

DOI: 10.18027/2224-5057-2022-12-3s1-27-38

Цитирование: Тележникова И. М., Сетдикова Г. Р., Еремеева Е. Р., Тюрина В. М., Жукова Л. Г. Прогностическая и предиктивная значимость маркера Ki67 при раке молочной железы. Злокачественные опухоли 2022 ; #3s1 : 27–38.

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ И ПРЕДИКТИВНАЯ ЗНАЧИМОСТЬ МАРКЕРА Ki67 ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

И.М. Тележникова^{1,2}, Г.Р. Сетдикова^{1,2}, Е.Р. Еремеева², В.М. Тюрина², Л.Г. Жукова¹

¹ ГБУЗ Московский клинический научный центр имени академика А.С. Логинова ДЗМ, Москва, Россия.

² ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени академика М.Ф. Владимирского», Москва, Россия.

Для корреспонденции: i.telezhnikova@inbox.ru.

Аннотация: Статья посвящена проблеме аналитической и клинической валидности иммуногистохимического маркера пролиферации — белка Ki67 — при раке молочной железы (РМЖ). В статье проведён анализ русско- и англоязычных публикаций из баз данных PubMed, Google Scholar, ClinicalTrials.gov, eLibrary, Cyberleninka. В ней кратко рассматриваются проблемы стандартизации исследования данного маркера и факторы, способствующие разногласиям между лабораториями. Также в статье обсуждается место иммуногистохимии в современной классификации опухолей молочной железы. Кроме того, освещаются проблемы, связанные с определением оптимального пограничного значения для разграничения люминальных подтипов РМЖ. Приводятся основные результаты исследований по прогностической и предиктивной значимости Ki67 у пациентов с ER+/HER2– РМЖ, включая его значимость для определения показаний к адъювантной химиотерапии и использование динамического изменения Ki67 в качестве критерия ответа на эндокринную неоадъювантную терапию. Кратко обсуждаются иные подходы к оценке прогноза при РМЖ, в частности, современные генетические тесты и онлайн-платформы оценки риска. В статье обобщаются наиболее актуальные рекомендации по использованию Ki67 при РМЖ, включая положения Сент-Галленского консенсуса от 2021 г., обновленные клинические рекомендации Американского общества клинической онкологии (ASCO) по использованию биомаркеров при РМЖ, а также актуальные рекомендации Международной рабочей группы по интерпретации Ki67 при РМЖ (IKWG) от 2020 года. Обсуждаются современные подходы к исследованию Ki67, включая разработанную IKWG систему визуальной оценки Ki67 по методике Global и вспомогательные инструменты для автоматизированной оценки. Согласно данным литературы, на сегодняшний день Ki67 остается удобным и доступным методом для оценки прогноза при РМЖ, однако при его интерпретации необходимо учитывать ограничения методик оценки. В настоящее время сохраняется необходимость проведения дальнейших исследований для стандартизации, определения оптимального порогового уровня Ki67 и валидации автоматизированных систем его подсчета, которые потенциально могут способствовать улучшению согласованности оценки и интерпретации результатов исследования данного маркера.

Ключевые слова: рак молочной железы, молекулярные маркеры, иммуногистохимия, Ki67

ВВЕДЕНИЕ

Рак молочной железы (РМЖ) является наиболее часто выявляемым онкологическим заболеванием у женщин и занимает первое место среди онкологических заболеваний по утрате трудоспособности и смертности в данной субпопуляции [1–3]. Его важной особенностью является высокая морфологическая и молекулярная гетерогенность опухолей, которая определяет разный ответ на терапию и существенные различия в прогнозе [4, 5].

В основе современной молекулярной классификации инвазивного РМЖ лежит экспрессия опухолевыми клетками рецепторов к стероидным гормонам (эстрогеновые рецепторы (ER, estrogen receptor) и рецепторы проге-

стерона (PR, progesterone receptor)), а также рецептора человеческого эпидермального фактора роста 2 типа (human epidermal growth factor receptor type 2, HER2/ErbB-2). В соответствии с данной классификацией выделяют люминальный РМЖ с высокой экспрессией рецепторов стероидных гормонов, который, в свою очередь, делится на подтипы А и В (с низкой и высокой пролиферацией соответственно), HER2-позитивный (с высокой экспрессией HER2) и тройной негативный, или базальноподобный (с низкой экспрессией рецепторов стероидных гормонов и HER2) [6, 7]. Учитывая отличия терапевтических подходов и разный прогноз у пациентов в зависимости от молекулярного подтипа РМЖ, патоморфологическое исследование с оценкой экспрессии данных маркеров на сегодняшний

день является исключительно важным для определения тактики ведения пациентов [4, 5].

Поиск надежных и валидных маркеров пролиферативной активности опухолевых клеток является необходимым при РМЖ, поскольку опухоли с низкой и высокой пролиферативной активностью обладают разным прогнозом [5, 7]. Одним из наиболее исследованных маркеров пролиферации является антиген Ki67, который представляет собой белок, кодируемый геном *MKI67* и имеющий две изоформы весом 345 и 395 кДа [8]. Данный белок активен во все фазы клеточного цикла (G1, S, G2, M), кроме G0, и имеет короткий период полураспада длительностью 60–90 минут, что делает его удобным для оценки пролиферации и одним из ключевых маркеров [8, 9]. Корреляция уровня Ki67 и пролиферативной активности подтверждена для РМЖ, рака простаты, шейки матки, легкого, опухолей мягких тканей, нейроэндокринных опухолей и др. [10]. Однако сохраняется ряд вопросов, ограничивающих использование оценки Ki67 у пациентов при РМЖ в клинической практике, связанных как с его аналитической валидностью, так и с клинической значимостью, и более подробно обсуждаемых ниже.

АНАЛИТИЧЕСКАЯ ВАЛИДНОСТЬ МАРКЕРА Ki67 ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Использование маркера Ki67 в клинической практике ограничивается проблемами, связанными со стандартизацией определения данного показателя. Согласно рекомендациям Международной рабочей группы по интерпретации Ki67 при РМЖ (International Ki67 in Breast Cancer Working Group, IKWG), источники вариабельности при определении Ki67 могут выявляться на всех этапах: преаналитическом, аналитическом и постаналитическом (включая этап интерпретации и анализа данных) [11]. При этом к различиям на преаналитическом этапе могут приводить тип исследуемого образца ткани, особенности фиксации (используемый фиксатор, время до фиксации и время выдержки), а также способ длительного хранения образцов. Исследователи из IKWG отмечают, что Ki67 более устойчив к преаналитической вариабельности, чем другие иммуногистохимические маркеры при РМЖ [11]. С другой стороны, правильная преаналитическая подготовка образцов при оценке Ki67 является гораздо более важной, чем при окраске на ER или HER2 [12]. В частности, важными аспектами являются особенности обработки образца, ранняя фиксация в 10% растворе формалина в нейтральном буфере и точное соблюдение времени выдержки в фиксирующем растворе (избегая его уменьшения и пролонгирования) [12].

Источниками вариабельности на аналитическом этапе являются извлечение антигена и особенности окрашивания (тип используемых антител, их разведение, вариант колориметрической детекции, правильное контрастное окрашивание негативных ядер), а также особенности методики подсчета клеток [11, 13]. При этом особенно

выраженные сложности наблюдаются в связи со стандартизацией методики подсчета, включая выбор области анализа, определение позитивности, количество клеток, необходимое для подсчета. В частности, в настоящее время недостаточно данных о предпочтении определенного способа выбора области интерпретации между глобальной оценкой с расчетом среднего или оценки в «горячих» точках (hot spot) [13]. Консенсус достигнут в том, что позитивным считается любой тип окрашивания ядра (нуклеарный, перинуклеарный, нуклеоплазмальный, перихромосомный) независимо от интенсивности окрашивания [13]. Вопрос количества клеток, необходимых для подсчета, также остается открытым, однако, по результатам исследований, рекомендуется выбирать 400 клеток, поскольку большие значения могут приводить к снижению индекса за счет «разбавления» [14]. Кроме того, источником разногласий может быть субъективность интерпретации, в связи с чем разрабатываются системы для автоматизированной оценки, подробнее обсуждаемые ниже. Наконец, для стандартизации оценки Ki67 обязательным компонентом является использование как внутреннего стандарта для определенной лаборатории, так и внешний контроль. При соблюдении этих условий возможно достижение достаточной внутрилабораторной воспроизводимости Ki67, что подтверждается результатами исследований [15, 16]. С другой стороны, воспроизводимость результатов оценки между лабораториями остается достаточно низкой [17].

