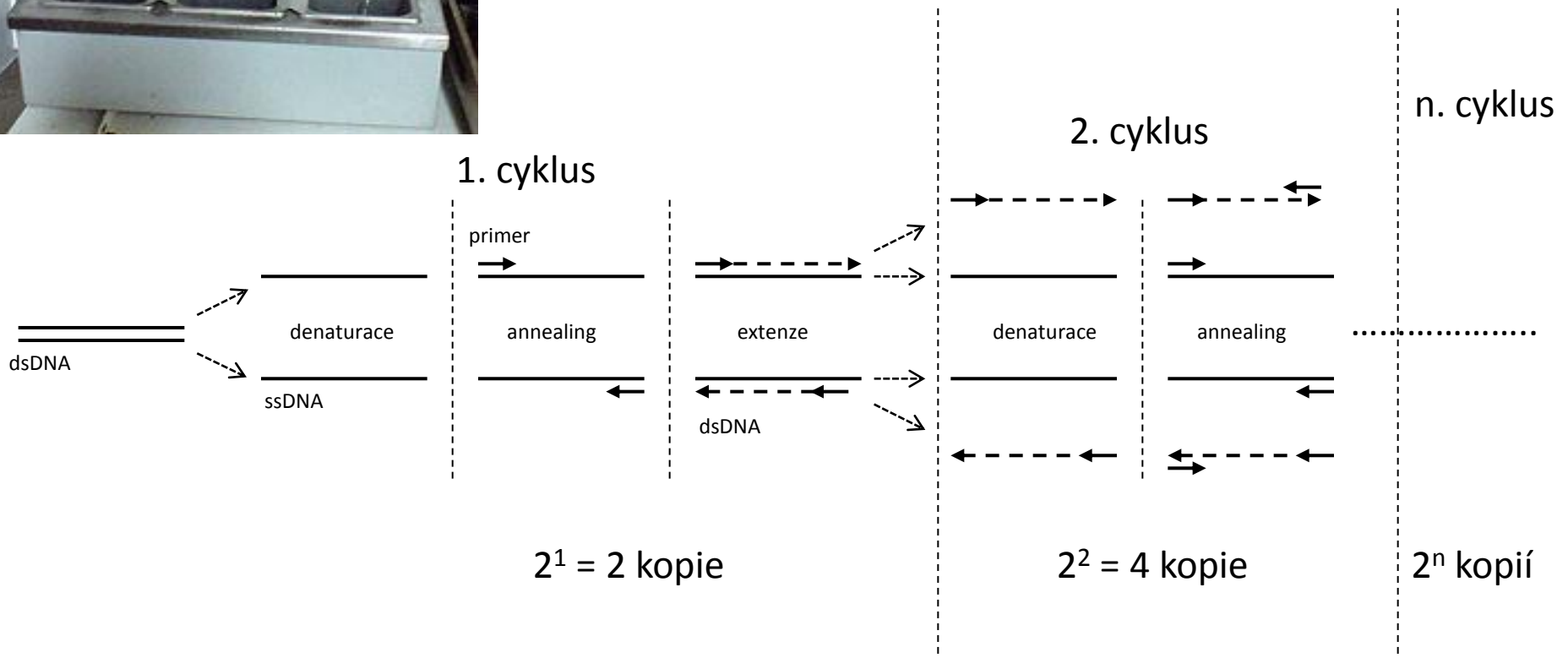




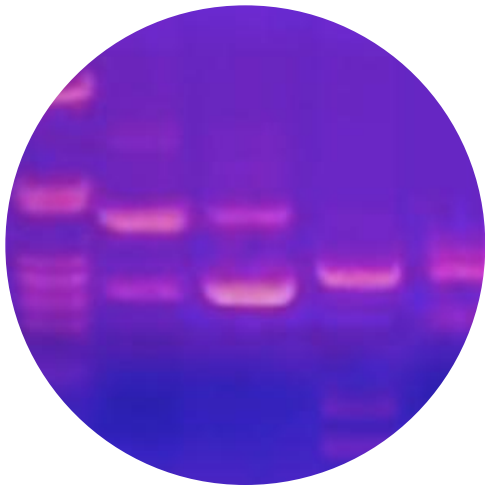
Princip PCR



PCR umožňuje detekovat jediný leukocyt infikovaný HIV mezi 10^5 neinfikovaných bílých krvinek. K tomu je třeba onen jediný leukocyt, obsahující sekvenci typickou pro HIV, pomocí PCR rozmnožit. Při 30 PCR cyklech se původní počet cílových sekvencí znásobí 10^6 až 10^9 .

Vývoj PCR metod

1st

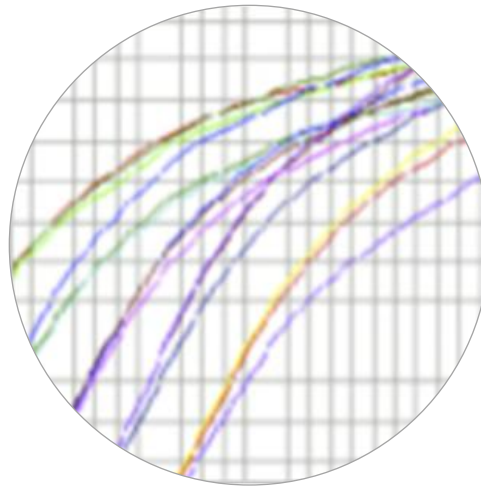


PCR

Qualitative

Multiplex PCR
PCR-RFLP

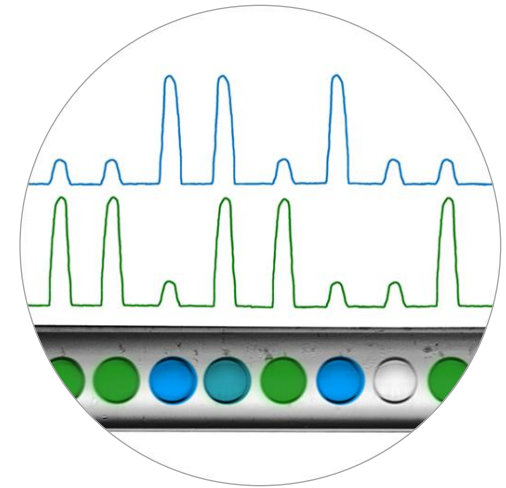
2nd



Real-time PCR

Relative Quantification

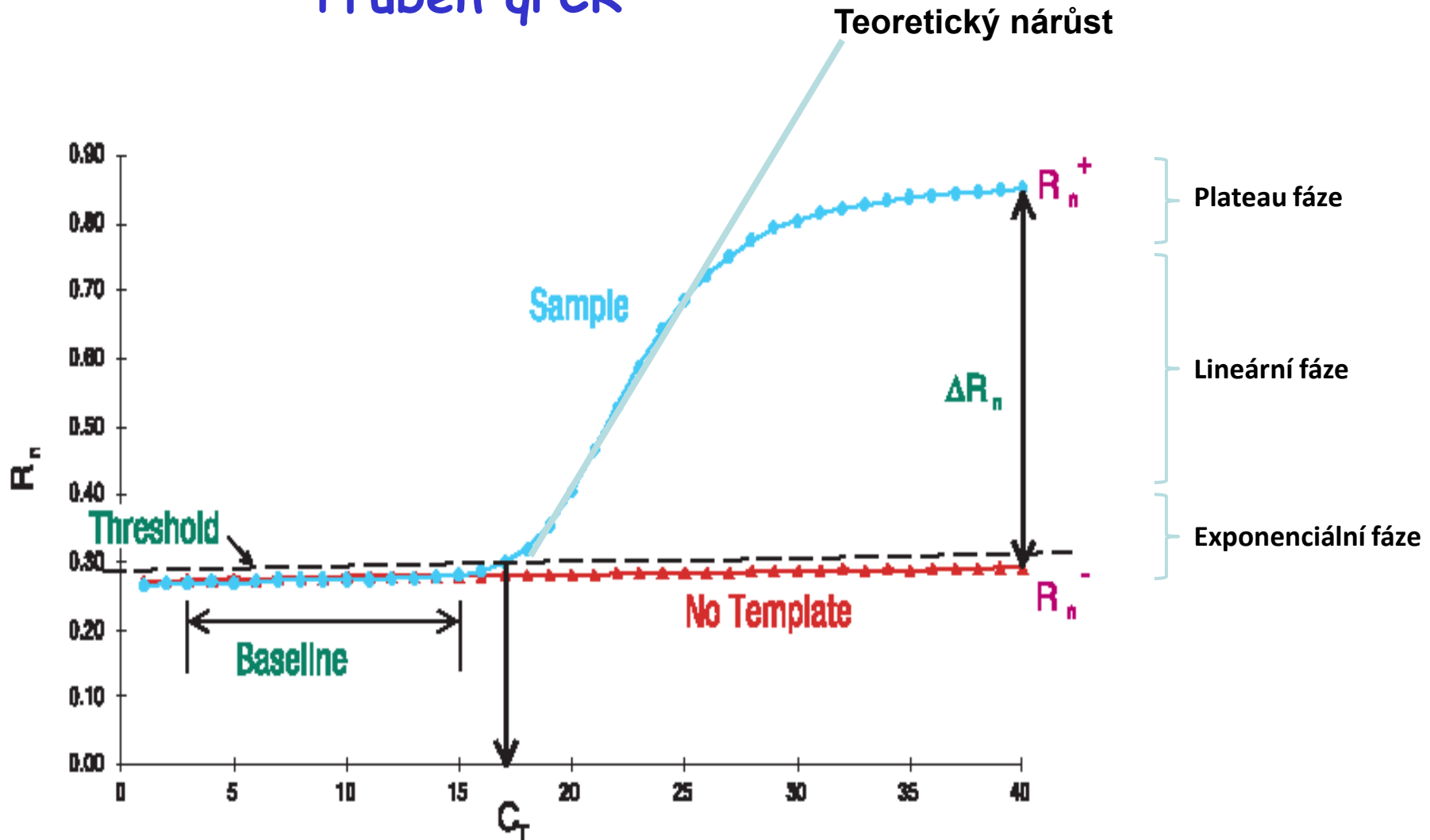
3rd



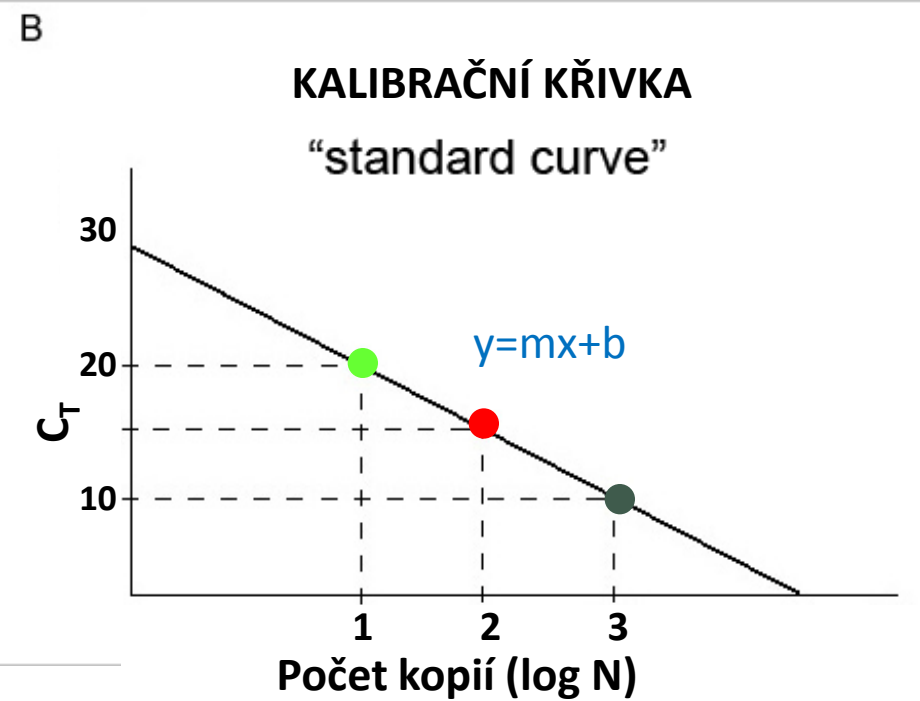
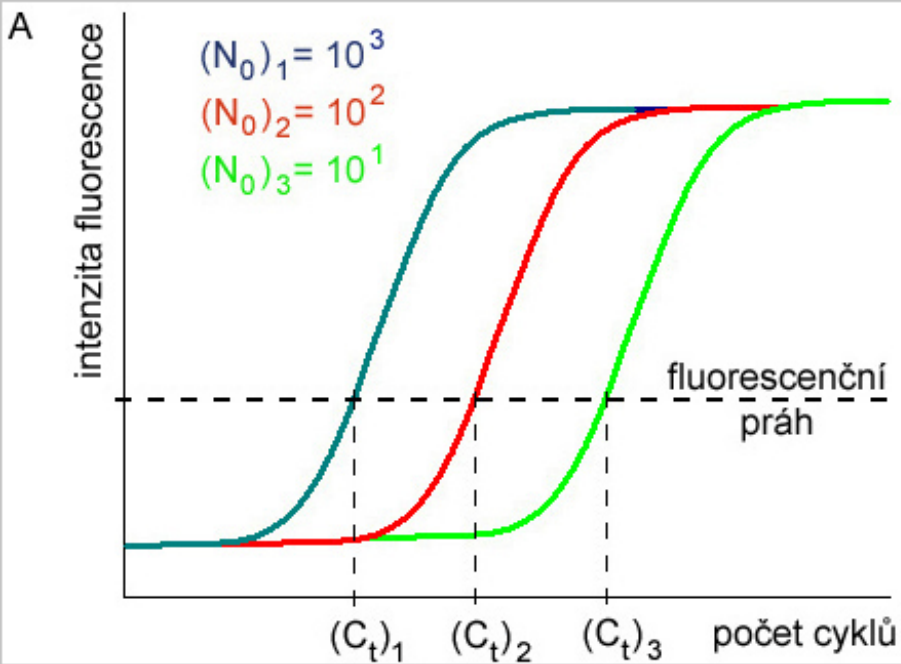
Droplet Digital PCR

