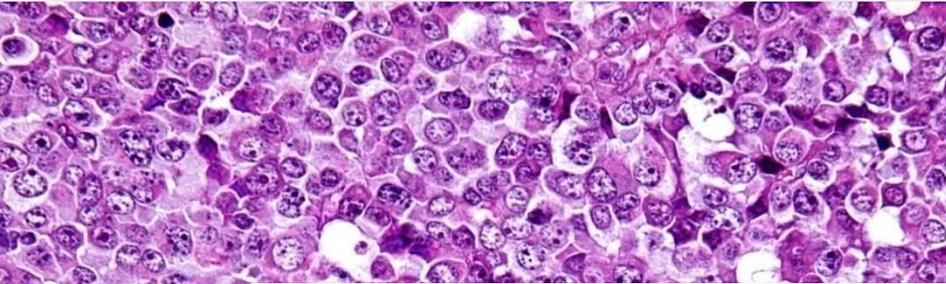
Основные принципы диагностики

- **Диагностика основана, главным образом, на световой микроскопии**
 - Морфологическое и иммунофенотипическое сходство между подтипами НЭО, особенно категориями высокой степени злокачественности.
 - Ключевым моментом является оценка морфологических признаков в комбинации с точно определенной митотической активностью и наличием или отсутствием некрозов в опухоли.

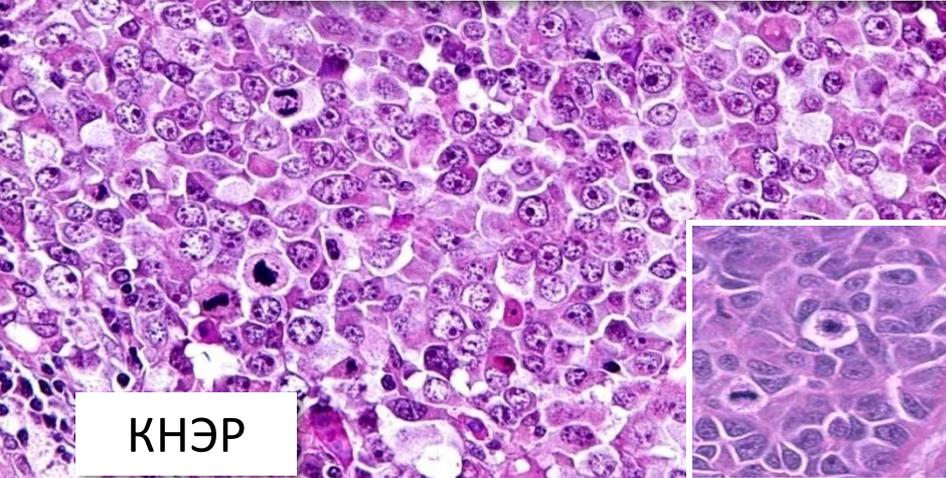


Диагностика проводится на основе критериев классификации WHO/IASLC 2015

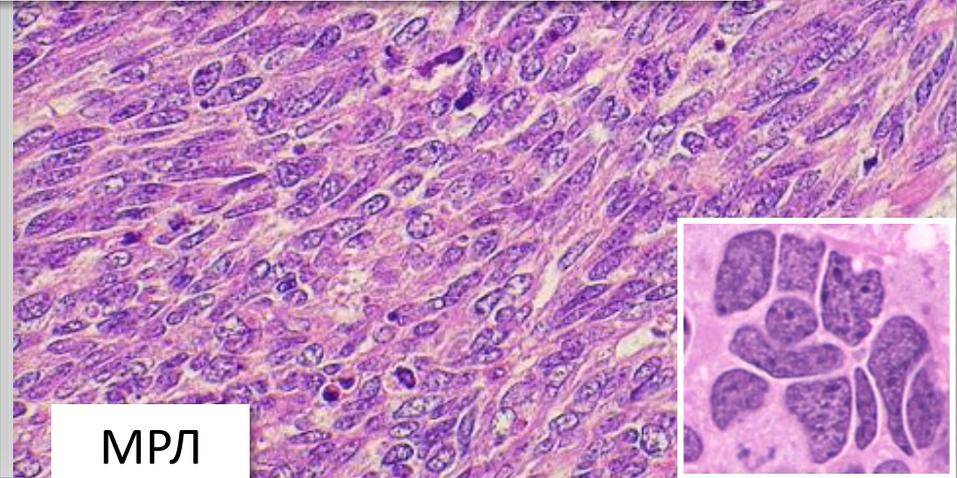
Крупноклеточный НЭР vs Мелкоклеточный рак легкого



- Более крупный размер клеток
- Умеренная или выраженная цитоплазма
- Четкие ядрышки
- Везикулярный или грубый ядерный хроматин
- Полигональные, скорее чем веретенообразные клетки



КНЭР



МРЛ

Определение

Классификация

Диагностика

ИГХ маркеры

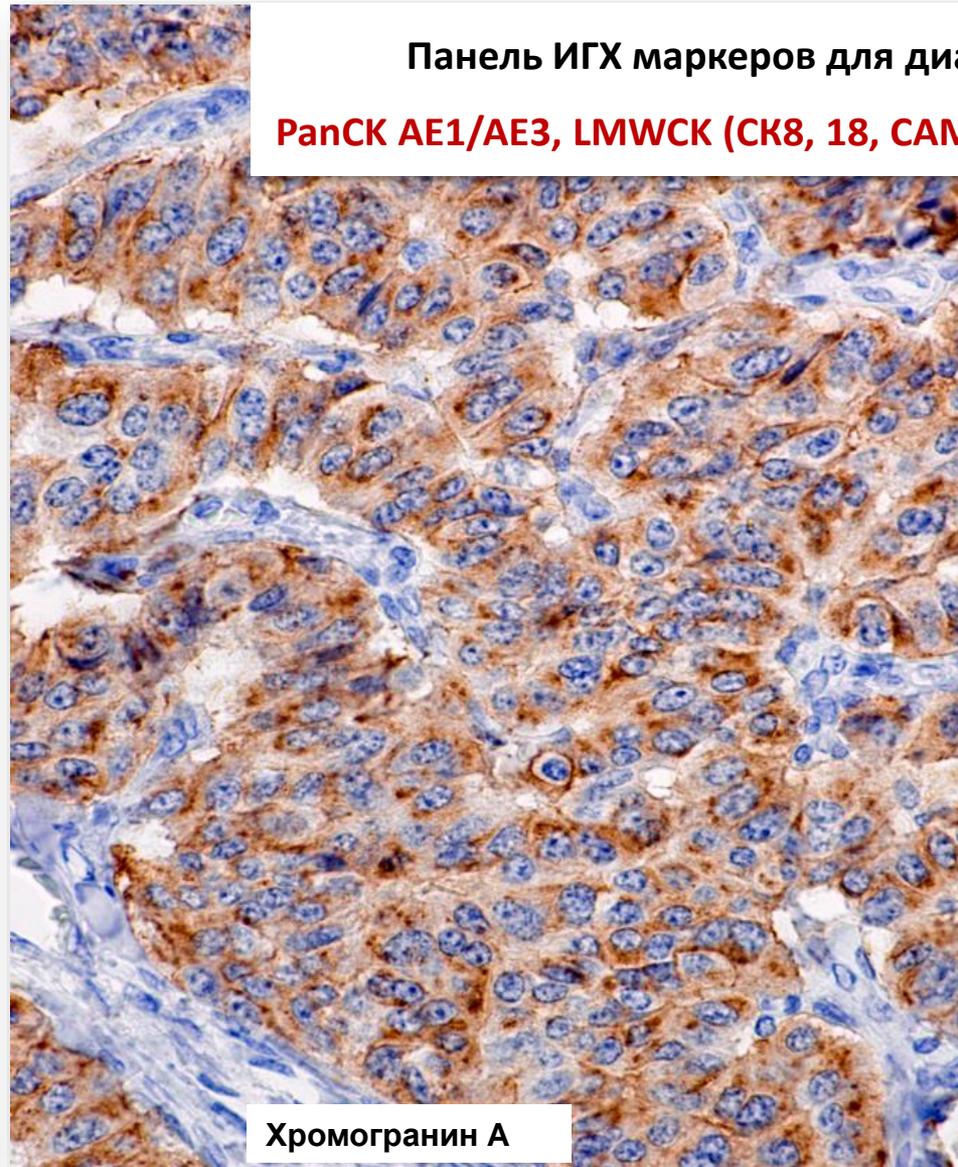
Общие иммуногистохимические нейроэндокринные маркеры

