

ЛЕКЦ, ТОЙМ, ЗӨВЛӨГӨӨ

Ходоодны хорт хавдрын үеийн иммуногистохимийн оношилгооны асуудалд

Х. Гэрэлээ¹, Д. Авирмэд², М. Туул³, Ц. Батболд¹

¹Эмгэг Судлалын Үндэсний Төв, ²Хавдар Судлалын Үндэсний Төв, ³Анагаах Ухааны Хүрээлэн

Abstract**Immunohistochemical diagnostics in stomach cancer**

Gerelee.Kh¹, Avirmed.D², Tuul.M³, Batbold.Ts¹

¹National pathology center, ²National cancer center, ³Medical research institute

Although stomach cancer immunohistochemistry is similar to the immunohistochemistry of other organ, it has great impact on diagnosis and treatment, such as its ability to reveal whether the cancer is primary or metastatic and which treatment model would be more effective in individual case.

Lately, CK7, CK20 and CDX-2 immunohistochemical markers are commonly used in stomach cancers. Stomach cancer prognosis is different in each patient, depending on several factors, patients' health status, cancer cell differentiation, and cancer cell growth. To evaluate these factors, immunohistochemical analysis is more effective and for this purpose they use Ki-67, CD 34, BCL-2, p53, Cyclin D1, and Her-2 markers. The evaluation of HER-2 expression should be carefully carried out, as following:

1. HER-2 expression should be evaluated on minimum 5 positive stained cells. The evaluation criteria are microscopic magnification and cytoplasmic membrane-stained pattern.
2. Other than the membrane-stained pattern must be excluded. HER2 gene evaluation (FISH) can confirm the HER2 IHC expression.
3. Usage of FDA approved antibody (4B5) has the advantage of increased sensitivity.
4. The algorithm for the evaluation of HER-2 expression used for breast cancer has 50% possibility of false negativity if it is used for stomach cancer. Therefore, it is needed to be evaluated with another specific algorithm. Because HER-2 2+ and 3+ cases can improve outcome with using Trastuzumab treatment.

Key words: Immunohistochemical analysis, Stomach cancer, K7, CK20, Bcl 2, HER2, CDX-2, p53, Cyclin D1.

