



**МОСКОВСКИЙ КЛИНИЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ИМЕНИ А.С. ЛОГИНОВА**

**Кi67 при раке молочной железы (обновленные рекомендации): аналитическая валидность и эволюция методов оценки**

**Тележникова Инесса Михайловна**  
 Лаборатория инновационной патоморфологии, МКНЦ им. А.С. Логинова,  
 Отделение онкопатологии, НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова,  
 Референс-центр, МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского



**Конференция «Рак молочной железы»  
Сессия – Молекулярная диагностика**

Москва  
23.10.2021





Московский  
клинический  
научный центр

Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел.: +7 495 304 30 35  
[www.mknc.ru](http://www.mknc.ru)







*«Конфликт интересов отсутствует»*



Московский  
клинический  
научный центр

Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
[www.mknc.ru](http://www.mknc.ru)








**COLLEGE of AMERICAN  
PATHOLOGISTS**

### Template for Reporting Results of Biomarker Testing of Specimens from Patients with Carcinoma of the Breast

**Version:** 1.4.1.0  
**Protocol Posting Date:** [June 2021](#)  
This biomarker template is not required for accreditation purposes but may be used to facilitate compliance with CAP Accreditation Program Requirements

Процент Ki-67-положительных опухолевых клеток используется для разделения пациентов на группы с хорошим и плохим прогнозом, но **отсутствует консенсус** в отношении методики оценки, cut-off для положительности или того, какая часть опухоли должна быть оценена (инфильтративный край, горячие очаги, общее среднее значение). Также имеется нехватка данных о влиянии преаналитических переменных (время ишемии, продолжительность фиксации и т.д.). По этим причинам **рутинное тестирование РИЖ на экспрессию Ki-67 в настоящее время не рекомендовано ASCO/NCCN**

References

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



Надо  
подумать



Московский клинический научный центр

Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru




**COLLEGE of AMERICAN  
PATHOLOGISTS**

### Template for Reporting Results of Biomarker Testing of Specimens from Patients with Carcinoma of the Breast

**Version:** 1.4.1.0  
**Protocol Posting Date:** [June 2021](#)  
This biomarker template is not required for accreditation purposes but may be used to facilitate compliance with CAP Accreditation Program Requirements

**+Multiparameter Gene Expression / Protein Expression Assay (Note E)**

**+Name of Assay:** \_\_\_\_\_

**+Results**

Low risk

Moderate risk

High risk

**+Recurrence Score:** \_\_\_\_\_

**+Other Result (explain):** \_\_\_\_\_



Московский клинический научный центр

Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru

<https://www.cap.org/protocols-and-guidelines/cancer-reporting-tools/cancer-protocol-templates>



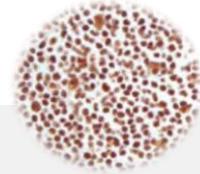
## Аналитическая валидность

Проблемы стандартизации включают в себя нарушение этапов:

- преаналитического
- аналитического
- постаналитического

Факторы, способствующие разногласиям между лабораториями:

- методика окрашивания
  - методика подсчета
  - Общее среднее значение (Global) или горячие точки (Hot spot)?
  - Проблема пограничного значения (Cut-off %), 5/10/14/20/25?
  - Сколько клеток считать 400/500/1000?
  - субъективность оценки
- возможность применения цифровых анализаторов изображения (digital image analysis)



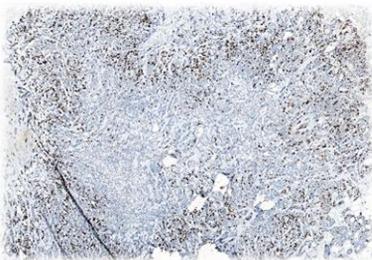
Московский  
клинический  
научный центр

Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru

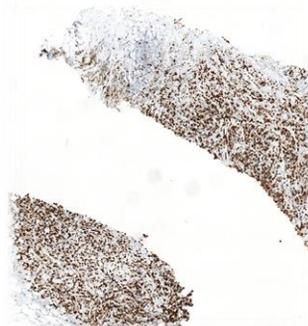


## Аналитическая валидность (аналитический этап) выбор области опухоли/метод подсчета

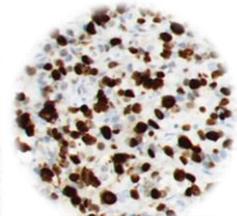
Характеристика распределения



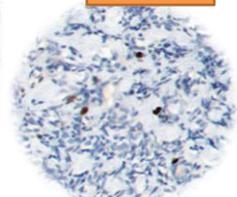
Краевое



Диффузное



Высокий



Низкий



Московский  
клинический  
научный центр

Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru

Изображения (обезличенные) из цифрового архива МКНЦ



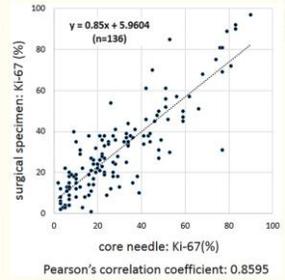
**Аналитическая валидность**  
(Преаналитический этап)

Фиксация!!

Правильная фиксация хирургического образца критически важна для стандартной оценки Ki-67 по сравнению с ER и HER2

A	Ki-67	41%	36%	26%	28%	27%	21%	17%
	ER	2d	8d	14d	21d	28d	45d	60d
B	Ki-67	74%	56%	40%	30%	26%	18%	13%
	HER-2	2d	14d	28d	42d	56d	70d	84d

A	Ki-67	33%	5%
	HER-2	C	D



core needle: Ki-67(%)  
surgical specimen: Ki-67(%)  
Pearson's correlation coefficient: 0.8595



Московский клинический научный центр

Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru

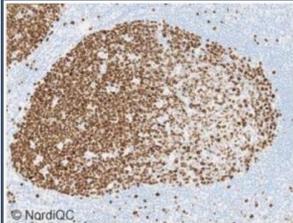
J Clin Pathol. 2016; 69 (3): 255–259



**Аналитическая валидность**  
(Пре- и аналитический этап)

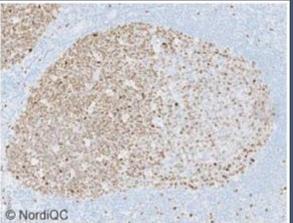
Контроль

Optimal protocol settings



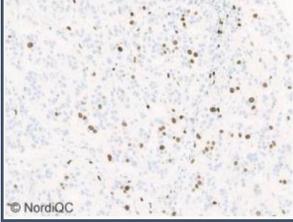
© NordiQC

Too diluted Ab



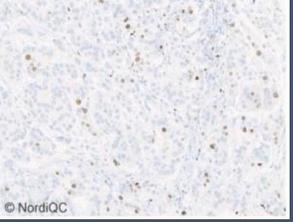
© NordiQC

© NordiQC



© NordiQC

© NordiQC



© NordiQC



Московский клинический научный центр

Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru

NordiQC Workshop, September 29th – October 1st 2021

**Аналитическая валидность**  
(Пре- и аналитический этап)

Ядерное окрашивание клеток опухоли любой интенсивности и различного типа (нуклеарный/перинуклеарный, нуклеоплазмальный, перихромосомный) оценивается как позитивное

Negative nuclei are ordered from weakest to strongest blue stain.

