

С.В. Сазонов

ОСНОВНЫЕ ИТОГИ РЕАЛИЗАЦИИ ПРОЕКТА РОССИЙСКОГО ОБЩЕСТВА ПАТОЛОГОАНАТОМОВ ПО ОБЕСПЕЧЕНИЮ КАЧЕСТВА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В УРАЛЬСКОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Институт медицинских клеточных технологий, г. Екатеринбург, Российская Федерация;
Уральский государственный медицинский университет, г. Екатеринбург, Российская Федерация

S. V. Sazonov

MAIN OUTCOMES OF THE PROJECT OF THE RUSSIAN SOCIETY OF PATHOLOGANATOMS ON THE QUALITY OF MOLECULAR-GENETIC DIAGNOSTICS OF BREAST CANCER IN THE URAL FEDERAL DISTRICT OF THE RUSSIAN FEDERATION

Institute of Medical Cell Technologies, Yekaterinburg, Russian Federation;
Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russian Federation

Резюме. *Цель исследования* — подвести итоги работы системы референсной молекулярно-генетической диагностики рака молочной железы на территории Уральского федерального округа, эффективность системы обеспечения качества HER2 тестирования в 2008–2016 гг.

Материалы и методы. Молекулярно-биологические исследования в рамках проекта проводились в 11 иммуногистохимических лабораториях учреждений здравоохранения Уральского федерального округа. Всего лабораториями, включенными в систему проведения референса за годы реализации программы проведены ИГХ исследования 37.800 пациенткам с раком молочной железы. Референсные иммуногистохимические исследования уровней экспрессии рецепторов Estrogen, Progesterone, Ki67 и HER2 осуществлялись с использованием автостейнера “DAKO” (Дания). Предварительно гистологические срезы обрабатывались в блоке подготовки материала “LINK DAKO Cytomation» (Дания). Молекулярно-биологические исследования по выявлению наличия амплификации гена HER2 проводились на автостейнере экспертного класса Ventana autostainer Benchmark GX (universal staining system, США) с использованием INFORM HER2 Dual ISH DNA (Ventana) в модификации SISH dual color.

Результаты. Всего за годы реализации проекта (2008–2016 гг.) лабораториями-участниками выполнено около 40 тыс. иммуногистохимических и 4,7 тыс. молекулярно-генетических исследований рака молочной железы. При проведении референсных исследований в Центральной референсной лаборатории случаев с определением HER2 тестирования из региональной референсной лаборатории второго просмотра Уральско-

Abstract. Purpose: To sum up the work of the system of reference molecular genetic diagnosis of breast cancer in the territory of the Urals Federal District, the effectiveness of the quality assurance system HER2 testing in 2008-2016. **Material and methods.** Molecular-biological studies within the framework of the project were conducted in 11 immunohistochemical laboratories of public health institutions of the Urals Federal District. In total, the laboratories included in the reference system for the years of program implementation conducted IHH studies of 37,800 patients with breast cancer. Reference immunohistochemical studies of the expression levels of the Estrogen, Progesterone, Ki67 and HER2 receptors were performed using the DAKO auto-stainer (Denmark). Prehistoric sections were processed in the pre-treatment block of the «LINK DAKO Cytomation» material (Denmark). Molecular and biological studies on the detection of the presence of amplification of the HER2 gene were carried out on the Ventane autostainer benchmark GX (universal staining system, USA) using INFORM HER2 Dual ISH DNA (Ventana) in the SISH dual color modification. **Results.** In total, during the years of project implementation (2008–2016), about 40,000 immunohistochemical and 4,700 molecular-genetic studies of breast cancer were performed by laboratories. In conducting reference studies in Central reference laboratory cases the definition of HER2 testing of regional reference laboratories second viewing UFD found that in 95% of cases the result of the expression levels during the reference research has been confirmed, suggesting that the concordance of the data and sufficient efficiency of its work as a reference laboratory of the second revision. Molecular genetic studies of patients with material Her2/neu expression level — during 2+

го федерального округа установлено, что в 95% случаев результат уровней экспрессии при проведении референсных исследований был подтвержден, что позволяет говорить о конкордантности получаемых данных и достаточной эффективности ее работы как референс-лаборатории второго пересмотра. Проведенные молекулярно-генетические исследования материала пациентов с уровнем экспрессии Her2/neu - 2+ при проведении среди таких пациентов методом ISH в 27% случаев позволили обнаружить увеличение среднего количества копий (амплификации) гена Her2/neu хромосомы 17 в ядрах опухолевых клеток, что привело к увеличению числа пациентов с положительным HER2 статусом. Постоянный внутрилабораторный контроль качества проводимых молекулярно-генетических исследований является одним из наиболее важных факторов, гарантирующих качество работы отдельно взятой лаборатории. Система внешнего контроля качества дает возможность объективно оценить результаты работы разных лабораторий, определить причину выявленных несоответствий и дать рекомендации по их устранению.

Ключевые слова: рак молочной железы, иммуногистохимические исследования, HER2 тестирование, молекулярно-биологические исследования, ISH-метод, референсные исследования, контроль качества диагностики

among such patients ISH method in 27% of cases have revealed an increase in the average number of copies (amplification) Her2/neu gene of chromosome 17 in the nuclei of tumor cells, leading to increase in the number of patients with a positive HER2 status. Constant within the laboratory quality control of conducted molecular genetic studies is one of the most important factors guaranteeing the quality of the work of a single laboratory. The system of external quality control makes it possible to objectively evaluate the results of the work of different laboratories, determine the cause of the detected nonconformities and provide recommendations for their elimination.

Keywords: breast cancer, immunohistochemical studies, HER2 testing, molecular biological studies, ISH-method, reference studies, quality control diagnostics

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:

Sergey V. Sazonov
prof-SSazonov@yandex.ru

Дата поступления 06.07.2018

Received 06.07.2018

Образец цитирования:

Сазонов С.В. Основные итоги реализации проекта Российского общества патологоанатомов по обеспечению качества молекулярно-генетической диагностики рака молочной железы в Уральском федеральном округе Российской Федерации. Вестник уральской медицинской академической науки. 2018, Том 15, №4, с. 594–606, DOI: 10.22138/2500-0918-2018-15-4-594-606

For citation:

Sazonov S.V. Main outcomes of the project of the Russian society of Pathologanatoms on the quality of molecular-genetic diagnostics of breast cancer in the Ural federal district of the Russian Federation. Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2018, Vol. 15, no. 4, pp. 594–606. DOI: 10.22138/2500-0918-2018-15-4-594-606 (In Russ)

Первые полученные результаты контроля качества морфологической диагностики опухолей, проведенные в Российской Федерации, по данным проф. Франка Г.А. и др., 2012, говорят о наличии неточностей при формулировке морфологических заключений в 5–71% всех случаев, а также наличие существенных дефектов в методике проведения иммуногистохимических исследований [1]. Неточности в диагностике рака молочной железы (РМЖ) сопровожда-

ются последующими ошибками в назначении химиотерапии, определении прогноза заболевания, в конечном итоге — существенными материальными потерями и ухудшением качества жизни пациентов [2, 3, 4]. Одним из возможных путей решения этой проблемы является внедрение в патологической анатомии системы обеспечения качества проводимых молекулярно-биологических исследований, основанной на создании референсных лабораторий в субъектах Россий-

ской Федерации [5].

