

*Е.В. Быстрова*¹, *С.В. Сазонов*^{1,2}, *С.Л. Леонтьев*¹
**ВЗАИМОСВЯЗЬ АМПЛИФИКАЦИИ И ЭКСПРЕССИИ ГЕНА
ТОПОИЗОМЕРАЗА 2 АЛЬФА В МОЛЕКУЛЯРНЫХ ПОДТИПАХ
РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

¹ Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург, Российская Федерация;

² Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Российская Федерация

*E. V. Bystrova*¹, *S. V. Sazonov*^{1,2}, *S. L. Leontiev*¹
**INTERRELATION OF AMPLIFICATION OF TOR2A GENE
AND EXPRESSION IN MOLECULAR SUBSTITUTIONS OF BREAST CANCER**

¹ Institute for Medical Cell Technologies, Yekaterinburg, Russian Federation;

² Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russian Federation

Резюме. Фермент Топоизомераза 2 альфа (Top2a) aberrантно экспрессируется во множестве солидных опухолей и играет важную роль в возникновении и развитии опухолевого процесса. В определенной степени уровень экспрессии Top2a отражает уровень пролиферации опухолей. По имеющимся исследованиям не выявлена статистически значимая ассоциация экспрессии Top2a со статусом гена, клиническими параметрами, такими как возраст, пол или опухолевая стадия. По данным литературы, при раке молочной железы (РМЖ) aberrации гена Top2a (амплификация/делеция) встречаются до 50% в HER2-положительных опухолях и в 2,7–8,8 % HER2-отрицательных опухолях. **Цель:** выявить наличие взаимосвязи статуса Top2a с уровнем экспрессии белка и провести сравнительный анализ различных методов гибридизации FISH и SISH с целью определения Top2a-статуса инвазивного долевого РМЖ. **Материалы и методы.** Исследовали операционный материал пациенток с диагнозом инвазивный дольковый рак молочной железы, не получавших неoadъювантную химио- и лучевую терапию. Методом иммуногистохимического окрашивания мы выявили экспрессию ER, PR, Ki-67, HER2 и Top2a. Статус гена HER2 определяли с помощью FISH, статус гена Top2a – параллельно двумя методами FISH и SISH. **Результаты.** В каждом из подтипов РМЖ мы определяли средний уровень Top2a и сравнивали этот показатель со средним уровнем в выборке (n=691). ER+/HER2- (Ki-67<20%) подтипе среднее значение Top2a было достоверно ниже среднего общего значения. В ER+/HER2- (Ki-67>20%) и ER+/HER2+ подтипах достоверных отличий не обнаружено. Уровень экспрессии Top2a в подтипах ER-/HER2+ и TN достоверно выше на 4,26% и 10,7% соответственно. При проведении методов ISH для оценки статуса гена Top2a в нашем исследовании мы получили полное соответствие результатов FISH и SISH. Амплификация гена Top2a выявлена в 15%. Среднее значение уровня экспрессии Top2a в группе с амплификацией Top2a равно 41,88±14,62, в группе без амплификации Top2a 23,59±18,7. В нашем исследовании мы получи-

Abstract. The enzyme Topoisomerase 2 alpha (Top2a) aberrant highly expressed in many solid tumours and plays an important role in the occurrence and development of tumor. To a certain extent, the level of expression of Top2a reflects the level of proliferation of tumors. According to available research revealed no statistically significant Association of expression Top2a with gene status, and clinical characteristics such as age, gender, or tumor stage. According to the literature in breast cancer (BC) Top2a gene aberrations (amplification/deletion) found up to 50% in HER2-positive tumors, and 2.7–8.8% HER2-negative tumors. **Objective:** to identify the interrelationship of the status of Top2a with the level of protein expression and comparative analysis of different methods of hybridization SISH and FISH to determine Top2a status equity invasive breast cancer. **Methods.** We studied the surgical specimens of patients diagnosed with invasive lobular breast cancer who did not receive neoadjuvant chemotherapy and radiation therapy. Method immunohistochemical staining, we detected the expression of ER, PR, Ki-67, HER2 and Top2a. The status of the HER2 gene were determined using FISH, the gene status Top2a in parallel by two methods, FISH and SISH. **Results.** Each of the breast cancer subtypes, we determined the average level Top2a and compared this figure with the average level in the sample (n=691). ER+/HER2- (Ki-67<20%) subtype average value Top2a was significantly below average General values. In ER+/HER2- (Ki-67>20%) and ER+/HER2+ subtypes, significant differences were not detected. The level of expression of Top2a in subtypes of ER-/HER2+ and TN significantly higher by 4.26% and 10.7%, respectively. When performing ISH methods for evaluating gene status Top2a in our study, we received full compliance of the results of SISH and FISH. Gene amplification Top2a identified in 15%. The average value of expression level Top2a in the group with amplification Top2a still 41.88±14.62, without amplification Top2a 23.59±18.7. In our study we got statistically significant difference between the level of expression Top2a in the two compared groups. When conducting regression analysis of the data we received, the level of correlation between expression and gene status