Absolute Quantification

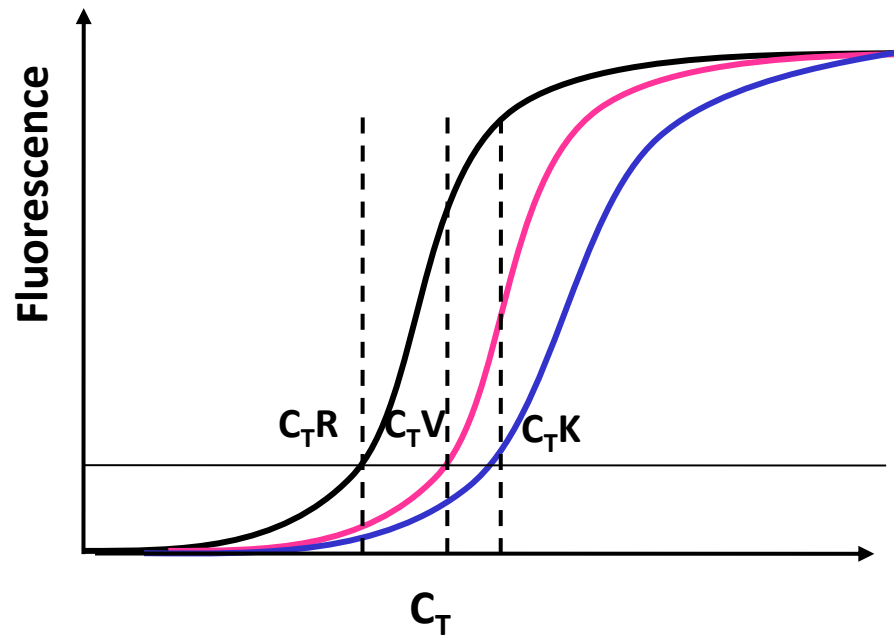
Průběh qPCR



Absolutní kvantifikace



Relativní kvantifikace

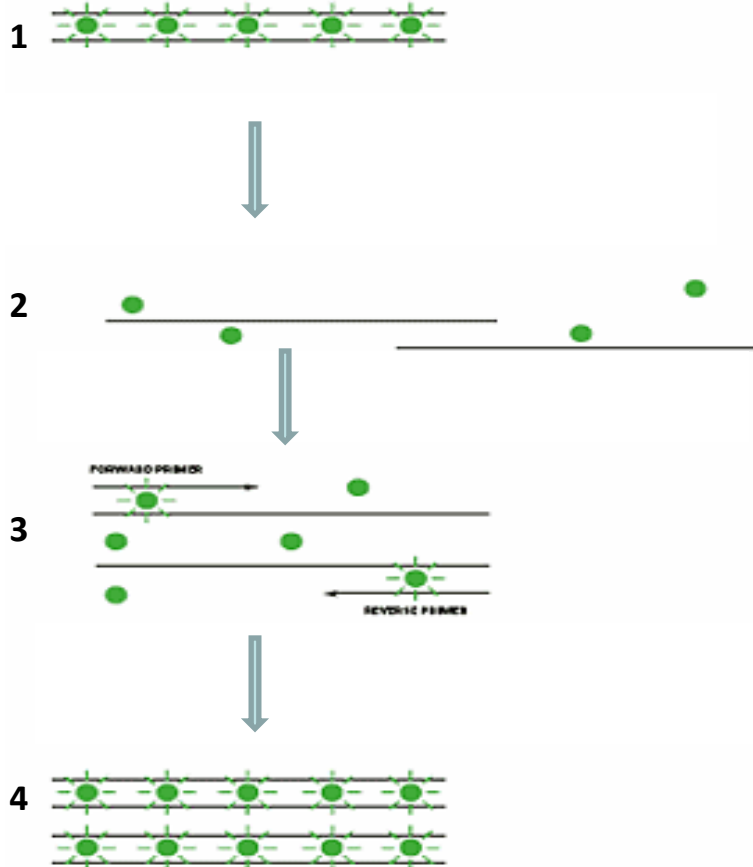


V případě relativní kvantifikace je nejdříve provedena normalizace a získána tak hodnota ΔC_T definovaná jako $\Delta C_T = C_T V$ (cílový gen) – $C_T R$ (referenční gen). Následně je stanovena $\Delta\Delta C_T$ jako: $\Delta\Delta C_T = \Delta C_T V - \Delta C_T K$ (kontrolní vzorek). Relativní kvantifikace vzorku vzhledem ke kontrolnímu vzorku je získána umocněním $2^{-\Delta\Delta C_T}$.

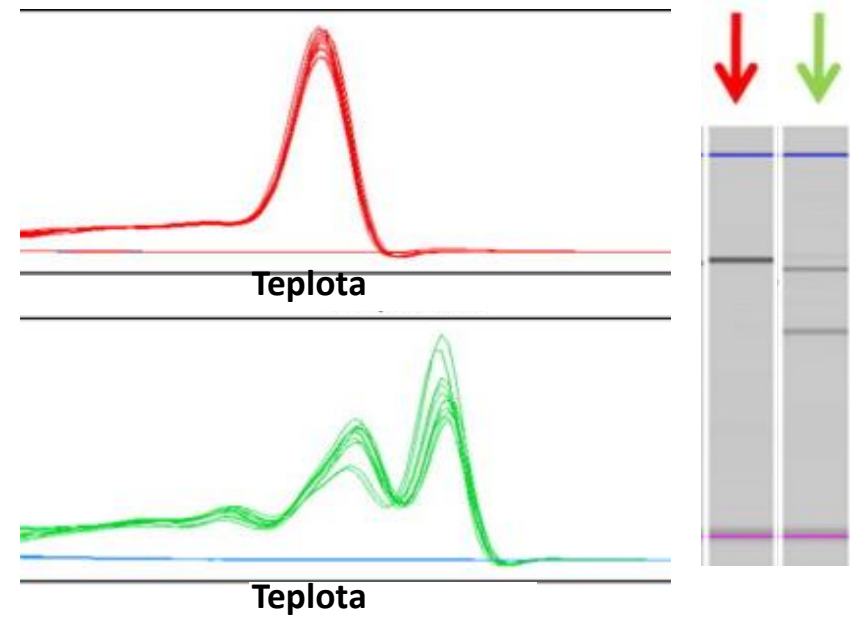
Typy sond:

1. Nespecifické (např. interkalační barviva)
2. Specifické (fluorescenčně značené sondy)
3. Fluorescenčně značené primery

