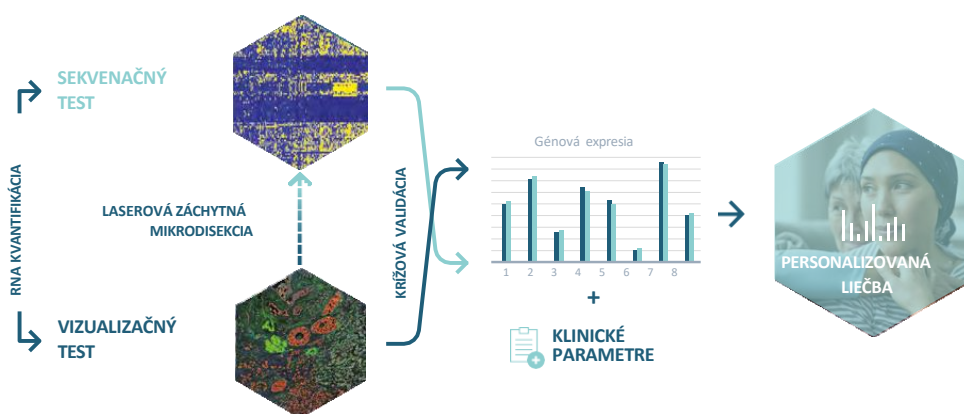


PACIENT	VZORKA	OŠETRUJÚCI LEKÁR
Meno:	ID vzorky: MDX-PT-14	Meno:
ID:	Dátum odberu:	Adresa:
Dátum správy:	Typ:	Kontakt:

## 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:

- STAVE RECEPTOROV:** pre expresiu RNA estrogénového receptora, progesterónového receptora, receptora Her2 a Ki67 meranú a krížovo overovanú dvoma testami.
- MOLEKULÁRNOM SUBTYP:** na základe RNA expície génov nádorovej biológie.
- 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)	+

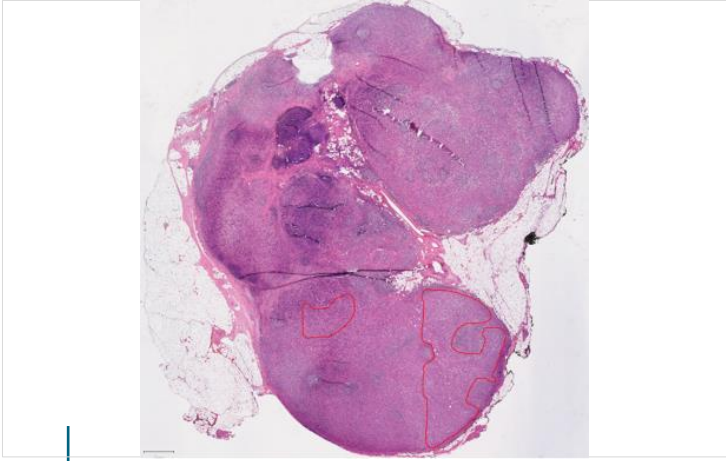
### MOLEKULÁRNÝ SUBTYP

Vlastný subtyp	TNBC subtyp
Luminálny B	-

### RELEVANTNÁ LIEČBA

TERAPIA	KLÚČOVÉ ZISTENIA	KLINICKÝ BENEFIT
Endokrinná terapia	Génová expícia, génová expresná signatúra, molekulárny subtyp, klinické parametre	Predpokladaný benefit
Inhibítory CDK4/6	Génová expícia, génová expresná signatúra, molekulárny subtyp	Predpokladaný benefit
Trastuzumab deruxtekan (Enhertu)	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.

## 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 deruxtekan (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 (80%)	
	PGR		Stredná (55%)	
	ESR1_PGR average	Priemerná expresia génov ESR1 a PGR. Vyššie hladiny hormonálnych receptorov sú prediktívnymi markermi pre endokrinnú liečbu.	Vysoká (72%)	
	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> .	Stredná (63%)	
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 cieleňú na Her2 <sup>8</sup> .	Vysoká (69%)	
	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 (10%)	
	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> .	Nízka (17%)	
	pSTAT3-GS	Signatúra, ktorá predpovedá fosforyláciu STAT3 a o ktorej sa zistilo, že predpovedá rezistenciu voči trastuzumabu v štúdií FinHer <sup>12</sup> .	Nízka (29%)	
	Her2 amplicon_MDX	Vlastná 43-génová signatúra MDX, ktorá sa používa na hodnotenie stavu Her2.	Vysoká (79%)	
	Module7_ERBB2	Signatúra Her2 signalizácie predpovedajúca odpoveď na viacnásobnú anti-Her2 liečbu v štúdií I-SPY2 <sup>13</sup> .	Stredná (65%)	
Proliferácia	AURKA	Gén AURKA kóduje proteín Aurora Kinázu A, ktorý sa podieľa na proliferácii buniek a je nezávislým prognostickým markerom pri rakovine prsníka.	Stredná (52%)	
	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 (79%)	
	Module11_proliferation	Proliferačný index použitý v štúdií I-SPY2 všeobecne predpovedá patologickú kompletnú odpoveď u pacientov s pozitívou hormonálnych receptorov <sup>4</sup> .	Vysoká (70%)	
	Proliferation_MDX	Vlastná 7-génová signatúra MDX používaná na hodnotenie bunkovej proliferácie.	Vysoká (70%)	
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 (80%)	
	CDK6		Stredná (40%)	
	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 (50%)	
	CCND3		Vysoká (91%)	
	CDKN2D		Stredná (39%)	

