

Демяшкин Г.А.^{1,2}, Шаламова Е.А.², Никитин П.В.³, Богомолов С.Н.²

¹ФГБУ «9 Лечебно-диагностический центр» Минобороны России, Москва, Россия; ²ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет)» Минздрава России, Москва, Россия; ³ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко»

Минздрава России, Москва, Россия

¹119146, Москва, Комсомольский проспект, 13а; ²119991, Москва, Трубецкая ул., 8, стр. 2;

³125047, Москва, 4-я Тверская-Ямская ул., 16

Иммунофенотипическая характеристика метастазов головного мозга

До 15% пациентов с вторичными опухолями головного мозга поступают в нейрохирургическое отделение без выявленного первичного очага. Определение локализации первичной опухоли на основании иммунофенотипирования операционного материала в рутинной клинической практике имеет значительный потенциал, однако требует систематизации.

Цель исследования — выявление первичного очага карциномы головного мозга.

Пациенты и методы. Операционный материал 7 пациентов с опухолью головного мозга без данных о первичном очаге исследован с помощью светооптической микроскопии и иммуногистохимической (ИГХ) панели, включающей ЕМА, CK AE1/3, CK7, CK5/6, GFAP, S-100, Vimentin, p63, TTF-1, Uroplakin III (UPIII), CDX2 и Her2/neu.

Результаты и обсуждение. На основании исследования с использованием ИГХ-панели были получены следующие фенотипы опухолей: 3 — CK5/6+, p63+, CK7+, UPIII+ (уротелиальный рак); 2 — CK5/6-, CK7+, TTF-1+, CDX2- (аденокарцинома легкого); 1 — CK5/6+, p63+, CK7-, UPIII-, TTF-1- (плоскоклеточный рак) и 1 — CK5/6-, CK7+, TTF-1-, CDX2-, Her2/neu+ (рак молочной железы). Впоследствии данные о первичном очаге были подтверждены во всех случаях инструментальными методами при направленном поиске рака молочной железы, легкого и мочевыделительной системы. На основании полученных результатов был разработан алгоритм дифференциально-диагностического иммунофенотипирования метастазов головного мозга.

Заключение. Первичный очаг карциномы головного мозга был определен во всех случаях на основании предложенной ИГХ-панели. Систематизированный алгоритм дифференциально-диагностического иммунофенотипирования можно использовать в клинической практике.

Ключевые слова: метастазы без выявленного первичного очага; вторичная опухоль; головной мозг; иммунофенотипирование.

Контакты: Григорий Александрович Демяшкин; dr.dga@mail.ru

Для ссылки: Демяшкин ГА, Шаламова ЕА, Никитин ПВ, Богомолов СН. Иммунофенотипическая характеристика метастазов головного мозга. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2018;10(4):59–64.

Immunophenotypic characteristics of brain metastases

Demyashkin G.A.¹, Shalamova E.A.², Nikitin P.V.³, Bogomolov S.N.²

¹Medical Diagnostic Center Nine, Ministry of Defense of Russia, Moscow, Russia; ²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia; ³Acad. N.N. Burdenko National Research and Practical Center for Neurosurgery, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

¹13a, Komsomolsky Prospect, Moscow 119146; ²8, Trubetskaya St., Build. 2, Moscow 119991; ³16, Fourth Tverskaya-Yamskaya St., Moscow 125047

Up to 15% of patients with secondary brain tumors of unknown primary are admitted to a neurosurgery department. Identification of a primary tumor site on the basis of surgical material immunophenotyping in routine clinical practice has a significant potential; however, this requires systematization.

Objective: to detect the primary focus of brain carcinoma.

Patients and methods. Surgical specimens from 7 patients with brain tumor of unknown primary were investigated using light optical microscopy and an immunohistochemical (IHC) panel including EMA, CK AE1/3, CK7, CK5/6, GFAP, S-100, Vimentin, p63, TTF-1, Uroplakin III (UPIII), CDX2, and Her2/neu.

