

МУТАЦІЙНИЙ СТАТУС ГЕНА HER-2/NEU У ХВОРИХ НА РМЗ ВІДПОВІДНО ДО РЕКОМЕНДАЦІЙ ASCO¹НТУУ «Київський політехнічний інститут» (м. Київ)²Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України
(м. Київ)

bogdana11@ukr.net

Дана робота є фрагментом НДР «Порівняльне дослідження генетичної схильності до розвитку раку молочної залози у жінок, які зазнали дії іонізуючої радіації внаслідок аварії на ЧАЕС», № державної реєстрації 0114U002848.

Вступ. Рак молочної залози (РМЗ) являє собою одну з найактуальніших медико-соціальних та економічних проблем, оскільки є онкологічним захворюванням серед жінок. Нові можливості в діагностиці та лікуванні РМЗ пов'язані з визначенням надекспресії гена HER-2/neu, який представляє собою мішень для терапевтичного впливу на пухлинний ріст [4, 17]. Статус гена HER2/neu – важлива характеристика, пов'язана з чутливістю до таргетної терапії, рецидивуванням пухлини, прогнозом клінічного перебігу РМЗ [20].

HER-2/neu (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 – рецептор людського епідермального фактора росту 2-го типу) – це білок онкогена HER-2/neu, який в свою чергу відноситься до сімейства 4 функціонально пов'язаних трансмембранних рецепторних тирозинкіназ (HER-1 – HER-4) [6] і може бути виявлений в незначній кількості і в нормальних клітинах молочної залози [8]. Залежно від експресії HER-2/neu РМЗ класифікують як HER-2/neu-позитивні (HER-2+) та HER-2/neu-негативні (HER-2-) [9]. Гіперекспресія HER-2/neu свідчить про важке протікання хвороби та поганий прогноз захворювання [21].

Для оцінки HER-2/neu-статуса досліджується біопсійний та післяопераційний матеріал, бажано до початку специфічної терапії [5, 8]. Гіперекспресію білка визначають імуногістохімічним методом, а ампліфікацію гена – методом гібридизації *in situ* (ISH) в різних модифікаціях. На сьогодні вищезгадані діагностичні процедури є стандартом діагностики хворих РМЗ [7, 2, 11].

Американська спільнота клінічних онкологів (ASCO Clinical Practice Guidelines Committee) ще в 1996 році вперше опублікувала основані на доказовій базі рекомендації щодо клінічного застосування тестів пухлинних маркерів [21]. Рекомендації ASCO оновлюються з часом Комітетом по оновленню, який складається із експертної групи. Під час періодичних оновлень останні результати тестування у 2013 році, ASCO змінює інтерпретацію результатів діагностичних тестів для підвищення якості тестування HER-2/

neu [20]. FISH-позитивний рак молочної залози визначається як середнє число копій HER2 ≥ 6.0 сигналів на клітину або середня кількість копій HER-2/neu, число \geq сигналів 4.0 на осередок і HER-2/neu на хромосому 17 центромери (CEP17) становить $\geq 2,0$ [Wolff et al., 2013]. Для порівняння, для визначення гіперекспресії рекомендації 2007 ASCO використовують порогове значення коефіцієнта HER-2/CEP17 більше 2,2. [19, 23, 14]. Критерії від 2013 року більш точно визначають пацієнтів, яким можливе призначення цільових препаратів [1, 16], особливо у пацієнтів з полісемією хромосоми 17 [3], що визначено за допомогою подвійного зонда FISH. З точки зору оцінки гена HER-2/neu, було доведено, що ампліфікація CEP17 викликає помилкові результати HER-2/neu за використання FISH [18, 21, 15, 10], що виключає анти-HER-2/neu терапію для деяких пацієнтів.

За використання рекомендацій 2013 ASCO/CAP оцінки гена HER-2/neu ISH, кількість сумнівних [22, 13, 12] та позитивних [22] випадків значно збільшилася, так як число копій гена стало важливим фактором для прийняття рішень незалежно до співвідношення HER-2/CEN17 у хворих на РМЗ.

Метою роботи є оцінка практичного значення змін запроваджених рекомендаціями ASCO 2013 в порівнянні з попередніми, які діяли з 2007 року по проведенню аналізу FISH у хворих РМЗ серед українських жінок.

