

Сазонов С.В.^{1,2}, Леонтьев С.Л.¹

Организация работы системы пересмотра материала пациенток с карциномой молочной железы (референс)

1 – ГБУЗСО Институт медицинских клеточных технологий; 2 – ГБОУ ВПО Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Екатеринбург

Sazonov S.V., Leontiev S. L.

Organization of work of systems for reviewing the material of patients with carcinoma of the breast (reference)

Резюме

При создании и правильном использовании референс-лаборатории второго просмотра для лабораторий первого просмотра значительно расширяются ее диагностические возможности. Так, становятся доступными дополнительные диагностические и сопутствующие методы, которые могут значительно улучшить прогноз течения рака молочной железы. Одновременно, участвуя в референсе, пересмотре материала, лаборатория первого просмотра материала автоматически включается, становится элементом системы качества проведения патоморфологических, иммуногистохимических и молекулярно-биологических исследований. Хотя постоянный внутрилабораторный контроль качества проводимых исследований является одним из наиболее важных факторов, гарантирующих качество работы отдельной взятой лаборатории, он далеко не всегда позволяет выявить недостатки методики. Система внешнего контроля качества дает возможность объективно оценить результаты работы разных лабораторий, определить причину выявленных несоответствий и дать рекомендации по их устранению. Не менее важным является возможность реализации механизмов обучения персонала патоморфологической лаборатории, участвующей в системе референса материала, стандартизации используемых методических приемов проведения исследований и интерпретации получаемых результатов.

Ключевые слова: иммуногистохимические исследования, референс-исследования, рак молочной железы

Summary

When you create and correct use of the reference laboratory of the second viewing for laboratories first viewing significantly expanded its diagnostic capabilities. So, become available for more diagnostics and related methods that can greatly improve the prognosis of breast cancer. Simultaneously, participating in reference, revision material, laboratory first viewing of the material included automatically becomes an element of the system of quality of pathomorphological, immunohistochemical and molecular-biological studies. Although permanent internal control over quality of research is one of the most important factors to ensure the quality of the work of a single lab, he is not always possible to identify the weaknesses of the methodology. External quality control system gives the opportunity to objectively evaluate the results of different laboratories, determine the cause of the identified discrepancies and make recommendations to address them. Not less important is the possibility of implementing the mechanisms, personnel training pathomorphological laboratory participating in the system reference material used standardization of teaching methods and research, and interpret the results obtained.

Key words: immunohistochemical studies, reference research, breast cancer

Введение

Еще в 2005 г. экспертная группа BHGI (Breast Health Global Initiative) по проблемам рака молочной железы разработала рекомендации по диагностике рака молочной железы в странах с «ограниченными финансовыми ресурсами системы здравоохранения» [1, 2]. Предложенная схема стратификации определяет четыре уровня ресурсов: базовый, ограниченный, расширенный и мак-

симальный. По сути, они описывают метод или набор методов, используемых структурной единицей Российской системы здравоохранения (районной, городской, областной, региональной, федеральной). Разработана концепция, согласно которой в рамках одной страны могут сосуществовать разные уровни ресурсов. По данной схеме стратификации методы, относящиеся к базовому уровню ресурсов - это методы, абсолютно необходимые

для программы профилактики и лечения рака молочной железы. Методы, относящиеся к ограниченному уровню ресурсов, обеспечивают значительное улучшение исходов по сравнению с методами базового уровня. Методы, описанные в рамках расширенного уровня ресурсов, обеспечивают некоторое улучшение исходов по сравнению с методами ограниченного уровня. А методы, относящиеся к максимальному уровню ресурсов - это методы, описываемые в современных рекомендациях, предполагающих наличие у учреждения здравоохранения неограниченных ресурсов. Предлагаемая концепция подразумевает поэтапное увеличение уровня ресурсов. Достижение каждого следующего уровня предполагает, что здравоохранение данного региона уже имеет все методы, относящиеся к более низким уровням и сейчас имеет достаточно ресурсов, чтобы внедрять дополнительные методы. Таким образом, схема предоставляет последовательную, методичную основу для совершенствования возможностей диагностики рака молочной железы, в том числе патоморфологических исследований [1].