Results and discussion. A study using the IHC panel made it possible to obtain the following tumor phenotypes in the patients: CK5/6+, p63+, CK7+, UPIII+ (urothelial cancer) (n=3); CK5/6-, CK7+, TTF-1+, CDX2- (lung adenocarcinoma) (n=2); CK5/6+, p63+, CK7-, UPIII-, TTF-1- (squamous cell carcinoma) (n=1), and CK5/6-, CK7+, TTF-1-, CDX2-, Her2/neu+ (breast cancer) (n=1). Evidence of the primary focus of the tumors was subsequently confirmed by instrumental techniques in all cases when cancer of the breast, lung and urinary system was directly sought. The findings were used to elaborate an algorithm for the differential diagnostic immunophenotyping of brain metastases.

Conclusion. The primary focus of brain carcinoma was detected in all cases on the proposed IHC panel. The systematized algorithm for differential diagnostic immunophenotyping can be used in clinical practice.

Keywords: metastases of unknown primary; secondary tumor; brain; immunophenotyping.

Contact: Grigory Aleksandrovich Demashkin; dr.dga@mail.ru

For reference: Demyashkin GA, Shalamova EA, Nikitin PV, Bogomolov SN. Immunophenotypic characteristics of brain metastases. Nevrologiya, neiropsikhiatriya, psikhosomatika = Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics. 2018;10(4):59–64.

DOI: 10.14412/2074-2711-2018-4-59-64

Вторичные опухоли центральной нервной системы (ЦНС) во взрослой популяции являются более распространенными, чем первичные. По приблизительной оценке, они встречаются в 3 раза чаще [1]. Согласно данным аутопсии, около 25% умерших от злокачественных новообразований (ЗНО) имели метастазы в ЦНС [2]. Наиболее часто в головной мозг метастазируют рак легких и молочной железы, меланома, почечно-клеточная карцинома и колоректальный рак [3]. При этом до 15% пациентов поступают в нейрохирургическое отделение без выявленного первичного очага [4].

Клинико-диагностические данные далеко не всегда позволяют достоверно отличить первичное и вторичное ЗНО головного мозга: метастаз часто представлен единственным очагом (до 50% случаев) без специфических признаков при лучевой диагностике [5]. Однако морфологическое исследование операционного материала, как правило, позволяет определить вторичную природу опухоли, особенно при ее эпителиальном происхождении. В то же время дифференциация первичной локализации карциномы может вызывать значительные трудности. Так, часто метастатические опухоли могут отличаться от первичного очага гистологическим паттерном, стирая границы между различными видами аденокарцином, уротелиальным и плоскоклеточным раком и представляя собой инвазивный солидный рост атипических эпителиальных клеток без специфических признаков. В таких случаях также необходимо учитывать возможность принадлежности опухоли к меланоме, мезотелиоме и другим видам ЗНО. В то же время в метастазе иногда могут встречаться фокусы кератинизации, не свойственной первичной опухоли. Наиболее распространенным и удобным для определения источника ЗНО является иммуногистохимический (ИГХ) метод.

Цель исследования — выявление первичного очага карциномы головного мозга.

Были поставлены следующие задачи: 1) определение вторичности опухоли при помощи ИГХ-исследования (GFAP, EMA); 2) исключение меланомы, мезотелиомы и саркомы (CK AE1/3, S-100, Vimentin, p63); 3) дифференциация ряда карцином на основании иммуномаркирования CK7, CK5/6, TTF-1, Uroplakin III (UPIII), CDX2; 3) разработка алгоритма дифференциально-диагностического иммунофенотипирования рака головного мозга.

Пациенты и методы. Ретроспективное исследование проводили в Национальном медицинском исследовательском центре нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко с декабря 2016 по февраль 2018 г. Полученные в ходе операций новообразования головного мозга 7 пациентов, находившихся на стационарном лечении в нейрохирургическом отделении, были изучены с помощью световой микроскопии и ИГХ-метода.

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Физикальные, клинико-лабораторные и инструментальные данные (анализ истории болезни пациентов). Пациенты мужского (n=5) и женского (n=2) пола поступили с жалобами на приступы потери сознания, головную боль, дезориентацию в пространстве (n=6) и эмоциональное расстройство личности (n=1). Семейный и наследственный анамнез не отягощен. Средний возраст больных составил 58 ± 7 лет. Данные о наличии первичного очага опухоли за пределами ЦНС отсутствовали.