Pp.73-80, References 52

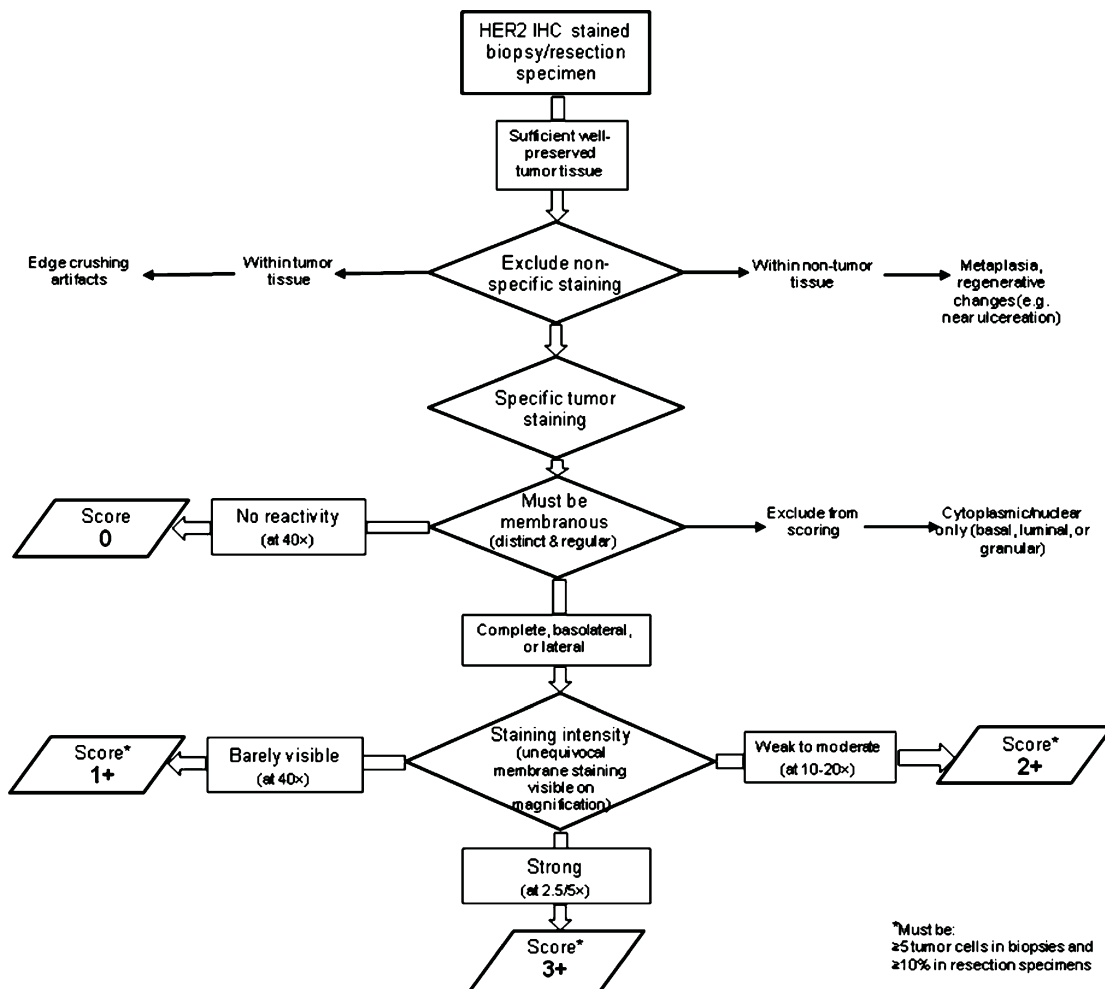


Fig. 2 Stepwise approach to IHC scoring in gastric cancer: tissue and quality issues (mod. acc. to [31])

Дархан гистохимийн нь орчин үед аливаа өвчин эмгэгийг ялган оношлож, эмчилгээний зөв тактик боловсруулахад зайлшгүй ашиглах чухал шинжилгээний нэг болоод байна. Учир нь эдийн шинжилгээний тавиур шилэн дээр бэхжсэн эдийн гадаргуу дээр илрэх даавар рецепторууд, ферментүүд иммуноглобулинуудыг амьдэд эрхаржбайгаашигажиглах боломж эмчид олгодог.

Анх 1975 онд G.Kohler, C.Milstein нар дархлаажуулсан амьтнаас дэлүүний эсийг миеломийн эстэй нийлүүлэн эрлийзжүүлэн моноклональ эсрэг биеийг гаргаж авснаар дархан гистохимийн үндсийг тавьсан байна. 1984 онд эдгээр бүтээл нь нобелийн шагнал хүртсэн байна.

Дархан гистохимийн шинжилгээний аргаар хавдрын эдийн гарвалыг тодорхойлох, ялган оношлох, ердийн үед тодорхойлогдоогүй эд доторхи үсэрхийллийг оношлох, үсэрхийллийн анхдагч голомтыг илрүүлэх, хавдрын дааврын

идэвхжил, хавдрын биологийн шинж чанрыг үнэлэн өсөлтийн идэвхжлийг тодорхойлж, тавиланг тогтоож байна [49, 50, 51].

Иммуногистохимийн үр дүнгийн үнэлгээ

1985 онд Mc. Carthy болох бусад Histo Score (H. S) ийм аргыг анх хэрэглэж байсан. Анх эстроген ба прогестрон рецепторын ялгаралтын үр дүнг тооцоход хэрэглэгдэж байжээ. Үүнд: Будалтын гүнээс шалтгаалан 4 зэрэгт хувааж үздэг.

Будалтын гүнийг 0 тэг гэвэл будалт өгөөгүй.

1 нэг гэвэл маш бага будагдсан.

2 хоёр дунд зэрэг будагдсан

3 гурав хүчтэй будагдсан

4 дөрөв хэт хүчтэй будагдсан

Зарим судлаачид 3 баллын системийг хэрэглэдэг. Энэ нь жишээ нь: 20% нь будагдаагүй эсүүд, 10% бага будагдсан, 30% дунд зэрэг будагдсан, 40% хэт будагдсан гэж үзвэл, энэ нь эсийн будагдалтын

гүнд үржүүлснээр HistologyScore-ийг олж болно.
Томьёо: $20*0+10*1+30*2+40*3=190$

Судлаачид ихэвчлэн чанарын үнэлгээ өгдөг бөгөөд тэр нь сөрөг (-) бага зэрэг эерэг (+), дунд зэрэг эерэг (++) , хүчтэйээрэг (+++) гэж тооцно [25,26].

Ходоодны хорт хавдрын иммуногистохимийн оношилгоо нь бусад эрхтэн тогтолцооны иммуногистохимийн аргуудтай адил боловч, ходоодны хорт хавдрын оношилгоонд чухал ая холбогдолтой ходоодны анхдагч хавдар мөн эсэх, эсвэл өөр эрхтэн тогтолцооноос үсэрхийлсэн эсэх, онош тодорсон тохиодолд эмчилгээний хувьд ямар эмчилгээ илүү үр дүнтэй зэрэг өөрчлөлтүүд зэрэгт хариу өгдгөөрөө ач холбогдол бүхий шинжилгээний арга юм [1-5].

