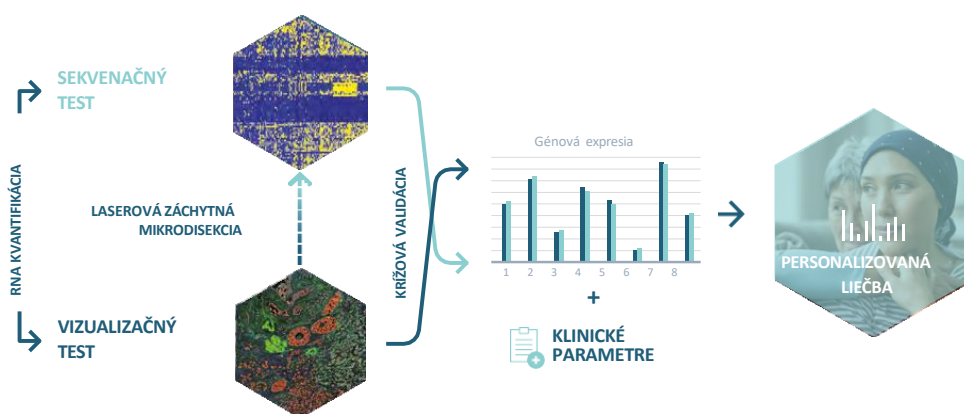


PACIENT	VZORKA	OŠETRUJÚCI LEKÁR
Meno:	ID vzorky: MDX-PT-2	Meno:
ID:	Dátum odberu:	Adresa:
Dátum správy:	Typ: adjuvantný	Kontakt:

POPIS TESTU

Test **Multiplex8+** na rakovinu prsníka hodnotí biomarkery na báze RNA vykonaním **VIZUALIZAČNÉHO TESTU**, ktorý využíva RNA fluorescenčnú in situ hybridizáciu (RNA-FISH) na vizualizáciu panelu biomarkerov. Na základe expresie týchto biomarkerov a histológie tkaniva sa na vyčlenenie záujmových oblastí používa laserová záchytná mikrodisekcia.

S týmito vzorkami obohatenými o nádor sa vykoná **SEKVENAČNÝ TEST**, ktorý využíva sekvenovanie novej generácie celkovej RNA na analýzu expresie génov s priestorovým rozlíšením. Analytické overenie Multiplex8+ sa uskutočnilo na veľkej retrospektívnej kohorte 1 080 nádorov prsníka.



TEST POSKYTUJE INFORMÁCIE O:

1. **STAVE RECEPTOROV:** pre expresiu RNA estrogénového receptora, progesterónového receptora, receptora Her2 a Ki67 meranú a krížovo overovanú dvoma testami.

2. **MOLEKULÁRNOM SUBTYP:** na základe RNA expresie génov nádorovej biológie.
3. **GÉNOVEJ SIGNATÚRE:** personalizované pre nádorovú biológiu a klinický stav pacientov.

NIŽŠIE JE UVEDENÝ SÚHRN A ĎALŠIE PODROBNOSTI SÚ UVEDENÉ NA NASLEDUJÚCICH STRANÁCH.

ZHRNUTIE VÝSLEDKOV

STAV RECEPTOROV

Vzorka	ESR1	PGR	ERBB2	MKI67
A	-	-	-	+

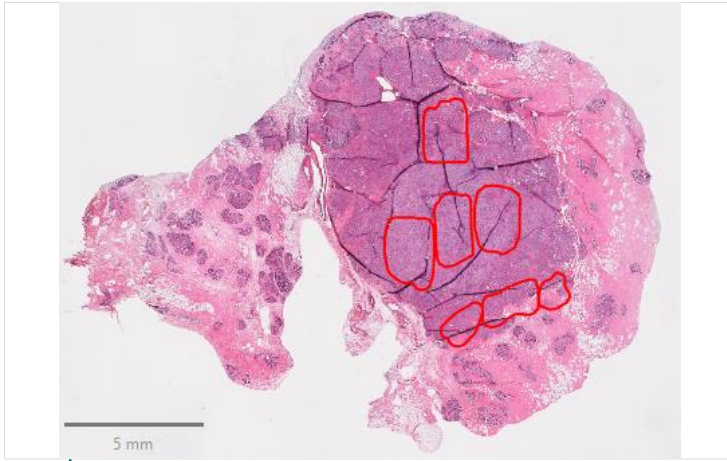
MOLEKULÁRNÝ SUBTYP

Vlastný subtyp	TNBC subtyp
Basal-like	Mezenchymálny stem-like (MSL)

