ძუძუს კარცინომის მქონე პაციენტებიდან აღებული ნიმუშების ბიომარკერული ტესტირება და შედეგების (რეპორტის) შაბლონი

კლინიკური მდგომრეობის მართვის სახელმწიფო სტანდარტი (პროტოკოლი)

2023

სარჩევი

1. პროტოკოლის დასახელება 4

2. პროტოკოლით მოცული კლინიკური მდგომარეობები და ჩარევები 4

3. პროტოკოლის შემუშავების მეთოდოლოგია 4

4. პროტოკოლის მიზანი 5

5. სამიზნე ჯგუფი 5

6. ვისთვის არის პროტოკოლი განკუთვნილი 5

7. სამედიცინო დაწესებულებაში პროტოკოლის გამოყენების პირობები 5

8. რეკომენდაციები 6

ძუძუს კარცინომას ბიომარკერები 6

შედეგები (შენიშვნა A) 6

ესტროგენის რეცეპტორის (ER) სტატუსი (შენიშვნა B) 6

პროგესტერონის რეცეპტორის (PGR) სტატუსი (შენიშნვა B) 8

HER2 იმუნოჰისტოქიმიით (შენიშვნა C) 9

HER2 IN SITU ჰიბრიდიზაციით (შენიშვნა C) 9

+ KI-67 (შენიშვნა D) 10

რეკომენდაციები 12

ა. შედეგები 12

ბ. ესტროგენის რეცეპტორების და პროგესტერონის რეცეპტორების ტესტირება 13

ცხრილი 1. ესტროგენის რეცეპტორის (ER) და პროგესტერონის რეცეპტორის (PGR) ტესტირების შედეგების მოხსენება 16

ცხრილი 2. ალრედის ქულა* ესტროგენისა და პროგესტერონის რეცეპტორების შეფასებისთვის 18

ცხრილი 3. H ქულა* ესტროგენისა და პროგესტერონის რეცეპტორების შეფასებისთვის 18

გ. HER2-ის (*ERBB2*) ტესტირება 19

HER2 (ERBB2) ტესტირება იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით 19

ცხრილი 4. იმუნოჰისტოქიმიის (IHC) მეთოდით ჩატარებული HER2 ტესტირების შედეგების მოხსენება 21

IN SITU ჰიბრიდიზაციის მეთოდით HER2-ის ტესტირება 21

ცხრილი 5. HER2 IN SITU ჰიბრიდიზაციის მეთოდით ჩატარებული *HER2* ტესტირების შედეგების მოხსენება (ანალიზი ერთი ზონდით) 22

ცხრილი 6. IN SITU ჰიბრიდიზაციის მეთოდით ჩატარებული (ორზონდიანი) *HER2* ტესტირების შედეგების მოხსენება (ორ ზონდიანი ანალიზი) 24

დ. KI-67 ტესტირება 26

ე. ცივი იშემიის დრო. 26

9. მოსალოდნელი შედეგები 27

10. აუდიტის კრიტერიუმები 28

11. პროტოკოლის გადახედვის ვადები 28

12. პროტოკოლის დანერგვისთვის საჭირო რესურსი 29
13. რეკომენდაციები პროტოკოლის ადაპტირებისთვის ადგილობრივ დონეზე 29
14. პროტოკოლის ავტორები 30
15. გამოყენებული ლიტერატურა: 31

1. პროტოკოლის დასახელება

ძუძუს კარცინომის მქონე პაციენტებიდან აღებული ნიმუშების ბიომარკერული ტესტირება და შედეგების (რეპორტის) შაბლონი

2. პროტოკოლით მოცული კლინიკური მდგომარეობები და ჩარევები

დასახელება	კოდი
1. კლინიკური მდგომარეობების დასახელება	**ICD 10**
ძუძუს ავთვისებიანი სიმსივნე	C50
დვრილის და არეოლას (დვრილის ბაკი) ავთვისებიანი სიმსივნე	C50.0
ძუძუს ცენტრალური ნაწილის ავთვისებიანი სიმსივნე	C50.1
ძუძუს ზემო-შიდა კვადრანტის ავთვისებიანი სიმსივნე	C50.2
ძუძუს ქვემო-შიდა კვადრანტის ავთვისებიანი სიმსივნე	C50.3
ძუძუს ზემო-გარეთა კვადრანტის ავთვისებიანი სიმსივნე	C50.4
ძუძუს ქვემო-გარეთა კვადრანტი ავთვისებიანი სიმსივნე	C50.5
ძუძუს იღლიისკენა ნაწილის ავთვისებიანი სიმსივნე	C50.6
ძუძუს სუპერპოზიციული დაზიანება (ავთვისებიანი სიმსივნე)	C50.8
ძუძუს დაუზუსტებელი ნაწილის ავთვისებიანი სიმსივნე	C50.9
2. ჩარევის დასახელება	**NCSP**
ა) დიაგნოსტიკური ჩარევის დასახელება	
ლაბორატორიული გამოკვლევისთვის ნიმუშის აღება	WZAA00
ბ) სამკურნალო ჩარევის დასახელება	
	-
3. ლაბორატორიული მომსახურების დასახელება - ლაბორატორიული ჩარევების კლასიფიკატორი	**Lab**
ჰისტოპათოლოგიური გამოკვლევები - PATHOMORPHOLOGY (PM)	XVIII
ჰისტოლოგიური გამოკვლევები	PM.1
იმუნოჰისტოქიმიური გამოკვლევები	PM.3
ჰისტოპათოლოგიური გამოკვლევების სხვა მეთოდები	PM.4

3. პროტოკოლის შემუშავების მეთოდოლოგია

პროტოკოლი გვთავაზობს დებულებებს, რომლებიც დაკავშირებულია ძუძუდან აღებული ბიოფსიური მასალის ბიომარკერულ კვლევასთან, ადგენს აღნიშნული კვლევისადმი ძირითად მოთხოვნებს და უზრუნველყოფს ქვეყნის ყველა ლაბორატორიაში პათოლოგიის კარგ პრაქტიკასთან შესაბამისობას და მის დაცვას.

მოცემული პროტოკოლი წარმოადგენს საერთაშორისოდ აღიარებული რეკომენდაციების ადაპტაციას. სახელმძღვანელო ძირითადად ეფუძნება ჯანმოს უახლეს რეკომენდაციებს, ასევე, გამოყენებულია მტკიცებულებებზე დაფუძნებული City Cancer Challenge Foundation პათოლოგიური ანატომიის ლაბორატორიის მარეგულირებელი პროტოკოლები და კარგი ლაბორატორული პრაქტიკის სახელმძღვანელო გაიდლაინები.

4. პროტოკოლის მიზანი

პროტოკოლის მიზანია საქართველოში დაინერგოს ბიოლოგიური მასალის, კერძოდ, ძუძუს კარცინომის მქონე პაციენტებიდან აღებული ნიმუშების ბიომარკერული კვლევის და დოკუმენტირების საერთაშორისო სტანდარტების შესაბამისი პრაქტიკა, რაც, თავის მხრივ, უზრუნველყოფს ზუსტი დიაგნოსტიკის და, შესაბამისად, პაციენტის მკურნალობის ხარისხის გაუმჯობესებას. პროტოკოლი ასევე მიზნად ისახავს წარმოდგენილი ბიომარკერული ტესტირების რეპორტის/შაბლონის უნიფიცირებას და სტანდარტიზაციას ქვეყნის მასშტაბით.

5. სამიზნე ჯგუფი

პროტოკოლი ვრცელდება დაწესებულებებზე /განყოფილებებზე /ლაბორატორიებზე /პირებზე, რომლებიც პასუხისმგებელი არიან ადამიანის ბიოლოგიური ნიმუშების (კერძოდ, ძუძუს კარცინომის მქონე პაციენტებიდან აღებული ნიმუშების) ბიომარკერულ კვლევაზე.

შაბლონის შევსება წარმოადგენს ლაბორატორიის პასუხისმგებლობას, რომელიც ატარებს ბიომარკერულ ტესტირებას ან/და უზრუნველყოფს მის ინტერპრეტაციას (განმარტებას). როდესაც ტესტირება და მისი შედეგების ინტერპრეტაცია ხდება სხვაგან (მაგ., რეფერენს ლაბორატორიაში). ასევე, რეკომენდებულია იმ ლაბორატორიის მიერ, რომელიც აგზავნის ქსოვილს გამოსაკვლევად, შედეგების შესახებ სინოპტიკური (შემაჯამებელი) ანგარიშის წარდგენა, იმის უზრუნველსაყოფად, რომ ყველა ინფორმაციის შეტანა მოხდეს პაციენტის სამედიცინო ჩანაწერებში და შესაბამისად, ხელმისაწვდომი იყოს პაციენტის მკურნალი გუნდისთვის.

6. ვისთვის არის პროტოკოლი განკუთვნილი

პროტოკოლის გამოყენების სფეროს წარმოადგენს პათომორფოლოგიური მომსახურების მიმწოდებელი დაწესებულება/ლაბორატორია/პირი, რომელიც ფლობს პროტოკოლით გათვალისწინებულ საჭირო ადამიანურ და მატერიალურ-ტექნიკურ რესურსებს.

პროტოკოლი განკუთვნილია ექიმებისათვის, რომლებიც ფლობენ სახელმწიფო სერტიფიკატს სპეციალობით „პათოლოგიური ანატომია-კლინიკური პათოლოგია“, „ლაბორატორული მედიცინა“, ასევე, სხვა სამედიცინო და დამხმარე არასამედიცინო პერსონალისთვის, ვისაც ევალება ნიმუშებზე მუშაობა და ხარისხის უზრუნველყოფა/კონტროლი. ამავდროულად აღნიშნული პროტოკოლი განკუთვნილია იმ სამეწარმეო/არასამეწარმეო იურიდიული პირებისთვის (კლინიკა/ლაბორატორია), ვინც პირდაპირ ან არაპირდაპირ მონაწილეობას იღებს აღნიშნულ პროცესში.

7. სამედიცინო დაწესებულებაში პროტოკოლის გამოყენების პირობები

პროტოკოლი გამოიყენება სათანდო უფლების მქონე პათოლოგიური სერვისის მიმწოდებელ დაწესებულებებში/ლაბორატორიებში. პროტოკოლის გამოყენება იწყება პათოლოგიური კვლევისთვის ბიოლოგიური მასალის/ნიმუშის პათოლოგიური ანატომიის ლაბორატორიაში შემოსვლისთანავე.

8. რეკომენდაციები

ძუძუს კარცინომას ბიომარკერები

აირჩიეთ ერთი პასუხი, თუ სხვა რამ არ არის მითითებული.

