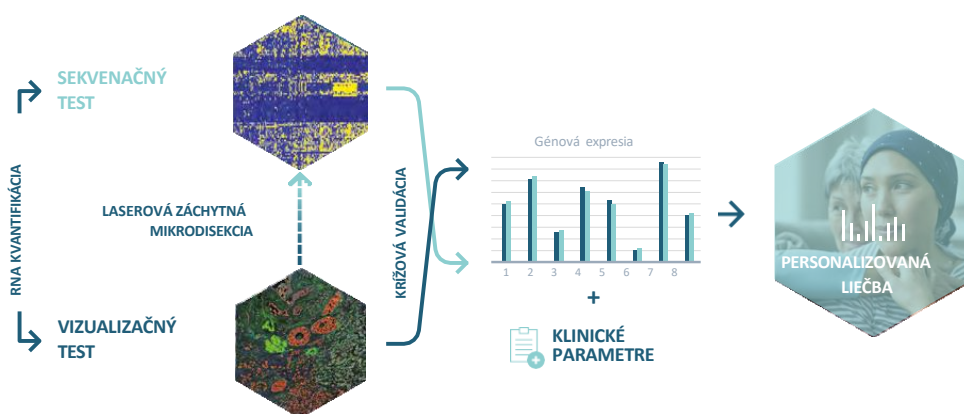


PACIENT	VZORKA	OŠETRUJÚCI LEKÁR
Meno:	ID vzorky: MDX-PT-9	Meno:
ID:	Dátum odberu:	Adresa:
Dátum správy:	Typ: neoadjuvantný	Kontakt:

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 expície 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 expície 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 expície 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	—	—	— nízky (low)	—

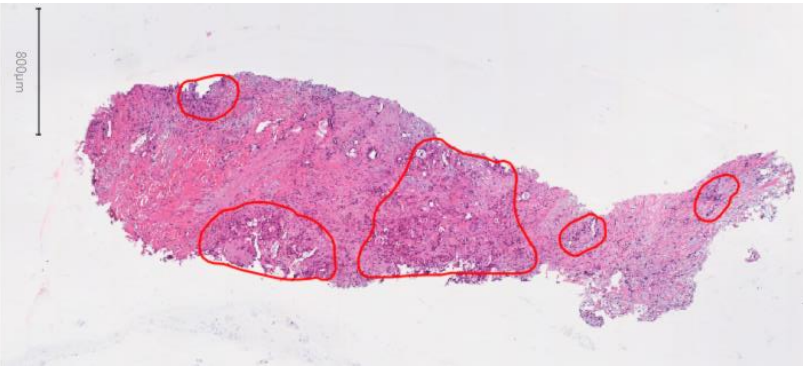
MOLEKULÁRNÝ SUBTYP

Vlastný subtyp	TNBC subtyp
HER2+	Luminálny androgénový receptor (LAR)

RELEVANTNÁ LIEČBA

TERAPIA	KĹÚČOVÉ ZISTENIA	KLINICKÝ BENEFIT
Sacituzumab govitecan (Trodelvy)	Génová expícia	Predpokladaný benefit
Trastuzumab deruxtecan (Enhertu)	Génová expícia, génová expresná signatúra	Predpokladaný benefit
Veliparib and Carboplatin	Génová expícia, génová expresná signatúra	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.

MOLEKULÁRNY SUBTYP

Vlastný subtyp	TNBC subtyp
HER2+	Luminálny androgénny receptor (LAR)

INTERPRETÁCIA

- Vnútna klasifikácia subtypu ako HER2+ naznačuje inú biológiu nádoru ako jeho klinické označenie TNBC. Približne 80- 85 % vzoriek TNBC má vnútorný subtyp klasifikovaný ako basal-like, pričom zvyšných 15 - 20 % je prevažne klasifikovaných ako Her2+, po nich nasleduje Normal-like subtyp, Luminálny B subtyp a nakoniec Luminálny A subtyp.
- Luminálny androgénny receptor (LAR) subtyp je charakterizovaný signálnymi dráhami androgénového receptora/estrogénu a obohatením o mutácie PIK3CA. Tento subtyp zle reaguje na chemoterapiu na báze antracyklínov/taxánov¹⁻³.
- LAR môže dobre reagovať na liečbu cieleňú na dráhy PI3K/mTOR a androgénny receptor.