Региональная референсная лаборатория (лаборатория второго просмотра) создается на базе молекулярно-генетической лаборатории патолого-анатомического отделения учреждения здравоохранения, научно-исследовательского института или кафедры патологической анатомии, обладающей в своем арсенале двумя специальными методами исследования [3]: иммуногистохимическим (метод позволяет определять уровень экспрессии рецептора в ядрах или на поверхности мембран опухолевых клеток) и *in situ hybridization* (ISH — молекулярно-генетический метод, позволяющий определять наличие амплификации мутантного гена в ядре опухолевой клетки). Иммуногистохимический (ИГХ) метод нашел широкое применение в связи с тем, что повседневно используется для оценки экспрессии многих белков и рецепторов, и может быть выполнен на срезах парафиновых блоков ткани, фиксированной формалином. При несомненных достоинствах ИГХ метода: легкой воспроизводимости и относительной дешевизне, он имеет и некоторые недостатки. Так, возможны ложнопозитивные результаты, обусловленные техническим несовершенством метода, кроме того, например, гиперэкспрессия Her2 при РМЖ может быть несвязанной с амплификацией гена. Возможны и ложноотрицательные результаты теста. В некоторых случаях, после заливки в парафин, ткани опухоли могут терять рецепторы на поверхности мембраны и утрачивать способность давать специфическое окрашивание при проведении ИГХ-исследования. При должной стандартизации методик данные ИГХ-исследования как при Her2-негативном (категории 0 и 1+), так и Her2-позитивном РМЖ (категория 3+) подтверждаются результатами ISH. В лаборатории LabCorp соответствие результатов двух методов отмечали у 89% пациентов. У 4% пациентов Her2-позитивность по результатам ИГХ-исследования (категория 3+) не подтвердилась результатами ISH [6, 7].

Некоторую проблему составляют случаи РМЖ, относящиеся к категории сомнительных (неоднозначных) по данным ИГХ-исследования. В 15% случаев десять и более процентов клеток инвазивного рака демонстрируют полное, однако неравномерное окрашивание. Очень редко отмечают вариант интенсивного окрашивания всей мембраны в 10 и менее процентах опухолевых клеток. Эти случаи относят к категории 2+, а результат расценивают как неоднозначный. Проведенные крупные многоцентровые исследования продемонстрировали, что только в части случаев (от 12 до 24%), относящихся к категории 2+, при ISH выявляется амплификация гена и они являются в действительности Her2-позитивными, что делает необходимым проведение исследования РМЖ в два этапа [8].

С 2006 г. в Российской Федерации под эгидой Рос-

сийского общества патологоанатомов (РОП) для обеспечения качества проводимых молекулярно-биологических исследований при диагностике РМЖ было запущено первое мультицентровое исследование в соответствии с Протоколом «HER2 Screening Program ML 19870» [9, 10]. ИГХ исследования проводились в 89 лабораториях, включая 6 референсных центров по всей стране. К 2014 г. в Российской Федерации по Программе было выполнено более 250 тыс. иммуногистохимических исследований. Если молекулярно-биологические исследования в 2007 г. выполнялись в двух лабораториях (за год выполнено 335 исследований), то в 2011 г. уже в 14 лабораториях выполнено 3862 исследования [1]. С 2008 г. к указанному проекту подключилась лаборатория молекулярно-биологических исследований патолого-анатомического отделения Института медицинских клеточных технологий Министерства здравоохранения Свердловской области (г. Екатеринбург) в качестве референсной лаборатории Уральского Федерального округа (УрФО). В проект вошли 11 иммуногистохимических лабораторий первого просмотра из учреждений здравоохранения УрФО. В 2016 г. в иммуногистохимических лабораториях учреждений здравоохранения УрФО проведено 5.642 ИГХ и 632 ISH исследований.

Материалы и методы

Учитывая, что молекулярно-генетические исследования проводятся не во всех патолого-анатомических отделениях учреждений здравоохранения УрФО, референс (пересмотр) тестирования HER2 РМЖ осуществлялся в соответствии со следующим алгоритмом:

1. На первом этапе в лаборатории первого просмотра проводился скрининг с использованием ИГХ-метода: ИГХ 3+ случаи рассматривали как позитивные, ИГХ 0/1+ как негативные.

2. В отношении Her2/neu 2+ случаев проводилось повторное тестирование в региональной референс-лаборатории с использованием метода ИГХ, при подтверждении результата — с использованием метода ISH, позволяющего оценить количество копий гена Her2/neu и исключить наличие полисомии по хромосоме 17.

Только при наличии заключения из референс-лаборатории решался вопрос о назначении пациентке соответствующей химиотерапии [3, 10].

Метод выявления наличия амплификации гена — гибридизация *in situ* (ISH) — является золотым стандартом в диагностике Her2-позитивных РМЖ. Метод позволяет оценить количество копий гена в клетке, а более совершенные его варианты — флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) или SISH — определить количество хромосом 17. Считается, что результат теста является положительным, если соотношение

среднего количества копий гена Her2 и среднего числа центромер хромосомы 17 в клетке превышает 2,2 [11, 13].

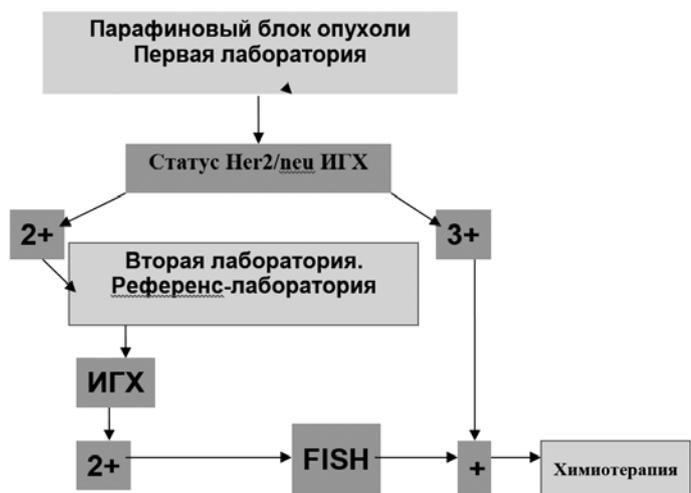


Рис. 1. Схема проведения молекулярно-биологических исследований рака молочной железы в лаборатории первого просмотра и референсной лаборатории второго просмотра

Figure 1. Scheme of carrying out molecular biological studies of breast cancer in the laboratory of the first viewing and reference laboratory of the second viewing.

Приемлемой для стандартизованной ИГХ лаборатории частота ложнонегативных результатов принята за 5%. Лабораториям рекомендуется проводить параллельную оценку статуса Her2/neu с использованием ИГХ-метода и ISH до тех пор, пока у менее 5% пациентов, относящихся по данным ИГХ-исследования к категории 0/1+, результаты окажутся позитивными

при проведении ISH-теста [10].

В работе по проведению референсных исследований по обеспечению качества молекулярно-генетических исследований РМЖ в 2008–2016 гг. принимало участие 11 патолого-анатомических отделений из учреждений здравоохранения УрФО (рис. 2):

1. Референс-лаборатория УрФО — молекулярно-генетическая лаборатория патолого-анатомического отделения ГАУЗ СО ИМКТ, г. Екатеринбург, Свердловская область.

2. ГБУЗ СОПАБ, лаборатория иммуногистохимии, г. Екатеринбург, Свердловская область.

3. ГБУЗ ОДКБ, иммуногистохимическая лаборатория Областного детского онко-гематологического центра, г. Екатеринбург, Свердловская область.

4. ГБУЗ СО ООД №2, патологоанатомическое отделение, г. Нижний Тагил, Свердловская область.

5. ГБУЗ СО ООД №3, патологоанатомическое отделение, г. Каменск-Уральский, Свердловская область;

6. ГБУЗ ЧОКОД, патологоанатомическое отделение, г. Челябинск, Челябинская область.

7. ГБУЗ ЧОПАБ, лаборатория иммуногистохимии, г. Челябинск, Челябинская область.

8. ГБУЗ ТООД, патологоанатомическое отделение, г. Тюмень, Тюменская область.

9. ГБУЗ СОКБ, патологоанатомическое отделение, г. Сургут, Ханты-Мансийский автономный округ.

10. ГБУЗ НОД, патологоанатомическое отделение, г. Нижневартовск, Ханты-Мансийский автономный округ.

