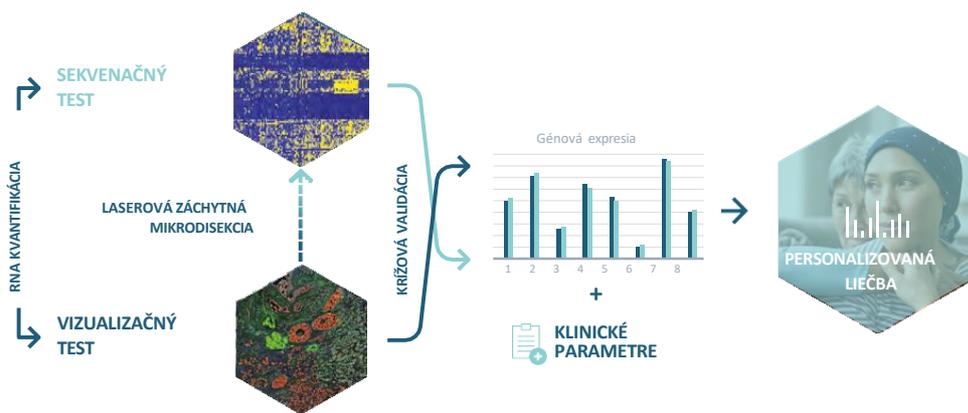


PACIENT		VZORKA	OŠETRUJÚCI LEKÁR
Meno:	ID vzorky:	MDX-PT-10	Meno:
ID:	Dátum odberu:		Adresa:
Dátum správy:	Typ:		Kontakt:

## 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)	+

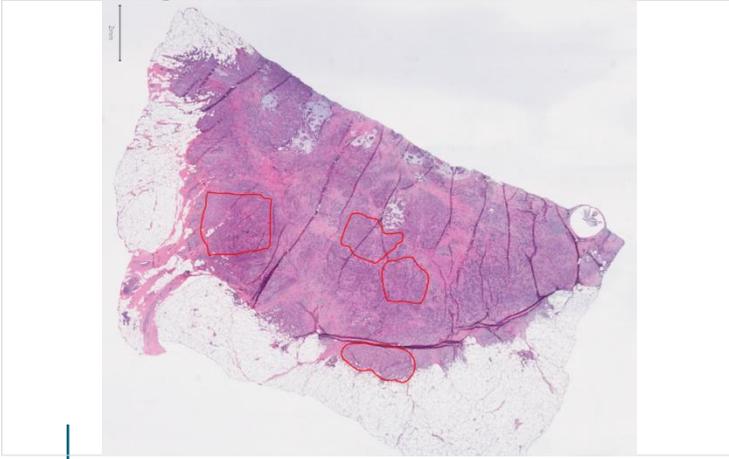
### MOLEKULÁRNÝ SUBTYP

Vlastný subtyp	TNBC subtyp
Luminálny B	-

### RELEVANTNÁ LIEČBA

TERAPIA	KLÚČOVÉ ZISTENIA	KLINICKÝ BENEFIT
Endokrinná terapia	Génová expícia, génová expresná signatúra, molekulárny subtyp	Predpokladaný benefit
Adjuvantná chemoterapia	Génová expícia, génová expresná signatúra, molekulárny subtyp, klinické parametre	Predpokladaný benefit
CDK4/6 inhibítory	Génová expícia, génová expresná signatúra, molekulárny subtyp	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	+	+	- nízky (low)	+

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.
- Podľa **SEKVENAČNÉHO TESTU** je expresia *ERBB2* (HER2) nízka (HER2-low), v dôsledku čoho môže mať tento pacient prospech z liečby liečivom **trastuzumab deruxtecan (Enhertu)**.

## MOLEKULÁRNY SUBTYP

Vlastný subtyp	TNBC subtyp <sup>2-4</sup>
Luminálny B	-

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 AIMS<sup>1</sup>. Prípadný TNBC subtyp, bol klasifikovaný podľa Lehmana<sup>2-4</sup>.

## INTERPRETÁCIA

- Biológia luminálneho B typu nádoru je v súlade s imunohistochemickým a klinickým označením.
- Nádory subtypu Luminálny B sú zvyčajne ER+, ale môžu mať rôznu expresiu ER/PR a môžu byť Her2+ alebo Her2-. V porovnaní s nádormi subtypu Luminálny A môžu mať vyšší stupeň (grade), proliferačnú aktivitu, horšie prognózy, a preto môžu vyžadovať okrem endokrinnnej liečby aj chemoterapiu.