Positive nuclei are ordered from weakest to strongest brown stain.

Московский клинический научный центр  
Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru

Instructions for Ki67 Reproducibility Study Phase 3b:  
Whole Sections

**Аналитическая валидность (аналитический этап)**  
выбор области опухоли/метод подсчета

**Сколько клеток считать?**

- В рекомендациях (IKWG, 2011) предлагали вести подсчет минимум 500 клеток, а лучше 1000
- Согласно исследованиям Romero et.al. (2014)
  - подсчет до 400 клеток дает наиболее точный результат
  - подсчет более 500 клеток приводит к снижению индекса Ki67 вследствие «разбавления»
- В рекомендациях (IKWG, 2020) предлагают вести подсчет в 400 клетках

Эффект «разбавления» при подсчете более 500 клеток

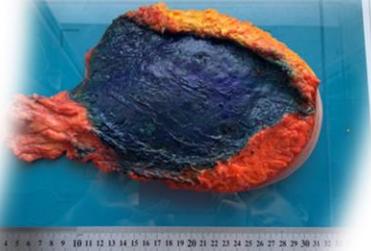
Московский клинический научный центр  
Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru

Diagn Pathol. 2014; 9: 118, BMC Cancer 2011, 11:341  
JNCI J Natl Cancer Inst (2021) 113(7): djaa201

**Аналитическая валидность  
Может быть достигнута!**



Команда специалистов международного уровня  
Сочетание традиционных подходов в лечении с внедрением самых современных инновационных технологий




Изображения (обезличенные) из цифрового архива МКНЦ

МКНЦ Московский клинический научный центр  
Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru

**Аналитическая валидность  
(Пре- и аналитический этап)**

✓ 101 шаг к лучшей гистологии - практическое руководство по надлежащей гистологической практике. Geoffrey Rolls, Leica Microsystems  
<https://www.leicabiosystems.com/knowledge-pathway/101-steps-to-better-histology-a-practical-guide-to-good-histology-practice/>

**101 STEPS TO BETTER HISTOLOGY**



**Step 7**  
Use Sufficient Fixative and a Suitable Container

- ✓ An adequate volume of fixative (ratio of at least 20:1) is used in a container of an appropriate size. This avoids distortion of the fresh specimen and ensures good quality fixation.
- ✗ Specimens are sometimes squashed into a small container with insufficient fixative to cover the specimen surface.



This container is too small for the mass of tissue it contains. There is insufficient fixative present and the specimen may well have been distorted as it was pushed into the container.

МКНЦ Московский клинический научный центр  
Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru

## Клиническая значимость маркера ki-67

Workshop EMEA-LATAM

### The role of the pathologist in breast cancer diagnosis



**1990**

"The pathologist is a **consultant in breast cancer management** whose responsibility is to establish the **histologic diagnosis** of cancer, as well as its anatomic extend."<sup>1</sup>

**2020**

"Pathologists as **Diagnostic Oncologist**"<sup>2,3</sup>

- ✓ Interpretation, reporting, integration<sup>3</sup>
- ✓ Clinical relevance
- ✓ Standards, guidelines
- ✓ Communicate

1) Hutter RV. Cancer. 1990 Sep 15;66 (6 Suppl):1363-72. | 2) Masood S. Breast J. 2020 Jan;26 (1):27-34. | 3) Allison K. Prognostic and Predictive Parameters in Breast Pathology. Long Course USCAP 2020

МКНЦ Московский клинический научный центр

Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ И ПРЕДИКТИВНАЯ ЗНАЧИМОСТЬ МАРКЕРА КИ-67

### Прогностическая и предиктивная значимость маркера Ki-67

#### Клиническая валидность?

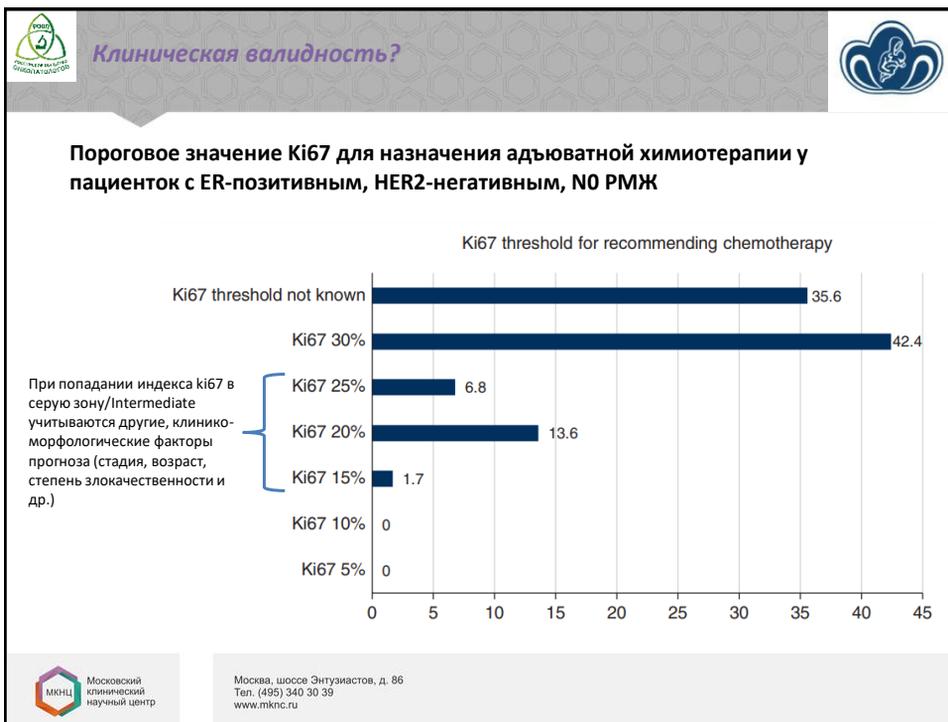
#### Маркер Ki-67:

- Доступный, недорогой ценный прогностический и предиктивный маркер в предоперационный период
- Важный маркер ответа на неoadъювантную терапию (НАТ)
- ✓ Следует отдельно выделить значимость Ki-67 при оценке ответа на эндокринную НАТ при кратковременном индукционном курсе лечения, для возможности деэскалации адъювантной химиотерапии локализованного Люминального РМЖ

МКНЦ Московский клинический научный центр

Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru

Тип РМЖ	Показатель ki67 (%)	Клиническая значимость	Большинство голосов экспертов (%)
ER-positive HER2-negative T1-2 N0-1	≤5	Не является достаточным основанием для проведения химиотерапии	62
	≥30	Может служить основанием для проведения химиотерапии	
node-negative ER-positive PR-positive HER2-negative	≥30	Может служить основанием для проведения химиотерапии	42 Следует отметить, что 36% членов группы заявили, что порог неизвестен
ER-positive HER2-negative	Ki-67 должен быть протестирован во всех случаях	Для принятия решения о целесообразности проведения химиотерапии	61
after neoadjuvant endocrine therapy (NET)	Ki-67 должен быть протестирован во всех случаях	Для оценки ответа на NET 70% участников группы также считают, что изменения Ki-67 после 2 или более недель NET могут быть использованы для оценки прогноза	68





