

К.В. Конышев, С.В. Сазонов

УСИЛЕННАЯ СЕРЕБРОМ ГИБРИДИЗАЦИЯ *IN SITU* ПРИ РЕГИОНАРНОМ МЕТАСТАЗИРОВАНИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»,
г. Екатеринбург, Российская Федерация
ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский
университет», г. Екатеринбург, Российская Федерация

Введение

Вопросы изменения Her2-статуса в регионарных метастазах при сравнении с первичной опухолью при раке молочной железы привлекают внимание исследователей, поскольку учет этого варианта опухолевой гетерогенности является возможным путем повышения эффективности терапии и оценки прогноза заболевания [1-6]. До настоящего времени не существует единого мнения о природе и значении для клиники таких различий. Некоторые авторы отрицают биологическое происхождение гетерогенности экспрессии белка Her2/neu и амплификации гена HER2, сводя их к артефактам [7]. Однако в большинстве работ, опубликованных в последние годы, существование биологически обусловленной иммунофенотипической и генетической гетерогенности ткани первичной опухоли и метастазов не подвергается сомнению [8,9]. Рекомендация оценивать Her2-статус метастазов включена в рекомендации ASCO/CAP в редакциях начиная с 2013 года, а также в профильные клинические рекомендации Российского общества онкомамологов 2021 года [10-12].

Онкобелок Her2/neu реализует свои онкогенные функции при условии многократного повышения количества молекул данного белка на мембране опухолевой клетки — гиперэкспрессии. Однако при иммуногистохимическом исследовании в ряде слу-

чаев наблюдается умеренное окрашивание мембран клеток, свидетельствующее о наличии в структуре мембран белка Her2/neu в количестве, недостаточном для вывода о его функциональной активности. В таких случаях уровень экспрессии Her2/neu в клетках РМЖ оценивают как неопределенный и проводят исследование амплификации гена HER2 методом гибридизации *in situ* (ISH) для однозначной оценки Her2-статуса опухоли.

Цель исследования

Оценить с использованием метода ISH Her2-статус первичной опухоли с неопределенным уровнем экспрессии Her2/neu и сопоставить статусы первичной и метастатической опухолей при раке молочной железы.

Материал и методы

Операционный материал от 19 пациенток с диагнозом инвазивного рака молочной железы неспецифического типа, метастатическим поражением регионарных лимфатических узлов, не получавших неоадъювантную терапию, с неопределенным уровнем экспрессии Her2/neu в первичной опухоли исследовался гистологическим, иммуногистохимическим и FISH методами.

Срезы фиксированного формалином, залитого в парафиновые блоки материала первичной опухоли и регионарных лимфоузлов толщиной 5 мкм окрашивались гематоксилином и эозином для постановки диагноза и подтверждения наличия метастазов.

При исследовании ИГХ-методом срезы толщиной 5 мкм окрашивались моноклональными антителами к Her2/neu (клон 4B5, Ventana, США) при помощи автостейнера Ventana Benchmark GX. Ядра клеток докрашивались гематоксилином.

Результаты ИГХ-окрашивания ткани опухоли с антителами к Her2/neu оценивались в соответствии с рекомендациями ASCO/CAP 2013, которые предусматривают выставление оценки в баллах. При уровне экспрессии онкобелка Her2/neu на мембранах опухолевых клеток 0 или 1+ опухоль имеет отрицательный, при уровне экспрессии 3+ — положительный, при уровне оценки

2+ — неопределенный Her2/neu-статус [10].

Материал первичной опухоли в случаях с неопределенным уровнем экспрессии онкобелка Her2/neu исследовался методом усиленной серебром гибридизации *in situ* (SISH) для оценки амплификации гена HER2 (INFORM HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail, Ventana, США) с использованием автостейнера Ventana Benchmark XT. Результаты SISH-исследования оценивались в соответствии с рекомендациями ASCO/CAP 2013 года, предполагающими положительный Her2-статус опухоли при амплификации гена HER2 и отрицательный в случаях без амплификации данного гена [10].

Оценивались частоты положительного и отрицательного Her2-статуса первичной опухоли и соответствие Her2-статусов первичной опухоли и регионарных метастазов. Выявленные частоты сравнивались с использованием точного теста Фишера [13].

Статистический анализ проводился с использованием программы MS Excel 2007. Принятый уровень статистической значимости (p) составлял 0,05 и менее.