Эксперты организации пришли к заключению, что перед началом лечения рака молочной железы обязательна патоморфологическая верификация диагноза, основанная на микроскопическом исследовании образцов ткани. Для улучшения качества диагностики при патологии молочной железы было намечено несколько приоритетных направлений, среди них, как основные можно выделить:

1. организация системы обучения патоморфологов;
2. внедрение новых высокотехнологичных (в том числе молекулярно-биологических) методов патоморфологической диагностики в специализированных лечебно-профилактических учреждениях;
3. организация системы референс-лабораторий в патоморфологической службе и внедрение контроля качества проводимых исследований.

Основные понятия

Система качества в патоморфологии. Важна не только доступность диагностического метода, но и уровень, компетентность его выполнения. Это означает, что в результате его применения ставится правильный диагноз, а врачи, проводящие лечение, уверены в полученных данных. Качество проводимых медицинских услуг в патоморфологической лаборатории связано с наличием в лаборатории элементов внутреннего и внешнего контроля. Важнейшим элементом внешнего контроля является система пересмотра материала в референс-лаборатории. В мировой практике первая система внешнего контроля качества UKNEQAS была создана в Великобритании в 1985 г., позднее принцип обязательного пересмотра материала опухолей разными патологами и лабораториями стал внедряться и в других странах [3, 4]. Внедрение системы референса вплотную приближает Российские патоморфологические лаборатории, участвующие в ней, к созданию в их работе условий, соответствующих требованиям ISO 15189:2003, ГОСТ Р ИСО-2006 «Медицинские лаборатории. Специальные требования к качеству и компетентности».

Референс – пересмотр патоморфологического материала в лаборатории, имеющей статус референс-лаборатории.

Референс-система - это набор организационных, структурных и финансовых решений, направленных на создание и поддержания механизма пересмотра патоморфологического материала с целью обеспечения качества выполняемых исследований в лабораториях, входящих в эту систему [5].

Лаборатория первого просмотра - это патоморфологическая лаборатория, обеспечивающая диагностику в данном лечебном учреждении и имеющая соответствующую лицензию на данный вид медицинской деятельности. Данная лаборатория обеспечивает объем диагностики в соответствии со стандартами оказания медицинской помощи и объемом ее финансирования. Обязательным для включения в референс-систему является наличие специальных дополнительных методов исследования и минимальный объем исследований, выполняемых в течение года [5, 6]. В соответствии с основными требованиями, сформулированными в 2010 г ASCO/CAP для обеспечения нормальной организации работы современной патоморфологической лаборатории рекомендуемое минимальное количество исследований в год должно составлять не менее: для иммуногистохимических (ИГХ) исследований – 250 исследований, для FISH – не менее 100 исследований.

Лаборатория второго просмотра - лаборатория, в которой осуществляется пересмотр материала, поступающего из лабораторий первого просмотра. Такая лаборатория должна не только иметь лицензию на осуществление специализированной медицинской помощи по патологической анатомии, но и пройти добровольную процедуру сертификации процессов выполнения патоморфологических (патологоанатомических) исследований и патологоанатомических услуг в здравоохранении в статусе референс-лаборатории, в том числе на выполнение патогистологических, морфометрических, иммуноморфологических и ISH исследований и получить соответствующий Сертификат соответствия. Т.о. в референс-лаборатории должна быть возможность выполнения как иммуногистохимических, так и молекулярно-биологических методов исследования. При этом объемы выполняемых такой лабораторией исследований должны быть не меньшими, чем рекомендуемые ASCO/CAP. В такой большой по территории стране как Россия, референс-лаборатория второго просмотра обычно осуществляет свою деятельность в субъекте федерации (республике, федеральном округе, Москве, Московской области и т.д.). Сотрудники референс-лаборатории второго просмотра являются наиболее квалифицированными специалистами в данной области патологической анатомии, занимаются работой по обучению, оказания методической помощи специалистам лабораторий первого просмотра, входящим в референс-систему [4,5].