Учитывая отсутствие консенсуса в отношении оптимального метода оценки, сложности с выбором области оценки и недостаточное количество данных относительно оптимальных параметров преаналитической подготовки, а также определения высокой и низкой экспрессии и пороговых значений для позитивности, согласно текущим рекомендациям Колледжа Американских патологов (College of American Pathologists, CAP), оценка Ki67 при РМЖ не рекомендуется в рутинной практике и является опциональной наряду с рядом других биомаркеров [18]. По аналогичным причинам суррогатное молекулярное тестирование (тест IHC4), одним из компонентов которого является оценка экспрессии Ki67, не было включено в новую классификацию опухолей молочной железы Всемирной организации здравоохранения от 2019 г. [19, 20].

Одной из наиболее значимых проблем, ограничивающих использование Ki67, является поиск оптимального пограничного значения (cut-off). В частности, не достигнут консенсус относительно того, как разграничить низкий и высокий уровень экспрессии Ki67 и какой пороговый уровень необходимо использовать для классификации люминального РМЖ на подтипы А и В. Изначально согласно Сент-Галленскому консенсусу от 2009 г. было предложено разделить экспрессию Ki67 на три уровня с разной прогностической значимостью: низкий <15%, промежуточный 16–30% и высокий >30% [21]. Однако по мере получения результатов исследований это пороговое значение менялось: в частности, в консенсусе от 2011 г. для разграничения

двух типов РМЖ с высокой экспрессией ER (люминальный РМЖ) на молекулярные подтипы А и В предложен пороговый уровень Ki67 14% [22]. В 2013 году пороговое значение для разграничения подтипов А и В было увеличено до 20%, причем допускалось использование локальных пороговых значений, определенных в конкретной организации [23]. С другой стороны, по результатам исследования, проведенного Миланской группой, вместо критериев для люминального подтипов А и В были выделены суррогатные патологические (иммуногистохимические) подтипы РМЖ — подобные люминальному подтипу А и В. Критериями первого были высокие уровни ER и негативность по HER2, а также либо низкий уровень Ki67 (менее 14%) или промежуточные его значения (14–19%) в сочетании с высокой экспрессией PR. С другой стороны, в качестве критериев для подобного люминальному подтипу В были предложены либо высокий индекс Ki67 (20% и более), либо промежуточные значения 14–19% в сочетании с низким уровнем экспрессии PR (менее 20%) [24]. Целесообразность учета экспрессии PR показана и в другом исследовании, согласно которому, при значениях Ki67 в диапазоне 10–30% риск негативного исхода ассоциирован со значениями PR менее 20% [25].

В более позднем Сент-Галленском консенсусе от 2015 г. пограничное значение для Ki67 при определении иммуногистохимического подтипа РМЖ, подобного люминальному В, было изменено на диапазон в 20–29% [26]. Однако и по мере накопления данных более поздних исследований консенсус в отношении порогового значения достигнут не был. В частности, в исследованиях показана низкая согласованность интерпретации уровня Ki67 при оценке образцов с индексом 10–25% [27–31]. А.А. Muftah и соавт. (2017) также показали, что оптимальным cut-off для цельных срезов является 10%, в то время как для тканевых микроципов это значение составляет 20% [32]. В еще одном проведенном недавно исследовании оптимальным cut-off для разделения люминального подтипа А и В также было определено значение 20% [33]. В исследовании, проведенном А.Ф. Maranta et al. (2020) на основании локального опыта лаборатории в качестве порогового уровня получено значение 22% [34]. Согласно российским клиническим рекомендациям, верхней границей индекса Ki67 для люминального типа А является 20%, нижней границей для типа В — 30%, при значениях маркера в «серой зоне» 20–30% для классификации необходимо использовать дополнительные клинические факторы. Кроме того, в рекомендациях подчеркивается необходимость учитывать локальный опыт патоморфологической лаборатории [35].

В связи с подобными разногласиями, согласно последним рекомендациям IKWG от 2020 г., достаточной валидностью обладают значения индекса Ki67 менее 5% или более 30%, в то время как промежуточные значения индекса составляют так называемую «серую зону», интерпретация результатов в которой крайне затруднена [13]. Подобные проблемы с пороговым уровнем являются важными для клинической интерпретации уровня Ki67: при значениях

маркера в диапазоне 5–30% его не рекомендуется использовать для принятия решения о проведении химиотерапии [13]. Таким образом, для повышения аналитической валидности Ki67 в качестве маркера при РМЖ необходимо проведение дальнейших крупных исследований с целью получения оптимальных пороговых значений для более однозначной интерпретации данных.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ МАРКЕРА Ki67 ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Ki67 является доступным и относительно недорогим маркером, определение которого может иметь важное предиктивное и прогностическое значение при РМЖ. Можно выделить три основных направления его использования в клинической практике: оценка прогноза при раннем РМЖ в отношении необходимости проведения химиотерапии, предиктивное значение в отношении эффективности химиотерапии и мониторинг эффективности неоадъювантной терапии (НАТ) во время или после ее проведения [13].

Прогностическое значение Ki67 при ER-позитивном HER2-негативном РМЖ (ER+/HER2– РМЖ) подтверждено многочисленными исследованиями, однако сохраняются противоречия в отношении пороговых значений. Согласно результатам метаанализа от 2015 г., уровень Ki67 выше 25% ассоциирован с худшей выживаемостью, чем более низкие значения [36]. Сходный пороговый уровень (20%) показан для прогностической значимости Ki67 и в некоторых более поздних исследованиях [37–40]. С другой стороны, в ряде исследований получены иные пороговые уровни: например, G. Viale и соавт. (2019) показали статистически значимые различия прогноза (риск смерти от РМЖ или развития отдаленных метастазов) у пациентов с Ki67 ниже 14% и выше 19% [41]. Прогностическое значение уровня 14% подтверждено и в другом исследовании [42]. В исследовании Z. Varga и соавт. (2019), напротив, показали ассоциацию уровня Ki67 в 10%, но не более высоких значений (14%, 20% и 30%) с общей выживаемостью у пациентов с ранним РМЖ [43]. В другом проведенном недавно крупном анализе (n=9069) подтверждено прогностическое значение Ki67 при его оценке в качестве непрерывной переменной без конкретного порогового значения [44]. По результатам еще одного исследования, для определения прогноза может быть важно сочетание уровня Ki67 и экспрессии PR. Авторы предлагают выделить 3 группы внутри люминального типа В: ER+/PR+ с низким уровнем Ki67 (20% и менее), ER+/PR+ с высоким уровнем Ki67 и ER+/PR– с высоким уровнем Ki67, причем наименее благоприятный прогноз наблюдается в последней группе [45].

Предиктивное и прогностическое значение Ki67 в отношении ответа на химиотерапию также показано в ряде исследований. В частности, в ряде исследований подтверждено, что высокий уровень Ki67 является предиктором лучшего ответа на адъювантную химиотерапию (АХТ), хотя, как и в случае с прогностической значимостью, открытым остается вопрос оптимального значения cut-off

[46, 47]. Кроме того, в последние годы исследуется его значимость в отношении неoadъювантной химиотерапии (НАХТ). По данным систематического обзора, высокий уровень Ki67 как до, так и после НАХТ ассоциирован с менее благоприятным прогнозом (выживаемостью и риском рецидива) [48]. С другой стороны, пациенты с высоким уровнем Ki67 лучше отвечают на НАХТ, что подтверждается результатами метаанализа X. Chen и соавт. (2017), в котором высокий уровень Ki67 до начала терапии был ассоциирован с лучшим ответом на НАХТ в отношении полной патоморфологической ремиссии, причем оптимальным cut-off авторы считают 15–20%, отмечая существенную гетерогенность пороговых уровней в разных исследованиях (от 14 до 50%) [49]. Сходные результаты в отношении прогностической значимости Ki67 при химиотерапии показаны и в более поздних исследованиях, где пороговое значение находилось в диапазоне от 14% до 20% [50–53]. Кроме того, подтверждено прогностическое значение оценки уровня Ki67 после НАХТ в послеоперационных образцах [54, 55].

Также показано, что снижение Ki67 после НАХТ ассоциировано с лучшим прогнозом и патоморфологическим ответом на терапию [56–59]. Повышение Ki67, наряду со снижением экспрессии стероидных рецепторов после проведения НАХТ, напротив, является предиктором неблагоприятного прогноза [60, 61]. Однако степень снижения Ki67 в ответ на НАХТ, которая была бы предиктором более благоприятного прогноза, остается окончательно невыясненной. В исследовании M. Pistelli и соавт., 2021, показано, что с наименее благоприятным прогнозом ассоциировано снижение уровня Ki67 менее, чем на 20% [59]. В другом проведенном недавно исследовании показана прогностическая значимость расчетного показателя изменения уровня Ki67 ($\Delta Ki67\%$) — 63% для люминального РМЖ типа В, однако для валидации данного уровня и его использования в качестве маркера для эскалации или деэскалации химиотерапии необходимо проведение дальнейших исследований [62].