RELEVANTNÁ LIEČBA

TERAPIA	KLÚČOVÉ ZISTENIA	KLINICKÝ BENEFIT
Anthracycline/Taxane	Génové expresné signatúry	Predpokladaný benefit
Carboplatin	Génové expresné signatúry	Predpokladaný benefit
Bevacizumab (Avastin)	Molekulárny subtyp, génová expresia, génové expresné signatúry	Predpokladaný benefit

LASEROVÁ ZÁCHYTNÁ MIKRODISEKCIA



Na základe histologického hodnotenia a expresie biomarkerov RNA-FISH bola jedna vzorka (**Vzorka A**) podrobená laserovej mikrodisekcii pre ďalšiu analýzu.

STAV RECEPTOROV

Vzorka	ESR1	PGR	ERBB2	MKI67
A	—	—	—	+

Stav receptorov bol určený použitím **VIZUALIZAČNÉHO TESTU** ako aj **SEKVENAČNÉHO TESTU**: tabuľka znázorňuje výsledky po krížovej validácii.

INTERPRETÁCIA

- Výsledky z RNA-FISH aj RNA-SEQ sú v súlade s imunohistochemickými nálezmi.
- Expresia MKI67 (KI67) **Vzorky A** bola v 95. percentile pri porovnaní s výsledkami našej retrospektívnej kohorty 1080 nádorov prsníka, čo naznačuje extrémne vysokú proliferáciu.

MOLEKULÁRNY SUBTYP

Vlastný subtyp	TNBC subtyp
Basal-like	Mezenchymálny stem-like (MSL)

Na základe **SEKVENAČNÉHO TESTU** sme na klasifikáciu vnútorného molekulárneho subtypu použili konsenzuálny prístup využívajúci našu vlastnú viac ako 200-génovú signatúru na molekulárnu subtypizáciu, výskumom podložený test PAM50 a metódu AIMS¹.

INTERPRETÁCIA

- Biológia basal-like typu nádoru je v súlade s imunohistochemickým a klinickým označením TNBC.
- Podtyp MSL (mezenchymálny stem-like) je obohatený o gény súvisiace s rastovými faktormi (napr. EGFR), epiteliálno-mezenchymálnymi prechodovými dráhami, angiogenezou a kmeňovosťou nádorov. MSL má tendenciu mať nižšiu expresiu kladín (claudin) a markerov proliferácie v porovnaní s ostatnými podtypmi TNBC¹⁻³.
- MSL môže dobre reagovať na liečbu cielenú na dráhy PI3K/mTOR.

GÉNOVÁ SIGNATÚRA

- Na základe pridelených subtypov TNBC sme hodnotili niekoľko jednotlivých génov a génových signatúr, ktoré preukázali prediktívny potenciál pre terapiu v skorých a pokročilých/metastatických štádiách TNBC.

Typ liečby / Dráha	Génová signatúra	Popis	Vzorka A percentil	
Proliferácia	AURKA	Gén AURKA kóduje proteín Aurora Kináza A, ktorý sa podieľa na proliferácii buniek a je nezávislým prognostickým markerom pri rakovine prsníka.	Stredná (36%)	
	Module11_proliferation	Proliferačný index použitý v štúdiu I-SPY2 všeobecne predpovedá patologickú kompletnú odpoveď u pacientov s pozitívou hormonálnych receptorov ⁴ .	Stredná (60%)	
	Proliferation_MDX	Vlastná 7-génová signatúra MDX používaná na hodnotenie bunkovej proliferácie.	Stredná (66%)	