Сүүлийн үед ходоодны анхдагч хорт хавдарыг илрүүлэхэд илүүтэй их хэрэглэж байгаа СК 7, СК 20, CDX-2 иммуногистохимийн маркерууд ордог байна[13-18].

СК7 завсрын филаментын уураг, молекул жин нь 54 кДа, бүх төрлийн булчирхайлаг эсүүдээс ялгарна, гол төлөв эсийн сийвэнгийн будагдалт өгнө, хэвийн болон хавдрын булчирхайлаг эсийг болон цоргоны эсийн будагдалт өгнө. Зарим ховор тохиодолд судасны дотровч эсүүдийн будагдалт өгнө. СК 7 нь элэгний эс, бөөрний сувганцрын эсүүд, арьс, хэл, улаан хоолой, умайн хүзүүний олон давхрага хучуур эсүүдэд огт илэрдэггүй байна [6-12].

СК 20 – кератин 1-р төрөлд багтана, гол төлөв ходоодны ба нарийн гэдэс, арьсны Меркелийн эсээс ялгарна. Молекул жин нь 46 кДа. СК 20 нарийн гэдэсний бие гүйцсэн эс, хундаган эсүүдэд байдаг үндсэн уураг юм. Зөвхөн ходоод ба нарийн гэдэсний салстын эсүүдээс ялгардаг. Мөн СК 20 нь бүдүүн гэдэсний, ходоодны, нойр булчирхайн, цөсний замын, өндгөвчний булчирхайлаг хорт хавдруудад эерэг илрэх ба шилжүүр хучуур эдийн гаралтай давсагны хавдар, Меркель эсийн хавдруудад эерэг байна. Харин хавтгай хучуур эдийн хавдар, хөхний, уушигны, умайн салстын булчирхайлаг хавдар, уушигны жижиг эст хавдар зэрэгт СК 20 илэрдэггүй [27-30].

CDX2 - рекомбинант уураг, нарийн гэдэсний өвөрмөц транскрипцийн хүчин зүйл, ген CDX2 энэ уураг нь гол төлөв нарийн гэдэсний хөгжлийн эрт үед илрэх ба нарийн гэдэсний салстын ялгарал, үржлийн үйл явцыг хянадаг, 13g 12-13 дээр байрладаг уураг юм. Нарийн гэдэсний салстын бие гүйцсэн эсүүдийн ялгаран хөгжлийг дэмждэг. CDX2 уураг бүдүүн гэдэсний анхдагч

мөн үсэрхийлсэн хавдрын үед, ходоодны салстын гэдэсжих хувирал, гэдэсний хэлбэрийн ходоодны хавдрын үед илрэнэ. Угуураг зөвхөн бортгон эсүүд болон бүдүүн гэдэсний булчирхайлаг хавдрын үед эерэг байх ба түүний тусламжтайгаар бүдүүн гэдэсний хорт хавдрын үсэрхийллийг танихад онцгой ач холбогдолтой. CDX2 уургийг хавдрыг дарангуйлагч уураг гэж үздэг. Мөн уг уураг нь ходоодны хорт хавдрын үед гэдэсжих үйл явцтай нягт холбоотой гэж үзэж байна. CDX2 –ын ялгарал нь ходоодны хорт хавдрын үед өвчний явц болон тавилантай шууд хамааралтай гэж тодорхойлсон байна [31-35].

Ходоодны хорт хавдрын үед өвчний тавилан хувь хүний биеийн байдал, эсийн ургалт, хавдрын эсийн ялгарал, шинж чанар зэрэг олон хүчин зүйлүүдээс хамаарч хүн болгонд адил төстэй байдаггүй. Эдгээр хүчин зүйлүүдийг тодруулахад иммуногистохимийн шинжилгээний арга илүү ач холбогдолтойба дээрх үзүүлэлтүүдийг тогтооход дараах маркеруудыг тодорхойлдог. Үүнд: Ki 67, CD 34, BCL-2, p53, Cyclin D1, Her-2 [19-25].