Одним из наиболее обсуждаемых вопросов также является возможность использования Ki67 для оценки ответа на эндокринную неoadъювантную терапию (ЭНАТ) при люминальном РМЖ. Динамическое изменение Ki67 в ответ на ЭНАТ у пациенток с локально распространенным ER+/HER2– РМЖ в постменопаузе оценивалось в нескольких крупных исследованиях, включая IMPACT [63], P024 [64], ASOCOG Z1031A [65]. По их результатам, изменение Ki67 в ответ на ЭНАТ может определять вариант адъювантной терапии и быть предиктором прогноза (подробное описание приведено в обзоре A. Zhang и соавт. (2021) [66]). Кроме того, по результатам исследования P024 разработана модель PEPI (preoperative endocrine prognostic index), включающая клинические данные и уровень Ki67, прогностическая значимость которой валидирована на независимой выборке пациенток из исследования IMPACT [67]. Значимость изменения Ki67 в ответ на эндокринную НАТ в отношении риска рецидива после адъювантной

терапии также подтверждена в объединенном анализе данных двух многоцентровых исследований (HORGEN и CARMINA02) [68]. Ассоциация низкого уровня Ki67 до терапии и его снижения после 2-х недель ЭНАТ с более благоприятным прогнозом показана и в исследовании POETIC [69].

В исследовании ASOCOG Z1031B индекс Ki67 оценивали через 2–4 недели эндокринной НАТ, при значениях 10% и менее пациентам продолжалась эндокринная терапия, а при более высоких назначалась химиотерапия. В данном исследовании в группе с высоким Ki67 показан плохой ответ, в том числе и у пациентов, получавших химиотерапию, что подчеркивает необходимость дальнейших исследований оптимальной тактики у данных пациентов [70]. В исследовании POETIC также использован пороговый уровень Ki67 10% и подтверждена целесообразность повторной биопсии с оценкой Ki67 через 2 недели ЭНАТ у пациенток с исходным высоким уровнем Ki67 (более 10%) для оценки необходимости дальнейшей эскалации терапии [69]. Также следует отметить, что, по результатам исследования monarchE, высокий уровень Ki67 (>20%) является одним из показаний к назначению комбинированной адъювантной эндокринной терапии и терапии абемациклибом [71]. Таким образом, оценка изменения Ki67 в ответ на индукционный курс ЭНАТ может быть целесообразной, однако для определения оптимального значения cut-off для решения вопроса об эскалации терапии необходимо проведение дальнейших исследований [66]. В частности, ожидаются результаты исследования ALTERNATE, в котором cut-off Ki67, равный 10%, используется для определения тактики после курса эндокринной НАТ: переход к химиотерапии при уровне более 10% или хирургическое лечение и адъювантная эндокринная терапия в зависимости от индекса PEPI [72].

Учитывая сохраняющиеся вопросы относительно клинической значимости Ki67 при РМЖ, на панельной сессии международной конференции по РМЖ в Сент-Галлене 2021 года были сформулированы консенсусные рекомендации, во многом совпадающие с мнением рабочей группы IKWG (табл. 1). В частности, 61% экспертов проголосовали за необходимость определения Ki67 во всех случаях ER+/HER2– РМЖ, в то время как 30% считают, что его необходимо определять только в случае планирования химиотерапии при недоступности генетического тестирования. В рамках данного конгресса также не удалось определить оптимальный пороговый уровень для рекомендации химиотерапии при ER+/HER2– РМЖ без поражения лимфатических узлов (ЛУ), если значения уровня Ki67 находятся между 10 и 25%, при этом 36% экспертов отметили, что порог «остается неизвестным» [73]. Несколько более высокий уровень согласия наблюдается в отношении значимости Ki67 при проведении ЭНАТ: в частности, 68% экспертов высказались в пользу определения Ki67 во время или сразу после ЭНАТ, причем 70% считают, что изменение Ki67 после 2-х и более недель проведения ЭНАТ можно использовать для оценки прогноза [74].

Таблица 1. Консенсусные рекомендации конференции в Сент-Галлене, 2021 (по [74]).

Тип РМЖ	Обсуждаемый вопрос	Пороговое значение Ki67	Доля экспертов
ER+/HER2–	Оценка Ki67 необходима у всех пациентов		61%
	Оценка Ki67 необходима только при планируемой химиотерапии при невозможности проведения генетического исследования		30%
	Определение Ki67 во время или после ЭНАТ необходимо для оценки ответа на терапию		68%
	Определение Ki67 после 2-х и более недель ЭНАТ необходимо для определения прогноза		70%
	Эндокринная адъювантная терапия рекомендована пациенткам в пременопаузе с факторами риска, включая высокий Ki67		52%
	Добавление химиотерапии не показано у пациенток в постменопаузе с РМЖ низкой степени злокачественности (G1) или низким Ki67		63%
	Терапия абемациклибом не рекомендована у пациенток с поражением 1–3 ЛУ при наличии факторов высокого риска рецидива (включая высокий Ki67)		54%
	Уровень Ki67 не определяет показания к проведению CDK4/6-направленной терапии		(только 40% высказались за Ki67 в качестве показателя)
ER+/HER2– (T1–2 N0–1)	Химиотерапия не показана	≤5%	62%
	Химиотерапия рекомендована	≥30%	
ER+/PR+/HER2– без поражения ЛУ	Химиотерапия рекомендована	≥30%	42%
		неизвестно	36%

Помимо иммуногистохимических маркеров, в настоящее время все более широкое применение в клинической практике приобретают генетические тесты, целью проведения которых, прежде всего, является определение целесообразности АХТ при ER+/HER2– РМЖ. Разработано множество вариантов подобных тестов, которые включают разное количество генов, например, Oncotype Dx, MammaPrint, Prosigna (PAM50), EndoPredict, Breast Cancer Index, Genomic Grade Index и др. [75]. Наиболее широко используемыми из них являются панели Oncotype Dx (21 ген), MammaPrint (70 генов), Prosigna (50 генов).

Oncotype Dx (Exact Sciences, Redwood City, CA, USA) представляет собой панель для оценки показателя рецидива (recurrence score, RS) с помощью оценки экспрессии 16 генов методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в зафиксированных образцах ткани, причем экспрессия исследуемых генов нормируется по 5 референсным генам. По результатам анализа пациенты стратифицируются на три группы с разным риском рецидива (Recurrence Score, RS): низкий, промежуточный и высокий [76]. Прогностическая и предиктивная значимость Oncotype Dx при ER+/HER2– РМЖ без поражения ЛУ подтверждена в крупных исследованиях, например, TAILORx [77], WGS PlanB [78] и др. [76]. Тест Oncotype Dx является единственным генетическим тестом, рекомендованным Американским обществом клинической онкологии (ASCO, American Society of Clinical Oncology) для решения вопроса о назначении АХТ при ER+/HER2– РМЖ у пациенток в пременопаузе [79].

Тест MammaPrint (Agendia NV, Amsterdam, Нидерланды), включающий оценку экспрессии 70 генов с помощью ДНК-микрочипов, позволяет выделить группы низкого и высокого риска [80]. Его прогностическая значимость также подтверждена в крупных проспективных исследо-

ваниях, в частности, RASTER [81] и MINDACT [82]. Другим широко используемым тестом является Prosigna (NanoString Technologies, Seattle, WA, США), в которой с помощью ОТ-ПЦР с использованием технологии NanoString nCounter оценивается экспрессия 50 генов (+5 референсных генов) и также определяются три группы с низким, промежуточным и высоким риском рецидива (risk of recurrence, ROR) [83, 84]. Для данного теста также подтверждена прогностическая значимость при ER+/HER2– РМЖ [85, 86]. Однако для тестов MammaPrint и Prosigna пока недостаточно проспективных данных относительно предиктивного применения для планирования АХТ [80, 84].

В РФ недавно был разработан генетический тест Глобал Индекс РМЖ, включающий оценку экспрессии 21 гена (16 таргетных и 5 контрольных) или 24 генов (21 таргетный и 3 контрольных) в расширенной версии. На основе профиля экспрессии определяется индекс рецидива (ИР), в соответствии с которым делается заключение о низком, среднем или высоком риске рецидива; при этом средний риск является своеобразной «серой зоной», в которой нельзя однозначно высказаться о риске рецидива заболевания. Как и зарубежные аналоги, данный тест можно использовать для оценки риска рецидива или отдаленного метастазирования, а также целесообразности назначения АХТ у пациенток с ER+/HER2– РМЖ I–II стадии [87].