შენიშვნა: *წინამდებარე შაბლონში ძირითადი მონაცემების ელემენტები შესაბამისობაშია HER2-ისა და ჰორმონორეცეპტორის ტესტირებასთან დაკავშირებულ, ამერიკის პათოლოგთა კოლეჯის (CAP) აკრედიტაციის მოთხოვნებთან.* ***ძირითადი მონაცემების ელემენტები მოხსენებული უნდა იყოს მხოლოდ ჩატარებული ტესტებისთვის.*** *თუ სხვადასხვა ნიმუშ(ებ)ზე რამდენიმე კვლევა ჩატარდა, უნდა მიეთითოს ნიმუშის ნომერი (ნომრები).*

შედეგები **(შენიშვნა A)**

ესტროგენის რეცეპტორის (ER) სტატუსი (შენიშვნა B)

___ დადებითი (უჯრედების >10% ავლენს ბირთვულ პოზიტიურობას)*

მიუთითეთ ბირთვული პოზიტიურობის მქონე უჯრედების პროცენტი: ___%

-ან-

განსაზღვრეთ დიაპაზონი (შენიშვნა A)

___ 11-20%

___ 21-30%

___ 31-40%

___ 41-50%

___ 51-60%

___ 61-70%

___ 71-80%

___ 81-90%

___ 91-100%

შეღებვის საშუალო ინტენსივობა:

___ სუსტი

___ ზომიერი

___ ძლიერი

___ სუსტად დადებითი (უჯრედების 1-10% ავლენს ბირთვულ პოზიტიურობას)**

+ მიუთითეთ ბირთვული პოზიტიურობის მქონე უჯრედების პროცენტი: ___%

შეღებვის საშუალო ინტენსივობა:

___ სუსტი

___ ზომიერი

___ ძლიერი

შიდა კონტროლის სტატუსი

___ შიდა კონტროლის უჯრედები წარმოდგენილია და შეღებილია, როგორც მოსალოდნელი იყო

___ შიდა კონტროლის უჯრედები არაა წარმოდგენილი***

___ სხვა (მიუთითეთ): _____

___ უარყოფითი (1%-ზე ნაკლები)

___ შიდა კონტროლის უჯრედები წარმოდგენილია და შეღებილია, როგორც მოსალოდნელი იყო

___ შიდა კონტროლის უჯრედები არაა წარმოდგენილი***

___ სხვა (მიუთითეთ): _____

___ დადგენა შეუძლებელია (განუსაზღვრელი)****

___ წარმოდგენილია შიდა კონტროლის უჯრედები; არ არის გამოხატული სიმსივნური უჯრედების ან შიდა კონტროლის უჯრედების იმუნორეაქტიულობა

___ სხვა (მიუთითეთ): _____

** უჯრედების პროცენტი, რომლებიც ბირთვულ პოზიტიურობას ავლენს, ესტროგენის რეცეპტორთან მიმართებაში (ER), შეიძლება აღინიშნოს კონკრეტული რიცხვის ან დიაპაზონის სახით, თუ 10%-ს აღემატება.*

*** ინვაზიური კარცინომა, როდესაც უჯრედების 1-10%-ია შეღებილი ესტროგენის რეცეპტორისთვის (ER) (არა პროგესტერონის რეცეპტორისთვის (PgR)) აღინიშნება, როგორც ,,სუსტად დადებითი“ და რეკომენდებულია შემდეგი კომენტარის წარმოდგენა:*

„წინამდებარე ნიმუშში, სიმსივნეში ვლინდება დაბალი ხარისხის ესტროგენის რეცეპტორის (ER) (1-10%) ექსპრესია, იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით (IHC). არსებობს შეზღუდული მონაცემები, ენდოკრინული თერაპიის საერთო სარგებელის შესახებ, იმ პაციენტებისთვის, რომლებშიც ვლინდება დაბალი ხარისხის (1-10%) ER-ის ექსპრესია, თუმცა, ამჟამად, ეს მონაცემები შესაძლო სარგებელზე მიუთითებს და ამიტომ, პაციენტები შესაფერისებად ითვლებიან ენდოკრინული მკურნალობისთვის. არსებობს მონაცემები, რომლებიც აჩვენებს, რომ ამ შედეგების მქონე ინვაზიური კიბო ჰეტეროგენულია, როგორც ქცევის, ასევე, ბიოლოგიური თვალსაზრისით და ხშირად აქვს, ER უარყოფითი კიბოს მსგავსი, გენის ექსპრესიის პროფილი.”

აღნიშვნა ,,სუსტად დადებითი“ ეხება მხოლოდ ინვაზიურ კარცინომას და არ გამოიყენება პროგესტერონის რეცეპტორებისთვის ან სადინრის კიბო in situ-სთვის (DCIS).

**** იმ შემთხვევაში, როდესაც არ ვლინდება შიდა კონტროლი და ER-ის შედეგი არის უარყოფითი ან სუსტად დადებითი მაჩვენებელი, რეკომენდებულია ანგარიშში შემდეგი კომენტარის გაკეთება:*

„არ ვლინდება შიდა კონტროლის უჯრედები, მაგრამ გარე კონტროლის უჯრედები სათანადოდ დადებითია. საჭიროების შემთხვევაში, შეიძლება საჭირო იყოს სხვა ნიმუშზე ტესტირების ჩატარება, რომელიც მოიცავს შიდა კონტროლის უჯრედებს, ER სტატუსის დასადასტურებლად.”

როდესაც სიმსივნე უარყოფითია, მაგრამ არ ვლინდება შიდა კონტროლის უჯრედები, პათოლოგმა თავად უნდა გადაწყვიტოს, შეიძლება თუ არა ანალიზის ინტერპრეტაცია, როგორც ჭეშმარიტად უარყოფითის. ეს მოიცავს ჰისტოლოგიური ტიპისა და ხარისხის, ცივი (ჰიპოთერმული) იშემიისა და ფიქსაციის დროის და გარე კონტროლის სტატუსის გათვალისწინებას. თუ პათოლოგი გადაწყვეტს, რომ ჰორმონორეცეპტორის სტატუსის დადგენა შეუძლებელია, ტესტი შესაბამისად უნდა აღინიშნოს და განმეორებით ჩატარდეს სხვა ბლოკზე ან ნიმუშზე.

*****/ ტექნიკური პრობლემები ხელს უშლის ტესტის დადებითი, უარყოფითი ან საეჭვო პასუხის წარმოდგენას. ეს შეიძლება გამოწვეული იყოს ნიმუშის არაადეკვატური დამუშავებით, თუ არტეფაქტები (დაჭყლეტის/დასრესვის ან კიდის არტეფაქტები) ართულებს ინტერპრეტაციას, ან თუ ანალიტიკური ტესტირება ვერ ჩატარდა.*

პროგესტერონის რეცეპტორის (PgR) სტატუსი (შენიშნვა B)

___ დადებითი*

მიუთითეთ ბირთვული პოზიტიურობის მქონე უჯრედების პროცენტი: ___%

-ან-

განსაზღვრეთ დიაპაზონი (შენიშვნა A)

___ 1-10% (მიუთითეთ): ____ %#

___ 11-20%

___ 21-30%

___ 31-40%

___ 41-50%

___ 51-60%

___ 61-70%

___ 71-80%

___ 81-90%

___ 91-100%

შეღებვის საშუალო ინტენსივობა:

___ სუსტი

___ ზომიერი

___ ძლიერი

___ უარყოფითი (1%-ზე ნაკლები)

___ შიდა კონტროლის უჯრედები წარმოდგენილია და შეღებილია, როგორც მოსალოდნელი იყო

___ შიდა კონტროლის უჯრედები არაა წარმოდგენილი**

___ სხვა (მიუთითეთ): _____

___ დადგენა შეუძლებელია (განუსაზღვრელი)***

___ წარმოდგენილია შიდა კონტროლის უჯრედები; არ არის გამოხატული სიმსივნური უჯრედების ან შიდა კონტროლის უჯრედების იმუნორეაქტიულობა

___ სხვა (მიუთითეთ): _____

** უჯრედების პროცენტი, რომლებიც ბირთვულ პოზიტიურობას ავლენს, შეიძლება აღინიშნოს კონკრეტული რიცხვის ან დიაპაზონის სახით, თუ 10%-ს აღემატება.*

*** როდესაც სიმსივნე უარყოფითია, მაგრამ არ ვლინდება შიდა კონტროლის უჯრედები, პათოლოგმა თავად უნდა გადაწყვიტოს, შეიძლება თუ არა ანალიზის ინტერპრეტაცია, როგორც ჭეშმარიტად უარყოფითის. ეს მოიცავს ჰისტოლოგიური ტიპისა და ხარისხის, ცივი (ჰიპოთერმული) იშემიისა და ფიქსაციის დროის და გარე კონტროლის სტატუსის*

გათვალისწინებას. თუ პათოლოგი გადაწყვეტს, რომ ჰორმონორეცეპტორის სტატუსის დადგენა შეუძლებელია, ტესტი შესაბამისად უნდა აღინიშნოს და განმეორებით ჩატარდეს სხვა ბლოკზე ან ნიმუშზე.

**** ტექნიკური პრობლემები ხელს უშლის ტესტის დადებითი, უარყოფითი ან საეჭვო პასუხის წარმოდგენას. ეს შეიძლება გამოწვეული იყოს ნიმუშის არაადეკვატური დამუშავებით; თუ არტეფაქტები (დაჭყლეტის/დასრესვის ან კიდის არტეფაქტები) ართულებს ინტერპრეტაციას, ან თუ ანალიტიკური ტესტირება ვერ ჩატარდა.*

HER2 იმუნოჰისტოქიმიით (შენიშვნა C)

___ უარყოფითი (ქულა 0)
___ უარყოფითი (ქულა 1+)
___ გაურკვეველი (ქულა 2+)
პროცენტული მაჩვენებელი უჯრედების ერთიანი ინტენსიური სრული მემბრანული შეღებვით: ____ %
___ დადებითი (ქულა 3+)
უჯრედების პროცენტული მაჩვენებელი, ერთიანი ინტენსიური სრული მემბრანული შეღებვით: ____ %
___ დადგენა შეუძლებელია (განუსაზღვრელია) (ახსენით): _____
___ არ ჩატარებულა

HER2 in situ ჰიბრიდიზაციით (შენიშვნა C)

___ უარყოფითი (არ არის გაძლიერებული)
___ დადებითი (გაძლიერებული)
___ შეუძლებელია დადგენა (განუსაზღვრელი) (ახსენით): _____
___ არ ჩატარებულა
___ მოლოდინში

დამკვირვებელთა (ანალიზის შემსრულებელ ექიმთა) რაოდენობა: _____
დათვლილი ინვაზიური სიმსივნური უჯრედების რაოდენობა: _____
___ ორზონდიანი (dual probe) ანალიზი
HER2 სიგნალების საშუალო რაოდენობა ერთ უჯრედზე: _____
CEP17 სიგნალების საშუალო რაოდენობა ერთ უჯრედზე: _____
HER2/CEP17-ის თანაფარდობა: _____
___ ერთჯერადი ზონდის ანალიზი
HER2 სიგნალების საშუალო რაოდენობა უჯრედზე: _____
___ ერთზონდიანი ანალიზი
HER2 სიგნალების საშუალო რაოდენობა ერთ უჯრედზე: _____

+ ანეუსომია (Aneusomy) (როგორც განმარტებულია მომწოდებლის გამოყენებული კომპლექტით) :
+ ___ არ არის იდენტიფიცირებული

+ ___ გამოხატულია
+ ჰეტეროგენული სიგნალები:
+ ___ არ არის იდენტიფიცირებული
+ ___ გამოხატულია
+ უჯრედების პროცენტული მაჩვენებელი გაძლიერებული *HER2* სიგნალით: _____ %

+ Ki-67 (შენიშვნა D)
+ ბირთვული პოზიტიურობის მქონე უჯრედების პროცენტი (მიუთითეთ): ____ %

ცივი იშემია და ფიქსაციის დრო
___ აკმაყოფილებს პათომორფოლოგიური კვლევისთვის ნიმუშების აღების, შენახვისა და ტრანსპორტირების ხარისხის უზრუნველყოფის პროტოკოლით განსაზღვრულ მოთხოვნებს
___ არ აკმაყოფილებს პათომორფოლოგიური კვლევისთვის ნიმუშების აღების, შენახვისა და ტრანსპორტირების ხარისხის უზრუნველყოფის პროტოკოლით განსაზღვრულ მოთხოვნებს
___ დადგენა შეუძლებელია (ახსნა): _____

+ ცივი იშემიის დრო: _____ წთ
+ ფიქსაციის დრო: ____ სთ

+ ტესტირება შესრულებულია, ბლოკის ნომერი (ნომრები): _____

მეთოდები
+ საფიქსაციო ხსნარი
+ ___ ფორმალინი
+ ___ სხვა (მიუთითეთ): _____

ესტროგენის რეცეპტორი
___ მიუთითეთ ტესტი/მომწოდებელი: _____
___ ლაბორატორიულად შემუშავებული ტესტი
პირველადი ანტისხეული
___ SP1
___ 6F11
___ 1D5
___ სხვა (მიუთითეთ): _____

პროგესტერონის რეცეპტორი
___ მიუთითეთ ტესტი/მომწოდებელი: _____
___ ლაბორატორიულად შემუშავებული ტესტი

<u>პირველადი ანტისხეული</u>
___ 1E2
___ 636

___ 16
___ SP2
___ 1A6
___ 1294
___ 312
___ სხვა (მიუთითეთ): _____

+ ER-ისა და PgR-ის ქულათა სისტემა
+ ___ არ არის გამოყენებული ცალკე შეფასების სისტემა
+ ___ ალრედის ქულა
    + პროპორციის შეფასების ქულა: ____
    + ინტენსივობის შეფასების ქულა: ____
    + სულ ალრედის ქულა: ____
    + ___ სხვა (მიუთითეთ): _____