ли статистически значимое различие между уровнем экспрессии Top2a в двух сравниваемых группах. При проведении регрессионного анализа данных мы получили уровень корреляционной связи между экспрессией и статусом гена Top2a равным 0,34, что указывает на наличие зависимости средней силы. **Выводы.** По результатам анализа получили, что экспрессия Top2a в гормон-рецептор-негативных опухолях достоверно выше среднего уровня, а амплификация гена Top2a чаще встречается HER2-позитивных опухолях вне зависимости от уровня гормональных рецепторов.

Ключевые слова: Top2a, рак молочной железы, иммуногистохимия, *in situ* гибридизация

Top2a equal 0,34 that indicates the presence of medium-strength dependence. **Conclusions.** The results of the analysis obtained that the expression of Top2a in hormone-receptor-negative tumors was significantly above the average, and gene amplification is more common Top2a HER2-positive tumors regardless of the level of hormonal receptors. In our work we investigated the status of the Top2a gene and the level of expression of the enzyme. According to the results of the analysis, the expression of Top2a in the hormone receptor-negative tumors is significantly higher than the average level, and the amplification of the Top2a gene is more common for HER2-positive tumors, regardless of the level of the hormonal receptors.

Keywords: Top2a, breast cancer, immunohistochemistry, *in situ* hybridization

Конфликт интересов отсутствует.

There is no conflict of interest.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Сазонов Сергей Владимирович
prof-ssazonov@yandex.ru

Contact information of the author responsible for correspondence:

SergeyV.Sazonov
prof-ssazonov@yandex.ru

Дата поступления 27.07.2017

Received 27.07.2017

Образец цитирования:

Быстрова Е.В., Сазонов С.В., Леонтьев С.Л. Взаимосвязь амплификации и экспрессии гена Топоизомера 2 альфа в молекулярных подтипах рака молочной железы. Вестник уральской медицинской академической науки. 2017, Том 14, №3, с. 256–261, DOI: 10.22138/2500-0918-2017-14-3-256-261

For citation:

Bystrova E.V., Sazonov S.V., Leontiev S.L. Interrelation of amplification of TOR2A gene and expression in molecular substitutions of breast cancer. Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki = Jour. Ural Med. Acad. Science. 2017, Vol. 14, no. 3, pp. 256–261. DOI: 10.22138/2500-0918-2017-14-3-256-261 [In Russ.]

Актуальность

Амплификация гена — это увеличение числа копий ограниченной области хромосомного плеча. Основной причиной амплификации гена под постоянным действием отбора является его повышенная экспрессия, обусловленная увеличением числа копий гена [1, 2]. С другой стороны, изменение количества копий ДНК является только одним из способов изменения экспрессии гена, а экспрессия других онкогенов гораздо менее тесно связана с числом копий ДНК или амплификацией. Другие механизмы регулирования экспрессии могут быть посттранскрипционными, посттрансляционными или включать изменение экспрессии генов на других уровнях. Таким образом, наличие амплификаций гена не всегда приводит к его сверхэкспрессии, но может служить индикатором геномной нестабильности опухолевого процесса, что представляет собой показатель плохого прогноза пациента.

