МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ “КИЄВО-МОГИЛЯНСЬКА АКАДЕМІЯ”

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ПОНОМАРЕНКО АННА ОЛЕКСАНДРІВНА

**УДК 611.018.7:61624-006.6**

# ДИСЕРТАЦІЯ

# АЛЬВЕОЛЯРНИЙ ЕПІТЕЛІЙ І РАК ЛЕГЕНІ (ЦИТОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ)

Спеціальність 091 – Біологія
Галузь знань – 09 Біологія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії
Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

А.О. Пономаренко

Наукові керівники:
**Білько Надія Михайлівна**, заслужений працівник освіти України, доктор медичних наук, професор;
**Болгова Лідія Севастянівна**, доктор медичних наук, професор

Київ - 2023

# АНОТАЦІЯ

*Пономаренко А.О.* Альвеолярний епітелій і рак легені (цитологічні дослідження). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня PhD в галузі біології за спеціальністю 091 «Біологія», галузь знань 09 «Біологія». – Національний університет «Києво-Могилянська академія», Київ, 2023.

Робота присвячена вивченню розповсюдження пухлинних клітин по паренхімі легені та дослідженню морфологічних змін альвеолярного епітелію II типу у разі недрібноклітинного раку легені шляхом використання сучасних морфологічних методів дослідження.

За даними Національного канцер-реєстру рак легені за частотою онкологічної захворюваності є одним з найпоширеніших серед чоловіків в Україні та в світі. В Україні, відповідно до уточнених даних Бюлетня Національного канцер-реєстру України №23, у 2020 році захворіла на рак легені 10351 людина, а померло 8339 осіб. Згідно реєстру Globocan у всьому світі в 2020 р. захворіло на рак легені 2,1 млн, а померло 1,7 млн осіб. Рак легені посідає перше місце за оцінкою смертності серед десяти найпоширеніших типів раку серед осіб обох статей. РЛ посідає перше місце за оцінкою смертності серед десяти найпоширеніших типів раку серед осіб чоловічої статі. Ці показники вказують про необхідність вивчення питань ранньої діагностики, профілактики і лікування новоутворень легені.

Питання розвитку і розповсюдження раку легені по паренхімі до цього часу не висвітлено в достатній мірі в джерелах вітчизняної і зарубіжної літератури. Дослідники показують імовірне залучення різних клітинних популяцій в розвиток патології раку легені. Ряд вчених висловлюють припущення про наявність як у центральних так і у периферичних відділах легені так званих бронхіоло-альвеолярних ніш, в яких розміщуються

стовбурові клітини, що відповідають за регенерацію легеневої тканини і можуть бути залучені в процес злоякісної трансформації.

Результати цитологічних та імуноцитохімічних досліджень, проведених на препаратах шкребків з розрізу макроскопічно незміненої паренхіми легені на різній відстані від периферичного краю видаленої під час операції ракової пухлини, вказують на високу проліферативну активність альвеолярного епітелію II типу під час розвитку злоякісної трансформації у легеневій паренхімі, що може свідчити про можливу участь цих клітин у розвитку злоякісної трансформації.

Поряд з цим, експериментальні дослідження не містять інформації щодо розповсюдження пухлинних клітин по паренхімі легені. В джерелах літератури наведено результати робіт вчених, які вказують на можливість розповсюдження пухлинних клітин через повітряні шляхи. Натомість, інші автори, спираючись на результати власних гістологічних та гістохімічних досліджень, показують можливість розвитку раку легені з-під слизової оболонки бронха.

Такі результати свідчать про невизначеність багатьох проблем вказаної патології. До цього часу немає єдиної думки щодо стовбурової клітини легені. Існують різні погляди на джерело розвитку і розповсюдженість пухлинних клітин по легені.

Зовсім не вивчено зміни альвеолярних клітин в паренхімі легені, видаленої під час оперативного втручання пухлини. В той же час є дані, що альвеолярний епітелій II типу може бути стовбуровою клітиною, а відтак складається не вивчена проблема змін альвеолярного епітелію II типу, вивчення якої може пролити світло на характер росту і розповсюдженість клітин недрібноклітинного раку легені. Це має пряме відношення для визначення характеру малігнізації клітин альвеолярного епітелію II типу і пояснити можливість поширення і розвитку самого процесу раку легені.

Таким чином, питання гістогенезу раку легені залишається відкритим, а дослідження проблеми розповсюдження раку легені по паренхімі сприятиме уточненню можливої пролонгації патологічного процесу.

В дисертаційному дослідженні отримані оригінальні дані, які не зустрічаються у Вітчизняній і зарубіжній літературі.

Метою дисертаційної роботи є визначити розповсюдженість пухлинних клітин і клітин альвеолярного епітелію II типу з ознаками проліферації і атипії на різній відстані від новоутворення в макроскопічно незміненій, видаленій з пухлиною паренхімі легені.

Для досягнення мети сформульовані наступні завдання:

1. Визначити наявність пухлинних клітин недрібноклітинного раку в паренхімі легені поряд з периферичним краєм видаленої ракової пухлини.
2. Виявити зміни в альвеолярному епітелії II типу поряд з краєм пухлинного вузла, видаленого в процесі оперативного втручання.
3. Установити наявність пухлинних клітин недрібноклітинного раку на відстані 2 см від перферичного краю видаленої новоутворення.
4. Визначити наявність і зміни клітин альвеолярного епітелію II типу на відстані 2 см від периферичного краю видаленої пухлини.
5. Вивчити наявність пухлинних клітин недрібноклітинного раку на відстані 5 см від периферичного краю новоутворення.
6. Визначити і зміни клітин альвеолярного епітелію II типу на відстані 2 см від периферичного краю видаленої пухлини.
7. Проаналізувати наявність пухлинних клітин недрібноклітинного раку легені та за допомогою імуноцитохімічних реакцій з використанням наступних моноклональних антитіл: фактора транскрипції щитоподібної залози-1 (TTF-1), маркеру проліферації Ki-67 (Ki-67), пухлинного протеїну p53 (p53), аспартичної протеази (Napsin-A), кератину II цитоскелетного 7 **(**Cytokeratin-7) на цитологічних препаратах з розрізів легеневої паренхіми на різних відстанях від пухлини.

8. Провести аналіз отриманих даних з використанням програми MS Excel за t-критерієм Стьюдента.

Статистичну обробку проводили з використанням пакету MS Excel для оцінки кількісних цитологічних показників шляхом розрахунку середнього значення показника (M) та його стандартної похибки (m) та використовуючи t-критерій Стьюдента з критичним рівнем значимості у всіх статистичних тестах ($p<0,05$).

Було показано, що кількість пухлинних клітин в паренхімі легені поряд з периферичним краєм видаленої ракової пухлини у разі залозистого раку склала (59±9,8), у разі аденосквамозного раку аналогічний показник склав (65±7,1), у випадках плоскоклітинного кількість пухлинних клітин склала (74±8,4).

Числове значення наявності клітин альвеолярного епітелію II типу зі змінами в ділянці периферичного краю новоутворення незалежно від гістологічного типу склало (32±8,7). Кількість альвеолярного епітелію з ознаками проліферації і атипії в ділянці периферичного краю новоутворення у разі залозистого раку становила (34±10,4). Квантитативна оцінка пухлинних клітин у разі аденосквамозного раку в досліджуваній ділянці склала (31±8,3). Аналогічний показник кількості пухлинних клітин у разі плоскоклітинного раку становив (31±7,5).

Значення кількості пухлинних клітин в перитуморальній ділянці незалежно від гістолочного типу склала (23±3,0). Кількість пухлинних клітин в паренхімі легені в перитуморальній зоні у разі залозистого раку склала (38 ±5,0), у випадках плоскоклітинного раку аналогічний показник склав (11±2,4).

Числове значення клітин альвеолярного епітелію II типу з ознаками проліферації та деякої атипії в перитуморальній зоні незалежно від гістологічного типу раку легені склало (60±2,2). Кількість клітин альвеолярного епітелію з ознаками проліферації і атипії у разі залозистого раку склала (50±3,4), а у разі плоскоклітинного раку становила (76±2,7).

Кількість пухлинних клітин в найбільш віддаленій зоні незалежно від гістологічного типу пухлини склала (3±1,1). У разі залозистого раку кількість пухлинних клітин в досліджуваній ділянці становила (5±1,9), а у разі плоскоклітинного (1±0,7).

Числове значення клітин альвеолярного епітелію II типу з ознаками проліферації та деякої атипії в найбільш віддаленій ділянці незалежно від гістологічного типу раку легені склало (55±2,4). Аналогічний показник кількості альвеолярного епітелію зі змінами у разі залозистого раку становив (58,0±3,2), а у разі плоскоклітинного раку склав (54±3,2).

Маркер Cytokeratin-7 в пухлинних клітинах показав позитивну експресію у разі залозистого раку у 1 хворого в ділянці периферичного краю новоутворення та в найбільш віддаленій зоні від пухлинного вузла. У разі аденосквамозного раку в ділянці периферичного краю видаленої пухлини цей маркер мав високий рівень експресії у 2 досліджуваних хворих. У випадках плоскоклітинного раку маркер експресувався у 1 з 2 пацієнтів у ділянці периферичного краю новоутворення. Використання на пухлинних клітинах різних гістологічних типів недрібноклітинного раку легені маркерів TTF-1, Napsin-A, p53, Ki-67 не показали достатнього рівня експресії на цитологічних препаратах у досліджуваних пацієнтів.

Отримані дані свідчать про різний ступінь розповсюдженості пухлинних клітин на різну відстань від пухлинного вузла, особливо у випадках ЗР. Результати проведених цитологічних та імуноцитохімічних досліджень свідчать про високий проліферативний потенціал, наростання атипії і можливу малігнізацію альвеолярного епітелію II типу як поруч з пухлиною, так і різній на відстані від неї.

**Новизна дослідження.** Вперше за допомогою цитологічного та імуноцитохімічного методів визначено наявність та проведено квантитативну оцінку пухлинних клітин недрібноклітинного раку легені на різних відстанях від пухлинного вузла. Вперше проведені дослідження, які дозволили визначити розповсюдженість клітин раку легені різної гістологічної структури

по макроскопічно незміненій паренхімі поруч і на різній відстані від видаленого під час операції пухлинного вузла. Вперше застосовано новий підхід у вивченні морфологічних змін клітин альвеолярного епітелію ІІ типу – показано проліферацію і атипію та проведено квантитативний аналіз клітин альвеолярного епітелію ІІ типу на різних ділянках макроскопічно незміненої паренхіми легені, видаленій з пухлиною під час операції, що може бути опосередкованим показником можливості їх малігнізації та може опосередковано свідчити про те, що альвеолярний епітелій ІІ типу може бути стовбуровою клітиною.

**Ухвали біоетичних комітетів:** Дана робота схвалена до виконання витягом з протоколу №201/9 засідання Комісії з питань етики Національного інституту раку від 21.11.2021 року та ухвалою Комітету з етики наукових досліджень НаУКМА протокол №2 від від 07.07.2022 року за реєстраційним номером №00030125.

***Ключові слова:*** клітини альвеолярного епітелію ІІ типу, пухлинні клітини, недрібноклітинний рак легені, сурфактант протеїн С, цитологічний метод, морфологічне дослідження, імуноцитохімічна реакція, стовбурова клітина, порушення метаболізму, біомаркери, мітохондрії, система, відновлення, метод.

## SUMMARY

Ponomarenko A.O. Alveolar epithelium and lung cancer (cytological studies). – Qualifying scientific work on manuscript rights.

Dissertation for the PhD degree in biology, specialty 091 "Biology", field of knowledge 09 "Biology". National University "Kyiv-Mohyla Academy", Kyiv, 2023.

The research is devoted to the study of the spread of tumor cells in the lung parenchyma and to the study of morphological changes of type II alveolar epithelium in the case of non-small cell lung cancer by using modern morphological research methods.

According to the National Cancer Registry, lung cancer is one of the most common cancers among men in Ukraine and in the world. In Ukraine, according to updated data of the Bulletin of the National Cancer Registry of Ukraine No. 23, in 2020, 10,351 people fell ill with lung cancer, and 8,339 people died. According to the Globocan registry, in 2020, 2.1 million people became ill with lung cancer worldwide, and 1.7 million people died. Lung cancer is the leading cause of death among the ten most common types of cancer in both sexes. Lung cancer ranks first in terms of mortality among the ten most common types of cancer among men. These indicators indicate the need to study the issues of early diagnosis, prevention and treatment of lung neoplasms.

The issue of the development and spread of lung cancer in the parenchyma has not been sufficiently covered in the sources of native and foreign literature. Researchers show the probable involvement of various cell populations in the development of lung cancer pathology. A number of scientists hypothesize the presence of so-called bronchiolo-alveolar niches in both the central and peripheral parts of the lung, in which stem cells are located, which are responsible for the regeneration of lung tissue and may be involved in the process of malignant transformation.

The results of cytological, immunocytochemical studies conducted on preparations of scrapings from a section of the macroscopically unchanged lung parenchyma at different distances from the peripheral edge of the cancerous tumor removed during surgery indicate a high proliferative activity of type II alveolar epithelium during the development of malignant transformation in the lung parenchyma, which may indicate the possible involvement of these cells in the development of malignant transformation.

Along with this, experimental studies do not contain information about the spread of tumor cells in the lung parenchyma. In the sources of literature, the results of the works of scientists are given, which indicate the possibility of the spread of tumor cells through the airways. Instead, other authors, based on the results of their own histological and histochemical studies, show the possibility of developing lung cancer from under the bronchial mucosa.

Such results testify to the uncertainty of many problems of the indicated pathology. Until now, there is no consensus on lung stem cells. There are different views on the source of development and spread of tumor cells in the lung.

Changes in alveolar cells in the parenchyma of the lung removed during surgical intervention of the tumor have not been studied at all. At the same time, there are data that alveolar epithelium of type II can be a stem cell, and thus there is an unexplored problem of changes in alveolar epithelium of type II, the study of which can shed light on the nature of growth and spread of non-small cell lung cancer cells. This is directly related to determining the nature of the malignancy of type II alveolar epithelial cells and explaining the possibility of the spread and development of the lung cancer process itself.

Thus, the question of the histogenesis of lung cancer remains open, and the study of the problem of the spread of lung cancer through the parenchyma will contribute to clarifying the possible prolongation of the pathological process.

In the dissertation original data were obtained, which are not found in native and foreign literature.

The aim of the research is to determine the distribution of tumor cells and type II alveolar epithelial cells with signs of proliferation and atypia at different distances from the neoplasm in the macroscopically unchanged parenchyma of the lung removed with the tumor.

To achieve the goal, the following tasks have been formulated:

1. To determine the presence of non-small cell cancer tumor cells in the lung parenchyma near the peripheral edge of the removed cancer tumor.

2. To identify changes in the alveolar epithelium of type II near the edge of the tumor node removed during surgery.

3. To establish the presence of tumor cells of non-small cell cancer at a distance of 2 cm from the peripheral edge of the removed neoplasm.

4. Determine the presence and changes of type II alveolar epithelial cells at a distance of 2 cm from the peripheral edge of the removed tumor.

5. To study the presence of tumor cells of non-small cell cancer at a distance of 5 cm from the peripheral edge of the neoplasm.

6. Determine the changes in the cells of the alveolar epithelium of type II at a distance of 2 cm from the peripheral edge of the removed tumor.

7. Analyze the presence of tumor cells n non-small-cell non-small cell lung cancer and with the help of immunocytochemical reactions using the following monoclonal antibodies: thyroid transcription factor-1 (TTF-1), proliferation marker Ki-67 (Ki-67), tumor protein p53 (p53), aspartic protease (Napsin-A ), cytoskeletal keratin II 7 (Cytokeratin-7) on cytological smears from lung parenchyma sections at different distances from the tumor.

8. Analyze the received data using the MS Excel program according to the Student's t-test.

Statistical processing was performed using the MS Excel package to evaluate quantitative cytological indicators by calculating the mean value of the indicator (M) and its standard error (m) and using the Student's t-test with a critical level of significance in all statistical tests ($p<0.05$).

It was shown that the number of tumor cells in the lung parenchyma near the peripheral edge of the removed cancerous tumor in the case of glandular cancer was (59±9.8), in the case of adenosquamous cancer the similar figure was (65±7.1), in in case of squamous cell, the number of tumor cells was (74±8.4).

The value of the presence of type II alveolar epithelial cells with changes in the area of the peripheral edge of the neoplasm, regardless of the histological type, was (32±8.7). The number of alveolar epithelium with signs of proliferation and atypia in the area of the peripheral edge of the neoplasm in the case of glandular cancer was (34±10.4). The quantitative assessment of tumor cells in the case of adenosquamous cancer in the studied area was (31±8.3). A similar number of tumor cells in the case of squamous cell carcinoma was (31±7.5).

The value of the number of tumor cells in the peritumoral area, regardless of the histological type, was (23±3.0). The number of tumor cells in the lung parenchyma in the peritumoral zone in the case of glandular cancer was (38.6±5.0), in case of squamous cell cancer, the same number was (11±2.4).

The number of type II alveolar epithelial cells with signs of proliferation and some atypia in the peritumoral zone, regardless of the histological type of lung cancer, was (60±2.2). The number of alveolar epithelial cells with signs of proliferation and atypia in the case of glandular cancer was (50±3.4), and in the case of squamous cell cancer it was (76±2.7).

The value of tumor cells in the most distant zone, regardless of the histological type of the tumor, was (3±1.1). In the case of glandular cancer, the number of tumor cells in the studied area was (5±1.9), and in the case of squamous cell (1±0.7).

The value of type II alveolar epithelial cells with signs of proliferation and atypia in the most distant area, regardless of the histological type of lung cancer, was (55±2.4). A similar indicator of the number of alveolar epithelium with changes in the case of glandular cancer was (58±3.2), and in the case of squamous cell cancer it was (54±3.2).

Presence Cytokeratin-7 in tumor cells showed a positive expression in the case of glandular cancer in 1 patient in the area of the peripheral edge of the neoplasm

and in the most distant zone from the tumor node. In the case of adenosquamous cancer in the area of the peripheral edge of the removed tumor, this marker had a high level of expression in 2 studied patients. In case of squamous cell carcinoma, the marker was expressed in 1 out of 2 patients in the area of the peripheral edge of the neoplasm. The use of TTF-1, Napsin-A, p53, Ki-67 markers on tumor cells of various histological types of non-small cell lung cancer did not show a sufficient level of expression on cytological preparations in the studied patients.

The obtained data indicate a different degree of spread of tumor cells at different distances from the tumor node, especially in case of adenocarcinoma. The results of cytological and immunocytochemical studies indicate a high proliferative potential, increasing atypia and possible malignancy of type II alveolar epithelium both near the tumor and at a different distance from it.

The novelty of the study. For the first time, using cytological and immunocytochemical methods, the presence and quantitative assessment of non-small cell lung cancer tumor cells at different distances from the tumor node was determined. For the first time, studies were conducted that allowed to determine the spread of lung cancer cells of different histological structures in the macroscopically unchanged parenchyma near and at different distances from the tumor node removed during surgery. For the first time, a new approach was applied to the study of morphological changes of type II alveolar epithelial cells - proliferation and atypia were shown, and a quantitative analysis of type II alveolar epithelial cells was carried out in different areas of macroscopically unchanged lung parenchyma removed with a tumor during surgery, which may be an indirect indicator of the possibility of their malignancy and may indirectly indicate that type II alveolar epithelium may be a stem cell.

Decisions of the bioethical committees: This reseach was approved for implementation by an extract from the protocol No. 201/9 of the meeting of the Commission on ethics of the National Cancer Institute 21.11.2021 and by the decision of the Committee on Ethics of Scientific Research of the Ukrainian

Academy of Medical Sciences protocol No. 2. 07.07.2022 under registration No. 00030125.

***Key words:*** type II alveolar epithelial cells, tumor cells, non-small cell lung cancer, surfactant protein C, cytological method, morphological study, immunocytochemical reaction, stem cell, metabolic disorder, biomarkers, mitochondria, system, recovery, method.

## Список публікацій здобувачки

Праці, в яких опубліковано основні наукові результати дисертації

1. Bolgova, L., & **Ponomarenko, A.** (2020). Особливості росту периферичного раку легені за результатами макроскопічних і цитологічних досліджень. *Наукові записки НаУКМА. Біологія і екологія*, *3*, 43–47. https://doi.org/10.18523/2617-4529.2020.3.43-47 *(Особистий внесок: опрацювання даних літератури, опрацювання отриманих результатів, підготовка статті.)*

2. Bolgova, L. S., Tuganova, T. N., Alekseenko, O. I., Litvinets, O. M., Suprun, G. A., & **Ponomarenko, A. A.** (2020). Histogenesis of central lung cancer: cytological investigation. *Experimental oncology*, *42*(4), 310–313. https://doi.org/10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-42-no-4.15232 *(Особистий внесок: опрацювання даних літератури, підготовка статті.)*

3. Bolgova, L., Tuganova, T., & **Ponomarenko, A.** (2021). Цитологічні дослідження екзофітних пухлин бронхів і ріст раку легені. *Наукові записки НаУКМА. Біологія і екологія*, *4*, 26–31. https://doi.org/10.18523/2617-4529.2021.4.26-31 *(Особистий внесок: опрацювання даних літератури, опрацювання отриманих результатів, підготовка статті.)*

4. Bolgova, L. S., Tuganova, T. N., Alekseenko, O. I., & **Ponomarenko, A. A.** (2022). On the origin of lung cancer development. *Experimental oncology*, *44*(1), 17–22. https://doi.org/10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-44-no-1.17227 *(Особистий внесок: опрацювання даних літератури, підготовка статті.)*

5. Bolgova, L.S., **Ponomarenko, A.O.,** Hanul V.A. (2022). Визначення пухлинних клітин у незміненій паренхімі — достовірна ознака розповсюдження раку легені. *Клінічна онкологія.* 12, *3-4* (47-48), 1-4. http://doi.org/10.32471/clinicaloncology.2663-466X.47-3.29178 *(Особистий внесок: опрацювання даних літератури, проведення цитологічних та*

*імуноцитохімічних досліджень, опрацювання отриманих результатів, підготовка статті.)*

6. Bolhova, L. S., Tuganova, T. M., Alekseenko, O. I., **Ponomarenko, A. O.**, Zaharichev, V. D. (2023). Histogenesis of lung cancer - stages of investigation. *Medical Informatics and Engineering*, (3), 30–41. https://doi.org/10.11603/mie.1996-1960.2022.3.13371 *(Особистий внесок: опрацювання даних літератури, підготовка статті.)*

7. Bolgova, L., Shypko, A., Tuganova, T., Alekseenko, O., Smolanka, I., **Ponomarenko, A.**, & Bilko, N. (2023). New Data on Histogenesis and Histological Structure of Lung Cancer. *Experimental oncology*, *45*(1), 62–69. https://doi.org/10.15407/exp-oncology.2023.01.062 *(Особистий внесок: опрацювання даних літератури, підготовка статті.)*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

1. Bolgova, L.S., Tuganova, T.N., Alekseenko, O.I., **Ponomarenko, A.O.** (2019). Bronchoscopes and cytological studies in the central growth of lung cancer // II International Conference «Tumor and Host: Novel Aspects of Old Problem». *Exp Oncol.*, 41., p. 261. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.29834.82884/1

2. Bolgova, L.S., Tuganova, T.N., Alekseenko, O.I., **Ponomarenko, A.O.** (2019). Комплексні морфологічні дослідження для уточнення гістогенезу раку легені // «Морфологічна (цитологічна і гістологічна) діагностика пухлин різних локалізацій з використанням сучасних методів дослідження». *Клінічна онкологія*. 9, *3* (35), 1. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.17931.85282

3. Bolgova, L.S., Tuganova, T.N., Alekseenko, O.I., **Ponomarenko, A.O.** (2020). Ріст раку легені по відношенню до стінки бронха - як етап вивчення гістогенезу // Науково-практична конференція «Сучасні тенденції в лікуванні онкозахворювань». IX Міжнародний медичний конгрес «Впровадження сучасних досягнень медичної науки у практику охорони здоров'я України». 52. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.20926.61767

4. Bolgova, L.S., Tuganova, T.N., Alekseenko, O.I., **Ponomarenko, A.O.** (2021). Особливості розповсюдження клітин залозистого раку в паренхімі легені // Науково-практична конференція «Стан злоякісних новоутворень в Україні: проблеми та шляхи подолання». X Міжнародний медичний конгрес «Впровадження сучасних досягнень медичної науки у практику охорони здоров'я України». 1, 93-94. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.25120.92168/1

5. Bolgova, L.S., Tuganova, T.N., Alekseenko, O.I., **Ponomarenko, A.O.** (2021). Рак легені і альвеолярний епітелій // Науково-практична конференція «Стан злоякісних новоутворень в Україні: проблеми та шляхи подолання». X Міжнародний медичний конгрес «Впровадження сучасних досягнень медичної науки у практику охорони здоров'я України». 1. 93. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.25120.92168/1

6. Bolgova, L.S., Tuganova, T.N., Bilko N.M., O.I., **Ponomarenko, A.O.** (2021). Рак легені і квантитативна оцінка клітин паренхіми - цитологічне дослідження (попередні дані) // XIV З'їзд онкологів і радіологів України. 2021. 24–25. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.22394.00961

7. Tuganova, T.N., Bolgova, L.S., Alekseenko, O.I., **Ponomarenko, A.O.** (2021). Показники ядерець перехідного типу в альвеолярному епітелії при помірнодиференційованому плоскоклітинному раку легені // XIV З'їзд онкологів і радіологів України. с. 41–43. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.35483.18725

8. **Ponomarenko, A.O.**, Bolgova, L.S., Tuganova, T.N., Alekseenko, O.I., Bilko N.M., Hanul V.A. (2021). Новий підхід у вивченні розповсюдження раку легені по паренхімі (попередні дані) // Науково-практична конференція молодих вчених «Сучасна онкологія: від фундаментальних досліджень до нових терапевтичних підходів». *Онкологія*, 23, *3*, 227. https://doi.org/10.32471/oncology.2663-7928.t-23-3-2021-g.9881

9. Bolgova, L.S., Tuganova, T.N., Alekseenko, O.I., **Ponomarenko, A.O.** (2021). Розповсюдження сквамозного раку в тканині легені // Міжнародний

симпозіум з лабораторної медицини. 2021. 16. http://doi.org/10.13140/RG.2.2.29899.52002/1

10. **Ponomarenko, A.O.** (2023). Виявлення клітин недрібноклітинного раку легені на різній відстані від пухлинного вузла - ознака розповсюдження пухлини // XI Міжнародний семінар студентів та молодих вчених, присвячений Всесвітньому дню боротьби з раком. *Клінічна онкологія.* 1 (137), 13. http://doi.org/10.32345/USMYJ.SUPPLEMENT.1.2023

11. **Ponomarenko, A.O.**, Bolgova, L.S., Tuganova, T.N., Bilko N.M., Hanul V.A. (2024). Якісні і квантитативні показники клітин альвеолярного епітелію II типу у хворих на недрібноклітинний рак легені (готуються до публікації в I кв. 2024 року в *Клінічна онкологія*).

# ЗМІСТ

ВСТУП.....22
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ. ОСОБЛИВОСТІ РОСТУ ТА РОЗВИТКУ НЕДРІБНОКЛІТИННОГО РАКУ ЛЕГЕНІ.....27
1.1. Морфологія легеневого епітелію.....27
1.2. Сучасні погляди на стовбурову клітину легені.....35
1.3. Альвеолярниий епітелій II типу як стовбурова клітина раку легені.....38
1.4. Способи розповсюдження клітин недрібноклітинного раку легені по паренхімі органу.....40
1.5. Застосування цитологічного методу у вивченні розповсюдження недрібноклітинного раку легені.....42
1.6. Можливості використання деяких імуноцитохімічних маркерів у верифікації генезу недрібноклітинного раку легені.....43
1.7. Загальні підсумки даних наукової літератури.....45
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....48
2.1. Характеристика досліджуваного матеріалу.....48
2.2. Цитологічні дослідження пухлинних клітин та альвеолярного епітелію II типу з ознаками проліферації та атипії.....48
2.3. Дослідження експресії імуноцитохімічних маркерів у пухлинних клітинах недрібноклітинного раку легені та в альвеолярному епітелії II типу.....51
2.4. Статистичний аналіз отриманих результатів.....55
РОЗДІЛ 3. ЦИТОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ АЛЬВЕОЛЯРНОГО ЕПІТЕЛІЮ II ТИПУ ТА КЛІТИН НЕДРІБНОКЛІТИННОГО РАКУ ЛЕГЕНІ.....56
3.1. Якісні і кількісні характеристики клітин альвеолярного епітелію II типу у стані проліферації і атипії у хворих з недрібноклітинним раком легені на різній відстані від пухлинного вузла.....56
3.2. Розповсюдження пухлинних клітин недрібноклітинного раку легені і клітин альвеолярного епітелію II типу по паренхімі.....59

3.3. Особливості росту раку легені у разі центральної локалізації за результатами макроскопічних та цитологічних досліджень.....68
3.4 Характер росту раку легені у разі периферичної локалізації за результатами макроскопічних та цитологічних досліджень.....72
РОЗДІЛ 4. ІМУНОЦИТОХІМІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ АЕІІ ТА КЛІТИН НЕДРІБНОКЛІТИННОГО РАКУ ЛЕГЕНІ.....75
4.1. Імуноцитохімічна ідентифікація та квантитативна оцінка пухлинних клітин недрібноклітинного раку легені на різній відстані від новоутворення75
4.2. Визначення рівня експресії імуноцитохімічних маркерів у пухлинних клітинах недрібноклітинного раку легені та клітинах альвеолярного епітелію ІІ типу..... 81
РОЗДІЛ 5. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ 89
ВИСНОВКИ.....91
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ..... 93
ДОДАТОК 1.....112
ДОДАТОК 2.....116
ДОДАТОК 3.....118

# ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

BADJ – ділянка бронхіоло-альвеолярного переходу

BASC - бронхіоло-альвеолярні стовбурові клітини

Cytokeratin-7 – кератин тип II цитоскелетний 7

Ki-67 – маркер проліферації Ki-67

Napsin-A – аспартична протеаза

p53 – пухлинний протеїн p53

SP- C – сурфактант-протеїн С

STAKS – механічне розповсюдження

STAS – розповсюдження через повітроносні шляхи

TTF-1 – фактор транскрипції щитоподібної залози-1

АЕ – альвеолярний епітелій

АЕІ – альвеолярний епітелій І типу

АЕІІ – альвеолярний епітелій ІІ типу

АСР – аденосквамозний рак

БЕ – бронхіальний епітелій

ДР – дрібноклітинний рак легені

ЕДТА – Етилендіамінтетраоцтова кислота

ЗП – ділянка периферичного краю новоутворення

ЗР – залозистий рак

ІГХ – імуногістохімічне дослідження

ІЦХ – імуноцитохімічне дослідження

мкАТ – моноклональне антитіло

НВЗ – найбільш віддалена ділянка від пухлини

НДРЛ – недрібноклітинний рак легені

ПК – пухлинні кітини

ПР – плоскоклітинний рак

ПТЗ – перитуморальна ділянка (пухлинне поле)

СК – стовбурова клітина

ФБС – фібробронхоскопічне дослідження

ЦЕ – циліндричний епітелій

DAB – 3,3'-діамінобензидинтетрагідрохлорид

# ВСТУП

**Актуальність теми.** Рак легені (РЛ) є найпоширенішим онкологічним захворюванням і є основною причиною смертності від раку у чоловіків у світі. На даний час РЛ діагностується у 60-65% випадків на пізніх III – IV стадіях, коли застосування повного комплексу спеціального лікування не є можливим [132].

За даними Національного канцер-реєстру РЛ за частотою онкологічної захворюваності є одним з найпоширеніших серед чоловіків в Україні та в світі. В Україні, відповідно до уточнених даних Бюлетня Національного канцер-реєстру України №23, у 2021 році захворіло на РЛ 10432, а вмерло 7637 осіб [50]. Згідно реєстру Globocan у всьому світі захворіло на РЛ 2,1 млн, а вмерло 1,7 млн осіб. РЛ посідає перше місце за оцінкою смертності серед десяти найпоширеніших типів раку серед осіб обох статей [120]. За даними, які наводять Grigoryeva E.S. *et al.* рівень смертності до року спостереження з дня діагностики РЛ складає 67%. Показник 5-річної виживаності в I стадії становить 63,5%, в II стадії складає 49,5%, а в III стадії – 22,9% [60]. Seguin L. et al. наводить рівень 5-річної виживаності хворих на РЛ після лікування, що складає 15% [116].