Об'єкт і методи дослідження. У дослідження включені результати проведення FISH аналізу 827 жінок, захворілих на РМЗ в період з 2008 по 2015 роки. Оцінювання випадків виконувалося відповідно до діючих на даний момент рекомендацій ASCO. Сформовано дві групи, які склали хворі, результати тестування яких оцінені згідно рекомендаціям ASCO від 2007 (n=452) та 2013 року (n=365). Зразки клітин РМЗ відібрані для дослідження як такі, що потребували уточнення результату альтернативним методом після проведення імуногістохімічного аналізу.

Визначення мутаційного статусу гена HER-2/neu здійснювали за допомогою флуоресцентної гібридизації *in situ* на базі відділу медичної генетики «Національний науковий центр радіаційної медицини» НАМН України.

Для аналізу використовували кусочки пухлини, фіксовані формаліном, залиті в парафін та нарізані за допомогою мікротому MHT-84. Робоча товщина

зрізу в дослідженні 4-5 мкм. Приготовлені зрізи поміщали на скельце та сушили на повітрі при кімнатній температурі не менше 30 хвилин, а при температурі 4°C – до 24 годин. Парафін видаляли в трьох змінах ксилолу, по 5 хвилин в кожній. Для роботи обраний метод FISH з використанням набору PathVysion (Vysis, Downers Grove, США). Перед гібридизацією *in situ*, зразки регідратували в трьох змінах етанолу: 100, 90 та 70%-ному, по 5 хвилин в кожній, промивали 5 хвилин в PBS. Препарати прогрівали 20-30 хвилин в цитратному буфері в водяній бані, потім ополіскували в PBS, інкубували з проназою в концентрації 100 мкг/мл в PBS протягом 3 хвилин за температури 37°C. Далі, в глибоких склянках, за кімнатної температури препарати ополіскували в PBS, дегідратували в трьох змінах етанолу: 70, 90 та 100%-ному, по 2 хвилини в кожній. Препарати денатурували 15 хвилин при 75°C в 70%-ному розчині формаміду в 2ЧССС (рН 7,0). Після денатурації препарати дегідратували в трьох змінах охолодженого етанолу: 70, 90 та 100%-ному, по 5 хвилин в кожній. Паралельно за температури 75°C протягом 5 хвилин денатурували пробу HER-2/neu DNA Probe Kit (PathVysion). Потім на термоплиті за температури 37°C на означену ділянку предметного скла наносили денатуровану пробу, накривали її покривним скельцем, краї якого промазували гумовим клеєм. Препарат інкубували у вологій камері протягом 16 годин за температури 37°C. Після інкубації з препаратів знімали покривні скельця, у темряві за кімнатної температури ополіскували в 0,3%-ному розчині NP 40 в 2ЧССС, промивали 2 хвилини в 0,3%-ному розчині NP 40 в 2ЧССС за температури 73°C.

Далі за кімнатної температури протягом 5 хвилин препарати промивали у DAPI (4',6'-діамідін-2-фенілндол) в концентрації 150 нг/мл в 2ЧССС, ополіскували в дистильованій воді, висушували на повітрі і наносили реагент, який запобігає вицвітання препарату (mounting medium; Vector Laboratories, Burlingame, Ca, USA). Препарати після гібридизації зберігали за температури мінус 20°C.

Для перегляду препаратів використовували флуоресцентний мікроскоп з пристроями захвату зображень, фільтрами для DAPI, FITC, Cy3, ртутною лампою 100 Вт Olympus BX 51 з програмою аналізу зображень CytoVision/V. 3.00 build 61 (Applied Imaging Corp., Santa Clara, CA, США). У кожному випадку аналізувалось від 20 до 60 інтерфазних клітин. Результат тесту, згідно рекомендації ASCO 2007 вважали позитивним, а випадок – з ампліфікацією гену FISH, якщо співвідно-

шення середньої кількості копій гену Her-2/neu та середнього числа центромер хромосоми 17 в проаналізованих пухлинних клітинах перевищувало 2,2. Зразок з відсутністю ампліфікації характеризувався співвідношенням менше 1,8. За рекомендацій ASCO 2013 результат тесту з двома зондами вважали позитивним, якщо: співвідношення HER2/CEP17 $\geq 2,0$ при середній кількості копій HER2 $\geq 4,0$ сигналів на клітину; співвідношення HER2/CEP17 $\geq 2,0$ при середній кількості копій HER2 $< 4,0$ сигналів на клітину; співвідношення HER2/CEP17 $< 2,0$ при середній кількості копій HER2 $\geq 6,0$ сигналів на клітину.