Центральная референс-лаборатория - лаборатория, в которой осуществляется пересмотр материала, поступающего из региональных референс-лабораторий

второго просмотра. Такая лаборатория имеет лицензию на осуществление специализированной медицинской помощи по патологической анатомии и Сертификат соответствия процессов выполнения патоморфологических (патологоанатомических) исследований и патологоанатомических услуг в здравоохранении в статусе референс-лаборатории, в том числе на выполнение патогистологических, морфометрических, иммуноморфологических и ISH исследований. Сотрудники Центральной референс-лаборатории являются наиболее квалифицированными специалистами в данной области патологической анатомии в России, активно занимаются научно-исследовательской работой, являются признанными профессиональным сообществом авторитетами, специалистами в данном направлении деятельности, проводят работу по обучению, оказанию консультативной и методической помощи специалистам лабораторий [5,6]. Референс-лаборатории так же могут проходить контроль качества выполняемых иммуногистохимических и молекулярно-биологических исследований и в независимых референс-центрах, созданных при крупных профессиональных сообществах врачей-патологов. Так в 2013 г. все референс-лаборатории, участвующие в HER2 тестировании рака молочной железы для оценки качества получаемых препаратов и правильности их оценки проходили экспертизу в Nordic [16].

Организация работы системы пересмотра материала РМЖ (референс)

Лаборатория пересмотра (референс-лаборатория) создается на базе патоморфологической лаборатории, обладающей в своем арсенале двумя специальными методами исследования: 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). ИГХ метод нашел широкое применение в связи с тем, что повседневно используется для оценки экспрессии многих других протеинов и может быть выполнен на срезах парафиновых блоков ткани, фиксированной формалином. При несомненных достоинствах ИГХ-метода, а именно легкой воспроизводимости и относительной дешевизне, он имеет и некоторые недостатки. Возможны ложнопозитивные результаты, обусловленные техническим несовершенством метода. Кроме того, гиперэкспрессия Her2/неу может быть и несвязанной с амплификацией гена. Возможны и ложноотрицательные результаты теста. В некоторых случаях, после заливки в парафин, ткани РМЖ, могут терять рецепторы на поверхности мембраны и утрачивать способность давать специфическое окрашивание при проведении ИГХ-исследования [5,7].

Более надежным методом выявления наличия амплификации гена является флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) — золотой стандарт в диагностике Her2/неу-позитивных РМЖ [8]. Метод позволяет оценить количество копий гена в клетке, а более совершенный его

вариант — определить количество хромосом 17. Считается, что результат теста является положительным, если соотношение среднего количества копий гена Her2/неу и среднего числа центромер хромосомы 17 в клетке превышает 2,2 [9].

При должной стандартизации методик данные ИГХ-исследования как при Her2/неу-негативном (категории 0 и 1+), так и Her2/неу-позитивном РМЖ (категория 3+) подтверждают результаты FISH. В лаборатории LabCorp соответствие результатов двух методов отмечали у 89% проанализированных пациентов [7, 10, 11]. У 4% больных Her2/неу-позитивность по результатам ИГХ-исследования (категория 3+) не подтвердилась результатами FISH [12]. Приемлемой для стандартизированной лаборатории считается 5% частота ложнонегативных результатов. Лабораториям рекомендуется проводить параллельную оценку статуса Her2/неу с использованием ИГХ-метода и FISH до тех пор, пока у менее 5% пациенток, относящихся по данным ИГХ-исследования к категории 0/1+, результаты окажутся позитивными при проведении FISH-теста [13].

Существенную 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 мембран очевидного радиального характера. 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 FISH выявляется амплификация гена и они являются в действительности Her2/неу-позитивными, что делает необходимым проведение исследования РМЖ в два этапа [7, 10, 14]. Учитывая, что молекулярно-генетические исследования в настоящее время доступны немногим патоморфологическим лабораториям, референс осуществляется в соответствии со следующим алгоритмом: на первом этапе в лаборатории первого просмотра проводится скрининг с использованием ИГХ-метода: ИГХ 3+ случаи рассматривают как позитивные, ИГХ 0/1+ как негативные. В отношении Her2/неу 2+ случаев проводится повторное тестирование в региональной референс-лаборатории с использованием метода ИГХ, при подтверждении результата - с использованием метода FISH, позволяющего оценить количество копий гена Her2/неу и наличие полисомии по хромосоме 17 (рис.1). Только при наличии заключения из референс-лаборатории решается вопрос о назначении пациентки химиотерапии.