11. ГБУЗ ХМОКБ, патологоанатомическое отделение, г. Ханты-Мансийск, Ханты-Мансийский автономный округ.

Схема пересмотра материала (референс) больных с раком молочной железы

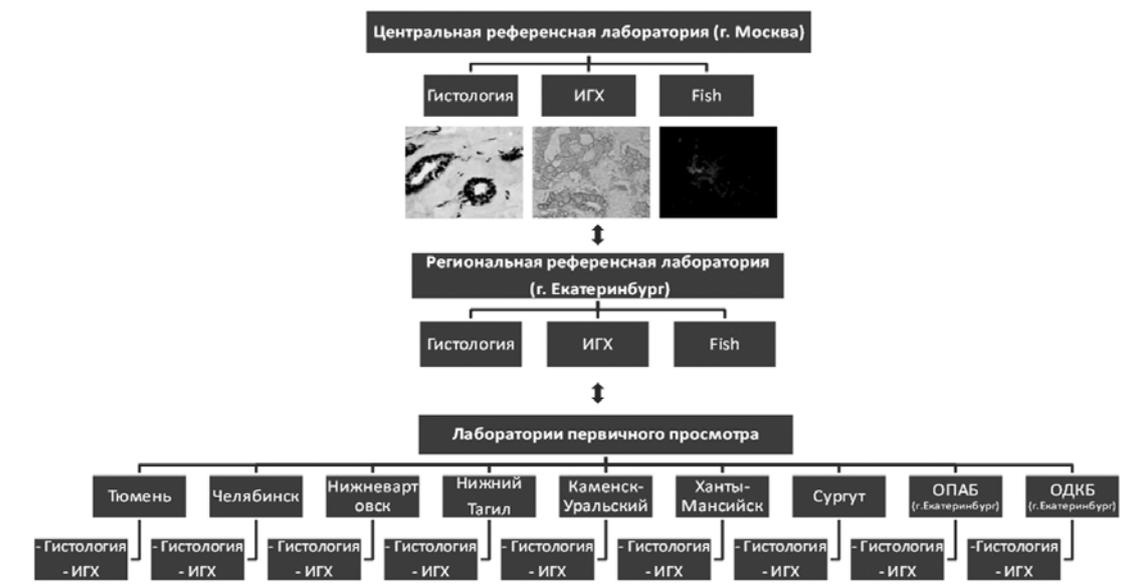


Рис. 2. Схема проведения референсных исследований рака молочной железы в УрФО

Figure 2. Scheme of conducting reference studies of breast cancer in the Urals Federal District

Для работы в региональную референсную лабораторию второго просмотра поступали готовые парафиновые блоки и стекла с проведенной в лаборатории первого просмотра иммуногистохимической реакцией и результатами оценки исследования. Референс проводился для каждого случая с неоднозначным уровнем экспрессии HER2 - 2+. Для лабораторий первого просмотра с объемом ИГХ исследований РМЖ более 250 случаев в год дополнительно на референсное исследование отправлялся каждый 20 случай независимо от его результата. Для лаборатории с объемом ИГХ исследований РМЖ менее 250 случаев в год — каждый 10 случай. Если лаборатория только начала принимать участие в программе референса, то отправлялось 100% всего протестированного материала до достижения совпадения результатов в 95% всех случаев [10].

Референсные иммуногистохимические исследования уровней экспрессии рецепторов Estrogen, Progesterone, Ki67 и HER2 осуществлялись с использованием автостейнера «DAKO» (Дания). Предварительно гистологические срезы обрабатывались в блоке подготовки материала «LINK DAKO Cytomation» (Дания).

Молекулярно-биологические исследования по выявлению наличия амплификации гена HER2 проводились на автостейнере экспертного класса Ventana autostainer Benchmark GX (universal staining system, США) с использованием INFORM HER2 Dual ISH DNA (Ventana) в модификации SISH dual color.

Оценку реакций осуществляли на световом микроскопе «Zeiss Imager M» (Германия).

Референсные исследования препаратов на ИГХ HER2 и амплификацию гена HER2 из референсной лаборатории УрФО проводились на базе Центральной референсной лаборатории — патологоанатомического отделения ФГУ Московского научно-исследовательского института им. П.А. Герцена, г. Москва, с 2012 г. — в молекулярно-генетической лаборатории кафедры патологической анатомии РАПО, г. Москва, (зав. отделением, зав. кафедрой, руководитель проекта, академик РАН, главный патологоанатом РФ, профессор Г.А. Франк).

По результатам исследования формировались базы данных с использованием программы Microsoft Office Excel 2003. Статистические исследования выполнены с использованием набора программ описательной статистики и матриц корреляций в программном пакете «Statistica 6.0.».

Результаты исследования

Динамика исследований пациенток с РМЖ по программе HER2 тестирования. Всего лабораториями, включенными в систему проведения референса за годы реализации программы проведены ИГХ ис-

следования 37.800 пациенткам с РМЖ. Если в 2008 г. проведено всего 2508 иммуногистохимических исследований пациенткам с раком молочной железы, что составило 58% от всех заболевших, то в 2016 г. проведено уже 5642 иммуногистохимических исследования, что составило 96% от всех вновь выявленных пациенток.

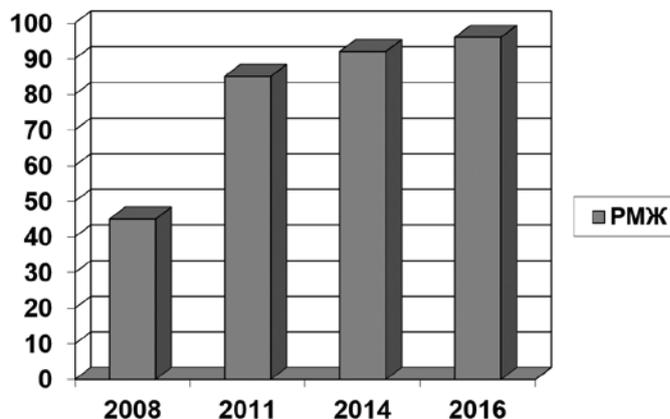


Рис. 3. Процент охвата ИГХ исследованиями пациенток с РМЖ

Figure 3. Percentage of IHC coverage by studies of breast cancer patients

Необходимо отметить, что охват пациенток с раком молочной железы HER2 тестированием в 2008 г. осуществлялся крайне неравномерно и колебался от 28 до 95 % от всех случаев в разных учреждениях УрФО. Значительно колебались и значения процента положительных результатов Her2/neu тестирования. Так, средний % протестированных и расцененных как 2+ находился в пределах от 4,0 до 32,2 в разных лабораториях. Не меньшая разница отмечалась и при анализе числа случаев с уровнем экспрессии 3+, где разброс средних результатов тестирования составлял от 4,2 до 27,2%. Это при том, что средние уровни изучаемых показателей по данным центральной референс-лаборатории должны составлять около 20% для 3+ и 10% для 2+ случаев. Этот факт говорил об отсутствии при вступлении в проект в иммуногистохимических лабораториях системы стандартизации исследований и единых подходов к оценке проводимых исследований. На результаты исследования влияло множество субъективных факторов или параметров, которые можно разделить на преаналитические, аналитические и постаналитические. К преаналитическим факторам, влияющим на результаты ИГХ исследования, можно отнести особенности фиксации, проводки и заливки материала, качество получаемых в лаборатории гистологических срезов. Под аналитическими параметрами понимают особенности протокола ИГХ исследований, применяемого в конкретной лаборатории, особенности подготовки срезов для исследования, использование реагентов для иммуноги-

стохимических исследований от разных производителей, разный методический уровень проведения исследований (автоматизированный или ручной варианты, время инкубации антител, используемые растворы с разными рН и т.д.). На постаналитическом этапе наибольшее значение имеет разный уровень квалификации и опыт персонала [2, 8, 9].

