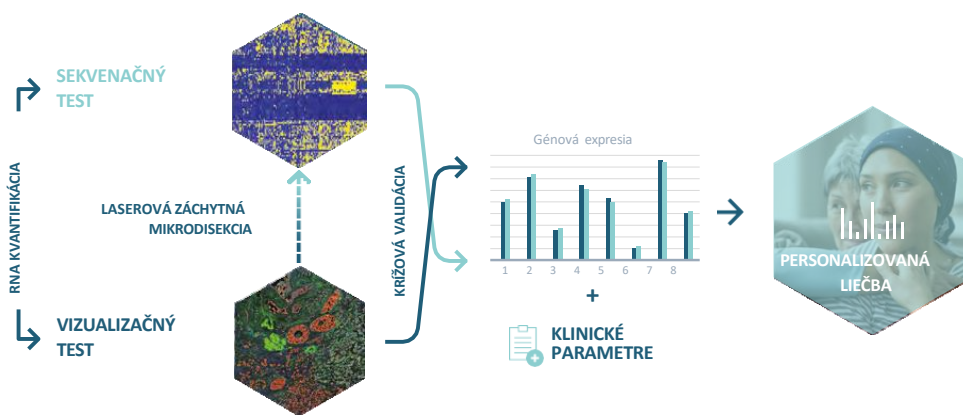


PACIENT	VZORKA	OŠETRUJÚCI LEKÁR
Meno:	ID vzorky: MDX-PT-18	Meno:
ID:	Dátum odberu:	Adresa:
Dátum správy:	Typ:	Kontakt:

## 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 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:

- STAVE RECEPTOROV:** pre expresiu RNA estrogénového receptora, progesterónového receptora, receptora Her2 a Ki67 meranú a krížovo overovanú dvoma testami.
- MOLEKULÁRNOM SUBTYP:** na základe RNA expresie 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	+	+	+	-
B	+	+	-	-

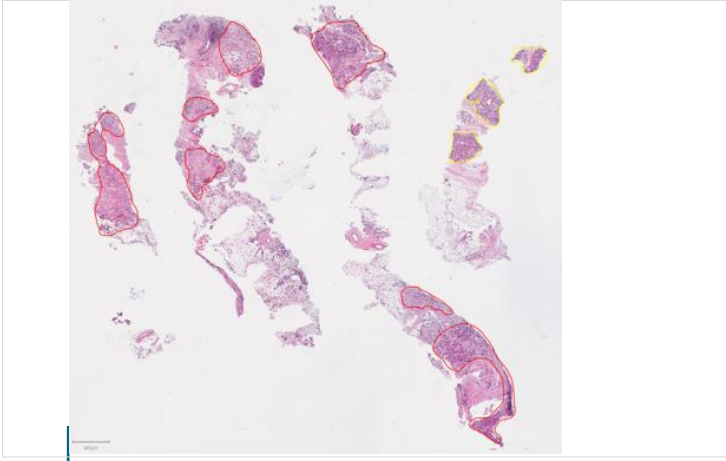
### MOLEKULÁRNÝ SUBTYP

Vlastný subtyp	TNBC subtyp
Her2+	-
Normal-like	-

### RELEVANTNÁ LIEČBA

TERAPIA	KLÚČOVÉ ZISTENIA	KLINICKÝ BENEFIT
Endokrinná terapia	Génová expresia, génová expresná signatúra, klinické parametre	Predpokladaný benefit
Anti-Her2	Génová expresia, génová expresná signatúra, molekulárny subtyp, klinické parametre	Predpokladaný benefit
Sacituzumab govitekan (Trodelvy)	Génová expresia	Predpokladaný benefit

## LASEROVÁ ZÁCHYTNÁ MIKRODISEKCIA



Na základe histologického hodnotenia a expresie biomarkerov RNA-FISH boli dve vzorky podrobené laserovej mikrodisekcii pre ďalšiu analýzu.

**Vzorka A** (červený obrys)

**Vzorka B** (žltý obrys)

## MOLEKULÁRNY SUBTYP

Vlastný subtyp	TNBC subtyp <sup>2-4</sup>
Her2+	-
Normal-like	-

## INTERPRETÁCIA

- Molekulárna klasifikácia ako subtyp Her2+ pre vzorku A a normálny typ pre vzorku B nie je v súlade s imunohistochemickým a klinickým označením. Nie je to nezvyčajné. Napríklad v kohorte METABRIC bolo 26 % a 7 % vzoriek ER+/PR-/Her2+ klasifikovaných ako Her2+ a Normal-like podľa PAM50.
- Subtyp obohatený o Her2 (Her2+) je charakterizovaný nadmernou expresiou Her2 a jeho nadväzujúcich signálnych dráh. Karcinóm prsníka Her2+ má horšiu prognózu ako luminálny karcinóm prsníka a vo všeobecnosti reaguje na cieleňú liečbu proti Her2.
- Normal-like subtyp sa vyznačuje vysokou expresiou génov strómy a zdravého tkaniva a je pravdepodobne vedľajším produktom nízkeho obsahu a celularity nádoru.