На виникнення РЛ значною мірою впливає наявність у пацієнта шкідливих звичок, зокрема, паління. Слід відзначити, що захворюваність на РЛ вища серед курців, ніж у некурців. В той же час, ефективність лікування РЛ залежить від стадії захворювання на момент діагностики.

НДРЛ становить близько 80–90% усіх випадків РЛ, натомість захворюваність на дрібноклітинний РЛ (ДР) має загальну тенденцію до зниження протягом останніх двох десятиліть у більшості країн світу. За останні 25 років змінився також і розподіл гістологічних типів недрібноклітинного раку легені (НДРЛ). У Сполучених Штатах Америки та в Європі знижується частота плоскоклітинного раку (ПР) легені, а частота виявлення залозистого раку (ЗР) як у чоловіків, так і у жінок зростає. [3].

Поточний стан пізньої діагностики даної патології обґрунтовує гостру необхідність всесторонніх досліджень для виявлення джерела розвитку та зростання РЛ, що дозволить підійти до конструктивного рішення ранньої діагностики та лікування. Зважаючи на неоднозначність поглядів щодо гістогенезу і розвитку РЛ актуальним є вивчення питань стосовно проблеми розповсюдження клітин РЛ по паренхімі органу [29].

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота запланована в межах теми за реєстраційним номером НИДКР 0119U103427 «Визначення морфофункціональних властивостей клітин-попередників при злоякісному процесі». Терміни виконання: 09.2019-09.2022 роки і виконувалась на базі ДНП «Національний інститут раку» згідно Договору про співпрацю між Національним університетом «Києво-Могилянська академія» та «Національний інститут раку» від 30.01.2019 року та Додаткової угоди №1 до Договору від 03.09.2019 року.

**Мета дослідження:** визначити розповсюдженість пухлинних клітин недрібноклітинного раку легені і клітин альвеолярного епітелію II типу з ознаками проліферації і атипії на різній відстані від новоутворення в макроскопічно незміненій, видаленій з пухлиною паренхімі легені.

**Завдання дослідження:**

1. Визначити наявність пухлинних клітин недрібноклітинного раку в паренхімі легені поряд з периферичним краєм видаленої ракової пухлини.
2. Виявити зміни в альвеолярному епітелії II типу поряд з краєм пухлинного вузла, видаленого в процесі оперативного втручання.
3. Установити наявність пухлинних клітин недрібноклітинного раку на відстані 2 см від периферичного краю видаленої новоутворення.
4. Визначити наявність і зміни клітин альвеолярного епітелію II типу на відстані 2 см від периферичного краю видаленої пухлини.
5. Вивчити наявність пухлинних клітин недрібноклітинного раку на відстані 5 см від периферичного краю новоутворення.

6. Визначити і зміни клітин альвеолярного епітелію II типу на відстані 2 см від периферичного краю видаленої пухлини.

7. Проаналізувати наявність пухлинних клітин недрібноклітинного раку легені за допомогою імуноцитохімічних реакцій з використанням наступних моноклональних антитіл: фактора транскрипції щитоподібної залози-1 (TTF-1), маркеру проліферації Ki-67 (Ki-67), пухлинного протеїну p53 (p53), аспартичної протеази (Napsin-A), кератину II цитоскелетного 7 **(**Cytokeratin-7) на цитологічних препаратах з розрізів легеневої паренхіми на різних відстанях від пухлини.

8. Провести аналіз отриманих даних з використанням програми MS Excel за t-критерієм Стьюдента, ($p<0,05$).

*Об'єкт дослідження:* Паренхіма легені, видалена у пацієнтів під час оперативного втручання з приводу недрібноклітинного раку легені.

*Предмет дослідження:* пухлинні клітини та клітини альвеолярного епітелію II типу з ознаками проліферації і атипії.

**Методи дослідження:** цитологічний – квантитативна оцінка та виявлення морфологічних змін в клітинах альвеолярного епітелію II типу та в пухлинних клітинах; імуноцитохімічний – вивчення антигенних маркерів для визначення належності клітин до певного гістологічного типу раку легені; статистичний – для оцінки кількісних цитологічних показників шляхом розрахунку середнього значення показника (M) та його стандартної похибки (m) використовуючи t-критерій Стьюдента з критичним рівнем значимості у всіх статистичних тестах ($p<0,05$).

**Наукова новизна отриманих результатів.** Вперше за допомогою цитологічного та імуноцитохімічного методів визначено наявність та проведено квантитативну оцінку пухлинних клітин недрібноклітинного раку легені на різних відстанях від пухлинного вузла. Вперше проведені дослідження, які дозволили визначити розповсюдженість клітин раку легені різної гістологічної структури по макроскопічно незміненій паренхімі поруч і на різній відстані від видаленого під час операції пухлинного вузла. Вперше

застосовано новий підхід у вивченні морфологічних змін клітин альвеолярного епітелію II типу – показано проліферацію і атипію та проведено квантитативний аналіз клітин альвеолярного епітелію II типу на різних ділянках макроскопічно незміненої паренхіми легені, видаленій з пухлиною під час операції, що може бути опосередкованим показником можливості їх малігнізації та може опосередковано свідчити про те, що альвеолярний епітелій II типу може бути стовбуровою клітиною.

**Практичне значення отриманих результатів.** Результати дослідження можуть бути корисними у пошуках способів розповсюдження клітин з ознаками атипії по макроскопічно незміненій паренхімі легені; можуть бути використаними під час підготовки методичних рекомендацій та посібників з цитологічної діагностики пухлинних та непухлинних процесів, у курсах тематичного удосконалення для лікарів-лаборантів, цитотехніків (лаборантів), цитоморфологів (біологів), студентів ВНЗ. Результати наукової роботи можуть служити обґрунтуванням застосування нового підходу в діагностиці, профілактиці та лікуванні недрібноклітинного раку легені.

**Особистий внесок здобувача.** Здобувачка вивчила й проаналізувала наукову літературу, провела інформаційно-патентний пошук, сформулювала мету і завдання, розробила дизайн дослідження, провела цитологічні та імуноцитохімічні дослідження, здійснила оцінку результатів цитологічного, імуноцитохімічного та цитогенетичного аналізів, узагальнила сукупність одержаних даних, брала участь у підготовці статей за тематикою дисертації.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертації представлені на: конференції для молодих вчених «Сучасні підходи до діагностики та лікування злоякісних захворювань» (Київ, 2019), II Міжнародній науковій конференції «Пухлина та організм: нові аспекти старої проблеми» (Київ, 2019), конференції «Морфологічна (цитологічна і гістологічна) діагностика пухлин різних локалізацій з використанням сучасних методів дослідження» (Київ, 2019), Науково-практичній конференції «Сучасні тенденції в лікуванні онкозахворювань» IX

Міжнародного медичного конгресу «Впровадження сучасних досягнень медичної науки у практику охорони здоров'я України» (Київ, 2020), Науково-практичній конференції «Стан злоякісних новоутворень в Україні: проблеми та шляхи подолання» X Міжнародного медичного конгресу «Впровадження сучасних досягнень медичної науки у практику охорони здоров'я України» (Київ, 2021), XIV З'їзді онкологів і радіологів України (Київ, 2021), Науково-практичній конференції молодих вчених «Сучасна онкологія: від фундаментальних досліджень до нових терапевтичних підходів» (Київ, 2021), Міжнародному симпозіумі з лабораторної медицини (Київ, 2021), XI Міжнародному семінарі студентів та молодих вчених, присвячений Всесвітньому дню боротьби з раком (Київ, 2023), II З'їзді ГО «Українська асоціація цитопатологів» «Можливості морфологічних методів у верифікації пухлинних і непухлинних захворювань на сучасному рівні» (Київ, 2023).

**Публікації.** Основний зміст дисертації викладено: у 4 статях в наукових фахових виданнях України та 3 – в зарубіжному; 11 – тез конгресів, з'їздів, конференцій та семінарів.

**Обсяг та структура дисертації.** Дисертаційна робота викладена українською мовою на 111 сторінках машинопису, складається зі вступу, матеріалів та методів, двох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел, 19 з яких кирилицею та 127 латиницею, 3 додатків; ілюстрована 8 таблицями та 56 рисунками.

# РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ. ОСОБЛИВОСТІ РОСТУ ТА РОЗВИТКУ НЕДРІБНОКЛІТИННОГО РАКУ ЛЕГЕНІ

## 1.1. Морфологія легеневого епітелію

Легені людини складаються з різних типів епітеліальних клітин. Так, трахеобронхіальні дихальні шляхи вкриті переважно війчастими клітинами, клітинами Клара, базальними, келихоподібними та нейроендокринними клітинами. У дистальному відділі легень епітелій складається з клітин Клара, війчастих та нейроендокринних клітин, альвеолярних клітин (АЕ) [137].

Переважна частина дихальних шляхів легенів людини вистелена багаторядним циліндричним епітелієм, що містить війчасті, секреторні, келихоподібні, нейроендокринні клітини, а також популяцію базальних клітин, які щільно прикріплені до базальної мембрани. Під епітелієм знаходяться кровоносні судини, гладка мускулатура, хрящі, стромальні фібробласти та нерви [135].

Легенева паренхіма складається з 20 тисяч дихальних бронхіол. Кожен дихальний бронхіол підрозділяється на альвеолярні ходи, і кожен з них закінчується двома альвеолярними мішечками. На стінах в респіраторних бронхіолах, є окремі альвеоли, що відкриваються в просвіт бронхіол. В організмі людини 300-400 мільйонів альвеол. Загальна сума площа альвеол становить 90–120 м², а в окремих випадках збільшується до 194 м². При видиху вона зменшується 2–2,5 рази [147].

Легені містять у середньому 300-400 мільйонів легеневих альвеол, які складаються з тонких, плоских клітин альвеолярного епітелію I типу (AEI), які забезпечують газообмін, і кубовидних альвеолярних клітин II типу (AEII), які виділяють сурфактант протеїн (SP-C), можуть диференціюватися в інші клітинні лінії [21,113].

Альвеолярні макрофаги мають округлу, цитоплазму з численними дрібними вакуолями, які знаходяться в просвіті альвеол. Розміри клітин

зазвичай в 3-5- разів більші за еритроцит. Цитоплазма клітин кругла. Ядро зазвичай одне або 2-4 і більше. Ядро нормохромне, розміщене центрально, або ексцентрично і займає 1:5 площі цитоплазми. Хроматин рівномірний. Контури ядра рівні, ядерця не візуалізуються (рис 1.1.).

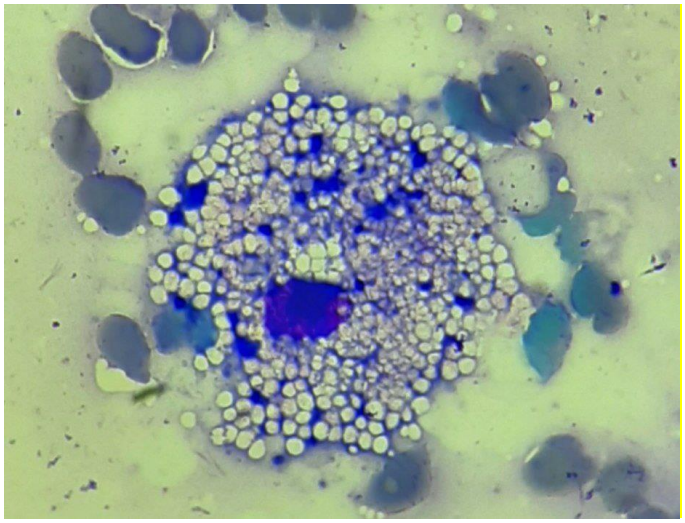

Рис. 1.1. Альвеолярний макрофаг у разі плоскоклітинного раку легені в ділянці периферичного краю пухлини. Забарвлення за Папенгеймом. Збільшення Х1000

Клітини АЕІ типу злегка видовжену світлобазофільну цитоплазму. Розміри клітин в 2-3 рази більші за еритроцит. Цитоплазма – кругла. Ядро одне, нормохромне, розміщене ексцентрично, займає 1:3 площі цитоплазми. Хроматин рівномірний. Контури ядра рівні, ядерця не візуалізуються.

Клітини АЕІІ часто зустрічаються групами по дві або три клітини в кутах альвеол та виконують ряд важливих функцій, таких як репараторна, секреторна та ін. Їх можна розпізнати за допомогою світлової мікроскопії за використання методик забарвлення за Папенгеймом та за Папаніколау. З допомогою електронного мікроскопа можна спостерігати, що вони містять характерні пластинчасті тіла темного кольору. Ці тільця містять комплекс ліпопротеїнів, які утворюють трубчастий мієлін, який при вивільненні

поширюється поверхнею альвеол [51]. Така дисперсія матеріалу утворює шар SP-C, що вистилає внутрішню частину альвеоли [85].

В шкребках з легеневої паренхіми цитоплазма клітин АЕІІ округла, рідше трапецієвидна, світлобазофільна, гомогенна. Контури цитоплазми чіткі, рівні. Клітини АЕІІ розміщені на базальній мембрані широкою стороною, а вузький кінець звернутий в порожнину альвеоли. В цитоплазмі наявне ексцентрично розміщене крупне ядро, що займає 1:3 площі цитоплазми. Ядро з нормохромним, рівномірно розподіленим хроматином. Контури ядра рівні, ядерця не візуалізуються.

У епітелію АЕІІ у стані проліферації відмічається зміна описаних характеристик. Клітини АЕІІ з проліферацією мають округлу чи світлобазофільну, гомогенну цитоплазму. Контури цитоплазми теж чіткі і рівні. Крупне, дещо гіперхромне ядро займає 1:2 площі цитоплазми. Ядро має рівномірно розподілений хроматин. Контури ядра рівні, ядерця зазвичай не візуалізуються. Такі зміни морфологічних ознак епітелію відмічаються у разі відповіді на стимулюючі чинники – інфекційні агенти (рис. 1.2.-1.4.).

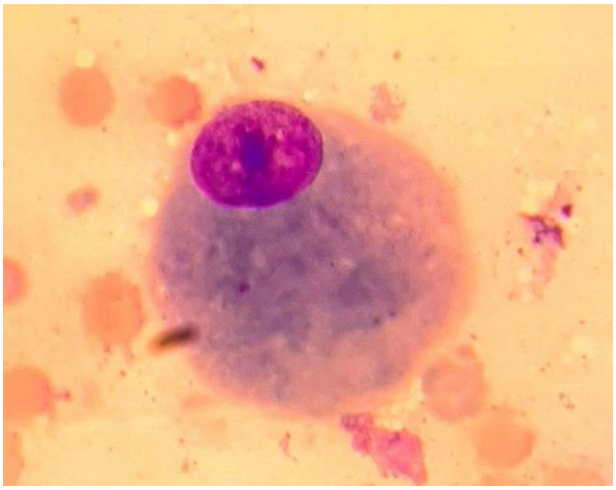

Рис.1.2. Клітина альвеолярного епітелію ІІ типу з ознаками проліферації та деякої атипії у разі залозистого раку легені в перитуморальній зоні. Візуалізується одне велике ядерце. Забарвлення за Папенгеймом. Збільшення Х1000

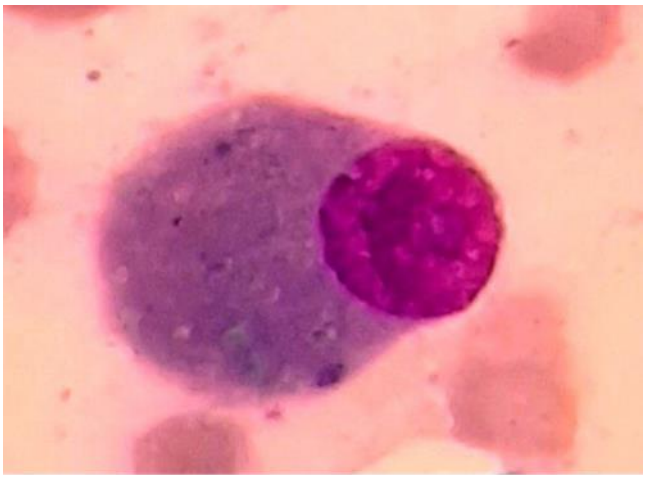

Рис.1.3. Клітина альвеолярного епітелію II типу у стані проліферації у разі аденосквамозного раку легені в перитуморальній зоні. Збільшене ядро. Забарвлення за Папенгеймом. Збільшення Х1000

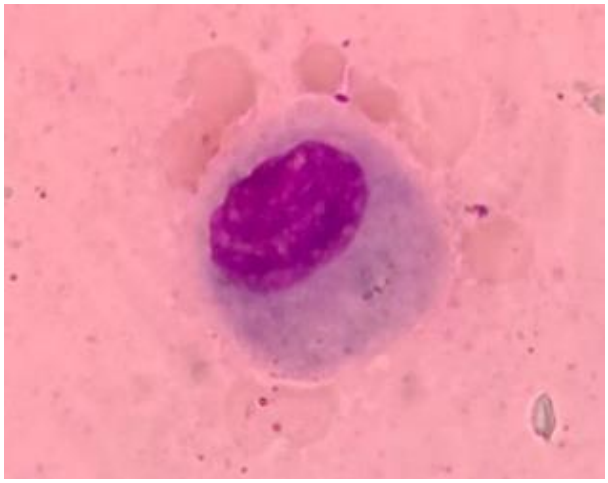

Рис.1.4. Клітина альвеолярного епітелію II типу у стані проліферації та деякої атипії у разі плоскоклітинного раку легені в найбільш віддаленій зоні. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення зміщено в сторону ядра. Забарвлення за Папенгеймом. Збільшення Х1000

За наявності виражених змін (атипії) у клітин АЕІІ з’являються морфологічні ознаки, що дають змогу виокремити дану клітину від нормального АЕІІ. Цитоплазма у них вузька, темно-базофільна, чітка. В препаратах можна відмітити залежну від гістологічного типу пухлини полігональність цитоплазми, різну її величину. Ядра клітин гіперхромні,

можуть бути поліморфні, різняться за величиною. Хроматин більшості ядер щільний; можлива наявність одного-двох ядерець. Такі характеристики зазвичай свідчать про початок процесу малігнізації клітини (рис. 1.5).

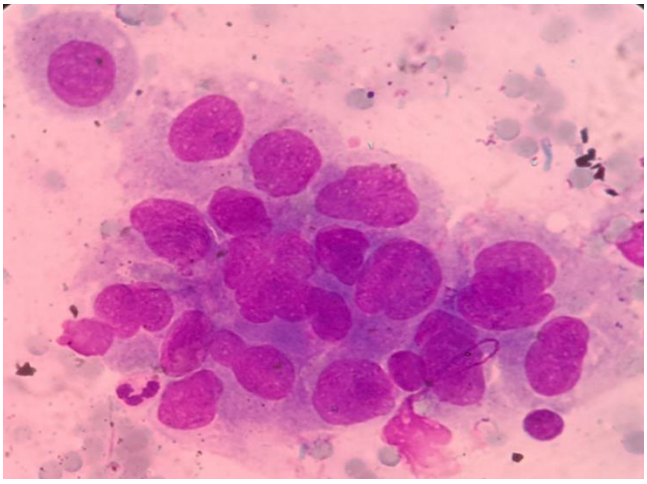

Рис.1.5. Група клітин альвеолярного епітелію II типу з у стані вираженої атипії в ділянці периферичного краю новоутворення у разі залозистого раку. Нерівномірні контури та збільшені, неоднорідні розміри ядер. Забарвлення за Папенгеймом. Х1000.

У разі виявлення сукупності харакеристик, притаманних ПК клітина набуває специфічних морфологічних ознак: темнобазофільна, поліморфна (витягнута або округла) неправильної форми з чіткими контурами цитоплазма. Ядро одне чи більше крупне, гіперхромне, може займати більшу частину площі цитоплазми. Хроматин в ядрі нерівномірний, сітчастий або брильчастий. Контури ядра нерівномірні, 2 і більше збільшених ядерець (рис. 1.6.-1.9.).

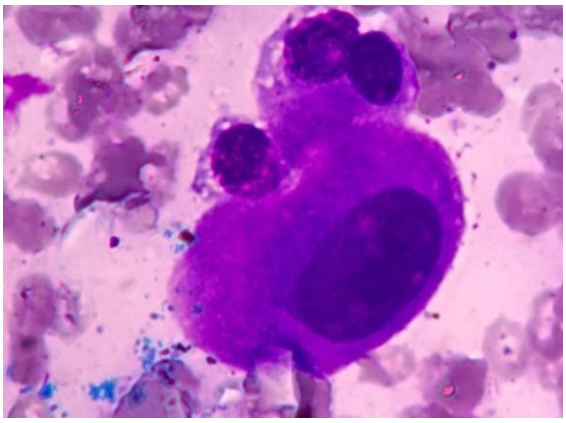

Рис. 1.6. Клітина плоскоклітинного раку легені в ділянці периферичного краю пухлини. Забарвлення за Папенгеймом. Збільшення Х1000

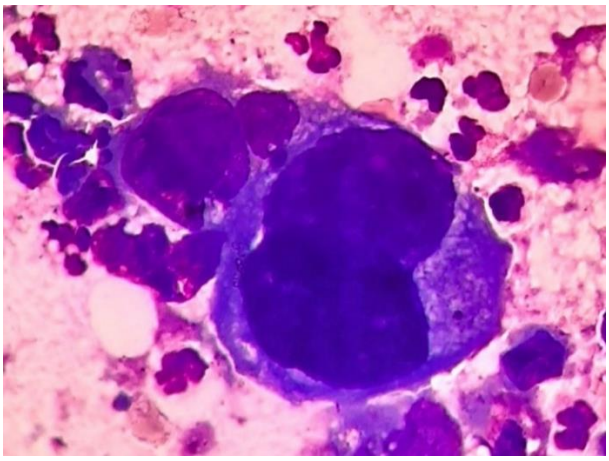

Рис. 1.7. Клітина аденосквамозного раку легені в ділянці периферичного краю пухлини. Забарвлення за Папенгеймом. Збільшення Х1000

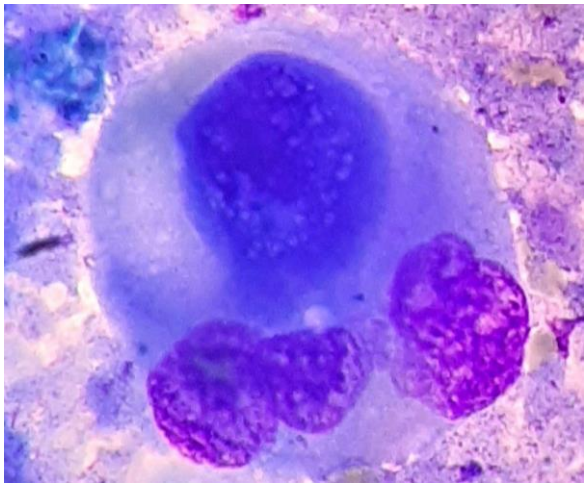

Рис. 1.8. Клітина залозистого раку легені в ділянці периферичного краю пухлини. Забарвлення за Папенгеймом. Збільшення Х1000

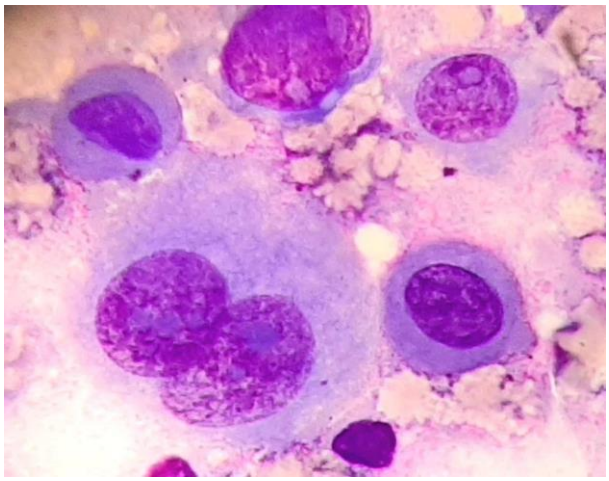

Рис. 1.9. Клітини залозистого раку легені в ділянці периферичного краю пухлини. Щільна цитоплазма, гіперхромні, неоднакового розміру ядра. Збільшена кількість ядер в окремих клітинах. Візуалізуються ядерця, нерівномірна структура хроматину. Забарвлення за Папенгеймом. Збільшення Х1000

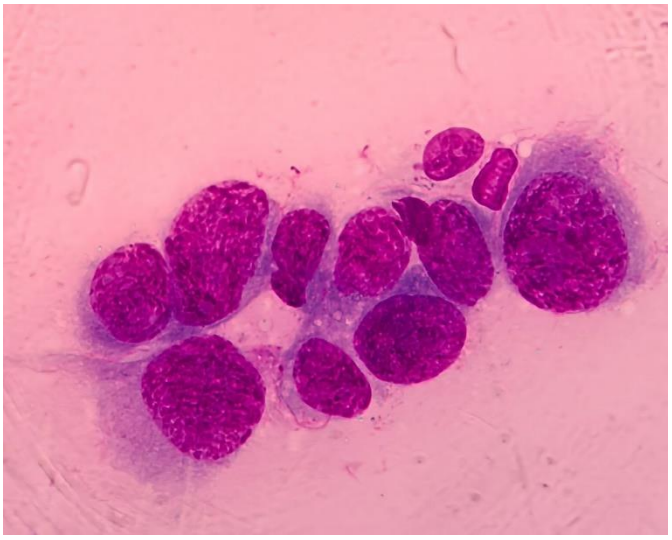

Рис. 1.9. Клітини залозистого раку легені в ділянці периферичного краю пухлини. Великі розміри ядер, нерівномірна структура хроматину. Візуалізуються окремі ядерця. Забарвлення за Папенгеймом. Збільшення Х1000

У легенях клітини залозистого епітелію мають різну морфофункціональну структуру, яка залежить від їх локалізації та функції. Рядом авторів описано і показано на схемах будову легені в її анатомічному

корені, де бронхіоли з ацинусами відгалужуються від великих бронхів, останні найбільш характерні для периферичних відділів легені [7, 13, 91].

Клітини циліндричного епітелію (ЦЕ) продовгуваті, овальні, мають базофільну цитоплазму і крупне ядро з компактним хроматином. Вони розміщені на базальній мембрані широкою стороною, їх вузький кінець звернутий до просвіту бронха, однак не досягає його (рис. 1.10.) [14, 15].

Кубічний епітелій в матеріалі мокротиння розміщений розрізнено, у вигляді окремих клітин, котрі приблизно в два рази крупніше лейкоцитів. Вони округлої, овальної форми, мономорфні. Співвідношення ядра до цитоплазми зазвичай 1:2. Цитоплазма збережена, необширна, базофільна, тонка, гомогенна. Ядра розташовані частіше в центрі клітини, хроматин їх нормохромний, дрібнозернистий, ядерця не візуалізуються [14].

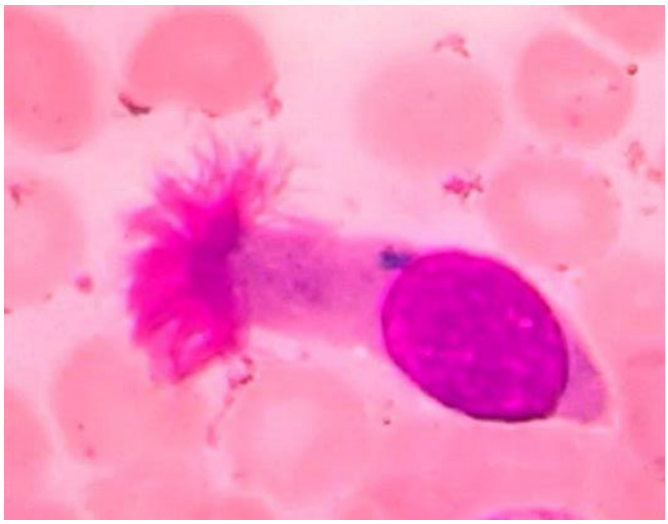

Рис. 1.10. Клітина циліндричного епітелію умовної норми з війками в перитуморальній ділянці у разі аденосквамозного раку легені. Видовжена цитоплазма, ексцентрично розміщене овальне ядро. Забарвлення за Папенгеймом. Збільшення Х1000.

Келихоподібні клітини розміщуються в серед клітин циліндричного епітелію, а базальні клітини наявні в ділянці глибших рядів епітелію, і є попередниками для інших типів клітин. Клітини, які досягають вільної або

апікальної поверхні епітелію, є війчастими, мають тонкі «нитчасті» виступи. Кожна війка утворена базальним тілом, яке виглядає як щільна еозинофільна лінія [10, 22].

### 1.2. Сучасні погляди на стовбурову клітину легені

Узагальнена назва НДРЛ містить багато взаємопов’язаних характеристик, які можуть вказувати на спільне походження ПК у розвитку РЛ [64]. Згідно даних літератури, ЗР становить близько 40% усіх випадків РЛ [35]. У разі ЗР, як правило, пухлина росте на периферії органу. ПР, у свою чергу, є другим за поширеністю злоякісним типом РЛ. Патогенез ПР, зазвичай, пов'язаний з ураженням центральних відділів легені. [128].

Важливим моментом в онкоморфології є з’ясування гістогенезу пухлини, що в подальшому визначатиме стратегію профілактики та лікування. Відповідно до даних літератури існують різні думки з приводу джерела розвитку РЛ [1, 52].

Як зазначають Pennycuick A. та Janes SM., складність дослідження канцерогенезу легень полягає в тому, що неоднорідність клітинних популяцій часто виникає на ранній стадії розвитку РЛ. Вони також стверджують, що базальні клітини можуть залучатись до розвитку НДРЛ та повідомляють про розвиток ПР в дистальних відділах легені. [99].

Однак, дані щодо організації та регуляції легеневих стовбурових клітин (СК), які беруть участь у регенерації легень та канцерогенезі недостатні [86]. Патологічні процеси, які, імовірно, беруть початок зі СК, характеризуються швидким оновленням і найбільш вираженим потенціалом розвитку [6, 9, 19, 26]. Brambilla і Travis et al. припускають, що РЛ розвивається з плюрипотентної клітини-попередника, яка може диференціюватися в клітини різних гістологічних типів РЛ [73].

За даними Weibel, кровоносні капіляри в альвеолах утворюють густу мережу, яку можна представити у вигляді тонкої суцільної судинної

«павутини». Рясне кровопостачання забезпечує ріст і можливість реактивної проліферації клітин, а хронічний процес під впливом біологічних або хімічних речовин може спровокувати порушення їх диференціювання та викликати неконтрольоване їх розмноження. Імовірно, зміна перебігу метаболічних процесів в клітинах, зумовлена біохімічними (порушення процесу окисного фосфорилювання в мітохондріях) та генетичними чинниками (мутації) та внаслідок впливу деяких факторів мікрооточення впливає на зміну кількості мітохондрій в клітинах, що може привести до злоякісного росту, що може привести до злоякісного росту [135].

Дослідження Pingxin et al. [100] виявили, що ЗР характеризується ендобронхіальним ростом. Результати комп'ютерної томографії виявили вогнище ураження, що має структуру «дерева з бруньками», що нагадує схему росту бронхіоальвеолярних структур з великих бронхів [8, 91].

Враховуючи дані літератури щодо особливостей будови легені, характеристики та локалізації СК, можливості розвитку РЛ з плюрипотентної клітини, імовірно, патологічні процеси та РЛ можуть розвиватися з бронхіоло-альвеолярних структур, у яких розташовані СК. Доказом даного твердження є теза Єсипової І. про те, що всі патологічні процеси в легенях починають свій розвиток в термінальних бронхіолах [7].

Situ et al. теж вивчали певні біохімічні процеси у клітинах AEII та у клітинах основних гістологічних типів РЛ. Вони встановили, що в елементах ЗР та ПР утворюється муцин MUC1, що робить їх спорідненими за морфологічними та функціональними ознаками. Автори пов’язують наявність MUC1 у клітинах ПР з гіршим прогнозом [117].

Дослідження Quint et al. показали подібні метастази у випадках плоскоклітинного та залозистого РЛ, що відображає схожість їх клінічного перебігу [101].