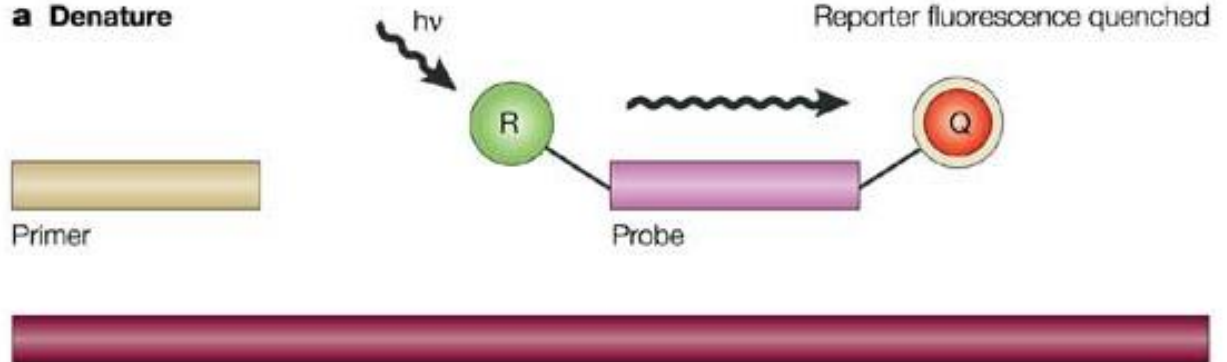
A



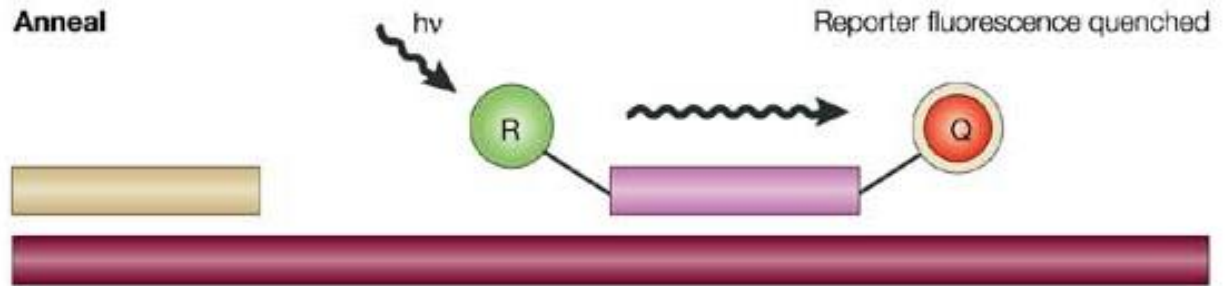
B



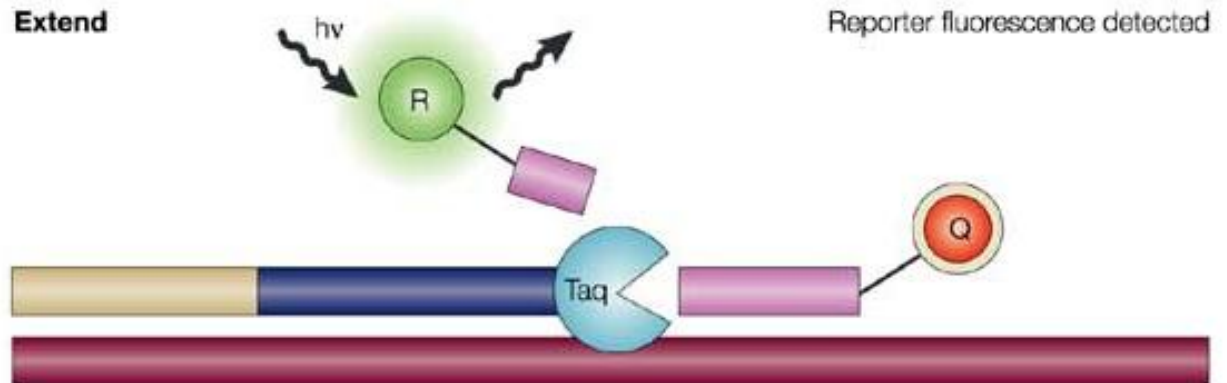
a Denature

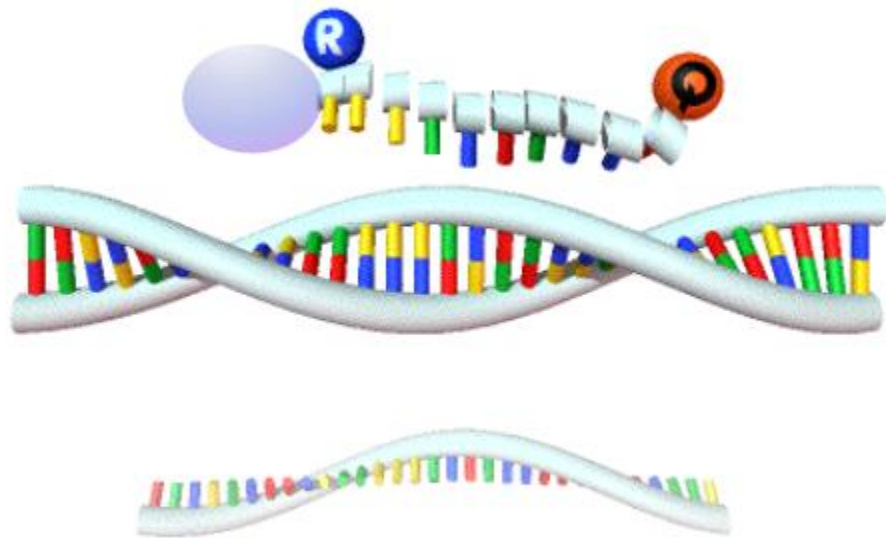


Anneal



Extend





FRET

3' donorový fluorofor



Sonda 1

5' akceptorový fluorofor



Sonda 2

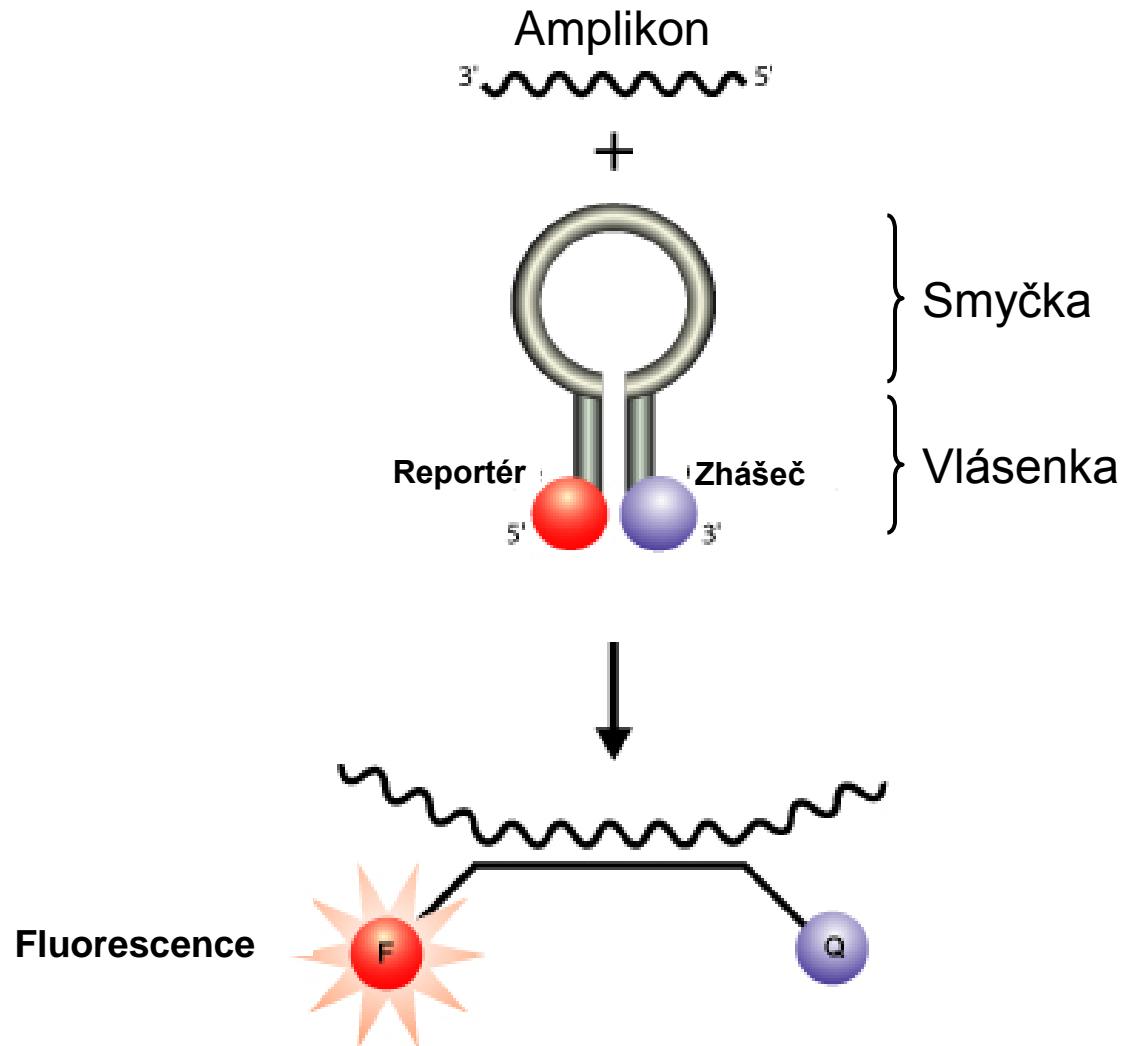


Amplifikovaná cílová DNA

1. Probes in solution emit low fluorescence

2. Emission through fluorescence resonance energy transfer

Princip molekulárních majáků



Mutační analýza onkologických onemocnění

Kolorektální karcinom, který patří k nejrozšířenějším nádorovým onemocněním v rozvinutých zemích, může být při velmi časně diagnóze úspěšně léčitelný (v lokalizovaném stadiu až 90 %).

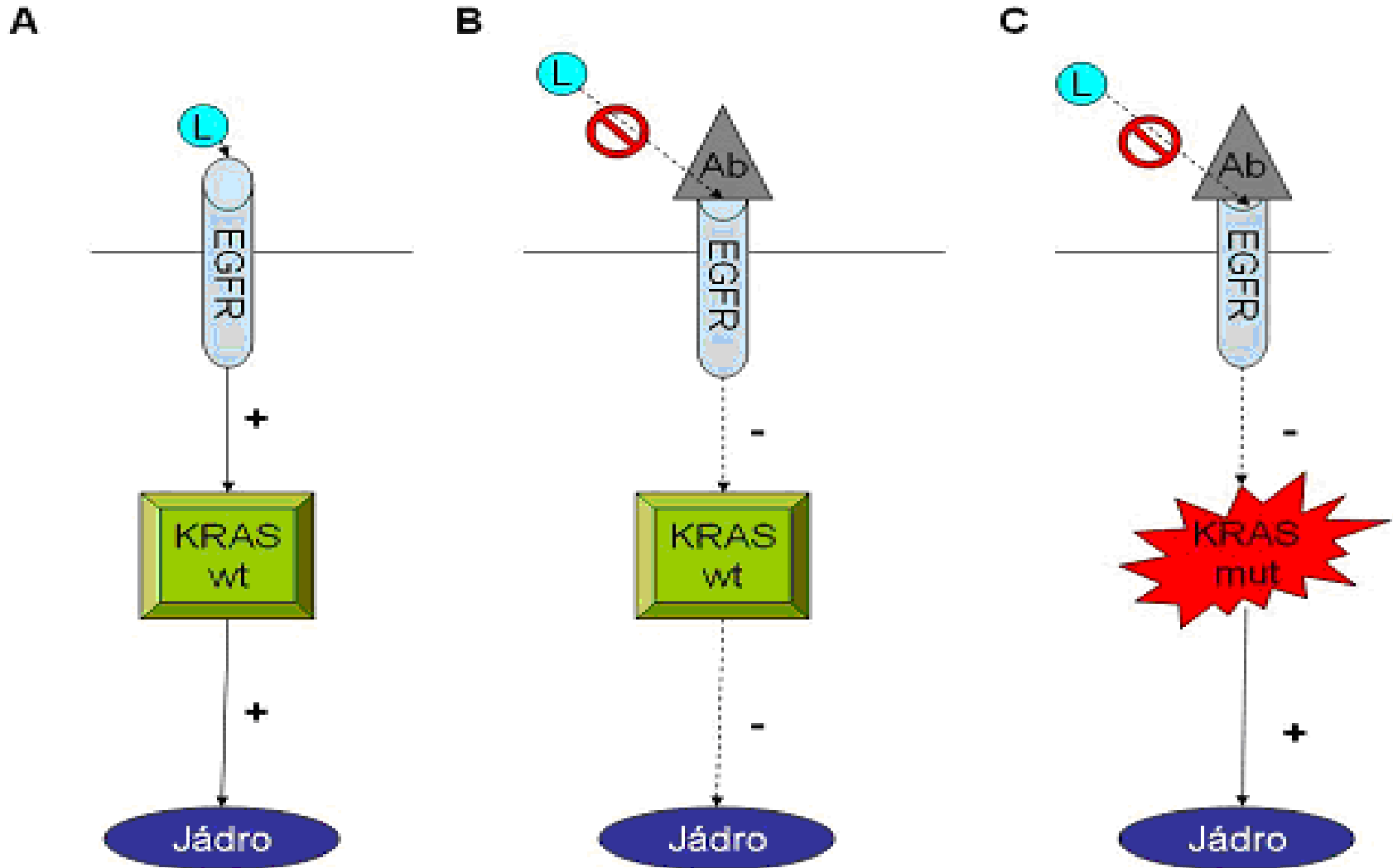
Existují genetické abnormality, které vedou nejprve k benigní proliferaci buněk sliznice tlustého střeva tj. k tvorbě polypů, dále pak adenomů a nakonec ke vzniku adenokarcinomu, popřípadě adenokarcinomu brzy metastazujícímu.

Asi **1/3** populace mívá po padesátce adenomy tlustého střeva; ale jen u **10 %** vznikne karcinom. Tyto adenomy možno klasifikovat podle jejich velikosti, patologie (makroskopická struktura) a dysplazie (mikroskopická struktura) na málo a na vysoce rizikové.

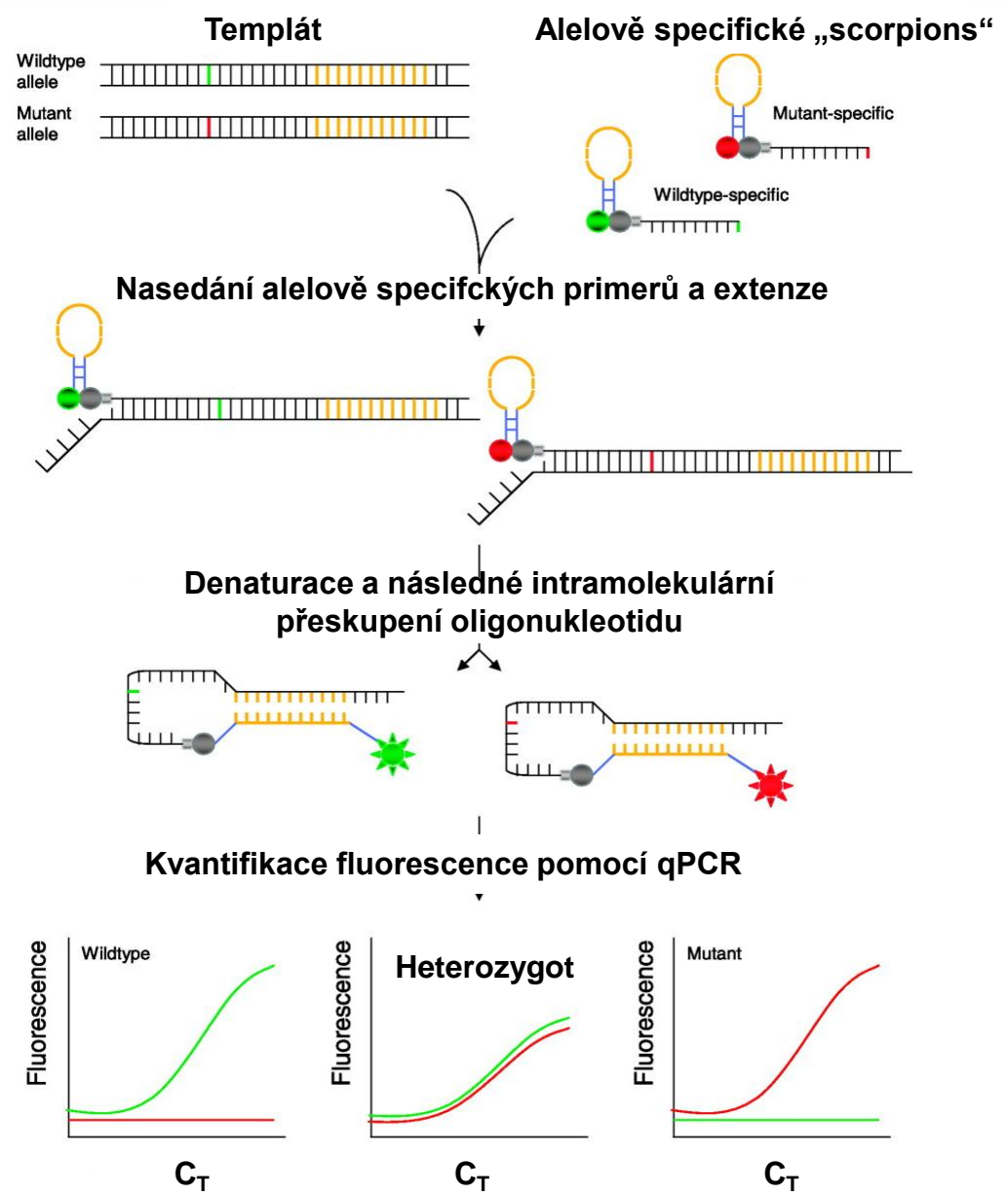
Histopatologická kritéria nejsou však dostatečně objektivní. Mnohem lepší je průkaz mutace genu **K-ras**, který patří k protoonkogenům, uplatňujícím se v kaskádě transdukce signálu a je tedy částečně odpovědný za přeměnu adenomu na adenokarcinom. Mutace genu K-ras se většinou objevují v exonu 1, a to buď na kodónu 12 (GGT) nebo 13 (GGC). Oba triplety (GGT i GGC) kódují glycin. Vznikne-li mutace na jedné z obou bazí (kupř. GGT→GCT), pak v sekvenci polypeptidu je glycin nahrazen alaninem.