Классы молекул	Маркеры
Ассоциированные с секреторными гранулами	хромогранины А, В, С; NESP55
Ассоциированные с синаптическими пузырьками	синаптофизин; VMAT1,2; SV2
Промежуточные филаменты	NF, CK 8/18 (CAM 5.2)
Адгезивные молекулы	NCAM / CD56
Цитозольные	NSE, PGP9.5

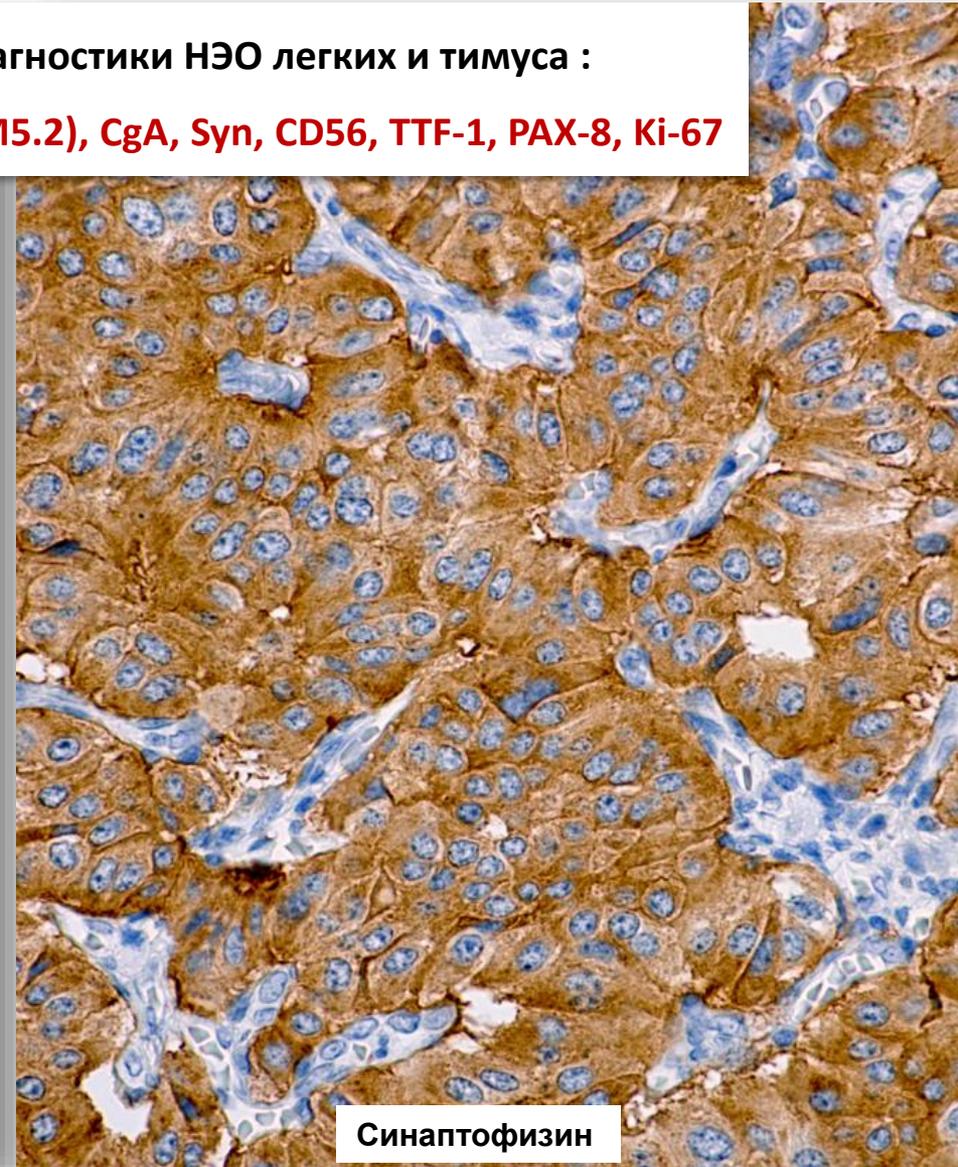
Иммуногистохимическое исследование карциноидных опухолей

Панель ИГХ маркеров для диагностики НЭО легких и тимуса :