Согласно результатам крупных исследований в реальных условиях, использование генетических тестов в клинической практике может уменьшить долю пациентов, которым назначается АХТ [88, 89]. Учитывая эти результаты, в консенсус Сент-Галлена 2021 года включена рекомендация рассмотреть использование генетических тестов в отдельных группах пациенток, для которых накоплена достаточная доказательная база

в отношении клинической валидности: ER/HER2– РМЖ независимо от степени и пост/пременопаузы при отсутствии поражения регионарных ЛУ или в стадии N0 [73, 74]. При этом эксперты подчеркивают, что важным ограничением является высокая стоимость и относительно низкая доступность данных тестовых систем, в связи с чем использование иммуногистохимических маркеров и, в особенности, их сочетание с иными прогностическими факторами для определения показаний к проведению адъювантной химиотерапии в настоящее время не теряет своей актуальности [73].

Учитывая достаточно высокую стоимость генетических тестов, важной проблемой является выбор оптимального теста, который давал бы наиболее полную и точную информацию для прогнозирования. Этот выбор затруднен в связи с тем, что тесты валидированы независимо друг от друга и имеют достаточно низкую согласованность при определении степени риска [84, 90]. В частности, в одном из наиболее крупных сравнительных исследований показано, что согласованность между пятью разными тестами (Oncotype Dx, Prosigna (PAM50), MammaPrint, MammaTyper, NexCourse Breast (IHC4-AQUA)) при определении высокого или низкого риска рецидива составляет всего 39,4% [91]. Возможным объяснением может быть использование разного генетического профиля в отдельных тестах, в частности, отличия количества маркеров пролиферации и эстрогенового сигналинга в разных генетических панелях [92]. Также недостаточно данных относительно преимуществ отдельных тестов по экономической эффективности [88]. Кроме того, прогностическая и предиктивная ценность данных тестов существенно снижается в условиях проблем преаналитического этапа, что делает использование дорогостоящих генетических панелей неэффективным с экономической точки зрения. Следует отметить, что уровень Ki67 имеет умеренную согласованность с оценкой риска по некоторым генетическим тестам [93–95]. По результатам исследования, проведенного A. Noske и соавт. (2020), совпадение прогноза по результатам оценки Ki67 и генетическому тесту EndoPredict наиболее высокое при высоком уровне Ki67 (более 25%), в связи с чем исследователи предполагают, что его оценка может быть целесообразной для первичной стратификации риска, а генетические тесты необходимо использовать у пациентов с низким или промежуточным Ki67 [94].

Учитывая эти ограничения, целесообразной остается разработка иных, более доступных методов прогнозирования риска рецидива, в частности, онлайн-платформ, в которых для определения риска, соответствующего параметрам риска по данным генетических тестов, используются клинические параметры и более доступные иммуногистохимические маркеры, включая Ki67. Примерами таких платформ является индекс Медицинского центра Университета Теннесси, классифицирующий риск в соответствии с RS для теста Oncotype Dx [96], а также платформа PREDICT breast cancer [97] и др. Однако также сохраняется проблема низкой согласованности оценки

риска при использовании разных платформ [98]. Кроме того, разрабатываются комплексные иммуногистохимические прогностические модели, например, mIHC4 (modified immunohistochemical marker score), для которых показана хорошая корреляция с генетическими тестами [99].

Показания к использованию разных биомаркеров при РМЖ обобщены в рекомендациях ASCO от 2022 г. [79]. Согласно им, Ki67 может быть использован для оценки риска и решения вопроса об АХТ у пациенток в постменопаузе с ER+/HER2– РМЖ при поражении 0–3 ЛУ и недоступности генетических тестов. Как и в рекомендациях IKWG, наиболее информативными являются показатели <5% (низкий уровень) или >30% (высокий уровень). Также с целью решения вопроса об АХТ в данной группе пациенток могут быть использованы иммуногистохимические панели. Кроме того, в рекомендациях отмечается недостаток данных в отношении оценки изменения Ki67 после ЭНАТ для определения перехода к АХТ или адъювантной эндокринной терапии. Несмотря на ограничения, в рекомендациях ASCO отмечается, что у пациенток с ER+/HER2– РМЖ с поражением ЛУ в постменопаузе при наличии высокого риска рецидива и уровня Ki67 ≥ 20% возможно использование комбинированной эндокринной терапии и абемациклиба. Также в рекомендациях подробно освещается использование разных генетических тестов и обобщаются данные относительно новых биомаркеров, обсуждение которых выходит за рамки этого обзора.

ОБНОВЛЕННЫЕ РЕКОМЕНДАЦИИ МЕЖДУНАРОДНОЙ РАБОЧЕЙ ГРУППЫ ПО ИНТЕРПРЕТАЦИИ Ki67 ПРИ РМЖ (IKWG, 2020)

Основные вопросы и проблемы аналитической валидности, сохраняющиеся в настоящее время, а также обобщенные данные по клинической значимости Ki67, освещены в рекомендациях IKWG от 2020 г. [13]. Рекомендации по стандартизации оценки Ki67 кратко приведены в табл. 2.

С целью уменьшения вариабельности оценки Ki67 между разными лабораториями IKWG была разработана стандартизированная методика оценки Ki67 (IKWG Scoring System [101]), которая была валидирована в исследованиях [102, 103]. В данной методике используется метод подсчета Global, который имеет меньшую вариабельность, чем оценка экспрессии в «горячих точках» (hot spot). Методика определения Ki67 по IKWG включает следующие этапы: выполнение калибровочных упражнений на сайте разработчика и установка приложения перед первым применением, световая микроскопия окрашенного образца, оценка области инвазивной опухоли и внесение в приложение долей (в процентах), которые в области опухоли занимают поля с пренебрежимо малым (отрицательным), низким, промежуточным и высоким индексом Ki67, оценка количества Ki67-позитивных (независимо от интенсивности и типа окрашивания) и негативных ядер в полях с разным уровнем

Таблица 2. Факторы, влияющие на оценку Ki67 (по [13], с сокращениями).

Фактор	Варианты	Комментарий
Преаналитический этап		
Тип образца	Пункционная биопсия или эксцизионная	Оба варианта возможны. Для разных типов образцов могут отличаться значения cut-off. Динамику Ki67 необходимо оценивать по образцам одного типа.
Фиксация	Префиксационная задержка (время тепловой и холодовой ишемии); толщина ткани; тип раствора для фиксации; время фиксации	Нарушения фиксации снижают уровень Ki67. Необходимо оценить целостность ядер и ядерное иммуногистохимическое окрашивание. Не использовать фиксацию в этаноле и декальцификацию. Фиксация в соответствии с руководством ASCO [100].
Особенности хранения	Парафиновые блоки или неоокрашенные препараты	Длительное хранение фиксированных в формалине парафиновых блоков при комнатной температуре не влияет на уровень Ki67. Избегать длительного контакта препарата с воздухом.
Аналитический этап		
Извлечение антигена	Да/нет	Обязательно высокотемпературное извлечение.
Специфичные антитела	MIB или другие антитела к Ki67	MIB1 наиболее валидированы; часто используются 30-9, K2, MM1 и SP6. Для некоторых автоматизированных систем рекомендуется оценка определенных антител.
Колориметрические системы	Авидин-биотин-иммунопероксидазные или детекция полимеров или амплификация	Авидин-биотиновые системы имеют низкую чувствительность и заменены на детекцию полимеров или автоматизированные системы. Проблемы стандартизации амплификации.
Контрастное окрашивание	Полнота и интенсивность	Важно, чтобы все Ki67-негативные ядра были хорошо контрастированы (чтобы предотвратить завышение индекса Ki67).
Оценка/контроль качества	-	Необходима внутри каждой лаборатории и в программах внешнего контроля качества.
Оценка и интерпретация		
Метод оценки	Клеточный компонент, интенсивность окрашивания	1) Подсчет всех клеток инвазивной карциномы в области, где прокрашены все ядра. 2) Оценка доли позитивных клеток среди всех клеток в данной области. 3) Интенсивность окрашивания не учитывается.
Область чтения	Среднее значение по препарату или подсчет в «горячей точке»	Противоречивые данные: глобальная оценка более воспроизводима, но различия статистически не значимы.
Цифровые изображения	Визуальный или автоматизированный анализ	Валидирована методика визуальной оценки IKWG. Автоматизированные системы потенциально могут быть не хуже визуальной оценки.
Формат данных и пороговые значения	Категориальные или непрерывные	Индекс Ki67 лучше представлять в виде непрерывной переменной, выраженной в процентах. Для использования параметрических статистических методов необходима лог-трансформация.