Guida et al. вважають, що біомаркери є дуже важливими для покращення діагностики РЛ. Однак використання високоспецифічних біомаркерів може

забезпечити хибнонегативну реакцію, яка ускладнює верифікацію патологічного процесу [61].

Про мультифокальний ріст РЛ повідомляє Tetsushi et al. [124]. Автори констатували потрійну локалізацію різних гістологічних типів РЛ в одного пацієнта — в верхній частці лівої легені, у верхній частці правої легені, і зліва в 6 сегменті.

На сьогоднішній день в літературі можна зустріти термін - бронхогенний РЛ, що означає його розвиток з епітеліальних клітин бронхів. Okudela et al. [96], вивчаючи гістогенез РЛ, зробили висновок щодо наявності бронхіальної метаплазії у цьому процесі. В огляді Sainz de Aja et al. наводиться інформація щодо наявності явища гіперплазії в альвеолярному просторі [112].

Kim et al. в ході проведених досліджень запропонували концепцію бронхіоальвеолярних СК - попередників пухлинного процесу. Автори показали, що збільшення кількості бронхіолоальвеолярних корелює з прогресуванням пухлини у мишей [78].

Однак, дослідження Nepomnyashchikh G, Erokhin V. et al. дозволили дійти висновку, що БЕ є найбільш стійкою епітеліальною структурою легені, з якої не може розвинутися РЛ [48, 90, 105, 113].

Рядом вчених було доведено, що порушення у функціонуванні BASC стимулюють проліферацію СК [76, 107, 137]. Зокрема, Navarro S. та Driscoll B. показали зв’язок між втратою здатності легеневих СК, до регенерації в окремих нішах СК та спричиненою старінням легеневою недостатністю [89].

Репарація легеневої паренхіми у разі травми або інфекції являє собою повторну епітелізацію ураженої ділянки, що може опосередковано вказувати на наявність резервних клітин, і, зокрема, в ділянках бронхіолоальвеолярного переходу (BADJ). Якщо має місце травма, СК легені активуються, проліферують і диференціюються в різні клітинні лінії для ефективної регенерації пошкодженого органу [79].

Експериментальні дані дозволяють уточнити факт походження розвитку РЛ з епітеліальних клітин так званої «ніші» (BASC), де вчені прийшли до

висновку, що до таких клітин, ймовірно, належать клітини АЕІІ. Однак такі літературні дані не завжди однозначні [52, 63, 82, 107].

Очевидно, що BASC не сприяють утворенню всіх нових клітин дихальних шляхів після пошкодження бронхіол або всіх нових клітин АЕІ або АЕІІ типу після пошкодження альвеол. Згідно даних ряду вчених, у відновленні легені беруть участь ряд резидентних СК, таких як клубові клітини і клітини АЕІІ [21, 43, 67, 105], також відповідають за відновлення епітеліальних клітин легень.

Під час морфологічного вивчення недиференційованих форм РЛ декілька груп вчених дійшли висновку, що досліджувані гістологічні препарати містять клітини зі складною подвійною, а в окремих випадках – потрійною фенотиповою диференціацією, що може вказувати на спільне джерело походження даної патології. [42, 48, 56, 69, 145].

Під час дослідження гістологічних препаратів ДР, Єрохін та ін. [48] також спостерігали в препаратах вогнища ПР або ЗР. Одночасно, дослідники виявляли гетерогенність антигенної експресії, морфологічну та генетичну неоднорідність РЛ на клітинному і тканинному рівнях [37, 42].

Так, дослідження Kato T., Gazdar A. дозволили визначити найбільш поширені потрійні генетичні аберації в клітинах основних гістологічних типів РЛ, що також може підтвердити їх спільне походження [55,76]. Отримані дані підтверджують результати роботи Takahashi K. et al., котрі повідомили про мультифокальний ріст різних фенотипів РЛ — ПР та ЗР у одного і того ж хворого [122].

### 1.3. Альвеолярниий епітелій ІІ типу як стовбурова клітина раку легені

Згідно даних літератури, АЕІІ є вразливою до зовнішніх чинників популяцією епітелію легеневої паренхіми. Вони беруть участь у вродженому імунітеті, активуючи легеневі макрофаги для боротьби з інфекцією [120].

Відомо, що клітини АЕІІ мають здатність до самооновлення та диференціювання в клітини АЕІ, що, опосередковано вказує на їх можливість бути СК. [20, 25, 51, 52, 53, 80, 112, 120]. Відомості про те, що АЕІІ можуть давати початок розвитку РЛ, підтверджувались і в експериментальних дослідженнях [5].

Colby та ін. провели комплексні дослідження з використанням світлової та електронної мікроскопії використовуючи ІГХ та генетичні методи, які показали що в ЗР периферичних ділянок легені наявний АЕІІ і клітини Клара. За припущенням авторів ці клітини можуть бути клітинами розвитку ЗР [41,78].

Ten Have-Opbroek et al. на тваринних моделях та моделі легень людини показали, що АЕІІ-специфічний білок експресується в клітинах АЕІІ у випадках ураження ЗР та ПР. Вони визначили, що АЕІІ можуть генерувати ЗР з бронхіолоальвеолярними та іншими моделями росту [123].

Було встановлено, що легеням властиві функції імунного органу. Ступінь розвитку лімфоїдної тканини проявляється в залежності від структурної частини легені. Доведено, що кількість лімфоїдних клітин прогресивно зменшується від проксимальної часини дихальних шляхів до дистальної частини легеневої паренхіми. Дана закономірність свідчить про значно менший вміст імунокомпетентних лімфоїдних клітин в дистальних відділах, порівняно з проксимальною частиною дихальних шляхів, що робить їх більш вразливими до розвитку патологічних процесів [48].

У дослідженнях із застосуванням моделей гризунів з пошкодженням легень було виявлено, що базальний, клубоподібний епітелій та клітини АЕІІ слугують факультативними репаративними одиницями СК [79].

Гістологічні дослідження на моделях мишей дозволили висловити гіпотезу, що клітини АЕІІ можуть бути клітинами-попередниками ЗР. ПК, що експресували SP-C в уражених ділянках альвеолярного простору, а не в ділянці бронхіоло-альвеолярного переходу (BADJ), прогресували до аденом і

ЗР, незважаючи на наявність сурфактантпродукуючих клітин в різноматнітних ділянках легеневої паренхіми, включаючи бронхіоли та бронхи [112].

Комбінація активації онкогену k-ras і використання нафталіну призвела до збільшення розмірів пухлини, що переконливо вказує на те, що BASC можуть бути клітинами-попередниками ЗР легені. Проте, лише клітини AEII прогресували до ЗР [137].

За результатами дослідження, проведеними Kathiriya et al, де автори трансплантували клітини незміненого ЦЕ в пошкоджену легеню, було встановлено, що пересаджені клітини ЦЕ набули спочатку ознак клітин AEII, а потім ці клітини відновили морфофункціональні особливості ЦЕ. Визначена властивість свідчить про потенційні біологічні і функціональні особливості AEII [75].

Встановлений факт свідчить про потенційну біологічну і функціональну плюрипотентність клітин AEII, з яких послідовно розвиваються клітини ЦЕ. Як зазначено [19, 112, 140], клітини ЦЕ належать до зрілих клітин легеневої тканини і є найбільш стійкими до різних несприятливих впливів, і тому з них не можуть розвиватися ракові пухлини.

Таким чином, на тканинному, клітинному, субклітинному рівнях із оцінюванюванням біохімічних, генетичних характеристик та клінічних проявів хвороби є можливим підтвердити близьку біологічну сутність ЗР і ПР [63], а виявлення пухлиногенної популяції, яка дає початок розвитку РЛ, пояснити клінічні прояви хвороби [47].

### 1.4. Способи розповсюдження клітин недрібноклітинного раку легені по паренхімі органу

На сьогодні деякі автори розглядають дослідження щодо значення розповсюдження ПК через повітряний простір (STAS). Такий тип поширення ПК наявний тоді, коли ПК визначаються в повітряних просторах у паренхімі легень за межами основної пухлини [81].

Giraud P. et al. для позначення наявності ПК в альвеолах використали термін «аерогенна дисемінація» [57], а починаючи з 2013 р. з'явилися публікації щодо розповсюдження НДКРЛ повітроносними шляхами [37, 63, 71, 138].

В джерелах літератури наявні повідомлення про розповсюдження ПК НДРЛ через повітряний простір у хворих, прооперованих у I стадії ЗР і ПР, що має значення під час визначення подальшого перебігу захворювання [83, 97, 139, 140].

Концепція STAS застосовувалася і до ПР легень. Lu S. et al. продемонстрували, що STAS відмічався у однієї третини пацієнтів з резектованим ПР легень і що сукупна частота рецидивів була значно вищою у пацієнтів із STAS, ніж без нього, однак не було статистично значущої різниці в рівні загальної виживаності [83].

В дослідженнях Kadota K. et al. та Uruga H. et al. а гістологічних матеріалах було доведено зв'язок відокремленого острівця пухлини з пухлинним вузлом та продемонстровано шляхом аналізу тривимірної реконструкції. Kadota et al. повідомили, що STAS визначається як наявність ПК, які виходять за межі макроскопічно видимої частини пухлини, є значним фактором ризику рецидиву ЗР легені у пацієнтів з обмеженою резекцією органу [72, 131].

Однак, концепція STAS залишається предметом дискусій. Thunnissen et al. зазначили, що під час резекції легені та підготовки зразка ПК можуть зміщуватися ножем уздовж площини розрізу. Така концепція була названа механічним розповсюдженням (STAKS) [126].

Blaauwgeers et al. провели проспективне дослідження 44 резекційних зразків РЛ, для підтвердження концепції STAKS і зробили висновок, що 93% отриманих фрагментів тканини в альвеолярному просторі можна пояснити механічними силами, пов'язаними з обробкою тканин [28].

Проте, дослідниками на чолі з Bolgova L. et al. було проведено комплексні дослідження операційних матеріалів хворих на РЛ. Було показано

структурні зміни епітелію різних відділів легені у випадку ураження новоутворенням та доведено на ексфоліативних та операційних матеріалах завдяки проведенню гістологічних, цитологічних, ІГХ, ІЦХ, електронно-міскоскопічних та цитогенетичних досліджень можливість розвитку РЛ з-під слизової оболонки бронха [29-33].

Таким чином, дослідження, що спрямовані на вивчення питання розповсюдження РЛ, можуть пояснити генез і обгрунтувати необхідність розробки профілактичного напрямку в боротьбі із захворюваністю на РЛ [1, 2, 4]. Необхідним є проведення подальших досліджень, які б дозволили уточнити джерело розвитку РЛ, що дозволило б вирішити питання ранньої діагностики цього захворювання, що має надзвичайно важливе наукове і клінічне значення [23, 24, 36].

### 1.5. Застосування цитологічного методу у вивченні розповсюдження недрібноклітинного раку легені

Застосування цитологічного методу у визначенні наявності патологічного процесу є швидким і достовірним способом визначення гістологічного типу пухлини і ступеню її диференціювання. Цитологічний метод є інформативним, низькоінвазивним та допомагає встановити діагноз за окремими навіть поодинокими атиповими клітинами [38].

Матеріал для цитологічного дослідження отримують шляхом ексфоліативної чи пункційної біопсії та виконують допоміжні дослідження для уточнення характеристик клітин, ступеня їх проліферації та ознак малігнізації [32].

Визначення підтипу РЛ на основі морфологічних ознак може бути складним через анаплазію клітин РЛ. Першим кроком є розрізнення НДРЛ і ДРЛ. Другим важливим кроком є підкласифікація НДРЛ, особливо на ПР та ЗР. Це можливо зробити на цитологічних препаратах добре диференційованих

пухлин, коли наявні характерні морфологічні ознаки. На жаль, більшість клітин РЛ є низькодиференційованими [44, 68].

Зміни морфології клітин, спричинені променевою або хіміотерапією, можуть спровокувати значну клітинну атипію [92]. У дослідженні, проведеному Thivolet-Bejui частота хибнопозитивних результатів у випадках дослідження уражених легень становила близько 1% [125].

Проте, незважаючи на обмеження цитологічного методу, вони можуть дозволити вивчати розповсюдження РЛ на ранніх стадіях, перш ніж ураження досягне стадії видимої пухлини [38].

## 1.6. Можливості використання деяких імуноцитохімічних маркерів у верифікації генезу недрібноклітинного раку легені

Встановлення злоякісності за допомогою цитологічного методу завжди ґрунтується на морфологічних ознаках окремих клітин. Хоча визначення морфології клітин є основою діагностики в цитопатології і 85–90% випадків діагностуються за допомогою методик таких як Папаніколау та Папенгейм, у решті випадків застосовують ІЦХ [130].

Джерела літератури містять інформацію щодо різних рівнів експресії поверхневих маркерів епітеліальних клітин у відділах легені, що показано на експерменальних моделях. До прикладу, Kasper M. et al досліджували розподіл цитокератинів ЦК в легеневій паренхімі дорослих щурів з використаням ІЦХ та застосуванням 44 моноклональних і 2 поліклональних антитіл [74].

Результати досліджень підтверджують, що встановлення точного гістологічного підтипу має важливе терапевтичне значення та використовуються у разі прогнозування перебігу захворювання. Для досягнення зазначеної мети використовуються різноманітні мкАТ [12, 88].

Зокрема, фактор транскрипції щитоподібної залози-1 — є ядерним транскрипційним білком, що бере участь у транскрипції генів SP-A, -B, -C та секреторного білка клітин Клара в епітеліальних клітинах легені [40, 77].

Клітини АЕІІ умовної норми та АЕІІ у стані гіперплазії мають позитивну експресію щодо TTF-1. Клітини ПР зазвичай негативно забарвлені на TTF-1 [98, 118]. Вказаний маркер широко використовується для ідентифікації ЗР з чутливістю 75–94% і специфічністю 100% [118]. Зокрема, в одному дослідженні 23 із 26 (88,5%) випадків ЗР показано позитивне забарвлення TTF-1 [126]. В іншому дослідженні 12 із 14 (85,7%) пухлин показали імунореактивність щодо TTF-1 [118]. Також наявні публікації, де експресія TTF-1 є негативною у 25% ЗР, особливо у випадках центрального раку [34, 142]. Таким чином, маркер TTF-1 широко використовується для ідентифікації новоутворень легеневого походження [118].

Cytokeratin (ЦК) — це група водорозчинних внутрішньоклітинних білків, які містяться в більшості епітеліальних клітин. Імуномаркери ЦК, які використовуються для визначення походження новоутворень легені включають CK7, CK20, 34βE12, CK1, -5, -10 і -14 і CK5/6 [39, 103]. Зокрема, CK7 — це основний білок, який експресується в легеневому епітелії [42, 103] і є корисним в ідентифікації клітин ЗР [118, 109]. Слід зазначити, що епітеліальні ЦК по-різному експресуються в клітинах АЕ і БЕ. Вчені ідентифікували різні типи АЕ відповідно до їх моделі імунореактивності, зокрема, клітини АЕІІ що значно експресують CK-8 і 18, і незначно експресують CK-7 і 19 [70].

Napsin-A є функціональною аспарагіновою протеїназою, що експресується в клітинах легеневої паренхіми та в АЕІІ [87]. Зазначений маркер позитивний у 80% випадків ЗР. Napsin-A демонструє сильнішу, дифузну та чутливішу експресію і на 11% ефективніше забарвлює клітини ЗР ніж TTF-1. В джерелах літератури вказано, що він має негативне забарвлення у разі ПР і ДР [70] та використовується для ідентифікації первинного ЗР [27, 143].

Ki-67 — це ДНК-зв’язуючий ядерний білок, який експресується в клітинах з проліферацією [88]. Імуномаркери p53 і Ki-67 можуть бути корисними у разі визначення передінвазивного процесу. Wang та ін. показали

різні ступені позитивного забарвлення ЦК, p53 і Ki-67 у разі дисплазії БЕ , за якого Ki-67 показав більш інтенсивну експресію, ніж p53 [133]. Інші маркери, які використовуються для позитивної ідентифікації ПР, включають CK5/6 і p63, хоча жоден із них не має 100% чутливості чи специфічності [88].

З наведеного вище випливає, що застосовують ІЦХ реакцію у випадках визначення злоякісності, визначення походження клітин, встановлення місця походження пухлини та для прогностичної та терапевтичної оцінки [88]. Однак, роль ІЦХ у підтвердженні злоякісності все ще обмежена. Це допоміжний метод, який лише доповнює морфологічний діагноз [108].

Націлюючись на клітинні антигени, ІЦХ дає можливість пролити світло на гістогенез деяких нозологічних типів РЛ. Проведення подальших досліджень, спрямованих на покращення розуміння клітинної структури дихальних шляхів сприятиме визначенню можливого походження клітинних ліній РЛ. [88].

### 1.7. Загальні підсумки даних наукової літератури

Розвиток і розповсюдження РЛ по паренхімі ще недостатньо висвітлено в джерелах літератури. Автори показують участь різних клітинних популяцій у розвитку цієї патології [53]. Деякі дослідники припускають наявність так званих бронхоальвеолярних ніш (BADJ) зі СК як у центральній, так і в периферичній частинах легені [78, 56, 58, 104, 121].

Дані цитологічних, ІЦХ досліджень шкребків з макроскопічно незміненої легеневої паренхіми показують високу проліферативну активність АЕІІ типу у розвитку РЛ, відповідно і прискорення перебігу різноманітних біохімічних процесів, що можуть впливати на виникнення певних метаболічних порушень [29-33, 48, 93, 106]. Такі явища можуть опосередковано свідчити про можливу участь цих клітин у розвитку злоякісної трансформації [62, 110, 112, 120,].

Крім того, різноманітні дослідження не містять інформації щодо розповсюдження ПК в паренхімі легень. Однак, наявні в джерелах літератури дані свідчать про можливість поширення ПК по паренхімі через повітроносні шляхи на гістологічних матеріалах, щоправда питання гістогенезу РЛ у вказаних роботах не розглядається [134, 142, 143].

Інші автори, ґрунтуючись на результатах власних гістологічних і гістохімічних досліджень, розглядають не тільки розповсюдження патологічного процесу, а й вивчають його гістогенез, показуючи можливість виникнення РЛ з-під слизової оболонки бронхів [29-33].

Подальше багатофакторне дослідження питань джерела розвитку РЛ сприятиме вивченню гістогенезу захворювання, що дозволить більш точно проводити гістологічну діагностику, яка впливає на вибір тактики лікування НДРЛ. Розробка нових методів діагностики чи програм скринінгу буде корисною у випадках РЛ, оскільки безсимптомний початок захворювання впливає на загальний рівень виживаності пацієнтів, рецидивуючий характер НДРЛ та наявність ускладнень після лікування [16, 36,66].

Експериментальні дослідження не містять інформації щодо розповсюдження ПК по легеневій паренхімі. Існують різні погляди на джерело розвитку і розповсюдженість ПК по легені [143]. Деякі вчені вказують на можливість розповсюдження ПК через повітряні шляхи. Проте, інші автори, спираючись на результати власних досліджень, показують можливість розвитку РЛ з-під слизової оболонки бронха. Таким чином, питання щодо визначення СК легені залишається відкритим.

Зовсім не вивчено зміни альвеолярних клітин в паренхімі легені, видаленої під час оперативного втручання пухлини. В той же час є дані, що АЕІІ може бути СК легені, а відтак складається не вивчена проблема змін АЕІІ, вивчення якої може пролити світло на характер росту і розповсюдженість клітин РЛ по паренхімі органу. Отже, питання поширення ПК у разі РЛ по паренхімі є актуальним. Вивчення даної проблеми допоможе з’ясувати можливу пролонгацію патологічного процесу [29-33].

**Результати розділу викладені в публікації:**

Bolgova, L. S., Tuganova, T. N., Alekseenko, O. I., & Ponomarenko, A. A. (2022). On the origin of lung cancer development. *Experimental oncology*, *44*(1), 17–22. https://doi.org/10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-44-no-1.17227

# РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

## 2.1. Характеристика досліджуваного матеріалу

З метою визначення розповсюдження ПК НДРЛ та морфологічних змін АЕІІ були проведені цитологічні, ІЦХ та цитогенетичні дослідження на шкребках з розрізів паренхіми легені з операційних матеріалів хворих з різними гістологічними типами НДРЛ.

Матеріали для цитологічних досліджень були отримані від 66 хворих, а для проведення імуноцитохімічного дослідження від 19 пацієнтів, котрі обстежувались та лікувались в ДНП «Національний інститут раку» МОЗ України. Пацієнти до проведення операції не отримували специфічної терапії (хіміо- та радіотерапія) та в переважній більшості оперувались в II-III клінічних стадіях НДРЛ. Вік хворих на РЛ коливався в межах від 40 до 78 років. Середній вік пацієнтів склав 60,92±1,14 років.

Всі хворі перед проведенням дослідження підписували інформовану згоду на проведення дослідження з діагностичною та лікувальною метою, згоду на обробку персональних даних за встановленими формами. Досліджуваний матеріал цитологічних препаратів був верифікований згідно Міжнародних гістологічних класифікацій [127-129].

## 2.2. Цитологічні дослідження пухлинних клітин та альвеолярного епітелію II типу з ознаками проліферації та атипії

Цитологічні препарати забарвлювали за методами Паппенгейма і Папаніколау та вивчали за допомогою мікроскопів Olympus CX21 та Olympus BX41 у збільшеннях: X100; X200; X400; X900, X1000.

Досліджувались цитологічні ознаки окремих клітин, їх морфофункціональні та структурні ознаки. Для цього використовували схему для формалізованої оцінки клітин АЕІІ. Для цього враховували ряд

показників, таких як розмір клітин (середні (в 2,5-5раз > ер., крупні (в 5 раз > ер.), ядерно-цитоплазматичне співвідношення (1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6 і більше), наявність дрібної зернистості в цитоплазмі (присутня, відсутня), кількість ядер (одне, два і більше), розмір ядер (дрібні (в 1,5-2раз > ер.), середні (в 2,5-5раз > ер.), крупні (в 5 разів і більше > ер.)), форма ядер (округла, овальна), контур ядра (рівний, нерівний), тінкторіальні властивості (нормохромні, гіпохромні, гіперхромні), структура хроматину (рівномірна: дрібнозерниста або глибчаста; нерівномірна: дрібноволокниста, дрібноглибчаста, крупноглибчаста), кількість ядерець (одне, два, не візуалізуються), розміри ядерець: (дрібні, середні, крупні).

Розмір клітини вважали дрібним, якщо її діаметр (в порівнянні з діаметром еритроцита – 7 мкм) складав 8–23 мкм, середнім – 24–39 мкм, а великим – ≥ 40 мкм і більше; розмір ядра , відповідно, дрібним – 8–15 мкм, середнім – 16–23 мкм, великим – 24 мкм і більше. Напівкількісним методом визначали тинкторіальні властивості ядра та цитоплазми, а також ступінь розвитку цитоплазми.

Забарвлення ядра було гіпохромним +, нормохромним ++, гіперхромним +++; якщо цитоплазма мала слабобазофільне забарвлення +, помірнобазофільне ++, інтенсивнобазофільне +++; якщо цитоплазма мала кількість у вигляді вузької облямівки +, помірнорозвинена ++, інтенсивно розвинена +++.

Розповсюдження ПК по легеневій паренхімі та якісні зміни клітин АЕІІ типу вивчали за допомогою цитологічного та ІЦХ методів шляхом приготування цитологічних препаратів зі шкребків операційних матеріалів пацієнтів з РЛ. З резектованої частини легені лікарем-патологоанатомом здійснювались шкребки з розрізів прооперованої паренхіми легені у напрямку від периферичної частини паренхіми до пухлини з трьох ділянок: периферичного краю пухлини (ЗП), перитуморальної зони (ПТЗ) — 2 см від новоутворення та найбільш віддаленої зони (НВЗ) — 5 см і більше. Для

забезпечення чистоти експерименту лезо тонкого скльпеля мінялось щоразу під час здійснення шкребка.

Дослідження проводили за заздалегідь встановленою схемою, поданою на рис 2.1.

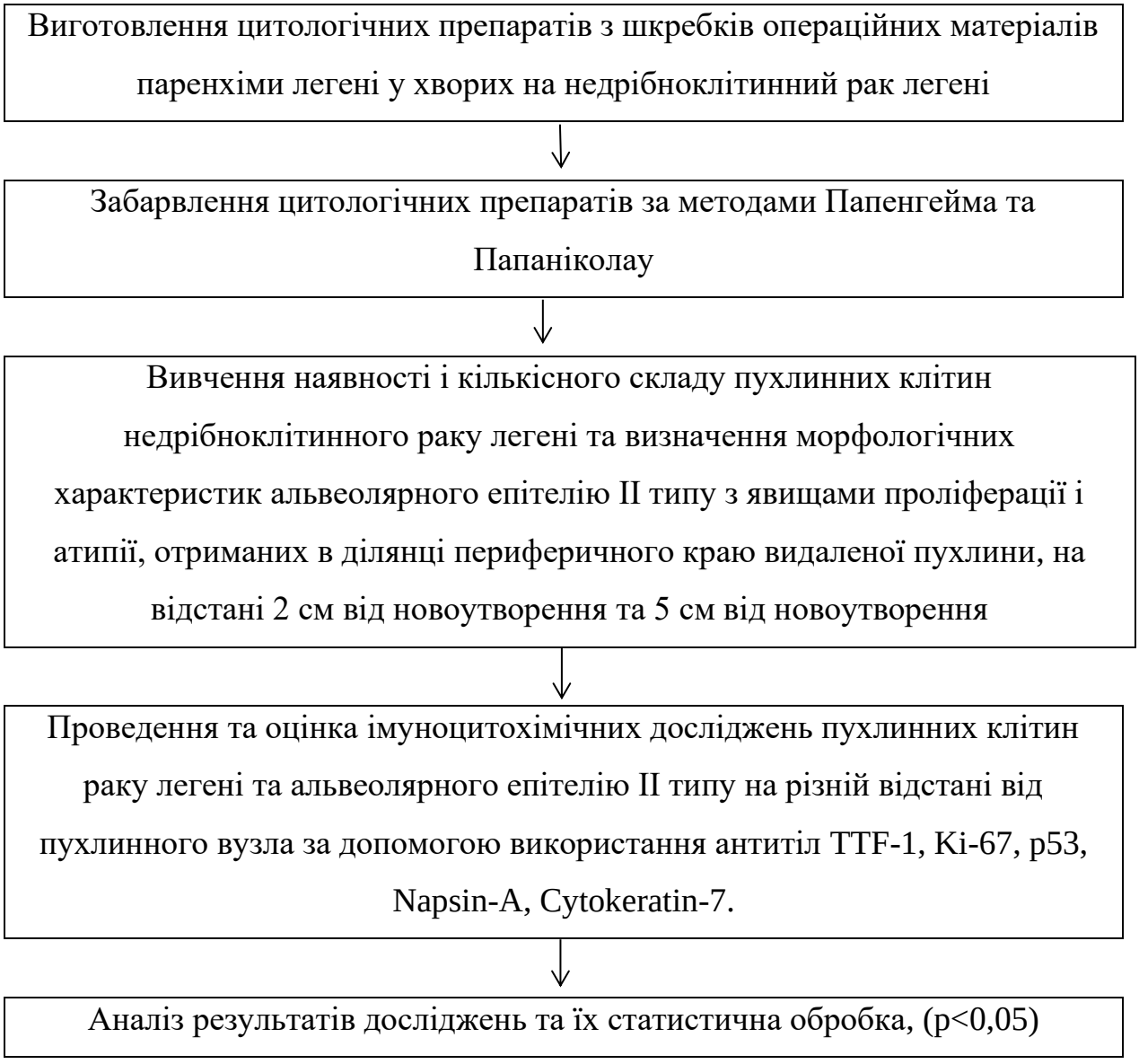


Рис. 2.1. Схема дизайну дослідження

## 2.3. Дослідження експресії імуноцитохімічних маркерів у пухлинних клітинах недрібноклітинного раку легені та в альвеолярному епітелії II типу

Згідно таблиці 2.1 під час вибору моноклональних антитіл (мкАТ) враховували можливість експресії досліджуваних маркерів в ПК а також чутливість і специфічність антигенів у клітинах певного гістологічного типу НДРЛ [125].

*Таблиця 2.1*

**Маркери субтипування пухлинних клітин недрібноклітинного раку легені**

| Гістологічний тип НДРЛ | ЗР | АСР | ПР |
|---|---|---|---|
| Napsin A | + | — | — |
| Cytokeratin-7 | — | — | + |
| p53 | + | + | + |
| TTF-1 | +/- | +/- | — |
| Ki-67 | + | + | + |

За даними таблиці (табл. 2.1), «+» — маркер наявний в шуканих клітинах у більшості випадків, «+/-» — маркер наявний в значній частині досліджуваних клітин, «-/+» — маркер наявний в меншій кількості шуканих клітин, «—» — маркер майже не зустрічається або не зустрічається взагалі в досліджуваних клітинах.

Для ІЦХ дослідження були відібрані препарати, зафіксовані метиловим спиртом та забарвлені за Паппенгеймом, в яких визначалися ПК та АЕІІ з ознаками атипії та вираженої проліферації.

Використовували наступні мкАТ:

- Ki-67 Conc. Rabbit monoclonal antibody RP026 (Diagnostic Biosystems, CA). Імуноген: синтетичний пептид з 62 області пари основ

анигену Ki-67 людини. Позитивний контроль: назальна тканина. Попередня обробка: ЕДТА буфер pH 8.0. Локалізація: ядерний. універсальний маркер проліферації клітин, специфічний для дрібноклітинного РЛ.

- Napsin-A Conc. Mouse monoclonal antibody Mob463 (Diagnostic Biosystems, the Netherlands). Імуноген: BALB/C. Клон: KCG1.1. Ізотип: IgG1. Позитивний контроль: ЗР (залозистий рак легені). Попередня обробка: Цитратний буфер pH 6.0. Локалізація: цитоплазматичний. - специфічний для ЗР.

- Cytokeratin-7 Conc. Mouse monoclonal antibody Mob057 (Diagnostic Biosystems, the Netherlands). Імуноген: OTN 11 клітинна лінія карциноми яєчника. Клон: OV-TL 12/30. Ізотип: IgG1. Позитивний контроль: легені, грудна залоза. Попередня обробка: Цитратний буфер pH 6.0. Локалізація: цитоплазматичний. - специфічний для ПР.

- p53 Conc. Mouse monoclonal antibody Mob082-01 (Diagnostic Biosystems, the Netherlands). Імуноген: Рекомбінантний білок P53 дикого типу людини, експресований у E. coli. Клон: DO-7. Ізотип: IgG2b, kappa. Позитивний контроль: Карцинома товстої кишки. Попередня обробка: Цитратний буфер pH 6,0. Локалізація: ядерний. - маркер атипії.

- TTF-1 Conc. Mouse monoclonal antibody Mob285 (Diagnostic Biosystems, the Netherlands). Імуноген: BALB/C. Клон: 8G7G3/1. Ізотип: IgG1. Позитивний контроль: легені. Попередня обробка: ЕДТА буфер pH 8.0. Локалізація: ядерний. - маркер епітеліальних клітин легені та ІЗподібної залози.

- Polyclonal Rabbit Anti-Mouse Immunoglobulins/HRP (Diagnostic Biosystems, the Netherlands);

- Polyclonal Goat Anti-Rabbit Immunoglobulins/HRP (Diagnostic Biosystems, the Netherlands).

Для роботи використовували наступні реагенти:

- Протеїназа К або Трипсин кристалічний (Sigma-Aldrich, USA);

- 3,3'-Diaminobenzidine tetrahydrocloride hydrate (Sigma-Aldrich, USA) або DAB Chromogen S3000 (Dako Cytomation, USA);
- Система візуалізації EnVision FLEX DAB+Chromogene (Dako Cytomation, USA).

Окрім описаних вище реагентів для роботи необхідно використовувати адгезивні скельця M HistoBond (Marienfeld, Germany).

Дана методика є рутинною до виконання, тому не потребує використання специфічного обладнання. На відміну від імуногістохімічної (ІГХ) реакції ІЦХ проводилась на цитологічних препаратах, тому в проведенні етапу депарафінізації не було потреби. За необхідності було можливим використаня термостата на етапах інкубації нанесених первинних та вторинних мкАТ.

Спершу на цитологічних препаратах ділянки з досліджуваними клітинами позначалися гідрофобним олівцем. Всі наступні маніпуляції проводили в окресленій зоні. Потім на цитологічний препарат наносили 0,1 % розчину трипсину у фосфатносольовий буфер (pH 7,4) на 5 сек для демаскування антигену.