HER2 იმუნოჰისტოქიმიით
___ მიუთითეთ ტესტი/მომწოდებელი: _____
___ ლაბორატორიულად შემუშავებული ტესტი

პირველადი ანტისხეული
___ 4B5
___ HercepTest
___ A0485
___ SP3
___ CB11
___ სხვა (მიუთითეთ): _____

HER2 in situ ჰიბრიდიზაციით
___ მიუთითეთ ტესტი/მიმწოდებელი: _____
___ ლაბორატორიულად შემუშავებული ტესტი

+ Ki-67
+ <u>პირველადი ანტისხეული</u>
+ ___ MIB1
+ ___ SP6
+ ___ MM1
+ ___ 30-9
+ ___ IR/IS626
+ ___ სხვა (მიუთითეთ): _____

+ გამოსახულების ანალიზი
+___ არ ჩატარებულა

+___ ჩატარდა (მიუთითეთ მეთოდი): _____

+ გამოსახულების ანალიზით შეფასებული ბიომარკერები (აირჩიეთ ყველა, რომელიც შეესაბამება)

+ ___ ER
+ ___ PgR
+ ___ HER2 იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით (IHC)
+ ___ HER2 ჰიბრიდიზაციით (ISH)
+ ___ Ki-67
+ ___ სხვა (მიუთითეთ): _____

+ კომენტარ(ებ)ი

_____

<u>რეკომენდაციები</u>

ა. შედეგები

რეკომენდებულია ჰორმონორეცეპტორებისა და HER2 ტესტის ჩატარება ძუძუს ყველა პირველად ინვაზიურ კარცინომაზე და მორეციდივე ან მეტასტაზურ სიმსივნეებზე. თუ ორივე, ჰორმონორეცეპტორები და HER2, უარყოფითია მსხვილნემსიანი ბიოფსიის დროს, უნდა განიხილოს განმეორებითი ტესტირება შემდეგ ნიმუშზე განსაკუთრებით მაშინ, როდესაც შედეგები არ შეესაბამება ჰისტოპათოლოგიურ შედეგებს. მრავლობითი ინვაზიური კერის შემთხვევაში, უნდა შემოწმდეს ყველაზე დიდი ინვაზიური კერა. ასევე, რეკომენდებულია მცირე ზომის ინვაზიური კარცინომების ტესტირება, თუ ისინი სხვადასხვა ჰისტოლოგიური ტიპის ან უფრო მაღალი ხარისხისაა. სხვა ბიომარკერული ტესტები (მაგ., Ki-67 ან მულტიგენური ექსპრესიის ანალიზი) არჩევითია და ამჟამად, არ არის რეკომენდებული მათი გამოყენება ყველა კარცინომისთვის. ახალი ქსოვილი არ უნდა იქნეს გამოყენებული სპეციალური კვლევებისთვის (მაგ., რნმ-ის ექსპრესიის პროფილირება ან კვლევები) თუ ინვაზიური კარცინომა საკმარისი ზომის იქნება იმისთვის, რომ ER, PgR ჰისტოლოგიურ შეფასებასა და HER2 შეფასებას ხელი არ შეეშალოს.

გაიდლაინების მიხედვით, საჭიროა კონკრეტული პრეანალიტიკური და ანალიტიკური ცვლადების დაფიქსირება, რომლებიც გავლენას ახდენს ტესტის შედეგებზე. ასეთი ცვლადები მოიცავს შემდეგს:

> ცივი იშემიის დრო (დრო ქსოვილის ამოკვეთასა და ფიქსაციის დაწყებას შორის) და ფიქსაციის დრო. ალტერნატიულად, ლაბორატორიებმა შეიძლება დააფიქსირონ პაციენტისგან ნიმუშის აღებისა და ფორმალინში მოთავსების დრო. როგორც ქსოვილის ამოკვეთის, ისე საფიქსაციო ხსნარში მოთავსების დრო უნდა ეცნობოს დამამუშავებელ ლაბორატორიას. ეს დრო გამოიყენება იმის დასადგენად, აკმაყოფილებს თუ არა ნიმუში გაიდლაინებში ცივი იშემიისა და ფიქსირების დროსთან დაკავშირებით

მითითებულ მოთხოვნებს. ამ დროების მოხსენება ჰისტოპათოლოგიურ დასკვნაში არჩევითია.

- საფიქსაციო ხსნარის ტიპი, თუ განსხვავდება ბუფერული ფორმალინისგან
- ქსოვილის დამუშავება, რომელმაც შეიძლება პოტენციურად შეცვალოს იმუნორეაქტიულობა (მაგ., დეკალციფიკაცია)
- კონტროლის სტატუსი:
    - შიდა – ნორმალური ეპითელური უჯრედები დადებითი ან უარყოფითია ER-სა და PgR-ზე
    - გარე – გამოხატვის ტიპი და მოსალოდნელი დონე
- ნიმუშის ადეკვატურობა შეფასებისთვის
- პირველადი ანტისხეულის კლონი

ანალიზის ვალიდაციის ან დადასტურების შესახებ ინფორმაცია ხელმისაწვდომი უნდა იყოს ლაბორატორიაში. უნდა დაფიქსირდეს ლაბორატორიის ვალიდირებული მეთოდებიდან ნებისმიერი გადახრა. გამოყენებულ უნდა იქნას და შეფასდეს შესაბამისი დადებითი კონტროლი.

ბ. ესტროგენის რეცეპტორების და პროგესტერონის რეცეპტორების ტესტირება

<u>სამეცნიერო დასაბუთება:</u> ძუძუს ნორმალურ ეპითელურ უჯრედებს აქვს ესტროგენისა და პროგესტერონის რეცეპტორები და მათი გავლენის ქვეშ მრავლდება. ძუძუს კარცინომათა უმეტესობა, ასევე, ახდენს ამ რეცეპტორების ექსპრესიას და, შესაძლებელია ამ ჰორმონებით მათი ზრდის სტიმულირება. ენდოგენური ჰორმონების მოცილებამ, ოოფორექტომიით ან ჰორმონალური მოქმედების ფარმაცევტულმა ბლოკირებით (მაგ., ტამოქსიფენით ან არომატაზას ინჰიბიტორებით), შეიძლება შეანელოს ან უზრუნველყოს სიმსივნის ზრდის თავიდან აცილება და გადარჩენის მაჩვენებლის გახანგრძლივება.

<u>კლინიკური დასაბუთება:</u> ჰორმონორეცეპტორების სტატუსი განისაზღვრება, ძირითადად, იმ პაციენტების იდენტიფიცირების მიზნით, რომლებმაც შეიძლება სარგებელი მიიღონ ჰორმონალური თერაპიისგან. ინვაზიური ძუძუს კიბოს დაახლოებით 75%-80% ER-სა და PgR-ზე დადებითია, მათ შორის, კარგად დიფერენცირებული თითქმის ყველა კიბო და ზომიერად დიფერენცირებული ყველა კიბო. ER-დადებითი სიმსივნის მქონე პაციენტებში კვლევებმა აჩვენეს ენდოკრინული თერაპიისგან მიღებული მნიშვნელოვანი სარგებელი.[2] ჭეშმარიტად ER-უარყოფითი, PgR-დადებითი კარცინომები ძალზე იშვიათია, მაგრამ ასეთი სიმსივნეების მქონე პაციენტები, ასევე, შესაფერისები არიან ჰორმონალური თერაპიის ჩასატარებლად. მხოლოდ რეცეპტორის სტატუსი სუსტი პროგნოზული ფაქტორია.

<u>მეთოდი:</u> ჰორმონორეცეპტორის სტატუსი, ყველაზე ხშირად, განისაზღვრება ფორმალინის ფიქსირებული და პარაფინში ჩაყალიბებულ ქსოვილში იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით (IHC). დადებითად ითვლება მხოლოდ ბირთვული შეღებვა. რუტინული გამოყენებისთვის, რეკომენდებული არ არის ერთი გენის ექსპრესიის ანალიზი.

ხარისხის უზრუნველყოფა: არსებობს მრავალი ქსოვილის და ტექნიკური ცვლადი, რომლებმაც შეიძლება გავლენა მოახდინონ ტესტის შედეგებზე, ER-ისა და PgR-ის გარე საკვალიფიკაციო გამოკვლევა (proficiency testing) ფასდაუდებელი ინსტრუმენტია, რათა უზრუნველყოს ანალიზების სათანადოდ ჩატარება და მათი ხელმისაწვდომობა, CAP (College of American Pathologists)-სა და სხვა ორგანიზაციებში.

ცრუ-უარყოფითი შედეგები: ამ ანალიზთან დაკავშირებული ყველაზე დიდი პრობლემა არის ის, რომ შეიძლება ვერ მოხერხდეს ER-ის ან PgR-ის გამოვლენა, შედეგად პაციენტებს შეიძლება არ ჩაუტარდეთ ეფექტური მკურნალობა. ეს შეიძლება გამოწვეული იყოს ნიმუშის არაადეკვატური დამუშავებით, თუ არტეფაქტები (დაჭყლეტის/დასრესვის ან კიდის არტეფაქტები) ართულებს ინტერპრეტაციას ან თუ ანალიტიკური ტესტირება ვერ ჩატარდა. ცრუ-უარყოფითი შედეგების თავიდან ასაცილებლად, შესაბამისი შიდა და გარე კონტროლი დადებითი უნდა იყოს. როდესაც სიმსივნე უარყოფითია (არაიმუნორეაქტიული), მნიშვნელოვანია შიდა კონტროლის უჯრედების შეფასება, იმის უზრუნველსაყოფად, რომ მათ აჩვენონ დადებითი შეღებვა (როგორც მოსალოდნელია). თუ შიდა კონტროლი ასევე უარყოფითია, ტესტის შედეგი მოხსენებული უნდა იყოს არა როგორც უარყოფითი, არამედ, უნდა ჩაითვალოს დაუდგენლად/გაურკვევლად („დადგენა შეუძლებელია"). ტესტი განმეორებით უნდა ჩატარდეს სხვა ბლოკზე ან ნიმუშზე.

როდესაც სიმსივნე უარყოფითია, მაგრამ არ არის წარმოდგენილი შიდა კონტროლის უჯრედები გამოკვლეულ ნაწილში, პათოლოგმა თავად უნდა გადაწყვიტოს, შეიძლება თუ არა ანალიზის ინტერპრეტაცია, როგორც ჭეშმარიტად უარყოფითის. ეს მოიცავს ჰისტოლოგიური ტიპისა და ხარისხის, ცივი (ჰიპოთერმული) იშემიისა და ფიქსაციის დროის და გარე კონტროლის სტატუსის გათვალისწინებას. თუ პათოლოგი გადაწყვეტს, რომ ჰორმონო რეცეპტორის სტატუსის დადგენა შეუძლებელია, ტესტი შესაბამისად უნდა აღინიშნოს და განმეორებით ჩატარდეს სხვა ბლოკზე ან ნიმუშზე.

ცრუ უარყოფითი შედეგები შეიძლება გამოწვეული იყოს შემდეგი მიზეზებით:

- სიმსივნურ უჯრედებზე სიცხის ზემოქმედება (მაგ., კარცინომა, რომლის გაკვეთა ხორციელდება კაუტერიზაციით)
- ცივი იშემიის დროის გახანგრძლივება, რამაც შეიძლება გამოიწვიოს ანტიგენური დეგრადაცია. სასურველია, ერთი საათით.
- დაქვეითებული ან გადაჭარბებული ფიქსაცია; რეკომენდირებულია ფიქსაცია მინიმუმ, 6 საათის განმავლობაში, ბუფერულ ფორმალინში. ხანგრძლივმა ფიქსაციამ, ასევე, შეიძლება შეამციროს იმუნორეაქტიულობა
- ფიქსატორის ტიპი: ER იშლება მჟავე ფიქსატორებში, როგორიცაა ბოუინი და B-5; ფორმალინი ბუფერული უნდა იყოს, რათა უზრუნველყოს pH-ის დიაპაზონი 7.0-დან 7.4-მდე
- დეკალციფიკაცია, რამაც შეიძლება გამოიწვიოს იმუნორეაქტიულობის დაკარგვა
- ანტიგენის არაოპტიმიზებული მოძიება
- ანტისხეულის ტიპი

- მუქი ფერის ჰემატოქსილინით კონტრასტული შეღებვა, რომელიც ფარავს დიამინობენზიდინით სუსტად დადებით შეღებვას (DAB)

ცრუ დადებითი შედეგები: ცრუ დადებითი შედეგები ნაკლებად ხშირია. იშვიათი მიზეზები შეიძლება იყოს არაერთგვაროვანი/არასუფთა ანტისხეულის გამოყენება, რომლებიც ჯვარედინ რეაქციაში შედიან სხვა ანტიგენთან, ან იმობილიზებული ნორმალური უჯრედების არსწორი ინტერპრეტაცია ან in situ კომპონენტი, როგორიცა ინვაზიური კარცინომა. ცრუ დადებითი ტესტის გამომწვევი მიზეზი, ასევე, შეიძლება იყოს გამოსახულების ანალიზის მოწყობილობა, რომელიც შეცდომით ითვლის ზედმეტად შეღებილ ბირთვებს. სავარაუდოდ, მაღალმგრძნობიარე ანალიზმა შეიძლება გამოავლინოს ER-ის ძალიან დაბალი დონე კიბოში, რომელიც არ რეაგირებს ჰორმონალურ თერაპიაზე, თუმცა, ეს კლინიკური კვლევით არ არის დადასტურებული.

