

DOI:10.18027/2224-5057-2017-7-4-13-20

Использование цитологического материала при диагностике рака легкого

О. Г. Григорук^{1,2,3}, Е. Э. Пупкова², Л. М. Базулина², А. Ф. Лазарев^{1,2,3}

¹ Алтайский филиал ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, Барнаул, Россия

² КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер», Барнаул, Россия

³ ФГБОУ «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, Барнаул, Россия

Для корреспонденции: cytolakod@rambler.ru

Резюме: В статье показаны возможности использования цитологического материала при диагностике рака легкого на примере работы онкологического диспансера в течение одного года. Световая микроскопия использована при изучении цитологических препаратов различного материала у 729 больных. Метод позволил установить диагноз рака легкого в большинстве наблюдений с определением гистологического типа в 89%. При сопоставлении цитологического заключения с окончательным диагнозом расхождения в определении гистотипа опухоли составляют менее 1%. Иммуноцитохимические исследования использованы при исследовании плевральных жидкостей у 40 пациентов без установленного первичного очага. Иммуноцитохимические исследования позволили уточнить принадлежность клеток опухоли к метастазу из легкого, повысить точность диагностики до 96%. Цитологический материал 62 пациентов, полученный при бронхоскопическом исследовании, пункций лимфатических узлов, плевральной жидкости и мокроты с наличием достаточного количества клеток опухоли (не менее 200) является полноценным материалом для молекулярно-генетических исследований. Использование цитологического материала для поиска соматических мутаций оправдано для онкологических пациентов с местнораспространенным или диссеминированным процессом, у которых цитологический материал является единственно доступным морфологическим материалом для исследования.

Ключевые слова: цитологические препараты, рак легкого, иммуноцитохимические и молекулярно-генетические исследования

Введение

Рак легких является наиболее значимой проблемой в онкологии во всем мире. В Алтайском крае в структуре онкологической заболеваемости он занимает первое место. В 2016 г. показатели заболеваемости рака легкого составили 61,0 на 100 тыс. населения, у мужчин – 112,3, у женщин – 17,0. Морфологическая (гистологическая и цитологическая) верификация составила 78,6% (РФ 2016 г. 76,2%).

Рак легких объединяет разные по морфологической форме заболевания, объединенные в одну группу по органной принадлежности. Определяющим началом лечения пациентов при раке легкого является морфологический диагноз (гистологический и/или цитологический). Большая часть пациентов (до 70%) поступает в клинику, имея поздние стадии заболеваний, что значительно снижает вероятность оперативного лечения. Основным методом морфологического подтверждения опухолевого процесса для большинства пациентов с подозрением на рак легкого является использование малого диагностического материала – биопсии и цитологических образцов.

В классификациях ВОЗ 1967, 1981 и 1999 гг. морфологическая диагностика рака легких основывалась лишь на образцах резецированного материала [1–4]. Иммуногистохимический метод впервые введен в классификацию ВОЗ при раке легкого в 1999 г.

Значимость цитологических исследований впервые в классификации ВОЗ оценена в 2004 г. [5]. Однако практические вопросы диагностики рака легких при небольших биопсиях и цитологических образцах не рассматривались. И только в классификации заболеваний легкого 2015 г. особое внимание уделено диагностике рака легких по материалу небольших биопсий и/или цитологическому материалу. Данная классификация была основана на научных открытиях молекулярной биологии опухолей легкого, которые появились в последнее десятилетие.

Одной из главных рекомендаций в этой классификации является то, что диагноз рака легкого теперь является междисциплинарной проблемой. Новая классификация заболеваний легкого разработана совместными усилиями Международной ассоциации по изучению рака легких (IASLC), Американского торакального общества (ATS) и Европейского респираторного общества (ERS). При разработке новой международной классификации принимали участие патологи, онкологи, пульмонологи, радиологи, молекулярные биологи и торакальные хирурги. Междисциплинарный подход главной задачей ставил решение проблем диагностики и лечения заболеваний легкого [4]. В данной классификации при диагностике заболеваний легкого определены возможности и ограничения использования малого диагностического материала. Все специалисты, занимающиеся диагностикой

пациентов с заболеванием легкого, должны тесно сотрудничать для достижения правильного диагноза.