Магнитно-резонансная томография (МРТ). В 6 случаях очаг был единственным и локализовался в полушариях головного мозга (4 — затылочная доля, 2 — височная доля), в 1 — множественным, с вовлечением структур мозжечка. На рис. 1 приведены данные 3 пациентов, иллюстрирующие вариативность параметров опухоли.

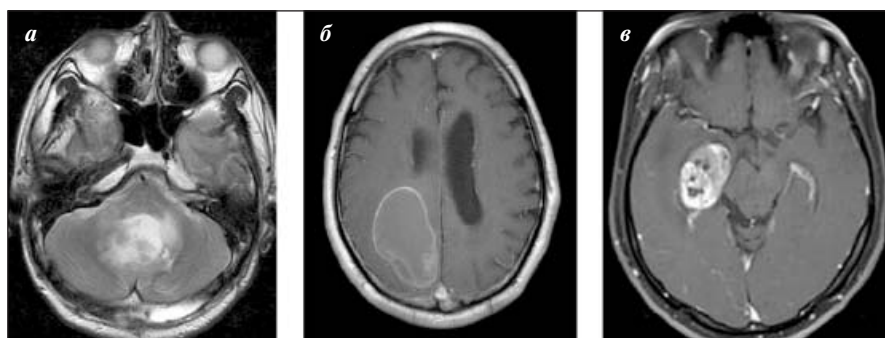


Рис. 1. МРТ (T1-взвешенные изображения) головного мозга, демонстрирующие характер, локализацию и размер новообразований у 3 пациентов: а — больная С., 63 лет, поражены червь и медиальные отделы гемисфер мозжечка (размер очага 4,26×5,3×4,4 см); б — больной Т., 57 лет, вовлечены медиальные отделы правой затылочной доли (размер очага 5,16×2,3×3,2 см); в — больной К., 54 лет, поражена правая височная доля (размер очага 3,12×4,1×3,0 см)

Операция. Во всех случаях была выполнена костно-пластическая трепанация под эндотрахеальным наркозом. Продолжительность операций составила в среднем 183 ± 55 мин, объем кровопотери — 100 ± 20 мл. Выбор хирургического пособия, течение операции и послеоперационное наблюдение пациентов сопоставлены с данными литературы.

При морфологическом исследовании вещества головного мозга использовали стандартный метод (фиксация формалином по Лилли, заливка в парафин, окраска гематоксилином и еозином).

Иммуногистохимические реакции проводили в автоматическом режиме в иммуногистостейнере Bond-Max (Leica, Германия). В качестве первичных (в готовом разведении) использовали антитела к EMA (клон GP1.4, Novocastra™, Великобритания), GFAP (GA5, Novocastra™, Великобритания), S-100 (Polyclonal, Novocastra™, Великобритания), Vimentin (SRL33, Novocastra™, Великобритания), p63 (7JUL, Novocastra™, Великобритания), Multi-Cytokeratin (AE1/AE3, Novocastra™, Великобритания), Cytokeratin 5/6 (LP34, Novocastra™, Великобритания), Cytokeratin 7 (RN7, Novocastra™, Великобритания), Thyroid Transcription Factor-1 (SPT24, Novocastra™, Великобритания), UPIII (SFI-1, Abcam, США), CDX2 (EP25, Novocastra™, Великобритания), Human HER2/neu (ICR55, Bio-Rad, Великобритания). Вторичные антитела (универсальные) — Cell Marque

*Результаты ИГХ-исследования метастазов
головного мозга*

Антитела к маркерам	Иммунопозитивные образцы, n	Доля иммунопозитивных клеток, %
EMA	7	91,8±8,1
Cytokeratin AE1/3	7	88,3±2,7
GFAP	0	0
S-100	0	1,7±0,7
Vimentin	0	1,2±0,8
CK5/6	4	78,2±5,7
CK7	6	82,6±5,2
P63	4	83,1±5,5
TTF-1	2	70,4±6,8
UPIII	3	93,5±4,6
CDX2	0	0
Her2/neu	1	86,4±2,3

(США). Для каждого маркера выполняли контрольные исследования с целью исключения псевдопозитивных и псевдонегативных результатов. Срезы докрашивали гематоксилином Майера, промывали под проточной водой, дегидратировали и заключали в бальзам.