Top2a — ядерный фермент с молекулярной массой 170 кДа. Фермент, связываясь с ДНК, образует временный разрыв обеих нитей ДНК что приводит к модификации третичной структуры двойной спирали. Фермент больше экспрессируется в быстро пролиферирующих клетках, а экспрессия ограничена S, G2, M-фазами клеточного цикла. По данным литерату-

ры, Top2a в здоровых тканях экспрессируется на уровне 1–3%, при доброкачественной метаплазии 2–30% и при РМЖ 0–90% [3, 4].

Фермент Top2a аберрантно экспрессируется во множестве солидных опухолей и играет важную роль в возникновении и развитии опухолевого процесса. В определенной степени уровень экспрессии Top2a отражает уровень пролиферации опухолей. Высокая экспрессия Top2a в опухолевой ткани предсказывает неблагоприятный прогноз у некоторых опухолевых пациентов, а также способствует развитию метастазов в лимфатических узлах и отдаленных метастазов при злокачественных опухолях. По имеющимся исследованиям, не выявлена статистически значимая ассоциация экспрессии Top2a со статусом гена, клиническими параметрами, такими как возраст, пол или опухолевая стадия [5].

Top2a является молекулярной мишенью для некоторых важных противоопухолевых препаратов, включая антрациклины, которые являются ключевыми химиотерапевтическими агентами в лечении рака молочной железы. Эти препараты создают расщепляемый комплекс, включающий лекарственное средство, фермент и цепь ДНК. Предполагается, что расщепляемый комплекс повреждает ДНК и может индуцировать апоп-

тоз в пролиферирующих опухолевых клетках [6, 7]. Из большинства *in vitro* анализов было показано, что низкие уровни экспрессии Top2a в раковых клетках связаны с лекарственной устойчивостью, тогда как высокие уровни указывают на чувствительность [8]. Однако в ряде исследований не было обнаружено корреляции между уровнем экспрессии Top2a и чувствительностью к лекарственным средствам в клеточных линиях рака молочной железы [9].

Исключая потенциальную роль Top2a в качестве мишени для противоопухолевых препаратов, ряд исследований проанализировало ее как потенциальный прогностический маркер при РМЖ. Имеются данные, что Top2a является потенциальным молекулярным биомаркером злокачественности в гистологически нормальных тканях молочной железы [3].

Ген Top2a человека картирован на длинном плече 17 хромосомы 17q21.2. По данным литературы при РМЖ аберрации Top2a (амплификация/делеция) встречаются до 50% в HER2-положительных опухолях [10, 11], и в 2,7–8,8% HER2-отрицательных опухолях [12, 13]. Учитывая, что ген Top2a расположен на незначительном удалении от гена HER2, такая закономерность может указывать, что амплификация ERBB2 может быть первичным генетическим событием, связанным с хромосомой 17q в канцерогенезе молочной железы, а изменения Top2a являются вторичными событиями.

Цель: выявить наличие взаимосвязи статуса Top2a с уровнем экспрессии белка и провести сравнительный анализ различных методов гибридизации FISH и SISH с целью определения Top2a-статуса инвазивного долевого РМЖ.

Материалы и методы исследования

Предметом исследования являлся операционный материал пациенток с диагнозом инвазивный дольковый рак молочной железы, не получавших неoadъювантную химио- и лучевую терапию. Материал направлялся для проведения исследования из ГБУЗ СО «Свердловский областной онкологический диспансер». Материал отобранных образцов исследовался гистологическим, иммуногистохимическим, молекулярно-генетическим и статистическим методами. Исследован 691 случай инвазивного долькового рака молочной железы. Определение экспрессии ER, PR, Ki-67 и Top2a осуществлялись в автостейнере «Dako» (Дания). Определение экспрессии HER2 на клетках опухоли осуществлялось в автостейнере «Ventana» (США). Оценку реакции осуществляли на световом микроскопе «Zeiss Imager M» (Германия).

Метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) применяли для определения статуса гена HER2 и Top2a с использованием наборов HER2 FISH pharm Dx Kit (Dako, Дания) и Top2a FISH pharm Dx Kit (Dako, Дания). Результаты оценивали с помощью флуоресцентного микроскопа Zeiss Imager M1 при увеличении 1000. Количественный анализ статуса гена HER2 проводили согласно обновленным рекомендациям ASCO/CAP, 2013 г. В случае оценки статуса Top2a

оценивали соотношение красных (Top2a) и зеленых меток (Chr 17) в 60 ядрах опухолевых клеток. Статус гена определяли «без амплификации» при $0,8 \leq \text{Top2a} / \text{Chr17} \leq 2$, «с амплификацией» при $\text{Top2a} / \text{Chr17} > 2$, либо с делецией при $\text{Top2a} / \text{Chr17} < 0,8$.

Усиленная серебром гибридизацию *in situ* SISH проведена в автостейнере Ventana (США) по стандартной методике с использованием наборов Top2a SISH (Ventana). Оценку реакции осуществляли на световом микроскопе «Zeiss Imager M» (Германия). Статус Top2a оценивали соотношение черных (Top2a) и красных меток (Chr 17) в 60 ядрах опухолевых клеток. Статус гена определяли «без амплификации» $0,8 \leq \text{Top2a} / \text{Chr17} \leq 2$, с «с амплификацией» $\text{Top2a} / \text{Chr17} > 2$, либо с делецией при $\text{Top2a} / \text{Chr17} < 0,8$.

По результатам исследования формировались базы данных с использованием программы Microsoft Office Excel 2010. Статистические исследования выполнены с использованием набора программ описательной статистики и матриц корреляций в программном пакете «Statistica 10.0». Категориальные данные были проанализированы с использованием параметрических и непараметрических методов. Между изучаемыми показателями рассчитывался коэффициент корреляции.

Результаты и обсуждение

На основании имеющихся данных об экспрессии рецепторов эстрогена (ER), прогестерона (PR) и HER2/neu и рекомендаций 14 международной конференции по РМЖ (St. Gallen, 2015) все образцы были отнесены к различным молекулярным подтипам РМЖ (табл. 1): гормон-рецептор-позитивный-HER2 негативный (ER+/HER2-) — 55%, гормон-рецептор-позитивный-HER2-позитивный (ER+/HER2+) — 9%, гормон-рецептор-негативный-HER2-позитивный (ER-/HER2+) — 13%, тройной негативный подтип (ТН) — 23%.

Таблица 1
Частота встречаемости молекулярных подтипов в выборке (n=691)
Table 1

The frequency of occurrence of molecular subtypes in the sample (n=691)

Характеристика РМЖ / Characteristics of breast cancer		Экспрессия Top2a / Expression of Top2a	
Подтип РМЖ / Subtype of breast cancer		Значение абс./отн, %	Среднее значение, %
ER+/HER2-	Ki67<20%	196/28	$6,74+0,5_{\text{ТЭМП}} = 8,2$ $p < 0,05$
	Ki67>20%	186/27	$19,27+1,0_{\text{ТЭМП}} = 1,6$ $p < 0,05$
ER+/HER2+		61/9	$19,46+2,1_{\text{ТЭМП}} = 1$ $p < 0,05$
ER-/HER2+		86/13	$21,35+1,8_{\text{ТЭМП}} = 2,2$ $p < 0,05$
Тройной негативный (ТН)		162/23	$27,79+1,8_{\text{ТЭМП}} = 6,7$ $p < 0,05$
Итого		691/100	$17,09+0,6_{\text{Ткр}} = 1,96$

Для оценки достоверности различия среднего уровня экспрессии Top2a в опухолях, относящихся к различным молекулярным подтипам РМЖ, по сравнению со средним общим значением экспрессии Top2a (17,09%±0,6) использовался Т-критерий Стьюдента. Все полученные результаты собраны в табл. 1. В ER+/HER2- (Ki-67<20%) подтипе среднее значение Top2a было достоверно ниже среднего общего значения. В ER+/HER2- (Ki-67>20%) и ER+/HER2+ подтипах достоверных отличий не обнаружено. Уровень экспрессии Top2a в подтипах ER-/HER2+ и ТН достоверно выше на 4,26% и 10,7% соответственно.