В работе по проведению референсных исследований определения гиперэкспрессии HER2/неу в 2010-2013 г.г. приняло участие 11 патоморфологических лабораторий учреждений здравоохранения УрФО (рис.2):

1. референс-лаборатория УрФО - лаборатория патоморфологии ГБУЗ ИМКТ, г. Екатеринбург, Свердловская область

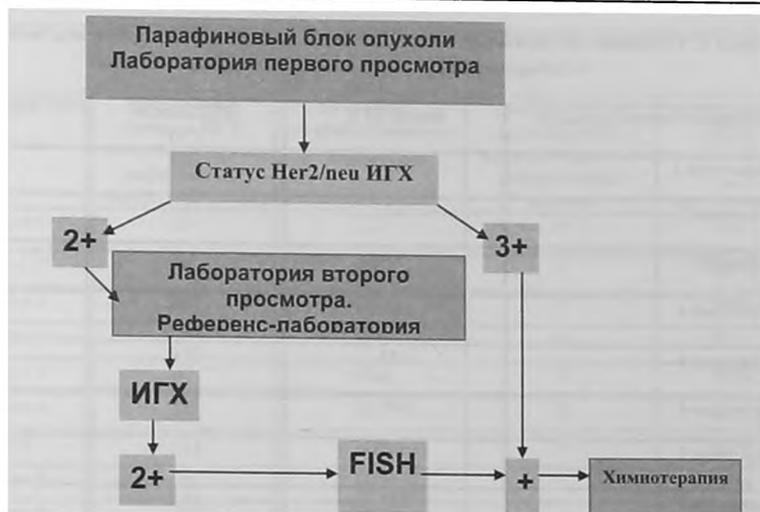


Рис.1. Схема проведения молекулярно-биологических исследований рака молочной железы в первичной и референс-лаборатории.

2. ГБУЗ СОПАБ, лаборатория иммуногистохимии, г. Екатеринбург, Свердловская область
3. ГБУЗ СООД, патоморфологическое отделение, 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 – субреференсная лаборатория

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.

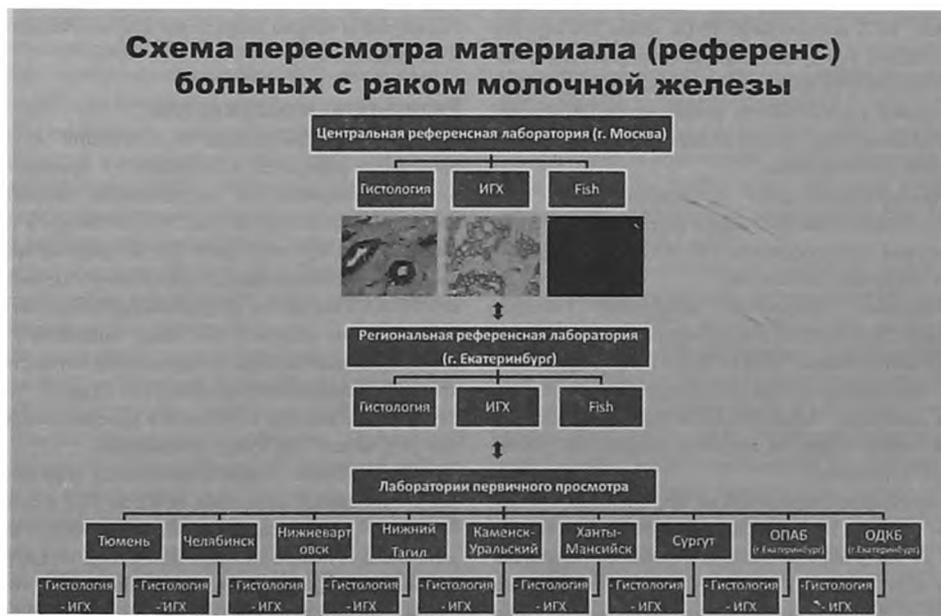


Рис.2. Принципиальная схема проведения референс-исследований карциномы молочной железы в УрФО.