По сравнению с операционным материалом возможности диагностики рака легкого по цитологическим препаратам ограничены. По цитологическому материалу невозможно определять инвазию опухоли. Небольшое количество клеточного материала опухоли затрудняет распознавание злокачественности процесса в целом, что приводит к ложноотрицательным и ложноположительным интерпретациям. Согласно литературным данным, такие ошибки отмечаются у 15% пациентов [6]. Ложноотрицательные заключения цитологической диагностики нередко обусловлены некачественным забором материала: наличием единичных опухолевых клеток в препарате, присутствием примеси крови, слизи, бесструктурных масс детрита, воспалительных элементов. Из-за проблемы гетерогенности злокачественных опухолей легкого при цитологическом исследовании нередко затруднительно высказываться о гистотипе опухоли в связи с тем, что оценивается материал, полученный из небольшого участка опухоли при пункции или бронхоскопии.

Особое значение в практической работе имеет опыт врача-цитолога. Уверенные цитологические заключения о наличии опухоли возможны при условии просмотра исследователем не менее 3000 образцов злокачественных опухолей легкого, в приоритете заключения о наличии злокачественности процесса от врачей цитологических лабораторий онкологических диспансеров.

В исследовании ученых Пизанского университета в Италии [7] проведены цито-гистологические параллели при оценке цитологических заключений и гистологических диагнозов рака легкого. Авторы сопоставили результаты исследования клинического материала 941 пациента и пришли к выводу, что диагноз рака легкого и указание типа опухоли в цитологическом материале сопоставим с гистологическим диагнозом, что не требует более инвазивных процедур при диагностике [7]. По литературным данным, точность цитологического диагноза в сравнении с гистологическим заключением исследования операционного материала составила 96%. При дифференцировании аденокарциномы и плоскоклеточного рака расхождения цитологического и гистологического заключений составили 3%, при использовании иммуноцитохимии констатировали точность 100% [8].

Точная диагностика заболеваний легкого на основе цитологического материала возможна при использовании световой микроскопии, применении цитохимических, иммуноцитохимических и молекулярно-генетических исследований.

Исследователями было обнаружено, что у пациентов (10–20% от всех больных немелкоклеточным раком легких), получающих эффект от лечения гефитинибом и эрлотинибом, в ткани опухоли обнаружены мутации гена EGFR [9, 10, 11]. Открытие соматических мутаций гена

EGFR явилось ключевым моментом в разработке стратегии лечения немелкоклеточного рака легкого и привело к появлению нового молекулярного показателя чувствительности опухоли легкого к ингибиторам тирозинкиназы [9, 10]. Назначение таргетных препаратов показано только тем больным, у которых в опухолевых клетках выявляется мишень действия этих препаратов [9, 12].

Научные разработки, связанные с открытием соматических мутаций гена EGFR, явились основополагающим фактором для поиска других механизмов воздействия, приводящих к эффективной терапии рака легкого. Следующим этапом молекулярно-генетических исследований при отсутствии мутации в гене EGFR является поиск транслокации ALK. Для аденокарциномы с наличием транслокации ALK отмечена эффективность лечения кризотинибом [13–16]. В настоящее время определение мутаций гена EGFR и ALK у больных аденогенным раком легкого является обязательной диагностической процедурой, клинически и экономически обоснованной.

В последнее время появились данные о значении мутаций ROS1 и RET в аденокарциномах легкого, идентифицирующие еще одну подгруппу пациентов, для которых существует эффективная целенаправленная терапия [17, 18].

В контексте новой классификации для назначения таргетной терапии молекулярные исследования являются основополагающими. Безусловно, наилучшим биологическим материалом для получения ДНК является операционный материал. Тем не менее различный цитологический материал, включая плевральные жидкости, может использоваться для молекулярных исследований [19, 20]. Клеточный материал, полученный при пункции опухоли легкого и ее метастазов (в том числе плеврального выпота) и бронхоскопическом исследовании, может иметь гораздо больше опухолевых клеток, чем небольшая биопсия. В связи с этим фактом любые цитологические образцы с наличием достаточного количества опухолевых клеток являются пригодными для проведения молекулярно-генетических исследований и должны быть сохранены в виде клеточных блоков, цитоспинов, цитологических препаратов [21].

Цель исследования

Цель исследования состоит в оценке возможности использования цитологического материала для комплексной диагностики рака легкого в контексте новой классификации.