PanCK AE1/AE3, LMWCK (CK8, 18, CAM5.2), CgA, Syn, CD56, TTF-1, PAX-8, Ki-67

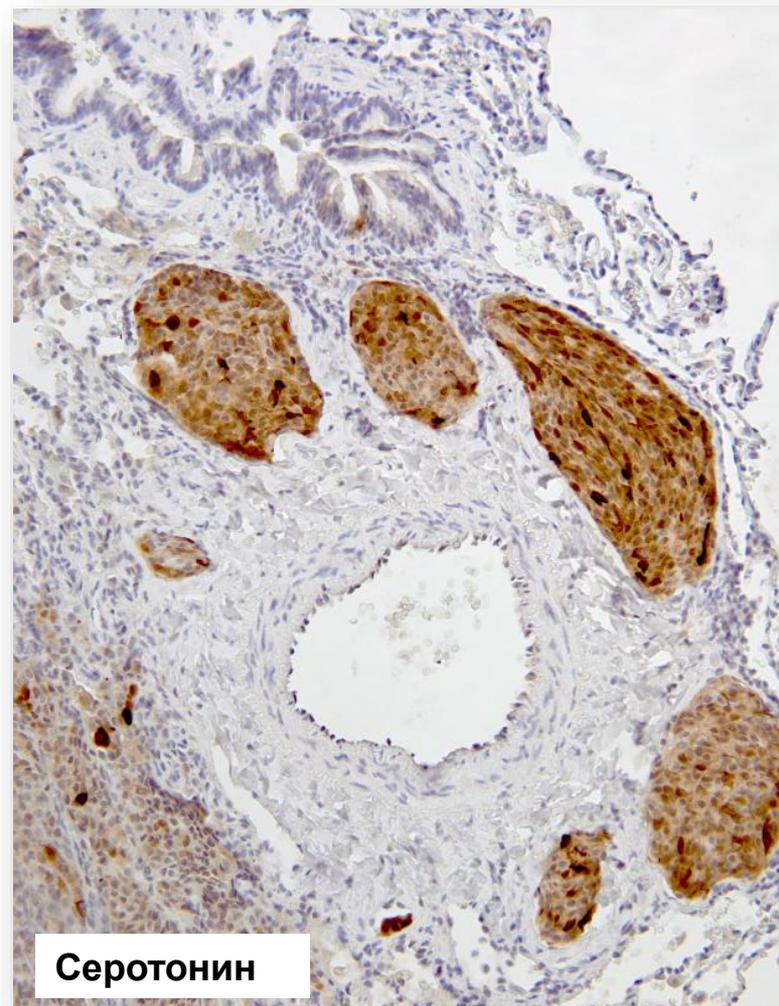
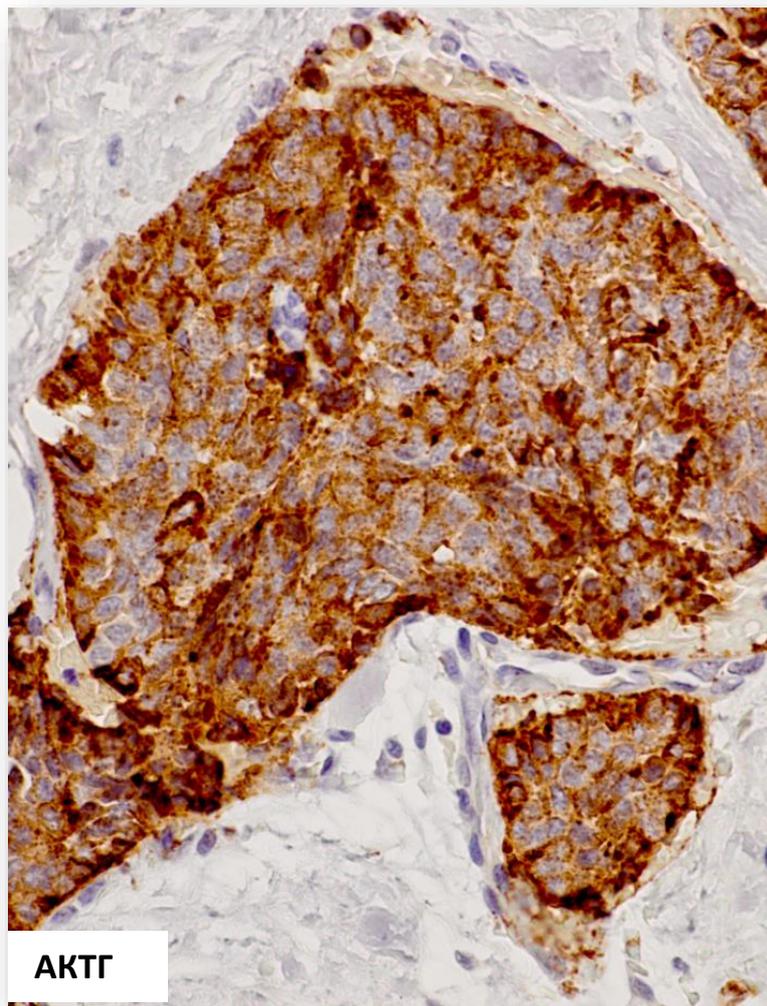


Хромогранин А



Синаптофизин

Определение гормонального статуса



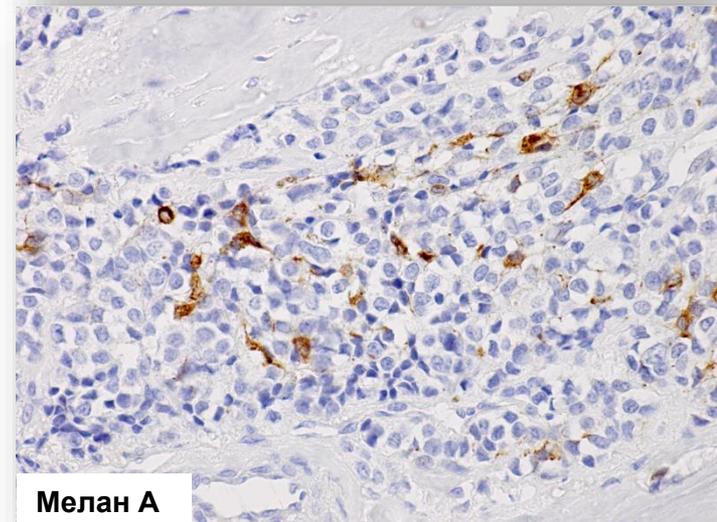
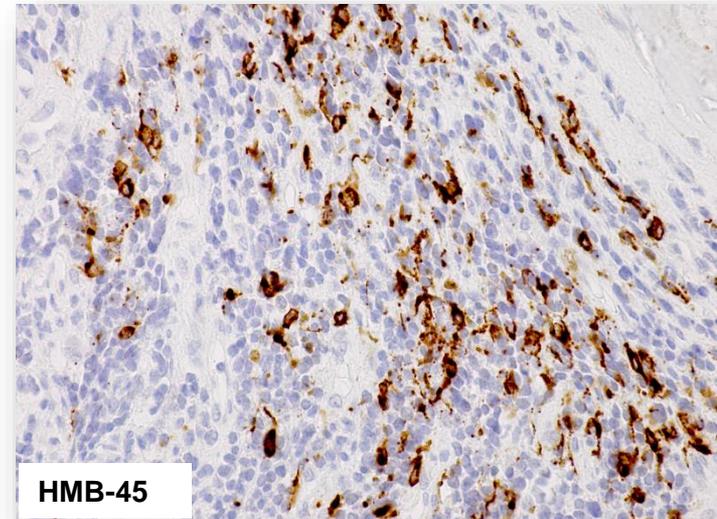
Функционирующий атипичный карциноид тимуса

Нефункционирующий типичный карциноид легкого

НЭО тимуса & Необычные гистологические варианты

- Веретеноклеточный
- Пигментный
- Онкоцитарный
- Муцинозный
- Светлоклеточный
- С многоядерными клетками
- С гиалинизацией стромы
- С амилоидоподобной стромой
- Ангиоматоидный
- С саркоматозными изменениями
- По типу медуллярной карциномы щитовидной железы (кальцитонин)
- С формированием кости, амилоида, псаммомных тел

Пигментный карциноид тимуса



МРЛ & Диагностика

Иммуногистохимические окраски

ИГХ маркеры:

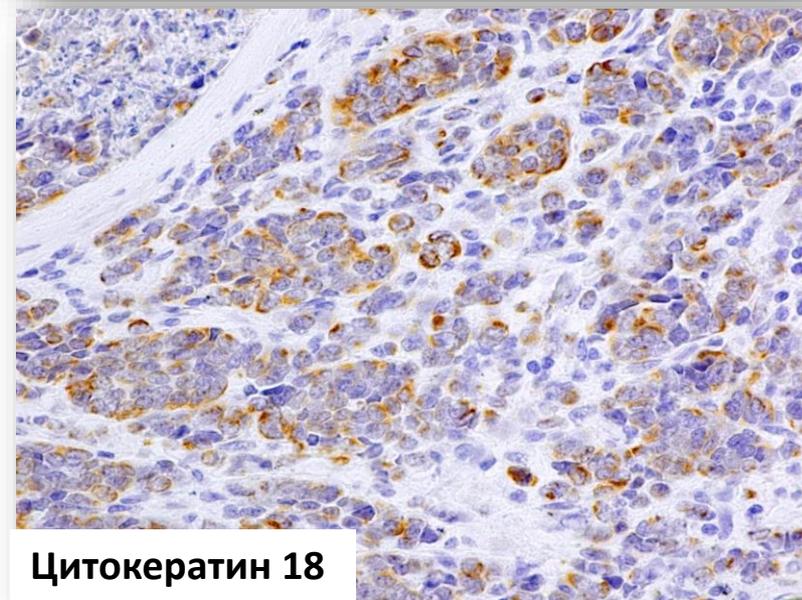
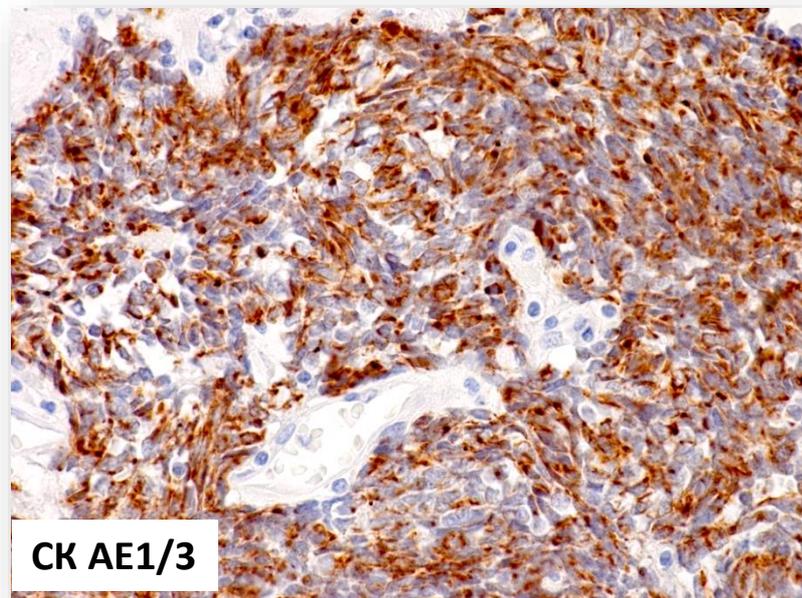
■ Эпителиальные:

- Общие цитокератины (АЕ1/3)
- Низкомолекулярные цитокератины (САМ 5.2, СК8, СК18)

■ Нейроэндокринные:

- CD 56 (NCAM)
- Chromogranin A
- Synaptophysin

- 10% - нет ИГХ подтверждения НЭ дифференцировки



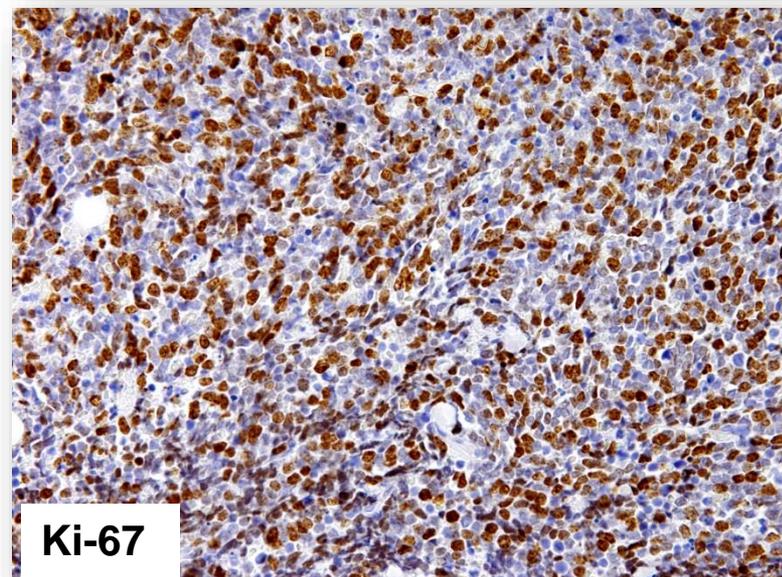
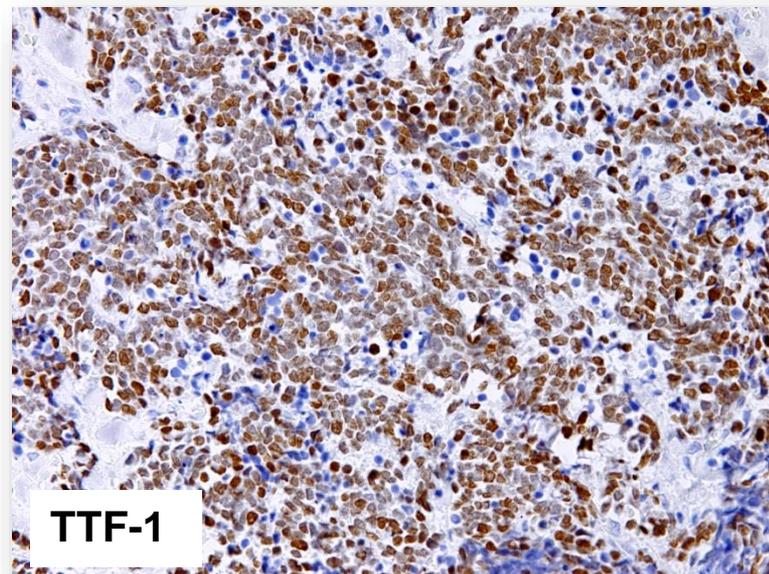
МРЛ & Диагностика

