

Сазонов С.В.^{1,2}

Обеспечение качества молекулярно-генетической диагностики рака молочной железы

¹ ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий, г. Екатеринбург, ² ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет Минздрава РФ, г. Екатеринбург

Sazonov S.V.

Quality assurance for molecular genetic diagnosis of breast cancer

Резюме

Постоянный внутри лабораторный контроль качества проводимых молекулярно-генетических 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.

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

Summary

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.

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

Введение

Неточности в диагностике рака молочной железы (РМЖ) сопровождаются последующими ошибками в назначении химиотерапии, определении прогноза заболевания, в конечном итоге – существенными материальными потерями, уменьшением продолжительности жизни пациенток и ухудшением ее качества [1,2,3]. 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 Российской Федерации [4].

Материалы и методы

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 [5]: иммуногистохимическим (метод позволяет определять уровень экспрессии рецептора в ядрах или на поверхности мембран опухоле-

вых 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 [5,6]. Приемлемой для стандартизированной 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% пациенток, относящихся по данным ИГХ-исследования к категории 0/1+, результаты окажутся позитивными при проведении ISH-теста [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, требующий проведения дополнительных молекулярно-генетических исследований, наиболее часто в патолого-анатомических лабораториях используется метод выявления наличия амплификации гена - гибридизация *in situ* (ISH). 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 [8,9]. 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 [4].

С 2006 г. в Российской Федерации под эгидой Российского 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» [7]. ИГХ исследования проводились в 89 лабораториях, включая 6 референсных центров по всей стране. К 2016 г. в Российской Федерации по Программе было выполнено более 275 тыс. иммуногистохимических исследований. Если молекулярно-биологические исследования в 2007 г. выполнялись в двух лабораториях (за год выполнено 335 исследований), то в 2016 г. - уже в 14 лабораториях выполнено 4542 исследования. 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.

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 [4].

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 [9].

Референсные иммуногистохимические исследования уровней экспрессии рецепторов Estrogen, Progesterone, Ki67 и HER2 осуществлялись с использованием автостейнера «ДАКО» (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 - в молекулярно-генетической лаборатории кафедры патологической анатомии РАМПЮ, 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».

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 [10]. Разработаны вопросы логистики доставки материала пациенток для проведения исследований в региональную референсную лабораторию второго просмотра и Центральную референсную лабораторию [7]. 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]. 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 [7]. Ежегодная публикация отчетов референс-лаборатории о проделанной работе в научно-практических журналах.

Сертификация работы региональных референсных 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 [6,7]. 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 [7].

Обучение специалистов референсных лабораторий первого и второго просмотра. 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 использованием интерактивных технологий обучения с выдачей сертификата об участии в мероприятии системы НМО и начислением баллов. Непрерывное обучение и повышение квалификации специалистов из референсных лабораторий осуществляется на сертификационных курсах РАМПО г. Москва (зав. кафедрой – академик РАН, профессор Франк Г.А.) с выдачей удостоверения установленного образца и сертификата специалиста. Обучение специалистов на рабочем месте (врача или лаборанта-гистолога из референсной лабора-

тории первого просмотра в региональной референсной лаборатории второго просмотра или Центральной референсной лаборатории).

Проведение научных исследований в рамках Проекта. Участие в профильных научных конференциях с докладами о основных достижениях исследовательской работы в референсной лаборатории. 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 [11-15]. Исследование внутриклеточных механизмов регуляции процессов межклеточного взаимодействия и развития эпителио-мезенхимального перехода опухолевых клеток при метастазировании [16-20].

Заключение

В результате реализации проекта определены основные шаги по улучшению качества проведения иммуногистохимических исследований в лабораториях первого просмотра материала:

1. Необходимо более активное внедрение в работу 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 лабо-

ратории ИГХ исследований), осуществляла постоянный внутренний контроль качества и постоянное внешнее тестирование (референс), а так же обеспечивала рутинный периодический внутри лабораторный контроль;

В работе лабораторий, занимающихся HER2 тестированием РМЖ, следует руководствоваться обновленными рекомендациями ASCO/CAP [5, 8]:

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 тестирование 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 так же 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).

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+ случая (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 сопроводи-

тельная документация (не указывается: возраст пациента, 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 [5, 7]:

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 изображения и телепатологии.

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. Постоянный внутри лабораторный 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. ■

Конфликт интересов отсутствует.