Материалы и Методы

В основе работы – данные пролеченных больных с диагнозом «рак легкого» (n=729), установленным цитологическим методом в КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер» в 2016 г. При диагностике

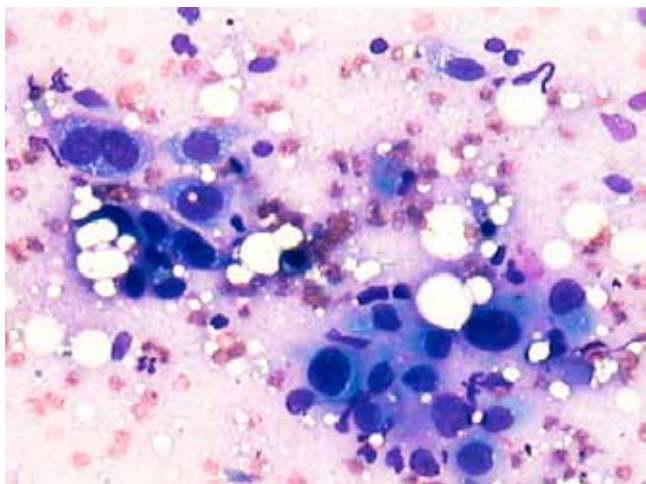


Рисунок 1. Цитологический препарат материала, полученного при трансторакальной пункции. Клеточные элементы плоскоклеточного ороговевающего рака легкого. Окрашивание по Паппенгейму. Увеличение $\times 200$

использовали цитологический материал, полученный различными способами. При исследовании жидкостного материала изготавливали препараты традиционным центрифугированием и с использованием центрифуги Cytospin-4, окрашивали по методу Паппенгейма. При необходимости применяли иммуноцитохимический метод с использованием стандартного протокола исследования. Для визуализации реакции антиген/антитело применяли тест-систему REALTM EnVisionTM («ДАКО»). В качестве хромогена – DAB (3,3 – diaminobenzidine), после проведения реакции препараты докрасивали гематоксилином. В работе применяли дискриминантный анализ, который проводили с использованием программы Statistica Microsoft Windows версия 10.0. С применением дискриминантного анализа статистически определяли признаки, которые позволили установить максимальные различия в группах больных с плевральным выпотом рака легкого и метастазирующего рака различных органов.

Еженедельно проводили сопоставление цитологических и гистологических результатов исследования диагностики рака легкого.

В части наблюдений проводили молекулярно-генетические исследования, используя клеточный материал опухоли с цитологических препаратов. Оценивали количество опухолевых клеток на стеклопрепаратах и их процентное соотношение с остальным клеточным материалом. Отобранные комплексы клеток опухоли, отмеченные маркером, использовали для получения ДНК. Клеточный материал растворяли лизирующим раствором и отбирали пипеткой в пробирку типа Эппендорф. Выделяли ДНК с помощью набора «QIAamp DNA Mini Kit» (Qiagen, Германия) по стандартному протоколу в автоматическом режиме на станции QIAcube. Определение статуса гена EGFR осуществляли методом аллель-специфической ПЦР в режиме реального времени с помощью набора EGFR RGQ PCR Kit (Германия) на при-

боре CFX-96 (США). Исследовали мутации: 18 ex. (G719X); del19 ex.; 20 ex. (T790M, S768I, ins); 21 ex. (L858R, L861Q).

Результаты исследования

Пациенты направлялись в КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер» в большинстве своем с предварительным клиническим диагнозом «рак легкого». Первичный рак легкого из 2241 пациента, направленного на обследование и лечение в онкологический диспансер, установлен у 507 (22,7%) больных по цитологическому материалу, полученному при бронхоскопии; в 34 (51,5%) случаях из 66 – по материалу трансторакальной пункции; в мокроте обнаружены опухолевые клетки у 8 (7,1%) пациентов из 113 образцов. В числе метастатических поражений легкого диагностированы метастазы в лимфатические узлы, мягкие ткани, печень, плевральную полость у 98, 27, 9 и 46 больных соответственно.

Метод световой микроскопии позволил в 649 (89%) наблюдениях определить гистологический тип опухоли, который соответствовал плоскоклеточному раку легкого у 344 (53%) больных, мелкоклеточному – у 162 (25%) и аденогенному – в 143 (22%) наблюдениях. Без уточнения гистологического варианта опухоли диагностирован «рак БДУ» у 80 (11%) пациентов в связи с недостаточным количеством клеточного состава, дистрофическими изменениями клеток, а также в связи с отсутствием достоверных клеточных признаков (критериев) для интерпретации формы рака.

Плоскоклеточный рак является наиболее частой формой рака легкого. В цитологических препаратах при плоскоклеточном ороговевающем раке преобладающим компонентом является клеточный детрит. Опухолевые клетки плоскоклеточного ороговевающего рака имеют причудливую форму: ракеткообразную, ладьевидную, полигональную; ядра клеток опухоли с четко очерченными контурами, плотные, гиперхромные; нуклеолы в ядрах небольшой величины, отмечаются лишь в единичных клетках; цитоплазма с признаками ороговевания (рис. 1). Плоскоклеточный неороговевающий рак состоит из округлых, овальных опухолевых клеток, которые формируют скопления клеток с центрально расположенными ядрами. В некоторых случаях определенные трудности возникают при дифференцировании плоскоклеточного неороговевающего и аденогенного рака. В этих случаях основным критерием для дифференциальной диагностики является центральное расположение ядер в клетках опухоли при плоскоклеточном раке и эксцентричное – при аденогенном раке. Тем не менее в цитологическом материале, полученном при бронхоскопии, а также в большинстве метастатических поражений клеточные признаки плоскоклеточного рака позволяют определить гистотип опухоли.