ცრუ უარყოფითი და ცრუ დადებითი შედეგების შემცირება შესაძლებელია შემდეგზე ყურადღების გამახვილებით:

- ძუძუს ნორმალური ეპითელური უჯრედების შეღებვა. ნორმალური ეპითელური უჯრედები ახორციელებენ დადებით შიდა კონტროლს და ყოველთვის უნდა შეფასდნენ. თუ ნორმალური უჯრედები უარყოფითია, განიხილეთ კვლევის განმეორება იმავე ან სხვა ნიმუშზე. თუ ნორმალური უჯრედები არ არის ექსპრესიული (მაგ. მსხვილნემსიანი ბიოფსია) და ტესტის შედეგები უარყოფითია, ტესტი უნდა განმეორდეს სხვა ბლოკზე ან შემდგომ ნიმუშზე.

- გარე კონტროლი (უნდა შეიღებოს, როგორც მოსალოდნელია). ეს კონტროლი ხელს უწყობს იმის უზრუნველყოფას, რომ რეაგენტები სათანადოდ იქნას განაწილებული სასაგნე მინაზე (slide), კლინიკურ ნიმუშთან ერთად.

- კორელაცია კიბოს ჰისტოლოგიურ ტიპთან და ხარისხთან. კვლევა უნდა განმეორდეს, თუ შედეგები შეუსაბამო და ურთიერთგამომრიცხავია (მაგ., ER-უარყოფითი დაბალი ხარისხის კარცინომა).

<u>ანგარიშგების გაიდლაინები:</u> ER-სა და PgR-თან მიმართებაში იმუნოჰისტოქიმიური ანალიზების შედეგების წარმოდგენასთან დაკავშირებული რეკომენდაციები (ცხრილი 1). კვლევები, რომლებიც იყენებენ როგორც იმუნოჰისტოქიმიას (IHC), ასევე, ლიგანდების შეკავშირების ანალიზს, იმაზე მიუთითებს, რომ პაციენტებში, რომელთაც აღენიშნებათ ჰორმონორეცეპტორების მაღალი დონე, შეინიშნება ჰორმონალურ თერაპიაზე რეაგირების უფრო მაღალი ალბათობა, მაგრამ მინიმუმ 1%-იანი დადებითი შეღებვის/კონტრასტირების ექსპრესია ასოცირებულია კლინიკურ პასუხთან. შედეგად, გაიდლაინების მიხედვით, რეკომენდებულია ყველა შემთხვევის, როდესაც ვლინდება, მინიმუმ, 1% დადებითი უჯრედები, შეფასება როგორც რეცეპტორ-დადებითი. დაბალი ER ექსპრესიის მქონე პაციენტებთან დაკავშირებით (1%-10% სუსტად დადებითი უჯრედები), ენდოკრინული თერაპიის შესახებ გადაწყვეტილება უნდა ეფუძნებოდეს მისი რისკებისა და პოტენციური სარგებლის ანალიზს.

ცხრილი 1. ესტროგენის რეცეპტორის (ER) და პროგესტერონის რეცეპტორის (PgR) ტესტირების შედეგების მოხსენება

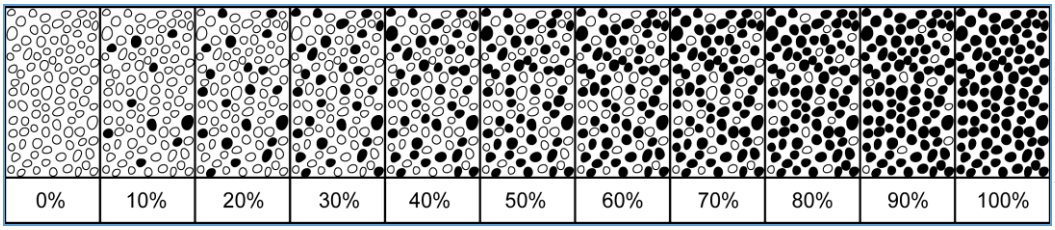
შედეგი	**კრიტერიუმი**	**კომენტარები**
დადებითი	გამოხატული იმუნორეაქტიული სიმსივნური უჯრედები (≥1%)	ინვაზიური კარცინომა, როდესაც უჯრედების 1-10%-ია შეღებილი ER-ისთვის (არა PgR) აღინიშნება, როგორც **„სუსტად დადებითი“** და რეკომენდებულია ანგარიშში შემდეგი კომენტარის წარმოდგენა: „წინამდებარე ნიმუშში, სიმსივნეში ვლინდება დაბალი ხარისხის ესტროგენის რეცეპტორის (ER) 1-10% ექსპრესია იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით (IHC). არსებობს შეზღუდული მონაცემები, ენდოკრინული თერაპიის საერთო სარგებელის შესახებ, იმ პაციენტებისთვის, რომლებშიც ვლინდება ER-ის დაბალი ხარისხის (1-10%) ექსპრესია, თუმცა, ამჟამად, ეს მონაცემები შესაძლო სარგებელზე მიუთითებს და ამიტომ, პაციენტები ენდოკრინული მკურნალობისთვის შესაფერისებად ითვლებიან. არსებობს მონაცემები, რომლებიც აჩვენებს, რომ ამ შედეგების მქონე ინვაზიური კიბო ჰეტეროგენულია, როგორც ქცევის, ასევე, ბიოლოგიური თვალსაზრისით და ხშირად აქვს ER უარყოფითი კიბოს მსგავსი გენის ექსპრესიის პროფილი.” აღნიშვნა ,,სუსტად დადებითი“ ეხება მხოლოდ ინვაზიურ კარცინომას და არ გამოიყენება პროგესტერონის რეცეპტორებისთვის ან DCIS-ისთვის.
უარყოფითი	გამოხატული <1% იმუნორეაქტიული სიმსივნური უჯრედები	

<u>უარყოფითი შედეგის განსაზღვრა:</u> გაიდლაინების მიხედვით, რეკომენდებულია, რომ შემთხვევა, კარცინომაზე <1% დადებითი უჯრედებით ჩაითვალოს ER-სა და PgR2-ზე უარყოფითად. ალრედის სისტემაში (იხ. ცხრილი 2), იმ პაციენტების გადარჩენის მაჩვენებელი, რომელთა კარცინომა 2 ქულით შეფასდა (შეესაბამება <1% სუსტად დადებით უჯრედებს), მსგავსი იყო იმ პაციენტებისა, რომელთა კარცინომა მთლიანად უარყოფითი იყო ER-ზე. ამიტომ, 2 ქულა ჩაითვალა უარყოფით შედეგად. დადებითი უჯრედების <1% და 2 ან 3 ინტენსივობის ქულის მქონე კარცინომების საერთო ქულა იქნება 3 ან 4 და ჩაითვლება

დადებითად. ესენი იშვიათი კარცინომებია და მათი პასუხი ჰორმონალურ თერაპიაზე კონკრეტულად არ არის შესწავლილი.

<u>ER და PgR-ის რაოდენობრივი განსაზღვრა:</u> სიმსივნეებში რეცეპტორის დონეების ფართო დიაპაზონია, რასაც აჩვენებს ბიოქიმიური ლიგანდების შეკავშირების ანალიზი და იმუნოჰისტოქიმია (IHC). პაციენტებში, რომელთა კარცინომას აქვს რეცეპტორების უფრო მაღალი დონე, აღინიშნა გადარჩენის მაჩვენებლის ზრდა, ჰორმონალური თერაპიით მკურნალობისას. რაოდენობრივი განსაზღვრის სისტემაში შეიძლება გამოყენებულ იქნას მხოლოდ დადებითი უჯრედების პროპორცია ან იმუნორეაქტიულობის ინტენსივობა:

- დადებითი უჯრედების რაოდენობა: დადებითი უჯრედების რაოდენობა შეიძლება წარმოდგენილი იყოს პროცენტულად ან ცალკეულ კატეგორიებში (იხ. სურათი 1 ქვემოთ).
- ინტენსივობა: ეხება ბირთვული პოზიტიურობის ხარისხს (ე.ი., ღია ფერიდან მუქამდე). ინტენსივობაზე გავლენა შეიძლება იქონიოს არსებული ცილის რაოდენობამ, ასევე, გამოყენებულმა ანტისხეულმა და ანტიგენის მოძიების სისტემამ. კიბოს შემთხვევების უმეტესობაში, გამოხატულია ჰეტეროგენული იმუნორეაქტიულობა, ფერმკრთალი ან მუქი შეფერილობის დადებით უჯრედებთან მიმართებაში.



სურათი 1. იმუნოჰისტოქიმიური შედეგების რაოდენობრივი განსაზღვრა. დადებითი უჯრედების პროცენტული მაჩვენებელი შეიძლება ვიზუალურად შეფასდეს.

დადებითი უჯრედების ინტენსივობისა და პროცენტული მნიშვნელობის გამოყენებით, ER-ის რაოდენობრივი განსაზღვრის ორი მეთოდი წარმოადგენს ალრედის ქულას (ცხრილი 2) და H ქულას (ცხრილი 3). ამ ორი სისტემის მიხედვით, კარცინომების კლასიფიცირება ხდება მსგავს, მაგრამ არა იდენტურ ჯგუფებად. თუ მაღალი აფინურობის (თავსებადობის) ანტისხეულები გამოიყენება სენსიტიური გამოვლენის სისტემებთან ერთად, კარცინომათა უმეტესობა შედის აშკარად დადებით (ქულა 7 ან 8) ან აშკარად უარყოფით (ქულა 0) კატეგორიებში ალრედის ქულის მიხედვით. კარცინომათა მცირე ჯგუფი (სულ <1%) აჩვენებს იმუნორეაქტიულობის საშუალო დონეს.

რაოდენობრივი შეფასება, ასევე, შეიძლება განხორციელდეს დადებითი უჯრედების პროპორციის/წილის გათვალისწინებით. ერთი კვლევის ფარგლებში კარცინომა შეფასდა 0 (<1% დადებითი), 1 (1% -25% დადებითი), 2 (>25% -75% დადებითი) და 3 (>75% დადებითი) ქულით. იგივე შედეგები მიღებულ იქნა ვიზუალური გამოსახულების/სურათის ანალიზის ან გამოსახულების ანალიზის შედეგად, ქულებით შეფასების შემთხვევაში. დადებითი

უჯრედების პროპორცია/წილი კორელაციაშია ბიოქიმიური ანალიზის შედეგებთან და პროგნოზთან. სხვა კვლევის ფარგლებში, კარცინომები, მცირე რაოდენობის დადებითი უჯრედებით (1%-10%-მდე), დადებითი აღმოჩნდა უჯრედების არმქონე ან იშვიათი უჯრედების მქონე კარცინომებსა (<1%) და >10% დადებითი უჯრედების მქონე კარცინომებს შორის.