Высокий уровень экспрессии Top2a в подтипе ER-/HER2+ вероятно связан с активацией MAP-киназ, участвующих в процессах транскрипции и пролиферации. Более высокий уровень Top2a в ТН подтипе РМЖ может быть дополнительно обусловлен мутациями гена BRCA1, который при нормальном функционировании индуцирует процессы убиквитинирования Top2a [14].

Амплификацию (статус) Top2a определили в 54 случаях РМЖ. FISH и SISH выполняли на всех препаратах параллельно с ИГХ-анализом. В нашем исследовании мы получили полное соответствие результатов FISH и SISH, хотя в литературе встречаются данные о незначительном расхождении результатов этих методов [15, 16]. Нужно отметить, что процесс при SISH (от порезки парафиновых блоков до анализа статуса гена) занимает меньше времени, является полностью автоматизированным и, что не менее важно, дает возможность архивировать препараты с проведенным SISH-анализом.

После проведения гибридизации *in situ* все случаи в зависимости от статуса Top2a разделены на две группы: с амплификацией «ISH+» и без амплификации «ISH-». В каждой группе определили распределение по молекулярно-генетическим подтипам РМЖ, уровень экспрессии Top2a. Проведена сравнительная оценка уровня экспрессии белка в двух группах и определена взаимосвязь между статусом гена Top2a и его экспрессией. Результаты FISH-исследований в сравнении с результатами ИГХ-анализа представлены в табл. 2.

Таблица 2
Результаты ИГХ, FISH/ SISH исследований
Table 2

Results of IHC, FISH / SISH Research

Статус Top2a / Results of IHC, FISH / SISH Research	Экспрессия Top2a / Expression of Top2a				
	Среднее значение ± стандартное отклонение	ДИ	Медиана	Мода	Мин/макс
ISH+, n=8	41,88±14,62	[29,7; 54,1]	40	30	25/60
ISH-, n=46	23,59±18,7	[18; 29]	20	10	5/70

Амплификация гена Top2a выявлена в 15% и распределена по подтипам следующим образом: 1 случай (2%) в ТН РМЖ и 7 случаев (13%) HER2-положительных опухолях ER+/HER2+ — 3 случая, ER-/HER2+ — 4 случая). По данным литературы, амплификация Top2a встречается в HER2/neu-положительных РМЖ — в 8–37% случаев (Reinholz M.M. et al., 2009; Usha L. et al., 2008); аберрации Top2a (амплификация/делеция) HER2/neu-отрицательных опухолей встречается в 2,7–8,8 % [10]. В целом, по полученным данным можем говорить о нормальном распределении уровня экспрессии и статуса Top2a в исследуемой группе.

Для проверки гипотезы на нормальное распределение данных (экспрессия Top2a) применяли непараметрические методы. Поскольку выборка имеет объем n>30 (n=54), то в этой ситуации использовали критерий Хи-квадрат Пирсона. Полученное значение критерия $\chi^2=25$ выше табличного (20,517 при p<0,001), что указывает на нормальное распределение. Для проверки характера распределения на нормальность данных в каждой из групп («ISH+», n=8; «ISH-», n=46) использовали критерий Шапиро-Уилка для малых выборок, поскольку этот критерий применим при 8<n<50. На основании полученных данных оказалось, что эмпирические распределения переменных не отличаются от нормального.

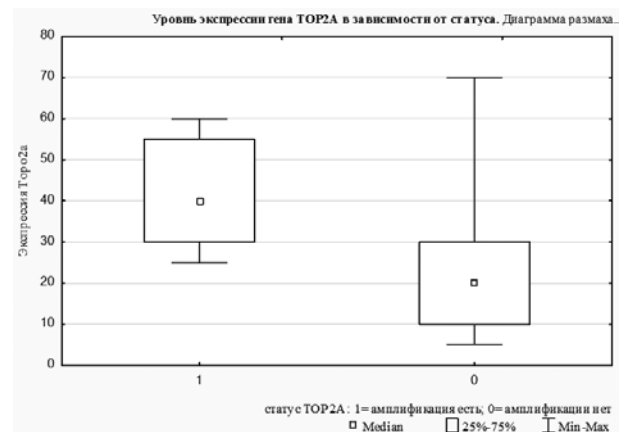


Рис. 1. Уровень экспрессии гена Top2a в зависимости от статуса

Fig. 1. The level of expression of the gene Top2a depending on the status. The diagram of scope.