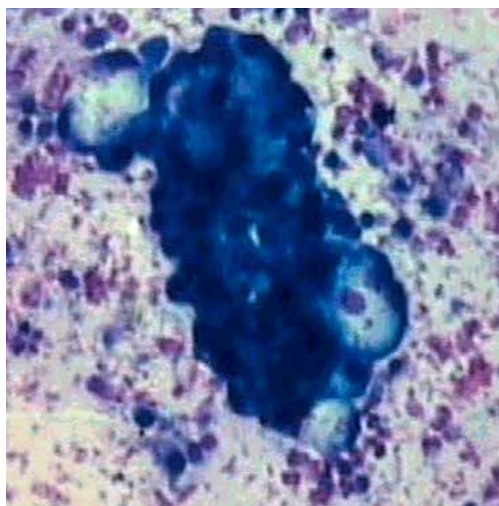


Рисунок 2. Цитологический препарат материала, приготовленного из мокроты. Клеточные комплексы дифференцированного аденогенного рака легкого. Окрашивание по Паппенгейму. Увеличение $\times 100$

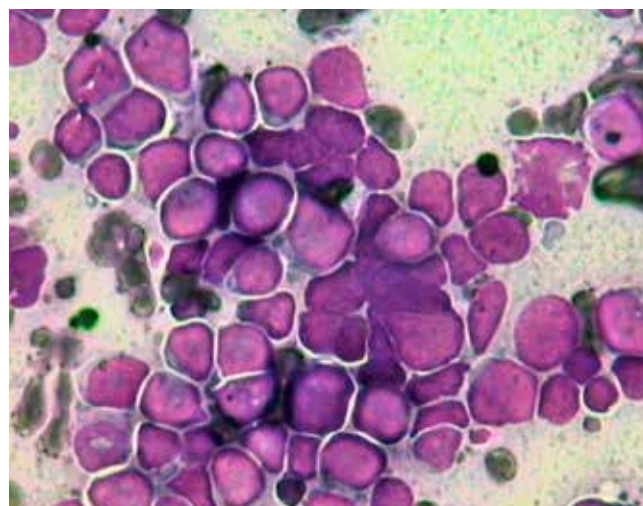


Рисунок 3. Цитологический препарат материала, полученного при бронхоскопическом исследовании. Скопления клеток мелкоклеточного рака легкого. Окрашивание по Паппенгейму. Увеличение $\times 400$

Аденогенный рак легкого в цитологических препаратах характеризуется железистоподобными и папиллярными комплексами, розетками, состоящими из опухолевых клеток овальной и округлой формы (рис. 2). По периферии комплексов аденогенного рака прослеживается «часть кол», или «кайма», клеток с полярным расположением ядер; хроматин ядер сетчатый, мелкопетлистый, равномерно распределен под ядерной мембраной; отмечаются нуклеолы, которые отчетливо просматриваются; цитоплазма большинства клеток гомогенна, однако встречаются мелкие и крупные вакуоли, содержащие слизь.

Для мелкоклеточного рака легких в цитологических препаратах характерны опухолевые клетки, тесно прилегающие друг к другу, словно «фасетки» (рис. 3). Опухолевые клетки мелкоклеточного рака легкого располагаются небольшими группами, скоплениями и цепочками; ядра занимают большую часть клеточных тел, имеют овальную или бобовидную форму; хроматин ядер интенсивно окрашен; цитоплазма скудная, базофильная; нуклеолы не просматриваются. Опухолевые клетки мелкоклеточного рака легкого в некоторых наблюдениях имеют сходство с лимфоидными элементами и представляют трудности для правильной интерпретации. Обнаружение комплексов с характерным признаком тесного прилегания клеток друг к другу и особенности опухолевого диатеза позволяет установить опухолевую природу клеток.

Крупноклеточный рак легкого в цитологическом материале обнаружен не был.

При бронхоскопическом исследовании забор материала на гистологическое исследование в большинстве случаев происходит совместно с забором материала на цитологическое исследование. В этих случаях возможно сопоставление данных двух методов исследований, которые дополняют друг друга. При рецидивах опухоли

и метастатических поражениях при раке легких нередко используется только цитологический материал.