- Ki 67 – бөөмийн уураг, 2 төрлийн изоформтой 345 ба 395 Кда, эс хуваагдлын бүх үе шатандилрэх ба эсрэг бие нь зөвхөн бөөмийн хүрээнд илрэнэ. ДНХ репараци дахь үед илрэхгүй байж болно. Ki 67 –ын илрэл нь ходоодны хорт хавдрын үе шат, ялгарал зэрэгтэй эн тэнцүү бие даасан тавилан тодорхойлогч хүчин зүйл юм [36-41].
- BCL2 (124; ВХСL-2-100) энэ апоптозыг дарангуйлагч уураг юм. Хромсомын t (14; 18) (q32; q21) транслокацад оролцдог генийн тусламжтайгаар ялгарна. Энэ нь гол төлөв фолликулт лимфомын үед илэрнэ. Генийн транслокацийн үр дүнд BCL2 уургийн хэт ялгаралт болдог байна. Гэхдээ t(14; 18) генийн транслокаци нь BCL2 уургийн хэт ялгаралтын гол нөхцөл нь биш юм. Хэвийн үед BCL2 жижиг лимфоцит, Т эс, зарим нэг үржлийн төвд байна. Дэлүүний тархилаг давхарга сайн будагддаг, холтослог давхарга будагддаггүй. BCL2 уургийн эсрэгбие нь фолликулт лимфом, лимфобласт лимфом, том эст анапластик лимфом, Т, В эст лимфом, үст эст хэлбэрийн лейкозын үед эерэг байна. Парафин зүслэгт BCL2 уураг тэр болгон хадгалагддаггүй тул ИГХ-ийн урвал явуулахдаа дулааны дамжлагын өндөр хэмжээст рН буферт явуулах нь үр дүнтэй. Сийвэнгийн будагдалттай. Фолликулт лимфомыг үзэж байгаа тохиолдолд дотоод эерэг хяналт нь захын байрлалтай лимфоцит