Ad7) Techniky založené na kvantifikaci DNA

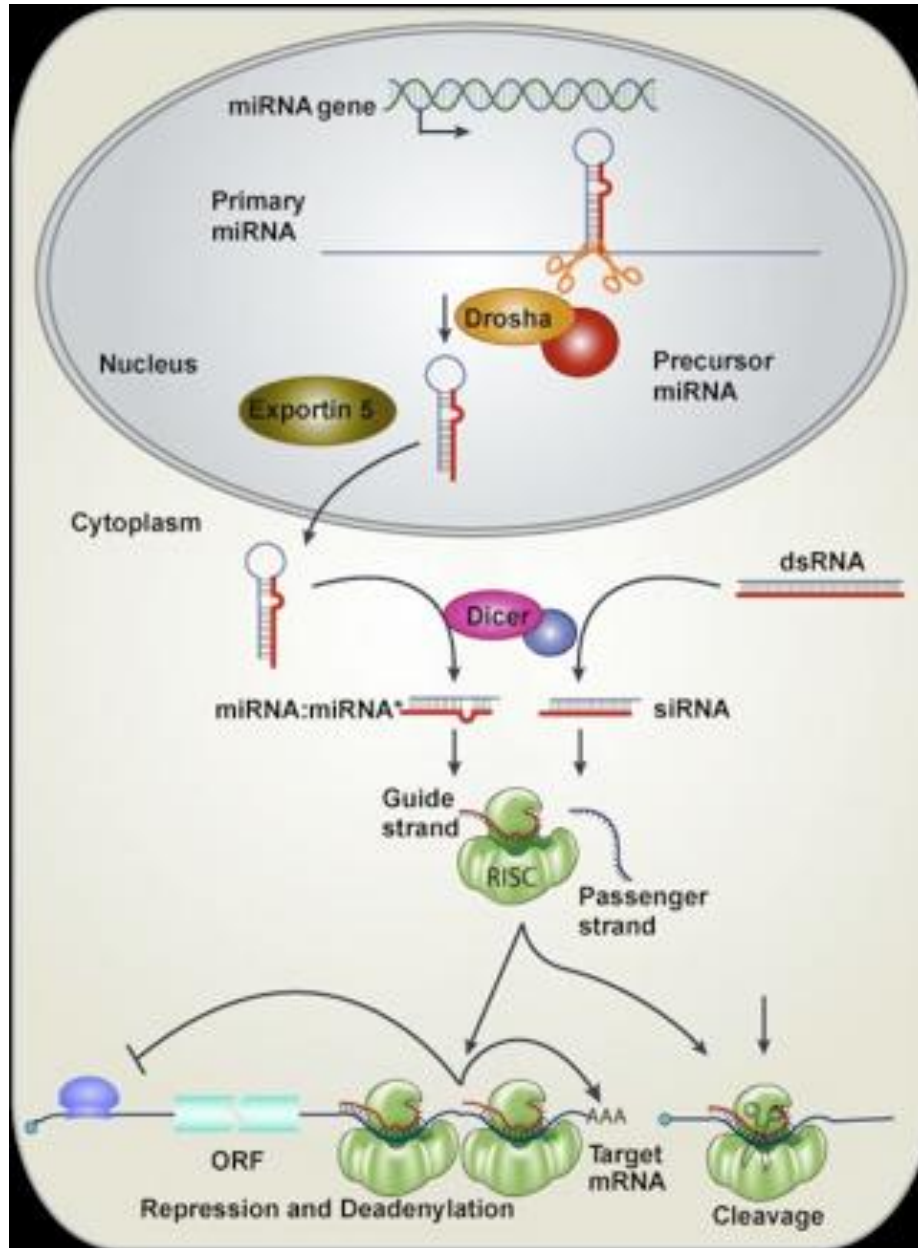
PCR s alelově-specifickými primery ARMS (Amplification Refractory Mutation System) v kombinaci se systémem „Scorpion“



Stanovení mutací pomocí bi-funkčních molekul „scorpions“

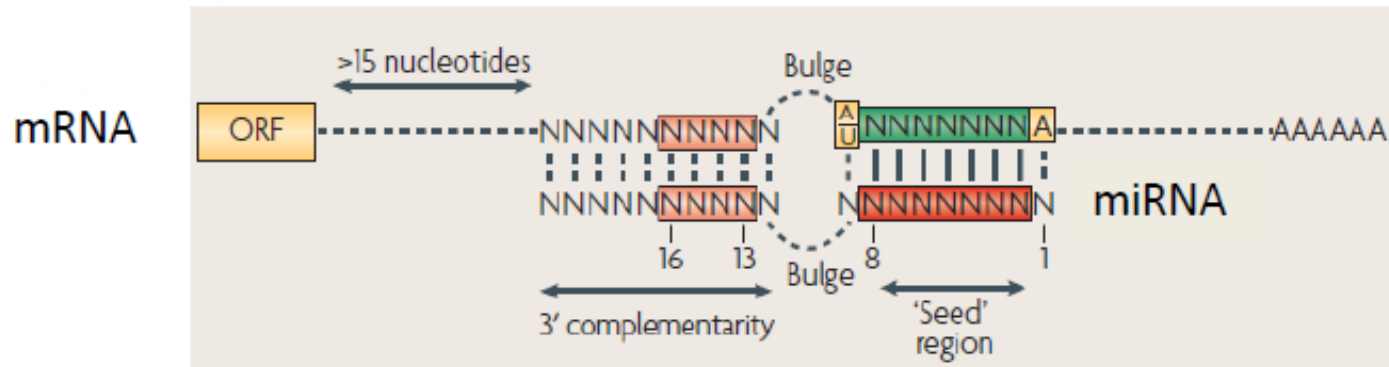


miRNA: „mikromanažeři genové exprese“



MicroRNA seed region

- Bases 2-7



- Imperfect base heteroduplexes

- Predicted to target several hundred genes each
- ~60% mRNAs have at least 1 miRNA binding site in UTR
 - many have far more

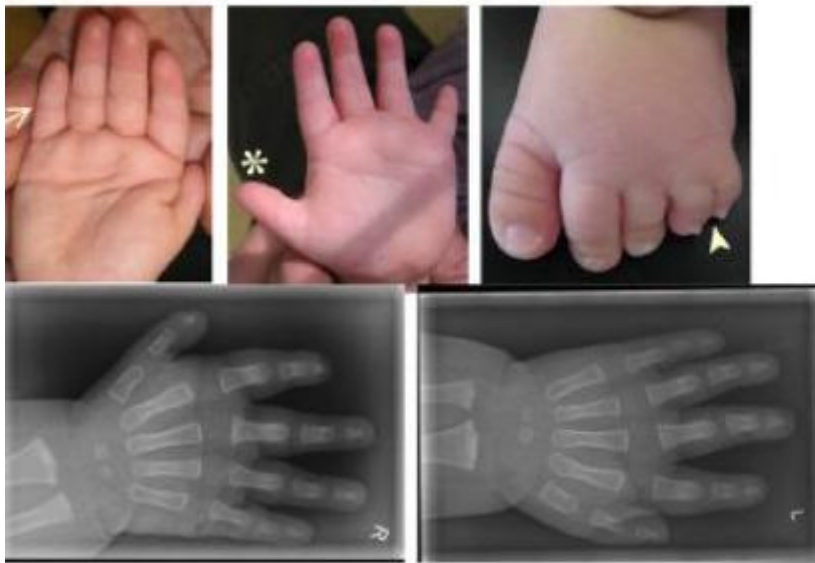
5'UTR and coding region targeting miRNAs

In human cancer, miRNA expression profiles differ between normal tissues and the tumours that are derived from them, and differ between tumour types

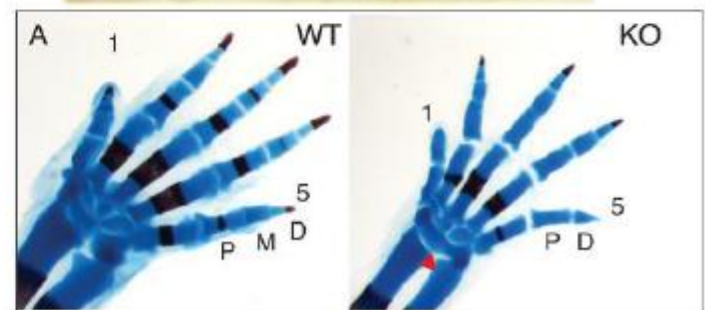
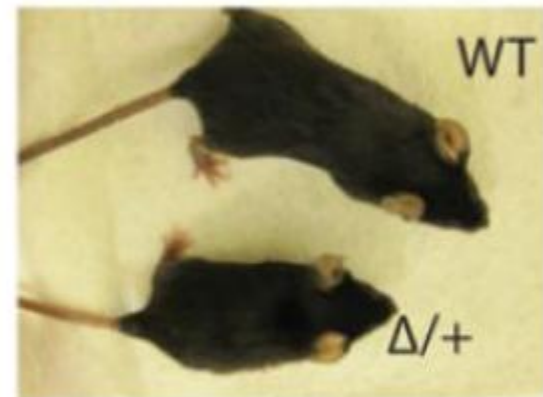
- Deletion or downregulation oncogene-targetting miRNAs in cancer
- Upregulation of 'oncomiRs' – miR-17-92 polycistron derived miRNAs increased in B cell lymphomas (He Nature 2005)

miR-17-92 polycistron

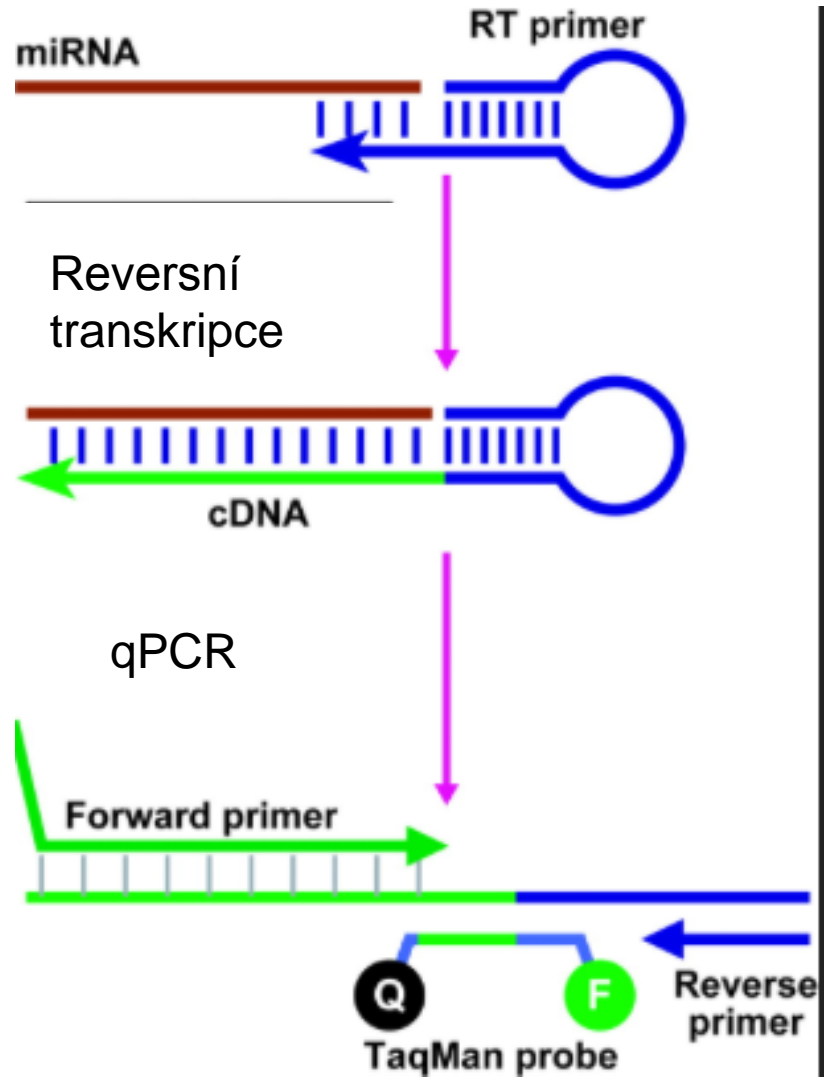
Example of miRNA mutation responsible for a developmental defect in humans (de Pontual Nat Genet. 2011)