Во всех возможных наблюдениях проводилось сопоставление результатов цитологического и гистологического заключений о наличии клеток опухоли в препаратах, совпадение результатов отмечалось в 100% случаев. При сопоставлении определения гистотипа опухоли в цитологических и гистологических исследованиях ($n=528$) отмечено совпадение в 99,1% наблюдений. Расхождение при немелкоклеточном раке легкого отмечено в 5 (0,9%) случаях, при которых в двух случаях установлена принадлежность клеток опухоли к аденогенному раку вместо плоскоклеточного рака и в трех – наоборот.

Клеточный состав в жидкостной среде в зависимости от времени нахождения в плевральной полости значительно изменяется. В связи с чем наиболее сложно установить гистотип клеток опухоли при метастазе рака легкого в плевральную полость. Для уточнения органной принадлежности опухоли у пациентов без установленного первичного очага использовали иммуноцитохимический метод.

По результатам наших исследований установлено, что при цитологическом исследовании плевральной жидкости при обнаружении клеток аденогенного рака убедительных специфических критериев принадлежности к раку легкого по данным только световой микроскопии (с использованием дискриминантного анализа) не обнаружено. Доли правильной диагностики больных при аденогенном раке легкого в плевральной жидкости составляют 38,0%, что свидетельствует о том, что данные клеточные признаки статистически не значимы и цитологическое заключение не может быть установлено без привлечения дополнительных цитологических методик [22]. При иммуноцитохимическом исследовании использование TTF-1 позволило установить принадлежность клеток

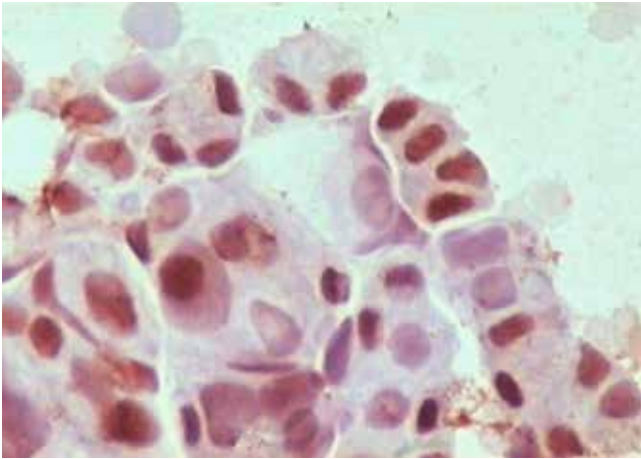


Рисунок 4. Цитологический препарат плеврального выпота. Аденогенный рак легкого. Позитивная ядерная реакция на маркер Thyroid transcription factor-1 Clone 8G7G3/1 с умеренной (2+) и выраженной (3+) интенсивностью окрашивания. Использование полимерной системы

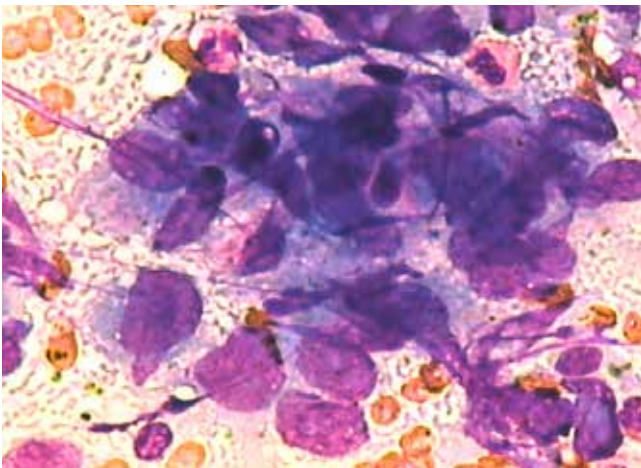


Рисунок 5. Цитологический препарат материала, полученного при трансторакальной пункции. Клеточные комплексы аденогенного рака легкого низкой дифференцировки. Окрашивание по Паппенгейму. Увеличение $\times 400$