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 Kinázu A, ktorý sa podieľa na proliferácii buniek a je nezávislým prognostickým markerom pri rakovine prsníka.	Stredná (47%)	
	Module11_proliferation	Proliferačný index použitý v štúdiu I-SPY2 všeobecne predpovedá patologickú kompletnú odpoveď u pacientov s pozitívou hormonálnych receptorov ⁴ .	Stredná (43%)	
	Proliferation_MDX	Vlastná 7-génová signatúra MDX používaná na hodnotenie bunkovej proliferácie.	Stredná (47%)	

STAV RECEPTOROV

Vzorka	ESR1	PGR	ERBB2	MKI67
A	—	—	— nízky (low)	—

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

INTERPRETÁCIA

- Podľa **SEKVENAČNÉHO TESTU**, je expresia *ERBB2* (HER2) nízka (HER2-low), v dôsledku čoho môže mať tento pacient prospech z liečby liečivom **trastuzumab deruxtecan (Enhertu)**.
- Expresia *MKI67* (KI67) bola v percentile 50. (**Vzorka A**) pri porovnaní s výsledkami našej retrospektívnej kohorty 1080 nádorov prsníka, čo naznačuje strednú úroveň proliferácie.

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.

GÉNOVÁ SIGNATÚRA

Typ liečby / Dráha	Génová signatúra	Popis	Vzorka A percentil	Vzorka B 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.	Nízka (20%)	
	RAD51	Proteín DNA opravy RAD51 homológ 1 (RAD51) sa podieľa na oprave poškodenej DNA a je asociovaný s rezistenciou voči chemoterapii.	Stredná (52%)	
	ERCC1	Proteín excíznej DNA opravy ERCC-1 (ERCC1) sa podieľa na oprave poškodenia DNA a je asociovaný s rezistenciou voči chemoterapii.	Vysoká (74%)	
	TYMS	Gén TYMS kóduje enzým tymidilát syntetázu, ktorý sa podieľa na biosyntéze DNA a je cieľom antimetabolitovej chemoterapie 5-fluorouracil ⁵ .	Nízka (23%)	
	SLC29A1	Gén SLC29A1 kóduje proteín ENT1 (equilibrative nucleoside transporter 1), nukleozidový transportér, ktorý sa podieľa na transporte liečiv gemcitabine a capecitabine ⁶ .	Stredná (57%)	
	DHFR	Dihydrofolátreduktáza je enzým kódovaný génom DHFR a podieľa sa na metabolizme folátov a raste buniek. Je cieľom antimetabolitovej chemoterapie methotrexate ⁷ .	Vysoká (95%)	
	SLC19A1	Gén SLC19A1 kóduje proteín RFC1 (reduced folate carrier 1), ktorý prenáša methotrexate do bunky ⁷ .	Stredná (58%)	
	CDK12	Proteínový produkt génu CDK12 (Cyclin Dependent Kinase 12) reguluje transkripciu, dráhy opravy DNA a bunkový cyklus ⁸ .	Stredná (64%)	
	MAPs_Mitotic_ki nases_neoadj_ch emo118	118-génová signatúra predpovedajúca odpoveď na neoadjuvantnú chemoterapiu pomocou liečiva taxane ⁹ .	Stredná (66%)	
	MAPs_Mitotic_ki nases_neoadj_ch emo17	17-génová signatúra predpovedajúca odpoveď na neoadjuvantnú chemoterapiu pomocou liečiva taxane ⁹ .	Nízka (29%)	
	Early_Relapse_ER.Neg	Génová signatúra chemorezistencie predpovedajúca skorý relaps u pacientov s negatívnou ER (ER-) po chemoterapii liečivami taxane-anthracycline ¹⁰ .	Stredná (65%)	
	Residual_disease_ER.Neg	Génová signatúra chemorezistencie predpovedajúca reziduálne ochorenie u pacientov s negatívnou ER (ER-) po chemoterapii liečivami taxane-anthracycline ¹⁰ .	Vysoká (71%)	
Pathologic_response_ER.Neg	Génová signatúra chemosenzitivity predpovedajúca patologickú úplnú odpoveď u pacientov s negatívnou ER (ER-) po chemoterapii liečivami taxane-anthracycline ¹⁰ .	Vysoká (76%)		
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 (47%)	
	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) .	Nízka (11%)	