Typ liečby / Dráha	Génová signatúra	Popis	Vzorka A percentil	
Chemoterapia	TOP1	Gén kódujúci DNA topoizomerázu I, enzým kritický pre transkripciu DNA, je cieľom protinádorových liekov.	Vysoká (100%)	
	TOP2A	Gén kódujúci DNA topoizomerázu IIa, enzým kritický pre transkripciu DNA, je cieľom protinádorových liekov.	Stredná (38%)	
	RAD51	Proteín DNA opravy RAD51 homológ 1 (RAD51) sa podieľa na oprave poškodenej DNA a je asociovaný s rezistenciou voči chemoterapii.	Stredná (65%)	
	ERCC1	Proteín excíznej DNA opravy ERCC-1 (ERCC1) sa podieľa na oprave poškodenia DNA a je asociovaný s rezistenciou voči chemoterapii.	Vysoká (80%)	
	TYMS	Gén TYMS kóduje enzým tymidilát syntetázu, ktorý sa podieľa na biosyntéze DNA a je cieľom antimetabolitovej chemoterapie 5-fluorouracil ⁵ .	Stredná (62%)	
	SLC29A1	Gén SLC29A1 kóduje proteín ENT1 (equilibrative nucleoside transporter 1), nukleozidový transportér, ktorý sa podieľa na transporte liečiv gemcitabine a capecitabine ⁶ .	Stredná (52%)	
	DHFR	Dihydrofolátreduktáza je enzým kódovaný génom DHFR a podieľa sa na metabolizme folátov a raste buniek. Je cieľom antimetabolitovej chemoterapie methotrexate ⁷ .	Vysoká (80%)	
	SLC19A1	Gén SLC19A1 kóduje proteín RFC1 (reduced folate carrier 1), ktorý prenáša methotrexate do bunky ⁷ .	Vysoká (79%)	
	CDK12	Proteínový produkt génu CDK12 (Cyclin Dependent Kinase 12) reguluje transkripciu, dráhy opravy DNA a bunkový cyklus ⁸ .	Stredná (66%)	
	MAPs_Mitotic_ki nases_neoadj_ch emo118	118-génová signatúra predpovedajúca odpoveď na neoadjuvantnú chemoterapiu pomocou liečiva taxane ⁹ .	Stredná (63%)	
	MAPs_Mitotic_ki nases_neoadj_ch emo17	17-génová signatúra predpovedajúca odpoveď na neoadjuvantnú chemoterapiu pomocou liečiva taxane ⁹ .	Stredná (51%)	
	Early_Relapse_ER.Neg	Génová signatúra chemorezistencie predpovedajúca skorý relaps u pacientov s negativitou ER (ER-) po chemoterapii liečivami taxane-anthracycline ¹⁰ .	Stredná (46%)	
	Residual_disease_ER.Neg	Génová signatúra chemorezistencie predpovedajúca reziduálne ochorenie u pacientov s negativitou ER (ER-) po chemoterapii liečivami taxane-anthracycline ¹⁰ .	Vysoká (84%)	
	Pathologic_response_ER.Neg	Génová signatúra chemosenzitivity predpovedajúca patologickú úplnú odpoveď u pacientov s negativitou ER (ER-) po chemoterapii liečivami taxane-anthracycline ¹⁰ .	Vysoká (93%)	
Imunitný systém	PDCD1	PDCD1 kóduje marker imunitného kontrolného bodu PD-1. PD-1 je cieľom liečiva pembrolizumab (Keytruda) , imunoterapie schválenej na liečbu prvej línie metastatického TNBC.	Stredná (38%)	
	CD274	Gén CD274 kóduje marker imunitného kontrolného bodu PD-L1. PD-L1 je cieľom liečiva atezolizumab (Tecentriq) , imunoterapie schválenej na liečbu na liečbu prvej línie metastatického TNBC.	Nízka (20%)	
	CTLA4	Antigén 4 asociovaný s cytotoxickými T-lymfocytmi (CTLA4) je marker imunitného kontrolného bodu a cieľ niekoľkých imunoterapeutických liekov, ako napríklad durvalumab (Imfinzi) .	Stredná (51%)	