индекса Ki67 (по 100 ядер в каждом из 4-х полей), вычисление взвешенного общего показателя (Weighted global score). При достаточном уровне опыта медиана времени для оценки одного образца по данному алгоритму составляет 9 минут [13]. Показатель Ki67, оцененный с помощью методики IKWG Global, является сильным предиктором ответа на неоадъювантную терапию [104].

Кроме того, в обновленных рекомендациях подробно обсуждается возможность использования автоматизированных модулей подсчета клеток для уменьшения субъективности оценки. В настоящее время разработаны как коммерческие, так и открытые онлайн-платформы, например, платформа QuPath [105]. Для повышения точности оценки в качестве вспомогательного инструмента IKWG предлагает применение приложения для смартфонов Ki67 scoring app. Также разрабатываются автоматизированные методы оценки с использованием машинного обучения [106]. Однако и в данном случае сохраняется проблема воспроизводимости при использовании разных сканеров и программ для оценки, хотя для части платформ подтверждена согласованность результатов оценки, сопоставимая с визуальной оценкой морфологами [107, 108].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, Ki67 представляет собой доступный и относительно недорогой иммуногистохимический маркер, имеющий прогностическое и предиктивное значение при РМЖ, подтвержденное многочисленными исследованиями. Учитывая ограничения применения новых генетических биомаркеров при РМЖ, включая их достаточно низкую доступность, высокую стоимость и неоднозначные данные относительно согласованности между отдельными тестами, использование иммуногистохимических маркеров, в частности Ki67, остается в настоящее время крайне актуальным.

При условии стандартизации патоморфологических и иммуногистохимических исследований биопсийного и операционного материала аналитическая валидность Ki67 может быть достижимой, для чего разрабатываются единые методики оценки, а также автоматизированные системы подсчета. С другой стороны, сохраняются проблемы интерпретации Ki67 при попадании его значений в промежуточную «серую» зону. Также открытым остается вопрос клинической значимости оценки изменения

Ki67 после индукционной ЭНАТ или НАХТ для определения дальнейшей тактики лечения, в связи с чем для формулирования более однозначных рекомендаций необходимо проведение дальнейших исследований.

В связи с описанными ограничениями, для достижения аналитической валидности и клинической значимости необходим тщательный внутренний и внешний контроль оценки Ki67 в патоморфологических лабораториях, предоставление в гистологических заключениях полной информации о методике оценки Ki67, а также учет ограничений применения данного маркера и использование иных показателей для определения прогноза и терапевтической тактики при попадании индекса Ki67 в промежуточные значения. Кроме того, авторы считают целесообразным проведение тренингов по внутрилабораторной воспроизводимости с использованием телемедицинских платформ, целью которых будет тренировка и оптимизация оценки индекса Ki67 патоморфологами. Клиническим онкологам также важно понимать преимущества и ограничения использования данного биомаркера для оптимального его использования в практике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность) / МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России ; под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М., 2021. 252 с.
2. Houghton S.C., Hankinson S.E. Cancer Progress and Priorities: Breast Cancer// *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2021. Vol. 30, № 5. P. 822–844.
3. Global Burden of Disease 2019 Cancer Collaboration. Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life Years for 29 Cancer Groups From 2010 to 2019: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2019// *JAMA Oncol.* 2022. Vol. 8, № 3. P. 420–444.
4. Yeo S.K., Guan J.L. Breast Cancer: Multiple Subtypes within a Tumor?// *Trends Cancer.* 2017. Vol. 3, № 11. P. 753–60.
5. Loibl S., Poortmans P., Morrow M., Denkert C., Curigliano G. Breast cancer// *Lancet.* 2021. Vol. 397, № 10286. P. 1750–69.
6. Tsang J.Y.S., Tse G.M. Molecular Classification of Breast Cancer// *Adv Anat Pathol.* 2020. Vol. 27, № 1. P. 27–35.
7. Zubair M., Wang S., Ali N. Advanced Approaches to Breast Cancer Classification and Diagnosis// *Front Pharmacol.* 2021. Vol. 11. P. 632079.
8. Schonk D.M., Kuipers H.J., van Drunen E., van Dalen C.H., Geurts van Kessel A.H., Verheijen R., Ramaekers F.C. Assignment of the gene (s) involved in the expression of the proliferation-related Ki-67 antigen to human chromosome 10// *Hum Genet.* 1989. Vol. 83, № 3. P. 297–9.
9. Gutschner T., Diederichs S. The hallmarks of cancer: a long non-coding RNA point of view// *RNA Biol.* 2012. Vol. 9, № 6. P. 703–19.
10. Davey M.G., Hynes S.O., Kerin M.J., Miller N., Lowery A.J. Ki-67 as a Prognostic Biomarker in Invasive Breast Cancer// *Cancers (Basel).* 2021. Vol. 13, № 17. P. 4455.
11. Dowsett M., Nielsen T.O., A'Hern R., Bartlett J., Coombes R.C., Cuzick J. et al. Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the International Ki67 in Breast Cancer working group// *J Natl Cancer Inst.* 2011. Vol. 103, № 22. P. 1656–64.
12. Arima N., Nishimura R., Osako T., Nishiyama Y., Fujisue M., Okumura Y. et al. The importance of tissue handling of surgically removed breast cancer for an accurate assessment of the Ki-67 index// *J Clin Pathol.* 2016. Vol. 69, № 3. P. 255–9.
13. Nielsen T.O., Leung S.C. Y., Rimm D.L., Dodson A., Acs B., Badve S. et al. Assessment of Ki67 in Breast Cancer: Updated Recommendations From the International Ki67 in Breast Cancer Working Group// *J Natl Cancer Inst.* 2021. Vol. 113, № 7. P. 808–19.
14. Romero Q., Bendahl P.O., Fernö M., Grabau D., Borgquist S. A novel model for Ki67 assessment in breast cancer// *Diagn Pathol.* 2014. Vol. 9. P. 118.
15. Shui R., Yu B., Bi R., Yang F., Yang W. An interobserver reproducibility analysis of Ki67 visual assessment in breast cancer// *PLoS One.* 2015. Vol. 10, № 5. P. e0125131.
16. Meermira D., Swain M., Gowrishankar S. Study of Ki-67 index in the molecular subtypes of breast cancer: Inter-observer variability and automated scoring// *Indian J Cancer.* 2020. Vol. 57, № 3. P. 289–95.
17. Focke C.M., Bürger H., van Diest P.J., Finsterbusch K., Gläser D., Korsching E., Decker T.; German Breast Screening Pathology Initiative. Interlaboratory variability of Ki67 staining in breast cancer// *Eur J Cancer.* 2017. Vol. 84. P. 219–27.
18. College of American Pathologists. Template for Reporting Results of Biomarker Testing of Specimens from Patients with Carcinoma of the Breast. URL: https://documents.cap.org/protocols/Breast_Bmk_1.4.1.0_REL_CAPCP.pdf (дата обращения: 20.08.2022).
19. Tan P.H., Ellis I., Allison K., Brogi E., Fox S.B., Lakhani S. et al. The 2019 World Health Organization classification of tumours of the breast// *Histopathology.* 2020. Vol. 77, № 2. P. 181–5.
20. Lebeau A., Denkert C. Aktualisierte WHO-Klassifikation der Tumoren der Mamma: Die wichtigsten Änderungen [Updated WHO classification of tumors of the breast: the most important changes]// *Pathologe.* 2021. Vol. 42, № 3. P. 270–80.
21. Goldhirsch A., Ingle J.N., Gelber R.D., Coates A.S., Thürlimann B., Senn H.J.; Panel members. Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2009// *Ann Oncol.* 2009. Vol. 20, № 8. P. 1319–29.
22. Goldhirsch A., Wood W.C., Coates A.S., Gelber R.D., Thürlimann B., Senn H.J.; Panel members. Strategies for subtypes—dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011// *Ann Oncol.* 2011. Vol. 22, № 8. P. 1736–47.
23. Goldhirsch A., Winer E.P., Coates A.S., Gelber R.D., Piccart-Gebhart M., Thürlimann B., Senn H.J.; Panel members. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: high-