Всі випадки PM3, які проаналізовано після проведення методики FISH фарбування, поділені на такі групи як: без ампліфікації, виявлено ампліфікацію, сумнівний випадок та випадок без змоги проведення гібридизації (невдача).

Дані оцінювали з використанням точного тесту Фішера у двобічному варіанті. Статистичні розрахунки виконували за допомогою програмного пакету Statistica 10 (StatSoft, США).

Результати дослідження та їх обговорення. За 2008-2013 роки нами проаналізовано 452 зразки PM3, з яких 49,3% це випадки без виявлення ампліфікації гену HER-2/neu, 45,8% позитивні, частка сумнівних випадків склала 1,3%. Також в досліджуваній вибірці пухлинних тканин виявлені зразки з коампліфікацією гену HER-2/neu, що склала 1,8% та віднесені до групи сумнівних випадків. Такий самий відсоток зразків не зміг бути протестованим методом FISH через непридатність матеріалу для дослідження. Після публікації рекомендацій ASCO 2013 щодо оцінювання результатів тестування клітин PM3, всі випадки оцінювалися за новими критеріями. Таким чином за період 2013-2015 роки проаналізовано 365 зразків PM3 (табл. 1).

Після запровадження рекомендацій за ASCO

Таблиця 1.

Розподіл випадків PM3 на групи після проведення FISH аналізу щодо виявлення мутаційного статусу гену HER-2/neu згідно рекомендацій ASCO 2013 та ASCO 2007

Випадки	Без амплі-фікації		Ампліфікація		Сумнівний		Невдача гібридизації	
	n	%	n	%	n	%	n	%
до 2013 (n=452)	221	49,3	209	45,8	6	1,3	8	1,8
після 2013 (n=365)	152	41,6	194	53,2	15	4,1	4	1,1
p	0,205		0,256		0,015		0,433	

2013 року спостерігається статистичне зменшення випадків без виявлення ампліфікації гену HER-2/neu (49,3%>41,6%), та зростання частки випадків з позитивним результатом (45,8%<53,2%) при використанні критеріїв 2013 року. Така ж тенденція спостерігається і в дослідженнях Long et al. 2015. Зросла кількість невизначених (сумнівних) результатів щодо наявності ампліфікації гену HER-2/neu порів-

няно з періодом використання критеріїв 2007 року (1,3% < 4,1%; p=0,015).

Для порівняння різниці в рекомендаціях ASCO від 2007 та 2013 років проведено перерахунок висновків зроблених у 2008-2013 роки відповідно до діючих критеріїв 2013 року (табл. 2). Переглянуто 452 випадків РМЗ та виявлено на 12,8% менше випадків без ампліфікації гена Her-2/neu. При цьому не значимо зросла кількість позитивності (на 6,0%). Статистично значимою виявилася різниця частоти сумнівних результатів (від 3,1% до 10,0%; p<0,05). Кількість зразків, де немає змоги дати висновок, залишилася незмінною 1,8%.

Розподіл випадків РМЗ на групи після перегляду висновків, зроблених згідно ASCO 2013 з 2008 по 2013 рр.

	Без ампліфікації		Ампліфікація		Сумнівний		Невдача гібридизації	
	п	%	п	%	п	%	п	%
ASCO від 2007 р., n=452	221	48,9	209	46,2	14	3,1	8	1,8
ASCO від 2013 р., n=452	163	36,0	236	52,2	45	10,0	8	1,8
p	0,013		0,456		0,000*		1,000	

*Примітка: p < 0,05.

Після аналізу отриманих даних, можна стверджувати про практичні відмінності у рекомендаціях ASCO від 2007 та 2013 років, виявлено статистично значущу різницю частоти сумнівних результатів тесту. Особливо показовим є паралельне оцінювання одної і тієї ж вибірки, за двома критеріями рекомендацій ASCO різних років щодо інтерпретації результатів виявлення ампліфікації гена HER-2/neu у хворих на РМЗ. За рекомендаціями 2013 р. HER-2/neu-негативних випадків стало менше. Різниця розподіляється між групами позитивних та сумнівних випадків. Частка сумнівних випадків статистично значуще зростає що потребує альтернативної перевірки за допомоги суміжних зондів більшої кількості випадків необхідних для остаточного висновку мутаційного статусу гена HER-2/neu.

Відсоток сумнівного результату проведення тестування до і після впровадження рекомендацій ASCO

(9,9% проти 3,1%) схожий з частками, отриманими іншими дослідниками від другої когорти пацієнтів: 4,9% проти 1,4% [13] та 16,3% проти 4,1%. Оновлення рекомендацій щодо тестування гена Her-2/neu приводить до декласифікації приблизно 9,4% випадків РМЗ [22].