Иммуногистохимические окраски

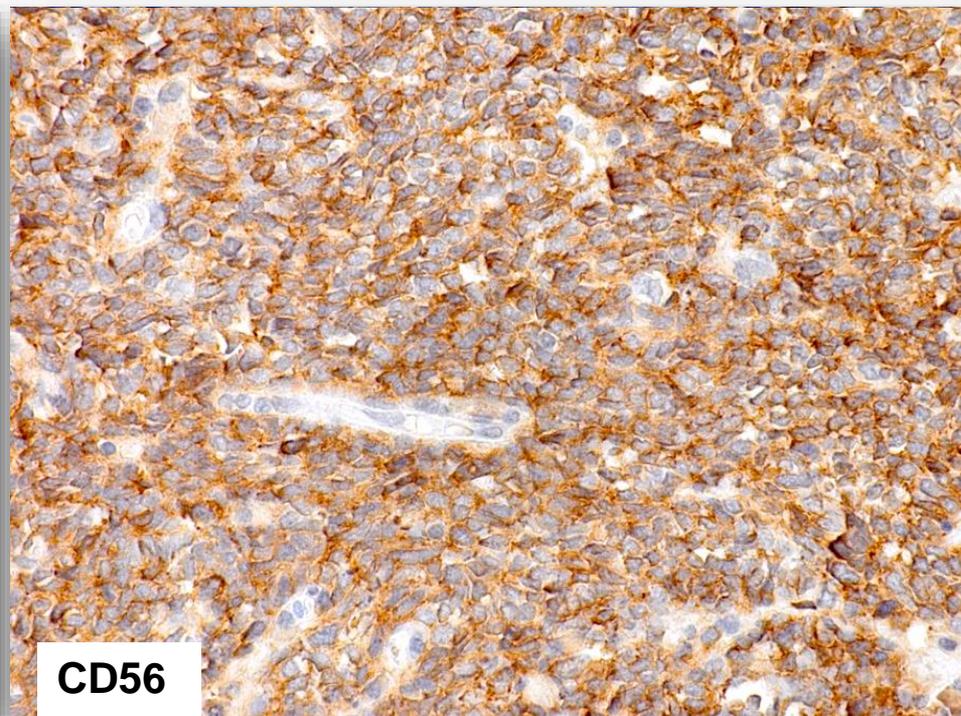
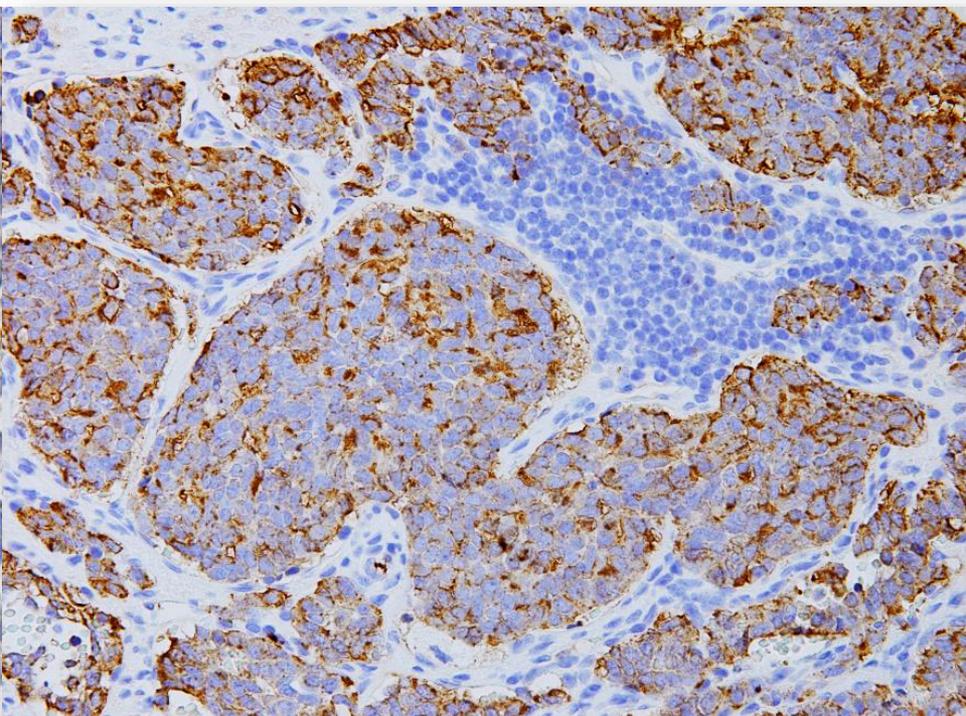
- Другие маркеры:
 - Ki67/MIB-1 (> 50%)
 - TTF-1

- Негативные окраски:
 - HMWCK (CK5/6, 34betaE12)
 - p63

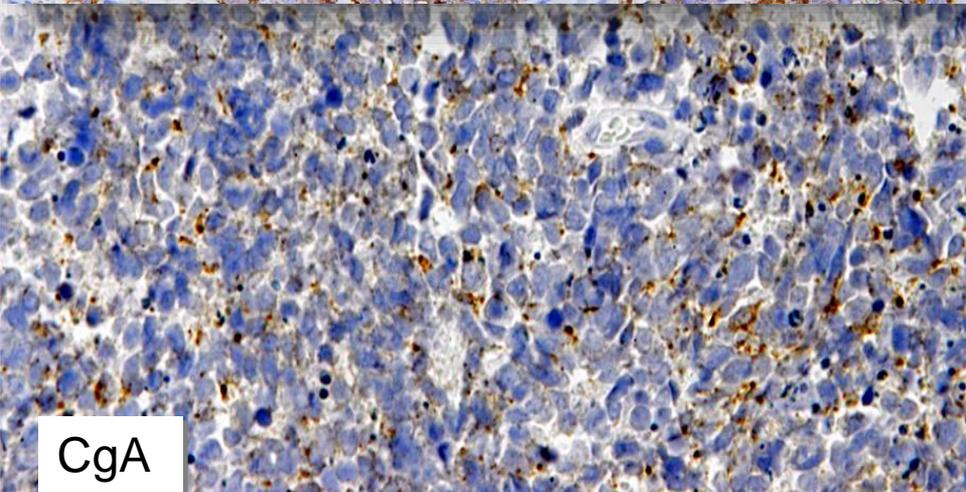
- Несмотря на ценность ИГХ окрасок, **диагноз основывается на данных световой микроскопии (H&E)**