На референс для проведения иммуногистохимических исследований уровней экспрессии и проведе-

ния дополнительно молекулярно-генетических исследований для выявления амплификации гена в случаях с уровнем экспрессии Her2/neu 2+ методом ISH поступило 315 блоков пациенток с РМЖ, что составило 12,6% от всех проведенных исследований в 2008 г. (Табл. 1). Процент направленных на референс случаев значительно колебался в разных лабораториях, составляя от 2,7 до 100,0% всех случаев.

Таблица 1
Результаты иммуногистохимических и молекулярно-генетических исследований случаев, поступивших на референс

The results of immunohistochemical and molecular genetic studies of cases received in the reference

Лаборатории проекта / Project laboratories	Количество случаев ИГХ, направленных на референсное исследование / Number of cases of IHC aimed at reference research (0,1+,2+3+)		% случаев, направленных на референсное исследование / % of cases aimed at reference research		Количество ISH исследований направленных на референсное исследование / Number of ISH studies aimed at reference research		% совпадений HER2 статуса / % of HER2 matches status	
	2008 г.	2016 г.	2008 г.	2016 г.	2008 г.	2016 г.	2008 г.	2016 г.
Лаборатория 1	25	143**	2,7	7,0	15	110	95	96
Лаборатория 2*	4	71	6,5	4,0	0	0	72	100
Лаборатория 3*	94	25	11,6	7,0	0	0	64	96
Лаборатория 4*	40	124	32,0	10,0	0	0	60	93
Лаборатория 5*	57	14	100,0	1,0	0	0	86	93
Лаборатория 6*	20	12	25,7	2,0	0	14	71	90
Лаборатория 7*	25	39	11,0	11,0	0	0	77	85
Лаборатория 8*	26	1	11,5	<1	0	0	85	-
Лаборатория 9*	10	1	16,6	<1	0	0	80	100
Лаборатория 10*	25	30	21,0	15,0	0	0	64	83
Лаборатория 11*	0	36	-	9,0	-	0	57	80
ВСЕГО	315	521	12,6	7,5	15	124	73,7	91,6

Примечание: * — условный номер лаборатории, не совпадающий с порядковым номером в списке лабораторий / The conditional number of the laboratory that does not coincide with the serial number in the list of laboratories; ** — референс-исследования, проведенные в Центральной референс-лаборатории / Reference studies conducted in the Central Reference Laboratory.

Все имеющиеся случаи (100% пациенток) были направлены на пересмотр лабораторией, присоединившейся к референсным исследованиям в 2010–2012 гг. и, по договоренности, в первый год участия в референс-системе направляющей каждый случай РМЖ, исследованный ИГХ. В то же время, анализ данных по % направленных на референс случаев позволяет говорить о нарушении структуры направляемых на пересмотр случаев (все 2+ и каждый 10 случай) почти каждой лабораторией. По проценту совпадения оценки результатов ИГХ исследований при их пересмотре в 2008 г. среди иммуногистохимических лабораторий первого просмотра материала имелись значительные различия. Процент совпадения оценки колебался от 57 до 100% от всех прошедших референс случаев. Лучшие результаты показывали лаборатории с большими объемами ИГХ исследований и оснащенные автоматизированными комплексами для

проведения исследований.

При проведении референсных исследований в Центральной референсной лаборатории случаев с определением HER2-тестирования из региональной референсной лаборатории второго просмотра УрФО установлено, что в 95% случаев результат уровней экспрессии при проведении референсных исследований был подтвержден, что позволяет говорить о допустимой конкурентности получаемых данных и достаточной эффективности ее работы как референс лаборатории второго просмотра.

Проведенные молекулярно-генетические исследования материала пациентов с уровнем экспрессии Her2 - 2+ при проведении среди таких пациентов методом ISH в 27% случаев позволили обнаружить увеличение среднего количества копий (амплификации) гена Her2 хромосомы 17 в ядрах опухолевых клеток, что привело к увеличению числа пациентов с положительным

HER2 статусом.

При сравнении динамики основных показателей, отражающих работу референсной лаборатории второго просмотра, можно установить некоторые закономерности и подвести промежуточные итоги реализации проекта РОП по HER2-тестированию РМЖ и организации референсных исследований на территории УрФО с 2008 по 2016 гг. Результаты работы за промежуточные годы (с 2009 по 2015 гг) представлены в ранее опубликованных статьях, поэтому фактический материал промежуточных лет повторно в данной статье не приводится [12 - 20]. С учетом всех имеющихся материалов по проекту можно сделать следующие выводы:

1. Полнота охвата исследованиями пациенток с РМЖ. Количество пациенток с РМЖ за время реализации проекта увеличилось почти в 2 раза (с 58 до 96%). В настоящее время по сути все пациентки охвачены молекулярно-генетическими исследованиями. Уменьшилась неравномерность обследования в зависимости от учреждения здравоохранения, в котором осуществлялись диагностика и лечение заболевания.

2. Средний процент HER2 2+ случаев РМЖ. До начала проекта показатель находился в пределах от 8,0 до 29,5% в разных лечебных учреждениях, при средних мировых значениях около 10%. В 2016 г. процент HER2, 2 + случаев находился в пределах от 10 до 15%.

3. Средний процент случаев РМЖ, расцененных как HER2 3+. В 2008 г. составлял в лабораториях от 10,2 до 34,5% от всех случаев. В 2016 г. процент HER2, 3+ случаев находился в пределах от 10 до 18%, при средних мировых значениях показателя около 15%.

4. Средний процент протестированных HER2 позитивных случаев РМЖ в региональной референсной лаборатории второго просмотра. В 2008 г. количество направленных на референс составило 12,6% от всех первично диагностированных случаев РМЖ. Снижение процента к 2016 г. связано как с большим соблюдением требований к отбору случаев РМЖ на референсные исследования, так и увеличением числа пациенток, вовлеченных в проект.

5. Средний процент пациенток с РМЖ, направленных на референс. Если в 2008 г. количество направленных на референсные исследования колебалось в границах от 2,7 до 100%, то в 2015 г. в референсную лабораторию поступило и исследовано от 1 до 15% пациенток с раком молочной железы. Анализ данных по проценту направленных на референс позволяет говорить о нарушении структуры направляемых на пересмотр случаев (все 2+ и каждый 10 или 20 случай) почти каждой лабораторией.

6. Процент совпадения оценки результатов ИГХ исследований после референсных исследований.

Важным является показатель, отражающий эффективность работы референсной системы — процент совпадения оценки результатов ИГХ исследований первичной лаборатории при их пересмотре в референсной лаборатории. И по этому показателю имеются значительные различия среди лабораторий (Табл. 1). Если процент совпадения оценки в 2008 г. колебался от 57 до 95% от всех случаев, то в 2016 г. — от 80 до 100%. Необходимо отметить тот факт, что лучшие результаты, как правило, показывают лаборатории с большими объемами ИГХ исследований и оснащенные автостейнерами. Последний момент, наряду с накоплением опыта лабораторий в проведении исследований, играл роль в улучшении результатов молекулярно-генетической диагностики РМЖ. При проведении референса в Центральной референсной лаборатории случаев с определением HER2 неустойчивости из референсной лаборатории второго просмотра УрФО установлено, что в 2008 г. и 2016 г. соответственно в 95% и 96% случаев результат исследования был подтвержден, что позволяет говорить об достаточной конкордантности (совпадения) этих лабораторий [21].

7. Налажена методическая работа референс лаборатории УрФО.

7.1. В юридическом сопровождении проведения референсных исследований в рамках Проекта РОП решены вопросы с обеспечением прав пациентов РМЖ, проработана процедура оформления информированного согласия на проведения референс-исследований [22, 23, 24].

7.2. Разработаны вопросы логистики доставки материала пациенток для проведения исследований в региональную референсную лабораторию второго просмотра и Центральную референсную лабораторию [10, 25, 26,].