- lights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013 // *Ann Oncol*. 2013. Vol. 24, № 9. P. 2206–23.
24. Maisonneuve P., Disalvatore D., Rotmensz N., Curigliano G., Colleoni M., Dellapasqua S. et al. Proposed new clinicopathological surrogate definitions of luminal A and luminal B (HER2-negative) intrinsic breast cancer subtypes // *Breast Cancer Res*. 2014. Vol. 16, № 3. P. R65.
 25. Kurozumi S., Matsumoto H., Hayashi Y., Tozuka K., Inoue K., Horiguchi J. et al. Power of PgR expression as a prognostic factor for ER-positive/HER2-negative breast cancer patients at intermediate risk classified by the Ki67 labeling index // *BMC Cancer*. 2017. Vol. 17, № 1. P. 354.
 26. Coates A. S., Winer E. P., Goldhirsch A., Gelber R. D., Gnant M., Piccart-Gebhart M. et al. Tailoring therapies-improving the management of early breast cancer : St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015 // *Ann Oncol*. 2015. Vol. 26, № 8. P. 1533–46.
 27. Hida A. I., Oshiro Y., Inoue H., Kawaguchi H., Yamashita N., Moriya T. Visual assessment of Ki67 at a glance is an easy method to exclude many luminal-type breast cancers from counting 1000 cells // *Breast Cancer*. 2015. Vol. 22, № 2. P. 129–34.
 28. Raap M., Ließem S., Rüschoff J., Fisseler-Eckhoff A., Reiner A., Dirnhofer S. et al. Quality assurance trials for Ki67 assessment in pathology // *Virchows Arch*. 2017. Vol. 471, № 4. P. 501–508.
 29. Leung S. C. Y., Nielsen T. O., Zabaglo L. A., Arun I., Badve S. S., Bane A. L. et al. Analytical validation of a standardised scoring protocol for Ki67 immunohistochemistry on breast cancer excision whole sections : an international multicentre collaboration // *Histopathology*. 2019. Vol. 75, № 2. P. 225–35.
 30. Kadivar M., Aram F. Assessment of Ki67 in Breast Cancer : A Comparison Between the Eye-10 Method, Stepwise Counting Strategy, and International System of Ki67 Evaluation // *Iran J Pathol*. 2020. Vol. 15, № 1. P. 13–18.
 31. van den Berg E. J., Duarte R., Dickens C., Joffe M., Mohanlal R. Ki67 Immunohistochemistry Quantification in Breast Carcinoma : A Comparison of Visual Estimation, Counting, and ImmunoRatio // *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2021. Vol. 29, № 2. P. 105–11.
 32. Muftah A. A., Aleskandarany M. A., Al-Kaabi M. M., Sonbul S. N., Diez-Rodriguez M., Nolan C. C. et al. Ki67 expression in invasive breast cancer : the use of tissue microarrays compared with whole tissue sections // *Breast Cancer Res Treat*. 2017. Vol. 164, № 2. P. 341–8.
 33. Lombardi A., Lazzeroni R., Bersigotti L., Vitale V., Amanti C. The Proper Ki-67 Cut-Off in Hormone Responsive Breast Cancer : A Monoinstitutional Analysis with Long-Term Follow-Up // *Breast Cancer (Dove Med Press)*. 2021 Vol. 13. P. 213–7.
 34. Maranta A. F., Broder S., Fritzsche C., Knauer M., Thürlimann B., Jochum W., Ruhstaller T. Do YOU know the Ki-67 index of your breast cancer patients? Knowledge of your institution's Ki-67 index distribution and its robustness is essential for decision-making in early breast cancer // *Breast*. 2020. Vol. 51. P. 120–6.
 35. Клинические рекомендации : Рак молочной железы. 2021. URL : <https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2021/02/rak-molochnoj-zhelezy-2021.pdf> (дата обращения : 20.08.2022).
 36. Petrelli F., Viale G., Cabiddu M., Barni S. Prognostic value of different cut-off levels of Ki-67 in breast cancer : a systematic review and meta-analysis of 64,196 patients // *Breast Cancer Res Treat*. 2015. Vol. 153, № 3. P. 477–91.
 37. Tashima R., Nishimura R., Osako T., Nishiyama Y., Okumura Y., Nakano M. et al. Evaluation of an Optimal Cut-Off Point for the Ki-67 Index as a Prognostic Factor in Primary Breast Cancer : A Retrospective Study // *PLoS One*. 2015. Vol. 10, № 7. P. e0119565.
 38. Cho U., Kim H. E., Oh W. J., Yeo M. K., Song B. J., Lee A. The Long-term Prognostic Performance of Ki-67 in Primary Operable Breast Cancer and Evaluation of Its Optimal Cutoff Value // *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2016. Vol. 24, № 3. P. 159–66.
 39. Ohara M., Matsuura K., Akimoto E., Noma M., Doi M., Nishizaka T. et al. Prognostic value of Ki67 and p53 in patients with estrogen receptor-positive and human epidermal growth factor receptor 2-negative breast cancer : Validation of the cut-off value of the Ki67 labeling index as a predictive factor // *Mol Clin Oncol*. 2016. Vol. 4, № 4. P. 648–54.
 40. Fasching P. A., Gass P., Häberle L., Volz B., Hein A., Hack C. C. et al. Prognostic effect of Ki-67 in common clinical subgroups of patients with HER2-negative, hormone receptor-positive early breast cancer // *Breast Cancer Res Treat*. 2019. Vol. 175, № 3. P. 617–25.
 41. Viale G., Hanlon Newell A. E., Walker E., Harlow G., Bai I., Russo L. et al. Ki-67 (30–9) scoring and differentiation of Luminal A- and Luminal B-like breast cancer subtypes // *Breast Cancer Res Treat*. 2019. Vol. 178, № 2. P. 451–8.
 42. Gallardo A., Garcia-Valdecasas B., Murata P., Teran R., Lopez L., Barnadas A., Lerma E. Inverse relationship between Ki67 and survival in early luminal breast cancer : confirmation in a multivariate analysis // *Breast Cancer Res Treat*. 2018. Vol. 167, № 1. P. 31–7.
 43. Varga Z., Li Q., Jochum W., Perriard U., Rau T., Tille J. C. et al. Ki-67 assessment in early breast cancer : SAKK28/ 12 validation study on the IBCSG VIII and IBCSG IX cohort // *Sci Rep*. 2019. Vol. 9, № 1. P. 13534.
 44. Denkert C., Budczies J., Regan M. M., Loibl S., Dell'Orto P., von Minckwitz G. et al. Clinical and analytical validation of Ki-67 in 9069 patients from IBCSG VIII+IX, BIG1–98 and GeparTrio trial : systematic modulation of interobserver variance in a comprehensive in silico ring trial // *Breast Cancer Res Treat*. 2019. Vol. 176, № 3. P. 557–68.
 45. Yang Z. J., Liu Y. X., Huang Y., Chen Z. J., Zhang H. Z., Yu Y. et al. The regrouping of Luminal B (HER2 negative), a better discriminator of outcome and recurrence score // *Cancer Med*. 2022. doi:10.1002/cam4.5089.[Epub ahead of print.].
 46. Criscitiello C., Disalvatore D., De Laurentiis M., Gelao L., Fumagalli L., Locatelli M. et al. High Ki-67 score is indicative of a greater benefit from adjuvant chemotherapy when added to endocrine therapy in luminal B HER2 negative and node-positive breast cancer // *Breast*. 2014. Vol. 23, № 1. P. 69–75.