Це в свою чергу говорить про достовірність визначення мутаційного статусу гена HER-2/neu в проведеному дослідженні.

Тобто, керуючись останніми рекомендаціями ASCO, будь-який якісний пухлинний препарат РМЗ можна віднести до позитивного або негативного випадку, відповідно

до інтерпретації щодо виявлення HER-2/neu позитивних випадків РМЗ. Таким чином, частіше використовується одна ланка в процедурі діагностування, що веде за собою додаткові витрати ресурсів (часу, коштів, персоналу), однак зведення до нуля кількості сумнівних випадків, виправдовує себе клінічно.

Висновки

1) Рекомендації ASCO 2013 року щодо визначення мутаційного статусу гена HER-2/neu у хворих на РМЗ являються більш ефективними за попередні.

2) За використання критеріїв 2013 року значно частіше, при використанні проби HER-2/CEP17; визначити сумнівні результати тесту, ще потребує проведення додаткових тестів.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження будуть позитивно впливати на тестування гена HER-2/neu у хворих на РМЗ. Сумнівні випадки потребують окремої уваги, щоб дати точну відповідь щодо статусу досліджуваного гена і в подальшому призначенню правильної терапії пацієнту. В подальшому потрібно також дослідити групу хворих, в яких виявили полісемію хромосоми 17.

Література

1. ASCO/CAP HER2 Guideline Updates at an Academic Medical Center That Performs Primary HER2 FISH Testing: Increase in Equivocal Results and Utility of Reflex Immunohistochemistry / K.E. Muller, J.D. Marotti, V.A. Memoli [et al.] // Am J Clin Pathol. – 2013. – № 144. – P. 247-252.
2. ErbB-receptors: from oncogenes to targeted cancer therapies / H. Zhang, A. Berezov, Q. Wang [et al.] // J Clin Inv. – 2007. – № 117. – P. 2051-2058.
3. Evaluation of chromosome 17 polysomy in breast cancer by FISH analysis of whole nuclei, and its clinicopathological significance / H. Jiang, X. Bai, F. Meng [et al.] // Oncol. Lett. – 2014. – № 7. – P. 1954-1958.
4. "Genetic heterogeneity" in HER2/neu testing by fluorescence in situ hybridization: A study of 2,522 cases / M.C. Chang, J.I. Malowany, J. Mazurkiewicz [et al.] // Mod Pathol. – 2012. – № 25. – P. 683-688.
5. HER2 evaluation and its impact on breast cancer treatment decisions / K.A. Goddard, S. Weinmann, K. Richert-Boe [et al.] // Public Health Genomics. – 2012. – № 15. – P. 1-10.
6. HER2 FISH classification of equivocal HER2 IHC breast cancers with use of the 2013 ASCO/CAP practice guideline / Yao-Shan Fan, E.C. Carmen, P. Jinghong [et al.] // Breast Cancer Research and Treatment. – 2016. – № 155. – P. 457-462.