- эс юм. Ходоодны хорт хавдрын үед гол төлөв тунгалгийн эсээс гаралтай хавдрын үед будагддаг [49-51].
- CD 34 - трансмембраны уураг, 116 Кда жинтэй, боловсроогүй цусны эс, хялгасан судасны дотровч эс, үр хөврөлийн фибробласт, ховор тохиодолд мэдрэлийн глии эсүүд будагддаг байна. Энэ эсрэг бие нь судасны үүсэлтийн эрт үед илрэх ба өвөрмөц цагаан эсийн ялгарлын үед болон цусны бүх эсүүдийн ялгарлын эрт үед тус тус илэрнэ. CD 34 архаг лимфоид лейкеми, лимфома, олон голомтот миелома үед сөрөг байна. CD34 (Q Bend 10; Му 10) зөөлөн эдийн гаралтай хавдрын гистогенетик судалгаанд ашигладаг. Будагдалт нь мембраны будагдалтаар илэрнэ. Дотоод эерэг хяналт судасны эндотели эс юм [50].
 - P 53 - хавдрын дарангуйлагч, транскриптор хүчин зүйл, 17 –р хромосом дээр байрлана, олонхи хавдрын үед ялангуяа хөхний хорт хавдар, уушигны хорт хавдар, бүдүүн гэдэсний хорт хавдар зэрэгт чөлөөт аллелийг алддаг. P 53 хоёр янз байдаг бөгөөд нэг нь зэрлэг хэлбэр /wild type/, нөгөө нь мутант хэлбэр /mutant type/ [41, 42].
 - Cyclin D–эсийн циклийг зохицуулагч уураг, кодлогдоогүй уургийн геномыг зохицуулна, кодлогдсон геномоос 2 төрлөөр ялгаатай байна. Cyclin D нь Dicerуургийг идэвхжүүлнэ, энэ уураг идэвхгүй микро-RNH–ийн урьдал, өсгийт хэлбэрийг нэг утаслаг идэвхтэй хэлбэрт шилжүүлдэг. Тийм учраас олон хавдрын үед эдгээр микро –RNH–ийн хэмжээ буурч тавилангийн хувьд муу нөлөөтэй байдаг нь олон судалгаагаар тогтоогдсон байна. Cyclin D1(SP4; DCS-6; 5 D4; HD64) Эсийн циклийн S фазын явалтыг хариуцдаг уураг юм. Cyclin D1 уургийн өөр нэг нэр нь PRAD1; BCL1 энэ нь 11-р хромосомд байрладаг. Хүний маш олон тооны хорт хавдрын үед илэрнэ. Cyclin D1 уургийн хэт их ялгаралт хавдрын эсийн бөөмд илрэх ба ихэвчлэн захын эсээс гаралтай лимфомын үед илэрдэг нь оношлогооны ач холбогдолтой. Эерэг ИГХ-ийн үр дүнг тооцоходоо зөвхөн бөөмийн гүн будалтыг тооцно. Харин сул будагдалтыг үст эсийн лейкоз плазмоцитомын үед өгнө. Cyclin D1-ийн илрүүлэлтийг эддэх зүслэгт сайжруулахын тулд илрүүлэлтийн систем нь сайн байх ёстой. Туулайны моноклонт эсрэгбиеийг хэрэглэсэн үед хамгийн сайн үр дүн гардаг. Бөөмийн ба сийвэнгийн будагдалтаар илэрнэ. Дотоод эерэг хяналт цусны судасны эндотелийн эсийн бөөмийн будагдалт [43-48].
 - HER2 - боловсорсон уураг, 1233 хүчлээс тогтоно, молекул жин нь 137.9 Кда. Мөн өөртөө эсийн бус домен агуулна. Тэдгээр нь 7 хэсгээс N-гликозжих хэсэг, трансмембраны хэсэг, цитозолийн домен зэргээс бүрдэнэ. Энэ эсрэг бие хөхний хорт хавдарын 30%-д ялгарна, энэ уураг их хэмжээгээр ялгарах нь тухайн хорт хавдрын явц тавиланг муутайг тодорхойлно. HER2 гол төлөв өндгөвчний, ходоодны, умайн хорт хавдрын үед тодорхойлогдоно. Судлаачид сүүлийн үед HER2-ийн илрэлээс хамаарч цаашдын эмчилгээний тактикийг сонгоход ашигласан байна. HER2 иммуногистохимийн үр дүнг үнэлэх болон үнэлгээний дараа эмчилгээний ямар тактик хэрэглэх заавар болосруулсан схемийг доор зургаар үзүүлэв [1-10].
- HER2 иммуногистохимийн үр дүнг үнэлэх аргачлал: Алгоритм 1 хэрэглэх зарчим
1. Хуурамч Эерэг будагдах магадлалтай тохиолдол
 - Ходоодны салстын шархны суурин дээр үүссэн метаплазия
 - Шархны ирмэгийн урвалжит өөрчлөлтөд орсон хучуурын эс
 - Бөөмийн будагдалтгүй, сийвэнгийн будагдалт
 2. Хуурамч сөрөг будагдах магадлалтай тохиолдолбуй үнэлгээнээс хасах тохиолдол
 - Эдийн цуглуулга (tissue array) хэрэглэсэн тохиолдолд цөөн эсэд анализ хийгддэг
 - Ганц нэг цагираг хэлбэрээр будагдсан хавдрын эсийг үнэлгээнээс хасах
 3. Эерэг будагдалт-энд микроскопийн өсгөлт их чухал ач холбогдолтой. Хавдартай эдэд доод тал нь 5 эсэд зөвхөн мембраны будагдалт (шувууны тор хэлбэрийн зураглалтай –бүрэн будагдалт)-ыг эсвэл эс-эс хоорондын болон эс-базал мембраны заагт илэрсэн сигналыг тооцно.
- Эерэг будагдалтын үнэлгээг 3+,2+,1+ гэж тэмдэглэнэ. Үүнд:
- 3+ .-энгийн нүдээр сигнал харагдах. Бага өсгөлтөөр (X2,5/X5) мембраны будагдалт сигнал тодорхой ажиглагдахуйц

2+. - 10X өсгөлтөөр харах талбайн 10аас бага хувьд мембраны будагдалт тод ажиглагдахуйц

1+. - 40X өсгөлтөөр бүдэг будагдсан сигнал харагдаж байвал

HER 2 илрэлийг үнэлэхдээ анхаарах үзүүлэлтүүд

1. HER2 -ын илрэлийн үнэлгээг доод тал нь эерэг будагдсан 5 эс дээр хийнэ. Үнэлгээний гол шалгуур нь микроскопийн өсгөлт болон мембраны будагдалтын байдал болно.
2. Мембраны бус будагдалтыг үнэлгээнээс хасна. HER2 гений олшролыг илрүүлэх(FISH) нь HER2 ийн илрэлийг давхар батлах ач холбогдолтой.
3. FDA зөвшөөрөгдсөн эсрэг биеийг (4B5) оношлогоонд хэрэглэх нь мэдрэг чанарыг нэмэгдүүлэх ач холбогдолтой.
4. Хөхний хавдрын үед хэрэглэгддэг HER2-ын илрэлийг үнэлэх алгоритмыг ходоодны хавдрын үнэлгээнд хэрэглэхэд хуурамч сөрөг байх магадлал 50% байна. Иймд зайлшгүй тусгай аргачлалаар үнэлэх шаардлагатай. HER2-ын илрэлийн үнэлгээгээр 2+,3+ гарсан тохиолдолд Trastuzumab эмчилгээг хавсран хийснээр эмчилгээний үр дүнг нэмэгдүүлэх ач холбогдолтой [10-12].