## Прогностическая и предиктивная значимость маркера Ki-67

**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**

Rui Chen<sup>1</sup>, Yin Yu<sup>1</sup>, Chengcheng Yang<sup>1</sup>, Yang Peng<sup>1</sup>, Biqin Zeng<sup>1</sup>, Fanli Qu<sup>1</sup>, Zhenrong Tang<sup>1</sup>, Yihua Wang<sup>1</sup>, Zhibang Su<sup>1</sup>, Hongyuan Li<sup>1</sup>, Guanglin Yang<sup>1</sup>, Shengchen Liu<sup>1</sup>

# Ki-67

Higher Ki-67 pre-treatment evaluation

→

Better pCR rates in all breast cancer subtypes

→

Particularly in HER2 positive and TNBC

**Важный прогностический маркер ответа на неoadъювантную химиотерапию**

**Table 1** Clinicopathological characteristics of pre-NAC according to clinical and pathological response

Characteristic	Clinical response			Pathology response		
	cCR	Non-cCR	P value	pCR	Non-pCR	P value
Age (year)			0.384			0.466
< 40	95	35		30	113	
≥ 40	630	230		111	766	
Menopausal			0.058			0.902
Yes	265	134		52	347	
No	440	171		79	532	
Tumor size (cm)			< 0.001			0.039
< 4	391	205		88	505	
≥ 4	314	190		43	371	
Clinical nodal status			0.03			0.289
Yes	346	127		67	406	
No	359	178		64	473	
ER status			0.004			< 0.001
Positive	442	190		56	576	
Negative	263	115		75	303	
PR status			0.542			< 0.001
Positive	332	150		32	450	
Negative	373	155		99	429	
Her2 status			0.092			0.233
Positive	230	96		48	318	
Negative	348	166		54	460	
Ki67 expression (%)			< 0.001			< 0.001
< 14	182	113		16	279	
≥ 14	523	192		115	600	

cCR: pCR and cPR; Non-cCR: Non-pCR and cPR



Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru





## Прогностическая и предиктивная значимость маркера Ki-67

### Промежуточные результаты собственного научного исследования

#### Ki67 у пациенток с остаточной опухолью и без нее

Остаточная опухоль	21-30 (%)	31-45 (%)	46-70 (%)	71-100 (%)
Есть	29.4%	35.3%	5.9%	29.4%
Нет	8.3%	16.7%	75.0%	0%

- ❖ Результаты сравнительного анализа статуса ki67 у пациенток в зависимости от наличия остаточной опухоли после NAT
- ❖ В случае наличия остаточной опухоли значение Ki67 было статистически значимо (p = 0,0077) ниже (36% (30–75)) по сравнению с пациентками без остаточной опухоли (85% (78,8–90))

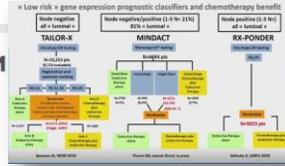


Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru



## Значимость ki-67 при оценке ответа на эндокринную неоадьювантную терапию

### ADAPT HR+/HER2-: Адьювантная ЭТ+/-ХТ при люминальном РМЖ



Phase III trial

Part 1: Current analysis evaluated prognostic impact of RS < 26 and Ki67 decrease after short-course of preoperative ET in the ET alone arm and is not a randomized comparison

Adult patients with HR+/HER2- unilateral luminal EBC; cT1-4c, cN0-3; candidates for adjuvant CT by conventional prognostic criteria\* (N = 4691)

Baseline biopsy evaluated for RS score (Oncotype Dx) and Ki-67 expression; surgical specimen evaluated for Ki-67 expression† after short ET run-in

pN2-3  
pN0-1/RS > 25  
Ki67<sub>post</sub> > 10%  
pN0-1/RS 12-25/  
Ki67<sub>post</sub> ≤ 10%  
pN0-1/RS 0-11

Chemotherapy followed by ET (n = 2335)

ET alone (n = 2356)

\*cT2 or G3 or Ki67 ≥ 15% or < 35 yrs old or cN+.  
† Ki67<sub>post</sub> ≤ 10% = ET response.

Key secondary endpoints: dDFS, OS, translational research

Primary endpoint: 5-yr iDFS

Part 1: noninferiority for pN0-1/RS 12-25/Ki67<sub>post</sub> ≤ 10% vs pN0-1/RS 0-11

Harbeck. SABCS 2020. Abstr G54-04.



Московский клинический научный центр

Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru

М.А. Фролова, 15-16 января 2021 RUSSCO. Исследования изменившие клиническую практику при РМЖ в 2020 г., the 17th St. Gallen International Breast Cancer Conference 2021

## Значимость ki-67 при оценке ответа на эндокринную неоадьювантную терапию. Опыт МКНЦ им. А.С. Логинова

При кратковременном индукционном курсе неоадьювантной гормональной терапии, Ki-67 тестируется во всех случаях с целью динамической оценки уровня пролиферативной активности в первичной опухоли на п/о образцах



Московский клинический научный центр

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ГОРОДА МОСКВЫ «МОСКОВСКИЙ КЛИНИЧЕСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ИМЕНИ А.С. ЛОГИНОВА ДЕПАРТАМЕНТА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ГОРОДА МОСКВЫ» (ГБУЗ МКНЦ ИМЕНИ А.С. ЛОГИНОВА ДЗМ)  
111123, г. Москва, ш. Энтузиастов д. 86, тел.: 8 495 304 30 39, 8 495 304 3040, info@mknc.ru, сайт: www.mknc.ru

### Протокол прижизненного патологоанатомического исследования биопсийного (операционного) материала

Комментарии к заключению: при динамической оценке уровня пролиферативной активности в первичном раке молочной железы после неоадьювантной гормональной терапии выявлено значительное снижение индекса Ki67 с 35% до 2%.