ცხრილი 2. ალრედის ქულა* ესტროგენისა და პროგესტერონის რეცეპტორების შეფასებისთვის

პროპორციის ქულა	**დადებითი უჯრედები, %**	**ინტენსივობა**	**ინტენსივობის ქულა**
0	0	არარსებობა	0
1	<1	სუსტი	1
2	1- 10	საშუალო	2
3	11- 33	ძლიერი	3
4	34 - 66		
5	≥67		

* ალრედის ქულა აერთიანებს დადებითი უჯრედების პროცენტულ რაოდენობასა და პროდუქტის რეაქციის ინტენსივობას, კარცინომის შემთხვევათა უმრავლესობაში. საბოლოო ქულას ემატება 2 ქულა, 8 შესაძლო მნიშვნელობით. 0-დან 2 ქულამდე უარყოფითად ითვლება. 3-დან 8 ქულამდე ითვლება დადებითად.

ცხრილი 3. H ქულა* ესტროგენისა და პროგესტერონის რეცეპტორების შეფასებისთვის

H ქულის გამოთვლა		
უჯრედის სიგნალი	**უჯრედების პროცენტული მაჩვენებელი**	**გამრავლებული მნიშვნელობა**
უჯრედები სიგნალის გარეშე		% x 0 = 0
უჯრედები სუსტი სიგნალით		% x 1 =
უჯრედები საშუალო სიგნალით		% x 2 =
უჯრედები ძლიერი სიგნალით		% x 3 =
ჯამური ქულა =		

* H ქულა განისაზღვრება იმ უჯრედების პროცენტის გამრავლებით, რომლებიც ავლენენ თითოეულ ინტენსივობას (0-3 ქულით შეფასებული) და მიღებული შედეგების შეჯამებით. არსებობს 300 შესაძლო მნიშვნელობა. ამ სისტემაში დადებითი უჯრედების <1% უარყოფით შედეგად ითვლება.

გ. HER2-ის (*ERBB2*) ტესტირება

<u>სამეცნიერო დასაბუთება:</u> ძუძუს კარცინომათა ქვეჯგუფში (დაახლოებით 15%-20%) გამოხატულია ადამიანის ეპიდერმული ზრდის ფაქტორის მე-2 რეცეპტორის (HER2; HUGO ნომენკლატურა ERBB2) ჰიპერექსპრესია. ცილების ჰიპერექსპრესია, ჩვეულებრივ, გამოწვეულია გენის ამპლიფიკაციით. გენის ასლის რაოდენობის, mRNA რაოდენობის და პროტეინის ანალიზები, ზოგადად, მსგავს შედეგებს იძლევა; გენის ამპლიფიკაცია დაკავშირებულია ცილების ჰიპერექსპრესიასთან, შემთხვევათა დაახლოებით 95%-ში. კარცინომათა მცირე ქვეჯგუფში (დააახლოებით <5%), ცილის ჰიპერექსპრესია შეიძლება გამოვლინდეს სხვადასხვა მექანიზმით. ჰიპერექსპრესია წარმოადგენს პროგნოზულ ფაქტორს.

<u>კლინიკური დასაბუთება:</u> HER2 სტატუსი ძირითადად ფასდება ანტი-HER2 თერაპიის ჩასატარებლად, პაციენტების შესაფერისობის განსაზღვრის მიზნით. მას შეუძლია გამოავლინოს პაციენტები, რომლებიც უფრო მეტ სარგებელს ღებულობენ ანტრაციკლინზე დაფუძნებული ადიუვანტური თერაპიისგან.

მეთოდები: HER2 სტატუსი შეიძლება განისაზღვროს ფორმალინში ფიქსირებული და პარაფინში ჩაყალიბებულ ქსოვილში იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით (IHC) სიმსივნური უჯრედების მემბრანაზე ცილის ექსპრესიის შეფასებით ან in situ ჰიბრიდიზაციის (ISH) მეშვეობით, HER2 გენის ასლების რაოდენობის შეფასებით. როდესაც ერთსა და იმავე სიმსივნეზე ხდება იმუნოჰისტოქიმიური (IHC) და in situ ჰიბრიდიზაციის (ISH) მეთოდების გამოყენება, შედეგები ერთმანეთს უნდა შეესაბამებოდეს. შეუსაბამობის ყველაზე სავარაუდო მიზეზი არის ის, რომ ერთ-ერთი ანალიზის შედეგი არასწორია, მაგრამ მცირე რაოდენობის შემთხვევებში, შეიძლება იყოს ცილის ჰიპერექსპრესია, ამპლიფიკაციის გარეშე, ამპლიფიკაცია ცილის ჰიპერექსპრესიის გარეშე ან გამოხატული ინტრატუმორული ჰეტეროგენულობა.

HER2 (ERBB2) ტესტირება იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდით

ფაქტორები, რომლებიც გავლენას ახდენენ იმუნიჰისტოქიმიური მეთოდით (IHC) HER2-ის (ERBB2) გამოვლენაზე შესწავლილი არ არის, ისევე, როგორც ER-სა და PgR-ის შემთხვევაში. რეკომენდებულია ქსოვილის ფიქსაცია ნეიტრალურ ბუფერულ 10% ფორმალინში, მინიმუმ, 6 საათის განმავლობაში.გარე საკვალიფიკაციო გამოკვლევები (proficiency testing), HER2-ის შესაფასებლად, ხელმისაწვდომია CAP-სა და სხვა ორგანიზაციებში. ეს კვლევები ფასდაუდებელი ინსტრუმენტებია ლაბორატორიული ტესტების სათანადოდ ჩასატარებლად.

იმუნოჰისტოქიმიის (IHC) ცრუ დადებითი შედეგები, HER2-ის შესაფასებლად, შეიძლება გამოწვეული იყოს შემდეგი მიზეზებით:

- კიდეების არტეფაქტი. ეს, ჩვეულებრივ, ჩანს მსხვილნემსიანი ბიოფსიის დროს, როდესაც უჯრედები ქსოვილის კიდეებთან ახლოს უფრო კარგად იღებება, ვიდრე ცენტრში, სავარაუდოდ, იმის გამო, რომ ანტისხეულები გროვდება გვერდებზე. ქსოვილის კიდეზე უფრო ძლიერი შეფერილობის მქონე ნიმუშები სიფრთხილით უნდა იქნას განმარტებული.
- ციტოპლაზმური პოზიტიურობა, რომელმაც შეიძლება გადაფაროს მემბრანის შეფერილობა და გაართულოს ინტერპრეტაცია.
- ზედმეტად შეღებვა (ნორმალური უჯრედების მემბრანის მკვეთრი შეღებვა) შეიძლება გამოწვეული იყოს ანტისხეულების არასათანადო ტიტრაციით (ძალიან მაღალი კონცენტრაცია).
- სადინარის კარცინომა in situ-ს (DCIS) არასწორი ინტერპრეტაცია. მაღალი ხარისხის DCIS, ხშირად, HER2 დადებითია. ვრცელი (ექსტენციური) DCIS-ის შემთხვევაში, ინვაზიურ კარცინომასთან შედარებით (განსაკუთრებით, მიკროინვაზიური კარცინომის), HER2-ის შეფასება DCIS კომპონენტზე, შეიძლება შეცდომით განხორციელდეს. ყურადღება უნდა გამახვილდეს მხოლოდ ინვაზიური კომპონენტის შეფასებაზე.

იმუნოჰისტოქიმიის (IHC) ცრუ-უარყოფითი შედეგები, HER2-ის შესაფასებლად, შეიძლება გამოწვეული იყოს შემდეგი მიზეზებით:

- ცივი იშემიის დროის გახანგრძლივება.
- სიმსივნის ჰეტეროგენულობა. თუ გამოვლინდა უარყოფითი შედეგი, მაგრამ გამოკვლეულ იქნა ბიოფსიის დროს აღებული მცირე ნიმუში, უნდა განიხილოს განმეორებითი ტესტირება შემდგომ ნიმუშზე, რომელიც მოიცავს კარცინომის უფრო დიდ უბანს, განსაკუთრებით, თუ სიმსივნეს აქვს HER2 დადებითობასთან ასოცირებული მახასიათებლები (ანუ სიმსივნის ხარისხია 2 ან 3, სუსტი ან უარყოფითი PgR ექსპრესია, გაზრდილი პროლიფერაციის ინდექსი).
- ანტისხეულების არასწორი ტიტრაცია (კონცენტრაცია ძალიან დაბალია)

ცრუ-უარყოფითი და ცრუ-დადებითი შედეგების შემცირება შესაძლებელია შემდეგზე ყურადღების გამახვილებით:

- ქსოვილის კონტროლი. გარე კონტროლის ნიმუში უნდა შეიღებოს, როგორც მოსალოდნელია. არ არსებობს ნორმალური შიდა კონტროლის ნიმუში, იმუნოჰისტოქიმიური (IHC) მეთოდის მეშვეობით, HER2 ცილის შესაფასებლად.
- კორელაცია ჰისტოლოგიურ და სხვა ბიომარკერების შედეგებთან. თუ HER2 ტესტი უარყოფითია, იმუნოჰისტოქიმიური (IHC) მეთოდით, მაგრამ სიმსივნეს აქვს HER2 დადებითობასთან ასოცირებული მახასიათებლები (იხ. ზემოთ), გასათვალისწინებელია in situ ჰიბრიდიზაციის (ISH) მეთოდით ტესტის განმეორება.

ანგარიშგების გაიდლაინები: იმუნოჰისტოქიმიური (IHC) მეთოდით ჩატარებული HER2 ტესტირების შედეგების მოხსენებასთან დაკავშირებული რეკომენდაციები (ცხრილი 4).

ცხრილი 4. იმუნოჰისტოქიმიის (IHC) მეთოდით ჩატარებული HER2 ტესტირების შედეგების მოხსენება

შედეგი	**კრიტერიუმები**
უარყოფითი (ქულა 0)	შეღებვა არ აღინიშნება *ან* მემბრანის შეღებვა, რომელიც არის არასრული, მკრთალი/ძლივს შესამჩნევი და შეინიშნება სიმსივნური უჯრედების ≤10%-ში
უარყოფითი (ქულა 1+)	მემბრანის არასრული შეღებვა, რომელიც არის მკრთალი/ძლივს შესამჩნევი და შეინიშნება სიმსივნური უჯრედების ≤10%-ში*
გაურკვეველი (ქულა 2+)*	მემბრანის სუსტიდან ზომიერამდე სრული შეღებვა შეინიშნება სიმსივნური უჯრედების >10%-ში *ან* მემბრანის სრული შეღებვა, რომელიც ინტენსიურია, მაგრამ შეინიშნება სიმსივნური უჯრედების ≤10%-ში*
დადებითი (ქულა 3+)	მემბრანის სრული შეღებვა, რომელიც ინტენსიურია და შეინიშნება სიმსივნური უჯრედების 10%-ში**

* ადვილად ფასდება დაბალი გარჩევადობის ლინზის მეშვეობით და შეინიშნება ინვაზიური სიმსივნური უჯრედების ერთგვაროვან და მომიჯნავე პოპულაციაში.

** უნდა მოითხოვოთ საკონტროლო ანალიზი (იგივე ნიმუში, ISH-ის გამოყენებით) ან ახალი ტესტი (თუ ახალი ნიმუში ხელმისაწვდომია, IHC-ის ან ISH-ის გამოყენებით).

In Situ ჰიბრიდიზაციის მეთოდით HER2-ის ტესტირება

ფლუორესცენტული in situ ჰიბრიდიზაციის (FISH), ქრომოგენული in situ ჰიბრიდიზაციისა (CISH) და ვერცხლით გაძლიერებული in situ ჰიბრიდიზაციის (SISH) კვლევები, *HER2-ის* შესაფასებლად, განსაზღვრავს გენის ამპლიფიკაციის არსებობას ან არარსებობას. ზოგიერთ ანალიზში გამოყენებულია ერთი ზონდი, HER2 გენის ასლების რაოდენობის დასადგენად, მაგრამ ანალიზების უმეტესობა, მოიცავს ქრომოსომების დასათვლელ ზონდს (CEP17), HER2 სიგნალების თანაფარდობის დასადგენად, მე-17 ქრომოსომის ასლებთან მიმართებაში. მიუხედავად იმისა, რომ ძუძუს კარცინომას 10%-50%-მდე აქვს CEP17-ის 2-ზე მეტი ასლი, კარცინომათა მხოლოდ 1%-2% ავლენს ჭეშმარიტ პოლიზომიას (ანუ, მთელი ქრომოსომის დუბლირებას).