Визуализацию операционного материала выполняли на светооптическом микроскопе Carl Zeiss Lab.A1 (Carl Zeiss, Германия), совмещенном с видеокамерой AxioCam ERc5s (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия) и программным обеспечением ZEN Lite. Далее подсчитывали долю иммунопозитивных клеток (в %) в 10 полях зрения при увеличении 400: «—» — отсутствие, «+» — слабая (1–10% клеток), «++» — умеренная (11–50% клеток), «+++» — выраженная (≥51% клеток) реакция.

Статистический анализ. Полученные в результате подсчета данные обрабатывали с использованием компьютерной программы SPSS 7.5 for Windows statistical softwarepackage (IBM Analytics, США). Рассчитывали средние арифметические величины с предельными отклонениями и среднеквадратическую ошибку. Соответствие данных нормальному распределению проверяли с применением критерия Колмогорова–Смирнова. При статистической обработке для оценки достоверности различий средних значений между группами использовали следующие непараметрические критерии: U-критерий Манна–Уитни, H-критерий Краскела–Уоллиса. При отсутствии нормального распределения данных применяли непараметрический критерий Вилкоксона (Statistical methods for researchworkers) с уровнем значимости $p < 0,05$.

Результаты. Микроскопическое описание. Опухоли (n=7) характеризовались солидным ростом атипичных средних и крупных эпителиоидных клеток с эозинофильной цитоплазмой и полиморфными ядрами, многие с ядрышками, некоторые с грубодисперсным хроматином. В единичных случаях (n=2) клетки образовывали цитоплаз-

матические мостики с фокусами кератинизации. Выраженность стромального компонента варьировалась, определялись диффузная лимфоцитарная инфильтрация (n=7) и поля некроза (n=5). Описанная морфологическая картина соответствовала вторичной опухоли головного мозга, преимущественно эпителиального происхождения (метастатическая карцинома), что требует ИГХ-верификации.

ИГХ-данные. Во всех метастазах (n=7) отмечалась выраженная ИГХ-реакция с антителами к EMA и Cytokeratin AE1/3, в 6 случаях — CK7 (82,6±5,2%) и в 4 — CK5/6 (78,2±5,7%). В последних образцах визуализировалось выраженное окрашивание с антителами к p63. Положительная реакция выявлена в 3 образцах при маркировании на UPIII, в 2 — TTF-1, в 1 — Her2/neu. Практически ИГХ-негативную реакцию обнаружили на S-100 (1,7±0,7%) и Vimentin (1,2±0,8%). Отсутствие иммуномаркирования всех препаратов отмечали с антителами к

GFAP и CDX2 (см. таблицу).

После использования ИГХ-панели были получены следующие фенотипы карцином: 3 — CK5/6+, p63+, CK7+, UPIII+ (уротелиальный рак); 2 — CK5/6-, CK7+, TTF-1+, CDX2- (аденокарцинома легкого); 1 — CK5/6+, p63+, CK7, UPIII-, TTF-1- (плоскоклеточный рак) и 1 — CK5/6-, CK7+, TTF-1-, CDX2, Her2/neu+ (рак молочной железы). На рис. 2 представлен случай с плоскоклеточным фенотипом опухоли.

Выявленные при ИГХ-исследовании первичные очаги впоследствии были подтверждены во всех случаях инструментальными методами при направленном поиске рака молочной железы, легкого (в том числе 1 случай плоскоклеточного рака легкого) и мочевыделительной системы.

Таким образом, у всех 7 пациентов удалось идентифицировать первичный очаг опухоли на основании ИГХ-панели, включающей цитокератины, EMA, GFAP, S-100, Vimentin, p63, TTF-1, UPIII, CDX2 и Her2/neu. В данной выборке, в которой новообразования головного мозга на светооптическом уровне были представлены солидным ростом эпителиоидных клеток, рак легких и рак мочевыделительной системы оказались наиболее частыми источниками метастазов.

Обсуждение. Мы применили систематический подход к ИГХ-верификации образцов опухолей вещества головного мозга и определили первичный очаг метастазов на основании полученных ИГХ-фенотипов, а также подтвердили его в дальнейшем инструментально. Для этого последовательно выявляли наличие или отсутствие антигенов, наиболее свойственных астроцитомам головного мозга, злокачественным опухолям эпителиального происхождения, аденокарциноме легкого, раку молочной и щитовидной желез, прямой кишки, шейки матки, мочевыделительной системы, а также плоскоклеточному раку и меланоме. Специфические маркеры были использованы в следующей последовательности.