Таблица 1. Удельный вес положительных HER2/neu тестирований карциномы молочной железы в лабораториях учреждений здравоохранения УрФО

Название лаборатории, №	Всего ИГХ	HER2neu 3+ (%)	HER2neu 2+ (%)
Лаборатория 1	943	16,2	11,4
Лаборатория 2	61	18,0	4,0
Лаборатория 3	95	4,2	11,6
Лаборатория 4	60	21,6	25,0
Лаборатория 5	125	20,0	13,3
Лаборатория 6	809	7,9	9,4
Лаборатория 7	81	11,1	14,8
Лаборатория 8	227	18,9	22,9
Лаборатория 9	115	18,3	32,2
Лаборатория 11	92	27,2	31,5
Всего по УрФО	2508	15,0	19,8

Для работы в референс-лабораторию поступают готовые парафиновые блоки и стекла с проведенной в лаборатории первого просмотра иммуногистохимической реакцией и результаты исследования. Референс проводится для каждого случая с неоднозначным уровнем экспрессии HER2 neu 2+. Для первичной лабораторий с объемом ИГХ исследований РМЖ более 250 случаев в год кроме того на референс исследование отправляется каждый 20 случай независимо от его результата. Для лабораторий с объемом ИГХ исследований РМЖ менее 250 случаев в год – каждый 10 случай. Если лаборатория только начала принимать участие в программе референса, то в течение первого месяца работы отправляется 100% всего протестированного материала до достижения совпадения результатов в 95% случаев.

Референс-исследования проводились на базе референс-лаборатории Уральского федерального округа - лаборатории патоморфологии ГБУЗСО Институт медицинских клеточных технологий.

Выявление экспрессии рецепторов Estrogen, Progesterone, Ki67 и HER2 neu осуществлялось с использованием автостейнера "DAKO" (USA). Предварительно гистологические срезы обрабатывались в блоке подготовки материала "LINK DAKO Cytomation». Оценку реакции осуществляли на световом микроскопе "Zeiss Imager M" (Германия).

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

Референс препаратов на амплификацию гена HER2 neu проводился в рамках Международного мультицен-

трового исследования (в соответствии с требованиями "HER2 Screening Program ML 19870) на базе Центральной референс-лаборатории – патоморфологической лаборатории кафедры патологической анатомии РМАПО г. Москва (зав. кафедрой: академик РАН, 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 и обсуждение

Всего лабораториями, включенными в систему проведения референса, в 2010-2013 г.г. проведено 2508 иммуногистохимических исследований пациенткам с карциномой молочной железы, что составляет в среднем около 58% от всех пациенток [5]. Количество проведенных Her2/neu тестирований в учреждениях здравоохранения УрФО, а так же их результаты представлены в Табл. 1. Необходимо отметить, что охват пациенток с карциномой молочной железы тестированием осуществляется крайне неравномерно и колеблется от 28 до 95% от всех случаев. Значительно колеблется и процент положительных результатов Her2/neu тестирования.

Так, средний % протестированных и расцененных как 2+ находится в пределах от 4,0 до 32,2 в разных лабораториях. Не меньшая разница отмечается и при анализе числа случаев с уровнем экспрессии 3+, где разброс средних результатов тестирования составляет 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 говорит об отсутствии в иммуноги-

Таблица 2. Результаты иммуногистохимических и молекулярно-генетических исследований случаев, поступивших на референс.