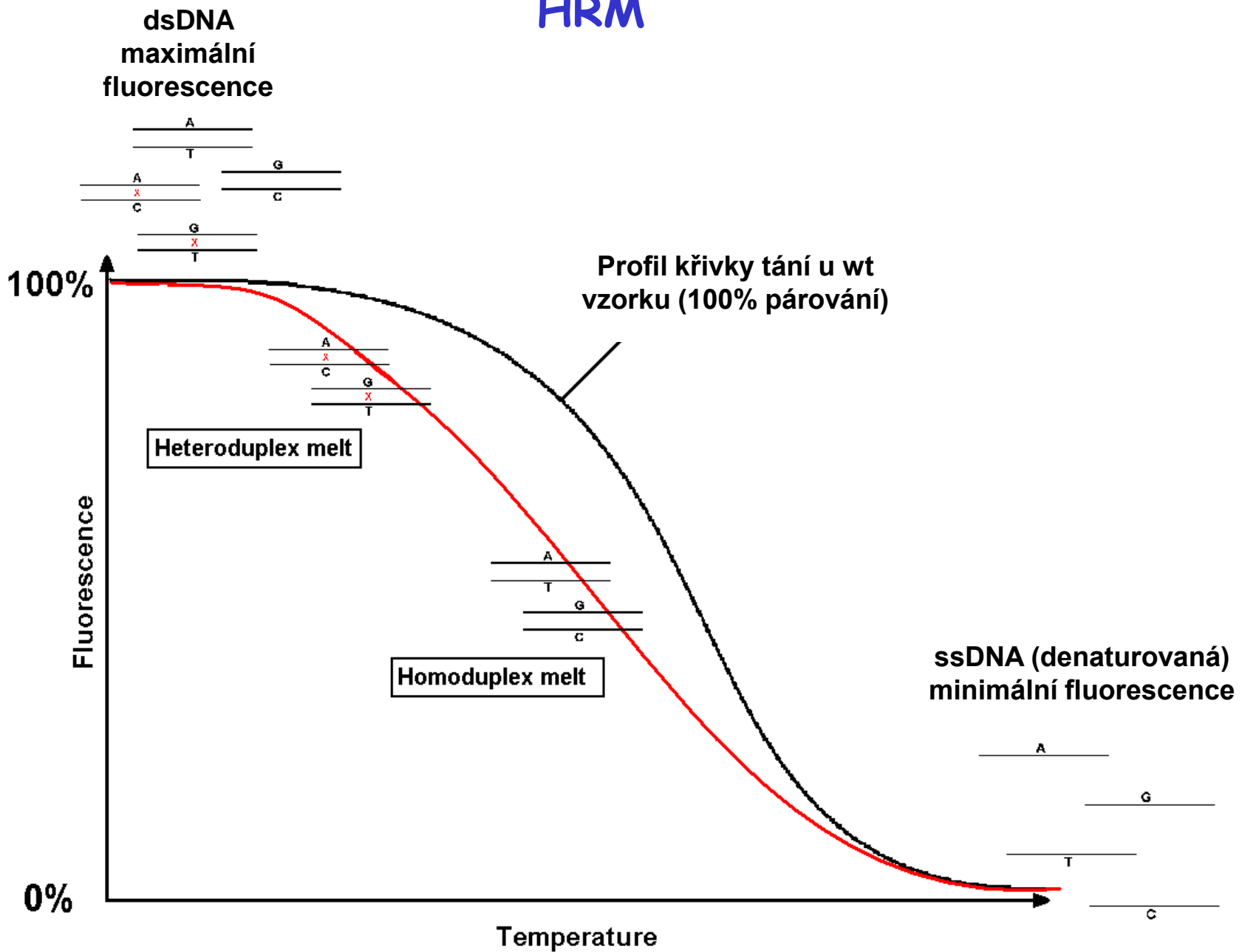
Hemizygous deletion –
Short stature and digital abnormalities



Stanovení hladiny miRNA

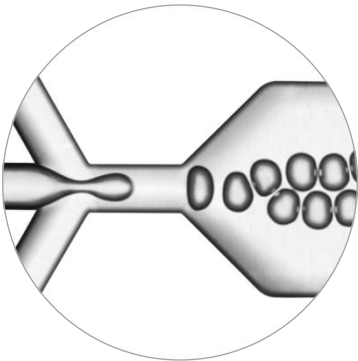


Ad 8) Princip HRM

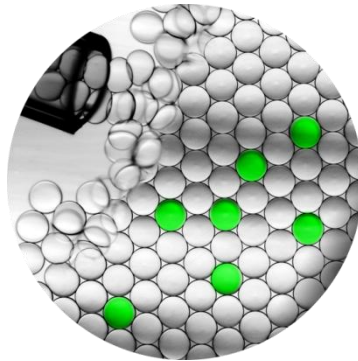


Digitální PCR

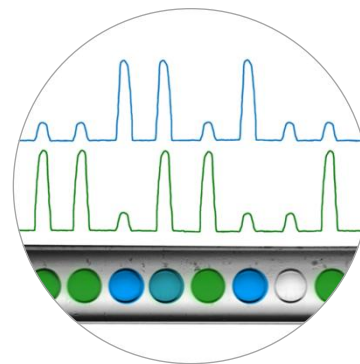
- Partition reagents and sample into 20,000 droplets
- Perform conventional PCR on thermal cycler
- Quantify target nucleic acid by counting sample partitions with a positive PCR product (fluorescent) and a negative PCR product
- Digital readout provides absolute measure of target DNA



Make Droplets



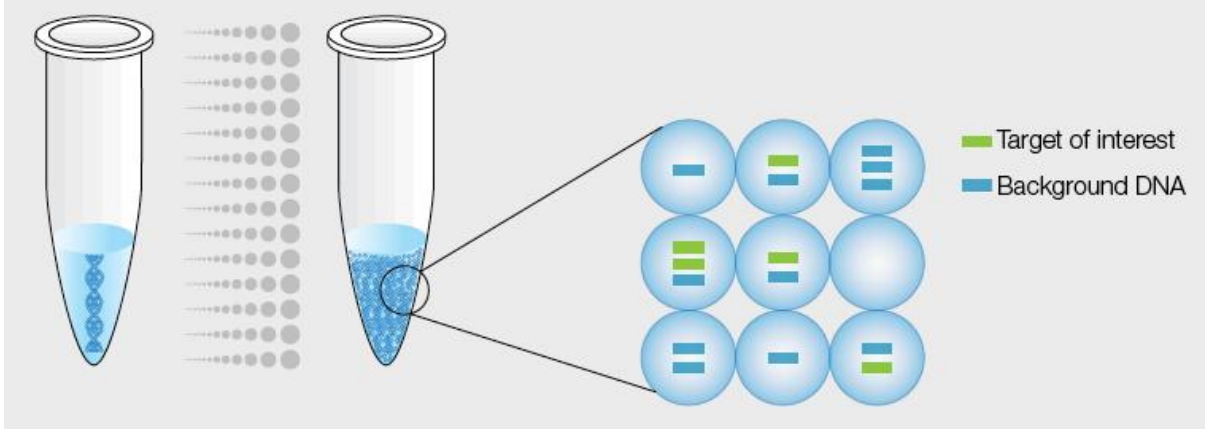
PCR Droplets



Read Droplets

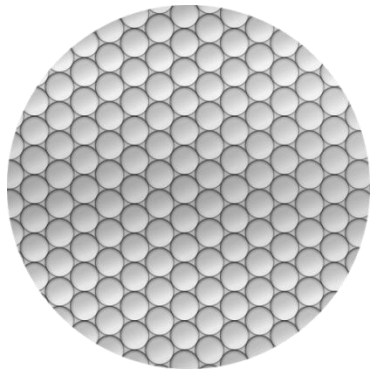


Results



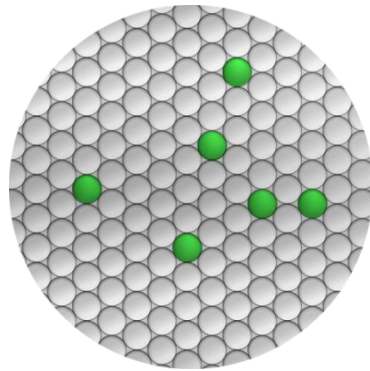
Siméon Denis Poisson (1781-1840)