7. HER-2/neu diagnostics in breast cancer / W.P. Carney, K. Leitzel, S. Ali [et al.] // Breast Cancer Research. – 2007. – № 9. – P. 207.
8. HER2-negative (1+) breast cancer with unfavorable prognostic features: To FISH or not to FISH? / M. Iorfida, S. Dellapasqua, V. Bagnardi [et al.] // Ann Oncol. – 2012. – № 23. – P. 1371-1372.
9. Immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization assessment of HER2 in clinical trials of adjuvant therapy for breast cancer (NCCTG N9831, BCIRG 006, and BCIRG 005) / E.A. Perez, M.F. Press, A.C. Dueck [et al.] // Breast Cancer Res Treat. – 2013. – № 138. – P. 99-108.
10. Impact of polysomy 17 on HER2 testing of invasive breast cancer patients / Y. Liu, L. Ma, D. Liu [et al.] // J. Clin. Exp. Pathol. – 2014. – № 7. – P. 163-173.
11. Impact of the 2013 American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) testing of invasive breast carcinoma: a focus on tumours assessed as 'equivocal' for HER2 gene amplification by fluorescence in-situ hybridization / G.C. Bethune, D. Veldhuijzen van Zanten, R.F. MacIntosh [et al.] // Histopathology. – 2015. – № 67. – P. 880-887.
12. Impact of the 2013 American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) testing of invasive breast carcinoma: a focus on tumours assessed as 'equivocal' for HER2 / C.B. Gillian, V.Z. Daniel, F.M. Rebecca [et al.] // Histopathology. – 2015. – № 67. – P. 880-887.
13. Impact of the 2013 ASCO/CAP HER2 Guideline Updates at an Academic Medical Center That Performs Primary HER2 FISH Testing: Increase in Equivocal Results and Utility of Reflex Immunohistochemistry / E. Kristen, D. O. Muller, D. Jonathan [et al.] // American Journal of Clinical Pathology. – 2015. – № 144. – P. 247-252.
14. Implementation of American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists HER2 Guideline Recommendations in a tertiary care facility increases HER2 immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization concordance and decreases the number of equivocal results / L.P. Middleton, K.M. Price, P. Puig [et al.] // Pathol. Lab. Med. – 2009. – № 133. – P. 775-780.
15. Poor prognostic significance of unamplified chromosome 17 polysomy in invasive breast carcinoma / U. Krishnamurti, J.L. Hammers, F.D. Atem [et al.] // Mod. Pathol. – 2009. – № 22. – P. 1044-1048.
16. Predictability of adjuvant trastuzumab benefit in N9831 patients using the ASCO/CAP HER2-positivity criteria / E.A. Perez, A.C. Dueck, A.E. McCullough [et al.] // J Natl Cancer Inst. – 2011. – № 104. – P. 159-162.
17. Quantification of Her-2/Neu gene in breast cancer patients using real time-polymerase chain reaction (Q-PCR) and correlation with immunohistochemistry findings / N.A. Abdul Murad, Z.A. Razak, R.M. Hussain [et al.] // Asian Pac J Cancer Prev. – 2013. – № 14. – P. 1655-1659.
18. Real-time RT-PCR analysis for evaluating the Her2/neu status in breast cancer / M. Cuadros, P. Talavera, J. Lopez [et al.] // Pathobiology. – 2010. – № 77. – P. 38-45.
19. 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 / A.S. Wolff, M.E. Hammond, D.G. Hicks [et al.] // J Clin Oncol. – 2013. – № 31. – P. 3997-4013.
20. The assessment of HER2 status in breast cancer: the past, the present, and the future [Електронний ресурс] / N. Hiroaki, D.K. Brian, A. Craig [et al.] // Pathology International. – 2016. – Режим доступу до ресурсу: doi: 10.1111/pin.12407.
21. The effect of chromosome 17 polysomy on HER-2/neu status in breast cancer / C.L. Hyun, H.E. Lee, K.S. Kim [et al.] // J. Clin. Pathol. – 2008. – № 61. – P. 317-321.
22. The New Equivocal: Changes to HER2 FISH Results When Applying the 2013 ASCO/CAP Guidelines / T.H. Long, H. Lawce, C. Durum [et al.] // Am J Clin Pathol. – 2015. – № 144. – P. 253-262.
23. Wolff A.C. Re: Predictability of adjuvant trastuzumab benefit in N9831 patients using the ASCO/CAP HER2-positivity criteria / A.C. Wolff, M.E. Hammond, D.F. Hayes // J Natl Cancer Inst. – 2012. – № 104. – P. 957-958.

УДК: 616-006.66

МУТАЦІЙНИЙ СТАТУС ГЕНА HER-2/NEU У ХВОРИХ НА РМЗ ВІДПОВІДНО ДО РЕКОМЕНДАЦІЙ ASCO

Клімук Б. Т., Дуган О. М., Клименко С. В.

Резюме. У дослідження включені результати проведення FISH аналізу 827 жінок, захворілих на РМЗ в період з 2008 по 2015 роки. Після запровадження рекомендацій за ASCO 2013 року спостерігається статистичне зменшення випадків без виявлення ампліфікації гена HER-2/neu (49,3% > 41,6%), та зростання частки випадків з позитивним результатом (45,8% < 53,2%) при використанні критеріїв 2013 року. Зросла кількість невизначених результатів щодо наявності ампліфікації гена HER-2/neu порівняно з періодом використання критеріїв 2007 року (1,3% < 4,1%; p=0,015). Рекомендації ASCO 2013 року щодо визначення мутаційного статусу гена HER-2/neu у хворих на РМЗ являються більш ефективними за попередні.

Ключові слова: рак молочної залози, ген HER-2/neu, ASCO, флуоресцентна гібридизація *in situ*.