Московский клинический научный центр

Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru

**Прогностическая и предиктивная значимость маркера Ki-67**  
**Суррогатная иммуногистохимическая молекулярная субклассификация РМЖ**

### MOLECULAR TAXONOMY OF BREAST CANCER

Molecular Subtypes:	Basal	HER2-E	Luminal B	Luminal A
% of breast cancers:	15-20%	10-20%	20-30%	40-60%
Receptor expression:	HER2+, ER-	HER2+, ER+	HER2-, ER+	HER2-, ER+
Histologic grade:	High grade	High grade	High grade	Low grade
Recurrence risk:	High risk in short term	High risk in short term	Low risk but over longer term	Low risk but over longer term
Therapies used:	Chemotherapy, HER2 Rx	Chemotherapy, HER2 Rx	Chemotherapy, Endocrine Rx	Chemotherapy, Endocrine Rx

*Perou & T Sorlie*

ER + 80%  
ER - 20%

Basal  
HER2

Luminal A  
Luminal B

МКНЦ Московский клинический научный центр  
 Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
 Тел. (495) 340 30 39  
 www.mknc.ru

(Virtually in) Cape Town, South Africa, 11-12 February 2021  
 ESMO preceptorship on breast cancer,  
 WHO classification – 5th Edition, 2019

**Прогностическая и предиктивная значимость маркера Ki-67**  
**Проблема оптимального пограничного значения/cut-off**

WHO classification – 5th Edition, 2019

Ki-67 low (?) **консенсуса нет**

Ki-67 high (> 30%)

Подобный люминальному А  
Подобный люминальному В

Российские клинические рекомендации 2020

Молекулярно-биологический подтип	Имуногистохимическое (суррогатное) определение подтипа
Люминальный А	Наличие всех факторов: ER-позитивный HER2-негативный Ki67 низкий* (< 20%) PR высокий (> 20%)
<b>Серая зона/ Intermediate (20-30%)**</b>	
Люминальный В HER2-	ER-позитивный HER2-негативный Наличие одного из следующих факторов: Ki67 высокий (> 30%) PR низкий (< 20%)

\* — Значение Ki67 следует оценивать, исходя из опыта локальной патоморфологической лаборатории  
 \*\* — При попадании индекса Ki67 в серую зону/Intermediate следует учитывать другие, клинико-морфологические факторы прогноза (стадию, возраст, степень злокачественности и др.)

МКНЦ Московский клинический научный центр  
 Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
 Тел. (495) 340 30 39  
 www.mknc.ru

(Virtually in) Cape Town, South Africa, 11-12 February 2021  
 ESMO preceptorship on breast cancer,  
 WHO classification – 5th Edition, 2019

Генетические тесты, используемые в клинической практике для прогнозирования риска рецидива заболевания у пациентов с ER+/HER2- РМЖ

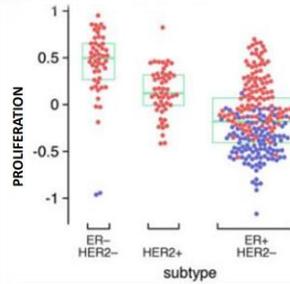


The Status of Test Guided Therapy in 2021



Классифицируют пациентов на классы по рискам:

- низкий
- средний
- высокий



Главный фокус – выгода от адьювантной химиотерапии

МКНЦ Московский клинический научный центр

Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru

the 33rd European Congress of Pathology 2021, South Africa, 11-12 February 2021 ESMO preceptorship on breast cancer, the 17th St.Gallen International Breast Cancer Conference 2021

Генетические тесты, используемые в клинической практике для прогнозирования риска рецидива заболевания у пациентов с ER+/HER2- РМЖ



- ✓ Каждый тест валидирован независимо друг от друга
- ✓ Как выбрать подходящий тест?
- ✓ Какой из них дает наиболее полную и точную информацию для прогнозирования?
- ✓ Плохая корреляция между тестами по категории рисков
- ✓ В соответствии с проведенными исследованиями два теста могут быть лучше, чем один
- ✓ **Значительное финансовое бремя для системы здравоохранения** - было предпринято несколько попыток разработать недорогие инструменты, которые могли бы предсказать оценку риска рецидива, полученную на основе геномной оценки, с использованием легко доступных клинических параметров и маркера ki-67 в качестве категориального показателя:

<https://utgsm.shinyapps.io/OncotypeDXCalculator/>  
<https://breast.predict.nhs.uk/>

Supplementary Table 7: Number of tests agreeing with each test using an alternative categorization of low risk versus combined intermediate and high risk categorization\*

Number of other tests agreed with test	Oncotype DX, No (%)	Prosigna, No (%)	MammaPrint, No (%)	ИHC4, No (%)	ИHC4-AQUA, No (%)
4	91 (30.1%)	91 (30.1%)	91 (30.1%)	91 (30.1%)	91 (30.1%)
3	68 (22.6%)	61 (20.2%)	65 (21.5%)	56 (18.6%)	51 (16.9%)
2	67 (22.2%)	81 (26.8%)	59 (19.6%)	60 (19.9%)	82 (27.1%)
1	53 (17.5%)	43 (14.3%)	63 (20.9%)	30 (9.9%)	35 (11.6%)
0	22 (7.3%)	23 (7.6%)	20 (6.6%)	20 (6.6%)	12 (4.0%)
Missing	1 (0.3%)	3 (1.0%)	4 (1.3%)	45 (14.9%)	31 (10.3%)

\*Only 91 (30.1%) tumours agreed across all tests (23 [7.6%] tumours were low risk; 68 [22.5%] tumours were intermediate or high risk).



➤ WHO classification – 5th Edition, 2019:

Следует отметить, что согласно исследованию АТАС, ИHC4-тест предсказывает остаточный риск отдаленного рецидива у пациентов, получающих адьювантную эндокринную терапию, так же надежно, как и RS 21-гена, хотя он не получил одобрения регулирующих органов [426].

МКНЦ Московский клинический научный центр

Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru

the 33rd European Congress of Pathology 2021, the 17th St.Gallen International Breast Cancer Conference 2021, J Natl Cancer Inst. 2016 Apr; 108(9): djw050

*Генетические тесты, используемые в клинической практике для прогнозирования риска рецидива заболевания у пациентов с ER+/HER2- ПМЖ*

<https://breast.predict.nhs.uk/tool>

Ki-67 status  Positive  Negative  Unknown

**Позитивным считается при значении более 10%**

**predict**  
breast cancer

Home About Predict Predict Tool Contact Legal Change Language

We recommend that patients use this tool in consultation with their doctor.

**Reset** Predict is not designed to be used in all cases. [Click here for more details.](#)  
If you are unsure of any inputs or outputs, click on the **i** buttons for more information.

DCIS or LCIS only?  Yes  No

Age at diagnosis     
Age must be between 25 and 85

Post Menopausal?  Yes  No  Unknown

ER status  Positive  Negative

HER2 status  Positive  Negative  Unknown

Ki-67 status  Positive  Negative  Unknown  
Positive means more than 10%

Invasive tumour size (mm)     
If there was more than one tumour, enter the size of the largest tumour. If neo-adjuvant therapy was undertaken, enter the size before neo-adjuvant therapy.

Tumour grade  1  2  3

Detected by  Screening  Symptoms  Unknown

Positive nodes

Micrometastases only  Yes  No  Unknown  
Enabled when positive nodes is 1.