Sample 1



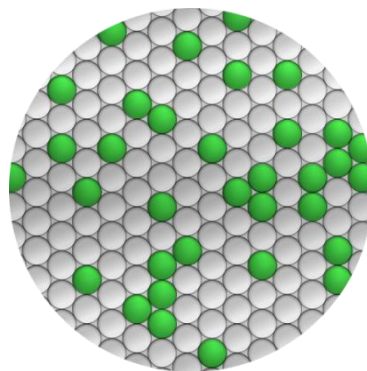
NO
targets

Sample 2



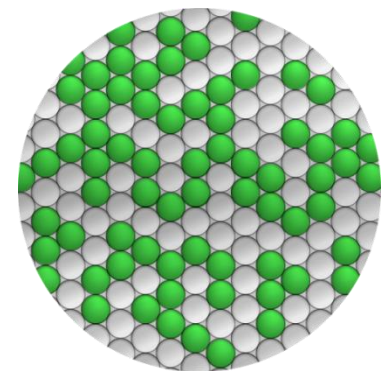
Low
concentration

Sample 3



Medium
concentration

Sample 4



High
concentration

p=0 positive/143 total

p=6/143

p=34/143

p=70/143

Poisson corrected
6.2/143

Poisson corrected
38/143

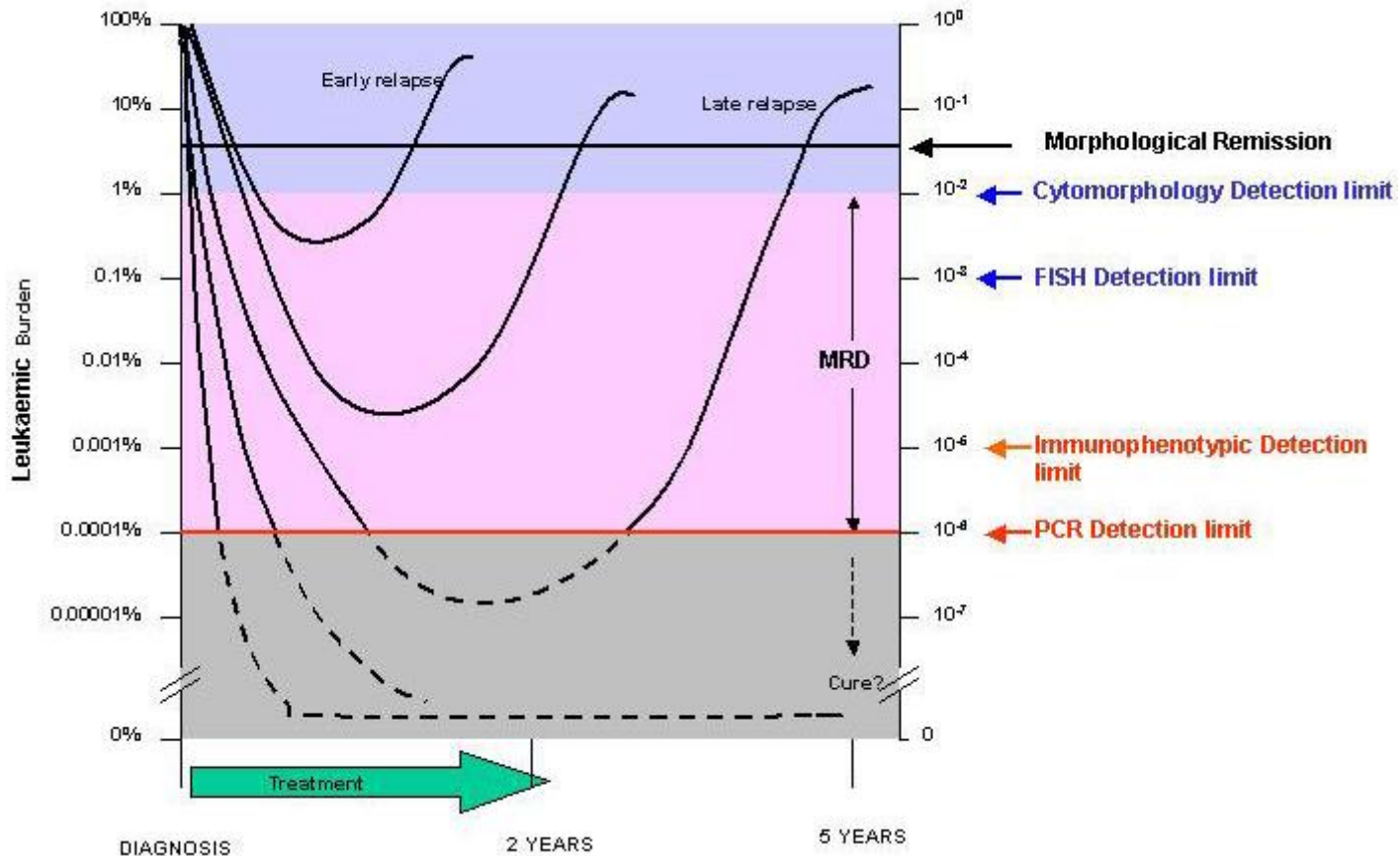
Poisson corrected
96/143

Analýza exprese u onkologických onemocnění

Rozdíl v expresních profilech zdravá x nádorová buňka

Nejčastější markery: MGB1, CEA, CK20, EGFR1, C-MYC, TH, TS, ...

Detekce MRD



Epidemiologie nádorů

Odvozeno z řeckých slov *epi* (nad, mezi) a *démos* (lid) a *logos* (slovo, věda, studium) volný překlad: „studium toho, co je nad lidmi“.



Empirická medicína --> „medicína založená na důkazu“

Lékařský vědní obor, součást onkologie, zabývající se problematikou výskytu jednotlivých zhoubných nádorů v různých oblastech, zemích a kontinentech. Podle procenta jejich výskytu lze usuzovat na možné příčiny jejich vzniku a v rámci prevence se snažit o snížení výskytu a včasnou depistáž určitého typu nádoru.

- nemoc nikdy nevznikne náhodně, vždy determinanty pro výskyt onemocnění
- distribuce onemocnění není náhodná, vždy souvisí s rizikovými faktory, které je třeba studovat

- Velkému procentu nádorů lze preventivně předejít
- Během posledních 20-ti let výrazně vyšší účinnost léčby všech karcinomů?
- Prevence nádorů je jednodušší a levnější než léčba
- Screeningové testy existují pro většinu nádorů

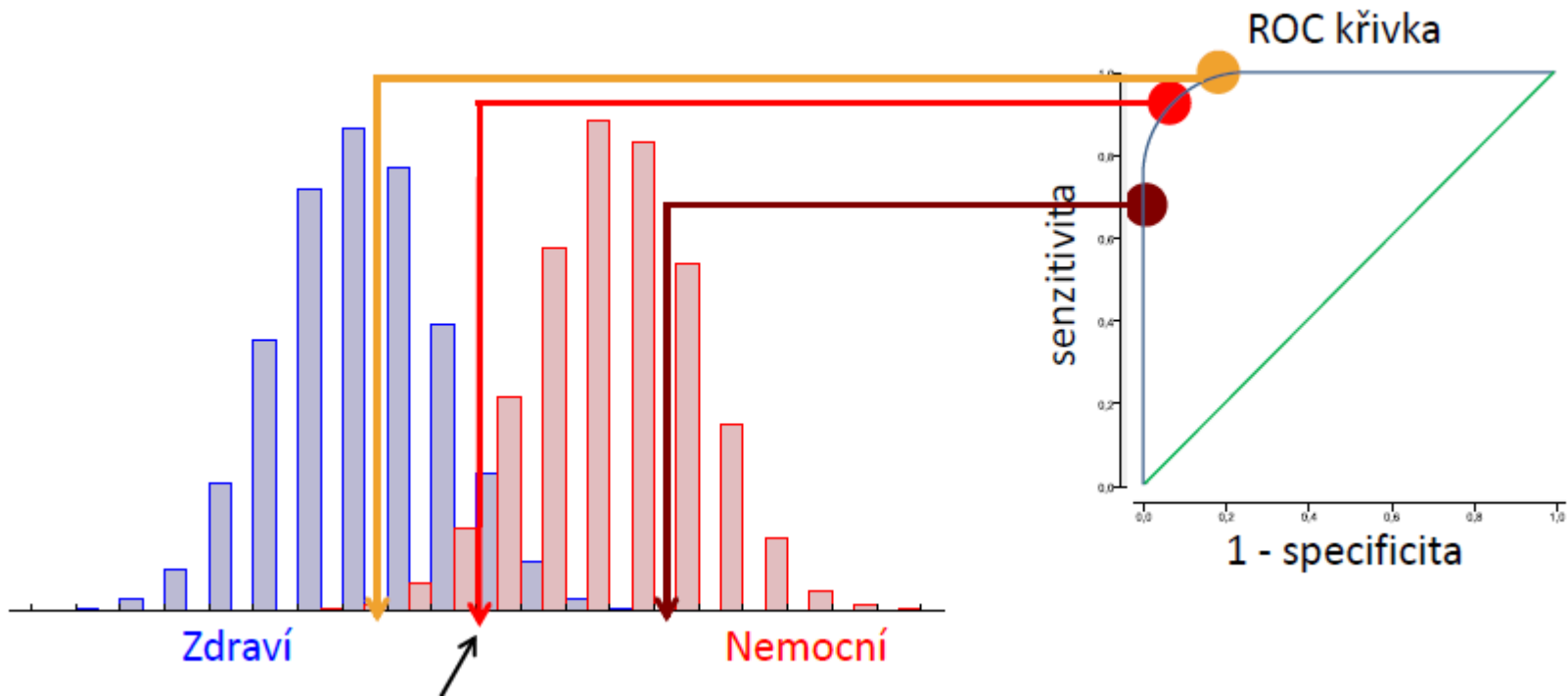
Základní epidemiologické principy (1)

- Populace, vzorek, náhodná chyba (statistická významnost „p“)
- Systematická chyba (bias) - výběr vzorku nebo získávání dat je prováděn odlišně pro skupinu cílovou a kontrolní, důsledkem chybný odhad vztahu mezi rizikovým faktorem a vznikem nemoci.
 - Výběrový (selekční) bias **X** Observační (informační) bias
- Zavádějící faktor (confounding) - faktor jenž je nezávisle na expozici rizikovým faktorem pro sledovanou nemoc.
 - vede k rozdílu tam, kde ve skutečnosti není
 - smazává rozdíl, který ve skutečnosti existuje
- Diagnostické testy - cílem odlišit normální od abnormálního
Senzitivita = proporce nemocných, kteří mají pozitivní test.
Specificita = proporce zdravých, kteří mají negativní test.
 každý test by měl být jak vysoce senzitivní, tak i vysoce specifický
Ne vždy možné (klinické údaje mají charakter kontinuálních hodnot) --> tzv. hraniční bod (cut-off point).  Empiricky **X** ROC

Hledání diagnostického cut-off pomocí ROC křivek

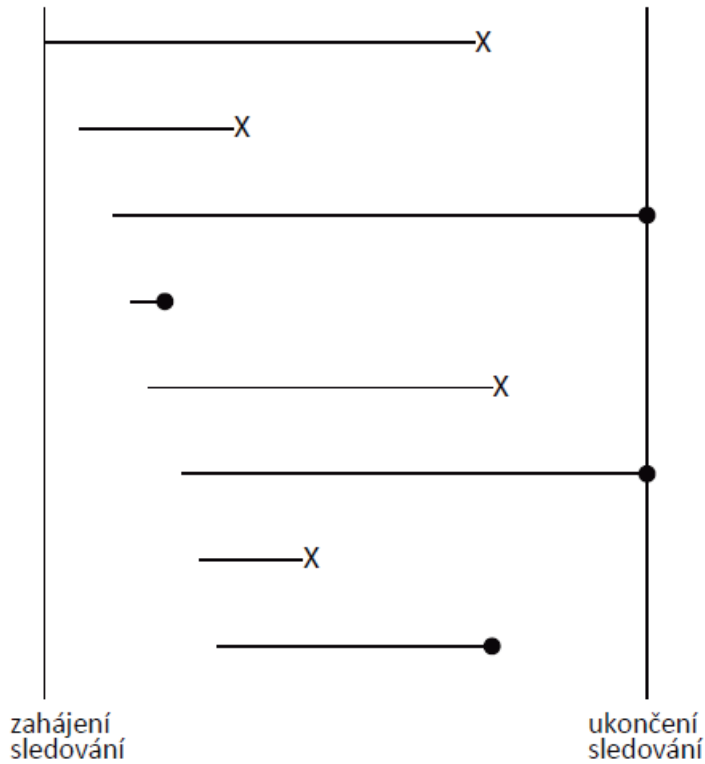
Cíle ROC analýzy:

1. Určit, zda je spojitá proměnná vhodná pro diagnostické odlišování zdravých a nemocných jedinců.
2. Nalezení dělicího bodu („cut-off point“) na škále hodnot spojité proměnné, který nejlépe odlišuje zdravé a nemocné jedince.

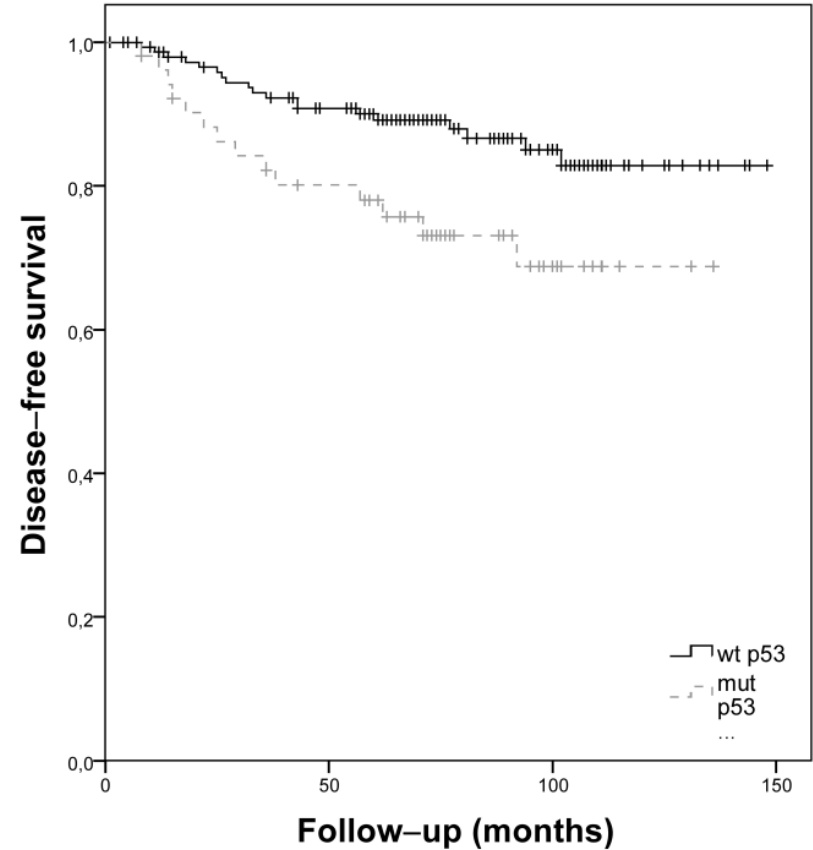


Analýza přežití

Délka sledování a výskyt události



● = cenzorování
X = výskyt události



Typy studií

Optimální experiment

osoby bez nemoci rozdělit na skupiny a jednu skupinu exponovat rizikovému faktoru a ostatní ne. Rozdíly frekvence nemoci v těchto skupinách by se pak mohly přisuzovat vlivu rizikového faktoru (v řadě situací při řešení závažných klinických otázek však není možno experiment provádět z etických i jiných důvodů).