Результаты

Амплификация гена HER2 в клетках первичной опухоли, свидетельствующая о ее положительном Her2-статусе, была обнаружена в 4 случаях из 19 (21,1%, 95% ДИ 7,0-46,1%), отсутствовала (отрицательный Her2-статус) в 15 случаях (78,9%, 95% ДИ 53,9-93,0%).

В 1 из 4 случаев с обнаруженной методом SISH в клетках первичной опухоли амплификацией гена HER2 наблюдалась гиперэкспрессия белка Her2/neu на мембранах клеток метастатической опухоли (положительный Her2-статус метастазов), в трех случаях — отсутствие экспрессии белка Her2/neu в метастазах.

Во всех 15 случаях с отрицательным Her2-статусом первичной опухоли (амплификация гена HER2 отсутствует) клетки метастазов не демонстрировали экспрессию онкобелка Her2/neu, что указывало на отрицательный Her2-статус метастазов.

Частота случаев с конкордантными Her2-статусами первичной опухоли и метастазов составила 84,2% (95% ДИ 59,5-95,8%), частота случаев с дискордантными статусами — 15,8% (95% ДИ 4,2-40,5%). Различие частот достоверно ($p < 0,001$).

Выводы

1. Среди включенных в исследование случаев РМЖ с метастатическим поражением регионарных лимфатических узлов и неопределенным уровнем экспрессии Her2/neu в клетках первичной опухоли ген HER2 бал амплифицирован в 21,1% случаев.

2. Her2-статус метастазов, оцененный по уровню экспрессии онкобелка Her2/neu, в большинстве случаев соответствует Her2-статусу первичной опухоли, оцененной при исследовании амплификации гена HER2.

3. Частота случаев с дискордантными Her2-статусами первичной опухоли и метастазов выше при амплификации гена HER2 в клетках первичной опухоли при раке молочной железы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zardavas D., Irrthum A., Swanton C., Piccart M. Clinical management of breast cancer heterogeneity. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2015; 12 (7): 381–394.

2. Конышев К.В., Сазонов С.В. Исследование Her2/neu-статуса клеток рака молочной железы при регионарном метастазировании в случаях с неопределенным (2+) уровнем экспрессии Her2/neu в ткани первичной опухоли. *Вестник уральской медицинской академической науки.* 2018; 15 (1): 48-54.

3. Конышев К.В., Сазонов С.В. Изменение экспрессии иммуногистохимических маркеров в регионарных метастазах рака молочной железы. *Архив патологии.* 2020;82(4): 19-25.

4. Aitken S.J., Thomas J.S., Langdon S.P., Harrison D.J., Faratian D. Quantitative analysis of changes in ER, PR and HER2 expression in primary breast cancer and paired nodal metastases. *Ann. Oncol.* 2010; 21 (6): 1254–1261.

5. Konyshov K.V., Brilliant A.A., Sazonov S.V. Ki67 and estrogen

receptor changes in breast cancer local metastases. *Virchows Archiv.* 2016; 469 (S1): 61

6. Конышев К.В., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Изменение экспрессии рецепторов к эстрогену клетками карциномы молочной железы при регионарном метастазировании. *Вестник Уральской медицинской академической науки.* 2015; 53 (2): 4-6.

7. Amir E., Miller N., Geddie W., Freedman O., Kassam F., Simmons C. et al. Prospective study evaluating the impact of tissue confirmation of metastatic disease in patients with breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2012; 30 (6): 587–592.

8. Конышев К.В., Сазонов С.В., Леонтьев С.Л. Изменение рецепторного аппарата клеток карциномы молочной железы при регионарном метастазировании. Екатеринбург, ООО «Редакция журнала Вестник уральской медицинской академической науки», 2019. 116 с.

9. Конышев К.В., Сазонов С.В. Особенности гетерогенности опухоли при регионарном метастазировании рака молочной железы. *Казанский медицинский журнал.* 2021;102(5):716-725.

10. Wolff A.C., Hammond M.E.H., Hicks D.G., Dowsett M., McShane L.M. 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): 241–256.

11. Sazonov S.V., Konyshev K.V. Her2/neu in local metastases and primary focus of breast cancer. *Virchows Archiv.* 2015; 467 (S1): S55.

12. Конышев К.В., Бриллиант А.А., Сазонов С.В., Леонтьев С.Л. Her2/neu-статус первичной опухоли и регионарных метастазов при раке молочной железы. 2015; 54 (3): 40-42.

13. Петри А., Сэбин К. Наглядная медицинская статистика. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2015.