47. Sonnenblick A., Francis P.A., Azim H.A. Jr., de Azambuja E., Nordenskjöld B., Gutiérrez J. et al. Final 10-year results of the Breast International Group 2–98 phase III trial and the role of Ki67 in predicting benefit of adjuvant docetaxel in patients with oestrogen receptor positive breast cancer // *Eur J Cancer*. 2015. Vol. 51, № 12. P. 1481–9.
48. Li L., Han D., Wang X., Wang Q., Tian J., Yao J. et al. Prognostic values of Ki-67 in neoadjuvant setting for breast cancer: a systematic review and meta-analysis // *Future Oncol*. 2017. Vol. 13, № 11. P. 1021–34.
49. Chen X., He C., Han D., Zhou M., Wang Q., Tian J. et al. The predictive value of Ki-67 before neoadjuvant chemotherapy for breast cancer: a systematic review and meta-analysis // *Future Oncol*. 2017. Vol. 13, № 9. P. 843–57.
50. Ács B., Zámbo V., Vízkeleti L., Szász A.M., Madaras L., Szentmártoni G. et al. Ki-67 as a controversial predictive and prognostic marker in breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy // *Diagn Pathol*. 2017. Vol. 12, № 1. P. 20.
51. Chen R., Ye Y., Yang C., Peng Y., Zong B., Qu F. et al. Assessment of the predictive role of pretreatment Ki-67 and Ki-67 changes in breast cancer patients receiving neoadjuvant chemotherapy according to the molecular classification: a retrospective study of 1010 patients // *Breast Cancer Res Treat*. 2018. Vol. 170, № 1. P. 35–43.
52. Boughey J.C., Hoskin T.L., Goetz M.P. Neoadjuvant Chemotherapy and Nodal Response Rates in Luminal Breast Cancer: Effects of Age and Tumor Ki67 // *Ann Surg Oncol*. 2022. Vol. 29, № 9. P. 5747–56.
53. Choi H.J., Lee J.H., Jung C.S., Lee J.E., Jung Y.J., Lee S. et al. Factors Affecting Pathologic Complete Remission in Patients with Hormone Receptor-Positive and Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Negative Breast Cancer Receiving Neoadjuvant Chemotherapy // *Oncology*. 2022. doi:10.1159/000526155. [Epub ahead of print].
54. Holanek M., Selingerova I., Fabian P., Coufal O., Zapletal O., Petrakova K. et al. Biomarker Dynamics and Long-Term Treatment Outcomes in Breast Cancer Patients with Residual Cancer Burden after Neoadjuvant Therapy // *Diagnostics (Basel)*. 2022. Vol. 12, № 7. P. 1740.
55. Kim J.Y., Oh J.M., Lee S.K., Yu J., Lee J.E., Kim S.W. et al. Improved Prediction of Survival Outcomes Using Residual Cancer Burden in Combination With Ki-67 in Breast Cancer Patients Underwent Neoadjuvant Chemotherapy // *Front Oncol*. 2022. Vol. 12. P. 903372.
56. Matsubara N., Mukai H., Masumoto M., Sasaki M., Naito Y., Fujii S., Wada N. Survival outcome and reduction rate of Ki-67 between pre- and post-neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients with non-pCR // *Breast Cancer Res Treat*. 2014. Vol. 147, № 1. P. 95–102.
57. Montagna E., Bagnardi V., Viale G., Rotmensz N., Sporchia A., Cancellato G. et al. Changes in PgR and Ki-67 in residual tumour and outcome of breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy // *Ann Oncol*. 2015. Vol. 26, № 2. P. 307–13.
58. Rossi L., Verrico M., Tomao S., Ricci F., Fontana A., Spinelli G.P. et al. Expression of ER, PgR, HER-2, and Ki-67 in core biopsies and in definitive histological specimens in patients with locally advanced breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy // *Cancer Chemother Pharmacol*. 2020. Vol. 85, № 1. P. 105–11.
59. Pistelli M., Merloni F., Crocetti S., Scortichini L., Tassone L., Cantini L. et al. Prognostic Impact of Ki-67 Change in Locally Advanced and Early Breast Cancer after Neoadjuvant Chemotherapy: A Single Institution Experience // *J Oncol*. 2021. Vol. 2021. P. 5548252.
60. von Minckwitz G., Schmitt W.D., Loibl S., Müller B.M., Blohmer J.U., Sinn B.V. et al. Ki67 measured after neoadjuvant chemotherapy for primary breast cancer // *Clin Cancer Res*. 2013. Vol. 19, № 16. P. 4521–31.
61. Ding Y., Ding K., Qian H., Yu X., Zou D., Yang H. et al. Impact on survival of estrogen receptor, progesterone receptor and Ki-67 expression discordance pre- and post-neoadjuvant chemotherapy in breast cancer // *PLoS One*. 2020. Vol. 15, № 4. P. e0231895.
62. Tan S., Fu X., Xu S., Qiu P., Lv Z., Xu Y., Zhang Q. Quantification of Ki67 Change as a Valid Prognostic Indicator of Luminal B Type Breast Cancer After Neoadjuvant Therapy // *Pathol Oncol Res*. 2021. Vol. 27. P. 1609972.
63. Dowsett M., Smith I.E., Ebbs S.R., Dixon J.M., Skene A., Griffith C. et al. Short-term changes in Ki-67 during neoadjuvant treatment of primary breast cancer with anastrozole or tamoxifen alone or combined correlate with recurrence-free survival // *Clin Cancer Res*. 2005. Vol. 11, № 2Pt 2. P. 951s–8s.
64. Ellis M.J., Miller W.R., Tao Y., Evans D.B., Chaudri Ross H.A., Miki Y. et al. Aromatase expression and outcomes in the P024 neoadjuvant endocrine therapy trial // *Breast Cancer Res Treat*. 2009. Vol. 116, № 2. P. 371–8.
65. Ellis M.J., Suman V.J., Hoog J., Lin L., Snider J., Prat A. et al. Randomized phase II neoadjuvant comparison between letrozole, anastrozole, and exemestane for postmenopausal women with estrogen receptor-rich stage 2 to 3 breast cancer: clinical and biomarker outcomes and predictive value of the baseline PAM50-based intrinsic subtype--ACOSOG Z1031 // *J Clin Oncol*. 2011. Vol. 29, № 17. P. 2342–9.
66. Zhang A., Wang X., Fan C., Mao X. The Role of Ki67 in Evaluating Neoadjuvant Endocrine Therapy of Hormone Receptor-Positive Breast Cancer // *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021. Vol. 12. P. 87244.
67. Ellis M.J., Tao Y., Luo J., A'Hern R., Evans D.B., Bhatnagar A.S. et al. Outcome prediction for estrogen receptor-positive breast cancer based on postneoadjuvant endocrine therapy tumor characteristics // *J Natl Cancer Inst*. 2008. Vol. 100, № 19. P. 1380–8.
68. Lerebours F., Pulido M., Fourme E., Debled M., Becette V., Bonnefoi H. et al. Predictive factors of 5-year relapse-free survival in HR+ / HER2– breast cancer patients treated with neoadjuvant endocrine therapy: pooled analysis of two phase 2 trials // *Br J Cancer*. 2020. Vol. 122, № 6. P. 759–65.
69. Smith I., Robertson J., Kilburn L., Wilcox M., Evans A., Holcombe C. et al. Long-term outcome and prognostic value of Ki67 after perioperative endocrine therapy in postmenopausal women with hormone-sensitive early breast cancer