Название лаборатории	Количество случаев ИГХ направленных на референсный анализ (0,1+,2+3+)	% случаев, направленных на референс	Количество ISH исследований направленных на референсный анализ	% совпадения ИГХ
Лаборатория 1	25	2,7	15	96
Лаборатория 2*	4	6,5	0	100%
Лаборатория 3	94	11,6	0	96%
Лаборатория 4	40	32,0	0	93%
Лаборатория 5	57	100,0	0	93%
Лаборатория 6	20	25,7	0	90%
Лаборатория 7	25	11,0	0	85%
Лаборатория 8	26	11,5	0	85%
Лаборатория 9	10	16,6	0	80%
Лаборатория 10	25	21,6	0	64%
Лаборатория 11	14	15,2	0	57%
ВСЕГО	315	12,6	0	-

Примечание: * - условный номер лаборатории, не совпадающий с порядковым номером в списке лабораторий

стохимических лабораториях системы стандартизации исследований и единых подходов к оценке проводимых исследований. На результаты исследования влияет множество субъективных факторов или параметров, которые можно разделить на преаналитические, аналитические и постаналитические [3,4,5, 15, 16]. 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 реагентики для иммуногистохимических исследований от разных производителей, разный методический уровень проведения исследований (автоматизированный или ручной варианты, время инкубации антител, используемые растворы с разными pH и т.д.). На постаналитическом этапе наибольшее значение имеет разный уровень квалификации и опыт персонала.

Для уменьшения роли субъективных факторов отдельных ИГХ лабораторий учреждений здравоохранения УрФО на получаемые показатели HER2 тестирования, а так же осуществления референса проведенных в них иммуногистохимических исследований уровней экспрессии и проведения дополнительно молекулярно-генетических исследований для выявления амплификации гена в случаях с уровнем экспрессии Her2/neu 2+ методом FISH, было исследовано 315 блоков пациенток с карциномой молочной железы, что составило всего 12,6% от всех проведенных исследований (Табл.2).

Процент направленных на референс случаев также значительно колебался в разных лабораториях и состав-

ляет от 2,7% до 100% всех случаев. Все имеющиеся случаи были направлены на пересмотр лабораторией, присоединившейся к референсным исследованиям в 2010 – 2012 г.г. и по договоренности в первый год участия в референс-системе направляющей каждый случай РМЖ, исследованный ИГХ. В то же время, анализ данных по проценту направленных на референс случаев позволяет говорить о нарушении структуры направляемых на пересмотр случаев (все 2+ и каждый 10 случай) почти каждой лабораторией. Тем самым лаборатория, по-видимому, пытаются переложить на референс-лабораторию ответственность по принятию решений во всех возникающих сложных случаях. В какой то мере, это оправдано, т.к. в настоящее время только одна лаборатория – референс лаборатория УрФО может проводить уточняющие молекулярно-генетические исследования амплификации гена HER2 пец.

Важным является такой показатель эффективности работы референс-системы, как процент совпадения оценки результатов ИГХ исследований при их пересмотре. И по этому показателю имеются значительные различия среди иммуногистохимических лабораторий первого просмотра материала (Табл. 2). Процент совпадения оценки колеблется от 57 до 100 от всех прошедших референс случаев. Необходимо отметить тот факт, что лучшие результаты показывают лаборатории с большими объемами ИГХ исследований и оснащенные автоматизированными комплексами для проведения исследований.

При проведении референса в центральной лаборатории второго пересмотра случаев с определением HER2 пец тестирования из референсной лаборатории УрФО установлено, что в 96% случаев результат направляемых уровней экспрессии был подтвержден, что позволяет го-

ворить об достаточной эффективности работы лаборатории первого просмотра, хотя и указывает на сохраняющиеся некоторые различия в оценке получаемых результатов ИГХ исследований.

Проведенные дальнейшие молекулярно-генетические исследования материала пациентов с уровнем экспрессии Her2/neu - 2+, показали обоснованность и необходимость более глубокого обследования этой группы больных. Так, в 27% случаев у таких пациентов была обнаружена амплификация, увеличение среднего количества копий гена Her2/neu хромосомы 17 в ядрах опухлевых клеток.

Выводы

Основные ошибки при использовании лабораториями первого просмотра возможностей референс-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 просмотра 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. Часто не используется утвержденный бланк направления на референсное исследование.