## GÉNOVÁ SIGNATÚRA

- Na základe prideleného molekulárneho subtypu a prípadného TNBC subtypu sme hodnotili niekoľko jednotlivých génov a génových signatúr, ktoré preukázali prognostický a prediktívny potenciál pre terapiu v skorých a pokročilých/metastatických štádiách.

Typ liečby / Dráha	Génová signatúra	Popis	Vzorka A percentil	
Prognóza	Consensus prognostic signature	Prognostická signatúra je odvodená z konsenzu troch prognostických signatúr založených na výskume: 21-génovej signatúry Oncotype DX <sup>5</sup> , 70-génovej signatúry GENE70 <sup>6</sup> a 50-génovej signatúry rizika relapsu založenej len na subtype (ROR-S) <sup>7</sup> . Prognostické signatúry sú určené pre pacientky s včasným štádiom karcinómu prsníka s ER+/Her2- IHC, negatívnymi lymfatickými uzlinami alebo 1 - 3 pozitívnymi lymfatickými uzlinami. Skóre sa uvádza ako vysoké, stredné alebo nízke. Pacientky s vysokým skóre signatúry majú vyššie riziko relapsu a môžu mať prospech z adjuvantnej chemoterapie, zatiaľ čo pacientky s nízkym skóre majú nižšie riziko relapsu a nemusia mať prospech z adjuvantnej chemoterapie.	Vysoká	

## GÉNOVÁ SIGNATÚRA

Typ liečby / Dráha	Génová signatúra	Popis	Vzorka A percentil	
Luminálne signatúry	ESR1	Gény ESR1 a PGR kódujú estrogénové (ER) a progesterónové (PR) receptory, ktoré sa podieľajú na raste, metabolizme a reprodukčných funkciách. Vysoký ER/PR je prediktívny pre endokrinnú liečbu a nízky alebo negatívny ER/PR sa spája so zlou prognózou <sup>8</sup> .	Vysoká (89%)	
	PGR		Vysoká (79%)	
	ESR1_PGR average	Priemerná expresia génov ESR1 a PGR. Vyššie hladiny hormonálnych receptorov sú prediktívnymi markermi pre endokrinnú liečbu.	Vysoká (87%)	
	E2F4_score	Táto génová signatúra hodnotí aktivitu transkripčného faktora E2F4 a jeho cieľov. Vysoká hodnota E2F4 signatúry sa spája s endokrinnou rezistenciou na inhibítory aromatázy a môže predpovedať citlivosť na inhibítory CDK4/6 <sup>9</sup> .	Vysoká (85%)	
Her2	ERBB2	Gén ERBB2 kóduje Her2, receptorovú tyrozínkinázu, ktorá sa podieľa na raste/proliferácii buniek a je prognostickým markerom a prediktívnym ukazovateľom odpovede na terapiu cieleň na Her2 <sup>8</sup> .	Stredná (59%)	
	MUC4	Mucin 4 (MUC4) je glykoproteín, ktorý sa podieľa na rezistencii voči trastuzumabu prostredníctvom interakcií s receptorom Her2. Vysoká expresia MUC4 sa spája so zníženou citlivosťou na trastuzumab <sup>10</sup> .	Nízka (14%)	
	NRG1	NRG1 kóduje neuregulín 1, ligand receptora Her3. V štúdií NeoSphere fázy II bola vysoká expresia génu NRG1 spojená so zníženou odpoveďou na neoadjuvantný trastuzumab, ale nie s kombináciou trastuzumab-pertuzumab <sup>11</sup> .	Stredná (48%)	
	pSTAT3-GS	Signatúra, ktorá predpovedá fosforyláciu STAT3 a o ktorej sa zistilo, že predpovedá rezistenciu voči trastuzumabu v štúdií FinHer <sup>12</sup> .	Stredná (35%)	
	Her2 amplicon_MDX	Vlastná 43-génová signatúra MDX, ktorá sa používa na hodnotenie stavu Her2.	Vysoká (73%)	
	Module7_ERBB2	Signatúra Her2 signalizácie predpovedajúca odpoveď na viacnásobnú anti-Her2 liečbu v štúdií I-SPY2 <sup>13</sup> .	Stredná (53%)	
Proliferácia	AURKA	Gén AURKA kóduje proteín Aurora Kináza A, ktorý sa podieľa na proliferácii buniek a je nezávislým prognostickým markerom pri rakovine prsníka.	Stredná (65%)	
	MKI67	MKI67 kóduje marker proliferácie, Ki67 proteín, ktorý je markerom zlej prognózy v ER+/Her2- nádoroch, ale nie v Her2+ alebo TNBC nádoroch. Zvýšená hladina Ki67 predpovedá aj citlivosť na neoadjuvantnú endokrinnú terapiu a chemoterapiu <sup>8</sup> .	Vysoká (76%)	
	Module11_proliferation	Proliferačný index použitý v štúdií I-SPY2 všeobecne predpovedá patologickú kompletnú odpoveď u pacientov s pozitívnou hormonálnych receptorov <sup>4</sup> .	Vysoká (74%)	
	Proliferation_MDX	Vlastná 7-génová signatúra MDX používaná na hodnotenie bunkovej proliferácie.	Vysoká (83%)	
Inhibítory CDK4/6	CDK4	Cyklín-dependentné kinázy 4 a 6 (CDK4 a CDK6) sú dôležité proteíny, ktoré regulujú priebeh bunkového cyklu z fázy G1 do fázy S. Sú hlavnými cieľmi inhibítorov CDK4/6, ako sú palbociklib (Ibrance), ribociklib (Kisqali) a abemaciklib (Verzenio); nie je však jasné, či úroveň ich expzie predpovedá citlivosť na inhibítory CDK4/6.	Vysoká (74%)	
	CDK6		Stredná (59%)	
	CCNE1	Zvýšená expresia regulátorov G1/S fáz bunkového cyklu, CCNE1, CCND3, a CDKN2D, bola spojená s rezistenciou na palbociklib (Ibrance) v jednoramennej neoadjuvantnej štúdií fázy II (NeoPalAna) <sup>14</sup> .	Stredná (41%)	
	CCND3		Nízka (32%)	
	CDKN2D		Vysoká (73%)	