На *первом этапе* диагностический поиск включал окрашивание на GFAP и EMA — маркеры, часто применяемые для первичной дифференциации первичных и вторичных опухолей ЦНС, при условии эпителиального происхождения последних. GFAP — глиальный фибриллярный кислотный белок, экспрессируется в клетках глиального происхождения как в нормальной нервной ткани, так и в астроцитах и эпендимомах [6]. EMA — эпителиальный мембранный антиген, напротив, представлен в эпителиоцитах, в том числе опухолевой природы, в некоторых случаях может экспрессироваться клетками меланомы [6]. В нашем исследовании фенотип GFAP-, EMA+ подтвердил вторичную природу опухолей.

Хотя клон антител СКАЕ1/3 дает положительное окрашивание цитоплазмы в опухолях широкого спектра, в том числе ряда аденокарцином, нейроэндокринных опухолей, тимомы и мезотелиомы [6], его использование совместно с EMA повышает достоверность ИГХ-панели при выявлении эпителиальных опухолей [7], в связи с чем он и был выбран нами как третий иммуномаркер.

На *втором этапе* дифференциальной диагностики для определения опухолей мезенхимального происхождения использовали Vimentin — белок промежуточных филаментов, который экспрессируется в клетках мезенхимального происхождения, таких как фибробласты, эндотелиоциты, гладкомышечные клетки, меланоциты, Т- и В-лимфоциты, а также в ряде карцином [6]. Также для верификации нейроэктодермальных опухолей, в частности меланомы, шванномы и нейрофибромы, окрашивали образцы антителами к S-100. В то же время использованная нами комбинация СКАЕ1/3, Vimentin и S-100 в ИГХ-панели позволила исключить ряд карцином с особым фенотипом СКАЕ1/3+, Vimentin+, S 100-, в том числе эндометриоидный и почечно-клеточный рак, рак щитовидной железы, а также саркоматоидную карциному [7].

Заключительным этапом была прицельная дифференциация карцином различной локализации и мезотелиомы. Для этого были взяты следующие маркеры: CK5/6, p63, CK7, CDX2, TTF-1, UPIII, Her2/neu.

На основании реакции с антителами к CK5/6 — основным (ацидофильным) цитокератинам, встречающимся в плоскоклеточных и уротелиальных карциномах, мезотелиоме и базальном слое эпителия в норме [7], — образцы были разделены на CK5/6-отрицательные аденокарциномы и CK5/6-положительные карциномы. Во второй группе маркирование на p63 использовали для дифференциации с мезотелиомой, не экспрессирующей данный белок [7].

CK7 — основной низкомолекулярный цитокератин, выявляемый в карциномах широкого спектра. В настоящем исследовании маркер позволил детализировать иммунофенотип плоскоклеточного рака, а также был использован для дальнейшей дифференциальной диагностики CK5/6-негативных опухолей. Так, диагностическим является отрицательный результат для колоректального рака, как правило, в комбинации с положительной реакцией на CK20 [8]. Для окончательного исключения рака прямой кишки из пула первичных очагов образцы окрашивали на CDX2 — транскрипционный фактор, специфичный для эпителия кишечного типа; хотя он и уступает по специфичности CK7/CK20-фенотипированию, тем не менее является высокочувствительным маркером аденокарциномы кишки [8].