7.3. В 2015 г. заведующие референсных лабораторий приняли активное участие в обсуждении, разработке и подготовке к изданию «Клинических рекомендаций Российского общества онкомамологов по диагностике и лечению рака молочной железы», вошли в состав большого авторского коллектива, наряду с ведущими экспертами других специальностей [2, 3, 4].

7.4. Итоги работы референсных лабораторий, обсуждение новых подходов в диагностике РМЖ происходило на проводимых РОП ежегодных Форумах экспертов по диагностике и лечению рака молочной железы с привлечением иностранных и отечественных ведущих специалистов, как патологов, так и клиницистов, в том числе и с использованием интерактивных технологий обучения [10].

7.5. Ежегодные отчеты референс-лабораторий о проделанной работе, публикация отчетов в научно-практических журналах [12-20].

8. Сертификация работы региональных рефе-

ренных лабораторий первого и второго просмотра материала. С 2012 г. референс-лаборатории проходят сертификацию через Европейскую систему контроля качества — NordIQC (Nordic Immunohistochemical Quality Control) по основным методам исследования [8]. В 2015 г. Форум экспертов РОП рекомендовал всем лабораториям, осуществляющим ИГХ диагностику РМЖ пройти процесс добровольной сертификации иммуногистохимического метода исследований с получением Разрешения Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения на проведение данного вида исследований [10].

9. Обучение специалистов референсных лабораторий первого и второго просмотра

9.1. Обучение специалистов осуществляется на проводимых РОП ежегодных Форумах экспертов по диагностике и лечению рака молочной железы с привлечением иностранных и отечественных ведущих специалистов, как патологов, так и клиницистов, в том числе и с использованием интерактивных технологий обучения с выдачей сертификата об участии в мероприятии системы НМО и начислением баллов.

9.2. непрерывное обучение и повышение квалификации специалистов из референсных лабораторий осуществляется на сертификационных курсах РАПО г. Москва (зав. кафедрой — академик РАН, профессор Франк Г.А.) с выдачей удостоверения установленного образца и сертификата специалиста.

9.3. Обучение специалистов на рабочем месте (врача или лаборанта-гистолога из референсной лаборатории первого просмотра в региональной референсной лаборатории второго просмотра или Центральной референсной лаборатории).

10. Проведение научных исследований в рамках Проекта

10.1. Участие в профильных научных конференциях с докладами о основных достижениях исследовательской работы в референсной лаборатории.

10.2. В 2015 г. запущен пилотный проект по изучению роли стволовых клеток в реализации внутриклеточных механизмов регуляции пролиферации, дифференцировки и апоптоза опухолевых стволовых клеток на модели карциномы молочной железы [27-32].

10.3. Исследование внутриклеточных механизмов регуляции процессов межклеточного взаимодействия и развития эпителио-мезенхимального перехода опухолевых клеток при метастазировании [33-43].

Заключение

В результате реализации проекта РОП 2008-2016 гг определены основные шаги по улучшению качества проведения иммуногистохимических исследований в лабораториях первого просмотра материала:

1. Необходимо более активное внедрение в рабо-

ту ИГХ лабораторий первого просмотра, входящих в референс-систему, автоматизированного оборудования для проведения исследований.

2. Использование в лабораториях первого просмотра валидированных ИГХ наборов, рекомендованных FDA для проведения исследований на автостейнерах.

3. Создание в ИГХ лабораториях базы контрольных образцов (блоков и стекол ИГХ) тестирования HER 2 с уровнями экспрессии: 0/1 — (HER2-отрицательный), 2 — (HER2-неопределенный), 3 — (HER2-положительный).

4. Достижение ИГХ лабораториями первичного и вторичного просмотра контрольных цифр распределения уровней экспрессии при проведении HER2 тестирования РМЖ — ориентировочно: при уровне экспрессии 1 — 10%, 2 — 10%, 3 — 16%.

5. Разработка и внедрение в работу патологоанатомических лабораторий, выполняющих ИГХ исследования системы контроля качества патологоанатомических исследований. Обязательное прохождение лабораториями добровольной сертификации на соответствие качества выполняемых иммуногистохимических исследований в Российской системе добровольной сертификации с получением соответствующего Сертификата соответствия и Разрешения на проведение ИГХ исследований.

6. Необходимо, чтобы контрольный образец ткани опухоли у всех пациенток с РМЖ тестировался либо на экспрессию белка HER2 (методикой ИГХ), либо на экспрессию гена HER2 (методикой ISH) с использованием валидированного теста.

7. Необходимо, чтобы в своей работе лаборатория, осуществляющая ИГХ диагностику, руководствовалась стандартами, принятыми профессиональным сообществом (в Российской Федерации — Экспертной группой Российского общества патологоанатомов), прошла первичную валидацию методики тестирования (прошла процедуру добровольной Сертификации проводимых в лаборатории ИГХ исследований), осуществляла постоянный внутренний контроль качества и постоянное внешнее тестирование (референс), а также обеспечивала рутинный периодический внутривлабораторный контроль.

В работе лабораторий, занимающихся HER2 тестированием РМЖ, следует руководствоваться обновленными рекомендациями ASCO/CAP [7]:

1. Результаты HER2-тестирования следует считать положительными, если:

- а) получен положительный результат ИГХ 3+ или
- б) получен положительный результат ISH.

При этом имеется отсутствие патоморфологических несоответствий полученного результата.

2. Результаты HER2 тестирования следует считать неопределенными и необходимо провести тестирова-

ние с использованием альтернативной методики (или направить в региональную референс-лабораторию), если:

- а) получен неопределенный результат ИГХ 2+ или
- б) получен неопределенный результат ISH.

Подразумевается отсутствие очевидных патоморфологических несоответствий. Встречаются редкие гистологические варианты рака молочной железы (опухоли железистой структуры, микропапиллярный рак), демонстрирующие интенсивное, но неполное базолатеральное окрашивание при ИГХ и амплификацию HER2. Такие случаи также должны быть расценены как неопределенные.

3. Результаты HER2-тестирования следует считать как отрицательные, если один или все тесты, выполненные на образце опухоли, демонстрируют:

- а) отрицательный результат ИГХ0/1
- б) получен отрицательный результат ISH.

При этом отсутствуют очевидные патоморфологические несоответствия.

4. Результаты HER2-тестирования следует считать не подлежащими оценке, если по техническим причинам невозможно охарактеризовать результаты одного или обоих методов (ИГХ и ISH) как положительные, отрицательные или неопределенные. Данная ситуация может возникнуть при неадекватной обработке образцов (в соответствии с утвержденным РОП протоколом).

Еще раз подчеркивается, что время до фиксации (холодовой ишемии) биопсийного материала не должно превышать 1 час, время фиксации в 10% нейтральном забуференном растворе формалина — должно составлять от 6 до 72 часов). Последующая обработка, окрашивание, исследование должны проводиться в соответствии с рекомендованными к использованию валидированными протоколами.

Наиболее распространенные ошибки лабораторий первого просмотра при организации работы в рамках референсной системы:

1. Не в полном объеме направляются на референс-исследование 2+ случаи (должны составлять около 10% от всех случаев).
2. Не в полном объеме используются возможности пересмотра каждого 10 случая для лаборатории с объемом ИГХ исследований РМЖ до 250 исследований в год и каждого 20 случая свыше этого количества.
3. Неудовлетворительно заполняется сопроводительная документация (не указывается: возраст пациентки, стадия, дата проведения исследования, результат ИГХ исследования лаборатории первого просмотра).
4. При направлении материала на референсное исследование используется бланк направления неустановленной формы.