In situ ჰიბრიდიზაციით შედეგების მიღებასთან დაკავშირებული პრობლემები შეიძლება გამოწვეული იყოს შემდეგი ფაქტორებით:

- ფორმალინში ხანგრძლივი ფიქსაცია (>1 კვირა)
- ფიქსაცია არაფორმალინის საფიქსაციო ხსნარში
- პროცედურა ან ფიქსაცია, რომელიც მოიცავს მჟავას (მაგ., დეკალციფიკაციას) შეიძლება გამოიწვიოს დნმ-ის დაშლა
- ქსოვილის პროტეინაზათი არასაკმარისი დამუშავება

გარე საკვალიფიკაციო გამოკვლევები (proficiency testing), HER2-ის შესაფასებლად, ხელმისაწვდომია CAP-სა და სხვა ორგანიზაციებში. ეს კვლევები ფასდაუდებელი ინსტრუმენტებია ლაბორატორიული ტესტების სათანადოდ ჩასატარებლად.

ანგარიშგების გაიდლაინები: იმუნოჰისტოქიმიური (IHC) მეთოდით ჩატარებული HER2 ტესტირების შედეგების მოხსენებასთან დაკავშირებული რეკომენდაციები (ცხრილები 5 და 6)).

ორზონდიან (dual probe) ISH ჯგუფთან დაკავშირებეული განმარტებები:

ჯგუფი 1 = HER2/CEP17-ის თანაფარდობა ≥2.0; ≥4.0 HER2 სიგნალები/უჯრედი

ჯგუფი 2 = HER2/CEP17-ის თანაფარდობა ≥2.0; <4.0 HER2 სიგნალები/უჯრედი

ჯგუფი 3 = HER2/CEP17-ის თანაფარდობა <2.0; ≥6.0 HER2 სიგნალები/უჯრედი

ჯგუფი 4 = HER2/CEP17-ის თანაფარდობა <2.0; ≥4.0 და <6.0 HER2 სიგნალები/უჯრედი

ჯგუფი 5 = HER2/CEP17-ის თანაფარდობა <2.0; <4.0 HER2 სიგნალები/უჯრედი

ცხრილი 5. HER2 In Situ ჰიბრიდიზაციის მეთოდით ჩატარებული *HER2* ტესტირების შედეგების მოხსენება (ანალიზი ერთი ზონდით)

შედეგი	**კრიტერიუმი ერთზოდიანი ანალიზი (single-probe assay)**
უარყოფითი	• HER2-ის ასლების საშუალო რაოდენობა <4.0 სიგნალები/უჯრედი • HER2-ის ასლების საშუალო რაოდენობა ≥4.0 და <6.0 სიგნალები/უჯრედი <u>და</u> თანმხლები IHC 0, 1+ ან 2+ • HER2-ის ასლების საშუალო რაოდენობა ≥4.0 და <6.0 სიგნალები/უჯრედი <u>და</u> თანმხლები ორზონდიანი ISH-ის ჯგუფი 5

დადებითი	• HER2-ის ასლების საშუალო რაოდენობა ≥6.0 სიგნალები/უჯრედი • HER2-ის ასლების საშუალო რაოდენობა ≥4.0 და <6.0 სიგნალები/უჯრედი <u>და</u> თანმხლები IHC 3+ • HER2-ის ასლების საშუალო რაოდენობა ≥4.0 და <6.0 სიგნალები/უჯრედი <u>და</u> თანმხლები ორ ზონდიანი (dual probe) ISH ჯგუფი 1

ცხრილი 6. In Situ ჰიბრიდიზაციის მეთოდით ჩატარებული (ორზონდიანი) *HER2* ტესტირების შედეგების მოხსენება (ორ ზონდიანი ანალიზი)

შედეგი	კრიტერიუმები (ორ ზონდიანი ანალიზი)
უარყოფითი	• ჯგუფი 5
უარყოფითი* (იხ. კომენტარი)	• ჯგუფი 2 <u>და</u> თანმხლები IHC 0-1+ ან 2+ • ჯგუფი 3 <u>და</u> თანმხლები IHC 0-1+ • ჯგუფი 4 <u>და</u> თანმხლები IHC 0-1+ ან 2+
დადებითი*	• ჯგუფი 2 <u>და</u> თანმხლები IHC 3+ • ჯგუფი 3 <u>და</u> თანმხლები IHC 2+ ან 3+ • ჯგუფი 4 <u>და</u> თანმხლები IHC 3+
დადებითი	• ჯგუფი 1

* მე-2-მე-4 ჯგუფებისთვის, ISH-ის საბოლოო შედეგები ეფუძნება თანხმლები IHC-ის მიმოხილვას, მეორე მიმომხილველის მიერ ISH ტესტის შედეგების ხელახლა დათვლას, თუ IHC არის 2+ (დოკუმენტში CAP/ASCO Update წარმოდგენილი რეკომენდაციების მიხედვით).

მე-2 ჯგუფის უარყოფით შედეგთან დაკავშირებული კომენტარი: შემთხვევების მცირე ქვეჯგუფში, სადაც ვლინდება HER2/CEP17 თანაფარდობა ≥2.0 და HER2-ის ასლების საშუალო რაოდენობა <4.0/უჯრედში, HER2-მიზნობრივი თერაპიის ეფექტურობასთან დაკავშირებული მტკიცებულებები შეზღუდულია. პირველი თაობის ადიუვანტური ტრასტუზუმაბის კვლევების ფარგლებში, ამ ქვეჯგუფში შემავალ პაციენტებში, რომლებიც რანდომიზებულნი იყვნენ ტრასტუზუმაბის ჯგუფში, არ გამოვლენილა დაავადებისგან თავისუფალი პერიოდის ან საერთო გადარჩენის გაუმჯობესება, თუმცა, ასეთი შემთხვევები ძალიან ცოტა იყო, საბოლოო დასკვნის გამოსატანად. იმუნოჰისტოქიმიური HER2 ექსპრესია გამოყენებული უნდა იყოს in situ ჰიბრიდიზაციის (ISH) შესავსებად და HER2 სტატუსის დასადგენად. თუ იმუნოჰისტოქიმიის (IHC) შედეგი არ არის 3+ დადებითი, რეკომენდებულია, რომ ნიმუში ჩაითვალოს HER2 უარყოფითად, in situ ჰიბრიდიზაციით (ISH), HER2-ის ასლის მცირე რაოდენობისა ISH და ცილის ჰიპერექსპრესიის ნაკლებობის გამო.

მე-3 ჯგუფის უარყოფით შედეგთან დაკავშირებული კომენტარი: არ არსებობს საკმარისი მონაცემები HER2-მიზნობრივი თერაპიის ეფექტურობის შესახებ, შემთხვევებში, სადაც ვლინდება HER2-ის თანაფარდობა <2.0, ცილის ჰიპერექსპრესიის არარსებობის ფონზე, რადგან ასეთი პაციენტები ვერ აკმაყოფილებდნენ პირველი თაობის ადიუვანტური ტრასტუზუმაბის კლინიკურ კვლევებში მონაწილეობის კრიტერიუმებს. როდესაც თანმხლები იმუნიჰისტოქიმიის (IHC) შედეგები უარყოფითია (0-1+), რეკომენდებულია ნიმუში ჩაითვალოს HER2-უარყოფითად.

მე-4 ჯგუფის უარყოფით შედეგთან დაკავშირებული კომენტარი: გაურკვეველია, იღებენ თუ არა სარგებელს პაციენტები, რომლებსაც აღენიშნებათ ≥4.0 და <6.0 საშუალო HER2 სიგნალები/უჯრედი და HER2/CEP17 <2.0 თანაფარდობა HER2, მიზნობრივი თერაპიით ცილის ჰიპერექსპრესიის არარსებობის შემთხვევაში (IHC 3+). თუ ნიმუშის ტესტის შედეგი ახლოსაა ISH თანაფარდობის ზღურბლთან დადებითობის შემთხვევაში, დიდია ალბათობა იმისა, რომ განმეორებითი ტესტირების შედეგად, მხოლოდ შემთხვევით მივიღებთ განსხვავებულ შედეგებს. ამიტომ, როდესაც IHC შედეგები არ არის 3+ დადებითი, რეკომენდებულია, ნიმუში ჩაითვალოს HER2 უარყოფითად, იმავე ნიმუშზე დამატებითი ტესტირების ჩატარების გარეშე.

In situ ჰიბრიდიზაციის (ISH) ინტერპრეტაციასთან დაკავშირებული მნიშვნელოვანი საკითხებია:

- ინვაზიური კარცინომის იდენტიფიცირება: პათოლოგმა ჰემატოქსილინისა და ეოზინის (H&E) ან HER2 IHC-ის სასაგნო მინაზე (slide) in situ უნდა დაადგინოს ჰიბრიდიზაციით შესაფასებელი ინვაზიური კარცინომის უბანი.
- ასოცირებული სადინრის კარცინომა in situ-ს (DCIS) იდენტიფიკაცია: ზოგიერთ შემთხვევაში, სადინრის კარცინომა in situ (DCIS) აჩვენებს გენის ამპლიფიკაციას, ასოცირებული ინვაზიური კარცინომა კი - არა. ინვაზიურ კარცინომაზე უნდა ჩატარდეს in situ ჰიბრიდიზაციის (ISH) ანალიზი.

ზოგიერთი კიბოს შემთხვვაში, ვლინდება HER2 ექსპრესიის დაბალი დონე, როგორც ეს განსაზღვრულია როგორც იმუნოჰისტოქიმიური (IHC), ასევე, in situ ჰიბრიდიზაციის (ISH) ანალიზის საეჭვო შედეგებით. განმეორებითი ტესტირებამ შეიძლება ხელი შეუწყოს ანალიზებთან დაკავშირებული შესაძლო ტექნიკური პრობლემების გამორიცხვას, მაგრამ, ხშირად, არ იწვევს საბოლოო დადებით ან უარყოფით შედეგებს.

ამპლიფიკაციის არსებობის დასადგენად, შეიძლება გამოყენებულ იქნას *HER2* გენების რაოდენობა ან *CEP17*-სა და *HER2*-ის თანაფარდობა. კარცინომის შემთხვევათა უმრავლესობაში, ორივე მეთოდი ერთსა და იმავე შედეგს იძლევა. უჩვეულო შემთხვევებში, აღნიშნული ორი მეთოდი იძლევა განსხვავებულ შედეგებს, როგორც წესი, *CEP17* სიგნალების რაოდენობის ცვალებადობის გამო. ზოგიერთმა კვლევამ აჩვენა, რომ მე-17 ქრომოსომის დარღვევებმა შეიძლება გამოიწვიოს *HER2/CEP17* თანაფარდობის ცვლილება, რის შედეგად, შესაძლოა მივიღოთ ISH-ის საეჭვო ან არასწორ შედეგები. ასეთ შემთხვევებში, გენის ასლის რაოდენობა შეიძლება უფრო ზუსტად ასახავდეს HER2 სტატუსს. იმ შემთხვევაში, თუ არსებობს უჯრედების მეორე მიმდებარე პოპულაცია, გაზრდილი HER2 სიგნალების/უჯრედის ფონზე, და უჯრედების ეს პოპულაცია მოიცავს სიმსივნური უჯრედების 10%-ზე მეტს (დადგენილია გამოსახულების/სურათის ანალიზით ან ISH-ის ან IHC-ის სასაგნე მინის (slide) ვიზუალური შეფასებით), ცალკე უნდა დაითვალოს, მინიმუმ, 20 არაგადამკვეთი უჯრედი, ასევე, ამ უჯრედების პოპულაციის ფარგლებში და ეს რაოდენობა მიეთითოს ანგარიშში. ამ შემთხვევაში, მიზანშეწონილი არაა საერთო რანდომული (შემთხვევითი) რაოდენობის გამოყენება.

.