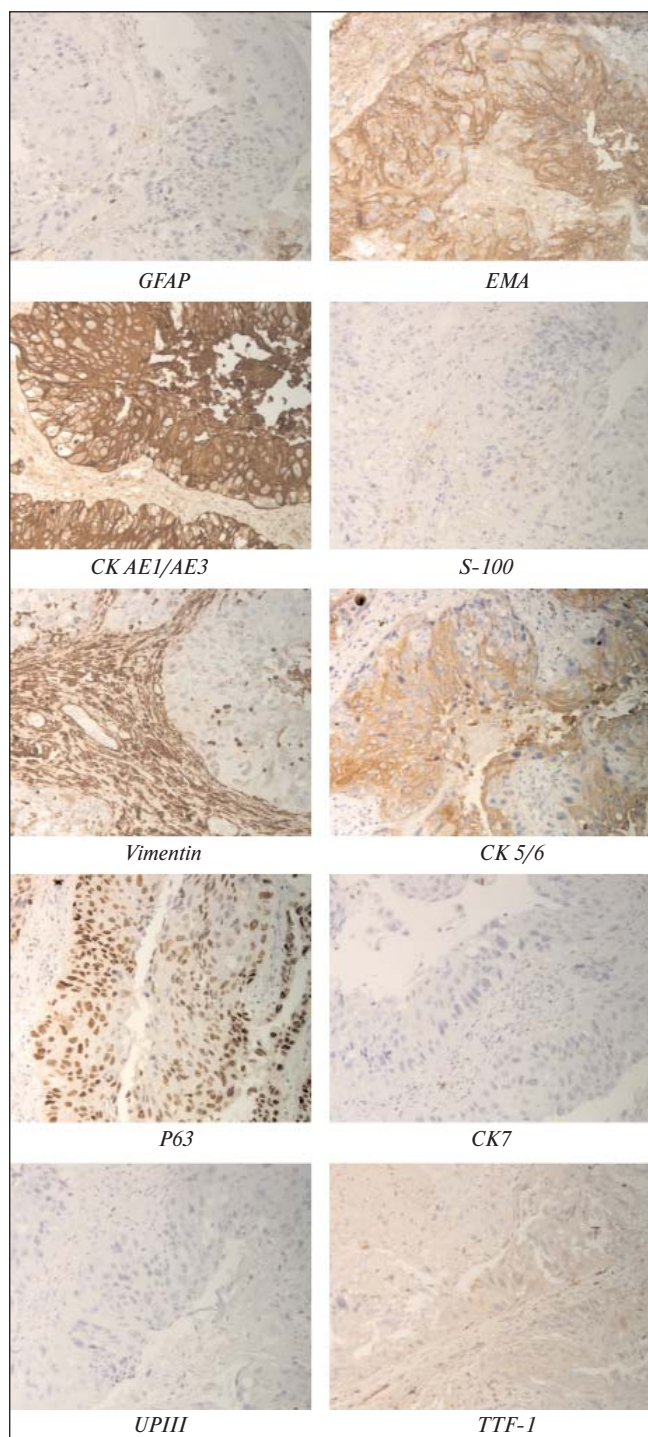


Рис. 2. Пациент Р., 52 лет. Результаты ИГХ-исследования метастаза головного мозга с плоскоклеточным фенотипом. Антитела к маркерам: EMA (эпителиальный мембранный антиген), GFAP (глиальный фибриллярный кислотный белок), CK (цитокератины), TTF-1 (тиреоидный транскрипционный фактор 1), UPIII (уроплакин III). Докрашивание гематоксилином, $\times 200$

Наиболее высокая частота положительного иммуномаркирования TTF-1 характерна для рака легкого и щитовидной железы [9, 10]. В данной работе ИГХ-окрашивание образцов указало на первичный очаг в органах дыхания,