*Генетические тесты, используемые в клинической практике для прогнозирования риска рецидива заболевания у пациентов с ER+/HER2- ПМЖ*

**Использование генных сигнатур у пациенток с ER+/HER2- ПМЖ, Рекомендации группы экспертов St. Gallen 2021**

Category	Routine testing (%)	Testing in select cases (%)	No testing (%)
Premenopausal	22	68	10
Postmenopausal	32	63	5
Male	18	57	25
LN-negative	30	65	5
LN-positive 1-3	13	83	4
LN-positive ≥4	0	20	80
Low-grade	7	60	33
Intermediate-grade	25	70	5
High-grade	28	62	10

Routine testing    
 Testing in select cases    
 No testing

Московский клинический научный центр  
Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru

BCRF BREAST CANCER RESEARCH FOUNDATION **Ki67** BREAST CANCER INTERNATIONAL WORKING GROUP

*Обновленные рекомендации международной рабочей группы по интерпретации Ki67 при РМЖ (IKWG, 2020)*

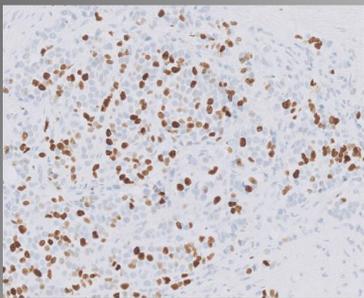
<https://www.ki67inbreastcancerwg.org/>

2020

Average global scoring method proposed

# International Ki67 in Breast Cancer Working Group

Welcome to the International Ki67 in Breast Cancer Working Group



МКНЦ Московский клинический научный центр

Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru

BCRF BREAST CANCER RESEARCH FOUNDATION **Ki67** BREAST CANCER INTERNATIONAL WORKING GROUP

*Обновленные рекомендации международной рабочей группы по интерпретации Ki67 при РМЖ (IKWG, 2020)*

## Workshop EMEA-LATAM

### Ki67 score

IKWG Scoring Method for Ki-67 in Breast Cancer

1. Review the whole slide and input estimates of the % area with negligible, low, medium or high Ki-67 index
2. Allocate a total of 4 fields according to protocol
3. Score 100 nuclei negative or positive in each field, 400 cells
4. Record "Weighted global score" output as the Ki-67 index for that slide.

<5% low

5-30% intermediate

>30% high

NPJ Breast Cancer. 2016; 2: 16014  
IKWG, Ki67-Phase-3b-WS-protocol-v1  
Workshop EMEA-LATAM Roche 2021

МКНЦ Московский клинический научный центр

Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru

BCRF BREAST CANCER RESEARCH FOUNDATION  
 Ki67 BREAST CANCER INTERNATIONAL WORKING GROUP

**Обновленные рекомендации международной рабочей группы по интерпретации Ki67 при РМЖ (IKWG, 2020)**

**International Ki67 reproducibility working group Phase 3 study**

- 22 лаборатории
- 30 образцов кор-биопсии РМЖ окрашенных центральной лабораторией
- методика подсчета:
  1. Общее среднее значение/ глобальный (unweighted global)
  2. Общее среднее значение /средневзвешенный глобальный (weighted global)
  3. Горячая точка (hot spot)

**BIG-NABCG Ki67 Working Group (phase 3)**

Centre Jean Perrin, France: Frédérique Penault-Llorca, MD, PhD  
 Baylor College of Medicine, US: Carolina Gutierrez, MD, FCAP  
 C. Kent Osborne, MD  
 Dietrich Bonhoeffer Medical Center, Germany: Thomas Decker, MD  
 Cornelia Marlene Focke, MD  
 European Institute of Oncology, Italy: Mauro Mastropasqua, MD (and University of Milan): Giuseppe Viale, MD, FRCPath  
 Fred Hutchinson Cancer Research Center, US: Ming-Gang Lin, MD  
 Peggy Porter, MD  
 Heart of England NHS (Birmingham), UK: Jane Starczynski, PhD  
 Institute of Cancer Research / Royal Marsden Hospital, UK: Roger A'Hern, MSc  
 Mitch Dowsett, PhD, BSc  
 Janine Salter, PhD  
 Ian Smith, FRCP, FRCPE  
 Lila Zabaglio, PhD  
 Andrew Dodson, MPhil

**Leads: Drs. Nielsen, McShane, Hayes, Dowsett**

Indiana University Simon Cancer Centre, US  
 Sunil Badve, MBBS, MD, FRCPath  
 Kawasaki Medical School, Japan: Takuya Moriya, MD, PhD  
 Jichi Medical University, Japan: Takashi Sakatani, MD, PhD  
 Jules Bordet Institute, Belgium: Denis Laramont, MD, PhD  
 Roberto Salgado, MD, PhD  
 Christos Sotiriou, MD, PhD  
 Lund University, Sweden: Signe Borgquist, MD, PhD  
 Dörthe Grabau, MD, PhD  
 McMaster University, Canada: Ajita Bane, PhD, MB, BAO, BCh  
 Montefiore / Albert Einstein, US: Susan Fineberg, MD  
 Mount Sinai Hospital, Canada: Martin C. Chang, MD, PhD, FRCPC

PhenoPath, US: Allen Gown, MD  
 Region Sjælland, Denmark: Anne-Vibeke Lærnkholm, MD  
 Sunnybrook Health Sciences Centre, Canada: Sharon Nofsch-Lozes, MD  
 Tata Medical Center, India: Indu Arun, MD  
 University of Alberta, Canada: Judith Hugh, MD  
 University of British Columbia, Canada: Torsten Nielsen, MD, PhD, FRCPC  
 Doris Gao, MD  
 Samuel Leung, MSc  
 The Ottawa Hospital, Canada: Zuzana Kos, MD, FRCPC  
 University of Edinburgh, UK: Tammy Piper  
 University of Michigan, US: Daniel Hayes, MD  
 Lynn Henry, MD, PhD  
 U.S. National Cancer Institute: Lisa McShane, PhD  
 EMMES: Rebecca Enos, RN, MPH



Standardization of Ki67 in breast cancer prognostication  
 3rd NordiQC Conference on Applied Immunohistochemistry, 8th June 2017

МКНЦ Московский клинический научный центр  
 Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
 Тел. (495) 340 30 39  
 www.mknc.ru

BCRF BREAST CANCER RESEARCH FOUNDATION  
 Ki67 BREAST CANCER INTERNATIONAL WORKING GROUP

**Обновленные рекомендации международной рабочей группы по интерпретации Ki67 при РМЖ (IKWG, 2020)**

**International Ki67 reproducibility working group Phase 3 study**

Название методики	Алгоритм методики
<b>unweighted global</b>	Глобальные методы оценивают средний балл или долю позитивных клеток на всю доступную площадь инвазивной опухоли в препарате. Оценка Ki67 выполняется одинаково, но окончательный подсчет индекса рассчитывается разными формулами
weighted global	
hot spot	

$$\text{unweighted Ki67 score} = \frac{\text{total \# of +ve tumor nuclei counted in all fields}}{\text{total \# of tumor nuclei counted in all fields}} \times 100$$

$$\text{weighted Ki67 score} = \frac{\sum_i \text{in \{neg, low, med, high\}} \% \text{ of slide with } i^{\text{th}} \text{ staining category} \times \text{total \# of +ve tumor nuclei counted in fields with } i^{\text{th}} \text{ staining category}}{\text{total \# of tumor nuclei in fields with } i^{\text{th}} \text{ staining category}} \times 100$$

МКНЦ Московский клинический научный центр  
 Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
 Тел. (495) 340 30 39  
 www.mknc.ru