დ. Ki-67 ტესტირება

Ki-67 არის ბირთვული ცილა, რომელიც გვხვდება უჯრედული ციკლის ყველა ფაზაში და წარმოადგენს უჯრედის პროლიფერაციის მარკერს. მონოკლონური ანტისხეული MIB-1 წარმოადგენს ყველაზე ხშირად გამოყენებულ ანტისხეულს Ki-67-ის შესაფასებლად ფორმალინში ფიქსირებულ და პარაფინში ჩაყალიბებულ ქსოვილის განაკვეთებში. In situ ჰიბრიდიზაციით (IHC) განსაზღვრული Ki-67 დადებითი სიმსივნური უჯრედების პროცენტული მაჩვენებელი ხშირად გამოიყენება პაციენტების სტრატიფიკაციისთვის კარგ და ცუდ პროგნოზულ ჯგუფებად, თუმცა კონსენსუსის ნაკლებობაა ქულებით შეფასებასთან, მაღალ ექსპრესიასთან შედარებით დაბალი ექსპრესიის განსაზღვრასთან, დადებითობის ბარიერულ წერტილთან ან იმასთან დაკავშირებით, სიმსივნის რომელი ნაწილი უნდა შეფასდეს ქულებით (მაგ., წინა კიდე, ცხელი წერტილები, საერთო საშუალო). ასევე მწირი მონაცემებია Ki-67 შეღებვაზე პრე-ანალიზური ცვლადების (მაგ., იშემიის დრო, ფიქსაციის ხანგრძლივობა, ანტიგენის მოძიება) გავლენის შესახებ. ამ მიზეზების გამო, ძუძუს კიბოს რუტინული ტესტირება Ki-67 ექსპრესიის შესაფასებლად ამჟამად არ არის რეკომენდებული არც ამერიკის ონკოლოგთა ასოციაციის (ASCO) და არც კიბოს ეროვნული ყოვლისმომცველი ქსელის (NCCN) მიერ.

ე. ცივი იშემიის დრო.

ბიომარკერის ტესტირების გაიდლაინის მიხედვით, რეკომენდებულია, რომ ცივი იშემიის დრო (დრო ნიმუშის ამოკვეთიდან მის ფიქსაციამდე) რაც შეიძლება მოკლე იყოს. აღნიშნულია გახანგრძლივებული ცივი იშემიის უარყოფითი გავლენა HER2-სა და ასევე ER ტესტირებაზე. HER2 ტესტირების გაიდლაინის გამოქვეყნების შემდეგ გამოვლინდა, რომ HER2 ფლუორესცენტული in situ ჰიბრიდიზაციის (FISH) ტესტირება განსაკუთრებით მოწყვლადი იყო, რადგან ცივი იშემიის გახანგრძლივებული დრო იწვევს HER2 სიგნალების დაკარგვას, რამაც შეიძლება გამოიწვიოს ცრუ უარყოფითი შედეგები. ამიტომ, რეკომენდებულია ცივი იშემია გაგრძელდეს ერთ საათის ან უფრო ნაკლები დროის განმავლობაში, როგორც ეს აღნიშნულია ER და PgR IHC ტესტირების გაიდლაინში. პაციენტისგან ქსოვილის ამოკვეთის დრო და ქსოვილის საფიქსაციო ხსნარში დაყოვნების დრო უნდა დაფიქსირდეს მიღების ბლანკზე ან ანგარიშში ან ორივეგან.

დისტანციურად მიღებული ნიმუშების დამუშავება. ტესტირების გაიდლაინში წარმოდგენილი არ არის რეკომენდაციები დისტანციურად მიღებულ ნიმუშებთან დაკავშირებით. რეკომენდებულია დისტანციურად მიღებული ნიმუშები დაუყონებლივ გაიჭრას შუაზე და მოთავსდეს ნეიტრალურ ბუფერულ ფორმალინში. სიმსივნის ამოკვეთის დრო და საფიქსაციო ხსნარში დაყოვნების დრო, ორივე უნდა დაფიქსირდეს მიღების ბლანკზე. ეს რეკომენდაცია ვრცელდება ნებისმიერ ნიმუშზე, რომლის ტრანსპორტირების დრო აჭარბებს ცივი იშემიის რეკომენდებულ 1-საათიან ინტერვალს, სანამ პათოლოგი ნიმუშის მაკროსკოპულ გამოკვლევას ჩაატარებს და საფიქსაციო ხსნარში ჩადებს. ლიტერატურული

წყაროებით არ არის დადასტურებული ის ფაქტი, რომ მცირე ზომის ნიმუშების დაფიქსირება შესაძლებელია 6 საათზე ნაკლები დროის განმავლობაში. რეკომენდებულია ტესტირებისთვის ნიმუშები დაფიქსირდეს, მინიმუმ, 6 საათის განმავლობაში, ნიმუშის ზომის მიუხედავად. HER2 ფლუორესცენტული in situ ჰიბრიდიზაცია (FISH) შეიძლება ჩატარდეს 48 საათზე მეტ ხანს დაფიქსირებულ ნიმუშებზე. თუმცა, არ არსებობს გამოქვეყნებული მონაცემები, HER2 იმუნოჰისტოქტომიის (IHC) შესახებ, 48-72 საათის განმავლობაში დაფიქსირებული ნიმუშის შემთხვევაში, გარდა ერთი პუბლიკაციისა, რომელიც იკვლევს HER2 IHC დადებით ნიმუშებს,. ამიტომ, ამჟამინდელი რეკომენდაციით, იმუნოჰისტოქტომიისთვის (IHC) ფიქსაციის ინტერვალია 6-48 საათი. 48-72 საათიანი ინტერვალის შემთხვევაში, ER-ისა და PgR-ის სტაბილურობის შესახებ მონაცემები მიუთითებს, რომ HER2 ტესტირებისთვის ამ ინტერვალის შეცვლის შედეგად ტესტის უარყოფით შედეგები არ მიიღება. არსებულ მტკიცებულებებზე დაყრდნობით, ჩვენ არ შეგვიცვლია რეკომენდაცია, სპეციფიკური გამოქვეყნებული HER2 IHC კვლევების შედეგების ნაკლებობის გამო, რომლებიც მოიცავდა ნიმუშებს HER2 ექსპრესიის დაბალი დონით, რომლებიც უფრო მოწყვლადი იქნებოდა, ფიქსაციის დროის ცვლილებების მიმართ.

ოპტიმალური ნიმუში ბიომარკერის ტესტირებისთვის. ტესტირების გაიდლაინში წარმოდგენილი რეკომენდაციის მიხედვით, რეზექციის ნიმუშების გამოყენება სასურველია HER2 ტესტირებისთვის და არა მსხვილნემსიანი ბიოფსიისთვის, იმ ალბათობის გამო, რომ არტეფაქტებმა შეიძლება ხელი შეუშალოს ინტერპრეტაციას. პათოლოგმა, თავისი შეხედულებისამებრ, უნდა შეარჩიოს საუკეთესო ნიმუში ტესტირებისთვის, თითოეული პაციენტის შემთხვევაში.

9. მოსალოდნელი შედეგები

პროტოკოლის გამოყენება ხელს შეუწყობს:

- საქართველოში ბიოლოგიური მასალის (კერძოდ, ძუძუს კარცინომის მქონე პაციენტებიდან აღებული ნიმუშების) ბიომარკერული ტესტირების სტანდარტიზაციას, რაც უზრუნველყოფს პათოლოგიური დიაგნოსტიკის ხარისხის გაუმჯობესებას და შესაბამისად პაციენტის ადეკვატურ მკურნალობას და სიცოცხლის ხანგრძლივობის გაზრდას.
- პათოლოგიური დიაგნოსტიკის სტრატეგიის უნიფიცირებას ქვეყნის მასშტაბით, მსოფლიოში არსებული სტანდარტების შესაბამისად.
- პათოლოგიურ დიაგნოსტიკასთან დაკავშირებული პროცედურების რაციონალური თანამიმდევრობის განსაზღვრას.
- პათოლოგიური დიაგნოსტიკისთვის გათვალისწინებული მატერიალური, ფინანსური და ინტელექტუალური რესურსების რაციონალურ ხარჯვას.
- ექიმთა საქმიანობის ხარისხის და პასუხისმგებლობის განსაზღვრას.
- ექიმთა პროფესიული რისკებისგან დაცვას.

10. აუდიტის კრიტერიუმები

სტრუქტურის აუდიტი

1. შესაბამისი პროფილის სამედიცინო დაწესებულებების/ლაბორატორიების /პერსონალის წილი, რომელიც აკმაყოფილებს პროტოკოლში მოთხოვნილ სტანდარტს
2. პერსონალის წილი, რომელთაც ბოლო 1 წლის განმავლობაში გავლილი აქვთ შესაბამისი ტრენინგები
3. დაწესებულებაში/ლაბორატორიაში არსებული აპარატების წილი, რომელთაც გარკვეული პერიოდულობით უტარდება შემოწმება და მომსახურება
4. პაციენტების აღრიცხვის სისტემა, რომელიც იძლევა მიმდინარე მეთვალყურეობის და მონაცემთა გრძელვადიანი და უსაფრთხო შენახვა/არქივირების საშუალებას

კლინიკური პროცესის აუდიტი

1. ძუძუს კარცინომის მქონე პაციენტების რიცხვი (აბსოლუტურ რიცხვებში), რომელთაც ჩაუტარდათ ბიომარკერული ტესტირება, საანგარიშო პერიოდის (1 წლის) განმავლობაში.
2. ძუძუს კარცინომის მქონე პაციენტების წილი, რომელთაც ჩაუტარდათ ბიომარკერული ტესტირება ძუძუს დაზიანების ბიომარკერული პროფილის გამოსავლენად, საანგარიშო პერიოდის (1 წლის) განმავლობაში.
3. პაციენტების წილი, რომელთა შემთხვევაში კლინიკური დიაგნოზი დაემთხვა პათოლოგიურ დიაგნოზს, საანგარიშო პერიოდის (1 წლის) განმავლობაში.
4. კლინიკურ და პათოლოგიურ დიაგნოზებს შორის სხვაობის პროცენტული მაჩვენებელი, საანგარიშო პერიოდის (1 წლის) განმავლობაში.
5. ძუძუს კიბოს პაციენტების საერთო რაოდენობა და იმ პაციენტთა წილი (%), ვისთანაც პათოლოგიური დიაგნოსტიკა წინამდებარე პროტოკოლისა და შესაბამისი SOP-ების რეკომენდაციების დაცვით ჩატარდა, საანგარიშო პერიოდის (1 წლის) განმავლობაში.
6. წინამდებარე პროტოკოლისა და შესაბამისი SOP-ების რეკომენდაციების დაცვით დიაგნოსტირებული პაციენტების რაოდენობა და იმ პაციენტთა წილი (%), ვისთანაც მკურნალობა პათოლოგიური ანგარიშის შესაბამისად ჩატარდა, საანგარიშო პერიოდის (1 წლის) განმავლობაში.
7. დოკუმენტაციის შევსების სისრულე - არასრულად შევსებული დოკუმენტების წილი (%), საანგარიშო პერიოდის (1 წლის) განმავლობაში.
8. შემთხვევების წილი (%), სადაც პათოლოგიური დიაგნოზის დასმა გაძნელდა/ვერ მოხერხდა ტექნიკური მიზეზების/SOP-ის დარღვევის გამო, საანგარიშო პერიოდის (1 წლის) განმავლობაში.
9. შემთხვევების წილი (%), სადაც მორფოლოგიური (იმუნოჰისტოქიმიური) დიაგნოზის გადამოწმების (შიდა აუდიტი/გარე აუდიტი/პაციენტის/ექიმის მოთხოვნით სხვა ლაბორატორიაში გადამოწმება) შედეგად დიაგნოზების თანხვედრა არ მოხდა, საანგარიშო პერიოდში (1 წლის) განმავლობაში.

11. პროტოკოლის გადახედვის ვადები

პროტოკოლის გადახედვა მიზანშეწონილია წყაროდ გამოყენებული რეკომენდაციების განახლების შესაბამისად.