С целью выявления зависимости между статусом гена Top2a и его экспрессией мы провели регрессионный анализ данных. Для количественного описания линейной зависимости между исследуемыми показателями рассчитывали коэффициент корреляции. Уровень корреляционной связи между экспрессией гена Top2a и его статусом равен 0,34, что указывает на наличие зависимости средней силы. В нашем исследовании мы получили статистически значимое различие между уровнем экспрессии Top2a в двух сравниваемых группах, подтвержденное U-критерием Манна-Уитни для независимых выборок, p<0,05 (U=67, Z=2,83, p=0,005), рисунок 1. Однако в литературе встре-

чаются данные, что экспрессия фермента Top2a в большей степени указывает на количество пролиферирующих клеток и не зависит от амплификации гена в данной ткани [10, 13].

Выводы:

1. Уровень экспрессии Top2a достоверно выше среднего общего уровня в гормон-рецептор-негативных подтипах РМЖ и достоверно ниже в ER+/HER- (Ki-67<20%) подтипе РМЖ.
2. Амплификация гена Top2a чаще встречается в HER2-позитивных опухолях РМЖ.
3. Экспрессия Top2a в клетках РМЖ имеет корреляционную связь средней силы в зависимости от статуса гена.

ЛИТЕРАТУРА

1. Albertson D.G. Gene amplification in cancer. *Trends. Genet.* 2006; 22 (8): 447–455. doi: 10.1016/j.tig.2006.06.007
2. Gajduskova P., Snijders A.M., Kwek S., et al. Genome position and gene amplification. *Genome Biology.* 2007; 8(6): 120. doi:10.1186/gb-2007-8-6-r120.
3. Мнихович М.В., Мидибер К.Ю., Галлямова А.Р., и др. Иммуногистохимическая оценка экспрессии кадгерин-катенинового комплекса при раке молочной железы. *Журнал анатомии и гистопатологии.* 2017. Т.6. №1. С.63–68.
4. Nasir A., Chen D.T., Gruidl M., et al. Novel Molecular Markers of Malignancy in Histologically Normal and Benign Breast. *Pathology Research International.* 2011; 2011: 489064. doi:10.4061/2011/489064.
5. Hou G.X., Liu P., Yang J., Wen S. Mining expression and prognosis of topoisomerase isoforms in non-small-cell lung cancer by using Oncomine and Kaplan–Meier plotter. Franco R, ed. *PLoS ONE.* 2017; 12 (3): 0174515. doi:10.1371/journal.pone.0174515.
6. Ястребов А.П., Гребнев Д.Ю., Маклакова И.Ю. Стволовые клетки, их свойства, источники получения и роль в регенеративной медицине. Екатеринбург, 2016.
7. Kauraniemi P., Barlund M., Monni O., Kallioniemi A. New amplified and highly expressed genes discovered in the ERBB2 amplicon in breast cancer by cDNA microarrays. *Cancer Res.* 2001; 61: 8235–8240.
8. Murthy S.K., Magliocco A.M., Demetrick D.J. Copy number analysis of c-erb-B2 (HER-2/neu) and topoisomerase IIalpha genes in breast carcinoma by quantitative real-time polymerase chain reaction using hybridization probes and fluorescence in situ hybridization. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2005; 129: 39–46.
9. Depowski P.L., Rosenthal S.I., Brien T.P., Stylos S., Johnson R.L., Ross J.S. Topoisomerase II α expression in breast cancer: correlation with outcome variables. *Modern Pathology.* 2000; 13: 542–47. doi: 10.1038/modpathol.3880094.
10. Usha L., Tabesh B., Morrison L.E., et al. Topoisomerase II alpha gene copy loss has adverse prognostic significance in ERBB2-amplified breast cancer: a retrospective study of paraffin-embedded tumor specimens and medical charts. *Journal of Hematology and Oncology.* 2008;1:12. doi:10.1186/1756-8722-1-12.13: 542–47.