Ашигласан хэвлэл:

1. Simon R, Nocito A, Hubscher T, Bucher C, Torhorst J, Schraml P, Bubendorf L, Mihatsch MM, Moch H, Wilber K, Schützau A, Kononen J, Sauter G (2001) Patterns of her-2/neu amplification and overexpression in primary and metastatic breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 93:1141–1146
2. Vincent-Salomon A, Pierga JY, Couturier J, d'Enghien CD, Nos C, Sigal-Zafrani B, Lae M, Fritneaux P, Dieras V, Thierry JP, Sastre-Garau X (2007) HER2 status of bone marrow micrometastasis and their corresponding primary tumours in a pilot study of 27 cases: a possible tool for anti-HER2 therapy management? *Br J Cancer* 96:654–659
3. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL (1987) Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 235:177–182
4. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DE, Levin WJ, Stuart SG, Udove J, Ullrich A et al (1989) Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* 244:707–712
5. Ross JS, Fletcher JA (1998) The HER-2/neu oncogene in breast cancer: prognostic factor, predictive factor, and target for therapy. *Oncologist* 3:237–252
6. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, Fleming T, Eiermann W, Wolter J, Pegram M, Baselga J, Norton L (2001) Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med* 344:783–792
7. Marty M, Cognetti F, Maraninchi D, Snyder R, Mauriac L, Tubiana-Hulin M, Chan S, Grimes D, Antyn A, Lluch A, Kennedy J, O'Byrne K, Conte P, Green M, Ward C, Mayne K, Extra JM (2005) Randomized phase II trial of the efficacy and safety of trastuzumab combined with docetaxel in patients with human epidermal growth factor receptor 2 positive metastatic breast cancer administered as first-line treatment: The M77001 study group. *J Clin Oncol* 23:4265–4274
8. Romond EH, Perez EA, Bryant J, Suman VJ, Geyer CE Jr, Davidson NE, Tan-Chiu E, Martino S, Paik S, Kaufman PA, Swain SM, Pisansky TM, Fehrenbacher L, Kutteh LA, Vogel VG, Visscher DW, Yothers G, Jenkins RB, Brown AM, Dakhil SR, Mamounas EP, Lingle WL, Klein PM, Ingle JN, Wolmark N (2005) Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 353:1673–1684
9. Smith I, Procter M, Gelber RD, Guillaume S, Feyereislova A, Dowsett M, Goldhirsch A, Untch M, Mariani G, Baselga J, Kaufmann M, Cameron D, Bell R, Bergh J, Coleman R, Wardley A, Harbeck N, Lopez RI, Mallmann P, Gelmon K, Wilcken N, Wist E, Sánchez Rovira P, Piccart-Gebhart MJ; HERA study team (2007) 2-year follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer: a randomised controlled trial. *Lancet* 369:29–36
10. Matsui Y, Inomata M, Tojigamori M, Sonoda K, Shiraishi N, Kitano S (2005) Suppression of tumor growth in human gastric cancer with HER2 overexpression by an anti-HER2 antibody in a murine model. *Int J Oncol* 27:681–685
11. Fujimoto-Ouchi K, Sekiguchi F, Yasuno H, Moriya Y, Mori K, Tanaka Y (2007) Antitumor activity of trastuzumab in combination with chemotherapy in human gastric cancer xenograft models. *Cancer Chemother Pharmacol* 59:795–805