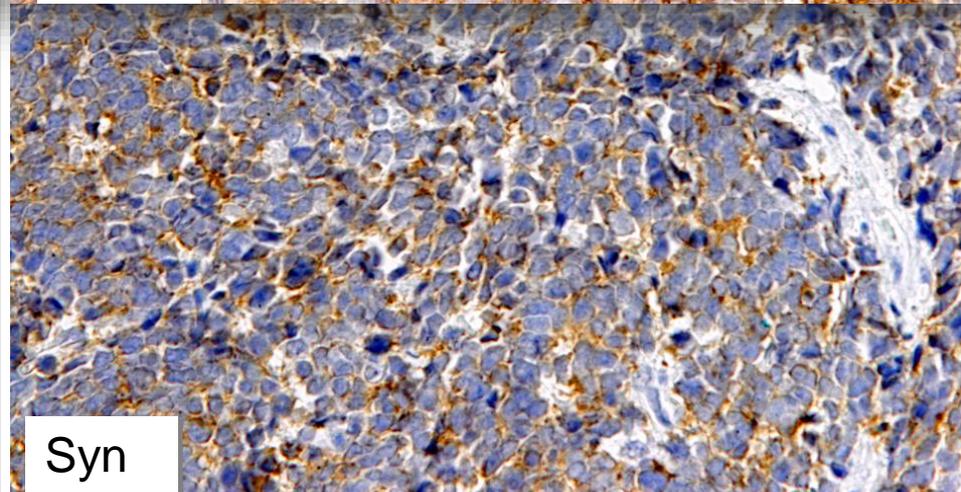
КНЭР & МРЛ



CD56



CgA



Syn

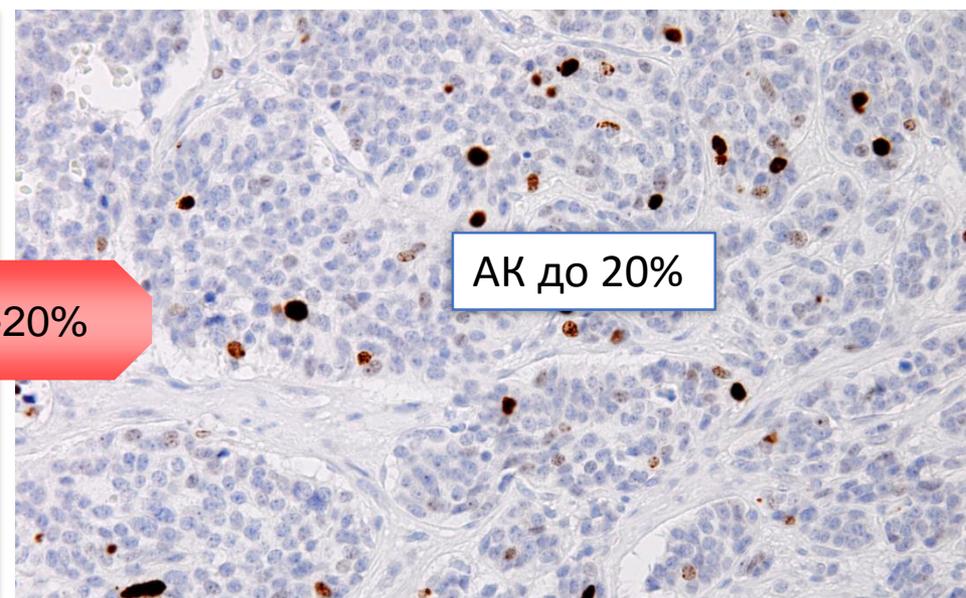
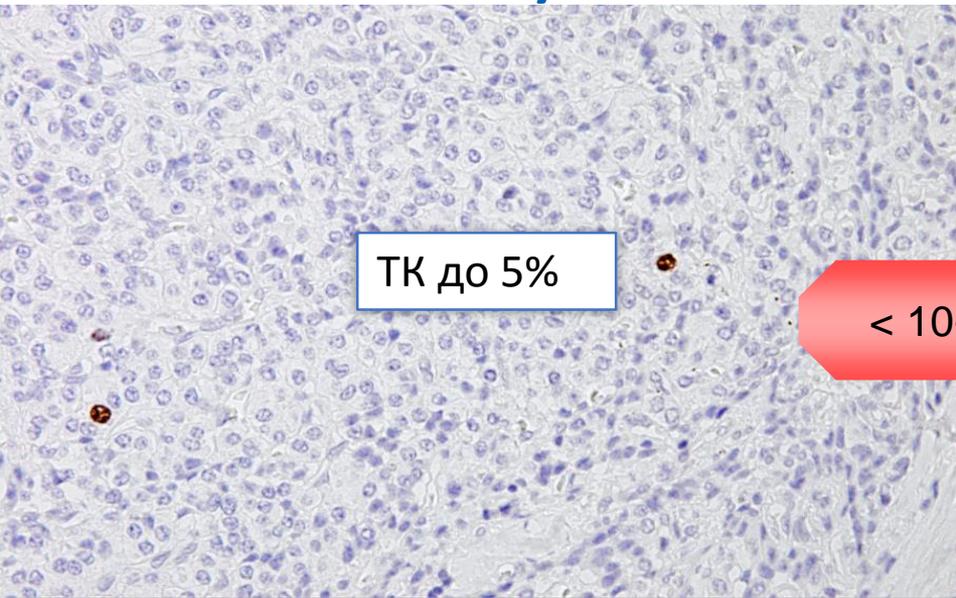
Определение

Классификация

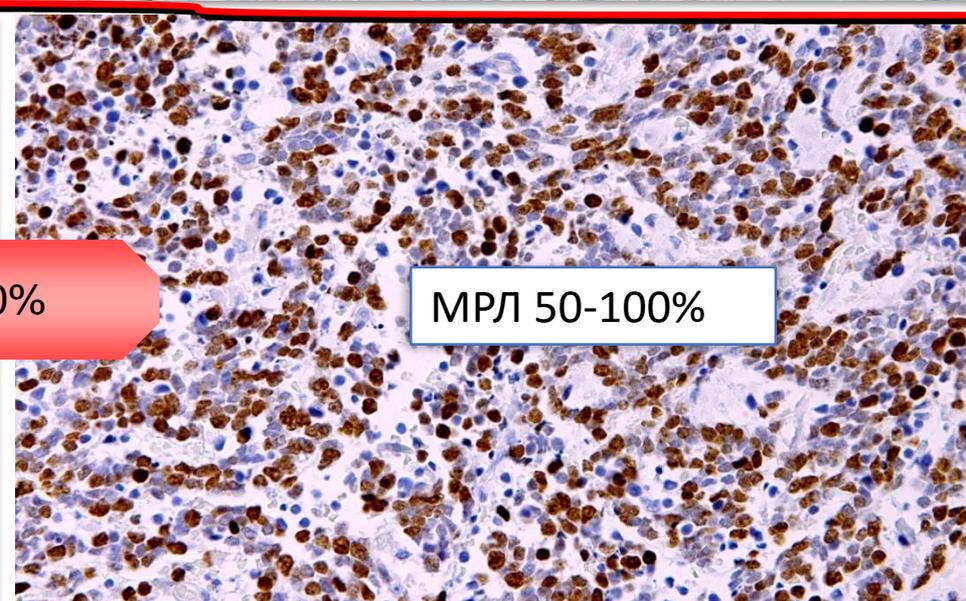
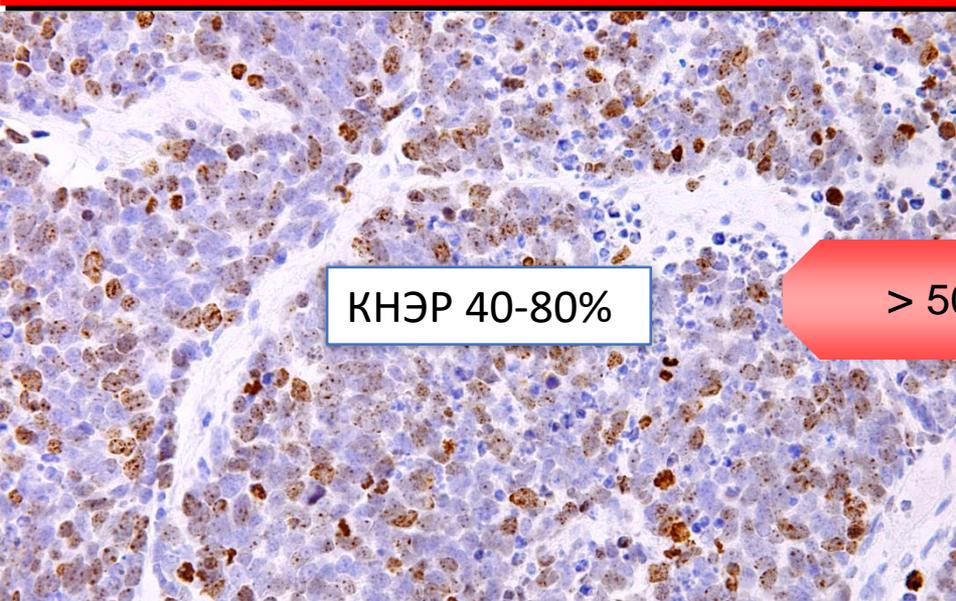
Диагностика