## GÉNOVÁ SIGNATÚRA

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 (95%)	
	TOP2A	Gén kódujúci DNA topoizomerázu IIa, enzým kritický pre transkripciu DNA, je cieľom protinádorových liekov.	Vysoká (82%)	
	RAD51	Proteín DNA opravy RAD51 homológ 1 (RAD51) sa podieľa na oprave poškodenej DNA a je asociovaný s rezistenciou voči chemoterapii.	Vysoká (76%)	
	ERCC1	Proteín excíznej DNA opravy ERCC-1 (ERCC1) sa podieľa na oprave poškodenia DNA a je asociovaný s rezistenciou voči chemoterapii.	Vysoká (86%)	
	TYMS	Gén TYMS kóduje enzým tymidilát syntetázu, ktorý sa podieľa na biosyntéze DNA a je cieľom antimetabolitovej chemoterapie 5-fluorouracil <sup>15</sup> .	Vysoká (79%)	
	SLC29A1	Gén SLC29A1 kóduje proteín ENT1 (equilibrative nucleoside transporter 1), nukleozidový transportér, ktorý sa podieľa na transporte gemcitabínu a kapecitabínu <sup>16</sup> .	Vysoká (82%)	
	DHFR	Dihydrofolátreduktáza je enzým kódovaný génom DHFR a podieľa sa na metabolizme folátov a raste buniek. Je cieľom antimetabolitovej chemoterapie metotrexát <sup>17</sup> .	Stredná (63%)	
	SLC19A1	Gén SLC19A1 kóduje proteín RFC1 (reduced folate carrier 1), ktorý prenáša metotrexát do bunky <sup>17</sup> .	Stredná (59%)	
	CDK12	Proteínový produkt génu CDK12 (Cyclin Dependent Kinase 12) reguluje transkripciu, dráhy opravy DNA a bunkový cyklus <sup>18</sup> .	Vysoká (67%)	
	MAPs_Mitotic_ki nases_neoadj_ch emo118	118-génová signatúra predpovedajúca odpoveď na neoadjuvantnú chemoterapiu pomocou liečiva taxán <sup>19</sup> .	Vysoká (87%)	
	MAPs_Mitotic_ki nases_neoadj_ch emo17	17-génová signatúra predpovedajúca odpoveď na neoadjuvantnú chemoterapiu pomocou liečiva taxán <sup>19</sup> .	Vysoká (85%)	
	Early_Relapse_ER.Neg	Génová signatúra chemorezistencie predpovedajúca skorý relaps u pacientov s negatívnou ER (ER-) po chemoterapii liečivami taxán-antracyklín <sup>20</sup> .	Vysoká (84%)	
	Residual_disease_ER.Neg	Génová signatúra chemorezistencie predpovedajúca reziduálne ochorenie u pacientov s negatívnou ER (ER-) po chemoterapii liečivami taxán-antracyklín <sup>20</sup> .	Vysoká (82%)	
	Pathologic_response_ER.Neg	Génová signatúra chemosenzitivity predpovedajúca patologickú úplnú odpoveď u pacientov s negatívnou ER (ER-) po chemoterapii liečivami taxán-antracyklín <sup>20</sup> .	Vysoká (95%)	
	Early_Relapse_ER.Pos	Génová signatúra chemorezistencie predpovedajúca skorý relaps u pacientov s pozitívnou ER (ER+) po chemoterapii liečivami taxán-antracyklín <sup>20</sup> .	Vysoká (89%)	
Residual_disease_ER.Pos	Génová signatúra chemorezistencie predpovedajúca reziduálne ochorenie u pacientov s pozitívnou ER (ER+) po chemoterapii liečivami taxán-antracyklín <sup>20</sup> .	Vysoká (97%)		
Pathologic_response_ER.Pos	Génová signatúra chemosenzitivity predpovedajúca patologickú úplnú odpoveď u pacientov s pozitívnou ER (ER+) po chemoterapii liečivami taxán-antracyklín <sup>20</sup> .	Vysoká (83%)		