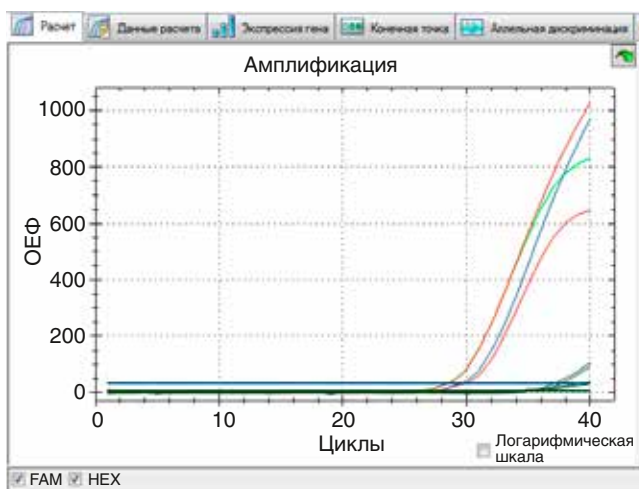


Рисунок 6. Мутация гена EGFR del. 19 ex., выявленная посредством аллель-специфической ПЦР в режиме реального времени на приборе CFX-96. ДНК выделена с цитологического препарата, микрофото которого представлено на рис. 5

опухоли к аденогенному раку легкого у 36 больных (рис. 4). Иммуноцитохимические исследования повысили точность диагностики метастаза аденогенного рака легкого в плевральной жидкости (по данным дискриминантного анализа) до 86,5%. Следует учитывать тот факт, что 20–25% первичных аденогенных раков легких негативны для TTF-1. Совместное использование антител TTF-1 и Napsin A является высокоспецифичным для этой формы рака легкого.

Уточняющие иммуноцитохимические реакции использовали при дифференциальной диагностике мелкоклеточного рака в плевральной жидкости в трех наблюдениях и плоскоклеточного – в одном. Для мелкоклеточного рака легкого наиболее значимы иммуноцитохимические реакции с TTF-1, хромогранином А, нейрон-специфической энolahзой. Иммуноцитохимические исследования позволили повысить точность диагностики мелкоклеточного рака легкого (по данным дискриминантного анализа) до 87,6%, при световой микроскопии она составляла 80%. Для плоскоклеточного рака легкого значимы иммуноцитохимические реакции на CK5/6. Точность диагностики плоскоклеточного рака легкого в плевральной жидкости при иммуноцитохимических исследованиях (по данным дискриминантного анализа) составила 96% (световая микроскопия – 86,1%) [22].

При проведении молекулярно-генетических исследований изучали статус гена EGFR у пациентов с цитологическим заключением «аденогенный рак легкого». Молекулярно-генетические исследования проводили для возможности подбора индивидуальной терапии пациентам с местнораспространенным и метастатическим раком легкого, у которых цитологический материал являлся единственно доступным морфологическим материалом для исследования.

Для молекулярно-генетических исследований использовали цитологические образцы, полученные при бронхоскопии (n=52), из мокроты (n=1), плевральной жидкости (n=7) и лимфатических узлов (n=2). Цитологический материал с наличием достаточного количества клеток опухоли (не менее 200) являлся полноценным материалом для молекулярно-генетических исследований.

Мутации гена EGFR обнаружены в 7 (11,3%) из 62 наблюдений, в числе которых выявлена точечная мутация L858R (3 наблюдения) и делеции 19 экзона (4 наблюдения) (рис. 5, 6).

Заключение

В результате выполненной работы установлено, что использование цитологического метода является высокоинформативным. Данный метод позволяет при различных способах забора материала на исследование со 100%-й вероятностью устанавливать диагноз рака. Достоверность

определения гистологического типа цитологическим методом исследования составляет 89%. Расхождения в определении гистотипа опухоли в цитологическом и гистологическом заключениях отмечаются менее чем в 1% случаев.

Необходимость применения иммуноцитохимических исследований возникает, прежде всего, при метастазах рака в плевру. Иммуноцитохимические исследования повышают точность диагностики метастазов рака легкого в плевру с указанием гистотипа опухоли до 87–96%.

По результатам молекулярно-генетических исследований цитологического материала мутации гена EGFR

обнаружены в 11,3% наблюдений, в числе которых выявлена точечная мутация L858R (3 наблюдения) и делеции в экзоне 19 (4 наблюдения). В контексте новой классификации при комплексной диагностике рака легкого использование молекулярно-генетических исследований для поиска соматических мутаций позволяет подобрать целенаправленную терапию пациентам с местнораспространенным или диссеминированным процессом, у которых цитологический материал является единственно доступным морфологическим материалом для исследования.