Основные шаги по улучшению качества тестирования в лабораториях:

1. Необходимо более активное внедрение в работу ИГХ лабораторий, входящих в референс-систему автоматизированного оборудования для проведения исследований;

2. Использование в превичных лабораториях, в референс - и субреференсных лабораториях наборов, рекомендованных для проведения ИГХ на автостейнерах FDA;

3. Создание в ИГХ лабораториях базы контрольных образцов (блоков и стекол ИГХ) тестирования HER 2 с уровнями экспрессии 1+, 2+, 3+;

4. Формирование внутреннего стремления у врачей лаборатории первого просмотра к достижению контрольных цифр распределения уровней экспрессии при проведении HER2 тестирования РМЖ - ориентировочно: при уровне экспрессии 1+ - 10%, 2+ - 10%, 3+ - 20%;

5. В случае несоответствия в лаборатории первого просмотра распределения контрольных значений уровня экспрессии HER2 привлечение для референс HER2 тестирования случаев с уровнем экспрессии 1+.

6. Разработка системы оценки качества работы ИГХ лабораторий первого просмотра и региональной референс-лаборатории.

В работе ИГХ лабораторий, относящихся к референс-системе следует руководствоваться основными положениями, сформулированными ASCO/CAP для современной патоморфологической лаборатории в 2010 г.:

1. Необходимо использование стандартизованных процедур обработки материала;

2. Необходимо использование стандартизованных методов проведения ИГХ исследования;

3. Обязательно необходим внешний контроль качества. Лаборатория должна добиваться не менее чем 95% конкордантности (совпадения) с позитивными и негативными случаями, прошедшими через референс-лабораторию;

4. Для обеспечения нормальной организации работы рекомендуемое для патоморфологической лаборатории количество исследований в год должно составлять не менее: для ИHC – 250 исследований, для FISH – 100 исследований.

5. Применение положительных и отрицательных контролей для каждого исследования.

6. Обязательный тренинг патологов и технологов.

7. Применение методов анализа изображения.

Заключение

При создании и правильном использовании референс-лаборатории второго просмотра для лабораторий первого просмотра значительно расширяются диагностические возможности. Так, становятся доступны дополнительные диагностические и сопутствующие методы, которые могут значительно улучшить прогноз течения рака молочной железы. Объем диагностики должен включать в себя: ИГХ определение экспрессии РЭ, РП, Ki67, TOP2 α , HER2 neu статуса опухоли, ИГХ окрашивание сторожевых лимфатических узлов на цитокератины для выявления в них микрометастазов, молекулярно-биологические исследования и новейшие методы визуализации. Необходимым элементом этого уровня диагностики является наличие электронной базы данных выполненных исследований.

Одновременно, участвуя в референсе, просмотре материала, лаборатория первого просмотра материала автоматически включается, становится элементом системы качества проведения патоморфологических, иммуногистохимических и молекулярно-биологических исследований. Хотя постоянный внутрилабораторный контроль качества проводимых исследований является одним из наиболее важных факторов, гарантирующих качество работы отдельной взятой лаборатории, он далеко не всегда позволяет выявить недостатки методики. Первые полученные результаты контроля качества морфологической диагностики опухолей [4], говорят о наличии неточностей при формулировке морфологических заключений в 5-71% всех случаев, а так же наличие существенных дефектов в методике проведения ИГХ исследований в 26-82% случаев при диагностике лимфопролиферативных заболеваний [3]. Система внешнего контроля качества дает возможность объективно оценить результаты работы разных лабораторий, определить причину выявленных несоответствий и дать рекомендации по их устранению.