Typ liečby / Dráha	Génová signatúra	Popis	Vzorka A percentil	
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.	Vysoká (80%)	
	CD274	Gén CD274 kóduje marker imunitného kontrolného bodu PD-L1. PD-L1 je cieľom liečiva atezolizumab (Tecentriq), imunoterapie schválenej na liečbu prvej línie metastatického TNBC.	Vysoká (85%)	
	CTLA4	Antigén 4 asociovaný s cytotoxickými T-lymfocytmi (CTLA4) je marker imunitného kontrolného bodu a cieľ niekoľkých imunoterapeutických liekov, ako napríklad durvalumab (Imfinzi).	Vysoká (79%)	
	Module5_TcellBcell	Imunitné signatúry predpovedajúce odpoveď na pembrolizumab pacientov s TNBC zaradených do štúdie I-SPY2 <sup>14</sup> .Všetky signatúry, s výnimkou mastocytovej (Mast_cells), boli spojené so zvýšenou pravdepodobnosťou dosiahnutia patologickej kompletnej odpovede.	Vysoká (85%)	
	Chemokine12		Vysoká (85%)	
	STAT1		Vysoká (86%)	
	Dendritic_cells		Vysoká (79%)	
Mast_cells	Vysoká (97%)			
DNA poškodenie a oprava	VCpred_TN	Signatúra reparácie poškodenia DNA / imunity predpovedajúca odpoveď na veliparib (inhibitor PARP) a karboplatinu (štúdia I-SPY2) <sup>14</sup> .	Vysoká (80%)	
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 (38%)	
	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 štúdií GeparQuinto <sup>21</sup> .	Stredná (60%)	
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 deruxtekan (Enhertu) <sup>22</sup> .	Stredná (59%)	
	TACSTD2	Gén TACSTD2 kóduje Tumor-associated calcium signal transducer 2, nazývaný aj Trop-2, ktorý je cieľom liečiva sacituzumab govitekan (Trodelvy), konjugátu protilátky a liečiva (antibody-drug conjugate) schváleného na liečbu metastatického TNBC <sup>23</sup> .	Vysoká (95%)	
	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.	Stredná (65%)	
	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 deruxtekan.	Vysoká (95%)	
	FOLR1	FOLR1 kóduje folátový receptor alfa, ktorý je cieľom konjugátu protilátky a liečiva (antibody-drug conjugate) skúmaným na liečbu metastatického TNBC v niekoľkých klinických štúdiách fázy 1 a 2.	Stredná (53%)	
	F3	F3 kóduje tkanivový faktor, koagulačný faktor III, ktorý je cieľom niekoľkých konjugátov protilátok a liečiv (antibody-drug conjugates) vo fáze 1 klinických skúšok.	Stredná (62%)	
	SLC39A6	Gény SLC39A6 kódujú transportér zinku LIV-1, ktorý je vysoko exprimovaný v lumenálnych karcinómoch prsníka a skúma sa v niekoľkých klinických štúdiách fázy 1 a 2.	Vysoká (99%)	
TPBG	Trofoblastový glykoproteín (TPBG) je nadmerne exprimovaný v mnohých prípadoch rakoviny prsníka a je cieľom najmenej dvoch konjugátov protilátky a liečiva, ktoré sú vo fáze 1 klinických skúšok.	Vysoká (91%)		