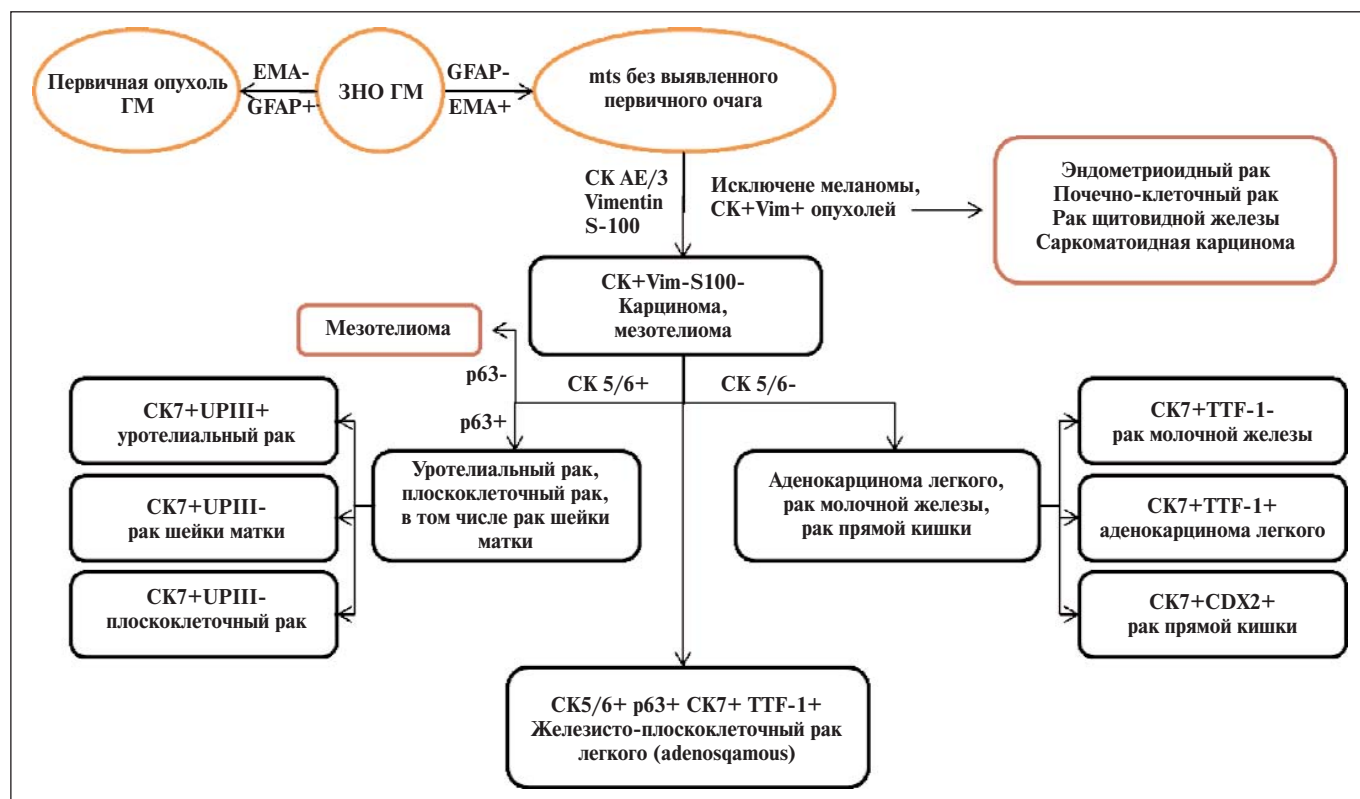


Рис. 3. Алгоритм дифференциально-диагностического иммунофенотипирования рака головного мозга. ГМ – головной мозг; mts – метастаз; Vim – виментин; CDX2 – каудальный гомеобокс 2-го типа; УРПН – уроплакин III; «–» – негативное окрашивание; «+» – позитивное окрашивание. Остальные обозначения те же, что и на рис.2

так как щитовидная железа была исключена на предыдущих стадиях иммунофенотипирования. УРПН – мембранный белок, специфичный для дифференцированного уротелия и, соответственно, люминального подтипа уротелиальной карциномы [11], – позволил выделить в группе CK5/6-отрицательных карцином рак мочевыделительной системы.

При раке молочной железы определение Her2-статуса, как правило, проводят после гистологической верификации опухоли, что определяет дальнейшую тактику ведения больных. В настоящем исследовании маркер был использован для диагностического поиска на основании данных о тенденции Her2+ рака молочной железы к раннему метастазированию в ЦНС, что также может сопровождаться ER-негативностью [12, 13].

Таким образом, мы последовательно подтвердили вторичную природу опухоли (GFAP-) и ее эпителиальное происхождение (EMA+, SKAE1/3+), исключили меланому (S-100-) и сузили объем дифференциальной диагностики до фенотипа CK+, Vim-, S-100-. Далее мы разделили образцы на CK5/6+ и CK5/6- группы, в первой из которых исключили мезотелиому, установив положительный статус белка

p63, во второй – колоректальный рак, определив высокую CK7- и низкую CDX2-экспрессию. Положительная реакция с антителами к CK7 в 5 препаратах также исключала плоскоклеточный рак, кроме эктоцервикса. УРПН позволил установить уротелиальную локализацию опухолей, TTF-1 – легочную, а Her2/neu подтвердил наиболее вероятный источник CK5/6-, CK7+, TTF-1-, CDX2- опухоли – молочную железу.

