

Определение HER2/neu-статуса по гистологическому материалу – есть ли пространство для дискуссии?

А.М.Борбат¹, Е.В.Ткаченко², К.М.Пожарисский³

¹ПАО ГУЗ ЯО Областная клиническая онкологическая больница, Ярославль;

²Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический), Санкт-Петербург;

³Российский научный центр радиологии и хирургических технологий, Санкт-Петербург

Резюме

В статье рассмотрены возможность определения HER2-статуса на цитологическом материале, полученном при аспирационной биопсии, а также возможные диагностические ошибки данного метода.

Ключевые слова: HER2-статус, HER2-тестирование, HER2-положительный РМЖ, ИГХ, FISH/CISH

Adequate HER2/neu status evaluating is a guarantee of the effective tumor therapy

A.M.Borbat, E.V.Tkachenko, K.M.Pozharisski

Summary

The article is to discover the possibility of HER2-assessment with the FNA cytological specimens and diagnostics pitfalls of the method.

Key words: HER2-status, HER2-testing, HER2-positive BrC, IHC, FISH/CISH

Сведения об авторах:

Борбат Артем Михайлович – врач-патологоанатом, ПАО ГУЗ ЯО Областная клиническая онкологическая больница, Ярославль
Ткаченко Елена Викторовна – зав. отделением химиотерапии, Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)

Пожарисский Казимир Марианович – акад. РАЕН, д-р. мед. наук, проф., зав. лаб. иммуногистохимии Российского научного центра радиологии и хирургических технологий, Санкт-Петербург

В общей популяции больных раком молочной железы (РМЖ) 20–30% имеют гиперэкспрессию или амплификацию гена Human Epidermal growth factor Receptor 2 (HER2). Известно, что заболевание у этой группы больных протекает агрессивно: наблюдается высокий риск метастазирования и низкая выживаемость пациентов [1, 2]. Основным препаратом, применяемым для лечения таких пациентов, является гуманизированное моноклональное антитело к EGFR (HER2) – трастузумаб (Герцептин).

Применение трастузумаба у больных с метастатическим HER2-положительным РМЖ в комбинации с классическими цитостатиками (таксанами, производными платины, гемцитабином, капецитабином) дает выраженный клинический эффект у 40–78% больных, повышает продолжительность ремиссии и общую выживаемость [1].

Использование трастузумаба в адъювантной терапии ранних форм HER2-положительного РМЖ уменьшает риск рецидива заболевания и риск смерти от опухоли на 34%, а также увеличивает 3-летнюю безрецидивную выживаемость на 36–58%.

Включение трастузумаба в алгоритм лечения с высокой экспрессией (+++) РМЖ в настоящее время стало стандартом терапии данного заболевания [2].

Применение таргетных препаратов, исходя из их механизма действия, целесообразно только у больных, в опухоли которых имеются мишени для такого воздействия. Доказаны эффективность трастузумаба при лечении РМЖ с наличием гиперэкспрессии гена HER2 и отсутствие эффективности данного препарата при HER2-негативных опухолях [1, 2].

Очевидна необходимость правильного определения статуса опухоли уже при первичном установлении диагноза РМЖ для определения дальнейшей тактики лечения больного. В случае получения ложноположительного результата может быть запланировано неоправданно агрессивное лечение, что приведет к увеличению осложнений без улучшения результатов, ухудшению прогноза на выздоровление у пациентки и к тому же значительно увеличит стоимость проводимой терапии [1, 2, 3]. Методы им-

муногистохимии (ИГХ) и in situ гибридизации (FISH/CISH) на гистологическом материале для определения HER2-статуса были апробированы в течение почти двух десятилетий в сотнях лабораторий, а их результаты сопоставлялись с клинической эффективностью трастузумаба [4]. Итогом этой работы стали совместные рекомендации Американского колледжа патологии и Американского общества клинических онкологов CAP/ASCO (The College of American Pathologists/The American Society for Clinical Oncology) в 2007 г., которые служат руководством по подготовке материала и проведению исследования [4]. До появления рекомендаций многие авторы предлагали использовать цитологический материал для определения HER2-статуса [5–15]. В качестве аргументов использования цитологического материала авторы видели более высокую скорость и относительную простоту его обработки для последующего микроскопического исследования [11, 13]. Однако это перестало быть актуальным благодаря широкой автоматизации не только традиционных гистологических методов, но и ИГХ. В настоящее время существует возможность автоматизации CISH для определения HER2-статуса (Ventana® Roche), что существенно повышает скорость и качество определения HER2-статуса.