12. პროტოკოლის დანერგვისთვის საჭირო რესურსი

დანართი N1. ადამიანური და მატერიალურ-ტექნიკური რესურსი

რესურსი	რესურსების გამოყენების მიზანი	შენიშვნა
ადამიანური რესურსი		
ექიმი (პათოლოგი)	კლინიკური შეფასება; ნიმუშის გამოკვლევის თაობაზე გადაწყვეტილების მიღება; მიმდინარე პროცესის მეთვალყურეობა	სავალდებულო
ლაბორანტი	ნიმუშების მიღება, პროცესირება, მიკროტომირება, შეღებვა, ექიმისათვის მიწოდება	სავალდებულო
რეგისტრატორი/ლაბორანტი	შემთხვევის რეგისტრაცია, აღრიცხვიანობის უზრუნველყოფა	სასურველი
მენეჯერი/ადმინისტრატორი	პროტოკოლის დანერგვის ხელშეწყობა; დანერგვაზე მეთვალყურეობა; აუდიტის ჩატარება და შედეგების ანალიზი, სტატისტიკური ინფორმაციის შეგროვება	სავალდებულო
მატერიალურ-ტექნიკური რესურსი		
რისკის შეფასების სქემა	რისკის პროფილის შეფასება	სავალდებულო
ლაბორატორია	მინიმალური მოთხოვნები დადგენილია მოქმედი კანონმდებლობის შესაბამისად. მომსახურება შესაძლებელია განხორციელდეს ადგილზე ან ხელშეკრულებით „აუთსორსზე“	სავალდებულო
სადიაგნოსტიკო აღჭურვილობა	მინიმალური მოთხოვნები დადგენილია მოქმედი კანონმდებლობის შესაბამისად	სავალდებულო
პაციენტის საგანმანათლებლო მასალები	პაციენტის ინფორმირება	სასურველი

13. რეკომენდაციები პროტოკოლის ადაპტირებისთვის ადგილობრივ დონეზე

პროტოკოლის პრაქტიკაში ადაპტაციისთვის მნიშვნელოვანია შემდეგი ღონისძიებების განხორციელება:

- პროტოკოლის გაცნობა შესაბამისი სერვისების მიმწოდებელ სამედიცინო დაწესებულებებში/ლაბორატორიებში
- ბეჭდური ვარიანტის განთავსება შესაბამისი სერვისების მიმწოდებელ სამედიცინო დაწესებულებებში/ლაბორატორიებში.
- პროტოკოლის ელექტრონული ვერსიის განთავსება საქართველოს ოკუპირებული ტერიტორიებიდან დევნილთა, შრომის, ჯანმრთელობისა და სოციალური დაცვის სამინისტროს ვებ-გვერდზე (www.moh.gov.ge).

- პროტოკოლის საფუძველზე უწყვეტი სამედიცინო განათლების პროგრამის შემუშავება და ჯანდაცვის პერსონალისთვის ტრენინგების ორგანიზება.

14. პროტოკოლის ავტორები

დოკუმენტი შემუშავებულია და დამტკიცებულია პროექტის "City Cancer Challenge" (C/Can თბილისი)-ის ფარგლებში.

ავტორთა ჯგუფი:

1. არმაზ მარიამიძე - შპს - პათოლოგიის კვლევითი ცენტრი, პათოლოგანატომი;
2. დავით მაკარიძე - შპს - პათოლოგიის კვლევითი ცენტრი, პათოლოგანატომი;
3. გიორგი ბურკაძე - სსოპ - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, პათოლოგანატომი, საქართველოს პათოლოგთა და ციტოლოგთა ასოციაციის პრეზიდენტი;
4. ქეთევან კანკავა - მეგალაბი, პათოლოგანატომი;
5. ილია ნადარეიშვილი - შპს - დავით ტვილდიანის სამედიცინო უნივერსიტეტის კვლევითი განყოფილების ხელმძღვანელი;
6. მაია მჭედლიშვილი - შპს - კლინიკური ონკოლოგიის ინსტიტუტი, პათოლოგანატომი;
7. ლალი წივწივაძე - ააიპ - საქართველოს კლინიკური და ექსპერიმენტული მედიცინის სამეცნიერო კვლევითი ცენტრი, შპს - თოდუას კლინიკა, პათოლოგანატომი;
8. გიორგი დიდავა -შპს - ავერსის კლინიკა, პათოლოგანატომი;
9. მაია სარიშვილი - შპს - მედულა - ქიმიოთერაპიის და იმუნოთერაპიის კლინიკა, პათოლოგანატომი;
10. Kenneth Landgraf - ამერიკის კლინიკური პათოლოგიის საზოგადოება;
11. Dan Milner - ამერიკის კლინიკური პათოლოგიის საზოგადოება.

რეცენზენტები:

1. რიმა ბერიაშვილი - სსიპ - თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, პათოლოგანატომი;
2. ლიანა გოგიაშვილი - ალ. ნათიშვილის მორფოლოგიის ინსტიტუტი, პათოლოგანატომი;
3. ზაზა ავალიანი - სს „ტუბერკულოზისა და ფლტვის დაავადებათა ეროვნული ცენტრი", პათოლოგანატომი;
4. მიხეილ ჯანგავაძე - ალ. ნათიშვილის მორფოლოგიის ინსტიტუტი, პათოლოგანატომი;
5. ნანა ძნელაძე - შპს - ავერსის კლინიკა, ლაბორატორიული სამსახურის უფროსი;
6. თეონა აზანიშვილი - შპს - მარდალეიშვილის სამედიცინო ცენტრი, პათოლოგანატომი.

15. გამოყენებული ლიტერატურა:

1. Allison KH, Hammond MEH, Dowsett M, et al. Estrogen and progesterone receptor testing in breast cancer: ASCO/CAP guideline update. *Arch Pathol Lab Med* doi: 10.5858/arpa.2019-0904-SA.

2. Allred DC. Problems and solutions in the evaluation of hormone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol.* 2008;26(15):2433-2435.

3. Arber DA. Effect of prolonged formalin fixation on the immunohistochemical reactivity of breast markers. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2002;10(2):183-186.

4. Arber JM, Arber DA, Jenkins KA, Battifora H. Effect of decalcification and fixation in paraffin-section immunohistochemistry. *Appl Immunohistochem.* 1996; 4:241-248.

5. Arslan C, Sari E, Aksoy S, Altundag K. Variation in hormone receptor and HER-2 status between primary and metastatic breast cancer: review of the literature. *Expert Opin Ther Targets*. 2011;15(1):21-30.

6. Brown RS, Edwards J, Bartlett JW, Jones C, Dogan A. Routine acid decalcification of bone marrow samples can preserve DNA for FISH and CGH studies in metastatic prostate cancer. *J Histochem Cytochem.* 2002;50(1):113-115.

7. Collins LC, Botero ML, Schnitt SJ. Bimodal frequency distribution of estrogen receptor immunohistochemical staining results in breast cancer: an analysis of 825 cases. *Am J Clin Pathol.* 2005:123(1):16-20.

8. Dowsett M, Nielsen TO, A'Hern R, et al. Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the International Ki67 in breast cancer working ჯგუფი. *J Natl Cancer Inst.* 2011;103(22):1656-1664.

9. Ellis IO, Elston CW. Histologic grade. In: O'Malley FP, Pinder SE, eds. Breast Pathology. Philadelphia, PA: Elsevier; 2006:225-233.

10. Fitzgibbons PL, Murphy DA, Hammond EH, Allred DC, Valenstein PN. Recommendations for validating estrogen and progesterone receptor Immunohistochemistry assays. *Arch Pathol Lab Med.* 2010;134(6):930-935.

11. Goldstein NS, Ferkowicz M, Odish E, Mani A, Hastah F. Minimum formalin fixation time for consistent estrogen receptor immunohistochemical staining of invasive breast carcinoma. Am J Clin Pathol. 2003 Jul;120(1):86-92. PubMed PMID: 12866377.

12. Gunn S, Yeh IT, Lytvak I, et al. Clinical array-based karyotyping of breast cancer with equivocal HER2 status resolves gene copy number and reveals chromosome 17 complexity. *BMC Cancer.* 2010; 10:396.

13. Harris L, Fritsche H, Mennel R, et al. American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer. *J Clin Oncol.* 2007;25(33):1-26.

14. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK, et al. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *J Clin Oncol.* 1999;17(5):1474-1481.

15. Ibarra JA, Rogers LW, Fixation time does not affect expression of HER2/neu: a pilot study. Am J Clin Pathol. 2010 Oct;134(4):594-6.

16. Khoury T, Sait S, Hwang H, Chandrasekhar R, Wilding G, Tan D, Kulkarni S Delay to formalin fixation effect on breast biomarkers. Mod Pathol. 2009 Nov;22(11):1457-67. Epub 2009 Sep 4. PubMed PMID: 19734848.

17. McCarty KS Jr, Miller LS, Cox EB, et al. Estrogen receptor analyses: correlation of biochemical and immunohistochemical methods using monoclonal antireceptor antibodies. *Arch Pathol Lab Med.* 1985;109(8):716-721.

18. Nadji M, Gomez-Fernandez C, Ganjei-Azar P, Morales AR. Immunohistochemistry of estrogen and progesterone receptors reconsidered: experience with 5,993 breast cancers. *Am J Clin Pathol.* 2005:123(1);21-27.

19. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Clinical Practice Guideline in Oncology, Version 3.2017. www.nccn.org/professionals/physician_gls/PDF/breast.pdf. Accessed December 18, 2017.

20. Neumeister VM, Anagnostou V, Siddiqui S, et al. Quantitative assessment of effect of preanalytic cold ischemic time on protein expression in breast cancer tissues. *J Natl Cancer Inst.* 2012;104(23)1815-1824.

21. Pathology Reporting of Breast Disease. A Joint Document Incorporating the Third Edition of the NHS Breast Screening Programme's Guidelines for Pathology Reporting in Breast Cancer Screening and the Second Edition of The Royal College of Pathologists' Minimum Dataset for Breast Cancer Histopathology Published by the NHS Cancer Screening Programmes jointly with The Royal College of Pathologists. NHSBSP Publication No 58. January 2005. http://www.cancerscreening.nhs.uk/ breastscreen/publications/nhsbsp58.html. Accessed April 8, 2009

22. Pusztai L, Viale G, Kelly CM, Hudis CA. Estrogen and HER-2 receptor discordance between primary breast cancer and metastasis. *Oncologist.* 2010;15(11):1164-1168.

23. Schwartz GF, Lagios MD, Carter D, et al. Consensus conference on the classification of ductal carcinoma in situ. Cancer. 1997; 80:1798-1802.

24. Selvarajan S, Bay B-H, Choo A, et al. Effect of fixation period on HER2/neu gene amplification detected by fluorescence in situ hybridization in invasive breast carcinoma. *J Histochem Cytochem.* 2002;50(12):1693-1696.

25. Shousha S. Oestrogen receptor status of breast carcinoma: Allred/H score conversion table. *Histopathology.* 2008;53(3):346-347.

26. Turbin DA, Leung S, Cheang MC, et al. Automated quantitative analysis of estrogen receptor expression in breast carcinoma does not differ from expert pathologist scoring: a tissue microarray study of 3,484 cases. *Breast Cancer Res Treat.* 2008;110(3):417-426.

27. Viale G, Regan MM, Maiorano E, et al. Prognostic and predictive value of centrally reviewed expression of estrogen and progesterone receptors in a randomized trial comparing letrozole and tamoxifen adjuvant therapy for postmenopausal early breast cancer: BIG 1-98. *J Clin Oncol.* 2007:25(25):3846-3852.

28. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Breast tumours. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2019. (WHO classification of tumours series, 5th ed.; vol. 2).

29. Willmore-Payne C, Metzger K, Layfield LJ. Effects of fixative and fixation protocols on assessment of Her-2/neu oncogene amplification status by fluorescence in situ hybridization. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2007;15(1):84-87.

30. Wolff AC, Hammond MEH, Allison KH, et al. HER2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline focused update. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(11):1364-1382.

31. Yaziji H, Taylor CR, Goldstein NS, Dabbs DJ, Hammond EH, Hewlett B, Floyd AD, Barry TS, Martin AW, Badve S, Baehner F, Cartun RW, Eisen RN, Swanson PE, Hewitt SM, Vyberg M, Hicks DG; Members of the Standardization Ad-Hoc ConsensusCommittee. Consensus recommendations on estrogen receptor testing in breastcancer by immunohistochemistry. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2008Dec;16(6):513-20. PubMed PMID: 18931614.

32. Yildiz-Aktas IZ, Dabbs DJ, Bhargava R. The effect of cold ischemic time on the immunohistochemical evaluation of estrogen receptor, progesterone receptor, and HER2 expression in invasive breast carcinoma. *Mod Pathol*. 2012;25(8):1098-1105.