Наблюдаемый в 1 случае фенотип CK5/6+, p63+, CK7-, УРПН-, TTF-1- был интерпретирован как плоскоклеточный рак легкого, поскольку наиболее частым источником метастазов в головном мозге является именно эта локализация [3]. Существуют данные о возможности детекции экспрессии TTF-1 в клетках плоскоклеточного рака легкого, однако для этого необходима специализированная высокочувствительная система [14]. Так как мы использовали стандартный метод ИГХ, негативная реакция в образце закономерна.

Заключение. Данный подход к иммуногистохимической диагностике может повысить ее эффективность при использовании совместно с клиническими данными для верификации первичного очага.

ЛИТЕРАТУРА

1. Davis FG, Dolecek TA, McCarthy BJ, et al. Toward determining the lifetime occurrence of metastatic brain tumors estimated from 2007 United States cancer incidence data. *Neuro*

Oncol. 2012 Sep;14(9):1171-7. doi: 10.1093/neuonc/nos152. Epub 2012 Aug 16.
2. Gavrilovic I, Posner J. Brain metastases: epidemiology and pathophysiology. *J Neurooncol.*

2005 Oct;75(1):5-14. doi:10.1007/s11060-004-8093-6.

3. Fox B, Cheung V, Patel A, et al. Epidemiology of Metastatic Brain Tumors.

- Neurosurg Clin N Am.* 2011 Jan;22(1):1-6, v. doi: 10.1016/j.nec.2010.08.007.
4. Sharma P, Trivedi P, Shah MJ. Evaluation of central nervous system metastases with immunohistochemistry correlation. *Indian J Pathol Microbiol* 2014;57:376-9.
 5. Fink KR, Fink JR. Imaging of brain metastases. *Surg Neurol Int.* 2013 May 2;4(Suppl 4): S209-19. doi: 10.4103/2152-7806.111298. Print 2013.
 6. Jaiswal S. Role of immunohistochemistry in the diagnosis of central nervous system tumors. *Neurol India.* 2016 May-Jun;64(3):502-12. doi: 10.4103/0028-3886.181547.
 7. Lin F, Liu H. Immunohistochemistry in undifferentiated neoplasm/tumor of uncertain origin. *Arch Pathol Lab Med.* 2014 Dec;138(12): 1583-610. doi: 10.5858/arpa.2014-0061-RA.
 8. Bayrak R, Haltas H, Yenidunya S. The value of CDX2 and cytokeratins 7 and 20 expression in differentiating colorectal adenocarcinomas from extraintestinal gastrointestinal adenocarcinomas: cytokeratin 7-/20+ phenotype is more specific than CDX2 antibody. *Diagn Pathol.* 2012 Jan 23;7:9. doi: 10.1186/1746-1596-7-9.
 9. Ordonez NG. Value of thyroid transcription factor-1 immunostaining in tumor diagnosis: a review and update. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2012 Oct;20(5):429-44. doi:10.1097/PAI.0b013e31825439bc.
 10. Sinna EA, Ezzat N, Sherif GM. Role of thyroid transcription factor-1 and P63 immunocytochemistry in cytologic typing of non-small cell lung carcinomas. *J Egypt Natl Canc Inst.* 2013 Dec;25(4):209-18. doi: 10.1016/j.jnci.2013.05.005
 11. Hayashi T, Sentani K, Kakumoto S, et al. Prognostic impact of immunohistochemical classification of bladder cancer according to luminal (Uroplakin III) and basal (Cytokeratin 5/6) markers. *Eur Urol Suppl.* 2017;16(3):e681.
 12. Arslan UY, Oksuzoglu B, Aksoy S, et al. Breast cancer subtypes and outcomes of central nervous system metastases. *Breast.* 2011 Dec; 20(6):562-7. doi: 10.1016/j.breast.2011.07.017
 13. Montemurro F, Sarotto I, Casorzo L, et al. HER2 and central nervous system metastasis in patients with breast cancer. *Clin Breast Cancer.* 2004 Aug;5(3):232-4.
 14. Kashima K, Hashimoto H, Nishida H, et al. Significant Expression of Thyroid Transcription Factor-1 in Pulmonary Squamous Cell Carcinoma Detected by SPT24 Monoclonal Antibody and CSA-II System. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology.* 2014;22(2):119-24. doi:10.1097/pai.0b013e31828acad2.

Поступила 29.08.2018

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях

Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.