12. Van Cutsem E, Kang Y, Chung H, Sawaki A, Lordick F, Hill J, Lehle M, Feyereislova A, Bang Y (2009) Efficacy results from the ToGA trial: A phase III study of trastuzumab added to standard chemotherapy (CT) in first-line human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-positive advanced gastric cancer (GC). *J Clin Oncol* 27:18 s (suppl; abstr LBA4509)
13. Fan Lin, Jeffrey Prichard (2011) *Handbook of Practical immunohistochemistry*. P.409-423.
14. Park SY, Kim BH, Kim JH, Lee S, Kang GH. Panels of immunohistochemical markers help determine primary sites of metastatic adenocarcinoma. *Arch Pathol Lab Med*. 2007;131(10):1561-7.
15. O'Connell FP, Wang HH, Odze RD. Utility of immunohistochemistry in distinguishing primary adenocarcinomas from metastatic breast carcinomas in the gastrointestinal tract. *Arch Pathol Lab Med*. 2005;129(3):338-47.
16. van Velthuysen ML, Taal BG, van der Hoeven JJ, Peterse JL. Expression of oestrogen receptor and loss of E-cadherin are diagnostic for gastric metastasis of breast carcinoma. *Histopathology*. 2005;46(2):153-7.
17. Park DI, Yun JW, Park JH, et al. HER-2/neu amplification is an independent prognostic factor in gastric cancer. *Dig Dis Sci*. 2006;51(8):1371-9.
18. Matsubara J, Yamada Y, Hirashima Y, et al. Impact of insulin-like growth factor type 1 receptor, epidermal growth factor receptor, and HER2 expressions on outcomes of patients with gastric cancer. *Clin Cancer Res*. 2008;14(10):3022-9.
19. Kim JH, Kim MA, Lee HS, Kim WH. Comparative analysis of protein expressions in primary and metastatic gastric carcinomas. *Hum Pathol*. 2009;40(3):314-22.
20. Chen L, Li X, Wang GL, Wang Y, Zhu YY, Zhu J. Clinicopathological significance of overexpression of TSPAN1, Ki67 and CD34 in gastric carcinoma. *Tumori*. 2008;94(4):531-8.
21. Feakins RM, Nickols CD, Bidd H, Walton SJ. Abnormal expression of pRb, p16, and cyclin D1 in gastric adenocarcinoma and its lymph node metastases: relationship with pathological features and survival. *Hum Pathol*. 2003;34(12):1276-82.
22. Kopp R, Diebold J, Dreier I, et al. Prognostic relevance of p53 and bcl-2 immunoreactivity for early invasive pT1/pT2 gastric carcinomas: indicators for limited gastric resections? *Surg Endosc*. 2005;19(11):1507-12.
23. Chen HC, Chu RY, Hsu PN, et al. Loss of E-cadherin expression correlates with poor differentiation and invasion into adjacent organs in gastric adenocarcinomas. *Cancer Lett*. 2003;201(1):97-106.
24. Mizoshita T, Tsukamoto T, Nakanishi H, et al. Expression of Cdx2 and the phenotype of advanced gastric cancers: relationship with prognosis. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2003;129(12):727-34.
25. Lee HS, Lee HK, Kim HS, Yang HK, Kim YI, Kim WH. MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6 expressions in gastric carcinomas: their roles as prognostic indicators. *Cancer*. 2001;92(6):1427-34.
26. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL (1987) Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 235:177-182
27. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DE, Levin WJ, Stuart SG, Udove J, Ullrich A et al (1989) Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* 244:707-712
28. Ross JS, Fletcher JA (1998) The HER-2/neu oncogene in breast cancer: prognostic factor, predictive factor, and target for therapy. *Oncologist* 3:237-252
29. Arnould L, Arveux P, Couturier J, Gelly-Marty M, Loustalot C, Ettore F, Sagan C, Antoine M, Penault-Llorca F, Vasseur B, Fumoleau P, Coudert BP (2007) Pathological complete response to trastuzumab-based neoadjuvant therapy is related to the level of HER-2 amplification. *Clin Cancer Res* 13:6404-6409
30. Hofmann M, Stoss O, Shi D, Böttner R, van de Vijver M, Kim W, Ochiai A, Ryschoff J, Henkel T (2008) Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. *Histopathology* 52:797-805
31. Yano T, Doi T, Ohtsu A, Boku N, Hashizume K, Nakanishi M, Ochiai A (2006) Comparison of HER2 gene amplification assessed by fluorescence in situ hybridization and HER2 protein expression assessed by immunohistochemistry in gastric cancer. *Oncol Rep* 15:65-71