1. Průřezová studie

Vybereme náhodně N jedinců z celé populace a ptáme se na nemoc a expozici.

- Jsme schopni odhadovat jak riziko onemocnění, tak i pravděpodobnost expozice v populaci.

- Pokud je riziko onemocnění a pravděpodobnost expozice malá má získaná kontingenční tabulka malé počty

- Observační bias

2. Kohortová studie

Výběr sestrojíme zvlášť pro skupinu exponovaných a neexponovaných (rozsahy plánujeme odděleně). Ve skupinách budeme zjišťovat nemocnost.

- Získáme tabulku s většími počty v jednotlivých políčkách
- Odhadneme riziko v jednotlivých skupinách ale ne v celé populaci
- Je možno porovnat rizika obou skupin

3. Studie případů a kontrol (Case control study)

Výběr sestrojíme zvlášť pro skupinu zdravých a nemocných (rozsahy plánujeme odděleně). V obou skupinách zjistíme zda osoby byly exponovány či ne.

- Získáme opět tabulku s většími počty v jednotlivých políčkách
- Nejsme schopni odhadnout žádné riziko, ale můžeme hodnotit případnou souvislost mezi nemocí a expozicí

	Nemoc	
	+	-
Exp. +	a	b
Exp. -	c	d
	a+c	b+d

**Statistická
asociace**

NE

Zkoumaný faktor se
nepodílí na etiologii

ANO

Bias

ANO

Asociace falešně
pozitivní

NE

**5 kriterií
kauzality**

NE

Asociace není
kauzální

ANO

Asociace je kauzální

Kriteria kauzality

1. Následnost

Příčina musí předcházet následku, tedy expozice nemoci. Časové hledisko se z obecného pohledu posuzuje jednodušeji u kohortových studií než u studií případů a kontrol či průřezových, které zkoumají expozici i následek ve stejné době.

Mnohdy se ještě uvažuje časové prodlení (jako interval mezi expozicí a nemocí) Například u většiny typů rakoviny se předpokládá, že nemohou vzniknout dříve než za 10 let od začátku expozice. Někdy je problémem, že nemoc může zřejmě zpětně ovlivnit expozici, např. osoby s počínajícím srdečním onemocněním mají tendenci méně se pohybovat.

2. Koherence

Pokud je faktor příčinou nemoci, měly by další epidemiologické argumenty být v souladu s tímto očekáváním a nemělo by být zřejmé žádné alternativní vysvětlení (nerozpornost dat na jednotlivých úrovních).

3. Síla asociace

Pokud se po maximálně zodpovědném vyloučení všech zdrojů zkreslení a zavádějících faktorů a po zohlednění rozsahu výběru jeví asociace (posuzovaná především podle velikosti relativního rizika (RR) či poměru šancí (OR))

4. Konzistence

Pokud (velmi) odlišně navržené studie na různých subjektech dojdou k podobným závěrům, je větší šance, že asociace je kauzální.

5. Vztah dávky a účinku

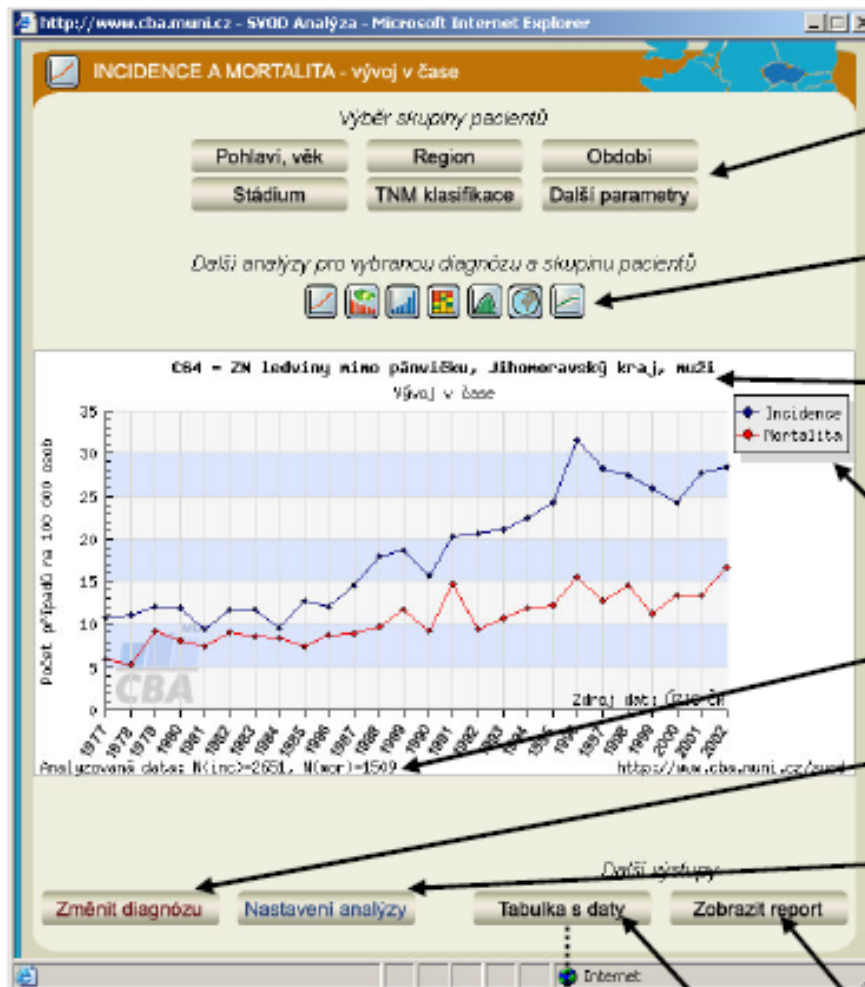
pokud jsou vyšší hladiny expozice asociovány s vyšší incidencí nemoci (neboli pokud je vztah dávky a účinku monotónní), svědčí to často ve prospěch kauzality. POZOR na zavádějící faktory!

<http://www.svod.cz/>

The screenshot shows the homepage of the website 'EPIDEMIOLOGIE ZHOUBNÝCH NÁDORŮ V ČESKÉ REPUBLICĚ'. The main navigation menu on the left includes: O PROJEKTU, AKTUALITY, PUBLIKACE, ZPRÁVY, EPIDEMIOLOGICKÉ ANALÝZY, ODBORNÉ AKCE, WWW ODKAZY, SOFTWARE SVOD, and PRŮVODCE ANALÝZAMI. Below the menu is a search bar and a row of icons. The main content area features a large banner with the title 'EPIDEMIOLOGIE ZHOUBNÝCH NÁDORŮ V ČR - ANALÝZY' and a map of the Czech Republic. Below the banner are four main sections: 'INCIDENCE A MORTALITA' (with a line graph icon and text 'Časový vývoj incidence a mortality zhoubných nádorů v ČR'), 'REGIONÁLNÍ PŘEHLEDY' (with a bar chart icon and text 'Srovnání incidence a mortality zhoubných nádorů v krajích ČR'), 'ČASOVÉ TRENDY', and 'KLINICKÁ STADIA'. A yellow callout box on the left contains the text 'Spuštění analýzy - kliknutím na ikonu nebo nadpis', with two arrows pointing to the 'INCIDENCE A MORTALITA' section.

Spuštění
analýzy

- kliknutím na
ikonu nebo
nadpis



Výběr skupiny pacientů pro analýzu dle dostupných parametrů

Otevře okno další analýzy se stejným nastavením (diagnóza, skupina pacientů)

Nadpis grafu s popisem analyzované skupiny pacientů

Legenda grafu

Velikost analyzované skupiny pacientů

Výběr diagnózy

Nastavení analýzy (zobrazené hodnoty, způsob výpočtu – jednotky...)

Otevře okno reportu vybrané diagnózy

Zobrazí okno s tabulkou hodnot zobrazených v grafu

C64 - ZN ledviny mimo pánevníku, Jihočeský kraj, muži
Časový vývoj, Počet případů na 100 000 osob

Rok	1977	1978	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988
Incidence	10.73	11.03	12.06	11.83	9.49	11.65	11.64	9.63	12.7	11.97	14.5	17.98
Mortalita	5.92	5.33	9.32	8.01	7.48	9.1	8.55	8.55	7.44	8.71	8.88	9.78

Rok	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002
Incidence	18.73	18.03	19.06	18.83	16.49	18.65	18.64	16.63	19.7	18.97	21.5	24.98	27.98
Mortalita	10.92	10.33	13.32	12.01	11.48	13.1	12.55	12.55	11.44	12.71	12.88	13.78	14.78

Volba požadované skupiny
diagnóz

Požadovaná skupina
diagnóz

INCIDENCE A MORTALITA - vývoj v čase

Zvolte požadovanou diagnózu

VIII. NÁDORY UROGENITÁLNÍHO SYSTÉMU

- C80 - Žl. páně
- C81 - Žl. představné žlázy - prostata
- C82 - Žl. varle
- C83 - Žl. jinch a neurogeních mužských pohlavních orgánů
- C84 - Žl. ledvin mimo pánev
- C85 - Žl. ledvinné pánev
- C86 - Žl. močového - urteru
- C87 - Žl. močového měčiče - vesica urinaria
- C88 - Žl. jinch a neurogeních mužských orgánů

Připn. zobrazí všechny diagnostické skupiny

INCIDENCE A MORTALITA - vývoj v čase

Zvolte požadovanou diagnózu

Diagnostická skupiny

- I. NÁDORY HLAVY A BRŮ
- II. NÁDORY TRÁVICÍ TRUBICE A ZAŽIVACÍCH ORGÁNŮ
- III. NÁDORY DÝCHAČÍ SOUSTAVY A NITROBRUŠNÍCH ORGÁNŮ
- IV. NÁDORY KOSTÍ A MĚKKÝCH TĚL
- V. NÁDORY UŠÍ
- VI. NÁDORY PRSU
- VII. GYNEKOLOGICKÉ NÁDORY
- VIII. NÁDORY UROGENITÁLNÍHO SYSTÉMU
- IX. NÁDORY CENTRÁLNÍ NERVOVÉ SOUSTAVY A OČÍ
- X. NÁDORY KŘEVNÍHO A LYMFIATICKÉHO SYSTÉMU
- XI. NÁDORY ŽLÁZ S VNITŘNÍ SEKRECIÍ
- XII. OSTATNÍ NÁDORY

Zobrazí schematický obrázek

Přepnutí zobrazení schematického
obrázku nebo seznamu skupin diagnóz

Molekulární patologie & Koncept personalizované terapie



Van Leeuwenhoek microscope

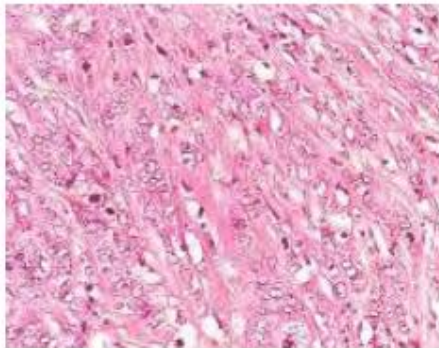


Olympus microscope

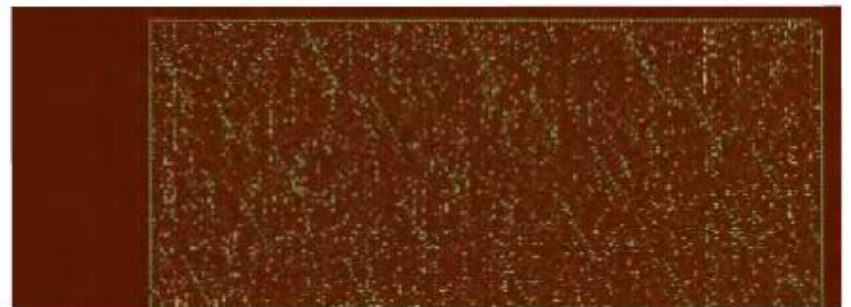
Molekulární diagnostika nebo mikroskop?