Послідовно промивали препарат у 3-х змінах фосфатно-сольового буферу (по 2 хв. в кожній) та один раз – дистильованою водою. Цитологічний препарат знебарвлювали у 5 % розчині оцтової кислоти протягом 15 хв. Після промивання у 3-х змінах дистильованої води та один раз у фосфатно-сольовому буфері.

Для блокування активності ендогенної пероксидази на цитологічний препарат наносили 1 % розчин перекису водню ($H_2O_2$) на фосфатно-сольовий буфер і залишали на 30 хв. Далі цитологічний препарат промивали у 3-х змінах фосфатно-сольового буферу, піся чого наносили на нього перші мкАТ проти потрібного антигену. Інкубацію з первинними мкАТ здійснювали протягом 1 год за кімнатної температури (або з використанням термостата).

Після промивання у 3-х змінах фосфатносольового буферу, наносили мічені пероксидазою другі антитіла проти глобулінів миші або кролика

(залежно яке використовується мкАТ, якщо первинне мкАТ мишаче, друге мкАТ кролика і навпаки), розведені фосфатно-сольовим буфером у співвідношенні 1:100 та з додаванням 1 % сироватки людини (групи АВ) для зменшення фонового забарвлення та інкубували 1 год. при кімнатній температурі.

Промивали у 3-х змінах фосфатно-сольового буферу та проявляли пероксидазну активність у розчині 3,3'-діамінобензидинтетрагідрохлориду (DAB) 15 хв. Після промивання препарату в дистильованій воді і висушування вивчали результат ІЦХ реакції.

Під час проведення ІЦХ реакцій паралельно ставили як позитивний, так і негативні контролі. Позитивним контролем були цитологічні препарати з клітинами, які завідомо містили досліджуваний антиген, тобто були антигенспецифічними. Позитивний контроль, як і негативний, потрібно ставити паралельно з проведенням ІЦХ реакції на цитологічних препаратах, які містять клітини, в яких наявний досліджуваний антиген. На цих цитологічних препаратах проводили аналогічну досліджуваним препаратам ІЦХ реакцію.

Для негативного контролю виключали з імуноцитохімічної реакції нанесення перших мкАТ. В негативному контролі реагентів змінювали звичайну неімунну сироватку від тварини-хазяїна і первинні антитіла, змінюючи контроль ізотипу первинного антитіла. Негативний тканинний контроль являв собою цитологічний препарат тканини, клітини якої не містять досліджуваного антигену.

Для оцінки реакції розглядали позитивний контроль. У разі виявлення цитоплазматичних антигенів цитоплазма клітин повинна була бути забарвлена у брунатний колір. У позитивних до досліджуваного антигену клітинах дослідних зразків цитоплазма забарвлювалась у брунатний колір також. Відсутність реакції при чіткому позитивному контролі свідчила про відсутність досліджуваного антигену у клітинах. Під час оцінки інтенсивності реакції враховували чутливість (виявлення конкретним мкАТ мінімально

можливої кількості шуканої речовини) та специфічність (здатність виявлення шуканої речовини конкретним мнАТ, тобто можливість визначати негативні зразки без хибнопозитивних результатів). Оцінку наявності мічених клітин в препаратах проводили якісним способом незалежно від кількості мічених клітин: за їх наявності робили висновок щодо позитивної реакції, а за відсутності відмічали негативну реакцію. Візуальна оцінка інтенсивності еспресії маркерів порівняно з контролями (позитивним та негативним тканинним контролем) мала вираження у «+++» — рівень експресії в шуканих клітинах становить 75-100%, «++» — експресія в досліджуваних клітинах становить 50-75%, «+» — рівень експресії в шуканих клітинах становить 25-50%, «-» — експресія в досліджуваних клітинах становить до 25%.

### 2.4. Статистичний аналіз отриманих результатів

Аналіз результатів цитологічного та імуноцитохімічного дослідження а також для побудови таблиць і діаграм використовували програму Microsoft Excel. Розраховували середнє значення показника (M) та його стандартну похибку (m). Для порівняння значень цитологічних показників у всіх хворих використовували t-критерій Стьюдента за ($p<0,05$).

# РОЗДІЛ 3. ЦИТОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ АЛЬВЕОЛЯРНОГО ЕПІТЕЛІЮ ІІ ТИПУ ТА КЛІТИН НЕДРІБНОКЛІТИННОГО РАКУ ЛЕГЕНІ

## 3.1. Якісні і кількісні характеристики клітин альвеолярного епітелію ІІ типу у стані проліферації і атипії у хворих з недрібноклітинним раком легені на різній відстані від пухлинного вузла

Метою дослідження було вивчити якісні і кількісні характеристики клітин АЕІІ в макроскопічно незміненій паренхімі у хворих на НДРЛ на різній відстані від видаленого пухлинного вузла. Цитологічні препарати виготовляли зі шкребків операційних матеріалів 19 хворих на НДРЛ, котрі лікувались в період 2019-2023 роки, серед яких 7 із ЗР, 6 – з АСР і 6 – із ПР.

На цитологічних препаратах в кожній з ділянок рахували по 100 епітеліальних клітин, серед яких виокремили клітини АЕІІ з вираженими змінами, АЕІІ у стані проліферації та АЕІІ без змін.

Подані на рис. 3.1. результати вказують на те, що кількість АЕІІ з вираженими змінами в ЗП більша ніж в ПТЗ в 2 рази, а в НВЗ – в 3 рази. Квантитативна оцінка клітин АЕІІ з явищами проліферації в ПТЗ у всіх ділянках практично не відрізняється. Натомість, значення АЕІІ в стані проліферації значно зростає зі збільшенням відстані до пухлини.

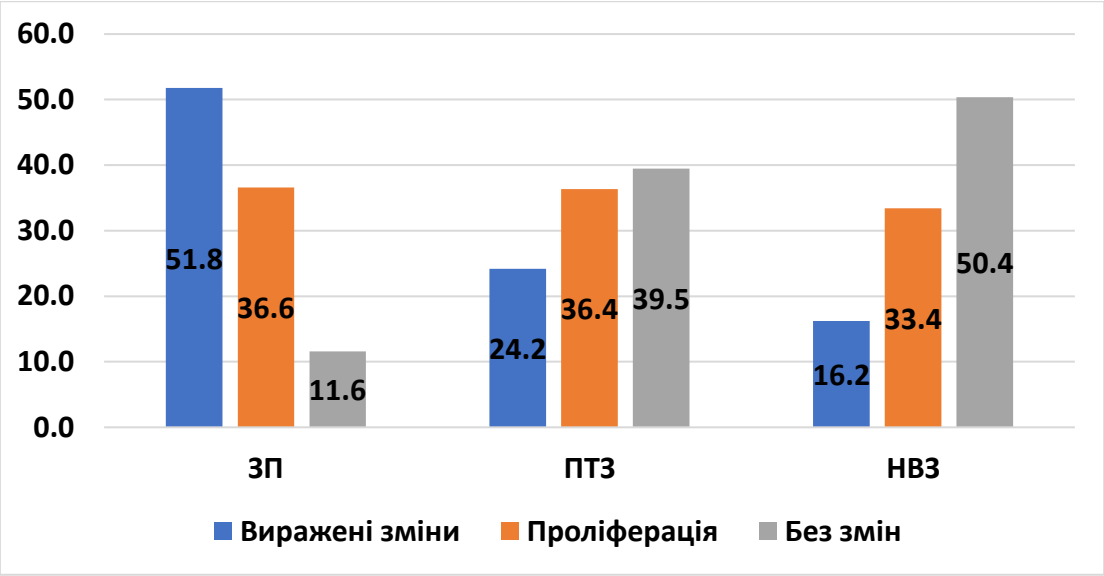


Рис. 3.1. Кількість клітин АЕІІ за даними всіх гістологічних типів недрібноклітинного раку легені у % (n=19)

На рисунку 3.2. спостерігається тенденція до зменшення кількості АЕІІ зі змінами у разі збільшення відстані від пухлини. Числове значення АЕІІ з ознаками проліферації приблизно рівне у всіх досліджуваних ділянках.

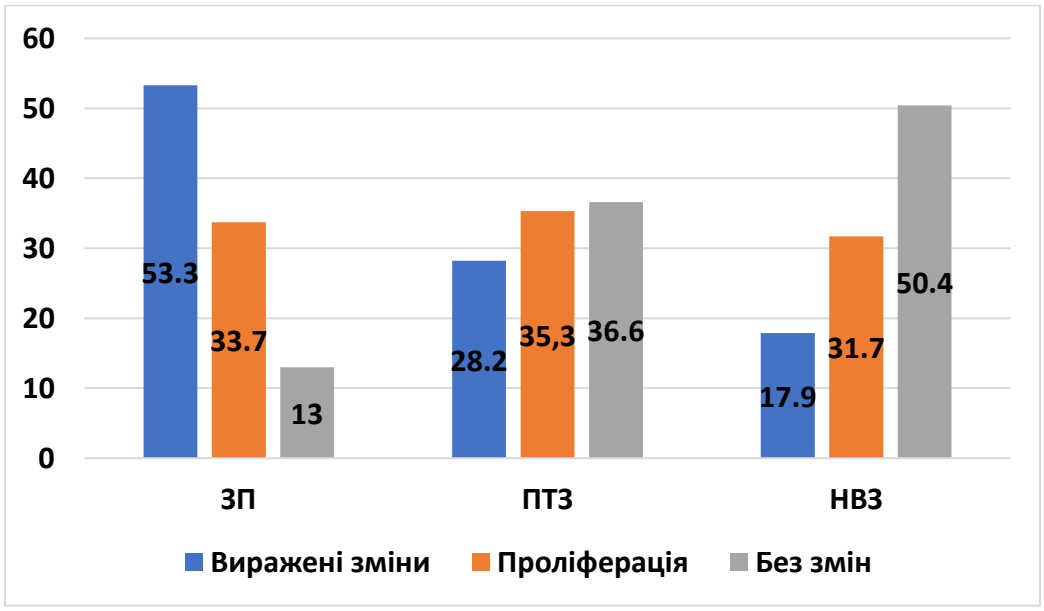


Рис. 3.2. Кількість клітин АЕІІ у разі залозистого раку у % (n=7)

Закономірно, що кількість клітин АЕІІ з вираженими змінами найбільша в ЗП. На поданому графіку (рис. 3.3.) кількість клітин з вираженими змінами

в ПТЗ та НВЗ незначно відрізняється. Особливо інтенсивно явище проліферації відмічається у клітинах АЕІІ в ПТЗ у разі АСР і становить (44%).

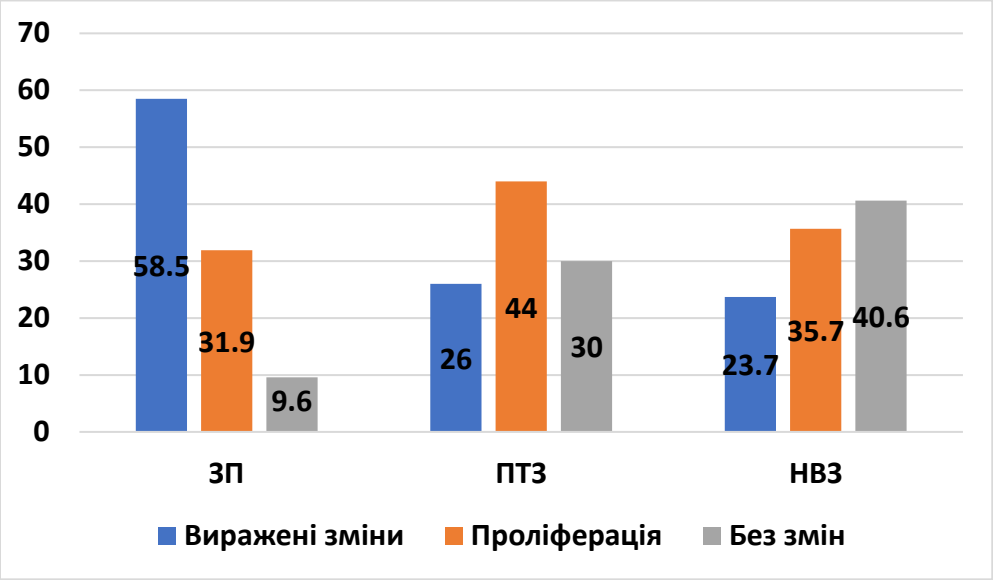


Рис. 3.3. Кількість клітин АЕІІ у разі аденосквамозного раку у % (n=6)

Примітно, що під час квантитативної оцінки клітин АЕІІ в ПТЗ у всіх гістологічних типів НДРЛ спостерігається збільшення кількості клітин АЕІІ в стані проліферації, порівняно з аналогічним показником в ЗП та НВЗ (рис. 3.4.). Найбільша кількість клітин з вираженими змінами в ЗП спостерігається у разі АСР, найменша – у випадках ЗР. В ПТЗ показник АЕІІ зі змінами превалює у разі ЗР, а в НВЗ у разі АСР.

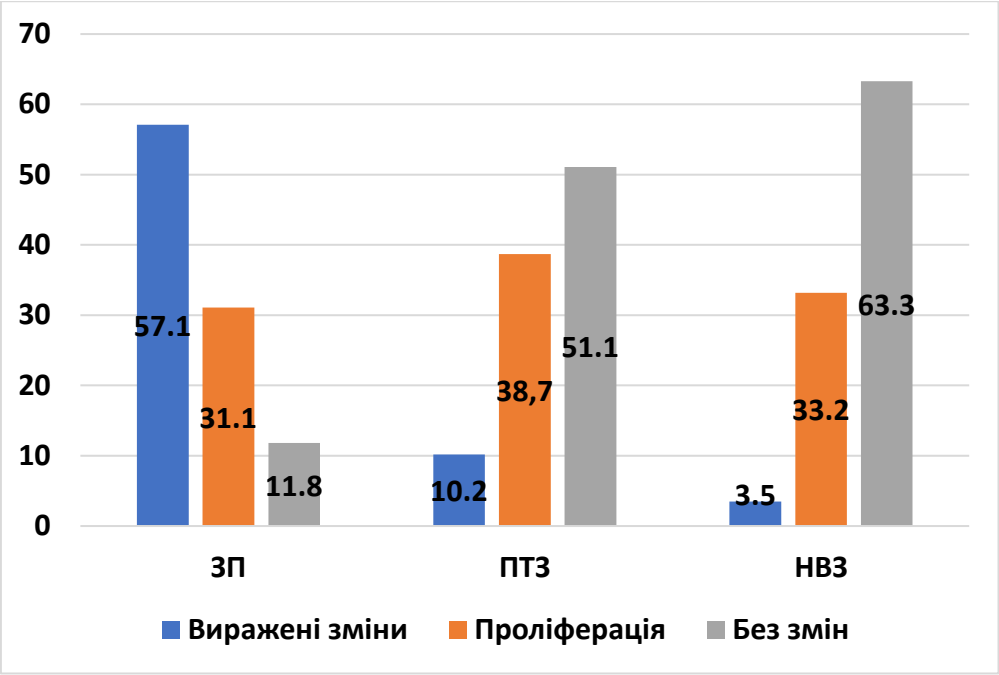


Рис. 3.4. Кількість клітин АЕІІ у разі плоскоклітинного раку у % (n=6)

Кількість клітин АЕІІ у стані поліферації найбільша у ділянці ЗП у разі ЗР, а найменша у разі СР. В ділянці ПТЗ найбільше значення АЕІІ з проліферацією у випадках ПР, а найменше у ЗР. Оцінюючи кількість АЕІІ з проліферацією в НВЗ слід зауважити, що таких клітин найбільше у разі АСР, а найменше – у випадках ЗР.

Таким чином, у всіх досліджуваних ділянках паренхіми легені відмічається значний рівень проліферативної активності клітин АЕІІ, що може опосередковано вказувати на їх можливу залученість до процесу малігнізації органу.

### 3.2. Розповсюдження пухлинних клітин недрібноклітинного раку легені і клітин альвеолярного епітелію ІІ типу по паренхімі

Метою дослідження було визначити розповсюдження ПК НДРЛ і клітин АЕІІ з ознаками проліферації і атипії по паренхімі органу. Було проведено квантитативний аналіз ПК та АЕІІ з ознаками проліферації і атипії у 66

пацієнтів (серед яких 30 – з ЗР, 6 – з АСР, 30 – з ПР) з РЛ залежно відстані від пухлинного вузла та гістологічного типу РЛ.

З даних таблиці (табл. 3.1) випливає, що в ділянці ПТЗ незалежно від гістологічного типу НДРЛ кількість ПК більша за аналогічний показник більше ніж в 7 разів. Кількість АЕІІ з атипією в ділянках ПТЗ і НВЗ незначно відрізняється.

*Таблиця 3.1*

**Квантитативна оцінка ПК та АЕІІ з ознаками проліферації і атипії у разі НДРЛ у ПТЗ та НВЗ (n=66)**

| Тип клітин | ПТЗ (M ±m) | НВЗ (M ±m) |
|---|---|---|
| Пухлинні клітини | 23±3,0 | 3±1,1 |
| АЕІІ з атипією | 8±1,6 | 6±1,8 |
| АЕІІ з проліферацією | 52±2,9 | 48±3,0 |
| АЕІІ без змін | 16±2,5 | 41±1,9 |

Значення клітин АЕІІ в стані проліферації в ПТЗ незначно превалює над аналогічним показником в НВЗ (рис. 3.5, рис. 3.6).

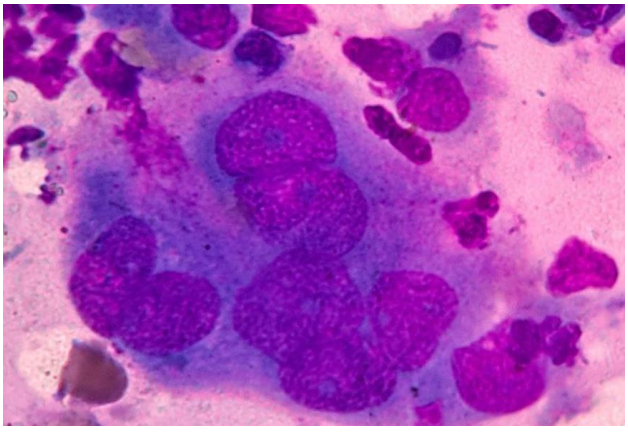

Рис. 3.5. Група клітин аденосквамозного раку легені в найбільш віддаленій ділянці від периферичного краю видаленої пухлини. Збільшені гіперхромні ядра. Візуалізуються ядерця. Уривки цитоплазми та лейкоцитів складають фон препарату. Забарвлення за Папенгеймом. Збільшення Х1000.

Значення АЕІІ з атипією (рис. 3.7.) у випадках ЗР в обох ділянках незначно відрізняються. Кількість ПК в ПТЗ (рис. 3.8) превалює над аналогічним показником у НВЗ (рис. 3.10) у разі ЗР у 8 разів (табл. 3.2). Показник АЕІІ з проліферацією (рис. 3.11.) в ПТЗ менший за кількість АЕІІ в НВЗ, що може вказувати на імовірну залученість клітин ЗР у розповсюдження пухлинного процесу.

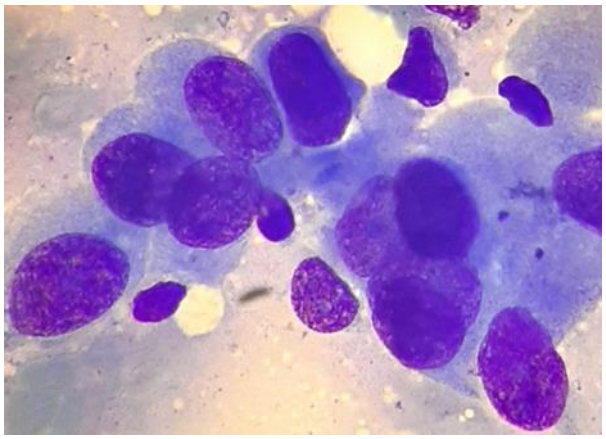

Рис. 3.6. Група клітин аденосквамозного раку легені в найбільш віддаленій ділянці від периферичного краю видаленої пухлини. Збільшені гіперхромні ядра, нерівномірна структура хроматину. Візуалізуються ядерця. Забарвлення за Папенгеймом. Збільшення Х1000.

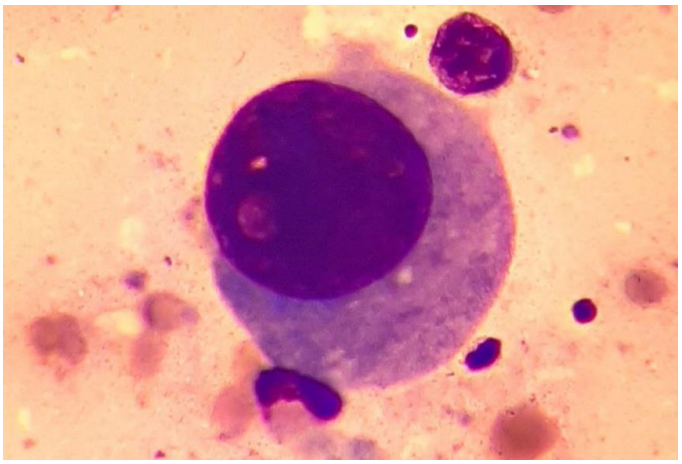

Рис. 3.7. Клітина альвеолярного епітелію ІІ типу з вираженою атипією в найбільш віддаленій ділянці від периферичного краю видаленої пухлини у разі аденосквамозного раку легені. Значно збільшене ядро. Візуалізується ядерце.

Забарвлення за Папенгеймом. Збільшення Х1200.

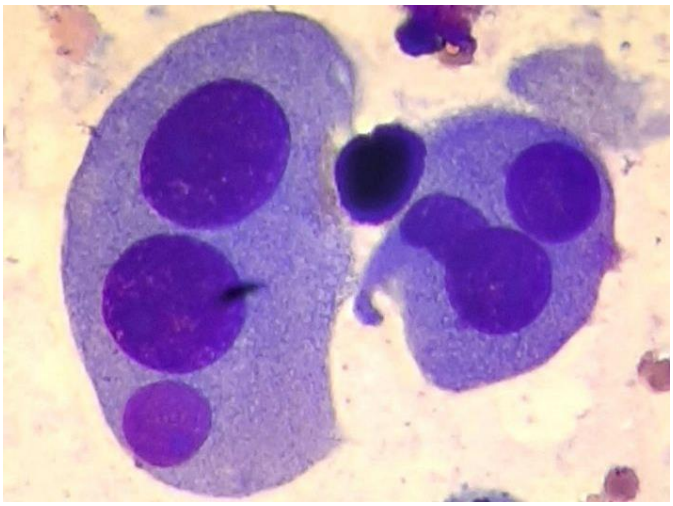

Рис. 3.8. Клітини альвеолярного епітелію II типу з вираженими явищами атипії в найбільш віддаленій ділянці від периферичного краю видаленої пухлини у разі аденосквамозного раку легені. Збільшена кількість ядер. Гіперхромні ядра. Візуалізуються ядерця. Забарвлення за Папенгеймом. Збільшення Х1000.

*Таблиця 3.2*

**Квантитативна оцінка ПК та АЕІІ з ознаками проліферації і атипії у разі ЗР у ПТЗ та НВЗ (n=30)**

| Тип клітин | ПТЗ (M ±m) | НВЗ (M ±m) |
|---|---|---|
| Пухлинні клітини | 38±5,0 | 4±1,9 |
| АЕІІ з атипією | 10±2,6 | 8±1,7 |
| АЕІІ з проліферацією | 39±4,2 | 50±4,8 |
| АЕІІ без змін | 13±3,9 | 38±2,8 |

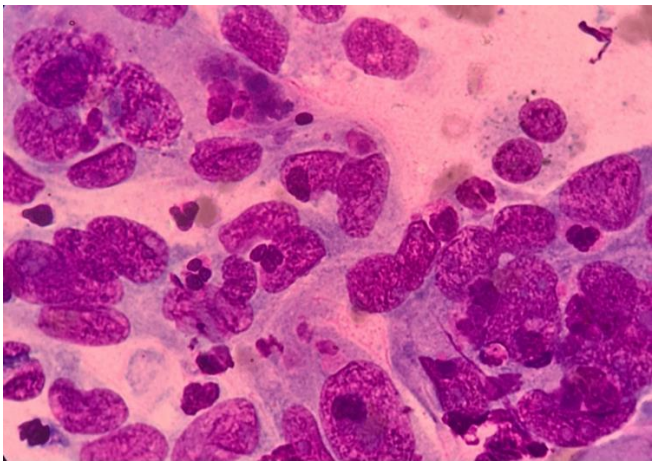

Рис.3.9. Пухлинні клітини в ділянці периферичного краю пухлини у разі залозистого раку. Поліморфізм та гіперхромність ядер. Нерівномірна структура хроматину. Наявні клітинні компоненти запалення. Забарвлення за Папенгеймом. Збільшення Х1000.

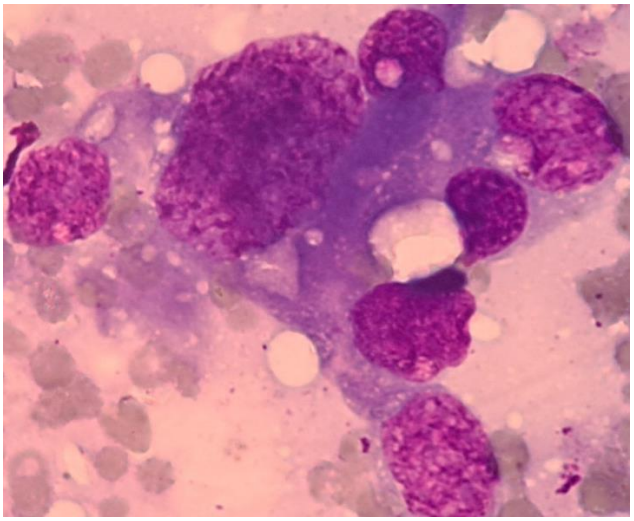

Рис. 3.10. Клітини залозистого раку легені в найбільш віддаленій ділянці від новоутворення. Збільшене ядерно-цитоплазматичне співвідношення в сторону ядра. Нерівномірні контури та різні розміри ядер. Порушення структури цитоплазми клітини. Забарвлення за Папенгеймом. Збільшення Х1000.

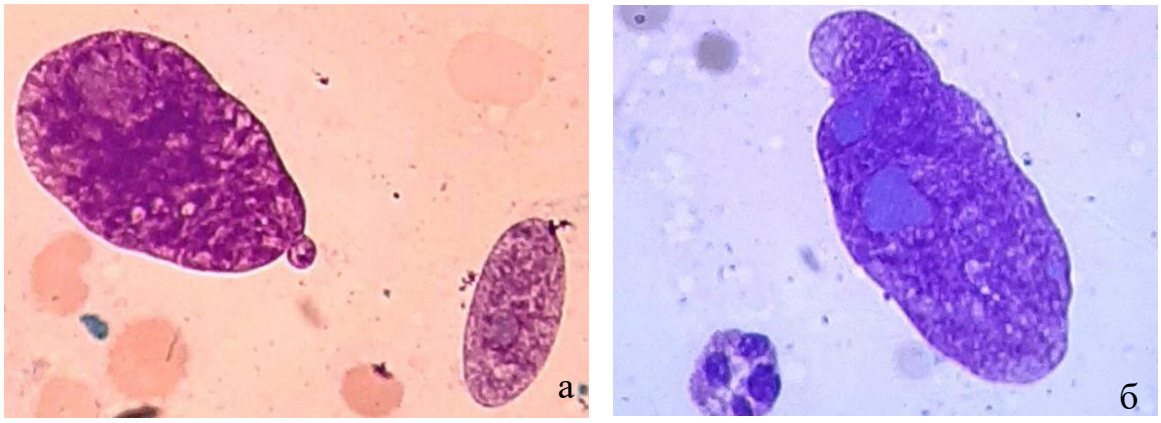


Рис. 3.11 (а, б). «Голі» ядра клітин з лізованою цитоплазмою. Виражені ознаки атипії в найбільш віддаленій ділянці від новоутворення у випадку залозистого раку легені:

а) втрата цитоплазми, брильчаста (нерівномірна) структура хроматину;

б) візуалізуються великі ядерця. Забарвлення за Папенгеймом.

Збільшення Х1000.

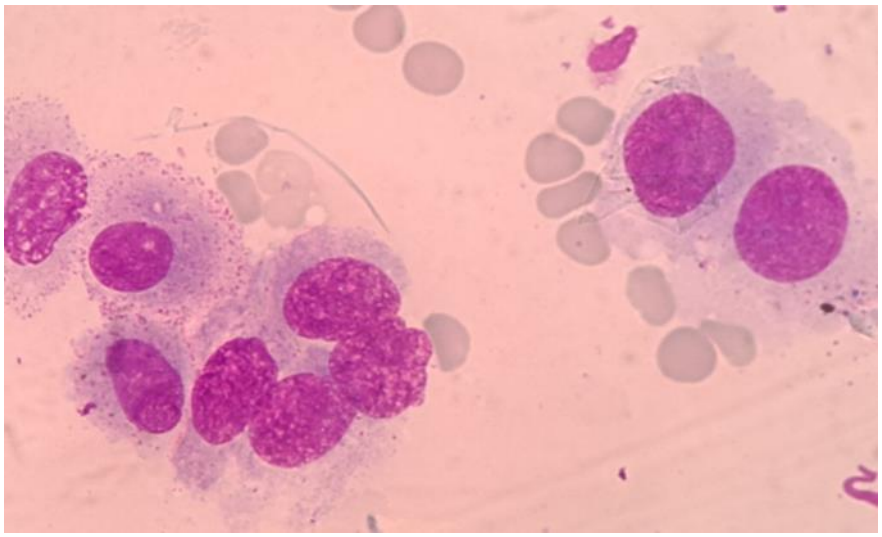

Рис. 3.12. Клітини альвеолярного епітелію II типу з проліферацією в найбільш віддаленій ділянці від новоутворення у випадку залозистого раку легені. Збільшення розмірів ядер вказує на проліферативну активність клітин. Забарвлення за Папенгеймом. Збільшення Х1000.

Значення АЕІІ з атипією у разі ПР в ПТЗ перевищує аналогічний показник в НВЗ майже у 2 рази (табл. 3.3). Кількість АЕІІ з проліферацією в ПТЗ (рис. 3.17) перевищує аналогічне значення в НВЗ в 1,3 рази. За даними, наведеними в таблиці кількість ПК в ПТЗ та у НВЗ у разі ПР відрізняється у 12 разів. Такі дані можуть пояснити значно меншу розповсюдженість ПР по макроскопічно незміненій паренхімі.

*Таблиця 3.3*

**Квантитативна оцінка ПК та АЕІІ з ознаками проліферації і атипії у випадках ПР у ПТЗ та НВЗ (n=30)**

| Тип клітин | ПТЗ (M ±m) | НВЗ (M ±m) |
|---|---|---|
| Пухлинні клітини | 11±2,4 | 1±0,7 |
| АЕІІ з атипією | 5±0,8 | 2±1,5 |
| АЕІІ з проліферацією | 71±4,6 | 52±5,0 |
| АЕІІ без змін | 13±4,7 | 45±2,4 |

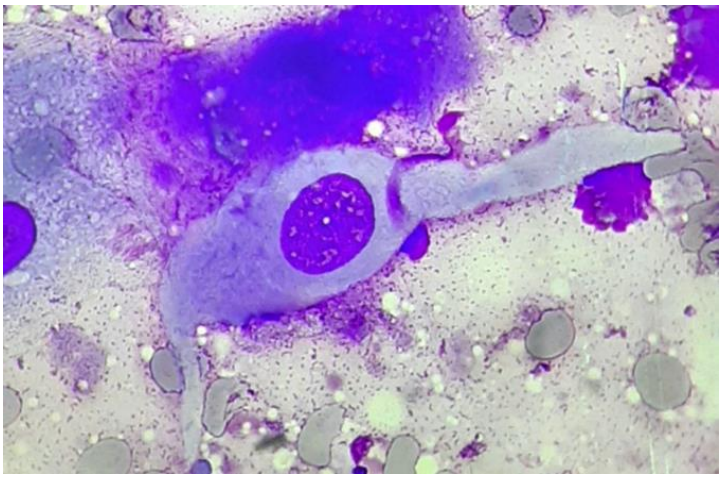

Рис. 3.13. Клітина плоскоклітинного раку легені в ділянці периферичного краю видаленої пухлини у разі плоскоклітинного раку легені. Полігональна цитоплазма з ознаками ороговіння. Гіперхромне ядро. Забарвлення за Папенгеймом. Збільшення Х1000.