ИГХ маркеры

НЭО легких и тимуса & Ki67

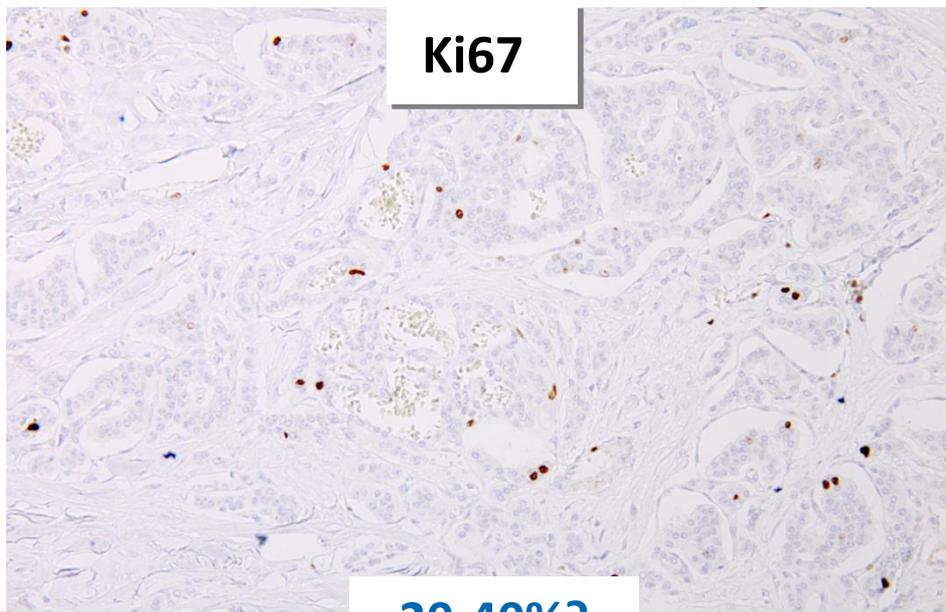


< 10-20%

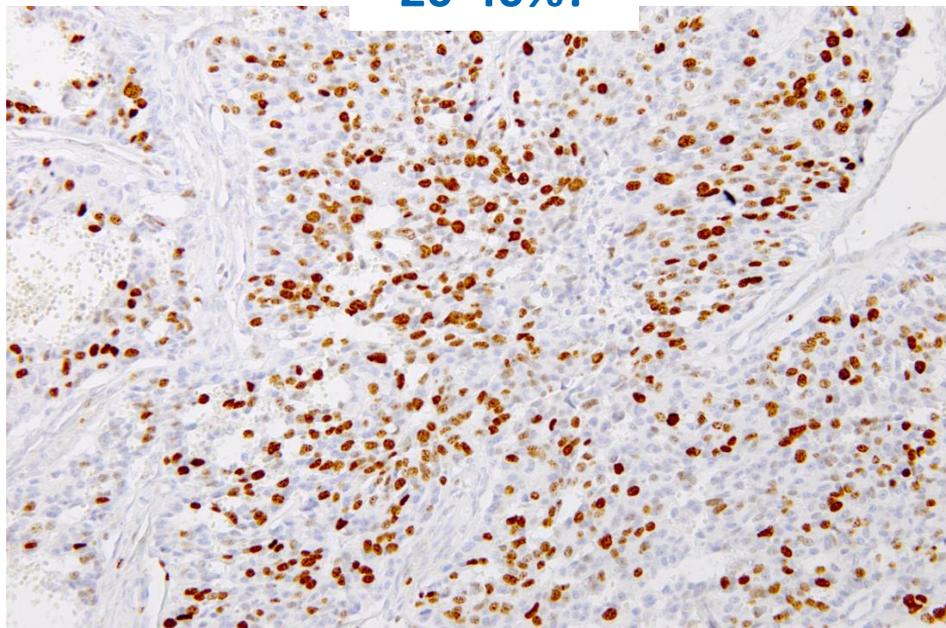


> 50%

**Атипичный
карциноид**

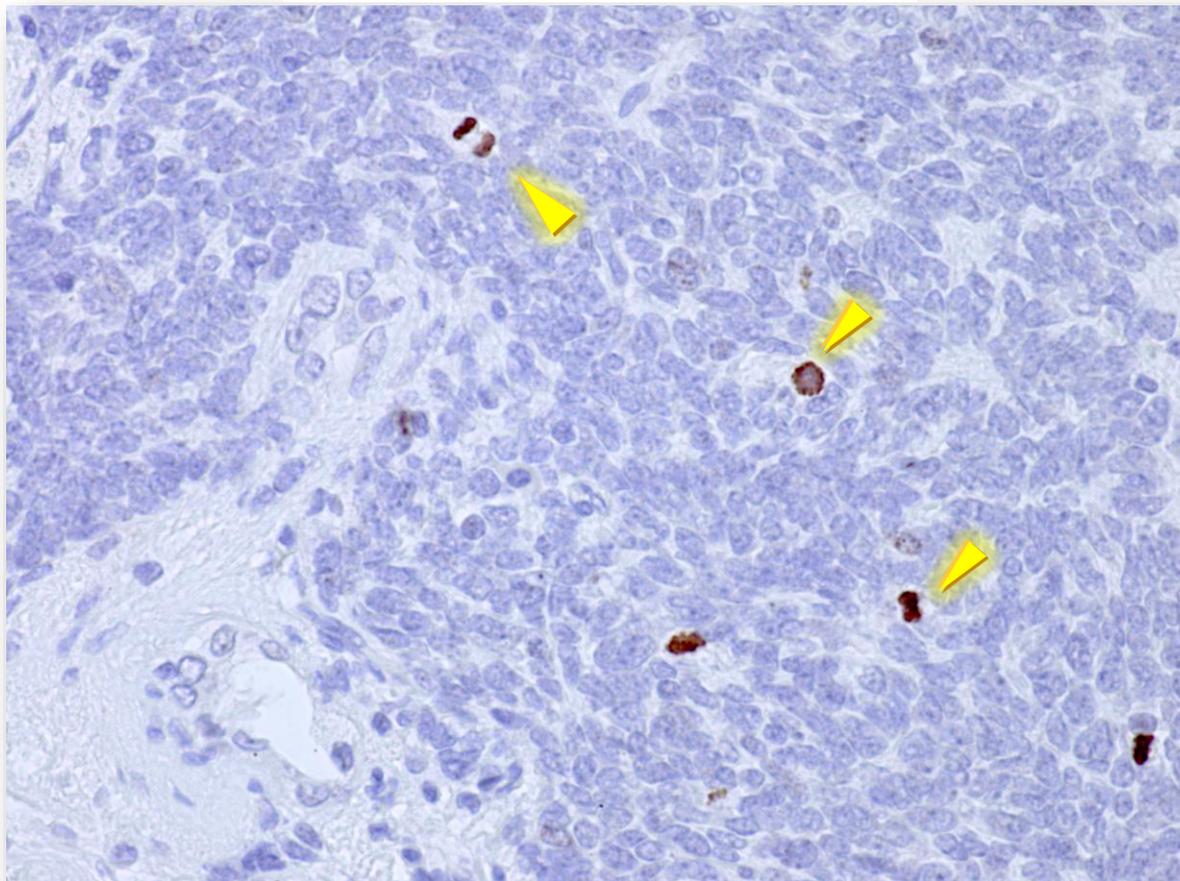


КНЭР



Карциноидные опухоли легких и тимуса

Phosphohistone H3 – PHH3



Атипичный карциноид легкого

TTF-1 – карциноидные опухоли

• Положительный

- Oliveira AM, Tazelaar HD, Myers JL, Erickson LA, Lloyd RV. Thyroid transcription factor-1 distinguishes metastatic pulmonary from well-differentiated neuroendocrine tumors of other sites. // Am J Surg Pathol. 2001 Jun;25(6):815-9.

- Du EZ, Goldstraw P, Zacharias J, Tiffet O, Craig PJ, Nicholson AG, Weidner N, Yi ES. TTF-1 expression is specific for lung primary in typical and atypical carcinoids: TTF-1-positive carcinoids are predominantly in peripheral location. // Hum Pathol. 2004 Jul;35(7):825-31

• Отрицательный

- Sturm N, Rossi G, Lantuejoul S, Papotti M, Frachon S, Claraz C, Brichon PY, Brambilla C, Brambilla E. Expression of thyroid transcription factor-1 in the spectrum of neuroendocrine cell lung proliferations with special interest in carcinoids.// Hum Pathol. 2002 Feb;33(2):175-82

TTF-1 & НЭО легкого

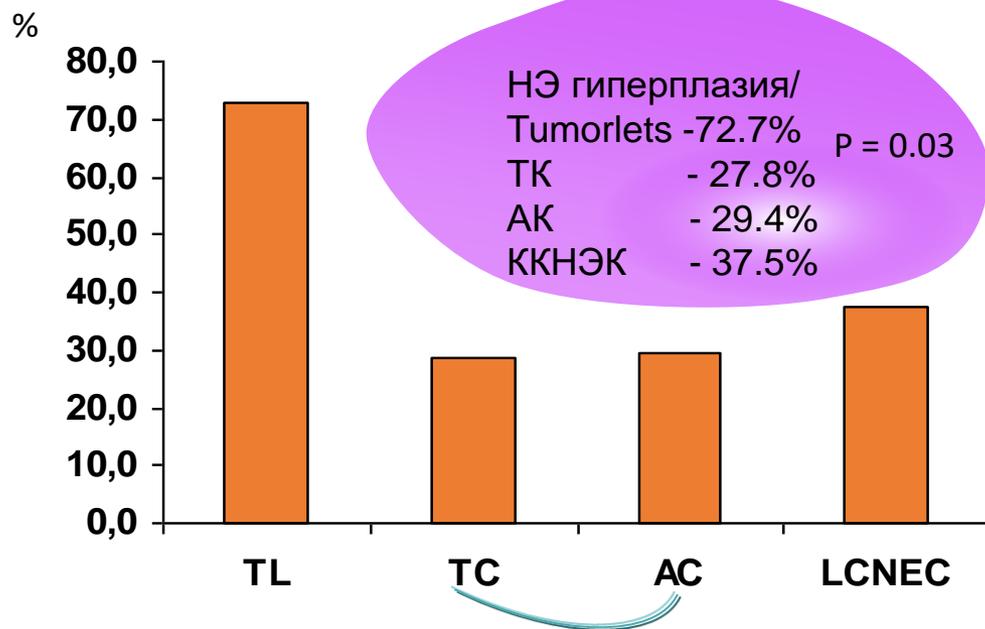
TTF-1 Expression is Specific for Lung Primary in Typical and Atypical carcinoids: TTF-1-Positive Carcinoids are Predominantly in **Peripheral Location**

Hum Pathol. 2004;35(7):825-831

EMMA Z. DU, P. GOLDSTRAW,

JO ZACHARIAS et al.

Периферическая
локализация и
веретеноклеточная
морфология
легочных
карциноидов



TTF1 expression in normal lung neuroendocrine cells and related tumors:

immunohistochemical study comparing two **different monoclonal antibodies**

Virchows Arch. 2010;457(4):497-507.

La ROSA S, CIARAVALI FM, PLACINI C. et al.

TTF-1 клон
SPT24 | 8G7G3/1