NPI Breast Cancer, 2016; 2: 16014.  
 IKWG, Ki67-Phase-3b-WS-protocol-v1

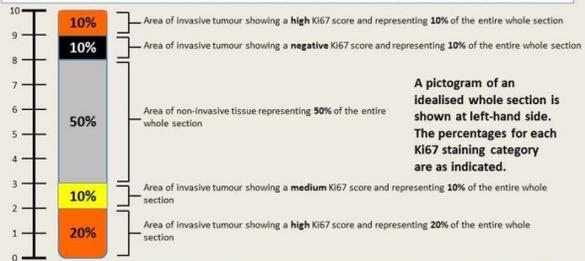


**Обновленные рекомендации международной рабочей группы по интерпретации Ki67 при РМЖ (IKWG, 2020)**

### International Ki67 reproducibility working group Phase 3 study

Методика (unweighted global)

**ESTIMATING THE PERCENTAGE OF KI67 STAINED INVASIVE TUMOUR NUCLEI: EXAMPLE 1**



$$\text{Relative \% of invasive tumour nuclei in a particular Ki67 staining category} = \frac{\text{Total \% of invasive tumour nuclei in that category}}{\text{Total \% of all invasive tumour nuclei present}} \times 100$$

In this whole section the invasive tumour represents 50% of the total nuclei present (the other 50% is non-invasive tumour or non-tumoural). Therefore, when estimating the percentages of invasive tumour nuclei exhibiting various categories of staining the calculation is as shown in the table:

Category	Absolute % of total nuclei	Relative % of invasive tumour nuclei
Negative	10%	10/50 x 100 = 20%
Low	0%	0%
Medium	10%	10/50 x 100 = 20%
High	10% + 20% = 30%	30/50 x 100 = 60%



Московский клинический научный центр

Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru

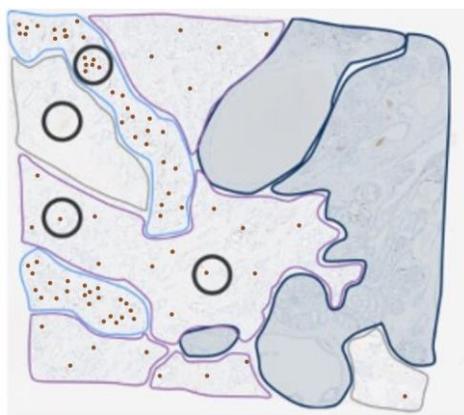
NPJ Breast Cancer. 2016; 2: 16014.  
IKWG, Ki67-Phase-3b-WS-protocol-v1



**Обновленные рекомендации международной рабочей группы по интерпретации Ki67 при РМЖ (IKWG, 2020)**

### International Ki67 reproducibility working group Phase 3 study

Методика (unweighted global)



**Оценить процентную долю ткани без инвазивной опухоли:**  
Нормальная ткань и карцинома in situ: 35%

**В инвазивном компоненте опухоли оценить процентную долю по каждой из 4 категорий уровня пролиферативной активности по ki-67:**

- High: 0%
- Medium: 15%
- Low: 40%
- Negative/negligible: 10%

}

65%



Московский клинический научный центр

Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru

NPJ Breast Cancer. 2016; 2: 16014.  
IKWG, Ki67-Phase-3b-WS-protocol-v1  
Workshop EMEA-LATAM Roche 2021

BCRF BREAST CANCER RESEARCH FOUNDATION  
 Ki67 BREAST CANCER INTERNATIONAL WORKING GROUP

*Обновленные рекомендации международной рабочей группы по интерпретации Ki67 при РМЖ (IKWG, 2020)*

**International Ki67 reproducibility working group Phase 3 study**  
 Методика (unweighted global)

**Этап присвоения количества репрезентативных полей**

Выбираем 4 поля по алгоритму «превалирования» категории:

- Medium: 1 поле
- Low: 2 поля
- Negative/negligible: 1 поле

Оценить процентную долю ткани без инвазивной опухоли:  
 Нормальная ткань и карцинома in situ: 35%

**В инвазивном компоненте опухоли оценить процентную долю по каждой из 4 категорий уровня пролиферативной активности по ki-67:**

- High: 0%
- Medium: 15%
- Low: 40%
- Negative/negligible: 10%

} 65%

Доля позитивных клеток  $\frac{18+10+6+1}{400} \times 100 = 9\%$



Московский клинический научный центр

Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
 Тел. (495) 340 30 39  
 www.mknc.ru

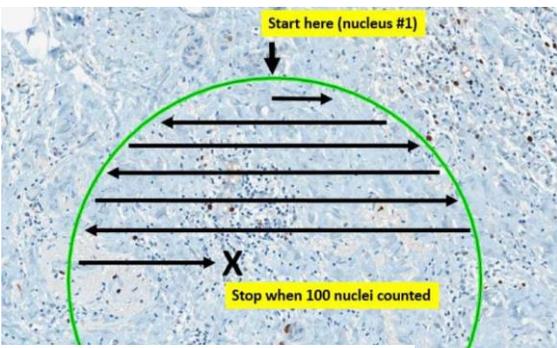
NPI Breast Cancer. 2016; 2: 16014.  
 IKWG, Ki67-Phase-3b-WS-protocol-v1  
 Workshop EMEA-LATAM Roche 2021

BCRF BREAST CANCER RESEARCH FOUNDATION  
 Ki67 BREAST CANCER INTERNATIONAL WORKING GROUP

*Обновленные рекомендации международной рабочей группы по интерпретации Ki67 при РМЖ (IKWG, 2020)*

**International Ki67 reproducibility working group Phase 3 study**  
 Методика (unweighted global)

Шаблон «пишущей машинки», x40      4 поля/по 100 клеток



unweighted Ki67 score =  $\frac{\text{total \# of +ve tumor nuclei counted in all fields}}{\text{total \# of tumor nuclei counted in all fields}} \times 100$

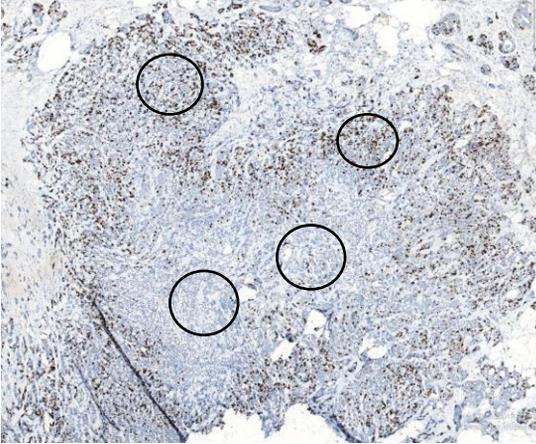
Доля позитивных клеток  $\frac{18+10+6+1}{400} \times 100 = 9\%$