Информация об авторах

Ольга Г. Григорук, д. б. н., с. н. с. Алтайского филиала ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, зав. отделением клинической лабораторной диагностики (для проведения цитологических методов исследования) КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер», доцент кафедры общей и биохимической химии, клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России, г. Барнаул, Россия, e-mail: cytolakod@rambler.ru

Елена Э. Пупкова, зав. отделением клинической лабораторной диагностики (лаборатория молекулярной диагностики) КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер», г. Барнаул, Россия, e-mail: elenapupkova@yandex.ru

Лариса М. Базулина, врач-цитолог отделения клинической лабораторной диагностики (для проведения цитологических методов исследования) КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер», г. Барнаул, Россия, e-mail: lardok69@mail.ru

Александр Ф. Лазарев, д. м. н., профессор, директор Алтайского филиала ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, главный врач КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер», зав. кафедрой онкологии и лучевой терапии и лучевой диагностики с курсом ДПО ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России, г. Барнаул, Россия, e-mail: aoc@ab.ru

DOI:10.18027/2224-5057-2017-7-4-13-20

For citation: Grigoruk O. G., Pupkova E. I., Bazulina L. M., Lazarev A. F. The usage of cytological material for diagnostics of lung cancer. *Malignant Tumours* 2017; 4: 13–20. (In Russ.)

The usage of cytological material for diagnostics of lung cancer

O. G. Grigoruk^{1,2,3}, E. I. Pupkova², L. M. Bazulina², A. F. Lazarev^{1,2,3}

Altai branch of N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Barnaul, Russia
Altai Regional Oncology Center, Barnaul, Russia
Altai State Medical University, Barnaul, Russia

For correspondence: cytolakod@rambler.ru

Abstract: The article shows the possibilities of the usage of cytological material for diagnostics of lung cancer at the example of work of an oncological outpatient clinic during one year. Light microscopy was used to study of cytological specimens of various material of 721 patients. The method has allowed to determine the diagnosis of lung cancer in majority of the observed cases with definition of histological type in 89%. When comparing the results of cytology with the final diagnosis the difference of determination of the tumor histological types is less than 1%. The immunocytochemical test is used at the examination of pleural fluid of 40 patients without determined primary locus. The immunocytochemical research has allowed specifying the inhering of the tumor cells to the metastasis from the lung, elevating the precision of the diagnostics to 96%. The cytological material of 62 patients obtained during the bronchoscopic examination, puncture of lymphatic nodules, pleural fluid and sputum with presence of a sufficient quantity of tumor cells (not less than 200) represents appropriate material for molecular-genetic research. The usage of cytological material for search of somatic mutations is justified for oncological patients with locally advanced or disseminated process, whose cytological material is the unique accessible morphological material for research.

Keywords: cytological specimens, lung cancer, immunocytochemic and molecular genetic researches

Information about the authors

Olga G. Grigoruk, MD, DSc, Senior Researcher, Altai branch of N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center; Head of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics (for carrying out cytological methods of research), Altai Regional Oncology Center; Associate Professor of the Department of General and Biochemical Chemistry, Clinical Laboratory Diagnostics, Altai State Medical University, Barnaul, Russia, e-mail: cytolakod@rambler.ru

Elena I. Pupkova, MD, Head of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics (Laboratory of Molecular Diagnostics), Altai Regional Oncology Center, Barnaul, Russia, e-mail: elenapupkova@yandex.ru

Larisa M. Bazulina, MD, Department of Clinical Laboratory Diagnostics (for carrying out cytological methods of research), Altai Regional Oncology Center, Barnaul, Russia, e-mail: lardok69@mail.ru

Aleksandr F. Lazarev, MD, DSc Med, Professor, Director of Altai branch of N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center; Chief Physician, Altai Regional Oncology Center; Head of the Department of Oncology and Radiation Therapy and Radiation Diagnostics, Altai State Medical University, Barnaul, Russia, e-mail: aoc@ab.ru