REFERENCES

1. Albertson D.G. Gene amplification in cancer. *Trends Genet.* 2006 22 (8): 447–455. doi:10.1016/j.tig.2006.06.007
2. Gajduskova P., Snijders A.M., Kwek S., et al. Genome position and gene amplification. *Genome Biology.* 2007; 8(6): 120. doi:10.1186/gb-2007-8-6-r120.
3. Mnichovich M.V., Midib K.Yu., Galliamova A.R., et al. Immunohistochemical evaluation of cadherin-catenin complex expression in breast cancer. *Journal of Anatomy and Histopathology.* 2017. Vol. 6. No. 1. pp. 63–68. [In Russ.].
4. Nasir A., Chen D.T., Gruidl M., et al. Novel Molecular Markers of Malignancy in Histologically Normal and Benign Breast. *Pathology Research. International.* 2011; 2011: 489064. doi:10.4061/2011/489064.
5. Hou G.X., Liu P., Yang J., Wen S. Mining expression and prognosis of topoisomerase isoforms in non-small-cell lung cancer by using Oncomine and Kaplan–Meier plotter. Franco R., ed. *PLoS ONE.* 2017;12(3):e0174515. doi:10.1371/journal.pone.0174515.
6. Yastrebov A.P., Grebnev D.Y., Maklakova I.Y. The stem cells, their properties, and the sources of the role in regenerative medicine [Stvolovie kletki, ih raznovidnosti i roli v regenerativnoi meditsine]. Ekaterinburg, 2016, [In Russ.].
7. Kauraniemi P., Barlund M., Monni O., Kallioniemi A. New amplified and highly expressed genes discovered in the ERBB2 amplicon in breast cancer by cDNA microarrays. *Cancer Res.* 2001; 61: 8235–8240.
8. Murthy S.K., Magliocco A.M., Demetrick D.J. Copy number analysis of c-erb-B2 (HER-2/neu) and topoisomerase IIalpha genes in breast carcinoma by quantitative real-time polymerase chain reaction using hybridization probes and fluorescence in situ hybridization. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2005; 129: 39–46.
9. Depowski P.L., Rosenthal S.I., Brien T.P., Stylos S., Johnson R.L., Ross J.S. Topoisomerase II α expression in breast cancer: correlation with outcome variables. *Modern Pathology.* 2000; 13: 542–47. doi: 10.1038/modpathol.3880094.
10. Usha L., Tabesh B., Morrison L.E., et al. Topoisomerase II alpha gene copy loss has adverse prognostic significance in ERBB2-amplified breast cancer: a retrospective study of paraffin-embedded tumor specimens and medical