Сазонов Сергей Владимирович, Д.м.н., профессор ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий, заведующий патолого-анатомическим отделением ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет МЗ РФ, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии. Автор, ответственный за переписку – Сазонов Сергей Владимирович, e-mail: prof-SSazonov@yandex.ru

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. Семиглазов В.Ф., Палтуев Р.М., Манихас А.Г. и др. Клинические рекомендации РООМ по диагностике и лечению рака молочной железы. Клинические рекомендации РООМ. Санкт-Петербург. Издательский дом «АБВ-пресс». 2015. 504 с.
3. 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.
4. Леонтьев С.Л., Сазонов С.В. Создание системы пересмотра иммуногистохимических исследований при диагностике рака молочной железы. *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2012. № 1 (38). С. 18-22.
5. Wolff A., Hammond M., Hicks D., et all. *College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Update Arch. Pathol. Lab. Med.*, 2014, Vol. 138 (2), p.p. 1-32.
6. Gyberg M., Tortlakovic E., Seidal T. et al. *Nordic immunohistochemical quality control, Croat. Med. J.*, 2005, Vol. 46, p.p. 368-371.
7. 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, 15 (4), 594-606.
8. Франк Г.А., Завалишина Л.Э., Пожариский К.М. Рак молочной железы. *Практическое руководство для врачей. М.: Практическая медицина*. 2014.
9. Сазонов С.В., Леонтьев С.Л., Бриллиант А.А. Опыт работы референс-лаборатории по HER2/неи тестированию карциномы молочной железы в Свердловской области. *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2013, 1 (43), 56-60.
10. 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.
11. Бриллиант А.А., Бриллиант Ю.М., Сазонов С.В. Особенности величины пула ALDH1+ опухолевых стволовых клеток в иммуногистохимических подтипах инвазивного рака молочной железы. *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2018, 3 (15), 413-420.
12. Ястребов А.П., Гребнев Д.Ю., Маклакова И.Ю. Стволовые клетки, их свойства, источники получения и роль в регенеративной медицине. *Екатеринбург*. 2016.
13. Brilliant A., Brilliant Y., Sazonov S. WNT, Hedgehog and Notch signalling pathways in triple negative breast cancer with high and low content of cancer stem cells. *Annals of Oncology*. 2019, Volume 30, Issue Supplement 3, 40P.
14. Brilliant A., Brilliant Y., Kazantseva N., Sazonov S. Expression of NF-kB, PI3K, WNT, Hedgehog and Notch in HER-2 positive breast cancer with low and high content of cancer stem cells. *European Journal of Pathology (Virchows Archiv)*, 2019: 475 (1), S. 84.
15. Бриллиант А.А., Бриллиант Ю.М., Сазонов С.В. Активация сигнальных путей Wnt, Hedgehog и Notch в иммуногистохимических подтипах рака молочной железы с высоким и низким содержанием опухолевых стволовых клеток. *Успехи молекулярной онкологии*, 2018, Т.5, №4, С. 55-56.
16. 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.
17. 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.
18. Бриллиант Ю.М., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Эпителиальные кадгерин-ассоциированные с ним молекулы при инвазивном дольковом раке молочной железы. *Архив патологии*. 2017, 1 (79), 12-18.
19. Сазонов С.В., Коньшиев К.В., Казанцева Н.В., Токарева М.В., Бриллиант Ю.М. Гистологические и иммуногистохимические проявления эпителио-мезенхимального перехода при тройном негативном раке молочной железы. *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2016, № 2, 53-63.
20. Сазонов С.В., Казанцева Н.В., Коньшиев К.В., Денисенко С.А. Проявления эпителиально-мезенхимального перехода при трижды негативном раке молочной железы. *Успехи молекулярной онкологии*, 2018, Т.5, №4, С. 77.
21. ОСОБЕННОСТИ АКУШЕРСКО-ГИНЕКОЛОГИЧЕСКОГО АНАМНЕЗА У ЖЕНЩИН С РАЗНЫМИ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИМИ ПОДТИПАМИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ. Семенова А.Б., Терешин О.С., Важенин А.В., Черноталова Н.С. *Уральский медицинский журнал*. 2018. № 2 (157). С. 70-73
22. ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО СТАТУСА TOP2A В HER2-ПОЗИТИВНОМ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ. Колядина И.В., Завалишина Л.Э., Андреева Ю.Ю., Савёлов Н.А., Тузова Е.А. *Уральский медицинский журнал*. 2019. № 10 (178). С. 55-58.