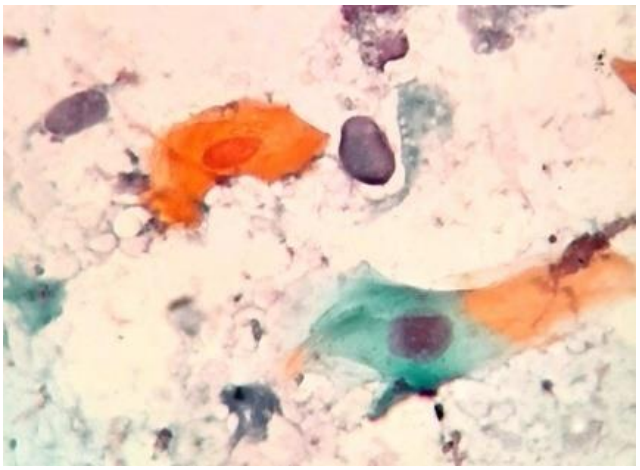

Рис. 3.14. Пухлинні клітини плоскоклітинного раку легені в ділянці периферичного краю новоутворення. Ознаки кератинізації цитоплазми. Забарвлення за Папаніколау. Збільшення Х1000

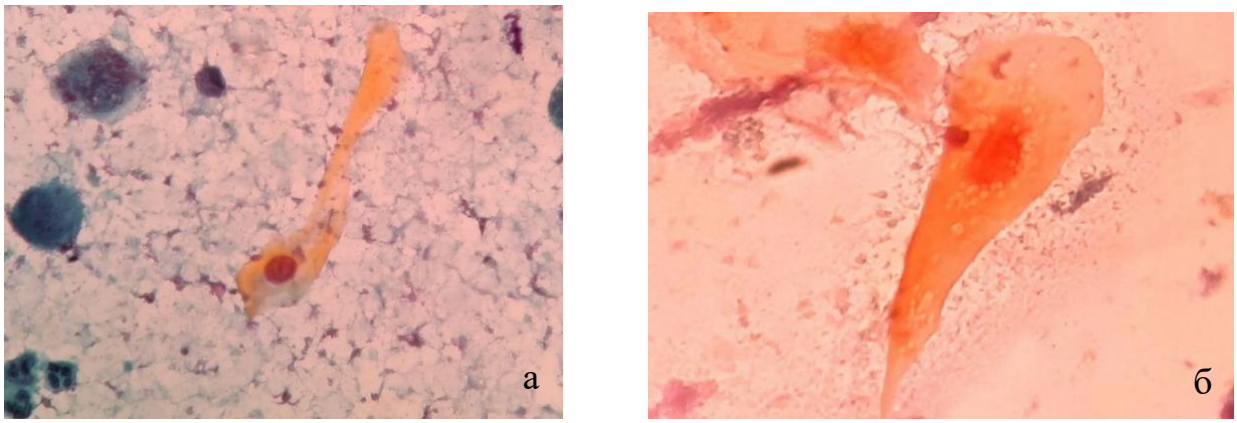


Рис. 3.15 (а, б). Клітини плоскоклітинного раку легені в ділянці периферичного краю видаленої пухлини у випадку плоскоклітинного раку легені: а - видовжена цитоплазма; б – клиноподібна цитоплазма, ознаки ороговіння (кератинізації). Забарвлення за Папаніколау. Збільшення Х1000.

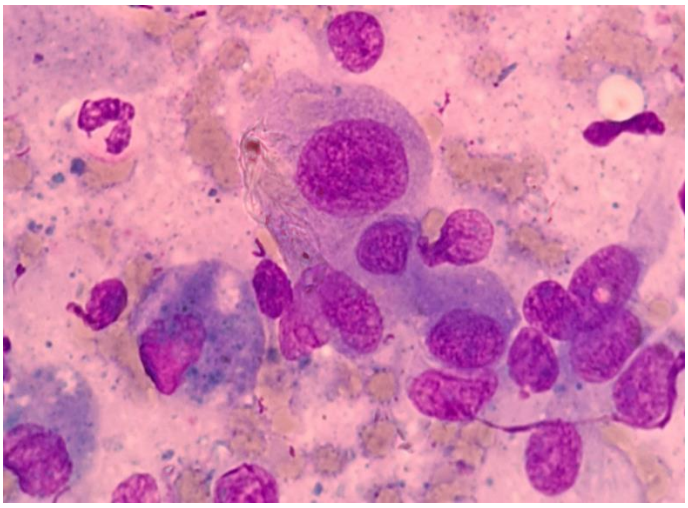

Рис. 3.16. Клітини АЕІІ з ознаками вираженої атипії в перитуморальній ділянці у разі плоскоклітинного раку. Нерівномірні контури та різні розміри ядер. Тонка цитоплазма клітин. Забарвлення за Папенгеймом. Збільшення Х1000.

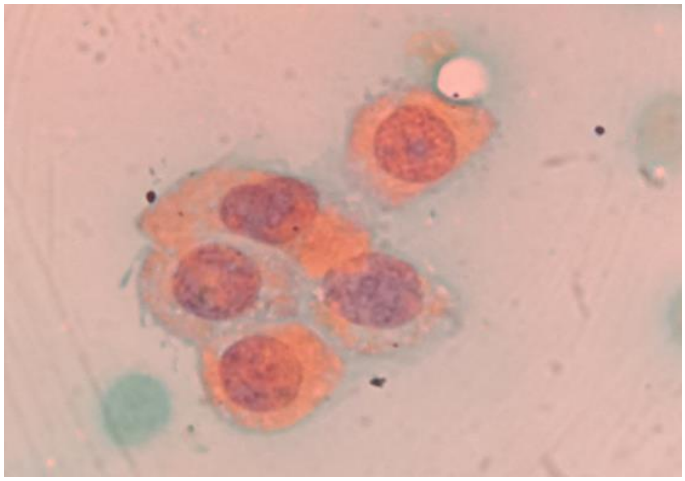

Рис. 3.17. Клітини АЕІІ з явищами вираженої проліферації у перитуморальній зоні у разі плоскоклітинного раку. Збільшені розміри ядер. Забарвлення за Папаніколау. Х1000.

Отримані результати свідчать про те, що в ПТЗ і в НВЗ у разі НДРЛ відмічались ПК та клітини АЕІІ з ознаками проліферації і атипії, що не виключає початок їх малігнізації.

### 3.3. Особливості росту раку легені у разі центральної локалізації за результатами макроскопічних та цитологічних досліджень

Для уточнення можливості початку росту пухлини вивчали характер ураження слизової оболонки бронха у разі центрального РЛ за даними ФБС в порівнянні з результатами цитологічної діагностики. Досліджено та співставлено результати ФБС та цитологічних висновків за матеріалами 75 хворих з клінічним діагнозом РЛ. Залежно від характеру макроскопічних змін та їх розповсюджнення а також результатів цитологічних досліджень, пацієнти були розподілені на 5 груп.

Перша група склала 18 хворих із мінімальними змінами в бронхах та деформацією стінки бронха, інфільтрацією слизової оболонки. Другу групу склали 4 пацієнти, у яких відзначалося розповсюдження змін слизової оболонки на 2-3 бронхи. Третю групу склали 24 хворі, у яких відзначалося звуження бронха ззовні до 50% його просвіту та інфільтрація слизової оболонки. Четверту групу склали 24 хворих із найбільш вираженими змінами у слизовій оболонці бронха у вигляді інфільтрації у 2-3 бронхах, а також звуження бронху ззовні від 60% до точкового його просвіту. П'яту групу склали 5 пацієнтів, у яких визначалася лише екзофітна пухлина у бронху, без змін слизової оболонки (табл. 3.4).

За наявності в бронху лише екзофітної пухлини, лише в 1 з 5 спостережень у мазку з поверхні бронха визначалися ПК. В решті 80% випадків виявилося, що пухлина покрита клітинами БЕ.

Із 75 спостережень у 38 (51%) пацієнтів у цитологічних препаратах визначалися ПК. У той же час, у мазках 37 (49%) пацієнтів із зміненою слизовою оболонкою бронха виявлялися лише клітини БЕ, що демонструвало відсутність проростання стінки бронха пухлиною. Було встановлено, що з 75 пацієнтів у 48 (64%) хворих у разі ФБС відзначалось здавлення досліджуваного бронха від 50% до точкового просвіту, що свідчить про перибронхіальний ріст пухлини.

*Таблиця 3.4*

**Результати цитологічних досліджень за ексфоліативним матеріалом фібробронхоскопії**

| 1 Група | | 2 Група | | 3 Група | | 4 Група | | 5 Група | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Кількість | | | | | | | | | |
| Хворі | Пухлинні клітини | Хворі | Пухлинні клітини | Хворі | Пухлинні клітини | Хворі | Пухлинні клітини | Хворі | Пухлинні клітини |
| 18 | 2 (11%) | 4 | 3 (75%) | 24 | 16 (67%) | 24 | 16 (67%) | 5 | 1 (20%) |

В іншій роботі також проводили порівняння результатів цитологічного дослідження матеріалу, отриманого при ФБС і шкребків з оперованих пухлин бронхів для з'ясування природи росту РЛ. Було досліджено цитологічні препарати 31 хворого на РЛ. Результати цитологічного дослідження матеріалів, отриманих шляхом ФБС, порівнювали результатами шкребків з операційних матеріалів поверхонь оперованих пухлин. У 19 хворих було верифіковано ПР, у 10 — ЗР, у 2 — ДР.

У передопераційному періоді проведено цитологічне дослідження матеріалу, отриманого методом ФБС від 31 хворого (табл. 3.5). Взято змиви з бронхів, мазки з екзофітних пухлин. Екзофітні новоутворення виявлені у 25 пацієнтів: лише екзофітний ріст – у 17, ендоперибронхіальний – у 8. За даними ФБС у 9 (29%) хворих виявлено ПК в цитологічних препаратах. У матеріалі 22 (71%) хворих ПК не виявлено, визначався ЦЕ бронха з ознаками проліферації.

Під час цитологічного дослідження у 17 пацієнтів з екзофітними пухлинами ПК було виявлено лише у 4 (23,5%) пацієнтів. За ендоперибронхіального типу росту (8 хворих) у 3 (37,5%) хворих виявлено ПК

в цитологічних мазках. Перибронхіальний ріст пухлини виявлений у 6 хворих, у 2 (33%) випадках ПК виявлені в цитологічних препаратах змивів.

*Таблиця 3.5*

**Результати цитологічного дослідження ФБС та шкребків з оперованих екзофітних пухлин**

| № | Ріст пухлини по відношенню до стінки бронха | Кількість пацієнтів | | Наявність пухлинних клітин | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Матеріал ФБС | | Хірургічний матеріал (шкребки з екзофітних пухлин) | |
| | | Abs. | % | Abs. | % | Abs. | % |
| 1 | Екзофітний | 17 | 55 | 4 | 23.5 | 5 | 29 |
| 2 | Ендо-перибронхіальний | 8 | 26 | 3 | 37.5 | 4 | 50 |
| 3 | Перибронхіальний | 6 | 19 | 2 | 33.3 | 3 | 50 |
| | Загальна: | 31 | 100 | 9 | | 12 | |

Було виявлено ПК в цитологічних препаратах, отриманих методом ФБС, лише у 7 із 25 (28%) хворих на ендобронхіальну пухлину, а у 18 (72%) пацієнтів ПК не виявлялись. Ці результати свідчать про низький рівень виявлення клітин РЛ за допомогою використання цитологічного методу незважаючи на наявність екзофітної пухлини в бронхах.

У зв’язку з цим порівняли результати цитологічного дослідження матеріалу ФБС та шкребків з поверхні оперованих екзофітних пухлин бронхів. Під час дослідження матеріалів з наявністю екзофітного пухлинного росту в бронхах (17 випадків), в шкребках з оперованих пухлин ПК виявлені лише у 5 (29%) пацієнтів, а у решти 12 (71%) пацієнтів, виявлено лише клітини ЦЕ. Клітини БЕ мали ознаки проліферації та дистрофії (Табл. 6).

У шкребках з поверхні екзофіту у 4 (50%) із 8 пацієнтів з ендоперибронхіальним пухлинним ростом виявлені клітини РЛ, а в решти 4 (50%) випадків виявлені лише клітини БЕ.

У 6 пацієнтів з відсутністю екзофітного росту пухлини (лише перибронхіальний компонент) ПК виявлено у 3 (50%) пацієнтів; в цитологічних препаратах решти 3 (50%) хворих виявлено лише клітини ЦЕ. Результати показують, що дещо змінена слизова оболонка бронха без очевидної екзофітної пухлини містить ПК, які можуть походити від пухлини, котра ще не визначається макроскопічно.

За наявності явних екзофітних компонентів пухлини в оперованих шкребках пухлин у 25 хворих у 16 (64%) випадках поверхня пухлини була вкрита незміненими клітинами ЦЕ, що підтверджено цитологічними дослідженнями.

Результати дослідження дозволяють зробити висновок, що пухлина з інвазією слизової оболонки бронхів була лише у 12 (39%) із 31 пацієнта. Про це свідчать виявлені ПК в цитологічних препаратах шкребків з оперованих пухлин. У решті 19 (61%) випадків в шкребках з оперованих екзофітних пухлин виявлено лише клітини БЕ з деякими ознаками проліферації та дистрофії.

Отримані дані дають змогу припустити, що центральний РЛ може розвиватися з базальних клітин. Показано, що з 25 екзофітних пухлин бронхів ракові клітини в матеріалі ФБС виявлені лише в 7 (28%) випадках, а в шкребках з оперованих пухлин – у 9 (36%). У решти випадків у шкребках виявлено лише незначно змінені клітини ЦЕ, що показувало проростання пухлини під клітинами ЦЕ. У цитологічних препаратах у 9 (36%) із 25 випадків екзофітного росту пухлини виявлені ПК, у 16 (64%) – лише клітини ЦЕ.

Таким чином, центральний ріст РЛ, незалежно від його гістологічного типу, у 25 (81%) із 31 хворого проявляється екзофітним розростанням бронха, в той час як у цитологічних препаратах, отриманих методом ФБС, лише у 7

(28%) пацієнтів вдалося верифікувати РЛ. У препаратах 18 (72%) хворих виявлено лише клітини ЦЕ, частково з ознаками проліферації.

### 3.4 Характер росту раку легені у разі периферичної локалізації за результатами макроскопічних та цитологічних досліджень

Метою дослідження було визначити характер росту периферичного РЛ по відношенню до стінки бронха. Проведені макроскопічні дослідження операційного матеріалу 21 хворого з периферичним РЛ. Макроскопічно вивчалось співвідношення розвиненої пухлини зі стінкою найближчих до неї бронхів. Отримані дані були співставлені з результатами ексфоліативних цитологічних досліджень, які проводились на етапі доопераційного обстеження. Залежно від характеру змін слизової оболонки найближчого до пухлини бронха, виявленому на операційному матеріалі, всі хворі поділені на 3 групи.

До першої групи ввійшло 12 (57 %) хворих, у яких слизова оболонка бронха була не змінена. Лише у 2 (17 %) із них у цитологічних препаратах до операції було знайдено ПК. У другій групі було 2 (10 %) пацієнтів, у яких слизова оболонка найближчого до пухлини бронха мала мінімальні зміни без екзофітного росту пухлини. У цитологічних препаратах ПК не виявлено. У третій групі було 7 (33 %) хворих, у яких на слизовій оболонці найближчого до пухлини бронха спостерігався невеликий екзофітний пухлиноподібний ріст із незміненою поверхнею слизової оболонки (табл. 3.6).

У цитологічних препаратах 10 хворих, що склали 83% всіх пацієнтів першої групи знайдені лише незмінені клітини ЦЕ, ПК не визначались. ЦЕ мав характерні риси: циліндричну форму, видовжену базофільну з оксифільним компонентом слабо забарвлену цитоплазму і овальні, нормохромні ядра з рівномірною дрібнозернистою структурою хроматину. У решти 2 (17%) хворих цієї групи в цитологічних препаратах ПК були знайдені. ПК були поліморфними та мали збільшені розміріи. Мали базофільну, слабко заравлену

цитоплазму. Ядра ПК були неправильної округлої і овальної форми, з нерівномірною структурою хроматину. В кожному ядрі візуалізувались великі голубі ядерця. ПК були розміщені в групах і порізно.

*Таблиця 3.6*

**Результати макроскопічних і ексфоліативних цитологічних досліджень за наявності периферичного раку легені**

| Макроскопічні зміни слизової оболонки бронхів за операційним матеріалом | Наявність пухлинних клітин в цитологічних препаратах | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Присутні | | Відсутні | |
| | Абс | % | Абс | % |
| Не змінена слизова оболонка бронха 12 (57%) | 2 | 17 | 10 | 83 |
| Змінена слизова оболонка без екзофітного росту 2 (10%) | 0 | 0 | 2 | 10 |
| Наявний екзофітний ріст 7 (33%) | 2 | 29 | 5 | 71 |
| Всього: 21 (100%) | 4 | 19 | 17 | 81 |

Другу групу досліджень склали 2 (10%) хворих без екзофітного росту пухлини. В цитологічних препаратах пацієнтів досліджуваної групи відмічались тільки клітини незміненого ЦЕ бронхів. ПК в ексфоліативному матеріалі не знайдені. До третьої групи ввійшло 7 (33%) хворих. В цитологічних препаратах лише у 2 (29%) пацієнтів на доопераційному етапі обстеження знайдені клітини ЗР. У решти 5 (71%) хворих в цитологічних препаратах відмічались лише незмінені клітини ЦЕ.

Співставлення результатів операційного макроскопічного і цитологічного досліджень на доопераційному етапі обстеження пацієнтів дозволило констатувати, що лише у 4 (19%) хворих знайдені ПК. В той час, як у 17 (81%) хворих ПК в цитологічних препаратах не знайдені, що свідчить про відсутність ураження РЛ епітеліальної оболонки бронха. На відміну від цього,

коли визначається пухлина в паренхімі легені поруч з бронхом, у якого зовсім не змінена слизова оболонка, є підґрунтя вважати, що периферичний РЛ бере початок з альвеолярного епітелію.

Установлено, що у випадку наявності екзофітного пухлиноподібного утворення в бронху, покритого незміненою слизовою оболонкою, ПК в цитологічних препаратах виявлені лише у 2 (29%) хворих, ймовірніше всього, вони потрапили з м'якої паренхіматозної пухлини, що не може підтвердити гістогенез пухлини з БЕ. Результати дослідження свідчать про те, що епітелій слизової оболонки бронхів у більшості випадків не змінений, що виключає початок розвитку з нього периферичного РЛ.

**Результати розділу викладені в публікаціях:**

1. Bolgova, L., & Ponomarenko, A. (2020). Особливості росту периферичного раку легені за результатами макроскопічних і цитологічних досліджень. *Наукові записки НаУКМА. Біологія і екологія*, *3*, 43–47. https://doi.org/10.18523/2617-4529.2020.3.43-47

2. Bolgova, L., Tuganova, T., & Ponomarenko, A. (2021). Цитологічні дослідження екзофітних пухлин бронхів і ріст раку легені. *Наукові записки НаУКМА. Біологія і екологія*, *4*, 26–31. https://doi.org/10.18523/2617-4529.2021.4.26-31

3. Bolhova, L. S., Tuganova, T. M., Alekseenko, O. I., Ponomarenko, A. O., Zaharichev, V. D. (2023). Histogenesis of lung cancer - stages of investigation. *Medical Informatics and Engineering*, (3), 30–41. https://doi.org/10.11603/mie.1996-1960.2022.3.13371

4. Bolgova, L., Shypko, A., Tuganova, T., Alekseenko, O., Smolanka, I., Ponomarenko, A., & Bilko, N. (2023). New Data on Histogenesis and Histological Structure of Lung Cancer. *Experimental oncology*, *45*(1), 62–69. https://doi.org/10.15407/exp-oncology.2023.01.062

# РОЗДІЛ 4. ІМУНОЦИТОХІМІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ АЕІІ ТА КЛІТИН НЕДРІБНОКЛІТИННОГО РАКУ ЛЕГЕНІ

## 4.1. Імуноцитохімічна ідентифікація та квантитативна оцінка пухлинних клітин недрібноклітинного раку легені на різній відстані від новоутворення

Метою дослідження було визначити наявність ПК у незміненій паренхімі легені на різній відстані від видаленої пухлини на операційному матеріалі. Вивчено операційний матеріал 14 хворих II і III клінічних стадій з різними гістологічними типами НДРЛ. ПР виявлено у 4 пацієнтів, ЗР — у 5 і АСР у 5 хворих. ІЦХ ПК проводили з моноклоналами СК-7, Napsin-A.

На цитологічних препаратах, виготовлених зі зіскребків паренхіми легені біля ЗП ракової пухлини у 5 хворих на ЗР, вивчали наявність і проводили кількісну оцінку ПК, середнє значення яких склало (59±9,8).

У препаратах на відстані 2 см від краю пухлини з перитуморальної зони (ПТЗ) у пацієнтів виявили ПК, що становило в середньому (23±9,8). Водночас у цитологічних препаратах, виготовлених з НВЗ середнє значення ПК становило (28±15,7). Проведені дослідження дозволили виявити ПК в усіх зазначених місцях макроскопічно незміненої паренхіми легені і на різній відстані від прооперованої пухлини, що свідчить про широку розповсюдженість пухлинного процесу. Позитивна ІЦХ реакція з мкАТ Cytokeratin-7, Napsin-A дозволила додатково ідентифікувати ПК ЗР (рис. 4.1).

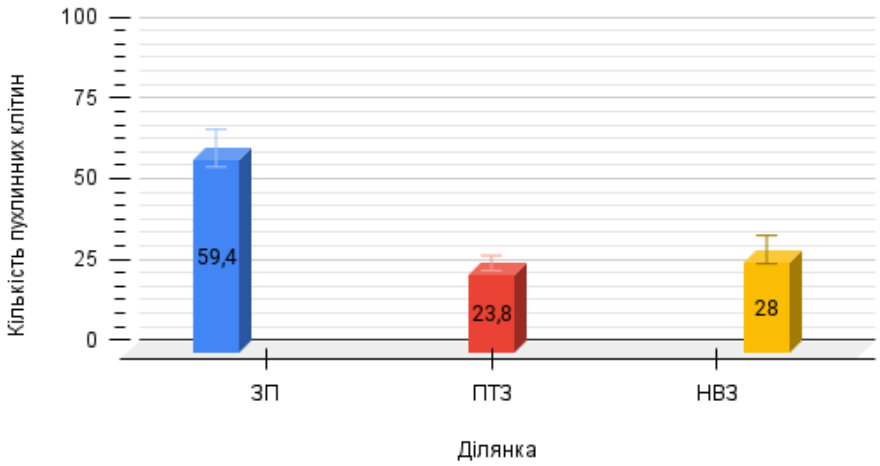


Рис. 4.1. Кількість пухлинних клітин на різній відстані від периферичного краю видаленої пухлини у разі залозистого раку (n=5)

Зменшення значення ПК ЗР у ПТЗ відбувається за рахунок інтенсивної проліферації клітин у досліджуваній ділянці.

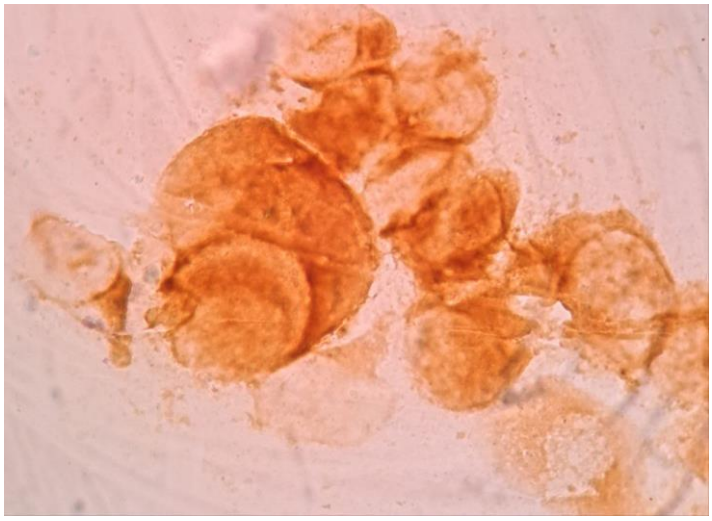

Рис. 4.2. Пухлинні клітини залозистого раку в ділянці периферичного краю видаленої пухлини. Позитивна імуноцитохімічна реакція з Cytokeratin-7. Збільшення Х1000.

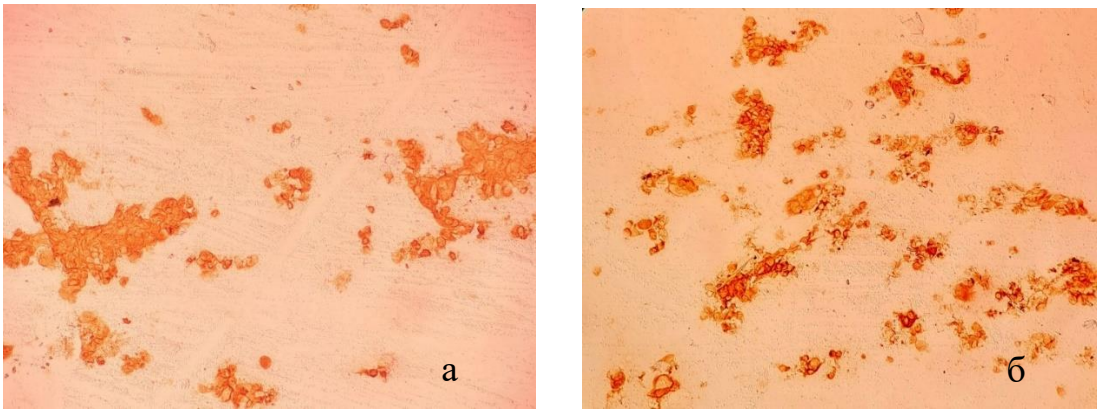


Рис. 4.3 (а, б). Загальний вигляд препаратів з пухлинними клітинами залозистого раку в ділянці периферичного краю видаленої пухлини: а) позитивна (+/-) імуноцитохімічна реакція з Cytokeratin-7; б) позитивна (+) імуноцитохімічна реакція з Cytokeratin-7. Збільшення Х100.

Серед усіх установлених гістологічних типів РЛ у 5 (36%) хворих визначений комбінований тип — АСР, що дозволило провести аналогічні дослідження в цій групі пацієнтів. У препаратах з незміненої паренхіми з НВЗ визначалися ПК і в середньому становили (25±10,0) (рис. 4.4).

У цитологічних препаратах, отриманих з ЗП в 5 хворих (рис. 4.5), кількість ПК в середньому становила (65±7,1). У цитологічних препаратах, отриманих з ПТЗ, виявлено в середньому кількість ПК (рис. 4.6) що склала (51±16,3).

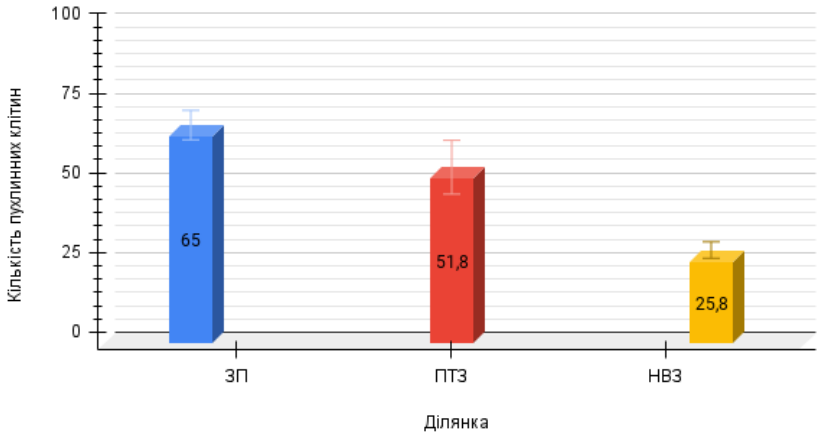


Рис. 4.4. Кількість пухлинних клітин на різній відстані від периферичного краю видаленої пухлини у разі аденосквамозного раку (n=5)

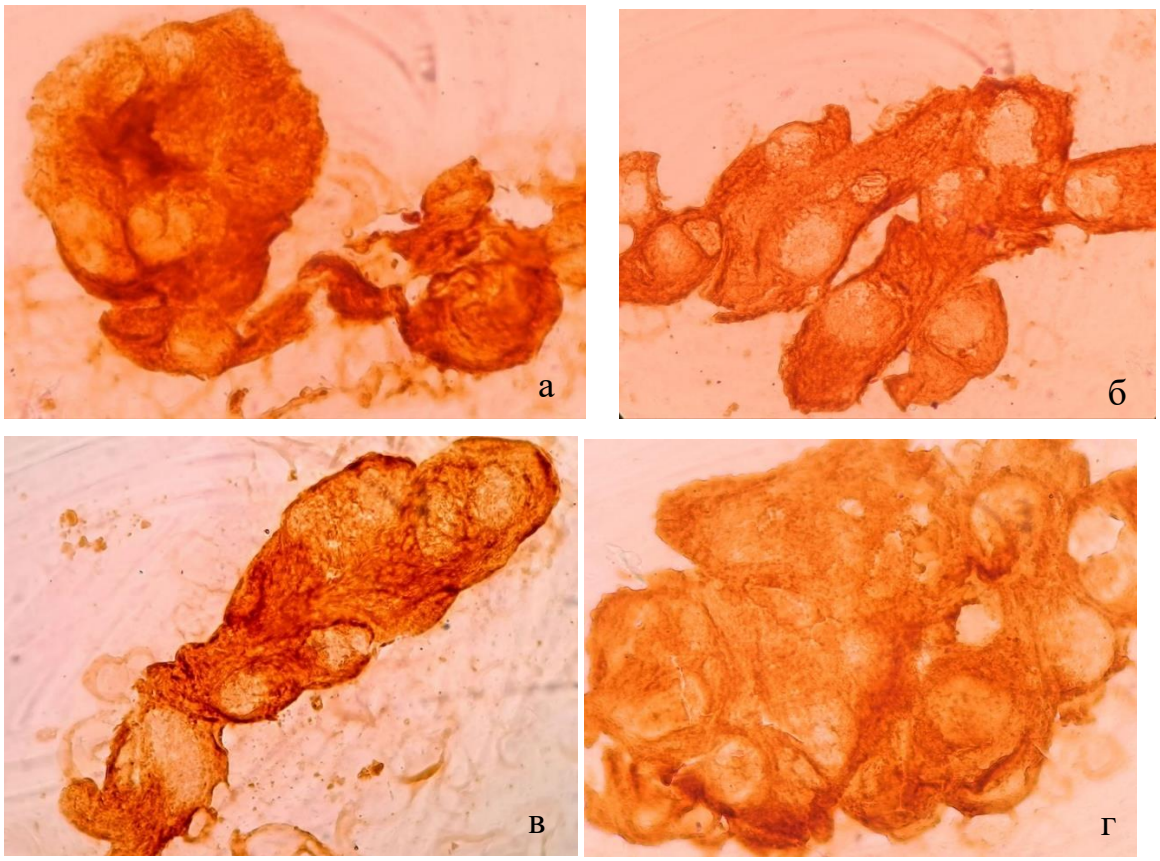


Рис. 4.5 (а-г). Пухлинні клітини у разі аденосквамозного раку в ділянці периферичного краю видаленої пухлини. Позитивна імуноцитохімічна реакція з Cytokeratin-7. Збільшення Х1000.