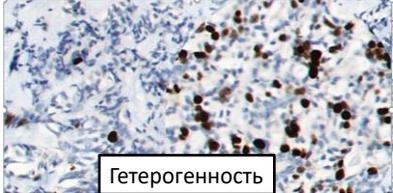
IKWG, Ki67-Phase-3b-WS-protocol-v1

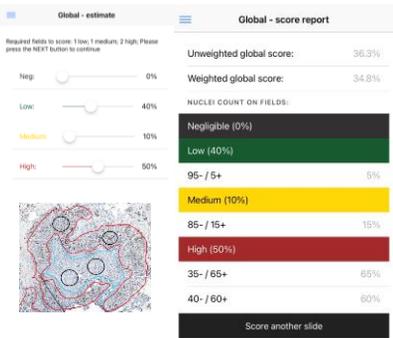



**Обновленные рекомендации международной рабочей группы по интерпретации Ki67 при РМЖ (IKWG, 2020) Опыт МКНЦ им. А.С. Логинова**

**International Ki67 reproducibility working group Phase 3 study**  
**Методика (unweighted global)**







Global - score report	
Unweighted global score:	36.3%
Weighted global score:	34.8%
NUCLEI COUNT ON FIELDS:	
Negligible (0%)	
Low (40%)	
95- / 5+	9%
Medium (10%)	
85- / 15+	15%
High (50%)	
35- / 65+	65%
40- / 60+	60%



Московский клинический научный центр

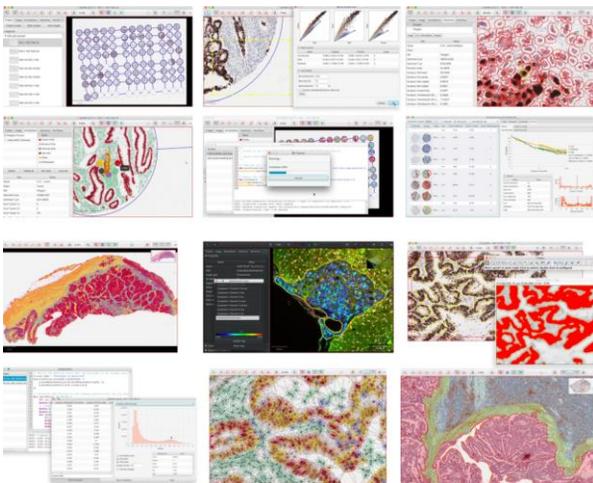
Изображения (обезличенные) из цифрового архива МКНЦ

**Обзор существующих вспомогательных инструментов**  
*Artificial Intelligence and Machine Learning for Digital Pathology*



**Многообещающим является использование методов автоматизированного анализа цифровых изображений:**

- ✓ QuPath – открытая, гибкая, программная платформа для анализа биоизображений
- ✓ Программные модули для количественной оценки ядерной реакции от производителей сканеров гистологических стекол
- ✓ Другие коммерческие платформы машинного и глубокого обучения для цифровой патологии
- ✓ Приложение для смартфонов (Android /iOS)





Московский клинический научный центр

Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
 Тел. (495) 340 30 39  
 www.mknc.ru

<https://qupath.github.io/>  
 IKWG, Ki67-Phase-3b-W5-protocol-v  
 THE MULTIDISCIPLINARY VIRTUAL MASTERCLASS ON BREAST CANCER  
 Unique input of imaging, pathology and genetics for theranostic purposes 2021 American Hospital of Paris,  
 the 33rd European Congress of Pathology

**Обзор существующих вспомогательных инструментов**  
*Опыт МКНЦ им. А.С. Логинова*



**B. Lindequist et al.**

**Sample ID: Image\_1**  
**Date: 9.12.2018 17:11**  
**DAB / nuclear area: 45.9%**

✓ В 2021 году заключен договор о научно-техническом сотрудничестве в рамках совместной реализации проектов в сфере «искусственного интеллекта»

✓ По направлению РМЖ начата разработка технического задания

Московский  
клинический  
научный центр

Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru

ImmunoRatio (автоматизированный анализ обезличенного изображения из цифрового архива МКНЦ)

**Что пишем в заключении?**  
**Отсутствие консенсуса среди российских специалистов!!!**

Результаты исследования рецепторного статуса по Allred:  
 Er - выраженная ядерная реакция в 98% опухолевых клеток, 5(PS) +3(IIS) =8(TS).  
 Pr - слабовыраженная ядерная реакция в 60% опухолевых клеток, 4(PS) +1(IIS) =5(TS).  
 Оценка HER2-статуса по ASCO/CAP<sup>18</sup>:  
 HER2-статус: 1+ (слабое неполное мембранное окрашивание более 10% опухолевых клеток)  
 Ki-67: 3%

Иммуногистохимическое заключение	
Инвазивный рак молочной железы, Er-позитивный, Pr-позитивный, Her2 статус отрицательный	
Результаты исследования: E-кадгерин - диффузная яркая мембранная реакция в клетках опухоли; Результаты исследования рецепторного статуса по Allred: Er - умеренно выраженная ядерная реакция в 98% опухолевых клеток, 5(PS) +2(IIS) =7(TS). Pr - умеренно выраженная ядерная реакция в 60% опухолевых клеток, 4(PS) +2(IIS) =6(TS). Оценка HER2-статуса по ASCO/CAP <sup>18</sup> : HER2-статус: 1+ (слабое неполное мембранное окрашивание более 10% опухолевых клеток) Ki-67: 57%	

**Пилотный анализ данных консультативного пересмотра в рамках референс-центра МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского:**

указано (+) / не указано (-)

- суррогатный молекулярный подтип +++/--
- индекс ki-67 ++++/-
- методика подсчета +/----
- Подобный люминальному А или В, когда использовать новую терминологию +/----

Допустимо ли отказываться от суррогатного молекулярного субтипирования опухоли (до проведения неoadъювантного лечения) в отсутствие возможности рутинного молекулярного тестирования и его точной валидации?

<b>Итоговое заключение</b>	Инвазивный рак молочной железы, Er-позитивный, Pr-позитивный, Her2 статус отрицательный.
<b>Код МКБ-10</b>	Эпителиальное новообразование молочной железы неуточненной части (C50.9)

Московский  
клинический  
научный центр

Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru

Обезличенные данные консультативного пересмотра в рамках референс-центра

## Что пишем в заключении? До неoadъювантного лечения:

Микроописание	Заключение
Ki67 – <b>низкий</b> , 3% клеток опухоли (Global, IKGW 2020)	Статус рецепторов стероидных гормонов высокоположительный, HER2/neu статус отрицательный, пролиферативная активность по Ki-67 низкая. Морфологическая картина и результаты ИГХ-исследования соответствуют суррогатному молекулярному подтипу рака: <b>Люминальный А</b>
Ki67 – <b>высокий</b> , 40% клеток опухоли (Global, IKGW 2020)	Статус рецепторов стероидных гормонов высокоположительный, HER2/neu статус отрицательный, пролиферативная активность по Ki-67 высокая. Морфологическая картина и результаты ИГХ-исследования соответствуют суррогатному молекулярному подтипу рака: <b>Люминальный В</b>
Ki67 – <b>высокий</b> , 75% клеток опухоли (Global, IKGW 2020)	Статус рецепторов ER высокоположительный <b>при низком статусе рецепторов PR</b> , HER2/neu статус отрицательный, пролиферативная активность по Ki-67 высокая. Морфологическая картина и результаты ИГХ-исследования соответствуют суррогатному молекулярному подтипу рака: <b>Люминальный В</b>
Ki67 – <b>промежуточный</b> , 18% клеток опухоли (Global, IKGW 2020)	Статус рецепторов стероидных гормонов высокоположительный, HER2/neu статус отрицательный, пролиферативная активность по Ki-67 промежуточная (18%). Морфологическая картина и результаты ИГХ-исследования соответствуют суррогатному молекулярному подтипу рака: <b>Подобный Люминальному А</b>
Ki67 – <b>промежуточный</b> , 25% клеток опухоли (Global, IKGW 2020)	Статус рецепторов стероидных гормонов высокоположительный, HER2/neu статус отрицательный, пролиферативная активность по Ki-67 промежуточная (25%). Морфологическая картина и результаты ИГХ-исследования соответствуют суррогатному молекулярному подтипу рака: <b>Подобный Люминальному В</b>