Также в пользу применения цитологического материала ранее утверждалось, что клетки на стекле находятся не в рассеченном виде, как в гистологическом срезе, а целиком. Исходя из этого, предполагалось, что результаты применения методик FISH/CISH на цитологическом материале более достоверны, поскольку генетический материал клетки доступен для идентификации полностью, а не частично, как в гистологическом срезе [9, 10]. Но с появлением рекомендаций CAP/ASCO и процедур, регламентированных FDA (Food and drug Administration), поводов для дискуссии не осталось. Достоверность методов, опирающихся на гистологический материал, была подтверждена практикой.

В настоящее время продолжают появляться работы по применению цитологического материала для определения HER2-статуса в клинической практике [16–18], а зна-

чит и последующего назначения трастузумаба. Авторы этих работ в очередной раз постулируют описанные выше аргументы, указывают на меньший травматизм при использовании аспирационных биопсий и большую достоверность результатов, полученных при исследовании цитологического материала. Следовательно необходимо в очередной раз обратить внимание наших коллег на обстоятельства, требующие применения стандартизированных гистологических методов.

Во-первых, оценка HER2-статуса должна проводиться исключительно на инвазивном компоненте опухоли [4]. Согласно совместным рекомендациям CAP/ASCO, если инвазивный компонент опухоли в исследуемом материале отсутствует или выражен слабо, то результаты исследования признаются некорректными [4]. Возникает вопрос: как по результатам цитологического исследования, когда клетки «высосаны» из ткани и потеряли всякую связь с окружающими структурами, разобраться: инвазивный это компонент или нет? Сторонники цитологических методов либо деликатно обходят этот вопрос [18], либо исследуют исключительно метастатические очаги [17], что само по себе не достоверно и не является адекватным диагностическим подходом. В силу того, что цитологический материал не позволяет отделить инвазивный компонент от внутритротокового, результат HER2-тестирования на цитологическом материале заведомо будет иметь немалую долю ложноположительных случаев.

Во-вторых, мы уже говорили о том, что рекомендации CAP/ASCO были результатом многолетней работы, но также необходимо упомянуть, что данные рекомендации дают четкие инструкции и жесткие рамки, содержащие временные интервалы (например, от момента удаления до фиксации тканей), тип и концентрацию применяемого фиксирующего раствора, процедуры последующей обработки ткани (вплоть до толщины гистологического среза), а также клоны антител [4]. Такая детализация не является избыточной, как может показаться на первый взгляд. Напротив, однозначные инструкции позволили обеспечить единство используемых методик в лабораториях по всему миру. Опираясь на эти руководства, лаборатория с высокой степенью уверенности гарантирует воспроизводимость, а онколог и пациент, в свою очередь, могут полагаться на результат исследования. При этом автоматизация HER2-тестирования по данным Nordi QC (URL: <http://www.nordiqc.org/Run-30-B10/Assessment/assessment-B10-HER2.htm>; дата обращения: 01.03.11) позволяет поддерживать качество на постоянно высоком уровне. Существуют ли подобные рекомендации для цитологического материала? К сожалению, нет. Как замечают некоторые авторы, они вряд ли появятся из-за крайней вариативности методических процедур цитологических лабораторий [20, 21].

В-третьих, молекулы HER2 локализируются на мембранах клеток, а значит должна учитываться только его мембранная экспрессия. Изучение микропрепаратов и фотографий HER2-тестирования на цитологическом материале нередко позволяет увидеть, что мембранное окрашивание – это окрашивание группы клеток или отдельно расположенной клетки по периметру, т.е. на границе раздела двух сред. К сожалению, такая окраска нередко воспринимается как положительная [18]. Гистологический метод лишен подобных недостатков, хотя аналогичный феномен можно встретить в крае гистологического среза. Именно по этой причине оценка HER2-статуса в крае гистологического среза запрещена рекомендациями CAP/ASCO. Обратим внимание, что и контрольные стекла одобренных FDA систем HER2-тестирования PATHWAY HER2/neuR (Roche) и HerceptTest® (Dako) содержат гистологические препараты опухолевых культур клеток.

Таким образом, мы считаем, что использование цитологического материала в клинической практике для диагностики HER2-статуса в настоящее время является неприемлемым, поскольку способ его забора не позволяет дифференцировать инвазивный компонент опухоли, прото-

колы обработки материала не стандартизированы, а сам цитологический материал не является адекватным для определения мембранных структур.