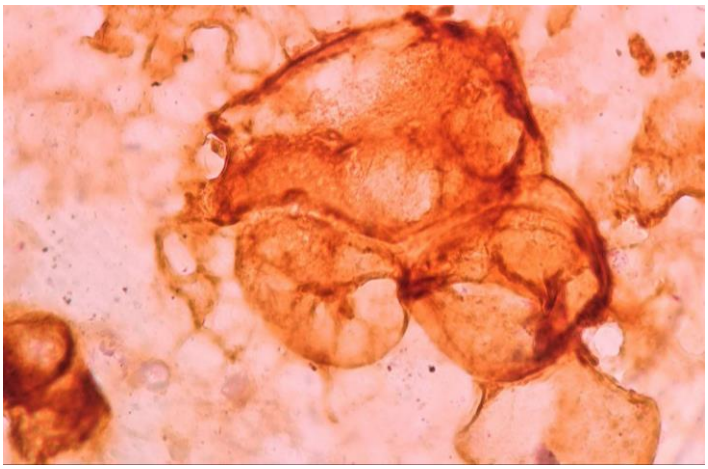

Рис. 4.6. Пухлинні клітини у разі аденосквамозного раку в перитуморальній ділянці від периферичного краю видаленої пухлини. Позитивна імуноцитохімічна реакція з Cytokeratin-7. Збільшення Х1000.

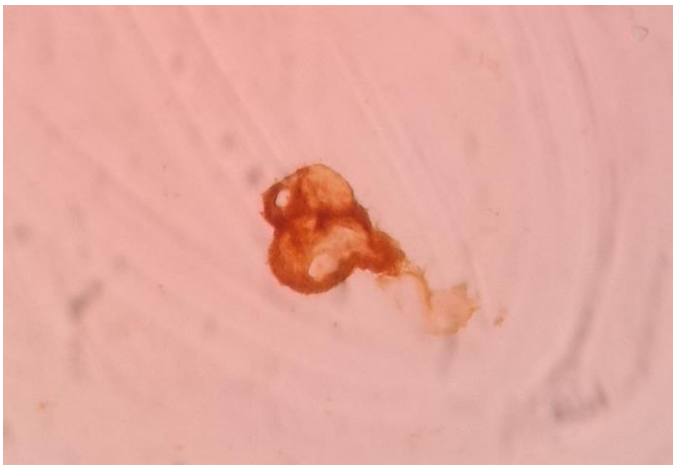

Рис. 4.7. Клітини альвеолярного епітелію II типу з явищами проліферації і деякої атипії у разі аденосквамозного раку в найбільш віддаленій ділянці від периферичного краю видаленої пухлини. Позитивна імуноцитохімічна реакція з Cytokeratin-7. Збільшення X1000.

У разі ПР в пацієнтів групи (n=4) були виявлені ПК, що становило в середньому (74±8,4). Аналіз цитологічних препаратів, отриманих з ділянки на відстані 2 см від краю пухлини з ПТЗ, дозволив виявити в середньому кількість ПК (21±11,4). Вивчення препаратів з НВЗ дозволило визначити ПК в меншій кількості — що в середньому становило (9±2,8) (рис.4.8).

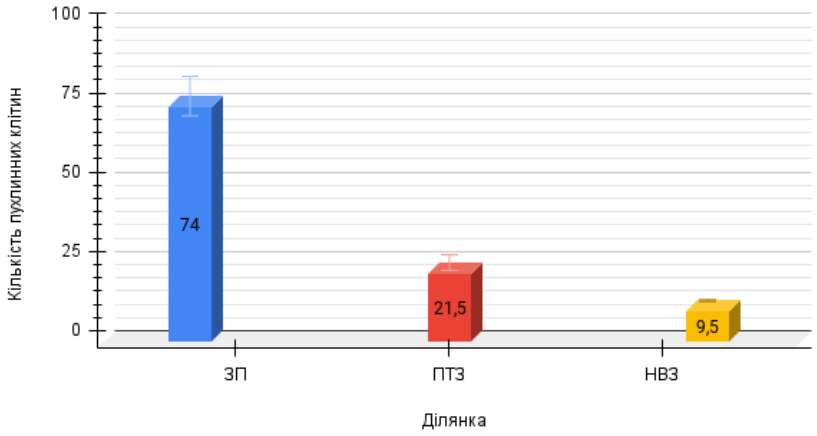


Рис. 4.8. Кількість пухлинних клітин на різній відстані від периферичного краю видаленої пухлини у разі плоскоклітинного раку (n=4)

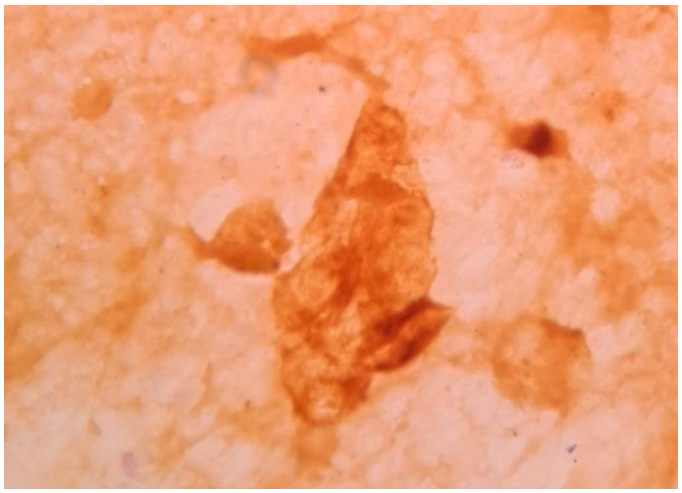

Рис. 4.9. Клітини альвеолярного епітелію II типу з явищами вираженої атипії у разі плоскоклітинного раку в найбільш віддаленій ділянці від периферичного краю видаленої пухлини. Позитивна імуноцитохімічна реакція з Cytokeratin-7. Збільшення Х1000.

Таким чином, у паренхімі ПТЗ у разі АСР у цитологічних препаратах було виявлено у 2,5 рази більше ПК, ніж у двох інших гістологічних типах. Проте в НВЗ у разі ПР ПК було майже в 3 рази менше, ніж у випадках двох інших гістологічних типів, що опосередковано може свідчити про більш сприятливий перебіг захворювання у хворих на ПР.

Виконане співставлення результатів дослідження розповсюдження ПК у незміненій паренхімі залежно від різної відстані від периферичного краю видаленої пухлини НДРЛ. Вивчено групу комбінованого типу пухлини — АСР, яка становила 36% і може свідчити про єдине джерело розвитку ЗР і ПР.

Отримані результати показують значну розповсюдженість ПК макроскопічно незміненою паренхімою на значній відстані від видаленої пухлини, що обґрунтовує несприятливий перебіг захворювання та ставить нові завдання щодо вивчення гістогенезу, діагностики і профілактики РЛ.

### 4.2. Визначення рівня експресії імуноцитохімічних маркерів у пухлинних клітинах недрібноклітинного раку легені та клітинах альвеолярного епітелію II типу

Перед проведенням ІЦХ дослідження наявність ПК визначалась морфологічно, на цитологічних препаратах, забарвлених за методом Папенгейма. Після забарвлення препаратів на скельцях ПК та клітини АЕІІ були промарковані.

У досліджуваної групи 19 пацієнтів з НДРЛ, котрі лікувались і обстежувалисть у 2019-2023 рр. Була проведена оцінка наявності ПК на різній відстані від пухлинного вузла. У всіх 19 хворих незалежно від гістологічного типу НДРЛ в ЗП були наявні ПК. В ділянці ПТЗ у 10 (53%) хворих були наявні ПК. В НВЗ у 9 (47%) пацієнтів виявлялись ПК.

На цитологічних препаратах операційних матеріалів пацієнтів з НДРЛ було проведено ІЦХ реакцію з метою підтвердження ПК до певного гістологічного типу новоутворення. Було здійснено визначення наявності ПК в різних ділянках паренхіми у кожного пацієнта співставлено з візуальною оцінкою інтенсивності експресії ІЦХ маркерів в ПК на цитологічних препаратах з різних ділянок паренхіми легені.

За гістологічними типами у групі 7 (36%) пацієнтів з ЗР в ЗП спостерігали наявність ПК у всіх хворих. У ПТЗ ПК були виявлені у 4 (21%) пацієнтів. У НВЗ ПК також були виявлені у 4 (21%) хворих.

Серед хворих із ЗР у 5 (26%) пацієнтів було проведено реакцію ІЦХ з наступними мкАТ: Cytokeratin-7, Napsin-A, Ki-67, p53, TTF-1. У матеріалах досліджуваного гістологічного типу НДРЛ в одного пацієнта (5%) вдалось визначити рівень експресії маркера Cytokeratin-7 в ПК в ЗП (рис.4.10) на рівні «+» (75%) та в НВЗ, що становило «-/+» (25%). В іншого пацієнта (5%) вдалось визначити рівень експресії маркера Napsin-A в ПК в ЗП на рівні «-/+» (25%), та в НВЗ на рівні «–» (<25%), тобто, відсутність реакції.

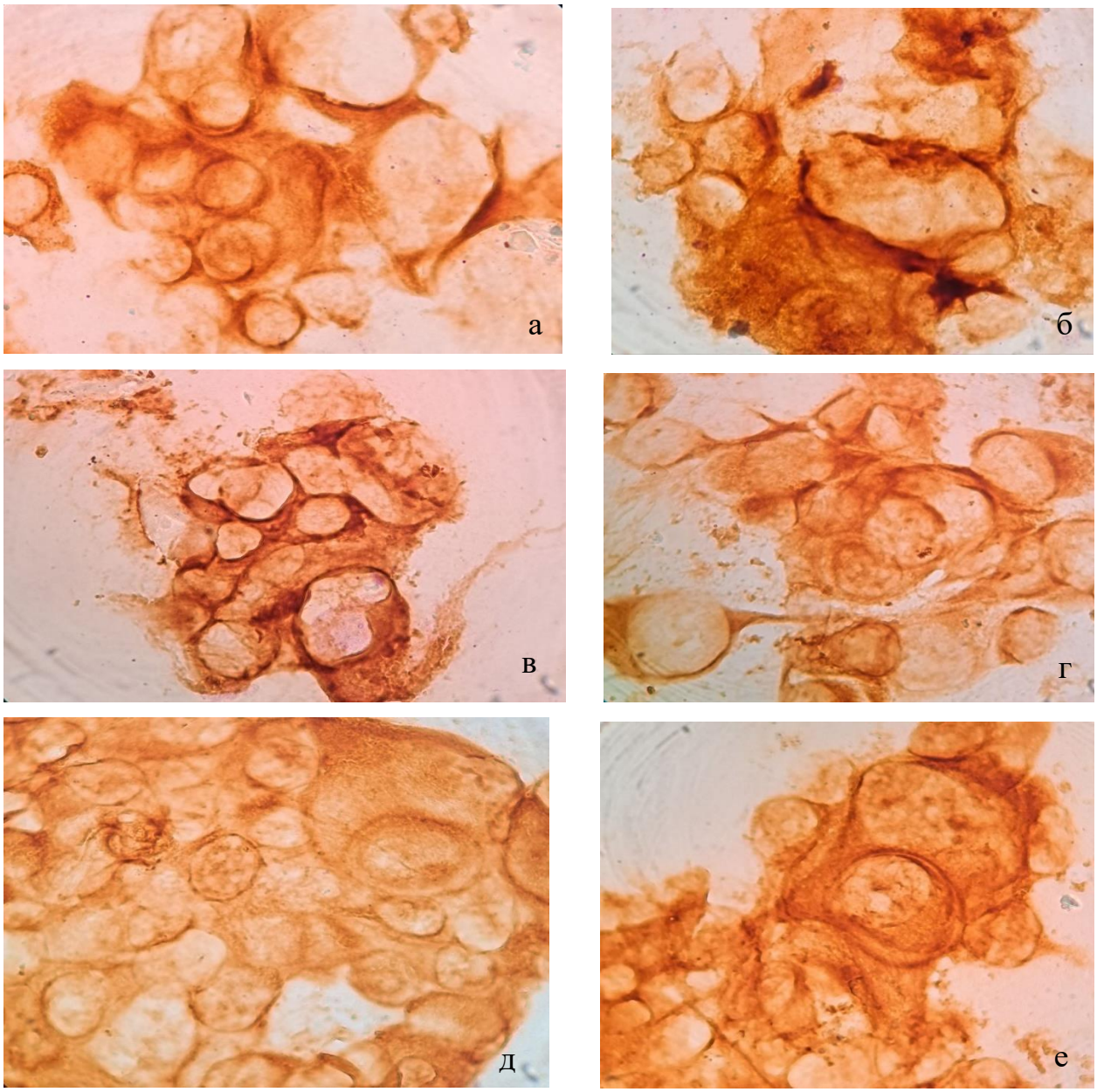


Рис. 4.10 (а-е). Пухлинні клітини у зоні периферичного краю новоутворення у разі залозистого раку легені. Позитивна «+» (100-75%) імуноцитохімічна реакція з Cytokeratin-7. Збільшення Х1000.

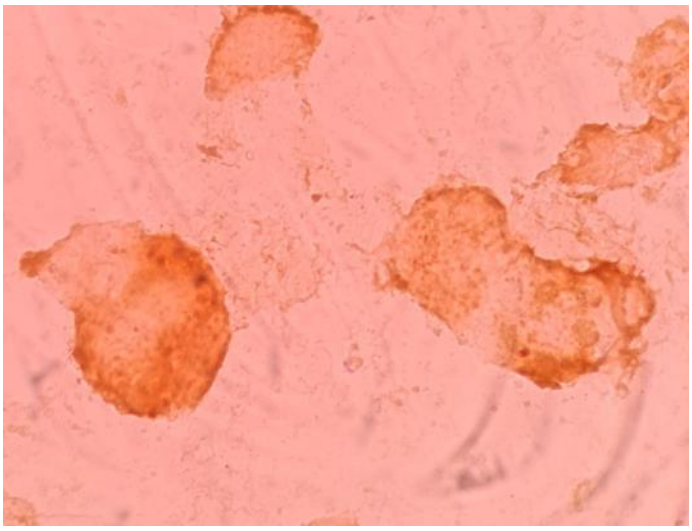

Рис. 4.11. Клітини альвеолярного епітелію II типу з явищами проліферації в перитуморальній ділянці у разі залозистого раку легені. Слабка позитивна «-/+» (25%) імуноцитохімічна реакція з Napsin-A. Збільшення Х1000.

У групі 6 (32%) пацієнтів АСР в ЗП ПК були наявні у всіх хворих. У ПТЗ у пацієнтів групи з АСР ПК виявлялись лише у 3 (15%) пацієнтів, а в НВЗ - ПК були знайдені у 2 (10%) пацієнтів. Серед пацієнтів з таким типом новоутворення на матеріалі 2 пацієнтів (10%) була проведена реакція ІЦХ з мкАТ: Cytokeratin-7, Napsin-A, TTF-1.

У обох пацієнтів в ділянках ЗП відмічалась наявність ПК та рівень експресії Cytokeratin-7 першому випадку на рівні «+» (75%), в другому – «+/-»(50%). В ПТЗ і в НВЗ в матеріалах досліджуваних пацієнтів були відсутні ПК, тому експресія інших маркерів, та, зокрема, Cytokeratin-7 не спостерігалась. В 3 (15%) інших пацієнтів з АСР в ПТЗ були наявні ПК, але ІЦХ не проводили, аналогічно 2 (10%) пацієнтам з наявністю ПК в НВЗ.

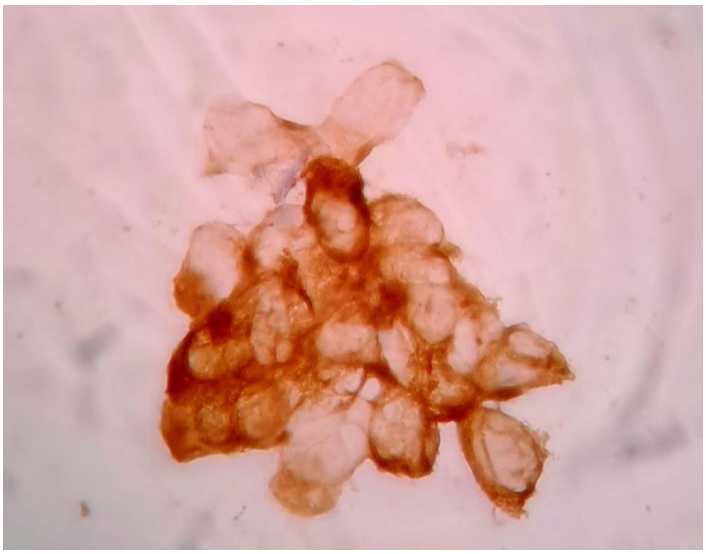

Рис. 4.12. Клітини альвеолярного епітелію II типу з вираженими змінами в перитуморальній ділянці у разі аденосквамозного раку легені. Позитивна «+/-» (50%) імуноцитохімічна реакція з Cytokeratin-7. Збільшення Х1000.

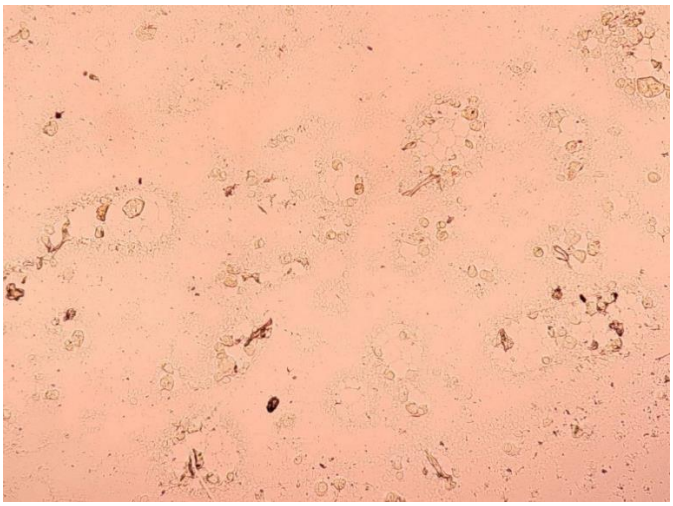

Рис. 4.13. Клітини альвеолярного епітелію II типу. Слабка позитивна імуноцитохімічна реакція «-/+» (>25%) з маркером TTF-1 у найбільш віддаленій зоні від новоутворення у разі плоскоклітинного раку. Збільшення Х100.

У 6 (32%) хворих на ПР в ЗП ПК виявлялись у всіх пацієнтів. У ПТЗ у хворих групи з ПР ПК виявлялись лише у 3 (15%), а в НВЗ – ПК також були знайдені у 3 (15%) пацієнтів. Серед хворих з таким типом новоутворення на

матеріалах 4 (21%) пацієнтів була проведена реакція ІЦХ з наступними мкАТ: Napsin-A, Cytokeratin-7, p53, TTF-1.

У 1 (5%) пацієнта з осліджуваної групи з ПР на цитологічних препаратах отримано слабку позитивну ІЦХ реакцію в ділянці ЗП з мкАТ Cytokeratin-7, яка склала «-/+» (25%), в ПТЗ та НВЗ у досліджуваного хворого ПК були відсутні. У решти 3 (15%) досліджуваних хворих експресії маркерів Napsin-A, TTF-1, p53 не можна було оцінити як позитивну. У решти хворих з СР в ділянках ПТЗ та НВЗ були відсутні ПК, ІЦХ не проводилась.

Клітини АЕІІ також експресують на своїй поверхні маркери, якими забарвлюються і ПК, щоправда в меншій кількості, що підтверджено результатами даного дослідження (Рис. 4.14).

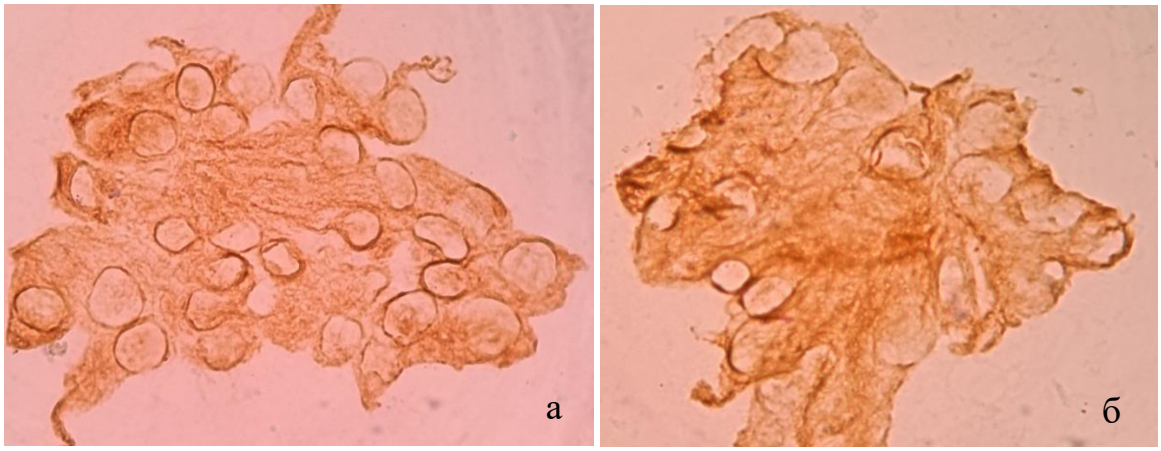


Рис. 4.14 (а, б). Клітини альвеолярного епітелію ІІ типу з ознаками атипії в ділянці периферичного краю новоутворення у разі сквамозного раку. Позитивна «-/+» (50-25%) імуноцитохімічна реакція з маркером TTF-1. Збільшення Х1000.

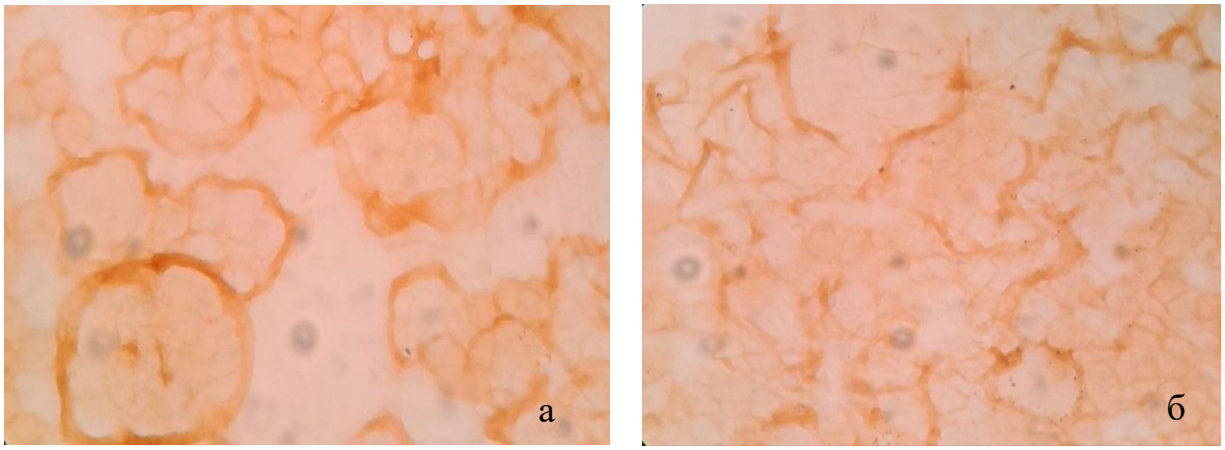


Рис. 4.15 (а, б). Фонове ІЦХ забарвлення епітеліальних клітин в перитуморальній та найбільш віддаленій ділянках від новоутворення у разі сквамозного раку. Маркер Napsin-A. Збільшення Х1000

Підсумовуючи вищезазначене, у 1 хворого з ЗР ПК в НВЗ мали значну експресію маркера Cytokeratin-7, що може підтвердити явище розповсюдження ПК по легеневій паренхімі.

Маркер Cytokeratin-7 в ПК експресувався з 3 досліджуваних пацієнтів у разі ЗР у 1 хворого в ЗП та в НВЗ. У разі АСР в ЗП цей маркер мав високий рівень експресії у 2 досліджуваних хворих. У випадках ПР експресувався у 1 з 2 пацієнтів у ЗП (табл. 4.1).

Napsin-A експресувався слабко в 1 з 4 пацієнтів в ЗП, в решти – реакція негативна. У випадках АСР даний маркер у 2 пацієнтів в ЗП мав негативний рівень експресії. У разі ПР Napsin-A не мав експресії у жодного з 3 досліджуваних пацієнтів. Маркер проліферації Ki-67 не мав експресії у 1 досліджуваного хворого з АСР.

Маркер TTF-1 у разі ЗР був негативний у 1 пацієнтів в ЗП та в ПТЗ. У випадку АСР також був негативний у 1 пацієнта в ЗП та у разі ПР не виявив порогового позитивного значення у 2 пацієнтів у всіх досліджуваних ділянках. У випадку ЗР у 1 пацієнта в ЗП та ПТЗ маркер p53 не експресувався. У разі ПР на матеріалі 1 пацієнта експресія p53 була відсутня у всіх трьох досліджуваних ділянках. У випадках наявності АСР у двох пацієнтів рівень експресії маркера p53 в ПК не визначався.

*Таблиця 4.1*

**Експресія антигенів на пухлинних клітинах недрібноклітинного раку легені в ділянці периферичного краю новоутворення**

| Гістологічний тип | | Маркер | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Cytokeratin-7 | Napsin-A | TTF-1 | Ki-67 | P53 |
| ЗП | Залозистий рак (n=7) | 1/3 | 1/3 | 0/1 | 0/1 | 0/1 |
| | Плоскоклітинний рак (n=6) | 0/2 | 0/3 | 0/1 | – | 0/1 |
| | Аденосквамозний рак (n=6) | 2/2 | 0/2 | 0/1 | – | – |
| ПТЗ | Залозистий рак (n=7) | 0/1 | 0/2 | 0/1 | – | 0/1 |
| | Плоскоклітинний рак (n=6) | 0/1 | 0/2 | 0/1 | – | 0/1 |
| | Аденосквамозний рак (n=6) | 2/2 | 0/2 | 0/1 | – | – |
| НВЗ | Залозистий рак (n=7) | 1/2 | 0/3 | – | 0/1 | – |
| | Плоскоклітинний рак (n=6) | 0/1 | 0/1 | 0/2 | – | 0/1 |
| | Аденосквамозний рак (n=6) | 2/2 | 0/2 | 0/1 | – | – |

Примітка. У чисельнику – позитивна реакція, у знаменнику – загальна кількість хворих, матеріал яких був досліджений.

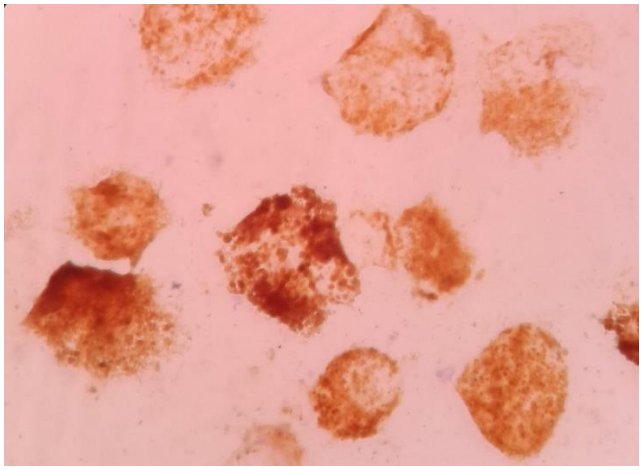

Рис. 4.16. Альвеолярні макрофаги в перитуморальній зоні у разі аденосквамозного раку. Позитивна імуноцитохімічна реакція з маркером Napsin-A. Збільшення Х1000.

Одержані результати можна пояснити не лише відсутністю експресії антигенів в ПК на цитологічних препаратах з різних досліджуваних ділянок, а й наявністю чи відсутністю шуканих клітин в паренхімі легені на різній відстані від пухлинного вузла а також чутливістю та специфічністю мкАТ.

Отже, результати проведених досліджень дозволяють ідентифікувати ПК на різній відстані від пухлинного вузла завдяки використанню комбінації маркерів, які володіють достатньою чутливістю та специфічних до шуканого типу клітин і до певного гістологічного типу пухлини (тканини).

**Результати розділу викладені в публікації:**

1. Bolgova, L.S., Ponomarenko, A.O., Hanul V.A. (2022). Визначення пухлинних клітин у незміненій паренхімі — достовірна ознака розповсюдження раку легені. *Клінічна онкологія.* 12, *3-4* (47-48), 1-4. http://doi.org/10.32471/clinicaloncology.2663-466X.47-3.29178

# РОЗДІЛ 5. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Підсумовуючи дані літератури щодо результатів досліджень гістогенезу РЛ та природи його зростання вчені поки що не прийшли до однозначної думки, яка б відповідала загальним біологічним закономірностям і клінічним проявам цього захворювання [36, 45, 116, 135, 144].

У відповідних публікаціях дослідники висловлюють свої точки зору на гістогенез РЛ в передбачливій формі [102, 111, 114, 145, 146]. Цей факт вказує на необхідність продовження наукових досліджень, які могли б уточнити гістогенез РЛ та сприяти вирішенню проблеми ранньої діагностики захворювання, розробки та валідації програм скринінгу, які є вирішальними у забезпеченні належної та ефективної допомоги хворим. Початок можливої малігнізаціїі клітин легеневої паренхіми було продемонстровано дослідженнями ряду учених, де показано місце переходу БЕ в АЕ із наявністю ознак атипії клітин [58, 96]. Згаданий феномен є закономірністю, оскільки така локалізація містить найменш стійкий до патологічних впливів епітелій.

Також було проаналізовано характер росту раку легені за результатами макроскопічних та цитологічних досліджень у разі центрального та периферичного типів новоутворення. Результати дослідження показали, що що епітелій слизової оболонки бронхів у більшості випадків не змінений, що виключає початок розвитку з нього ПР. Зіставлення результатів макроскопії операційних матеріалів з цитологічними висновками показало, що у 1/5 хворих знайдено клітини ракової пухлини, тоді як у решти пацієнтів в цитологічних препаратах ПК не виявлялись. Таке явище можливе тоді, коли відсутнє ураження пухлиною епітеліальної оболонки бронха. Натомість, коли визначається масивна ракова пухлина в паренхімі легені поруч із бронхом, у якого не змінена слизова оболонка, є підґрунтя вважати, що ПР бере початок з клітин альвеолярного епітелію.

Подібне дослідження було проведено центрального росту РЛ. У переважної більшості хворих він проявлявся наявністю екзофітного росту в бронхах. В той же самий час, в цитологічних препаратах, отриманих методом фібробронхоскопії лише у 1/4 пацієнтів вдалося верифікувати РЛ, що обґрунтувало обмеження можливості перевірки діагнозу РЛ за матеріалами фібробронхоскопій та дало змогу пояснити розростання пухлини під інтактним циліндричним епітелієм бронха [18].

Для дослідження гістогенезу раку легені вчені використовують різноманітні методи дослідження [11, 38, 45, 49, 54, 59, 65, 94]. В дисертаційній роботі нами використано новий оригінальний підхід в отриманні цитологічного матеріалу з різних ділянок макроскопічно незміненої паренхіми методом шкребків з поверхні розрізів на різній відстані від периферичного краю видалених пухлин НДРЛ та проведено квантитативну оцінку клітин АЕІІ та ПК з використанням цитологічного методу, здійснено імуноцитохімічне дослідження наявності ПК на різній відстані від пухлинного вузла. Запропонований спосіб дослідження розповсюдження пухлини по макроскопічно незміненій паренхімі легені в джерелах літератури раніше нами не зустрічався.

Показано можливість розповсюдження ПК по незміненій макроскопічно паренхімі легені з використанням мкАТ. Зокрема, ЗР та АСР показали позитивну реакцію на маркер Cytokeratin-7, що дозволяє використовувати даний метод в комбінації з цитологічним для прогнозу перебігу захворювання на операційних матеріалах. Також вивчено групу змішаної нозологічної форми – аденосквамозного раку. Наявність такого варіанту свідчить про імовірно єдине джерело розвитку РЛ.

Проведене дослідження щодо визначення явищ проліферації і атипії клітин АЕІІ на різній відстані від пухлинного вузла вказує на значну імовірність залученості клітин АЕІІ у процес малігнізації. Подальше вивчення питання розповсюдження ПК по паренхімі та сприятиме вивченню гістогенезу РЛ.