Typ liečby / Dráha	Génová signatúra	Popis	Vzorka A percentil	Vzorka B percentil
Imunitný systém	Module5_TcellBcell	Imunitné signatúry predpovedajúce odpoveď na pembrolizumab pacientov s TNBC zaradených do štúdie I-SPY2 ⁴ .	Nízka (19%)	
	Chemokine12		Nízka (12%)	
	STAT1		Nízka (18%)	
	Dendritic_cells		Stredná (47%)	
DNA poškodenie a oprava	VCpred_TN	Signatúra reparácie poškodenia DNA / imunity predpovedajúca odpoveď na veliparib (inhibitor PARP) a carboplatin (štúdia I-SPY2) ⁴ .	Vysoká (67%)	
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) .	Stredná (51%)	
	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 (60%)	
Her2	Her2 amplicon_MDX	Vlastná 43-génová signatúra MDX, ktorá sa používa na hodnotenie stavu Her2.	Vysoká (85%)	
	Module7_ERBB2	Signatúra Her2 signalizácie predpovedajúca odpoveď na viacnásobnú anti-Her2 liečbu v štúdii I-SPY2 ⁴ .	Vysoká (88%)	
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 .	Vysoká (67%)	
	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 .	Vysoká (96%)	
	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.	Nízka (29%)	
	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 (80%)	
	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.	Nízka (31%)	

INTERPRETÁCIA A ODPORÚČANIE

- Vzorka vykazovala najvyššiu hladinu expzie TOP1 v porovnaní so 182 TNBC nádormi prsníka. TOP1 je cieľom inhibítorov topoizomeráz a vysoká expresia súvisí s ich účinnosťou. Pozoruhodné je, že vzorka mala aj vysoké hladiny TACSTD2 (96. percentil), ktorý je cieľom liečiva **sacituzumab govitecan**, ADC, ktorý je schválený na liečbu metastatického TNBC. Cytotoxická zložka tohto ADC, SN-38, je cieleňá na TOP1. Vysoké hladiny protilátok aj cieľov cytotoxických zložiek naznačujú, že **sacituzumab govitecan** môže byť účinný v pokročilom/metastatickom štádiu.
- Hoci vzorka má len nízku expresiu ERBB2, výsledky štúdií DESTINY-Breast04¹² a DAISY preukázali, že pacientky s nízkymi (IHC1+) a ultranízkymi (IHC0) hladinami ERBB2 tiež profitujú z **trastuzumab deruxtecanu (Enhertu)**. V kombinácii s vysokými hladinami TOP1, ktoré sú cieľom cytotoxickej zložky (deruxtecanu) ADC, môže byť **trastuzumab deruxtecan (Enhertu)** účinnou liečebnou možnosťou v metastatickom štádiu.

INTERPRETÁCIA A ODPORÚČANIE

- V štúdií I-SPY2 sa ukázalo, že vysoké skóre signatúry VCpred_TN, ktoré odráža imunitnú aktiváciu aj nedostatočnú opravu poškodenia DNA, dokáže predpovedať odpoveď na **veliparib** a **carboplatin**, čo bolo potvrdené v štúdií BrighTNess.
- Vzorka exprimuje niekoľko markerov rezistencie a/alebo nedostatočnej citlivosti na rôzne chemoterapie vrátane inhibítorov topoizomerázy (vysoký ERCC1), **metotrexátu** (vysoký DHFR, stredný SLC19A1) a chemoterapie na báze **taxánov a antracyklínov** (nízke skóre pre MAPs_Mitotic_kinases_neoadj_chemo17, stredne vysoké skóre pre Early_Relapse_ER.Neg a vysoké skóre pre Residual_disease_ER.Neg).

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).