32. Zhang XL, Yang YS, Xu DP, Qu JH, Guo MZ, Gong Y, Huang J (2009) Comparative study on overexpression of her2/neu and her3 in gastric cancer. *World J Surg* 33:2112–2118
33. Uchino S, Tsuda H, Maruyama K, Kinoshita T, Sasako M, Saito T, Kobayashi M, Hirohashi S (1993) Overexpression of c-erbB-2 protein in gastric cancer. Its correlation with long-term survival of patients. *Cancer* 72:3179–3184
34. Nakajima M, Sawada H, Yamada Y, Watanabe A, Tatsumi M, Yamashita J, Matsuda M, Sakaguchi T, Hirao T, Nakano H (1999) The prognostic significance of amplification and overexpression of c-met and c-erb B-2 in human gastric carcinomas. *Cancer* 85:1894–1902
35. Allgayer H, Babic R, Gruetzner KU, Tarabichi A, Schildberg FW, Heiss MM (2000) c-erbB-2 is of independent prognostic relevance in gastric cancer and is associated with the expression of tumor-associated protease systems. *J Clin Oncol* 18:2201–2209
36. Garcia I, Vizoso F, Martín A, Sanz L, Abdel-Lah O, Raigoso P, Garcia-Muciz JL (2003) Clinical significance of the epidermal growth factor receptor and HER2 receptor in resectable gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 10:234–241
37. Tanner M, Hollmén M, Junttila TT, Kapanen AI, Tammola S, Soini Y, Garcia-Muciz JL (2005) Amplification of HER-2 in gastric carcinoma: association with topoisomerase II α gene amplification, intestinal type, poor prognosis and sensitivity to trastuzumab. *Ann Oncol* 16:273–278
38. Bang Y, Van Cutsem C, Feyereislova A, Chung H, Shen L, Sawaki S, Lordick F, Ohtsu A, Omuro Y, Satoh T, Aprile G, Kulikov E, Hill J, Lehle M, Rueschoff J, Kang Y-K (2010) Phase III, randomised clinical trial to compare trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for the treatment of HER2-positive advanced gastric or gastroesophageal junction cancer. *Lancet*, submitted
39. EMEA, European Medicines Agency (2009): Opinion www.emea.europa.eu/pdfs/human/opinion/Herceptin_82246709en.pdf
40. Bang Y, Chung H, Xu J, Lordick F, Sawaki A, Al-Sakaff N, Lipatov O, See C, Rueschoff J, Van Cutsem E (2009) Pathological features of advanced gastric cancer (GC): relationship to human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) positivity in the global screening programme of the ToGA trial. *J Clin Oncol* 27:15s(suppl; abstr 4556)
41. Dietel M, Ellis IO, Hufler H, Kreipe H, Moch H, Dankof A, Kuble K, Kristiansen G (2007) Comparison of automated silver-enhanced in situ hybridisation (SISH) and fluorescence ISH (FISH) for the validation of HER2 gene status in breast carcinoma according to the guidelines of the American Society of Clinical Oncology and the College of American Pathologists. *Virchows Arch* 451:19–25
42. Barros-Silva JD, Leitro D, Afonso L, Vieira J, Dinis-Ribeiro M, Fragoso M, Bento MJ, Santos L, Ferreira P, Rêgo S, Brandro C, Carneiro F, Lopes C, Schmitt F, Teixeira MR (2009) Association of ERBB2 gene status with histopathological parameters and disease-specific survival in gastric carcinoma patients. *Br J Cancer* 100:487–493
44. Tapia C, Glatz K, Novotny H, Lugli A, Horcic M, Seemayer CA, Tornillo L, Terracciano L, Spichtin H, Mirlacher M, Simon R, Sauter G (2007) Close association between HER-2 amplification and overexpression in human tumors of non-breast origin. *Mod Pathol* 20:192–198
45. Marx AH, Tharun L, Muth J, Dancau AM, Simon R, Yekebas E, Kaifi JT, Mirlacher M, Brummendorf TH, Bokemeyer C, Izbicki JR, Sauter G (2009) HER-2 amplification is highly homogenous in gastric cancer. *Hum Pathol* 40:769–777
46. Dowsett M, Procter M, McCaskill-Stevens W, de Azambuja E, Dafni U, Rueschoff J, Jordan B, Dolci S, Abramovitz M, Stoss O, Viale G, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Leyland-Jones B (2009) Disease-free survival according to degree of HER2 amplification for patients treated with adjuvant chemotherapy with or without 1 year of trastuzumab: the HERA trial. *J Clin Oncol* 27:2962–2969
47. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, Dowsett M, Fitzgibbons PL, Hanna WM, Langer A, McShane LM, Paik S, Pegram MD, Perez EA, Press MF, Rhodes A, Sturgeon C, Taube SE, Tubbs R, Vance GH, van de Vijver M, Wheeler TM, Hayes DF (2007) American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol* 25:118–145

48. Reschoff J, Nagelmeier I, Baretton G, Dietel M, Hцfler H, Schildhaus HU, Bцttner R, Schlake W, Stoss O, Kreipe HH (2010) HER2 testing in gastric cancer. What is different in comparison to breast cancer? Pathologe 31:208–217 [German]
49. Conger AJ (1980) Integration and generalization of Kappa for multiple raters. Psychol Bull 88:322–328
50. И. И. Бабиченко, В. А. Ковязин. Новые методы иммуногистохимической диагностики опухолевого роста. Москва. 2008 г. Стр.60-67
51. А. И. Воробье. Атлас опухоли лимфатической системы. 2010 стр. 102-105
52. 51.Д. Самбуупүрэв, Х.Гэрэлээ, Д.Уранчимэг. Иммуногистохимийн аргаар эд будаж шинжлэх нь. УБ. 2010 он х. 3-7.