# ВИСНОВКИ

1. Кількість пухлинних клітин в паренхімі легені поряд з периферичним краєм видаленої ракової пухлини у разі залозистого раку склала (59±9,8), у разі аденосквамозного раку аналогічний показник склав (65±7,1), у випадках плоскоклітинного кількість пухлинних клітин склала (74±8,4).
2. Числове значення наявності клітин альвеолярного епітелію II типу зі змінами в ділянці периферичного краю новоутворення незалежно від гістологічного типу склало (32±8,7). Кількість альвеолярного епітелію з ознаками проліферації і атипії в ділянці периферичного краю новоутворення у разі залозистого раку становила (34±10,4). Квантитативна оцінка пухлинних клітин у разі аденосквамозного раку в досліджуваній ділянці склала (31±8,3). Аналогічний показник кількості пухлинних клітин у разі плоскоклітинного раку становив (31±7,5).
3. Значення кількості пухлинних клітин в перитуморальній ділянці незалежно від гістолочного типу склала (23±3,0%). Кількість пухлинних клітин в паренхімі легені в перитуморальній зоні у разі залозистого раку склала (38±5,0), у випадках плоскоклітинного раку аналогічний показник склав (11±2,4).
4. Числове значення клітин альвеолярного епітелію II типу з ознаками проліферації та деякої атипії в перитуморальній зоні незалежно від гістологічного типу раку легені склало (60±2,2). Кількість клітин альвеолярного епітелію з ознаками проліферації і атипії у разі залозистого раку склала (50±3,4), а у разі плоскоклітинного раку становила (76±2,7).
5. Кількість пухлинних клітин в найбільш віддаленій зоні незалежно від гістологічного типу пухлини склала (3±1,1). У разі залозистого раку кількість пухлинних клітин в досліджуваній ділянці становила (5±1,9), а у разі плоскоклітинного (1±0,7).
6. Числове значення клітин альвеолярного епітелію II типу з ознаками проліферації та деякої атипії в найбільш віддаленій ділянці незалежно від

гістологічного типу раку легені склало (55±2,4). Аналогічний показник кількості альвеолярного епітелію зі змінами у разі залозистого раку становив (58±3,2), а у разі плоскоклітинного раку склав (54±3,2).

7. Маркер Cytokeratin-7 в пухлинних клітинах показав позитивну експресію у разі залозистого раку у 1 хворого в ділянці периферичного краю новоутворення та в найбільш віддаленій зоні від пухлинного вузла. У разі аденосквамозного раку в ділянці периферичного краю видаленої пухлини цей маркер мав високий рівень експресії у 2 досліджуваних хворих. У випадках плоскоклітинного раку маркер експресувався у 1 з 2 пацієнтів у ділянці периферичного краю новоутворення. Використання на пухлинних клітинах різних гістологічних типів недрібноклітинного раку легені маркерів TTF-1, Napsin-A, p53, Ki-67 не показали достатнього рівня експресії на цитологічних препаратах у досліджуваних пацієнтів.

8. Отримані дані свідчать про різний ступінь розповсюдженості пухлинних клітин на різну відстань від пухлинного вузла, особливо у випадках ЗР. Результати проведених цитологічних та імуноцитохімічних досліджень свідчать про високий проліферативний потенціал, наростання атипії і можливу малігнізацію альвеолярного епітелію II типу як поруч з пухлиною, так і різній на відстані від неї.

# СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ


1. Болгова, Л. С., Ярощук, Т. М. (2010). Гистогенез рака легкого. *Вопросы онкологии. 56* (4).469–476.

2. Болгова, Л., Туганова, Т. (2013). Рак легкого: Вопросы гистогенеза и цитологической диагностики. *KIM*. 166.

3. Верьовкіна, Н.О. (2018). Останні досягнення імунотерапії в лікуванні онкологічних пацієнтів: застосування імунотерапії при недрібноклітинному раку легені. *Онкологія*. 8. 4 (32). 228-231.

4. Ганул, В., Ганул, А., Семиволос, А., Захарычев, В., et al. (2009). Неоадъювантная полихимиотерапия больных с немелкоклеточным раком легкого IIB–III стадий. *Онкология*. *11* (3). 197-199.

5. Грицюте, Л.А. (1975). Експериментальные опухоли легких. М: *Медицина.* 166.

6. Демура, С. А., Коган, Э. А., & Горячкина, В. Л. (2018). Хронические заболевания, предрак и рак легкого, ассоциированные с патологией булавовидных клеток респираторных и терминальных бронхиол. *Архив патологии. 80*(5).

7. Есипова, И.К. (1975). Легкое в норме. Наука. 258.

8. Есипова, И.К. (1975). Легкое в патологии. Ч. I. Наука. 246.

9. Загорулько, А.К., Аскари, Т.А. (2002). Атлас ультраструктурной морфологии респираторного отдела легкого. Симферополь: *AZ-PRESS-SONAT*. 142.

10. Иванов, Г. (1949). Нормальная анатомия человека. Ч I. *Медгиз.* 650.

11. Коваленко, В. (1974). Гистоэнзимологические характеристики первичного рака легкого. *Arch Pathology. 36*(2). 8–13.

12. Коган, Е., Кичигина, О., Демура, С., Осипенко, В. (2012). Морфологические, іммуногистохимические и радиологические показатели легочной ткани при легочном саркоидозе. *Arch. Pathol. 74*(3), 37-43.

13. Коган, Е. (1989). Предрак и рак легкого. *Arch Pathol. 51*. 76–83.

14. Куница (1985). Цитоморфологическая диагностика рака легкого. К: *Наук. Думка*. 128.

15. Луцик, О.Д., Чайковський, Ю.В. (2018). Гістологія. Цитологія. Ембріологія. Вінниця: Нова книга, 592.

16. Максимович, Н. (1980) Патологическая анатомия острых респираторных заболеваний и их важность в детской летальности. *Arch Pathol. 7.* 20–4.

17. Непомнящих, Г., Левицкий, В., Долговых, А., Наумова, Л. (2002). Патоморфологические и иммуногистохимические исследования бронхиальных биопсий крупных бронхов при раке легкого. *Bull expert biol and med. 134*(8):227–32.

18. Непомнящих, Г.И. (2005). Биопсия бронха: морфогенез главных патологических процессов в легких. М: *РАМН*. 384.

19. Романова, Л. (1984). Регуляция восстановительных процессов. Москва*: Медицина*. 174 p.

20. Aros, C. J., Pantoja, C. J., & Gomperts, B. N. (2021). Wnt signaling in lung development, regeneration, and disease progression. *Communications biology, 4*(1), 601. https://doi.org/10.1038/s42003-021-02118-w

21. Barkauskas, C. E., Cronce, M. J., Rackley, C. R., Bowie, E. J., Keene, D. R., Stripp, B. R., Randell, S. H., Noble, P. W., & Hogan, B. L. (2013). Type 2 alveolar cells are stem cells in adult lung. *The Journal of clinical investigation, 123*(7), 3025–3036. https://doi.org/10.1172/JCI68782

22. Bayless, B. A., Giddings, T. H., Jr, Winey, M., & Pearson, C. G. (2012). Bld10/Cep135 stabilizes basal bodies to resist cilia-generated forces. *Molecular biology of the cell, 23*(24), 4820–4832. https://doi.org/10.1091/mbc.E12-08-0577

23. Beers, M. F., & Moodley, Y. (2017). When Is an Alveolar Type 2 Cell an Alveolar Type 2 Cell? A Conundrum for Lung Stem Cell Biology and Regenerative Medicine. *American journal of respiratory cell and molecular biology, 57*(1), 18–27. https://doi.org/10.1165/rcmb.2016-0426PS

24. Behrend, S. J., Giotopoulou, G. A., Spella, M., & Stathopoulos, G. T. (2021). A role for club cells in smoking-associated lung adenocarcinoma. *European respiratory review : an official journal of the European Respiratory Society*, *30*(162), 210122. https://doi.org/10.1183/16000617.0122-2021

25. Berns A. (2005). Stem cells for lung cancer?. *Cell*, *121*(6), 811–813. https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.06.004

26. Bertoncello, I. (2015). Stem Cells in the Lung. Development, Repair and Regeneration. *Springer*. 366. doi: 10.1007/978-3-319-21082-7

27. Bishop, J. A., Sharma, R., & Illei, P. B. (2010). Napsin A and thyroid transcription factor-1 expression in carcinomas of the lung, breast, pancreas, colon, kidney, thyroid, and malignant mesothelioma. *Human pathology*, *41*(1), 20–25. https://doi.org/10.1016/j.humpath.2009.06.014

28. Blaauwgeers, H., Russell, P. A., Jones, K. D., Radonic, T., & Thunnissen, E. (2018). Pulmonary loose tumor tissue fragments and spread through air spaces (STAS): Invasive pattern or artifact? A critical review. *Lung cancer* (Amsterdam, Netherlands), *123*, 107–111. https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2018.07.017

29. Bolgova, L. S., Tuganova, T. N., Alekseenko, O. I., & Ponomarenko, A. A. (2022). On the origin of lung cancer development. *Experimental oncology*, *44*(1), 17–22. https://doi.org/10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-44-no-1.17227

30. Bolgova, L. S., Tuganova, T. N., Alekseenko, O. I., Litvinets, O. M., Suprun, G. A., & Ponomarenko, A. A. (2020). Histogenesis of central lung cancer: cytological investigation. *Experimental oncology*, *42*(4), 310–313. https://doi.org/10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-42-no-4.15232

31. Bolgova, L., Shypko, A., Tuganova, T., Alekseenko, O., Smolanka, I., Ponomarenko, A., & Bilko, N. (2023). New Data on Histogenesis and Histological Structure of Lung Cancer. *Experimental oncology*, *45*(1), 62–69. https://doi.org/10.15407/exp-oncology.2023.01.062.

32. Bolgova, L., Tuganova, T., & Ponomarenko, A. (2021). Цитологічні дослідження екзофітних пухлин бронхів і ріст раку легені. *Наукові записки*

*НаУКМА. Біологія і екологія*, *4*, 26–31. https://doi.org/10.18523/2617-4529.2021.4.26-31.

33. Bolgova, L.S., Ponomarenko, A.O., Hanul V.A. (2022). Визначення пухлинних клітин у незміненій паренхімі — достовірна ознака розповсюдження раку легені. *Клінічна онкологія*. 12, *3-4* (47-48), 1-4. http://doi.org/10.32471/clinicaloncology.2663-466X.47-3.29178.

34. Brambilla, E., Lantuejoul, S. Spiro, S.G., Huber, R.M., Janes, S.M. (2009). Pathology and immunohistochemistry of lung cancer: Thoracic Malignancies. *European Respiratory Society Monograph. 44.* 15–35.

35. Bray, F., Ferlay, J., Laversanne, M., Brewster, D. H., Gombe Mbalawa, C., Kohler, B., Piñeros, M., Steliarova-Foucher, E., Swaminathan, R., Antoni, S., Soerjomataram, I., & Forman, D. (2015). Cancer Incidence in Five Continents: Inclusion criteria, highlights from Volume X and the global status of cancer registration. *International journal of cancer*, *137*(9), 2060–2071. https://doi.org/10.1002/ijc.29670

36. Butler, C., Birchall, M., & Giangreco, A. (2012). Interventional and intrinsic airway homeostasis and repair. *Physiology* (Bethesda, Md.), *27*(3), 140–147. https://doi.org/10.1152/physiol.00001.2012

37. Chen, Z., Fillmore, C. M., Hammerman, P. S., Kim, C. F., & Wong, K. K. (2014). Non-small-cell lung cancers: a heterogeneous set of diseases. *Nature reviews. Cancer*, *14*(8), 535–546. https://doi.org/10.1038/nrc3775

38. Chrabanska, M., Sroda, M., Kiczmer, P., & Drozdzowska, B. (2020). Lung Cancer Cytology: Can Any of the Cytological Methods Replace Histopathology?. *Journal of cytology*, *37*(3), 117–121. https://doi.org/10.4103/JOC.JOC_168_19

39. Chu, P. G., & Weiss, L. M. (2002). Keratin expression in human tissues and neoplasms. *Histopathology*, *40*(5), 403–439. https://doi.org/10.1046/j.1365-2559.2002.01387.x

40. Civitareale, D., Lonigro, R., Sinclair, A. J., & Di Lauro, R. (1989). A thyroid-specific nuclear protein essential for tissue-specific expression of the

thyroglobulin promoter. *The EMBO journal*, *8*(9), 2537–2542. https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1989.tb08391.x

41. Colby, T.V., Noguchi, M., & Henschke, C. (2004) et al. Tumours of the Lung. Adenocarcinoma. Pathology and Genetics: Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. *IARC Press*, 35.

42. de Sousa, V. M. L., & Carvalho, L. (2018). Heterogeneity in Lung Cancer. *Pathobiology : journal of immunopathology, molecular and cellular biology*, *85*(1-2), 96–107. https://doi.org/10.1159/000487440

43. Desai, T. J., Brownfield, D. G., & Krasnow, M. A. (2014). Alveolar progenitor and stem cells in lung development, renewal and cancer. *Nature*, *507*(7491), 190–194. https://doi.org/10.1038/nature12930

44. Dong, Z. Y., Zhong, W. Z., Zhang, X. C., Su, J., Xie, Z., Liu, S. Y., Tu, H. Y., Chen, H. J., Sun, Y. L., Zhou, Q., Yang, J. J., Yang, X. N., Lin, J. X., Yan, H. H., Zhai, H. R., Yan, L. X., Liao, R. Q., Wu, S. P., & Wu, Y. L. (2017). Potential Predictive Value of TP53 and KRAS Mutation Status for Response to PD-1 Blockade Immunotherapy in Lung Adenocarcinoma. Clinical cancer research : *an official journal of the American Association for Cancer Research*, *23*(12), 3012–3024. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-2554

45. Dorantes-Heredia, R., Ruiz-Morales, J. M., & Cano-García, F. (2016). Histopathological transformation to small-cell lung carcinoma in non-small cell lung carcinoma tumors. *Translational lung cancer research*, *5*(4), 401–412. https://doi.org/10.21037/tlcr.2016.07.10

46. Du, E. Z., Goldstraw, P., Zacharias, J., Tiffet, O., Craig, P. J., Nicholson, A. G., Weidner, N., & Yi, E. S. (2004). TTF-1 expression is specific for lung primary in typical and atypical carcinoids: TTF-1-positive carcinoids are predominantly in peripheral location. *Human pathology*, *35*(7), 825–831. https://doi.org/10.1016/j.humpath.2004.02.016

47. Eramo, A., Lotti, F., Sette, G., Pilozzi, E., Biffoni, M., Di Virgilio, A., Conticello, C., Ruco, L., Peschle, C., & De Maria, R. (2008). Identification and

expansion of the tumorigenic lung cancer stem cell population. *Cell death and differentiation, 15*(3), 504–514. https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4402283

48. Erokhin, V, Romanova, L. (2000). Lung cell biology in normal and pathology. Moscow: *Medicine*. 496.

49. Evans, K. V., & Lee, J. H. (2020). Alveolar wars: The rise of in vitro models to understand human lung alveolar maintenance, regeneration, and disease. *Stem cells translational medicine, 9*(8), 867–881. https://doi.org/10.1002/sctm.19-0433

50. Fedorenko, Z., Mykhailovych, Yu., Goulak, L. (2022). Cancer in Ukraine: 2020-2021: Morbidity, mortality, performance indicators of the oncology service. Bulletin of the National Chancery Register of Ukraine. *National Cancer Institute. 23*, 50.

51. Fehrenbach H. (2001). Alveolar epithelial type II cell: defender of the alveolus revisited. *Respiratory research, 2*(1), 33–46. https://doi.org/10.1186/rr36

52. Ferone, G., Lee, M. C., Sage, J., & Berns, A. (2020). Cells of origin of lung cancers: lessons from mouse studies. *Genes & development, 34*(15-16), 1017–1032. https://doi.org/10.1101/gad.338228.120

53. Frank, D. B., Penkala, I. J., Zepp, J. A., Sivakumar, A., Linares-Saldana, R., Zacharias, W. J., Stolz, K. G., Pankin, J., Lu, M., Wang, Q., Babu, A., Li, L., Zhou, S., Morley, M. P., Jain, R., & Morrisey, E. E. (2019). Early lineage specification defines alveolar epithelial ontogeny in the murine lung. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *116*(10), 4362–4371. https://doi.org/10.1073/pnas.1813952116

54. Gasparini S. (2010). Histology versus cytology in the diagnosis of lung cancer: is it a real advantage?. *Journal of bronchology & interventional pulmonology, 17*(2), 103–105. https://doi.org/10.1097/LBR.0b013e3181dab056

55. Gazdar, A., Franklin, W.A, Brambilla E., et al. (2004). Genetic and molecular alterations. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. *IARC Press*. 21.

56. Giangreco, A., Reynolds, S. D., & Stripp, B. R. (2002). Terminal bronchioles harbor a unique airway stem cell population that localizes to the bronchoalveolar duct junction. *The American journal of pathology*, *161*(1), 173–182. https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)64169-7

57. Giraud, P., Antoine, M., Larrouy, A., Milleron, B., Callard, P., De Rycke, Y., Carette, M. F., Rosenwald, J. C., Cosset, J. M., Housset, M., & Touboul, E. (2000). Evaluation of microscopic tumor extension in non-small-cell lung cancer for three-dimensional conformal radiotherapy planning. *International journal of radiation oncology, biology, physics*, *48*(4), 1015–1024. https://doi.org/10.1016/s0360-3016(00)00750-1

58. Gottschling, S., Schnabel, P. A., Herth, F. J., & Herpel, E. (2012). Are we missing the target? Cancer stem cells and drug resistance in non-small cell lung cancer. *Cancer genomics & proteomics*, *9*(5), 275–286.

59. Gregorc, V., Lazzari, C., Mandalá, M., Ippati, S., Bulotta, A., Cangi, M. G., Khater, A., Viganò, M. G., Mirabile, A., Pecciarini, L., Ogliari, F. R., Arrigoni, G., Grassini, G., Veronesi, G., & Doglioni, C. (2021). Intratumoral Cellular Heterogeneity: Implications for Drug Resistance in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancers*, *13*(9), 2023. https://doi.org/10.3390/cancers13092023

60. Grigoryeva, E. S., Kokova, D. A., Gratchev, A. N., Cherdyntsev, E. S., Buldakov, M. A., Kzhyshkowska, J. G., & Cherdyntseva, N. V. (2015). Smoking-related DNA adducts as potential diagnostic markers of lung cancer: new perspectives. *Experimental oncology*, *37*(1), 5–12.

61. Guida, F., Sun, N., Bantis, L. E., Muller, D. C., Li, P., Taguchi, A., Dhillon, D., Kundnani, D. L., Patel, N. J., Yan, Q., Byrnes, G., Moons, K. G. M., Tjønneland, A., Panico, S., Agnoli, C., Vineis, P., Palli, D., Bueno-de-Mesquita, B., Peeters, P. H., … Hanash, S. M. (2018). Integrative Analysis of Lung Cancer Etiology and Risk (INTEGRAL) Consortium for Early Detection of Lung Cancer, Assessment of Lung Cancer Risk on the Basis of a Biomarker Panel of Circulating

Proteins. *JAMA oncology, 4*(10), e182078. https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2018.2078

62. Hanna, J. M., & Onaitis, M. W. (2013). Cell of origin of lung cancer. *Journal of carcinogenesis, 12*, 6. https://doi.org/10.4103/1477-3163.109033

63. Heng, W. S., Gosens, R., & Kruyt, F. A. E. (2019). Lung cancer stem cells: origin, features, maintenance mechanisms and therapeutic targeting. *Biochemical pharmacology, 160*, 121–133. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2018.12.010

64. Hoffmann, K., Obermayer, B., Hönzke, K., Fatykhova, D., Demir, Z., Löwa, A., Alves, L. G. T., Wyler, E., Lopez-Rodriguez, E., Mieth, M., Baumgardt, M., Hoppe, J., Firsching, T. C., Tönnies, M., Bauer, T. T., Eggeling, S., Tran, H. L., Schneider, P., Neudecker, J., Rückert, J. C., … Kessler, M. (2022). Human alveolar progenitors generate dual lineage bronchioalveolar organoids. *Communications biology, 5*(1), 875. https://doi.org/10.1038/s42003-022-03828-5

65. Hofman, P., Berezowska, S., Kazdal, D., Mograbi, B., Ilié, M., Stenzinger, A., & Hofman, V. (2023). Current challenges and practical aspects of molecular pathology for non-small cell lung cancers. Virchows Archiv : an international journal of pathology, 10.1007/s00428-023-03651-1. *Advance online publication.* https://doi.org/10.1007/s00428-023-03651-1

66. Holmberg, L., Sandin, F., Bray, F., Richards, M., Spicer, J., Lambe, M., Klint, A., Peake, M., Strand, T. E., Linklater, K., Robinson, D., & Møller, H. (2010). National comparisons of lung cancer survival in England, Norway and Sweden 2001-2004: differences occur early in follow-up. *Thorax, 65*(5), 436–441. https://doi.org/10.1136/thx.2009.124222

67. Hong, K. U., Reynolds, S. D., Watkins, S., Fuchs, E., & Stripp, B. R. (2004). Basal cells are a multipotent progenitor capable of renewing the bronchial epithelium. *The American journal of pathology, 164*(2), 577–588. https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63147-1

68. Idowu, M. O., & Powers, C. N. (2010). Lung cancer cytology: potential pitfalls and mimics - a review. *International journal of clinical and experimental pathology*, *3*(4), 367–385.

69. Jacob, A., Morley, M., Hawkins, F., McCauley, K. B., Jean, J. C., Heins, H., Na, C. L., Weaver, T. E., Vedaie, M., Hurley, K., Hinds, A., Russo, S. J., Kook, S., Zacharias, W., Ochs, M., Traber, K., Quinton, L. J., Crane, A., Davis, B. R., White, F. V., … Kotton, D. N. (2017). Differentiation of Human Pluripotent Stem Cells into Functional Lung Alveolar Epithelial Cells. *Cell stem cell, 21*(4), 472–488.e10. https://doi.org/10.1016/j.stem.2017.08.014

70. Jagirdar J. (2008). Application of immunohistochemistry to the diagnosis of primary and metastatic carcinoma to the lung. Archives of pathology & laboratory medicine, 132(3), 384–396. https://doi.org/10.5858/2008-132-384-AOITTD

71. Jia, M., Yu, S., Gao, H., & Sun, P. L. (2020). Spread Through Air Spaces (STAS) in Lung Cancer: A Multiple-Perspective and Update Review. *Cancer management and research*, *12*, 2743–2752. https://doi.org/10.2147/CMAR.S249790

72. Kadota, K., Kushida, Y., Kagawa, S., Ishikawa, R., Ibuki, E., Inoue, K., Go, T., Yokomise, H., Ishii, T., Kadowaki, N., & Haba, R. (2019). Limited Resection Is Associated With a Higher Risk of Locoregional Recurrence than Lobectomy in Stage I Lung Adenocarcinoma With Tumor Spread Through Air Spaces. *The American journal of surgical pathology*, *43*(8), 1033–1041. https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000001285

73. Kanagaki, S., Ikeo, S., Suezawa, T., Yamamoto, Y., Seki, M., Hirai, T., Hagiwara, M., Suzuki, Y., & Gotoh, S. (2021). Directed induction of alveolar type I cells derived from pluripotent stem cells via Wnt signaling inhibition. *Stem cells* (Dayton, Ohio), *39*(2), 156–169. https://doi.org/10.1002/stem.3302

74. Kasper, M., Rudolf, T., Verhofstad, A. A., Schuh, D., & Müller, M. (1993). Heterogeneity in the immunolocalization of cytokeratin-specific monoclonal

antibodies in the rat lung: evaluation of three different alveolar epithelial cell types. *Histochemistry*, *100*(1), 65–71. https://doi.org/10.1007/BF00268879

75. Kathiriya, J. J., Brumwell, A. N., Jackson, J. R., Tang, X., & Chapman, H. A. (2020). Distinct Airway Epithelial Stem Cells Hide among Club Cells but Mobilize to Promote Alveolar Regeneration. *Cell stem cell*, *26*(3), 346–358.e4. https://doi.org/10.1016/j.stem.2019.12.014

76. Kato, T., Oka, K., Nakamura, T., & Ito, A. (2015). Bronchioalveolar morphogenesis of human bronchial epithelial cells depending upon hepatocyte growth factor. *Journal of cellular and molecular medicine*, *19*(12), 2818–2826. https://doi.org/10.1111/jcmm.12672

77. Katoh, R., Miyagi, E., Nakamura, N., Li, X., Suzuki, K., Kakudo, K., Kobayashi, M., & Kawaoi, A. (2000). Expression of thyroid transcription factor-1 (TTF-1) in human C cells and medullary thyroid carcinomas. *Human pathology*, *31*(3), 386–393. https://doi.org/10.1016/s0046-8177(00)80255-5

78. Kim, C. F., Jackson, E. L., Woolfenden, A. E., Lawrence, S., Babar, I., Vogel, S., Crowley, D., Bronson, R. T., & Jacks, T. (2005). Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer. *Cell*, *121*(6), 823–835. https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.03.032

79. Kotton, D. N., & Morrisey, E. E. (2014). Lung regeneration: mechanisms, applications and emerging stem cell populations. *Nature medicine*, *20*(8), 822–832. https://doi.org/10.1038/nm.3642

80. Li, J., Wang, Z., Chu, Q., Jiang, K., Li, J., & Tang, N. (2018). The Strength of Mechanical Forces Determines the Differentiation of Alveolar Epithelial Cells. *Developmental cell*, *44*(3), 297–312.e5. https://doi.org/10.1016/j.devcel.2018.01.008

81. Liu, H., Yin, Q., Yang, G., & Qie, P. (2019). Prognostic Impact of Tumor Spread Through Air Spaces in Non-small Cell Lung Cancers: a Meta-Analysis Including 3564 Patients. *Pathology oncology research : POR*, *25*(4), 1303–1310. https://doi.org/10.1007/s12253-019-00616-1

82. Liu, X., & Engelhardt, J. F. (2008). The glandular stem/progenitor cell niche in airway development and repair. Proceedings of the American Thoracic *Society, 5*(6), 682–688. https://doi.org/10.1513/pats.200801-003AW

83. Lu, S., Tan, K. S., Kadota, K., Eguchi, T., Bains, S., Rekhtman, N., Adusumilli, P. S., & Travis, W. D. (2017). Spread through Air Spaces (STAS) Is an Independent Predictor of Recurrence and Lung Cancer-Specific Death in Squamous Cell Carcinoma. *Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer, 12*(2), 223–234. https://doi.org/10.1016/j.jtho.2016.09.129

84. Martin, B., Paesmans, M., Mascaux, C., Berghmans, T., Lothaire, P., Meert, A. P., Lafitte, J. J., & Sculier, J. P. (2004). Ki-67 expression and patients survival in lung cancer: systematic review of the literature with meta-analysis. *British journal of cancer*, *91*(12), 2018–2025. https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6602233

85. Maynard, A., McCoach, C. E., …& Bivona, T. G. (2020). Therapy-Induced Evolution of Human Lung Cancer Revealed by Single-Cell RNA Sequencing. *Cell, 182*(5), 1232–1251.e22. https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.07.017

86. McQualter, J. L., Yuen, K., Williams, B., & Bertoncello, I. (2010). Evidence of an epithelial stem/progenitor cell hierarchy in the adult mouse lung. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 107(4), 1414–1419. https://doi.org/10.1073/pnas.0909207107

87. Mori, K., Shimizu, H., Konno, A., & Iwanaga, T. (2002). Immunohistochemical localization of napsin and its potential role in protein catabolism in renal proximal tubules. *Archives of histology and cytology, 65*(4), 359–368. https://doi.org/10.1679/aohc.65.359

88. Nanguzgambo, A. B., Razack, R., Louw, M., & Bolliger, C. T. (2011). Immunochemistry and lung cancer: application in diagnosis, prognosis and targeted therapy. *Oncology*, *80*(3-4), 247–256. https://doi.org/10.1159/000329064

89. Navarro, S., & Driscoll, B. (2017). Regeneration of the Aging Lung: A Mini-Review. *Gerontology*, *63*(3), 270–280. https://doi.org/10.1159/000451081

90. Nepomnyashchikh, G. I., Levitskii, V. A., Dolgovykh, A. K., & Naumova, L. A. (2002). Pathomorphological and immunohistochemical analysis biopsy specimens from large bronchi of patients with pulmonary cancer. *Bulletin of experimental biology and medicine*, *134*(2), 198–202. https://doi.org/10.1023/a:1021108920079

91. Netter, F. (2019). Atlas of Human Anatomy. *Elsevier*. 7 ed. 791 p.

92. Noronha, V., Ramaswamy, A., Patil, V. M., Joshi, A., Chougule, A., Kane, S., Kumar, R., Sahu, A., Doshi, V., Nayak, L., Mahajan, A., Janu, A., & Prabhash, K. (2016). ALK Positive Lung Cancer: Clinical Profile, Practice and Outcomes in a Developing Country. *PloS one*, *11*(9), e0160752. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160752

93. Ochs, M., Hegermann, J., Lopez-Rodriguez, E., Timm, S., Nouailles, G., Matuszak, J., Simmons, S., Witzenrath, M., & Kuebler, W. M. (2020). On Top of the Alveolar Epithelium: Surfactant and the Glycocalyx. *International journal of molecular sciences*, *21*(9), 3075. https://doi.org/10.3390/ijms21093075

94. Okudela K. (2014). An association between nuclear morphology and immunohistochemical expression of p53 and p16INK4A in lung cancer cells. *Medical molecular morphology*, *47*(3), 130–136. https://doi.org/10.1007/s00795-013-0052-x

95. Okudela, K., Kojima, Y., Matsumura, M., Arai, H., Umeda, S., Tateishi, Y., Mitsui, H., Suzuki, T., Tajiri, M., Ogura, T., & Ohashi, K. (2018). Relationship between non-TRU lung adenocarcinomas and bronchiolar metaplasia - potential implication in their histogenesis. *Histology and histopathology*, *33*(3), 317–326. https://doi.org/10.14670/HH-11-935

96. Olajuyin, A. M., Zhang, X., & Ji, H. L. (2019). Alveolar type 2 progenitor cells for lung injury repair. *Cell death discovery*, *5*, 63. https://doi.org/10.1038/s41420-019-0147-9

97. Onozato, M. L., Kovach, A. E., Yeap, B. Y., Morales-Oyarvide, V., Klepeis, V. E., Tammireddy, S., Heist, R. S., Mark, E. J., Dias-Santagata, D., Iafrate, A. J., Yagi, Y., & Mino-Kenudson, M. (2013). Tumor islands in resected early-stage lung adenocarcinomas are associated with unique clinicopathologic and molecular characteristics and worse prognosis. *The American journal of surgical pathology, 37*(2), 287–294. https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e31826885fb

98. Ordóñez N. G. (2000). Value of thyroid transcription factor-1 immunostaining in distinguishing small cell lung carcinomas from other small cell carcinomas. *The American journal of surgical pathology, 24*(9), 1217–1223. https://doi.org/10.1097/00000478-200009000-00004

99. Pennycuick, A., & Janes, S. M. (2020). On the Origin of Lung Cancers. *American journal of respiratory and critical care medicine, 201*(6), 646–647. https://doi.org/10.1164/rccm.201911-2176ED

100. Pingxin, L., Xinhua, Z., Baojian, L., Xiaogang, R. (2007). The CT findings of endobronchial spread in lung adenocarcinoma. *Chin J Radiol, 41*, 475–9.

101. Quint, L. E., Tummala, S., Brisson, L. J., Francis, I. R., Krupnick, A. S., Kazerooni, E. A., Iannettoni, M. D., Whyte, R. I., & Orringer, M. B. (1996). Distribution of distant metastases from newly diagnosed non-small cell lung cancer. *The Annals of thoracic surgery, 62*(1), 246–250. https://doi.org/10.1016/0003-4975(96)00220-2

102. Rackley, C. R., & Stripp, B. R. (2012). Building and maintaining the epithelium of the lung. *The Journal of clinical investigation, 122*(8), 2724–2730. https://doi.org/10.1172/JCI60519

103. Ramaekers, F., van Niekerk, C., Poels, L., Schaafsma, E., Huijsmans, A., Robben, H., Schaart, G., & Vooijs, P. (1990). Use of monoclonal antibodies to keratin 7 in the differential diagnosis of adenocarcinomas. *The American journal of pathology, 136*(3), 641–655.