## 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	Vzorka B 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.	N/A	Vysoká

## STAV RECEPTOROV

Vzorka	ESR1	PGR	ERBB2	MKI67
A	+	+	+	-
B	+	+	-	-

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

## INTERPRETÁCIA

- Stav PGR sa nezhoduje s výsledkami IHC
- Keďže nízka expresia hormonálnych receptorov môže viac pripomínať TNBC ako ER+ karcinóm prsníka, molekulárna subtypizácia a ďalšie biomarkery môžu poskytnúť viac informácií o základnej biológii nádoru.

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>.

## GÉNOVÁ SIGNATÚRA

Typ liečby / Dráha	Génová signatúra	Popis	Vzorka A percentil	Vzorka B 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> .	Stredná (34%)	Nízka (33%)
	PGR		Stredná (43%)	Stredná (43%)
	ESR1_PGR average	Priemerná expresia génov ESR1 a PGR. Vyššie hladiny hormonálnych receptorov sú prediktívnymi markermi pre endokrinnú liečbu.	Nízka (33%)	Nízka (33%)
	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 (42%)	Nízka (2%)
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> .	Vysoká (94%)	Nízka (15%)
	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 (20%)	Vysoká (100%)
	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 (34%)	Vysoká (96%)
	pSTAT3-GS	Signatúra, ktorá predpovedá fosforyláciu STAT3 a o ktorej sa zistilo, že predpovedá rezistenciu voči trastuzumabu v štúdií FinHer <sup>12</sup> .	Stredná (39%)	Vysoká (91%)
	Her2 amplicon_MDX	Vlastná 43-génová signatúra MDX, ktorá sa používa na hodnotenie stavu Her2.	Stredná (51%)	Nízka (19%)
	Module7_ERBB2	Signatúra Her2 signalizácie predpovedajúca odpoveď na viacnásobnú anti-Her2 liečbu v štúdií I-SPY2 <sup>13</sup> .	Stredná (42%)	Nízka (15%)
Proliferácia	AURKA	Gén AURKA kóduje proteín Aurora Kináza A, ktorý sa podieľa na proliferácii buniek a je nezávislým prognostickým markerom pri rakovine prsníka.	Nízka (26%)	Nízka (2%)
	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> .	Stredná (49%)	Nízka (3%)
	Module11_proliferation	Proliferačný index použitý v štúdií I-SPY2 všeobecne predpovedá patologickú kompletnú odpoveď u pacientov s pozitívnou hormonálnych receptorov <sup>4</sup> .	Nízka (32%)	Nízka (6%)
	Proliferation_MDX	Vlastná 7-génová signatúra MDX používaná na hodnotenie bunkovej proliferácie.	Nízka (32%)	Nízka (4%)
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 abemaciclib (Verzenio); nie je však jasné, či úroveň ich expzie predpovedá citlivosť na inhibítory CDK4/6.	Nízka (25%)	Nízka (10%)
	CDK6		Vysoká (77%)	Vysoká (71%)
	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> .	Nízka (13%)	Nízka (5%)
	CCND3		Nízka (15%)	Stredná (62%)
	CDKN2D		Nízka (9%)	Nízka (13%)