Мелкоклеточный рак & TTF-1

Thyroid Transcription Factor-1

Локализация	TTF-1	CK7	CK20
Легкое	+	иногда	иногда
Предстательная железа	+	иногда	иногда
Мочевой пузырь	иногда	-	-
Молочная железа	иногда	+	-
ЖКТ	иногда	?	-
Слюнная железа	-	?	иногда
Шейка матки	иногда	?	иногда
Кожа (из клеток Меркеля)	-	-	+

ХромогранинА и синаптофизинvariably позитивны во всех этих опухолях

Основные типы опухолей легкого: ДД

ИГХ маркеры	Аденокарцинома	Плоскоклеточный рак	Карциноиды, КНЭР & МКР
Napsin A	+	-	-
TTF-1	+	-	+
	80%		70-80% МКР 50-60% ККНЭК
			+ - ТК, АК
P63, CK5/6, CK34βE12	-	+	-
Cg, Syn, CD56	-	-	+

Mod Pathol. - 2009; 22:709-717

НЭО легких и тимуса. Заключение

		GRADE	Диагностический термин
Степень дифференцировки	Высокая	1 Низкая / Low Grade	Типичный карциноид
		2 Промежуточная / Intermediate Grade	Атипичный карциноид
	Низкая	3 Высокая / High Grade	Крупноклеточный НЭ рак
			Мелкоклеточный рак

НЭО легких и тимуса. Заключение

- Все карциноиды легких и тимуса – злокачественные опухоли, которые могут демонстрировать различное биологическое поведение;
- **Типичный карциноид (ТК) и атипичный карциноид (АК)** – опухоли, соответственно, низкой и промежуточной степени злокачественности;
- Термины ТК и АК сохранены, так как эти редкие новообразования характеризуются существенными клиническими, эпидемиологическими, морфологическими и генетическими отличиями от мелкоклеточного и КНЭР;
- Система градации опухолей внутригрудной локализации (легкое/тимус) учитывает:
 - Некрозы / Митозы
 - Индекс Ki-67 (пороговые уровни уточняются)
- Терминология различается между НЭО легкого и ЖКТ. Изучение молекулярных особенностей опухолей является важной задачей.

Спасибо за внимание!



**Мастер-классы « Нейроэндокринные опухоли » , 10-12 мая 2016, Москва,
РОНЦ им. Н.Н. Блохина МЗ РФ, 115478 Москва, Каширское шоссе 23/2**