Typ liečby / Dráha	Génová signatúra	Popis	Vzorka A percentil	
Imunitný systém	Module5_TcellBcell	Imunitné signatúry predpovedajúce odpoveď na pembrolizumab pacientov s TNBC zaradených do štúdie I-SPY2 ⁴ .	Stredná (41%)	
	Chemokine12		Stredná (35%)	
	STAT1		Nízka (26%)	
	Dendritic_cells		Stredná (40%)	
DNA poškodenie a oprava	VCpred_TN	Signatúra reparácie poškodenia DNA / imunity predpovedajúca odpoveď na veliparib (inhibitor PARP) a carboplatin (štúdia I-SPY2) ⁴ .	Vysoká (82%)	
Angiogenéza / hypoxia	VEGFA	Gén kódujúci vaskulárny endotelový rastový faktor, proteín, ktorý sa podieľa na angiogenéze, vazodilatácii a raste endotelových buniek. VEGF je cieľom lieku bevacizumab (Avastin) .	Vysoká (74%)	
	Hypoxia / Angiogenesis / Inflammatory_MDX	Vlastná 7-génová signatúra používaná na hodnotenie hypoxie, angiogenézy a zápalu. Signatúra zahŕňa gény, o ktorých je známe, že predpovedajú odpoveď na bevacizumab (Avastin) v neoadjuvantnej štúdii GeparQuinto ¹¹ .	Stredná (64%)	
Her2	Her2 amplicon_MDX	Vlastná 43-génová signatúra MDX, ktorá sa používa na hodnotenie stavu Her2.	Vysoká (71%)	
	Module7_ERBB2	Signatúra Her2 signalizácie predpovedajúca odpoveď na viacnásobnú anti-Her2 liečbu v štúdii I-SPY2 ⁴ .	Stredná (46%)	
Ciele konjugátov protilátky a liečiva (ADC)	ERBB2	Gén ERBB2 kóduje proteínový receptor Her2, ktorý je cieľom klasickej anti-Her2 liečby. Nízke a ultranízké hladiny Her2 môžu byť vhodné na liečbu konjugátom protilátky a liečiva (antibody-drug conjugate) trastuzumab deruxtecan (Enhertu) ¹² .	Nízka (15%)	
	TACSTD2	Gén TACSTD2 kóduje Tumor-associated calcium signal transducer 2, nazývaný aj Trop-2, ktorý je cieľom liečiva sacituzumab govitecan (Trodelvy), konjugátu protilátky a liečiva (antibody-drug conjugate) schváleného na liečbu metastatického TNBC ¹³ .	Nízka (29%)	
	NECTIN4	Gén NECTIN4 kóduje Nectin Cell Adhesion Molecule 4, bunkovú adhéziu molekulu, ktorá je cieľom konjugátov protilátok s liečivami (antibody-drug conjugates) v klinických štúdiách rakoviny prsníka.	Vysoká (70%)	
	ERBB3	ERBB3 kóduje proteín rodiny receptorov epidermálneho rastového faktora (EGFR) receptorových tyrozínkináz. Skúma sa v klinických skúškach pre konjugát protilátky a liečiva (antibody-drug conjugate) patritumab deruxtecan .	Vysoká (98%)	
	FOLR1	FOLR1 kóduje folátový receptor alfa, ktorý je konjugátom protilátky a liečiva (antibody-drug conjugate) skúmaným na liečbu metastatického TNBC v niekoľkých klinických štúdiách fázy 1 a 2.	Vysoká (74%)	

INTERPRETÁCIA A ODPORUČANIE

- Vysoké skóre pre Pathologic_response_ER.Neg signatúru a nízke skóre pre Early_Relapse_ER.Neg. naznačuje, že nádor môže byť citlivý na štandardnú **anthracycline/taxane** chemoterapiu.
- V štúdii I-SPY2 bolo ukázané, že vysoké skóre VCpred_TN signatúry, ktorá odráža imunitnú aktiváciu, ako aj nedostatočnú opravu poškodenia DNA, predpovedá odpoveď na **veliparib** a **carboplatin**, toto zistenie bolo validované v štúdii BrighTNess.
- Klasifikácia nádora do podtypu MSL a stredná/vysoká expresia markerov angiogenézy naznačujú, že **bevacizumab (Avastin)** môže byť vhodnou liečbou v metastatickom štádiu.