11. Varga Z., Moelans C.B., Zuerrer-Hardi U., et al. Topoisomerase 2A gene amplification in breast cancer. Critical evaluation of different FISH probes. *Breast Cancer Res. Treat.* 2012; 133(3): 929-35. doi: 10.1007/s10549-011-1873-8.
12. Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Изменение рецепторного статуса в группах пролиферативной активности карцином молочной железы. *Вестник Уральской медицинской академической науки* 2013, 1 (43): 61-63.
13. Bouchalova K., Cizkova M., Cwiertka K., et al. Triple negative breast cancer current status and prospective targeted treatment based on HER1 (EGFR), TOP2A and C-MYC gene assessment. *Biomed Pap. Med. Fac. Univ. Palacky. Olomouc. Czech Repub.* 2009, 153(1):13–18
14. Hicks D.G., Yoder B.J., Pettay J., et al. The incidence of topoisomerase II-alpha genomic alterations in adenocarcinoma of the breast and their relationship to human epidermal growth factor receptor-2 gene amplification: a fluorescence in situ hybridization study. *Hum. Pathol.* 2005; 36: 348–56. doi: 10.1016/j.humpath.2005.01.016.
15. Арутюнян Е.В., Бриллиант А.А., Новикова Е.А., Сазонов С.В. Некоторые закономерности экспрессии иммуногистохимических маркеров на клетках карциномы молочной железы. *Уральский медицинский журнал* 2014, 2(116). 5-8.
16. Konyshov K., Kazantseva N., Sazonov S. Change of HER-2/neu protein expression level and HER-2 status in local metastases of breast cancer with its equivocal (2+). *European Journal of Pathology (Virchows Archiv)*, 2017: 471 (1), S. 295-296.
- charts. *Journal of Hematology and Oncology.* 2008; 1:12. doi:10.1186/1756-8722-1-12.
11. Varga Z., Moelans C.B., Zuerrer-Hardi U., et al., Topoisomerase 2A gene amplification in breast cancer. Critical evaluation of different FISH probes. *Breast Cancer Res. Treat.* 2012 ; 133 (3): 929-35. doi: 10.1007/s10549-011-1873-8.
12. Brilliant A.A., Sazonov S.V. Changing the receptor status Group proliferative activity of breast carcinomas. *Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki = Jour. Ural Med. Acad. Science.* 2013, no. 1 (43), pp. 61-63, [In Russ.].
13. Bouchalova K., Cizkova M., Cwiertka K., Trojanec R., Hajduch M. Triple negative breast cancer current status and prospective targeted treatment based on HER1 (EGFR), TOP2A and C-MYC gene assessment. *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech Repub.* 2009, 153(1): 13–18
14. Hicks D.G., Yoder B.J., Pettay J., et al. The incidence of topoisomerase II-alpha genomic alterations in adenocarcinoma of the breast and their relationship to human epidermal growth factor receptor-2 gene amplification: a fluorescence in situ hybridization study. *Hum Pathol.* 2005; 36:348–56. doi:10.1016/j.humpath.2005.01.016.
15. Arutyunyan E.V., Brilliant A.A., Novikova E.A., Sazonov S.V. Some expression patterns immunohistochemical markers on cells of breast carcinoma [Expressia immunogistohimicheskikh markerov na kletkah karcinomi grudi]. *Ural Medical Journal = Uralski Medicinski Jurnal.* 2014, no. 2 (116), pp. 5-8. ([In Russ.].
16. Konyshov K., Kazantseva N., Sazonov S. Change of HER-2/neu protein expression level and HER-2 status in local metastases of breast cancer with its equivocal (2+). *European Journal of Pathology (Virchows Archiv)*, 2017: 471 (1), S. 295-296.

Авторы

Быстрова Екатерина Владимировна
Институт медицинских клеточных технологий
Научный сотрудник патолого-анатомического отделения
Российская Федерация, 620026, Екатеринбург, ул. Карла Маркса, д. 22 а
imct@celltechnologies.ru

Сазонов Сергей Владимирович

Институт медицинских клеточных технологий
Профессор, д.м.н., заведующий патолого-анатомическим отделением
Российская Федерация, 620026, Екатеринбург, ул. Карла Маркса, д. 22 а
prof-ssazonov@yandex.ru

Леонтьев Сергей Леопольдович

Институт медицинских клеточных технологий
Профессор, д.м.н., главный врач
Российская Федерация, 620026, Екатеринбург, ул. Карла Маркса, д. 22 а
imct@celltechnologies.ru

Autors

Ekaterina V. Bystrova
Institute for Medical Cell Technologies
Researcher of the Pathological and Anatomical Department
Karl Marx street, 22A, Yekaterinburg, 620026, Russian Federation
imct@celltechnologies.ru

SergeyV.Sazonov

Institute for Medical Cell Technologies
Professor, Dr. Sci.(Med), Head of Pathology and Anatomy Department
Karl Marx street, 22A, Yekaterinburg, 620026, Russian Federation
prof-ssazonov@yandex.ru

SergeyL.Leontiev

Institute for Medical Cell Technologies
Professor, Dr. Sci.(Med), Head of Institute of Medical Cell Technologies
Karl Marx street, 22A, Yekaterinburg, 620026, Russian Federation
imct@celltechnologies.ru