Литература

- McKeage K, Perry CM. Trastuzumab: a review of its use in the treatment of metastatic breast cancer overexpressing HER2. *Drugs* 2002; 62: 209–43.
- Язудина Р.И., Куликов А.Ю., Нгуен Т. Обзор зарубежных фармакоэкономических исследований применения Герцептина при лечении рака молочной железы. *Фармакоэкономика*. 2009; 2: 28–35.
- Ганьшина И.П., Степанова Е.В. Место герцептина в онкологической практике. *Русский медицинский журнал. Онкология*. 2003; 11: 680–5.
- Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 testing in breast cancer. *Arch Pathol Lab Med* 2007; 131: 18–43.
- Vocaturro A, Novelli F, Benevolo M et al. Chromogenic in situ hybridization to detect HER-2/neu gene amplification in histological and Thin-PrepR-Processed breast cancer fine-needle aspirates: a sensitive and practical method in the trastuzumab era. *The Oncologist* 2006; 11: 878–86.
- Bedard YC, Pollet AF, Leung SW et al. Assessment of thin-layer breast aspirates for immunocytochemical evaluation of HER2 status. *Acta Cytol* 2003; 47: 979–84.
- Sartelet H, Lagonotte E, Lorenzato M et al. Comparison of liquid based cytology and histology for the evaluation of HER-2 status using immunostaining and CISH in breast carcinoma. *J Clin Pathol* 2005; 58: 864–71.
- Nizzoli R, Bozzetti C, Crafa P et al. Immunocytochemical evaluation of HER-2/neu on fine-needle aspirates from primary breast carcinomas. *Diagn Cytopathol* 2003; 28: 142–6.
- Bozzetti C, Nizzoli R, Guazzi A et al. HER-2/neu amplification detected by fluorescence in situ hybridization in fine needle aspirates from primary breast cancer. *Annals of Oncology* 2002; 13: 1398–403.
- Bozzetti C, Personeni N, Nizzoli R et al. HER-2/neu Amplification by fluorescence in situ hybridization in cytologic samples from distant metastatic sites of breast carcinoma. *Cancer (Cancer cytopathology)* 2003; 99: 310–5.
- Moriki T, Takahashi T, Ueta S et al. Hormone receptor status and HER2/neu overexpression determined by automated immunostainer on routinely fixed cytologic specimens from breast carcinoma: correlation with histologic sections determinations and diagnostic pitfalls. *Diagnostic Cytopathology* 2004; 30: 251–6.
- Corkill ME, Katz R. Immunocytochemical staining of c-erbB-2 oncogene in fine-needle aspirates of breast carcinoma: a comparison with tissue sections and other breast cancer prognostic factors. *Diagn Cytopathol* 1994; 11: 250–4.
- Troncone G, Panico L, Vetrani A et al. c-erbB-2 expression in FNAB and matched surgical specimens of breast cancer. *Diagn Cytopathol* 1996; 14: 135–9.
- Solomides CC, Zimmerman R, Bibbo M. Semiquantitative assessment of c-erbB-2 (HER-2) status in cytology specimens and tissue sections from breast carcinoma. *Anal Quant Cytol Histol* 1999; 21: 121–5.
- Brifford M, Hecene K, Le Doussal V. Immunohistochemistry on cell blocks from fine needle cytopunctures of primary breast carcinomas and lymph node metastases. *Modern Pathology* 2000; 8: 841.
- Nassar A, Cohen C, Siddiqui M. Estimation of hormone receptor status and HER2 in cytologic cell blocks from breast cancer using the novel rabbit monoclonal antibodies (SP1, SP2, and SP3). *Diagnostic Cytopathology* 2009; 37: 865–70.
- Tapia C, Savic S, Wagner U et al. HER2 gene status in primary breast cancers and matched distant metastases. *Breast Cancer Research* 2007; 3: 31.
- Волченко Н.Н., Савостикова М.В. Атлас цитологической и иммуноцитохимической диагностики опухолей. М., 2010.
- Sottnik JL, Gutb AM, Mitchell LA et al. Minimally invasive assessment of tumor angiogenesis by fine needle aspiration and flow cytometry. *Angiogenesis* 2010; 13: 251–8.
- Fowler JL, Lachar WA. Application of immunohistochemistry to cytology. *Arch Pathol Lab Med* 2008; 132: 373–83.
- Hebn ST, Grogan TM, Miller TP. Utility of fine-needle aspiration as a diagnostic technique in lymphoma. *Journal of Clinical Oncology* 2004; 22: 3046–52.