104. Raniszewska, A., Kwiecień, I., Rutkowska, E., Rzepecki, P., & Domagała-Kulawik, J. (2021). Lung Cancer Stem Cells-Origin, Diagnostic

Techniques and Perspective for Therapies. *Cancers*, *13*(12), 2996. https://doi.org/10.3390/cancers13122996

105. Rawlins, E. L., Okubo, T., Xue, Y., Brass, D. M., Auten, R. L., Hasegawa, H., Wang, F., & Hogan, B. L. (2009). The role of Scgb1a1+ Clara cells in the long-term maintenance and repair of lung airway, but not alveolar, epithelium. *Cell stem cell*, *4*(6), 525–534. https://doi.org/10.1016/j.stem.2009.04.002

106. Reddy, R., Buckley, S., Doerken, M., Barsky, L., Weinberg, K., Anderson, K. D., Warburton, D., & Driscoll, B. (2004). Isolation of a putative progenitor subpopulation of alveolar epithelial type 2 cells. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology*, *286*(4), L658–L667. https://doi.org/10.1152/ajplung.00159.2003

107. Reynolds, S. D., Giangreco, A., Power, J. H., & Stripp, B. R. (2000). Neuroepithelial bodies of pulmonary airways serve as a reservoir of progenitor cells capable of epithelial regeneration. *The American journal of pathology*, *156*(1), 269–278. https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)64727-X

108. Rossi, G., Cavazza, A., Sturm, N., Migaldi, M., Facciolongo, N., Longo, L., Maiorana, A., & Brambilla, E. (2003). Pulmonary carcinomas with pleomorphic, sarcomatoid, or sarcomatous elements: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 75 cases. *The American journal of surgical pathology*, *27*(3), 311–324. https://doi.org/10.1097/00000478-200303000-00004

109. Rossi, G., Pelosi, G., Graziano, P., Barbareschi, M., & Papotti, M. (2009). A reevaluation of the clinical significance of histological subtyping of non-small-cell lung carcinoma: diagnostic algorithms in the era of personalized treatments. *International journal of surgical pathology*, *17*(3), 206–218. https://doi.org/10.1177/1066896909336178

110. Rowbotham, S. P., Goruganthu, M. U. L., Arasada, R. R., Wang, W. Z., Carbone, D. P., & Kim, C. F. (2022). Lung Cancer Stem Cells and Their Clinical Implications. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, *12*(4), a041270. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a041270

111. Ruaro, B., Salton, F., Braga, L., Wade, B., Confalonieri, P., Volpe, M. C., Baratella, E., Maiocchi, S., & Confalonieri, M. (2021). The History and Mystery of Alveolar Epithelial Type II Cells: Focus on Their Physiologic and Pathologic Role in Lung. *International journal of molecular sciences, 22*(5), 2566. https://doi.org/10.3390/ijms22052566

112. Sainz de Aja, J., Dost, A. F. M., & Kim, C. F. (2021). Alveolar progenitor cells and the origin of lung cancer. *Journal of internal medicine, 289*(5), 629–635. https://doi.org/10.1111/joim.13201

113. Salahudeen, A. A., Choi, S. S., Rustagi, A., Zhu, J., van Unen, V., de la O, S. M., Flynn, R. A., Margalef-Català, M., Santos, A. J. M., Ju, J., Batish, A., Usui, T., Zheng, G. X. Y., Edwards, C. E., Wagar, L. E., Luca, V., Anchang, B., Nagendran, M., Nguyen, K., Hart, D. J., … Kuo, C. J. (2020). Progenitor identification and SARS-CoV-2 infection in human distal lung organoids. *Nature, 588*(7839), 670–675. https://doi.org/10.1038/s41586-020-3014-1

114. Schmitt, F., & Machado, J. C. (2014). Ancillary Studies, Including Immunohistochemistry and Molecular Studies, in Lung Cytology. *Surgical pathology clinics, 7*(1), 35–46. https://doi.org/10.1016/j.path.2013.10.005

115. Seguin, L., Durandy, M., & Feral, C. C. (2022). Lung Adenocarcinoma Tumor Origin: A Guide for Personalized Medicine. *Cancers, 14*(7), 1759. https://doi.org/10.3390/cancers14071759

116. Shimamoto T, Ohyashiki JH, Hirano T, Kato H, Ohyashiki K (2004) Hypermethylation of E-cadherin gene is frequent and independent of p16INK4A methylation in non-small cell lung cancer: potential prognostic implication. *Oncol Rep 12*, 389–395.

117. Situ, D., Wang, J., Ma, Y., Zhu, Z., Hu, Y., Long, H., & Rong, T. (2011). Expression and prognostic relevance of MUC1 in stage IB non-small cell lung cancer. *Medical oncology* (Northwood, London, England), 28 Suppl 1, S596–S604. https://doi.org/10.1007/s12032-010-9752-4

118. Sturm, N., Lantuéjoul, S., Laverrière, M. H., Papotti, M., Brichon, P. Y., Brambilla, C., & Brambilla, E. (2001). Thyroid transcription factor 1 and

cytokeratins 1, 5, 10, 14 (34betaE12) expression in basaloid and large-cell neuroendocrine carcinomas of the lung. *Human pathology*, *32*(9), 918–925. https://doi.org/10.1053/hupa.2001.27110

119. Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, *71*(3), 209–249. https://doi.org/10.3322/caac.21660

120. Sutherland, K. D., & Berns, A. (2010). Cell of origin of lung cancer. *Molecular oncology*, *4*(5), 397–403. https://doi.org/10.1016/j.molonc.2010.05.002

121. Sutherland, K. D., Proost, N., Brouns, I., Adriaensen, D., Song, J. Y., & Berns, A. (2011). Cell of origin of small cell lung cancer: inactivation of Trp53 and Rb1 in distinct cell types of adult mouse lung. *Cancer cell*, *19*(6), 754–764. https://doi.org/10.1016/j.ccr.2011.04.019

122. Takahashi, K. (1983). Multiple primary lung cancer including preinvasive squamous cancer and peripheral adenocarcinoma. *Lung Cancer*. *23*. 527–35.

123. Ten Have-Opbroek, A. A., Benfield, J. R., van Krieken, J. H., & Dijkman, J. H. (1997). The alveolar type II cell is a pluripotential stem cell in the genesis of human adenocarcinomas and squamous cell carcinomas. *Histology and histopathology*, *12*(2), 319–336.

124. Tetsushi, I., Harubumi, K., Chimori, K., et al. (1988). A case of roentgenographically occult triple lung cancer. *Haigan Lung Cancer*. *28*. 895–900.

125. Thivolet-Béjui F. (1997). Cytological pitfalls in bronchopulmonary tumors. *Diagnostic cytopathology*, *17*(6), 412–416. https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0339(199712)17:6<412::aid-dc7>3.0.co;2-a

126. Thunnissen, E., Borczuk, A. C., Flieder, D. B., Witte, B., & … Noguchi, M. (2017). 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. *Journal of thoracic oncology : official publication of*

*the International Association for the Study of Lung Cancer, 12*(2), 334–346. https://doi.org/10.1016/j.jtho.2016.12.004

127. Travis, W., Nicholson, S., Hirsch, F.R., et al. (2004). Small cell carcinoma. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. *IARC Press*. 31–4.

128. Travis, W.D., Brambilla, E., Burke, A.P., et al. (2021). Thoracic tumours. WHO Classification of Tumours. Lyon, *IARC Press*. 572 p.

129. Travis, W.D., Brambilla, E., Muller-Hermelink, H.K., et al. (2015). World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. *IARC Press*. 412 .

130. Turbat-Herrera, E. A., D'Agostino, H., & Herrera, G. A. (2004). The use of electron microscopy to refine diagnoses in the daily practice of cytopathology. *Ultrastructural pathology, 28*(2), 55–66. https://doi.org/10.1080/01913120490430418

131. Uruga, H., Fujii, T., Miyamoto, A., & Hisashi, T. (2019). What did the first meta-analysis of tumor spread through air spaces (STAS) bring to light?. *Journal of thoracic disease, 11*(Suppl 15), S1979–S1981. https://doi.org/10.21037/jtd.2019.07.58

132. Walters, S., Maringe, C., Coleman, M. P., & Tracey, E. (2004-2007). ICBP Module 1 Working Group (2013). Lung cancer survival and stage at diagnosis in Australia, Canada, Denmark, Norway, Sweden and the UK: a population-based study, *Thorax, 68*(6), 551–564. https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2012-202297

133. Wang, G. F., Lai, M. D., Yang, R. R., Chen, P. H., Su, Y. Y., Lv, B. J., Sun, L. P., Huang, Q., & Chen, S. Z. (2006). Histological types and significance of bronchial epithelial dysplasia. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc, 19*(3), 429–437. https://doi.org/10.1038/modpathol.3800553

134. Warth A. (2017). Spread through air spaces (STAS): a comprehensive update. *Translational lung cancer research, 6*(5), 501–507. https://doi.org/10.21037/tlcr.2017.06.08

135. Weibel E. R. (2015). On the tricks alveolar epithelial cells play to make a good lung. *American journal of respiratory and critical care medicine*, *191*(5), 504–513. https://doi.org/10.1164/rccm.201409-1663OE

136. Weibel, E.R. (1970). Morphometry of human lungs. Translate from English Wolberg NP. Moscow: *Medicine*. 1970. 174.

137. Weiss D. J. (2008). Stem cells and cell therapies for cystic fibrosis and other lung diseases. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*, *21*(4), 588–594. https://doi.org/10.1016/j.pupt.2007.11.004

138. Xu, X., Rock, J. R., Lu, Y., Futtner, C., Schwab, B., Guinney, J., Hogan, B. L., & Onaitis, M. W. (2012). Evidence for type II cells as cells of origin of K-Ras-induced distal lung adenocarcinoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *109*(13), 4910–4915. https://doi.org/10.1073/pnas.1112499109

139. Yagi, Y., Aly, R. G., Tabata, K., Barlas, A., Rekhtman, N., Eguchi, T., Montecalvo, J., Hameed, M., Manova-Todorova, K., Adusumilli, P. S., & Travis, W. D. (2020). Three-Dimensional Histologic, Immunohistochemical, and Multiplex Immunofluorescence Analyses of Dynamic Vessel Co-Option of Spread Through Air Spaces in Lung Adenocarcinoma. *Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer*, *15*(4), 589–600. https://doi.org/10.1016/j.jtho.2019.12.112

140. Yanagawa, N., Shiono, S., Endo, M., & Ogata, S. Y. (2018). Tumor spread through air spaces is a useful predictor of recurrence and prognosis in stage I lung squamous cell carcinoma, but not in stage II and III. *Lung cancer* (Amsterdam, Netherlands), *120*, 14–21. https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2018.03.018

141. Yang, M., & Nonaka, D. (2010). A study of immunohistochemical differential expression in pulmonary and mammary carcinomas. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*, *23*(5), 654–661. https://doi.org/10.1038/modpathol.2010.38

142. Yatabe, Y., Kosaka, T., Takahashi, T., Mitsudomi, T. (2005). EGFR mutation is specific for terminal respiratory unit type adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol. 29*. 633–639.

143. Yokoyama, S., Murakami, T., Tao, H., Onoda, H., Hara, A., Miyazaki, R., Furukawa, M., Hayashi, M., Inokawa, H., Okabe, K., & Akagi, Y. (2018). Tumor Spread Through Air Spaces Identifies a Distinct Subgroup With Poor Prognosis in Surgically Resected Lung Pleomorphic Carcinoma. *Chest, 154*(4), 838–847. https://doi.org/10.1016/j.chest.2018.06.007

144. Yu, C. C., Woods, A. L., & Levison, D. A. (1992). The assessment of cellular proliferation by immunohistochemistry: a review of currently available methods and their applications. *The Histochemical journal, 24*(3), 121–131. https://doi.org/10.1007/BF01047461

145. Zhao, T., Zhang, Y. L., & Li, C. D. (1993). Zhonghua jie he he hu xi za zhi = Zhonghua jiehe he huxi zazhi = *Chinese journal of tuberculosis and respiratory diseases, 16*(6), 342–374.

146. Zito Marino, F., Bianco, R., Accardo, M., Ronchi, A., Cozzolino, I., Morgillo, F., Rossi, G., & Franco, R. (2019). Molecular heterogeneity in lung cancer: from mechanisms of origin to clinical implications. *International journal of medical sciences, 16*(7), 981–989. https://doi.org/10.7150/ijms.34739

**ДОДАТОК 1**

# СПИСОК НАУКОВИХ ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

***Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:***

1. Bolgova, L., & **Ponomarenko, A.** (2020). Особливості росту периферичного раку легені за результатами макроскопічних і цитологічних досліджень. *Наукові записки НаУКМА. Біологія і екологія*, *3*, 43–47. https://doi.org/10.18523/2617-4529.2020.3.43-47 *(Особистий внесок: опрацювання даних літератури, опрацювання отриманих результатів, підготовка статті)*.

2. Bolgova, L. S., Tuganova, T. N., Alekseenko, O. I., Litvinets, O. M., Suprun, G. A., & **Ponomarenko, A. A.** (2020). Histogenesis of central lung cancer: cytological investigation. *Experimental oncology*, *42*(4), 310–313. https://doi.org/10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-42-no-4.15232 *(Особистий внесок: опрацювання даних літератури, підготовка статті).*

3. Bolgova, L., Tuganova, T., & **Ponomarenko, A.** (2021). Цитологічні дослідження екзофітних пухлин бронхів і ріст раку легені. *Наукові записки НаУКМА. Біологія і екологія*, *4*, 26–31. https://doi.org/10.18523/2617-4529.2021.4.26-31 *(Особистий внесок: опрацювання даних літератури, опрацювання отриманих результатів, підготовка статті)*.

4. Bolgova, L. S., Tuganova, T. N., Alekseenko, O. I., & **Ponomarenko, A. A.** (2022). On the origin of lung cancer development. *Experimental oncology*, *44*(1), 17–22. https://doi.org/10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-44-no-1.17227 *(Особистий внесок: опрацювання даних літератури, підготовка статті).*

5. Bolgova, L.S., **Ponomarenko, A.O.**, Hanul V.A. (2022). Визначення пухлинних клітин у незміненій паренхімі — достовірна ознака

розповсюдження раку легені. *Клінічна онкологія.* 12, *3-4* (47-48), 1-4. http://doi.org/10.32471/clinicaloncology.2663-466X.47-3.29178 *(Особистий внесок: опрацювання даних літератури, проведення цитологічних та імуноцитохімічних досліджень, опрацювання отриманих результатів, підготовка статті)*.

6. Bolhova, L. S., Tuganova, T. M., Alekseenko, O. I., **Ponomarenko, A. O.**, Zaharichev, V. D. (2023). Histogenesis of lung cancer - stages of investigation. *Medical Informatics and Engineering*, (3), 30–41. https://doi.org/10.11603/mie.1996-1960.2022.3.13371 *(Особистий внесок: опрацювання даних літератури, підготовка статті)*.

7. Bolgova, L., Shypko, A., Tuganova, T., Alekseenko, O., Smolanka, I., **Ponomarenko, A.**, & Bilko, N. (2023). New Data on Histogenesis and Histological Structure of Lung Cancer. *Experimental oncology*, *45*(1), 62–69. https://doi.org/10.15407/exp-oncology.2023.01.062 *(Особистий внесок: опрацювання даних літератури, підготовка статті)*.

***Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:***

1. Bolgova, L.S., Tuganova, T.N., Alekseenko, O.I., **Ponomarenko, A.O.** (2019). Bronchoscopes and cytological studies in the central growth of lung cancer // II International Conference «Tumor and Host: Novel Aspects of Old Problem». *Exp Oncol.*, 41., p. 261. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.29834.82884/1

2. Bolgova, L.S., Tuganova, T.N., Alekseenko, O.I., **Ponomarenko, A.O.** (2019). Комплексні морфологічні дослідження для уточнення гістогенезу раку легені // «Морфологічна (цитологічна і гістологічна) діагностика пухлин різних локалізацій з використанням сучасних методів дослідження». *Клінічна онкологія*. 9, *3* (35), 1. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.17931.85282

3. Bolgova, L.S., Tuganova, T.N., Alekseenko, O.I., **Ponomarenko, A.O.** (2020). Ріст раку легені по відношенню до стінки бронха - як етап вивчення гістогенезу // Науково-практична конференція «Сучасні тенденції в лікуванні

онкозахворювань». IX Міжнародний медичний конгрес «Впровадження сучасних досягнень медичної науки у практику охорони здоров'я України». 52. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.20926.61767

4. Bolgova, L.S., Tuganova, T.N., Alekseenko, O.I., **Ponomarenko, A.O.** (2021). Особливості розповсюдження клітин залозистого раку в паренхімі легені // Науково-практична конференція «Стан злоякісних новоутворень в Україні: проблеми та шляхи подолання». X Міжнародний медичний конгрес «Впровадження сучасних досягнень медичної науки у практику охорони здоров'я України». 1, 93-94. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.25120.92168/1

5. Bolgova, L.S., Tuganova, T.N., Alekseenko, O.I., **Ponomarenko, A.O.** (2021). Рак легені і альвеолярний епітелій // Науково-практична конференція «Стан злоякісних новоутворень в Україні: проблеми та шляхи подолання». X Міжнародний медичний конгрес «Впровадження сучасних досягнень медичної науки у практику охорони здоров'я України». 1. 93. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.25120.92168/1

6. Bolgova, L.S., Tuganova, T.N., Bilko N.M., O.I., **Ponomarenko, A.O.** (2021). Рак легені і квантитативна оцінка клітин паренхіми - цитологічне дослідження (попередні дані) // XIV З'їзд онкологів і радіологів України. 2021. 24–25. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.22394.00961

7. Tuganova, T.N., Bolgova, L.S., Alekseenko, O.I., **Ponomarenko, A.O.** (2021). Показники ядерець перехідного типу в альвеолярному епітелії при помірнодиференційованому плоскоклітинному раку легені // XIV З'їзд онкологів і радіологів України. с. 41–43. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.35483.18725

8. **Ponomarenko, A.O.**, Bolgova, L.S., Tuganova, T.N., Alekseenko, O.I., Bilko N.M., Hanul V.A. (2021). Новий підхід у вивченні розповсюдження раку легені по паренхімі (попередні дані) // Науково-практична конференція молодих вчених «Сучасна онкологія: від фундаментальних досліджень до нових терапевтичних підходів». *Онкологія*, 23, *3*, 227. https://doi.org/10.32471/oncology.2663-7928.t-23-3-2021-g.9881

9. Bolgova, L.S., Tuganova, T.N., Alekseenko, O.I., **Ponomarenko, A.O.** (2021). Розповсюдження сквамозного раку в тканині легені // Міжнародний симпозіум з лабораторної медицини. 2021. 16. http://doi.org/10.13140/RG.2.2.29899.52002/1

10. **Ponomarenko, A.O.** (2023). Виявлення клітин недрібноклітинного раку легені на різній відстані від пухлинного вузла - ознака розповсюдження пухлини // XI Міжнародний семінар студентів та молодих вчених, присвячений Всесвітньому дню боротьби з раком. *Клінічна онкологія.* 1 (137), 13. http://doi.org/10.32345/USMYJ.SUPPLEMENT.1.2023

11. **Ponomarenko, A.O.**, Bolgova, L.S., Tuganova, T.N., Bilko N.M., Hanul V.A. (2024). Якісні і квантитативні показники клітин альвеолярного епітелію II типу у хворих на недрібноклітинний рак легені (готуються до публікації в I кв. 2024 року в *Клінічна онкологія*)

**ДОДАТОК 2**

# ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

*Постерна доповідь*

2. Bolgova L.S., Tuganova T.N., Alekseenko O.I., **Ponomarenko A.O.** Bronchoscopes and cytological studies in the central growth of lung cancer // II International Conference «Tumor and Host: Novel Aspects of Old Problem». Exp Oncol., 2019. V. 41., p. 261. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.29834.82884/1

*Усні доповіді*

1. Болгова Л.С., Туганова Т.М., Алексєєнко О.І., **Пономаренко А.О.** Ріст раку легені по відношенню до стінки бронха - як етап вивчення гістогенезу // Науково-практична конференція «Сучасні тенденції в лікуванні онкозахворювань». IX Міжнародний медичний конгрес «Впровадження сучасних досягнень медичної науки у практику охорони здоров'я України». 2020. с. 52. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.20926.61767

2. Болгова Л.С., Алексєєнко О.І., **Пономаренко А.О.** Особливості розповсюдження клітин залозистого раку в паренхімі легені // Науково-практична конференція «Стан злоякісних новоутворень в Україні: проблеми та шляхи подолання». X Міжнародний медичний конгрес «Впровадження сучасних досягнень медичної науки у практику охорони здоров'я України». 2021. Т.1. с. 93-94. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.25120.92168/1

3. Болгова Л.С., Туганова Т.М., Алексєєнко О.І., **Пономаренко А.О.** Рак легені і альвеолярний епітелій // Науково-практична конференція «Стан злоякісних новоутворень в Україні: проблеми та шляхи подолання». X Міжнародний медичний конгрес «Впровадження сучасних досягнень медичної науки у практику охорони здоров'я України». 2021. Т.1. с. 93. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.25120.92168/1

4. Болгова Л.С., Туганова Т.М., Білько Н.М., **Пономаренко А.О.** Рак легені і квантитативна оцінка клітин паренхіми - цитологічне дослідження (попередні дані) // XIV З'їзд онкологів і радіологів України. 2021. с. 24–25. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.22394.00961

5. **Пономаренко А.О.**, Болгова Л.С., Туганова Т.М., Алексєєнко О.І., Білько Н.М., Ганул В.А. Новий підхід у вивченні розповсюдження раку легені по паренхімі (попередні дані) // Матеріали науково-практичної конференції молодих вчених «Сучасна онкологія: від фундаментальних досліджень до нових терапевтичних підходів». 2021, Онкологія, Т. 23, № 3, С. 227. https://doi.org/10.32471/oncology.2663-7928.t-23-3-2021-g.9881

6. Болгова Л.С., Туганова Т.М., Алексєєнко О.І., **Пономаренко А.О.** Розповсюдження сквамозного раку в тканині легені // Міжнародний симпозіум з лабораторної медицини. 2021. с. 16. http://doi.org/10.13140/RG.2.2.29899.52002/1

7. **Пономаренко А.О.** Виявлення клітин недрібноклітинного раку легені на різній відстані від пухлинного вузла - ознака розповсюдження пухлини // XI Міжнародний семінар студентів та молодих вчених, присвячений Всесвітньому дню боротьби з раком. 2023. №1 (137), с. 13. http://doi.org/10.32345/USMYJ.SUPPLEMENT.1.2023

8. **Пономаренко А.О.,** Болгова Л.С., Білько Н.М., Ганул В.А. Якісні і квантитативні показники клітин альвеолярного епітелію II типу у хворих на недрібноклітинний рак легені (готуються до публікації в I кв. 2024 року).

**ДОДАТОК 3**

# УХВАЛА БІОЕТИЧНОГО КОМІТЕТУ

**УКРАЇНА**
**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**
**КОМІСІЯ З ПИТАНЬ ЕТИКИ**
**НАЦІОНАЛЬНИЙ ІНСТИТУТ РАКУ**
03022, м. Київ, вул. Ломоносова, 33/43, тел. (044) 259-01-86, факс (044) 259-02-73
www.unci.org.ua, info@unci.org.ua, lekonconir@gmail.com

**В наукову частину**

**ВИТЯГ З ПРОТОКОЛУ № 201/9**
**засідання Комісії з питань етики при Національному Інституті Раку**
**від** «21» грудня 2021 р.

Комісія з питань етики при Національному інституті раку* на засіданні 21.12.2021 р. розглянула матеріали, подані дисертантом **Пономаренко Анною Олександрівною**, аспірантка Національного університету «Києво-Могилянська академія», щодо планування дисертаційної роботи: **«Особливості росту і розповсюдження клітин раку легені по паренхімі органу»** на здобуття вченого ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія», спеціалізацією 14.01.09 – цитологія, клітинна біологія, гістологія, термін виконання 2018-2022 рр., наукові керівники – доктор мед. наук, професор **Білько Надія Михайлівна**, завідувач кафедри Лабораторної діагностики біологічних систем Національного університету «Києво-Могилянська академія» та доктор мед. наук, професор **Болгова Лідія Севастянівна**, лікар-лаборант Лабораторія цитологічної діагностики Національного інституту раку МОЗ України (далі – НІР).

**Комісією розглянуто наступні матеріали:**

1. Заява встановленого зразка.
2. Анотація дисертаційної роботи.
3. Дизайн дослідження.

В обговоренні матеріалів дисертаційної роботи брали участь усі присутні члени Комісії з питань етики при Національному інституті раку.

Експерт – Дєдков Анатолій. Григорович – голова – онкохірург, доктор мед. наук, старший науковий співробітник, завідувач науково-дослідного відділення онкоортопедії НІР.

Члени Комісії з питань етики при Національному інституті раку* дійшли узгодженої думки, що надані матеріали дисертаційної роботи актуальні, науково обґрунтовані, добре сплановані, доцільні. План дослідження містить детальні відомості, описані в анотації дисертаційної роботи. Структура дисертаційної роботи відповідає його меті. Дисертаційну роботу буде проведено з дотриманням прав людини, відповідно до чинного законодавства України, Закону України "Про лікарські засоби", принципів ICH GCP, наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 «Про затвердження Правил проведення клінічних випробувань та експертизи матеріалів клінічних випробувань та Типового положення про комісію з питань етики», зі змінами і доповненнями. Під час виконання дисертаційної роботи буде передбачено заходів по забезпеченню безпеки здоров'я пацієнтів, дотримання їх прав та морально-етичних норм. Дослідження в рамках дисертаційної роботи буде виконуватися з мінімальними психологічними втратами з боку пацієнтів. Пацієнти будуть повністю інформовані про мету та методи дослідження, про потенційні користь і ризик. Дисертант буде виконувати вимоги відповідно до конфіденційності отриманої інформації в процесі дослідження.

Комісія з питань етики при Національному інституті раку за результатами оцінки етичних та морально-правових аспектів дисертаційної роботи надає **позитивне** рішення щодо можливості планування дисертаційної роботи: **«Особливості росту і розповсюдження клітин раку легені по паренхімі органу»** на здобуття вченого ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія», спеціалізацією 14.01.09 – цитологія, клітинна біологія, гістологія, термін виконання 2018-2022 рр., та погоджує використання розглянутих матеріалів дослідження в місці проведення дослідження: **Національний інститут раку МОЗ України**, 03022, Україна, м. Київ, вул. М. Ломоносова, 33/43 та **Національний університет «Києво-Могилянська академія»**, 04655, Україна, м. Київ, вул. Григорія Сковороди, 2, наукові керівники – доктор мед. наук, професор **Білько Надія Михайлівна**, завідувач кафедри Лабораторної діагностики біологічних систем Національного університету «Києво-Могилянська академія» та доктор мед. наук, професор **Болгова Лідія Севастянівна**, лікар-лаборант Лабораторії цитологічної діагностики Національного інституту раку МОЗ України.

Виходячи з вищевказаного, Комісія з питань етики при Національному інституті раку не заперечує щодо подання матеріалів дисертаційної роботи до розгляду на засіданні Вченої ради та Спеціалізованої Ради Національного інституту раку.

На засіданні Комісії з питань етики при Національному інституті раку та у голосуванні щодо вищезазначеного питання брали участь:

---

* *Комісія з питань етики діє відповідно до закону України «Про лікарські засоби», нормативних вимог, що діють в Україні, вимог належної клінічної практики (ICHGCP), міжнародних етичних принципів біомедичних досліджень та етичного кодексу лікаря.*

- Дєдков Анатолій. Григорович – голова – онкохірург, д-р мед. наук, старший науковий співробітник, завідувач науково-дослідного відділення онкоортопедії НІР;
- Фільчаков Феодосій Вікторович – заступник голови – імунолог, д-р мед. наук, старший науковий співробітник, лікар-лаборант лабораторії онкоімунології НІР;
- Дежурнюк Анна Ігоревна – секретар – магістр економіки, молодша медична сестра відділення малоінвазивної та ендоскопічної хірургії, інтервенційної радіології НІР;
- Крячок Ірина Анатоліївна – онколог, гематолог, д-р мед. наук, професор, завідувач науково-дослідного відділення хіміотерапії гемобластозів та ад'ювантних методів лікування НІР;
- Кукушкіна Марія Миколаївна – онкохірург, канд. мед. наук, старший науковий співробітник науково-дослідного відділення пухлин шкіри та м'яких тканин НІР;
- Пастушенко Ян Валерійович – онколог, гематолог, лікар відділення онкогематології з сектором ад'ювантних методів лікування НІР;
- Хруленко Тетяна Валеріївна – лікар з променевої терапії, канд. мед. наук, відділення клінічної радіології з блоком брахітерапії НІР;
- Євтушенко Олег Іванович – хірург, онколог, професор, д-р мед. наук, професор кафедри онкології Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л.Шупика;
- Хливнюк Катерина Анатоліївна – практичний психолог, психолог БО «Благодійний фонд допомоги онкохворим дітям «КРАБ».

Присутні члени Комісії з питань етики при Національному інституті раку* проголосували щодо вищезазначеного питання одноголосно / за – 9.

**Голова Комісії з питань етики**
**при Національному інституті раку**
**д-р мед. наук** **Дєдков А.Г.**

У Х В А Л А
Комітету з етики наукових досліджень НаУКМА

Реєстраційний номер / Registration number:
Federal Wide Assurance №00030125

від 7 липня 2022 року, протокол №2

Розглянувши надані матеріали дослідження «Особливості росту і розповсюдження клітин раку легені по паренхімі органу», яке здійснюється в межах теми, що запланована на кафедрі Лабораторної діагностики біологічних систем в Національному університеті «Києво-Могилянська академія». Шифр теми: 0119U103427. Назва: «Оцінка морфологічних та функціональних особливостей клітин-попередників при злоякісному процесі». Терміни виконання: 2018-2022 рр. Результати дослідження можуть бути корисними в покращенні алгоритмів цитологічної діагностики раку легені людини.

Ухвалив:

Схвалити дане подання дослідження «Особливості росту і розповсюдження клітин раку легені по паренхімі органу».

Встановити відповідальність за проведення дослідження, згідно з етичними принципами звіту Belmont та інституційної політики НаУКМА, з дотриманням усіх відповідних положень, головних дослідників цього затвердженого дослідження.

| Критерії | Рішення |
|---|---|
| Анотація дослідження (українською та англійською мовами) | Схвалено, коментарі відсутні |
| Дизайн дослідження (українською та англійською мовами) | Схвалено, коментарі відсутні |
| Інформована згода пацієнта (українською та англійською мовами) | Схвалено, коментарі відсутні |
| Протокол дослідження | Схвалено, коментарі відсутні |
| Витяг з протоколу засідання Комісії з питань етики при Національному Інституті Раку | Схвалено, коментарі відсутні |
| Загальний висновок | Схвалено без змін (Протокол і супровідні документи не потребують змін) |
| Коментарі | Відсутні |

Голова Комітету з етики наукових досліджень НаУКМА Т.П. Юрочко

Додаток

Розглянуті документи:

| Документ | Назва файлу | Дата | Версія |
|---|---|---|---|
| Протокол | Протокол дослідження «Оцінка морфологічних та функціональних особливостей клітин-попередників при злоякісному процесі» | 19.06.2022 | 1 |
| Анотація дослідження | Анотація дослідження (українською та англійською мовами) | 19.06.2022 | 1 |
| Дизайн дослідження | Дизайн дослідження (українською та англійською мовами) | 19.06.2022 | 1 |
| Форма інформованої згоди | Інформована згода пацієнта (українською та англійською мовами). | 19.06.2022 | 1 |
| Витяг з протоколу засідання Комісії з питань етики при Національному Інституті Раку | Витяг з протоколу засідання Комісії з питань етики при Національному Інституті Раку (українською мовою). | 19.06.2022 | 1 |

**Документ підписано у сервісі Вчасно (початок)**
Дисертація Пономаренко А.О. ключові слова .pdf

**Документ підписано у сервісі Вчасно (продовження)**
Дисертація Пономаренко А.О. ключові слова .pdf

Документ відправлено: 15:46 12.12.2023

**Власник документу**

**Електронний підпис**
15:46 12.12.2023
Ідентифікаційний код: 3482201326
ПОНОМАРЕНКО АННА ОЛЕКСАНДРІВНА
Власник ключа: ПОНОМАРЕНКО АННА ОЛЕКСАНДРІВНА
Час перевірки КЕП/ЕЦП: 15:46 12.12.2023
Статус перевірки сертифікату: Сертифікат діє
Серійний номер: 5E984D526F82F38F04000000A96335010453A304
Тип підпису: удосконалений