Не менее важным является возможность реализации механизмов обучения персонала патоморфологической

лаборатории, участвующей в системе референса материала, стандартизации используемых методических приемов проведения исследований и интерпретации получаемых результатов. ■

Сазонов С.В., д.м.н., профессор, заместитель главного врача по науке ГБУЗСО Институт медицинских клеточных технологий, заведующий кафедрой гистоло-

гии, цитологии и эмбриологии ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава Российской Федерации, г. Екатеринбург; Леонтьев С.Л., д.м.н., профессор, главный врач ГБУЗСО Институт медицинских клеточных технологий, г. Екатеринбург; Автор, ответственный за переписку - Сазонов Сергей Владимирович, 620036, г. Екатеринбург, ул. Соболева, 25, тел. 8 (343) 376-98-28, E-mail: Prof-SSazonov@yandex.ru

Литература:

1. Anderson B.O., Shyyan R., Eniu A.E., et al. Breast cancer in limited-resource countries: an overview of the Breast Health Global Initiative 2005 guidelines // *Breast J.* 2006 - N12 (suppl. 1) - P. 3-26.
2. Vargas H.I., Vargas M.P., Gonzalez K.D., et al. Diagnosis of palpable breast masses: ultrasound-guided large core biopsy in a multidisciplinary setting// *Am. Surg.*, 2004 - V. 70 - P. 867-871.
3. Криволапов Ю.А., Пешков М.В., Леенман Е.Е. и др. Первый опыт проведения внешнего контроля качества иммуногистохимических исследований в диагностике лимфопролиферативных заболеваний// *Архив патологии*, 2011. - Том 73, ц2. - С. 25-32.
4. Франк Г.А., Мальков П.Г., Мещерякова Н.Г. Контроль качества морфологической диагностики опухолей по результатам школы патоморфологии портала Oncology.ru// *Архив патологии*, 2011. - Том 73, ц2. - С. 32-35.
5. Сазонов С.В., Леонтьев С.Л., Бриллиант А.А. Результаты работы референс-лаборатории по HER2 neu тестированию карциномы молочной железы в УрФО// *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2011. Т.4., ц37. С.7-11.
6. Франк Г.А., Завалишина Л.Э., Данилова Н.В., Андреева Ю.Ю. Морфологическое исследование HER2-статуса рака молочной железы и желудка. Методические рекомендации и атлас// *Архив патологии*. 2013. Т.75, В.2. 64 с.
7. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N. Engl. J. Med.* - 2001; 344 - P. 783-92.
8. Ma Y, Lespagnard L, Durbecq V, et al. Polysomy 17 in HER-2/neu status elaboration in breast cancer: effect on daily practice. *Clin. Cancer Res.* - 2005; 11 - P. 4393-9.
9. Wolff A.C., Hammond M.E., Schwartz J.N. et al. American Society of Clinical Oncology/ College of American Pathologists guideline recommendation for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer// *Arch. Pathol. Lab. Med.* - 2007. - Vol.131. - P.18-43.
10. Cobleigh MA, Vogel CL, Tripathy D, et al. Multinational study of the efficacy and safety of humanized anti-HER2 monoclonal antibody in women who have HER2-overexpressing metastatic breast cancer that has progressed after chemotherapy for metastatic disease. *J. Clin. Oncol.* 1997; 17: P. 2639-48.
11. Vogel CL, Cobleigh MA, Tripathy D, et al. Efficacy and safety of trastuzumab as a single agent in first-line treatment of HER2-overexpressing metastatic breast cancer. *J. Clin. Oncol.* - 2002; 20 - P.719-26.
12. Reddy JC, Reimann JD, Anderson SM, et al. Concordance between central and local laboratory HER2 testing from a community-based clinical study. *Clin. Breast Cancer* - 2006; 7 - P. 153-7.
13. Zarbo RJ, Hammond ME. Her-2/neu testing of breast cancer patients in clinical practice. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2003 - V.127 - P.549-53.
14. Perez EA, Roche FC, Jenkins RB, et al. HER2 testing in patients with breast cancer: Poor correlation between weak positivity by immunohistochemistry and gene amplification by fluorescence in situ hybridization. *Mayo Clin. Proc.* - 2002; 77 - P. 148-54.
15. Fritschy J.M. Is my antibody-staining specific? How to deal with pitfalls of immunohistochemistry // *Eur. J. Neurosci.* - 2008. - Vol.28. - P.2365 - 2370.
16. Vyberg M., Torlakovic E., Seidal T. et al. Nordic immunohistochemical quality control// *Croat. Med. J.* - 2005. - Vol. 46. - P.368-371.