## 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.	Stredná (50%)	
	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 (79%)	
	TYMS	Gén TYMS kóduje enzým tymidilát syntetázu, ktorý sa podieľa na biosyntéze DNA a je cieľom antimetabolitovej chemoterapie 5-fluorouracil <sup>15</sup> .	Stredná (63%)	
	SLC29A1	Gén SLC29A1 kóduje proteín ENT1 (equilibrative nucleoside transporter 1), nukleozidový transportér, ktorý sa podieľa na transporte gemcitabínu a kapecitabínu <sup>16</sup> .	Vysoká (98%)	
	DHFR	Dihydrofolátreduktáza je enzým kódovaný génom DHFR a podieľa sa na metabolizme folátov a raste buniek. Je cieľom antimetabolitovej chemoterapie metotrexát <sup>17</sup> .	Vysoká (73%)	
	SLC19A1	Gén SLC19A1 kóduje proteín RFC1 (reduced folate carrier 1), ktorý prenáša metotrexát do bunky <sup>17</sup> .	Stredná (44%)	
	CDK12	Proteínový produkt génu CDK12 (Cyclin Dependent Kinase 12) reguluje transkripciu, dráhy opravy DNA a bunkový cyklus <sup>18</sup> .	Stredná (60%)	
	MAPs_Mitotic_ki nases_neoadj_ch emo118	118-génová signatúra predpovedajúca odpoveď na neoadjuvantnú chemoterapiu pomocou liečiva taxán <sup>19</sup> .	Vysoká (93%)	
	MAPs_Mitotic_ki nases_neoadj_ch emo17	17-génová signatúra predpovedajúca odpoveď na neoadjuvantnú chemoterapiu pomocou liečiva taxán <sup>19</sup> .	Stredná (50%)	
	Early_Relapse_E R.Neg	Génová signatúra chemorezistencie predpovedajúca skorý relaps u pacientov s negatívnou ER (ER-) po chemoterapii liečivami taxán-antracyklín <sup>20</sup> .	Vysoká (75%)	
	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 (75%)	
	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 (86%)	
	Early_Relapse_E R.Pos	Génová signatúra chemorezistencie predpovedajúca skorý relaps u pacientov s pozitívnou ER (ER+) po chemoterapii liečivami taxán-antracyklín <sup>20</sup> .	Vysoká (80%)	
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 (84%)		
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 (88%)		

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 (87%)	
	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 (88%)	
	CTLA4	Antigén 4 asociovaný s cytotoxickými T-lymfocyty (CTLA4) je marker imunitného kontrolného bodu a cieľ niekoľkých imunoterapeutických liekov, ako napríklad durvalumab (Imfinzi).	Vysoká (91%)	
	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 (91%)	
	Chemokine12		Vysoká (89%)	
	STAT1		Vysoká (89%)	
	Dendritic_cells		Vysoká (77%)	
	Mast_cells		Stredná (36%)	
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 (87%)	
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).	Nízka (26%)	
	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> .	Nízka (27%)	
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> .	Vysoká (69%)	
	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 (83%)	
	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 (57%)	
	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 (97%)	
	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 (57%)	
	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 (63%)	
	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 (95%)	
	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.	Stredná (56%)	

## INTERPRETÁCIA A ODPORÚČANIE

- Stredné až vysoké expresie endokrinných markerov (PGR a ESR1), klasifikácia ako subtyp Luminálny B a klinické parametre (IHC) indikujú liečbu endokrinnou terapiou.
- Stredne vysoké skóre signatúry E2F4 poukazuje na potenciálnu rezistenciu na inhibítory aromatázy. Retrospektívna analýza štúdie POP (Pre-Operative Palbociclib) ukázala, že palbociclib, znížil expresiu signatúry E2F4, čo indikuje, že tieto osoby môžu reagovať na inhibítory CDK4/6 samostatne alebo v kombinácii s endokrinnou liečbou<sup>9</sup>. Potenciálny prínos inhibítorov CDK4/6 podporuje stredná expresia markerov rezistencie na inhibítory CDK4/6 (napr. CCNE1 a CDKND2) a stredná až vysoká expresia markerov proliferácie.
- Zaradenie Her2-low môže predpovedať prínos ADC trastuzumabu deruxtekanu. Podporuje to vysoká expresia TOP1, ktorý je cieľom cytotoxickej zložky deruxtekanu.
- Chemoterapia na báze taxánov/antracyklínov môže byť prospešná vzhľadom na vysokú expresiu Consensus Prognostic Signature skóre a určitých signatúr chemoterapie (napr. Pathologic\_response\_ER.Pos a MAPs\_Mitotic\_kinases\_neoadj\_chemo118).
- Úrovně expresie nukleozidových transportérov, ako je SLC29A1, sú spojené s citlivosťou na gemcitabín a kapecitabín, pričom vysoké hladiny predpovedajú citlivosť.
- Keďže analyzovaným zdrojom tkaniva bola lymfatická uzlina, gény súvisiace s imunitou a génové signatúry by sa mali interpretovať opatrne a potvrdiť analýzou primárnej biopsie/chirurgického resektátu.

## 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-Zotano, 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).