В работе лабораторий молекулярно-биологических исследований патологоанатомических отделений, относящихся к референсной системе, **следует руководствоваться основными положениями, сформулированными ASCO/CAP** :

1. Необходимо использование стандартизованных процедур обработки материала.
2. Необходимо использование стандартизованных (валидированных) методов проведения молекулярно-биологических исследований.
3. Необходим внешний контроль качества проводимых исследований. Лаборатория должна добиваться не менее чем 95% конкордантности (совпадения) с позитивными и негативными случаями, прошедшими через референс-лабораторию.
4. Для обеспечения оптимальной работы лаборатории молекулярно-биологических исследований рекомендуемое количество исследований в год должно составлять не менее: для ИГХ — 250 исследований, для ISH — 100 исследований.
5. Необходим внутренний контроль качества в лаборатории молекулярно-биологических исследований. Применение положительных и отрицательных контролей для каждого ИГХ исследования.
6. Необходим обязательный периодический тренинг врачей-патологоанатомов и лаборантов-гистологов.
7. Необходимо внедрение в патологическую анатомию автоматизированных методов анализа изображений и телепатологии.

Заключение

При создании и правильном использовании референсной лаборатории второго просмотра для лабораторий первого просмотра значительно расширяются диагностические возможности. Становятся доступными дополнительные диагностические и сопутствующие методы, которые могут значительно улучшить диагностику, и, опосредованно, прогноз течения рака молочной железы. Участвуя в системе референсных исследований, пересмотре материала, лаборатория первого просмотра материала автоматически включается, становится элементом системы качества проведения патологоанатомических, иммуногистохимических и молекулярно-биологических исследований. Постоянный внутрिलाбораторный контроль качества проводимых исследований является одним из наиболее важных факторов, гарантирующих качество работы отдельной взятой лаборатории. Система внешнего контроля качества дает возможность объективно оценить результаты работы разных лабораторий, определить причину выявленных несоответствий и дать рекомендации по их устранению.

ЛИТЕРАТУРА

1. Франк Г.А., Андреева Ю.Ю., Виноградов И.Ю., Глатко С.Б., Горелик М.З., Завалишина Л.Э., Леенман Е.Е., Мационис А.Э., Петров С.В., Сазонов С.В. 10 лет тестирования HER2-статуса рака молочной железы в России. Архив патологии. 2012, 74 (5), с. 3-6.
2. Пожарисский К.М., Кудайбергенова А.Г., Савёлов Н.А., Гриневич В.Н., Сазонов С.В. Методические рекомендации «Патологоанатомическое исследование инвазивного рака молочной железы». Институт медицинских клеточных технологий. 2014. 26 с.
3. Семиглазов В.Ф., Палтуев Р.М., Манихас А.Г. и др. Клинические рекомендации ROOM по диагностике и лечению рака молочной железы. Клинические рекомендации ROOM. Санкт-Петербург. Издательский дом «АБВ-пресс». 2015. 504 с.
4. Семиглазов В.Ф., Палтуев Р.М., Манихас А.Г. и др. «Золотой стандарт» диагностики и лечения рака молочной железы. Клинические рекомендации ROOM. Санкт-Петербург. Издательский дом «АБВ-пресс». 2016. 448 с.
5. Сазонов С.В., Леонтьев С.Л. Организация работы системы пересмотра материала пациенток с карциномой молочной железы (референс). Уральский медицинский журнал. 2014, 2 (116), 70-78.
6. Сазонов С.В. Организация системы внешнего контроля качества иммуногистохимической диагностики рака молочной железы в Уральском федеральном округе (референс). Уральский медицинский журнал. 2015, 1 (124), 153-158.
7. Wolff A., Hammond M., Hicks D., et al. College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Update Arch. Pathol. Lab. Med., 2014, Vol. 138 (2), p.p. 1-32.
8. Vyberg M., Torlakovic E., Seidal T. et al. Nordic immunohistochemical quality control, Croat. Med. J., 2005, Vol. 46, p.p. 368-371.
9. Завалишина Л.Э., Андреева Ю.Ю., Рязанцева А.А., Франк Г.А. Методические рекомендации по проведению HER2-тестирования рака молочной железы. Архив патологии. Приложение. 2011. М., Медицина, 24 с.
10. Консенсус по итогам Совещания исследователей в рамках программы ML 19870 «Эпидемиологическая программа скрининга HER2-статуса у пациенток с раком молочной железы». Российское общество патологоанатомов. Москва. 11 октября 2015 г. 18 с.
11. Франк Г.А., Завалишина Л.Э., Пожарисский К.М. Рак молочной железы. Практическое руководство для врачей. М.: Практическая медицина. 2014.
12. Сазонов С.В., Демидов С.М., Дорофеев А.В., Ситулина О.О., Арутюнян Е.В. Результаты работы референс-лаборатории по HER2-неу тестированию карциномы молочной железы в УрФО за 2009 г. Уральский медицинский журнал. 2010, 12 (77), 133-138.
13. Сазонов С.В., Леонтьев С.Л., Бриллиант А.А. Результаты работы референс-лаборатории по HER2 neu

REFERENCES

1. Frank G.A., Andreeva Y.Y., Vinogradov I.J., Glatko S.B., Gorelik M.Z., Zavalishina L.E., Leenman E.E., Matsionis A.E., Petrov S.V., Sazonov S.V. 10 years of testing breast cancer status in HER2-Russian. Archives of Pathology. 2012. 74 (5), 3-6. (in Russ).
2. Pozharissky K.M., Kudaibergenova A.G., Savyolov N.A., Grinevich V.N., Sazonov S.V. Methodical recommendations «Pathological research of invasive breast cancer». Institute of Medical Cell Technologies. 2014. 26 p. (in Russ).
3. Semiglazov V.F., Paltoev R.M., Manihas A.G. et al. Clinical recommendations of the ROOM on diagnosis and treatment of breast cancer. Clinical recommendations for doctors. St. Petersburg. ABB-press Publishing House. 2015. 504 p. (in Russ).
4. Semiglazov V.F., Paltoev R.M., Manihas A.G. et al. «Golden Standard» of diagnosis and treatment of breast cancer. Clinical recommendations. St. Petersburg. ABB-press Publishing House. 2016. 448 p. (in Russ).
5. Sazonov S.V., Leontyev S.L. Organization of the system for reviewing the material of patients with breast carcinoma (reference). The Urals Medical Journal. 2014, 2 (116), 70-78. (in Russ).
6. Sazonov S.V. Organization of external quality control system for immunohistochemical diagnosis of breast cancer in the Urals Federal District (reference). The Urals Medical Journal. 2015, 1 (124), 153-158. (in Russ).
7. Wolff A., Hammond M., Hicks D. et al. Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer American Society of Clinical Oncology. College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Update. Arch. Pathol. Lab. Med, 2014, 138 (2), 1-32.
8. Vyberg M., Torlakovic E., Seidal T. et al. Nordic immunohistochemical quality control. Croat. Med. J., 2005, 46, 368-371.
9. Zavalishina LE, Andreeva Yu.Yu., Ryazantseva AA, Frank G.A. Methodical recommendations for carrying out HER2-testing of breast cancer. Archive of pathology. Application. 2011. M., Medicine, 24 p. (in Russ).
10. Consensus Meeting on the results of research in the framework of ML 19870 'epidemiological screening program HER2-status in patients with breast cancer, «Russian Society of Pathologists, October 11 2015, Moscow. (in Russ).
11. Frank G.A., Zavalishina L.Je., Pozharisskij K.M. Breast cancer. Practical Guideline for Doctors. Moscow: Prakticheskaja medicina. 2014. 176 p. (in Russ).
12. Sazonov S.V., Demidov S.M., Dorofeev A.V., Situlina O.O., Arutyunyan E.V. Results of the work of the reference laboratory for HER2-neu testing of breast carcinoma in the Ural Federal District for 2009. Ural Medical Journal. 2010, 12 (77), 133-138. (in Russ).
13. Sazonov S.V., Leontiev S.L., Brilliant A.A. The

тестированию карциномы молочной железы в УрФО в 2011 г. Вестник уральской медицинской академической науки. 2011, 4 (35), 7-11.