- (POETIC) : an open-label, multicentre, parallel-group, randomised, phase 3 trial// *Lancet Oncol.* 2020. Vol. 21, № 11. P. 1443–54.
70. Ellis M.J., Suman V.J., Hoog J., Goncalves R., Sanati S., Creighton C.J. et al. Ki67 Proliferation Index as a Tool for Chemotherapy Decisions During and After Neoadjuvant Aromatase Inhibitor Treatment of Breast Cancer: Results From the American College of Surgeons Oncology Group Z1031 Trial (Alliance) // *J Clin Oncol.* 2017. Vol. 35, № 10. P. 1061–69.
 71. Johnston S.R. D., Harbeck N., Hegg R., Toi M., Martin M., Shao Z.M., Zhang Q.Y. et al. Abemaciclib Combined With Endocrine Therapy for the Adjuvant Treatment of HR+, HER2-, Node-Positive, High-Risk, Early Breast Cancer (monarchE) // *J Clin Oncol.* 2020. Vol. 38, № 34. P. 3987–98.
 72. Alternate Approaches for Clinical Stage II or III Estrogen Receptor Positive Breast Cancer Neoadjuvant Treatment (ALTERNATE) in Postmenopausal Women : A Phase III Study. URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01953588> (дата обращения : 20.08.2022).
 73. Burstein H.J., Curigliano G., Thürlimann B., Weber W.P., Poortmans P., Regan M.M. et al. Customizing local and systemic therapies for women with early breast cancer : the St. Gallen International Consensus Guidelines for treatment of early breast cancer 2021// *Ann Oncol.* 2021. Vol. 32, № 10. P. 1216–35.
 74. Thomssen C., Balic M., Harbeck N., Gnant M. St. Gallen/ Vienna 2021 : A Brief Summary of the Consensus Discussion on Customizing Therapies for Women with Early Breast Cancer// *Breast Care (Basel).* 2021. Vol. 16, № 2. P. 135–43.
 75. Hacking S.M., Yakirevich E., Wang Y. From Immunohistochemistry to New Digital Ecosystems : A State-of-the-Art Biomarker Review for Precision Breast Cancer Medicine// *Cancers (Basel).* 2022. Vol. 14, № 14. P. 3469.
 76. Syed Y.Y. Oncotype DX Breast Recurrence Score®: A Review of its Use in Early-Stage Breast Cancer// *Mol Diagn Ther.* 2020. Vol. 24, № 5. P. 621–32.
 77. Sparano J.A., Gray R.J., Makower D.F., Pritchard K.I., Albain K.S., Hayes D.F. et al. Adjuvant Chemotherapy Guided by a 21-Gene Expression Assay in Breast Cancer// *N Engl J Med.* 2018. Vol. 379, № 2. P. 111–21.
 78. Nitz U., Gluz O., Christgen M., Kates R.E., Clemens M., Malter W. et al. Reducing chemotherapy use in clinically high-risk, genomically low-risk pN0 and pN1 early breast cancer patients : five-year data from the prospective, randomised phase 3 West German Study Group (WSG) PlanB trial// *Breast Cancer Res Treat.* 2017. Vol. 165, № 3. P. 573–83.
 79. Andre F., Ismaila N., Allison K.H., Barlow W.E., Collyar D.E., Damodaran S. et al. Biomarkers for Adjuvant Endocrine and Chemotherapy in Early-Stage Breast Cancer : ASCO Guideline Update// *J Clin Oncol.* 2022. Vol. 40, № 16. P. 1816–37.
 80. Brandão M., Pondé N., Piccart-Gebhart M. Mammprint™: a comprehensive review// *Future Oncol.* 2019. Vol. 15, № 2. P. 207–24.
 81. Drukker C.A., Bueno-de-Mesquita J.M., Retèl V.P., van Harten W.H., van Tinteren H., Wesseling J. et al. A prospective evaluation of a breast cancer prognosis signature in the observational RASTER study// *Int J Cancer.* 2013. Vol. 133, № 4. P. 929–36.
 82. Cardoso F., van't Veer L.J., Bogaerts J., Slaets L., Viale G., Delaloge S. et al. 70-Gene Signature as an Aid to Treatment Decisions in Early-Stage Breast Cancer// *N Engl J Med.* 2016. Vol. 375, № 8. P. 717–29.
 83. Wallden B., Storhoff J., Nielsen T., Dowidar N., Schaper C., Ferree S. et al. Development and verification of the PAM50-based Prosigna breast cancer gene signature assay// *BMC Med Genomics.* 2015. Vol. 8. P. 54.
 84. Puppe J., Seifert T., Eichler C., Pilch H., Mallmann P., Malter W. Genomic Signatures in Luminal Breast Cancer// *Breast Care (Basel).* 2020. Vol. 15, № 4. P. 355–65.
 85. Gnant M., Filipits M., Greil R., Stoeger H., Rudas M., Bago-Horvath Z. et al. Predicting distant recurrence in receptor-positive breast cancer patients with limited clinicopathological risk : using the PAM50 Risk of Recurrence score in 1478 postmenopausal patients of the ABCSG-8 trial treated with adjuvant endocrine therapy alone// *Ann Oncol.* 2014. Vol. 25, № 2. P. 339–45.
 86. Ohnstad H.O., Borgen E., Falk R.S., Lien T.G., Aaserud M., Sveili M.A. T. et al. Prognostic value of PAM50 and risk of recurrence score in patients with early-stage breast cancer with long-term follow-up// *Breast Cancer Res.* 2017. Vol. 19, № 1. P. 120.
 87. Глобал Индекс ПМЖ (Global Index BC). URL: <http://globalindexbc.ru/> (дата обращения 20.08.2022).
 88. Hall P.S., Smith A., Hulme C., Vargas-Palacios A., Makris A., Hughes-Davies L. et al. Value of Information Analysis of Multiparameter Tests for Chemotherapy in Early Breast Cancer : The OPTIMA Prelim Trial// *Value Health.* 2017. Vol. 20, № 10. P. 1311–18.
 89. Kjällquist U., Acs B., Margolin S., Karlsson E., Kessler L.E., Garcia Hernandez S. et al. Real World Evaluation of the Prosigna/ PAM50 Test in a Node-Negative Postmenopausal Swedish Population : A Multicenter Study// *Cancers (Basel).* 2022. Vol. 14, № 11. P. 2615.
 90. Markopoulos C., van de Velde C., Zarca D., Ozmen V., Masetti R. Clinical evidence supporting genomic tests in early breast cancer : Do all genomic tests provide the same information?// *Eur J Surg Oncol.* 2017. Vol. 43, № 5. P. 909–920.
 91. Bartlett J.M., Bayani J., Marshall A., Dunn J.A., Campbell A. et al. Comparing Breast Cancer Multiparameter Tests in the OPTIMA Prelim Trial : No Test Is More Equal Than the Others// *J Natl Cancer Inst.* 2016. Vol. 108, № 9. P. djw050.
 92. Buus R., Sestak I., Kronenwett R., Ferree S., Schnabel C.A., Baehner F.L. et al. Molecular Drivers of Oncotype DX, Prosigna, EndoPredict, and the Breast Cancer Index : A TransATAC Study// *J Clin Oncol.* 2021. Vol. 39, № 2. P. 126–135.
 93. Fernandez-Martinez A., Pascual T., Perrone G., Morales S., de la Haba J., González-Rivera M. et al. Limitations in predicting PAM50 intrinsic subtype and risk of relapse score with Ki67 in estrogen receptor-positive HER2-negative breast cancer// *Oncotarget.* 2017. Vol. 8, № 13. P. 21930–7.
 94. Noske A., Anders S.I., Ettl J., Hapfelmeier A., Steiger K. et al. Risk stratification in luminal-type breast cancer : Comparison

- of Ki-67 with EndoPredict test results// *Breast*. 2020. Vol. 49. P. 101–107.
95. Amezcua-Gálvez J.E., Lopez-Garcia C.A., Villarreal-Garza C., Lopez-Rivera V., Canavati-Marcos M., Santuario-Facio S. et al. Concordance between Ki-67 index in invasive breast cancer and molecular signatures: EndoPredict and MammaPrint// *Mol Clin Oncol*. 2022. Vol. 17, № 3. P. 132.
 96. University of Tennessee Medical Center. Updated Breast Cancer Nomograms: Prediction for a Low-risk and a High-risk Oncotype DX Recurrence Score. URL: <https://utgsm.shinyapps.io/OncotypeDXCalculator/> (дата обращения: 20.08.2022).
 97. PredictBreastCancer. URL: <https://breast.predict.nhs.uk/> (дата обращения 20.08.2022).
 98. Slembrouck L., Vanden Bempt I., Wildiers H., Smeets A., Van Rompuy A.S., Van Ongeval C. et al. Concordance between results of inexpensive statistical models and multigene signatures in patients with ER+ / HER2– early breast cancer// *Mod Pathol*. 2021. Vol. 34, № 7. P. 1297–1309.
 99. Yamaguchi K., Matsunuma R., Hayami R., Tsuneizumi M. Comparison of the Modified Immunohistochemical Marker Score and 21-Gene Recurrence Score Assay in Patients with Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer// *Oncology*. 2022. Vol. 100, № 3. P. 155–62.
 100. Wolff A.C., Hammond M.E. H., Allison K.H., Harvey B.E., Manghu P.B., Bartlett J.M. S. et al. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/ College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Focused Update// *J Clin Oncol*. 2018. Vol. 36, № 20. P. 2105–22.
 101. International Ki67 in Breast Cancer Working Group. URL: <https://www.ki67inbreastcancerwg.org/> (дата обращения: 20.08.2022).
 102. Polley M.Y., Leung S.C., Gao D., Mastropasqua M.G., Zabaglo L.A., Bartlett J.M. et al. An international study to increase concordance in Ki67 scoring// *Mod Pathol*. 2015. Vol. 28, № 6. P. 778–86.
 103. Leung S.C. Y., Nielsen T.O., Zabaglo L., Arun I., Badve S.S., Bane A.L. et al. Analytical validation of a standardized scoring protocol for Ki67: phase 3 of an international multicenter collaboration// *NPJ Breast Cancer*. 2016. Vol. 2. P. 16014.
 104. Тележникова И.М., Жукова Л.Г., Хатькова Е.И., Шурыгина Е.И., Сетдинова Г.Р. Применение методики визуальной интерпретации Global для оценки Ki67 при раке молочной железы// *Вопросы онкологии*. 2022. Т. 68, № 53. С. 124–5.
 105. Boyaci C., Sun W., Robertson S., Acs B., Hartman J. Independent Clinical Validation of the Automated Ki67 Scoring Guideline from the International Ki67 in Breast Cancer Working Group// *Biomolecules*. 2021. Vol. 11, № 11. P. 1612.
 106. Negahbani F., Sabzi R., Pakniyat Jahromi B., Firouzabadi D., Movahedi F., Kohandel Shirazi M. et al. PathoNet introduced as a deep neural network backend for evaluation of Ki-67 and tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer// *Sci Rep*. 2021. Vol. 11, № 1. P. 8489.
 107. Acs B., Pelekanou V., Bai Y., Martinez-Morilla S., Toki M., Leung S.C. Y. et al. Ki67 reproducibility using digital image analysis: an inter-platform and inter-operator study// *Lab Invest*. 2019. Vol. 99, № 1. P. 107–117.
 108. Rimm D.L., Leung S.C. Y., McShane L. M., Bai Y., Bane A.L., Bartlett J.M. S. et al. An international multicenter study to evaluate reproducibility of automated scoring for assessment of Ki67 in breast cancer// *Mod Pathol*. 2019. Vol. 32, № 1. P. 59–69.