## INTERPRETÁCIA A ODPORÚČANIE

- Vysoké hladiny endokrinných markerov (ESR1 a PGR) a klasifikácia subtypu ako luminálny B indikujú liečbu endokrinnou terapiou.
- Vysoké konsenzuálne skóre rizika, klinické riziko (pozitívne uzliny, veľkosť nádoru) a stredná až vysoká expresia markerov proliferácie a signatúr predpovedajú odpoveď na adjuvantnú chemoterapiu.
- Vysoké skóre signatúry E2F4 naznačuje potenciálnu rezistenciu na inhibítory aromatázy. Retrospektívna analýza štúdie POP (Pre-Operative Palbociclib) ukázala, že palbociclib znížil signatúru E2F4, čo naznačuje, že títo pacienti môžu reagovať na samotné inhibítory CDK4/6 alebo v kombinácii s endokrinnou liečbou<sup>9</sup>. Potenciálny prínos inhibítorov CDK4/6 podporuje nízka až stredná expresia markerov rezistencie na inhibítory CDK4/6 (napr. CCNE1 a CCND3) a stredná až vysoká expresia markerov proliferácie.
- Hoci expresia väčšiny imunitných markerov je vysoká, vzorka má aj vysokú expresiu signatúry mastocytov. To môže vylúčiť zváženie imunoterapie, pretože signatúra mastocytov bola silne asociovaná so zníženou odpoveďou na pembrolizumab u ER+/Her2- pacientov v štúdií I-SPY2<sup>13</sup>.
- Vzorka obsahuje vysokú expresiu niekoľkých cieľov konjugátov protilátok a liečiv vrátane TACSTD2, ERBB3, SLC39A6 a TPBG.

## REFERENCIE

1. Gendoo, D.M.A. et al. *Bioinformatics* 32(7): 1097–1099 (2016). 2. Lehmann, B. D. et al. *J Clin Invest* 121: 2750–2767 (2011). 3. Lehmann, B. D. et al. *PLoS One* 11: e0157368 (2016). 4. Bareche, Y. et al. *Ann Oncol* 29: 895–902 (2018). 5. Paik, S. et al. *N Engl J Med* 351(27): 2817–2826 (2004). 6. van't Veer, L.J. et al. *Nature* 415(6871): 530–536 (2002). 7. Parker, J.S. et al. *J Clin Oncol* 27(8): 1160–1167 (2009). 8. Cardoso, F. et al. *Ann Oncol* 30(8): 1194–1220 (2019). 9. Guerrero-Izquierdo, A.L. et al. *Clin Cancer Res* 24(11): 2517–2529 (2018). 10. Mercogliano, M.F. et al. *Clin Cancer Res* 23(3): 636–648 (2017). 11. Guardia, C. et al., *Clin Cancer Res* 27(18): 5096–5108 (2021). 12. Sonnenblick, A. et al. *BMC Med* 13:177 (2015). 13. Wolf, D. M. et al. *Cancer Cell* 40: 609–623.e6 (2022). 14. Ma, C.X. et al. *Clin Cancer Res* 23(15): 4055–4065 (2017). 15. Foekens, J.A. et al. *Cancer Res*. 61: 1421–1425 (2001). 16. Mackey, J.R. et al. *Clin Cancer Res*. 8(1): 110–116 (2002). 17. Yang, V. et al. *RSC Med Chem*. 11(6): 646–664 (2020). 18. Filippone, M.G. et al. *Nat Commun*. 13(1): 2642 (2022). 19. Rodrigues-Ferreira, S. et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 116(47): 23691–23697 (2019). 20. Hatzis, C. et al. *JAMA* 305(18):1873–81 (2011). 21. Karn, T. et al. *Clin Cancer Res* 26: 1896–1904 (2020). 22. Modi, S. et al. *N Engl J Med* 387: 9–20 (2022). 23. Michaleas, S. et al. *ESMO Open* 7 (2022).