Литература • References

1. Travis W. D., Brambilla E., Noguchi M., Nicholson A. G., Geisinger K., Yatabe Y., Ishikawa Y. et al. Diagnosis of lung cancer in small biopsies and cytology: implications of the 2011 International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society classification, *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 2013 May, Vol. 137 (5), pp. 668–684, doi: 10.5858/arpa.2012-0263-RA.
2. World Health Organization. *Histological Typing of Lung Tumors*. 2nd ed., World Health Organization, Geneva, Switzerland, 1981.
3. Travis W. D., Colby T. V., Corrin B. et al. *Histological Typing of Lung and Pleural Tumors*. 3rd ed., Springer, Berlin, Germany, 1999.
4. Righi L., Graziano P., Fornari A. et al. Immunohistochemical subtyping of nonsmall cell lung cancer not otherwise specified in fine-needle aspiration cytology: a retrospective study of 103 cases with surgical correlation, *Cancer*, 2011, Vol. 117 (15), pp. 3416–3423.
5. Travis W. D., Brambilla E., Muller-Hermelink H. K., Harris C. C. *Pathology and Genetics: Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart*, IARC, Lyon, France, 2004.
6. Raab S. S., Meier F. A., Zarbo R. J. et al. The “Big Dog” effect: variability assessing the causes of error in diagnoses of patients with lung cancer, *J. Clin. Oncol.*, 2006, Vol. 24 (18), pp. 2808–2814.
7. Proietti A., Boldrini L., Ali G., Servadio A., Lupi C., Sensi E., Miccoli M. et al. Histo-cytological diagnostic accuracy in lung cancer. *Cytopathology*, 2014 Dec, Vol. 25 (6), pp. 404–411, doi: 10.1111/cyt.12117.
8. Rekhman N., Brandt S. M., Sigel C. S. et al. 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, *J. Thorac. Oncol.*, 2011, Vol. 6 (3), pp. 451–458.
9. Paez J. G., Janne P. A., Lee J. C., Tracy S., Greulich H., Gabriel S. et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy, *Science*, 2004 Jun 4, Vol. 304 (5676), pp. 1497–1500.
10. Pao W., Miller V., Zakowski M., Doherty J., Politi K., Sarkaria I. et al. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from “never smokers” and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 2004 Sep 7, Vol. 101 (36), pp. 13306–13311.
11. Mok T. S., Wu Y. L., Thongprasert S., Yang C. H., Chu D. T., Saijo N. et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma, *N. Engl. J. Med.*, 2009 Sep 3, Vol. 361 (10), pp. 947–957, doi: 10.1056/NEJMoa0810699.
12. Rosell R., Carcereny E., Gervais R., Vergnenegre A., Massuti B., Felip E. et al. Spanish Lung Cancer Group in collaboration with Groupe Francais de Pneumo-Cancerologie and Associazione Italiana Oncologia Toracica. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EORTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial, *Lancet Oncol.*, 2012 Mar, Vol. 13 (3), pp. 239–246, doi: 10.1016/S1470-2045 (11) 70393-X.
13. Sasaki T., Janne P. A. New strategies for treatment of ALK rearranged non-small cell lung cancers, *Clin. Cancer Res.*, 2011, Vol. 17 (23), pp. 7213–7218.
14. Shaw A. T., Solomon B. Targeting anaplastic lymphoma kinase in lung cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2011, Vol. 17 (8), pp. 2081–2086.
15. Kwak E. L., Bang Y. J., Camidge D. R. et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer, *N. Engl. J. Med.*, 2010, Vol. 363 (18), pp. 1693–1703.

16. Johnson D. H., Fehrenbacher L., Novotny W. F. et al. Randomized phase II trial comparing bevacizumab plus carboplatin and paclitaxel with carboplatin and paclitaxel alone in previously untreated locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer, *J. Clin. Oncol.*, 2004, Vol. 22 (11), pp. 2184–2191.
17. Janne P. A., Meyerson M. ROS1 rearrangements in lung cancer: a new genomic subset of lung adenocarcinoma, *J. Clin. Oncol.*, 2012, Vol. 30 (8), pp. 878–879.
18. Bergethon K., Shaw A. T., Ou S. H. et al. ROS1 rearrangements define a unique molecular class of lung cancers, *J. Clin. Oncol.*, 2012, Vol. 30 (8), pp. 863–870.
19. Savic S., Tapia C., Grilli B. et al. Comprehensive epidermal growth factor receptor gene analysis from cytological specimens of non-small-cell lung cancers, *Br. J. Cancer*, 2008, Vol. 98 (1), pp. 154–160.
20. Miller V. A., Riely G. J., Zakowski M. F. et al. Molecular characteristics of bronchioloalveolar carcinoma and adenocarcinoma, bronchioloalveolar carcinoma subtype, predict response to erlotinib, *J. Clin. Oncol.*, 2008, Vol. 26 (9), pp. 1472–1478.
21. Nicholson A. G., Gonzalez D., Shah P. et al. Refining the diagnosis and EGFR status of non-small cell lung carcinoma in biopsy and cytologic material, using a panel of mucin staining, TTF-1, cytokeratin 5/6, and P63, and EGFR mutation analysis, *J. Thorac. Oncol.*, 2010, Vol. 5 (4), pp. 436–441.
22. Григорук О. Г., Лазарев А. Ф., Дударенко С. В., Шойхет Я. Н. Дифференциальная цитологическая диагностика опухолевых и неопухолевых плевральных выпотов. Барнаул: АЗБУКА, 2017. С. 68–84. [Grigoruk O. G., Lazarev A. F., Dudarenko S. V., Shoychet J. N. Differential cytological diagnostics of tumor and non-tumor pleural effusions, Barnaul: AZBUKA, 2017, pp. 68–84. (In Russ.)].