УДК: 616-006.66

МУТАЦИОННЫЙ СТАТУС ГЕНА HER-2/NEU У БОЛЬНЫХ РМЖ В СООТВЕТСТВИИ С РЕКОМЕНДАЦИЯМИ ASCO

Климук Б. Т., Дуган А. М., Клименко С. В.

Резюме. В исследование вошли результаты проведения FISH анализа 827 женщин, больных РМЖ в период с 2008 по 2015 года. После введения рекомендаций по ASCO 2013 года наблюдается статистическое уменьшение случаев без выявления амплификации гена HER-2/neu (49,3% > 41,6%) и рост доли случаев с положительным результатом (45,8% < 53,2%) при использовании критериев 2013 года. Возросло количество неопределенных результатов о наличии амплификации гена HER-2/neu по сравнению с периодом использования критериев от 2007 года (1,3% < 4,1%; p = 0,015). Рекомендации ASCO 2013 года по определению мутационного статуса гена HER-2/neu у больных РМЖ являются более эффективными, чем предыдущие.

Ключевые слова: рак молочной железы, ген HER-2/neu, ASCO, флуоресцентная гибридизация *in situ*.

UDC: 616-006.66

DETERMINATION OF GENE MUTATION STATUS HER-2/NEU ON PATIENTS WITH BREAST CANCER, ACCORDING TO THE ASCO RECOMMENDATIONS

Klimuk B., Dugan O., Klimenko S.

Abstract. The status of human epidermal growth factor receptor 2 (HER2, ERBB2) determines the eligibility of breast cancer patients to receive HER2-targeted therapy. The majority of HER2 testing in the U.S. is performed using a combination of immunohistochemistry (IHC) screening followed by fluorescence in situ hybridization (FISH) for IHC equivocal cases. Discordance of HER2 IHC and HER2 ISH results is a well-recognized issue with HER2 testing in breast cancer, predominantly due to the tumor heterogeneity among HER2 equivocal cases. Accurate HER2 heterogeneity identification is an important factor in deciding on an appropriate therapy approach for breast cancer patients. Depending on the expression of HER-2/neu breast cancer is classified as HER-2/neu-positive (HER-2 +) and HER-2/neu-negative (HER-2 -). Chromosome 17 polysomy may correlate with increased malignant potential and metastatic spread in breast cancer. HER-2/neu overexpression suggests unfavorable prognosis for a disease. Protein overexpression determined by immunohistochemical and gene amplification — by hybridization *in situ* (ISH) in different versions. American Society of Clinical Oncology (ASCO) was first one who published recommendation of clinical use of tumor markers tests. The aim was to evaluate the practical significance of the changes introduced by the recommendations of ASCO in 2013 compared to previous acting from 2007 to FISH analysis in patients with breast cancer among Ukrainian women. Research included results of FISH analysis of 827 women with breast cancer between 2008 and 2015. During 2008-2013 we analyzed 452 samples of breast cancer, 49,3% are cases without identifying the amplification of the gene HER-2/neu, 45,8% positive share of questionable cases was 1,3%. Also in the research of samples were detected 1,8% co-amplification gene HER-2/neu, which amounted to a group of suspicious cases. After the implementation ASCO recommendations in 2013 there is a statistical decrease in cases without identifying the amplification of the gene HER-2/neu (49,3% > 41,6%), and increase the proportion of positive cases (45,8% < 53,2%) using the criteria of 2013. The number of indeterminate results in the presence of amplification of the gene HER-2/neu compared with the period of use criteria in 2007 (1,3% < 4,1%, p=0,015). If results are equivocal (revised criteria), reflex testing should be performed using an alternative assay (IHC or ISH). Repeat testing should be considered if results seem discordant with other histopathologic findings. ASCO recommendations 2013 according to determine the mutation status of the gene HER-2/neu in patients with breast cancer are more effective. The number of equivocal HER2 cases increased after the update, nearly half of which would have been negative by the 2007 guidelines. Additionally, a majority of the cases classified as equivocal with the 2007 guidelines would be reclassified as positive if using the 2013 criteria. This would have meant additional patients eligible for anti-HER2 therapy. Accurately determining HER2 status in patients with breast cancer is a critical prognostic and predictive factor and identifies patients who may benefit from treatment with anti-HER2 therapies. The 2013 ASCO/CAP revision of standards was the first since 2007. The updates lowered the threshold for HER2 and altered the equivocal category.

Keywords: breast cancer, HER-2/neu gene, ASCO, Fluorescence *in situ* hybridization.

Рецензент — проф. Дубінін С. І.
Стаття надійшла 18.05.2016 року