14. Сазонов С.В., Леонтьев С.Л., Бриллиант А.А. Опыт работы референс-лаборатории по HER2/neu тестированию карциномы молочной железы в Свердловской области. Вестник Уральской медицинской академической науки. 2013, 1 (43), 56-60.

15. Сазонов С.В., Леонтьев С.Л., Бриллиант А.А. Опыт организации работы референс-лаборатории по HER2 тестированию рака молочной железы в УрФО. Материалы 4 Всероссийского съезда патологоанатомов. Белгород. 2013. С.395-398.

16. Сазонов С.В. Особенности работы системы внешнего контроля качества иммуногистохимической диагностики рака молочной железы в Уральском федеральном округе (референс) в 2014 г. Вестник уральской медицинской академической науки. 2015, 4 (55), 15-19.

17. Сазонов С.В. Итоги реализации внешнего контроля качества иммуногистохимической диагностики рака молочной железы в Уральском федеральном округе (референс) в 2015 г. Материалы II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Современные подходы к морфологической диагностике новообразований человека», Челябинск, 18-19 марта 2016 г. С.98-102.

18. Сазонов С.В., Демидов С.М., Солоницына Л.А., Леонтьев С.Л. Организация внешнего контроля качества молекулярно-биологических исследований при диагностике рака молочной железы. Материалы VII Итало-российской научной конференции по онкологии и эндокринной хирургии. Тбилиси. Грузия, 6-12 мая 2017 г. С. 180-183.

19. Сазонов С.В., Леонтьев С.Л. Система референсной диагностики рака молочной железы в Уральском федеральном округе. Материалы Всероссийской конференции молодых специалистов «Актуальные вопросы фундаментальной, экспериментальной и клинической морфологии». Рязань, 05-07 октября 2017 г. С. 182-184.

20. Сазонов С.В., Бриллиант А.А., Ситулина О.О. Схема пересмотра материала (референс) больных раком молочной железы. Патент на промышленный образец №80506 от 16 декабря 2011 г.

21. Reddy J.C., Reimann J.D., Anderson S.M., et al. Concordance between central and local laboratory HER2 testing from a community-based clinical study. Clin. Breast Cancer, 2006, 7, 153-7.

22. Солоницына Л.А., Сазонов С.В., Леонтьев С.Л. Механизм реализации права на информацию и ее защиту при проведении референс-исследований у пациентов с РМЖ The Journal Malignant Tumours. 2012, 2 (2), 138-139.

23. Солоницына Л.А., Сазонов С.В., Демидов С.М., Леонтьев С.Л. Правовое обеспечение системы качества оказания медицинской помощи при диагностике и ле-

results of the work of the reference laboratory for HER2 neu testing of breast carcinoma in the Urals Federal District in 2011. Bulletin of the Ural Medical Medical Science. 2011, 4 (35), 7-11. (in Russ).

14. Sazonov S.V., Leontiev S.L., Brilliant A.A. Experience of the reference laboratory on HER2 / neu testing of breast carcinoma in the Sverdlovsk region. Bulletin of the Ural Medical Medical Science. 2013, 1 (43), 56-60. (in Russ).

15. Sazonov S.V., Leontiev S.L., Brilliant A.A. Experience in organizing the work of the reference laboratory for HER2 testing of breast cancer in the Urals Federal District. Materials of the 4th All-Russian Congress of Pathologists. Belgorod. 2013. P.395-398. (in Russ).

16. Sazonov S.V. Features of the external quality control system immunohistochemical diagnosis of breast cancer in the Urals Federal District (reference) in 2014. Bulletin of the Ural Medical Medical Science. 2015, 4 (55), 15-19. (in Russ).

17. Sazonov S.V. Results of the implementation of external quality control of immunohistochemical diagnosis of breast cancer in the Urals Federal District (reference) in 2015 Materials of the II All-Russian Scientific and Practical Conference with international participation «Modern approaches to the morphological diagnosis of human tumors», Chelyabinsk, March 18-19, 2016. С.98-102. (in Russ).

18. Sazonov S.V., Demidov S.M., Solonitsyna L.A., Leontiev S.L. Organization of external quality control of molecular biological studies in the diagnosis of breast cancer. Materials of the VII Italian-Russian Scientific Conference on Oncology and Endocrine Surgery. Tbilisi. Georgia, 6-12 May 2017, pp. 180-183.

19. Sazonov S.V., Leontyev S.L.. The system of reference diagnosis of breast cancer in the Urals Federal District. Materials of the All-Russian Conference of Young Professionals «Actual Questions of Fundamental, Experimental and Clinical Morphology». Ryazan, 05-07 October 2017, pp. 182-184. (in Russ).

20. Sazonov S.V., Brilliant A.A., Situlina O.O. Scheme of revision of the material (reference) of patients with breast cancer. Patent for industrial design No. 80506 dated December 16, 2011. (in Russ).

21. Reddy J.C., Reimann J.D., Anderson S.M., et al. Concordance between central and local laboratory HER2 testing from a community-based clinical study. Clin. Breast Cancer, 2006, 7, 153-7.

22. Solonitsyna L.A., Sazonov S.V., Leontiev S.L. The mechanism of realization of the right to information and its protection in the conduct of reference studies in patients with breast cancer. The Journal Malignant Tumours. 2012, 2 (2), 138-139. (in Russ).

23. Solonitsyna L.A., Sazonov S.V., Demidov S.M., Leontiev S.L. Legal provision of the quality system for medical care in the diagnosis and treatment of malignant

чении злокачественных новообразований молочной железы. Вестник Российского общества онкомаммологов. Спецвыпуск. 2015, С. 90-91

24. Солоницына Л.А., Сазонов С.В., Леонтьев С.Л. Обеспечение прав пациентов на информацию и ее защиту при проведении референс-исследований карциномы молочной железы. Вестник Уральской медицинской академической науки. 2013, 1 (43), 15-17.

25. Леонтьев С.Л., Сазонов С.В. Создание системы пересмотра иммуногистохимических исследований при диагностике рака молочной железы. Вестник Уральской медицинской академической науки. 2012, 1 (38), 18-22.

26. Солоницына Л.А., Сазонов С.В., Демидов С.М., Леонтьев С.Л. Организация системы контроля качества оказания медицинской помощи при иммуногистохимической диагностике рака молочной железы. Опухоли женской репродуктивной системы. 2014, № 4, Спецвыпуск. С. 112-113.

27. Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Особенности распределения опухолевых стволовых клеток при иммуногистохимических подтипах инфильтративных карцином молочной железы. Сборник научных трудов научной конференции с международным участием: «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии». Москва, 6-7 апреля 2016 г. С. 30-31.

28. Ястребов А.П., Гребнев Д.Ю., Маклакова И.Ю. Стволовые клетки, их свойства, источники получения и роль в регенеративной медицине. Екатеринбург. 2016.

29. Маклакова И.Ю., Гребнев Д.Ю., Ястребов А.П. Влияние экстремальных факторов на хоуминг мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2015, 4 (59), 82-86.

30. Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Особенности пролиферативной активности стволовых опухолевых клеток ALDH (3+) случаев базальноподобного рака молочной железы. Российский медико-биологический вестник. 2016, 2, 26-27.

31. Бриллиант А.А., Бриллиант Ю.М. Сазонов С.В. Индекс Ki-67 в иммуногистохимических подтипах инвазивного рака молочной железы. Злокачественные опухоли. 2016, 4 (21), Спецвыпуск 1. 248-249.

32. Sazonov S., Brilliant A., Brilliant Y. Proliferation of cancer cells in triple negative breast cancer. The Breast Journal. 2017, S1. p. 29.

33. Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Стволовые опухолевые клетки и Noich-1 рецептор в «Basal-like» и «HER2 гиперэкспрессированных» инфильтративных карциномах молочной железы. II Петербургский онкологический форум «Белые ночи». Санкт-Петербург, 22-24 июня 2016 г. Сборник тезисов. С.380-381.

34. Zasadkevich Y.M., Brilliant A.A., Sazonov S.V. Characteristics of the relation between epithelial-mesenchymal transition and proliferative activity in breast

breast tumors. Bulletin of the Russian Society of Oncologists. Special Issue. 2015, pp. 90-91. (in Russ).

24. Solonitsyna L.A., Sazonov S.V., Leontiev S.L. Ensuring patients' rights to information and its protection during the reference studies breast carcinoma. Bulletin of Ural Medical Academic Science, 2013: 1 (43), 15-17. (in Russ).

25. Leontiev S.L., Sazonov S.V. Creating immunohistochemical studies reviewing the system for the diagnosis of breast cancer. Bulletin of Ural Medical Academic Science, 2012: 1 (38), 18-22. (in Russ).

26. Solonitsyna L.A., Sazonov S.V., Demidov S.M., Leontyev S.L. Organization of a quality control system for the provision of medical care for immunohistochemical diagnosis of breast cancer. Tumors of the female reproductive system. 2014, No. 4, Special Issue. pp. 112-113. (in Russ).

27. Brilliant A.A., Sazonov S.V. Features of the distribution of tumor stem cells in immunohistochemical subtypes of infiltrative breast carcinomas. Collection of scientific works of the scientific conference with international participation: «Actual questions of morphogenesis in norm and pathology». Moscow, 6-7 April 2016, pp. 30-31. (in Russ).

28. Yastrebov A.P., Grebnev D.Y., Maklakova I.Y. The stem cells, their properties, and the sources of the role in regenerative medicine. Ekaterinburg; 2016 (In Russ.).

29. Maklakova I.J., Grebnev D.Y., Yastrebov A.P. Influence of extreme factors on homing multipotent mesenchymal stromal cells. Pathological Physiology and Experimental Therapy, 2015, 4 (59), 82-86. (in Russ).

30. Brilliant A.A., Sazonov S.V. Features of the proliferative activity of stem tumor cells ALDH (3+) cases of basal-like breast cancer. Russian medical and biological bulletin. 2016, 2, 26-27. (in Russ).

31. Brilliant A.A., Brilliant Yu.M. Sazonov S.V. The Ki-67 index in immunohistochemical subtypes of invasive breast cancer. Malignant tumors. 2016, 4 (21), Special Issue 1. 248-249. (in Russ).

32. Sazonov S., Brilliant A., Brilliant Y. Proliferation of cancer cells in triple negative breast cancer. The Breast Journal. 2017, S1. p. 29.

33. Brilliant A.A., Sazonov S.V. Stem cell tumors and Noich-1 receptor in «Basal-like» and «HER2 overexpressed» infiltrative breast carcinomas. II St. Petersburg Cancer Forum «White Nights». St. Petersburg, June 22-24, 2016. Collection of abstracts. p.p.380-381. (in Russ).

34. Zasadkevich Y.M., Brilliant A.A., Sazonov S.V. Characteristics of the relation between epithelial-mesenchymal transition and proliferative activity in breast carcinomas. European Journal of Cancer. 2013. P. 216.

35. Mnichovich M.V., Midiber K.Yu., Galliamova A.R., et al. Immunohistochemical evaluation of cadherin-catenin

carcinomas. *European Journal of Cancer*. 2013. P. 216.

35. 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, 6 (1), 63-68.

36. 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.

37. Арутюнян Е.В., Новикова Е.А., Сазонов С.В. Анализ корреляции между экспрессией основных маркеров карциномы молочной железы и экспрессией топоизомеразы Па. *Успехи молекулярной онкологии*. 2015, 4 (2), 80-81.

38. Бриллиант Ю.М., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Эпителиальные кадгеринины и ассоциированные с ним молекулы при инвазивном дольковом раке молочной железы. *Архив патологии*. 2017, 1 (79), 12-18.

39. Сазонов С.В., Бриллиант А.А., Бриллиант Ю.М. Связь состояния пролиферативных процессов и особенностей рецепторного аппарата опухолевых клеток карциномы молочной железы. *Гены и клетки*. 2017, 12 (4), 76-81.

40. Засадкевич Ю.М., Сазонов С.В. Роль молекулы клеточной адгезии E-кадгерина в онтогенезе человека в норме и патологии. *Морфология*. 2014, 5 (146), 78-82.

41. Засадкевич Ю.М., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Роль кадгеринов в норме и при развитии рака молочной железы. *Архив патологии*. 2015, 3 (77), 57-64.

42. Сазонов С.В., Засадкевич Ю.М., Леонтьев С.Л. Роль эпителиальных E- и P-кадгеринов в реализации внутриклеточных механизмов регуляции опухолевого роста. Екатеринбург, 2016.

43. Сазонов С.В., Коньшев К.В., Казанцева Н.В., Токарева М.В., Бриллиант Ю.М. Гистологические и иммуногистохимические проявления эпителио-мезенхимального перехода при тройномнегативном раке молочной железы. *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2016, № 2, 53-63.

complex expression in breast cancer. *Journal of Anatomy and Histopathology*. 2017, 6 (1), 63-68 (In Russ.).

36. Arutyunyan E.V., Brilliant A.A., Novikova E.A., Sazonov S.V. Some expression patterns immunohistochemical markers on cells of breast carcinoma. *Ural Medical Journal*. 2014, no.2 (116), pp. 5-8. (In Russ.).

37. Arutyunyan E.V., Novikova E.A., Sazonov S.V. Analysis of the correlation between the expression of the main markers of breast carcinoma and the expression of Pa topoisomerase. *Advances in molecular oncology*. 2015, 4 (2), 80-81. (In Russ.).

38. Brilliant Yu.M., Brilliant A.A., Sazonov S.V. Epithelial cadherins and associated molecules with invasive lobular breast cancer. *Archive of pathology*. 2017, 1 (79), 12-18. (In Russ.).

39. Sazonov S.V., Brilliant A.A., Brilliant Yu.M. Relationship of the state of proliferative processes and features of the receptor apparatus of tumor cells of breast carcinoma. *Genes and cells*. 2017, 12 (4), 76-81. (In Russ.).

40. Zasadkevich Yu.M., Sazonov S.V. The role of the cell adhesion molecule of E-cadherin in human ontogeny in normal and pathological conditions. *Morphology*. 2014, 5 (146), 78-82. (In Russ.).

41. Zasadkevich Yu.M., Brilliant A.A., Sazonov S.V. The role of cadherins in normal and with the development of breast cancer. *Archive of pathology*. 2015, 3 (77), 57-64. (In Russ.).

42. Sazonov S.V., Zasadkevich Yu.M., Leontyev S.L. The role of epithelial E and P cadherins in the implementation of intracellular mechanisms of tumor growth regulation. Екатеринбург, 2016. (In Russ.).

43. Sazonov S.V., Konyshev K.V., Kazantseva N.V., Tokareva M.V., Brilliant Yu.M. Histological and immunohistochemical manifestations of epithelio-mesenchymal transition in triple negative breast cancer. *Bulletin of the Ural Medical Medical Science*. 2016, No. 2, 53-63. (In Russ.).

Автор

Сазонов Сергей Владимирович
Уральский государственный медицинский университет
Д.м.н., профессор
Заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии
Институт медицинских клеточных технологий
Заведующий патолого-анатомическим отделением
Российская Федерация, 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3
imct@celltechnologies.ru

Author

Sergey V. Sazonov
Ural State Medical University
Department of Histology, Cytology and Embryology
Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of Department
GAUZ SO IMKT, department pathologist, Head of Laboratory
Russian Federation, 620028, Yekaterinburg, Repin str. 3
imct@celltechnologies.ru