Предложенные нами новые позиции, полностью соответствуют обновленным рекомендациям по интерпретации Ki-67 при РМЖ (IKGW, 2020), в тоже время отсутствуют или не раскрыты в существующих российских рекомендациях

 Московский клинический научный центр  
 Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
 Тел. (495) 340 30 39  
 www.mknc.ru

Пилотный проект по разработке протокола оценки ki67 в рамках референс-центра и совместной НИР МКНЦ им. А.С. Логинова и МОНИКИ им. им. М.Ф. Владимирского

 МОНИКИ  
 12778

## Что пишем в заключении? После неoadъювантного лечения:

Микроописание	Заключение
Ki67 – <b>низкий</b> , 3% клеток опухоли (Global, IKGW 2020)	Статус рецепторов стероидных гормонов высокоположительный, HER2/neu статус отрицательный, пролиферативная активность по Ki-67 низкая.
Ki67 – <b>высокий</b> , 40% клеток опухоли (Global, IKGW 2020)	Статус рецепторов стероидных гормонов высокоположительный, HER2/neu статус отрицательный, пролиферативная активность по Ki-67 высокая.
Ki67 – <b>высокий</b> , 75% клеток опухоли (Global, IKGW 2020)	Статус рецепторов ER высокоположительный при низком статусе рецепторов PR, HER2/neu статус отрицательный, пролиферативная активность по Ki-67 высокая.
Ki67 – <b>промежуточный</b> , 18% клеток опухоли (Global, IKGW 2020)	Статус рецепторов стероидных гормонов высокоположительный, HER2/neu статус отрицательный, пролиферативная активность по Ki-67 промежуточная (18%).
Ki67 – <b>промежуточный</b> , 25% клеток опухоли (Global, IKGW 2020)	Статус рецепторов стероидных гормонов высокоположительный, HER2/neu статус отрицательный, пролиферативная активность по Ki-67 промежуточная (25%).

**Суррогатное молекулярное субтипирование опухоли после проведенной неoadъювантной терапии нецелесообразно**

Предложенные нами новые позиции, полностью соответствуют обновленным рекомендациям по интерпретации Ki-67 при РМЖ (IKGW, 2020), в тоже время отсутствуют или не раскрыты в существующих российских рекомендациях

 Московский клинический научный центр  
 Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
 Тел. (495) 340 30 39  
 www.mknc.ru

Пилотный проект по разработке протокола оценки ki67 в рамках референс-центра и совместной НИР МКНЦ им. А.С. Логинова и МОНИКИ им. им. М.Ф. Владимирского

 МОНИКИ  
 12778

## Резюме

- Ki-67 – доступный, недорогой ценный прогностический и предиктивный маркер
- при попадании индекса ki-67 в серую зону/Intermediate следует учитывать другие, клинико-морфологические факторы прогноза (стадию, степень злокачественности, морфологический вариант опухоли и др.)
- аналитическая валидность ki-67 может быть достижимой
- необходима стандартизация патологоанатомических и иммуногистохимических исследований биопсийного и операционного материала
- необходима стандартизация методики оценки ki-67



Московский  
клинический  
научный центр

Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru



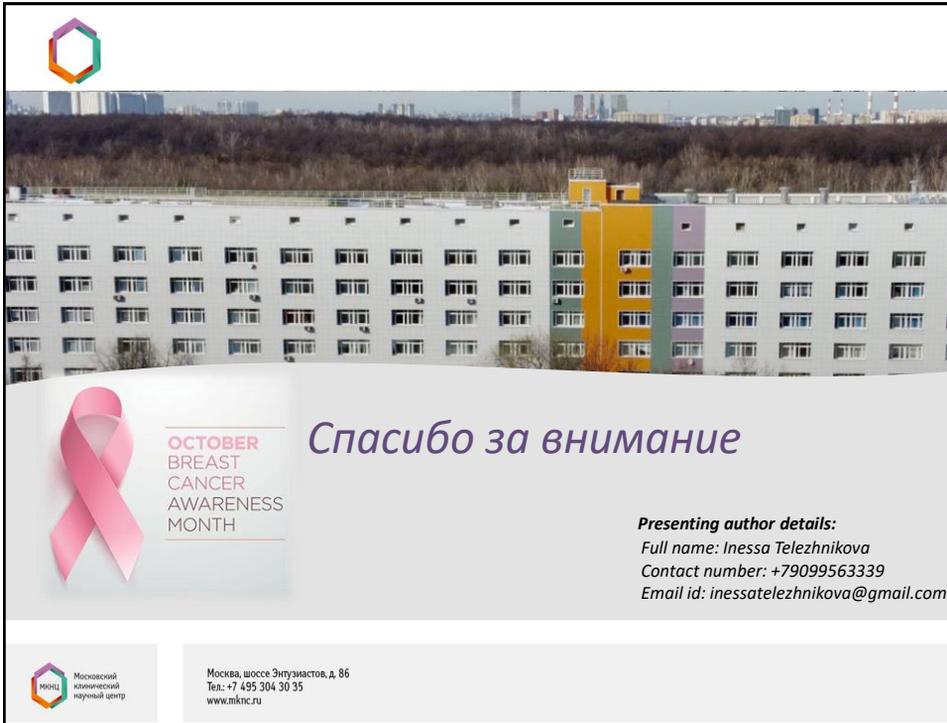
n.b.

- ✓ *Морфолог, специализирующийся на проблеме РМЖ – выступает сегодня в роли диагноста-онколога, принимая участие в лечении пациента наравне с клиническими онкологами*
- ✓ *Задача морфолога не машинный подсчет позитивных клеток, а умение правильно интерпретировать и интегрировать результаты исследования*



Московский  
клинический  
научный центр

Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел. (495) 340 30 39  
www.mknc.ru



**OCTOBER  
BREAST  
CANCER  
AWARENESS  
MONTH**

*Спасибо за внимание*

**Presenting author details:**  
*Full name: Inessa Telezhnikova  
Contact number: +79099563339  
Email id: inessatelezhnikova@gmail.com*



Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86  
Тел.: +7 495 304 30 35  
www.mknc.ru