INTERPRETÁCIA A ODPORÚČANIE

- Táto vzorka mala najvyššiu hladinu TOP1 v porovnaní s 182 TNBC nádormi prsníka. TOP1 je cieľom inhibítorov topoizomeráz a vysoká expresia súvisí s ich účinnosťou. Pozoruhodné je, že vzorka mala aj vysokú hladinu ERBB3 (98. percentil), ktorý je cieľom liečiva **patritumab deruxtecan**, ADC skúmanom pri TNBC. Cytotoxická zložka tohto ADC, deruxtecan, je cieleňá na TOP1. Vysoké hladiny protilátok a cieľov cytotoxických zložiek naznačujú, že **patritumab deruxtecan** môže byť efektívny, ak by bola pacientka zaradená do klinických skúšok s použitím tohto ADC.
- Nízka/stredná expresia imunitných génov a signatúr naznačuje, že tento pacient nebude mať prospech z inhibítorov kontrolných bodov imunitného systému.

REFERENCIE

1. Lehmann, B. D. et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *J Clin Invest* 121, 2750–2767 (2011).
2. Lehmann, B. D. et al. Refinement of Triple-Negative Breast Cancer Molecular Subtypes: Implications for Neoadjuvant Chemotherapy Selection. *PLoS One* 11, e0157368 (2016).
3. Bareche, Y. et al. Unravelling triple-negative breast cancer molecular heterogeneity using an integrative multiomic analysis. *Ann Oncol* 29, 895–902 (2018).
4. Wolf, D. M. et al. Redefining breast cancer subtypes to guide treatment prioritization and maximize response: Predictive biomarkers across 10 cancer therapies. *Cancer Cell* 40, 609-623.e6 (2022).
5. Foekens, J.A. et al. Thymidine Kinase and Thymidylate Synthase in Advanced Breast Cancer: Response to Tamoxifen and Chemotherapy. *Cancer Res.* 61, 1421-1425 (2001).
6. Mackey, J.R. et al. Immunohistochemical variation of human equilibrative nucleoside transporter 1 protein in primary breast cancers. *Clin Cancer Res.* 8(1), 110-116(2002).
7. Yang, V. et al. Breast cancer: insights in disease and influence of drug methotrexate. *RSC Med Chem.* 11(6), 646-664 (2020).
8. Filippone, M.G. et al. CDK12 promotes tumorigenesis but induces vulnerability to therapies inhibiting folate one-carbon metabolism in breast cancer. *Nat Commun.* 13(1), 2642 (2022).
9. Rodrigues-Ferreira, S. et al. Improving breast cancer sensitivity to paclitaxel by increasing aneuploidy. *Proc Natl Acad Sci USA* 116(47), 23691-23697 (2019).
10. Hatzis, C. et al. A genomic predictor of response and survival following taxane-anthracycline chemotherapy for invasive breast cancer. *JAMA* 305(18),1873-81 (2011).
11. Karn, T. et al. A Small Hypoxia Signature Predicted pCR Response to Bevacizumab in the Neoadjuvant GeparQuinto Breast Cancer Trial. *Clinical Cancer Research* 26, 1896–1904 (2020).
12. Modi, S. et al. Trastuzumab Deruxtecan in Previously Treated HER2-Low Advanced Breast Cancer. *N Engl J Med* 387, 9–20 (2022).
13. Michaleas, S. et al. The European Medicines Agency review of sacituzumab govitecan for the treatment of triple-negative breast cancer. *ESMO Open* 7, (2022).