## 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.	Stredná (55%)	Nízka (24%)
	TOP2A	Gén kódujúci DNA topoizomerázu IIa, enzým kritický pre transkripciu DNA, je cieľom protinádorových liekov.	Stredná (40%)	Nízka (1%)
	RAD51	Proteín DNA opravy RAD51 homológ 1 (RAD51) sa podieľa na oprave poškodenej DNA a je asociovaný s rezistenciou voči chemoterapii.	Nízka (25%)	Nízka (1%)
	ERCC1	Proteín excíznej DNA opravy ERCC-1 (ERCC1) sa podieľa na oprave poškodenia DNA a je asociovaný s rezistenciou voči chemoterapii.	Stredná (49%)	Nízka (15%)
	TYMS	Gén TYMS kóduje enzým tymidilát syntetázu, ktorý sa podieľa na biosyntéze DNA a je cieľom antimetabolitovej chemoterapie 5-fluorouracil <sup>15</sup> .	Nízka (25%)	Nízka (1%)
	SLC29A1	Gén SLC29A1 kóduje proteín ENT1 (equilibrative nucleoside transporter 1), nukleozidový transportér, ktorý sa podieľa na transporte gemcitabínu a kapecitabínu <sup>16</sup> .	Stredná (60%)	Stredná (39%)
	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 (51%)	Nízka (10%)
	SLC19A1	Gén SLC19A1 kóduje proteín RFC1 (reduced folate carrier 1), ktorý prenáša metotrexát do bunky <sup>17</sup> .	Stredná (60%)	Nízka (2%)
	CDK12	Proteínový produkt génu CDK12 (Cyclin Dependent Kinase 12) reguluje transkripciu, dráhy opravy DNA a bunkový cyklus <sup>18</sup> .	Stredná (50%)	Nízka (18%)
	MAPs_Mitotic_ki nases_neoadj_ch emo118	118-génová signatúra predpovedajúca odpoveď na neoadjuvantnú chemoterapiu pomocou liečiva taxán <sup>19</sup> .	Nízka (32%)	Nízka (20%)
	MAPs_Mitotic_ki nases_neoadj_ch emo17	17-génová signatúra predpovedajúca odpoveď na neoadjuvantnú chemoterapiu pomocou liečiva taxán <sup>19</sup> .	Nízka (32%)	Nízka (1%)
	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> .	Stredná (47%)	Nízka (19%)
	Residual_disease_ER.Neg	Génová signatúra chemorezistencie predpovedajúca reziduálne ochorenie u pacientov s negatívnou ER (ER-) po chemoterapii liečivami taxán-antracyklín <sup>20</sup> .	Stredná (41%)	Nízka (32%)
	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> .	Stredná (47%)	Stredná (41%)
	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 (67%)	Stredná (58%)
	Residual_disease_ER.Pos	Génová signatúra chemorezistencie predpovedajúca reziduálne ochorenie u pacientov s pozitívnou ER (ER+) po chemoterapii liečivami taxán-antracyklín <sup>20</sup> .	Stredná (42%)	Nízka (22%)
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> .	Stredná (36%)	Nízka (32%)	

## GÉNOVÁ SIGNATÚRA

Typ liečby / Dráha	Génová signatúra	Popis	Vzorka A percentil	Vzorka B 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.	Nízka (27%)	Stredná (37%)
	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.	Nízka (32%)	Nízka (10%)
	CTLA4	Antigén 4 asociovaný s cytotoxickými T-lymfocytmi (CTLA4) je marker imunitného kontrolného bodu a cieľ niekoľkých imunoterapeutických liekov, ako napríklad durvalumab (Imfinzi).	Nízka (13%)	Stredná (46%)
	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.	Nízka (27%)	Vysoká (67%)
	Chemokine12		Nízka (30%)	Stredná (47%)
	STAT1		Nízka (20%)	Nízka (28%)
	Dendritic_cells		Stredná (35%)	Vysoká (77%)
	Mast_cells		Vysoká (99%)	Vysoká (79%)
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> .	Stredná (40%)	Nízka (0%)
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 (3%)	Nízka (6%)
	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 GepaQuinto <sup>21</sup> .	Nízka (15%)	Stredná (36%)
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 (94%)	Nízka (15%)
	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> .	Stredná (35%)	Vysoká (90%)
	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 (27%)	Stredná (39%)
	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 (78%)	Nízka (27%)
	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.	Nízka (31%)	Vysoká (99%)
	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 (49%)	Vysoká (81%)
	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 (97%)	Nízka (17%)
	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 (80%)	Nízka (21%)

## INTERPRETÁCIA A ODPORÚČANIE

- Hoci expresia hormonálnych receptorov je nízka, je prítomná vo vzorkách A aj B, čo naznačuje potenciálne prospešnú endokrinnú liečbu oboch heterogénnych oblastí biopsie.
- Zvýšená hladina ERBB2 (vo vzorke A) a stredne vysoká hladina signatúry Her2 amplikónu spolu s nízkou až strednou expresiou markerov rezistencie (MUC4, pSTAT3-GS a NRG1) indikujú, že liečba súvisiaca s Her2, ako je trastuzumab, pertuzumab, trastuzumab emtanzín, a tukatinib, môže byť prospešná. Trastuzumab deruxtekan môže byť účinnou možnosťou pre vzorku A aj vzorku B, pretože vykazuje účinnosť u pacientov s IHC Her2 +0<sup>22</sup>.
- Stredné (vzorka A) až vysoké (vzorka B) hladiny TACSTD2 môžu predpovedať citlivosť na ADC zameraný na Trop-2, sacituzumab govitekan. Avšak SN-38, cytotoxická zložka sacituzumab govitekanu sa zameriava na TOP1, ktorý je exprimovaný len v stredných (vzorka A) až nízkych hladinách (vzorka B).
- Obe vzorky vykazujú vysokú expresiu niekoľkých konjugátov protilátok a liečiv vrátane FOLR1 (vzorka B) a SLC39A6 (vzorka A).

## 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).