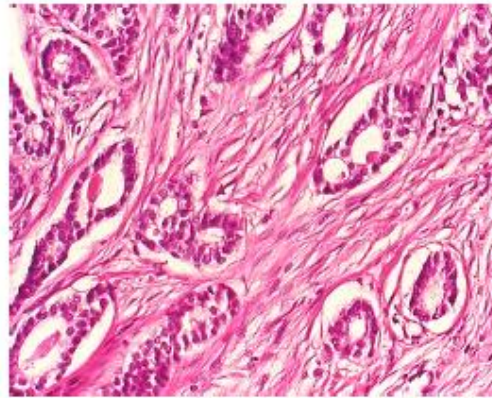
Micro-scope



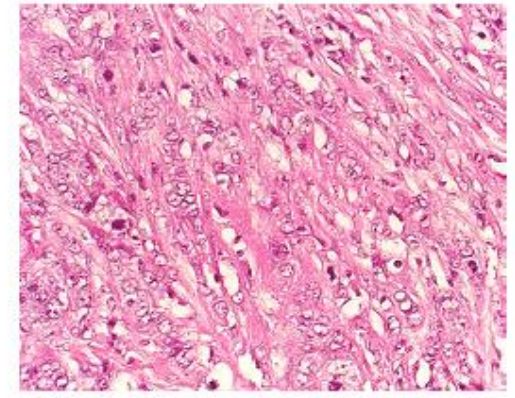
Micro-array



Hlavní výzva molekulární patologie: integrace „starého a nového“



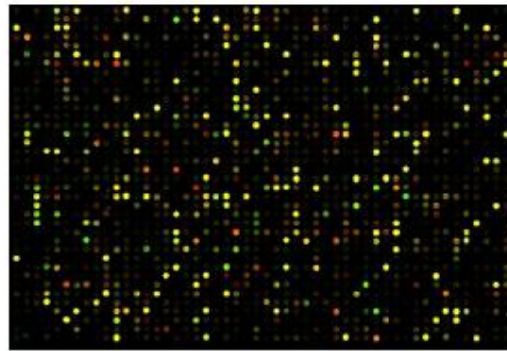
Low risk



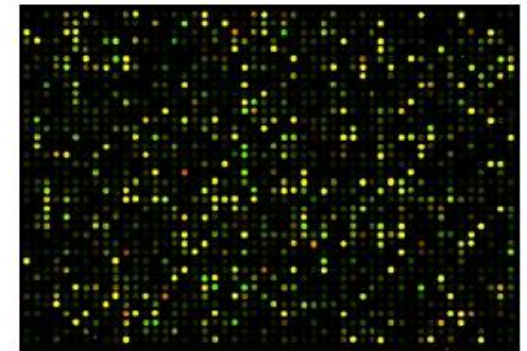
High risk



MammaPrint®



Low risk



High risk

Molekulární patologie

Vymezení pojmu v onkologii:

Disciplína patologie, která využívá nástroje molekulární biologie jako doplněk ke konvenčním morfologickým, imunohistochemickým a chemickým analýzám abnormalit tkání a buněk s cílem lépe porozumět etiologii a patogenezi tumorů, upřesnit jejich diagnostiku, přispět ke stanovení prognózy onemocnění a navrhnout nejvhodnější formu léčby.

Biopatologie:

Disciplína patologie, zaměřená na identifikaci biomarkerů ve tkáních.

Molekulární medicína:

Studium dysfunkcí molekulárních systémů za určitého chorobného procesu, molekulárních systémů, jejichž funkce za normálního stavu je definována (nebo by definována měla být v optimálním případě).

NCI definition **Personalizovaná medicína**

“A form of medicine that uses information about a person’s genes, proteins, and environment to prevent, diagnose, and treat disease.”

Molekulární patologie - hlavní výzvy

1. **Klinicky využitelné biomarkery (identifikace a validace)**
2. **Laboratorní techniky (OMIC přístupy)**
3. **Ko-alterace a dysregulace signálních drah (komplexita onemocnění)**
4. **„Decision making“ (na základě identifikovaných biomarkerů)**
5. **Pre-analytické výzvy (získávání, zpracování vzorků)**
6. **Biomarkery v klinických studiích (randomizace, vhodné respondery)**
7. **Využití biomarkerů ve standardizované terapii (FDA)**
8. **Možnosti do budoucna (nové, účinnější a ekonomicky dostupné technologie)**

Biomarker: jakákoli změna která se objeví mezi expozicí a rozvinutím onemocnění

Nádorové biomarkery:

- Diagnostika (patol. stavy, detekce, rizikové f.)
- Identifikace (podtypy)
- Predikce (citlivost)
- Prognóza (progrese, rekurence)

Prognóza versus predikce

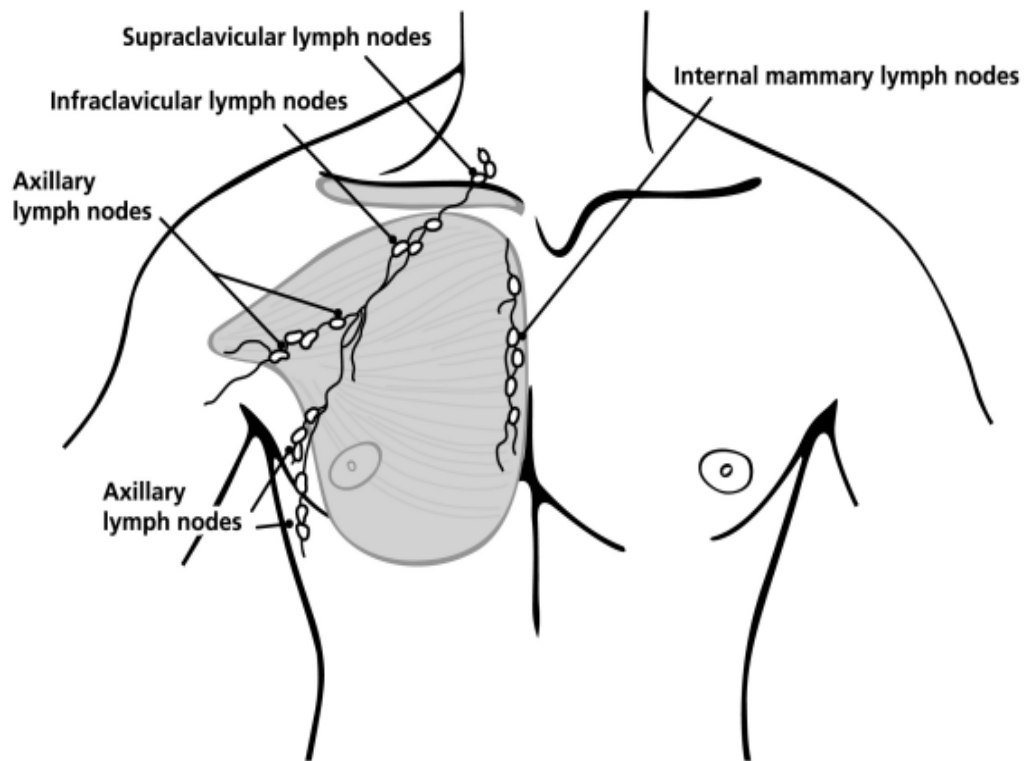
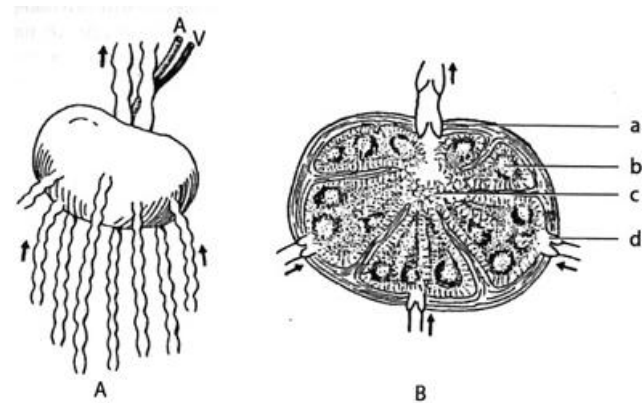
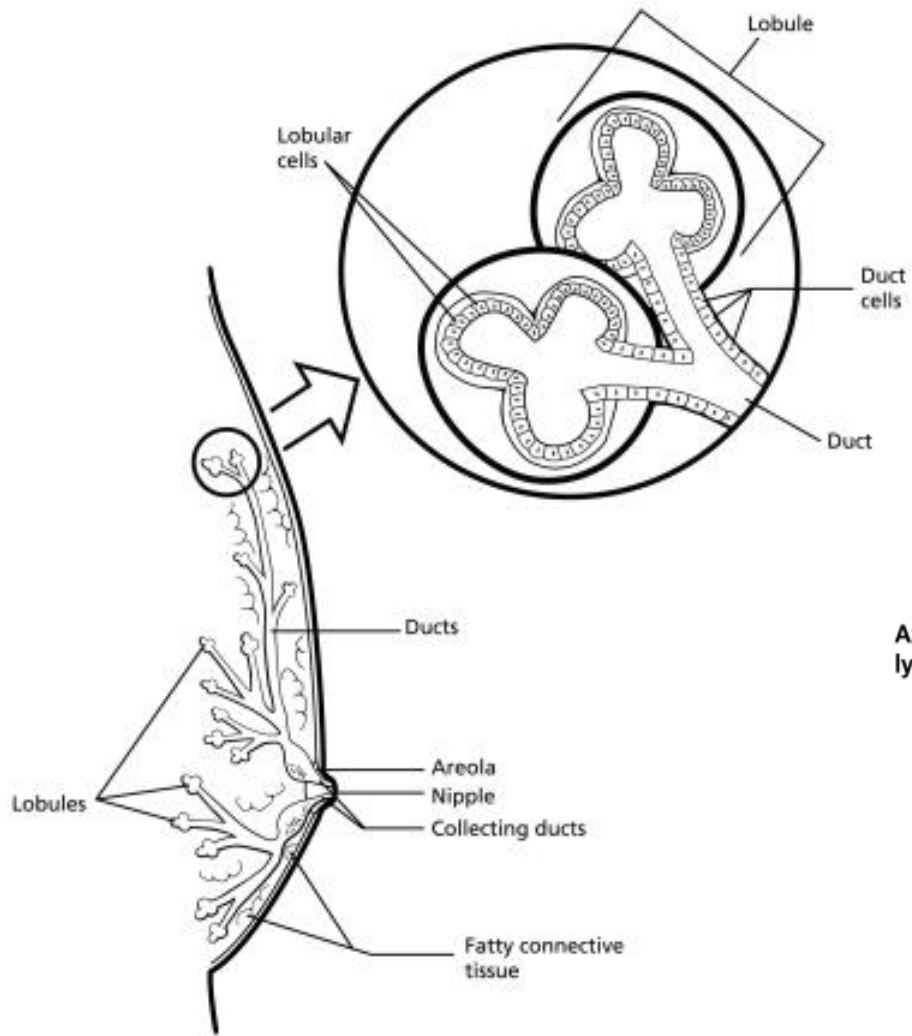
Prognostický marker: léčba na základě individuálních předpokladů (TNM)

Prediktivní marker: selekce terapie dle daného typu nádoru (ER+ ca mammy, metylace MGMT či BRCA1)

Velmi často kombinace obou: např. ER je i progn. Faktor (ER+ pomaleji rostou)

Některé neg. progn. faktory (erbB-2) mohou predikovat lepší odpověď na vhodnou terapii (rezistence k hormonální terapii a alkylačním agens **X** citlivost k antracyklinům, Herceptinu)

Karcinom mléčné žlázy



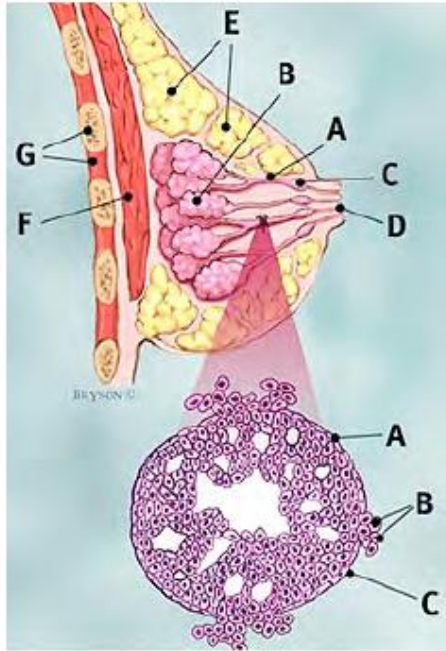
Karcinom mléčné žlázy - terapie

Terapie - neoadjuvantní x adjuvantní

Vzhledem k léčbě: přítomnost steroidních receptorů, Her2 + další klinickopatologické parametry

- ➡ Hormonální terapie → tamoxifen / aromatázové inhibitory / antiestrogeny
- ➡ Biologická terapie → inhibice membránových receptorů (trastuzumab)
- ➡ Chemoterapie → obv. kombinace cytostatik (CMF, FEC, AC, popř + taxol, ...)
- ➡ RT, obv. omezená radiosenzitivita,

Different types of breast cancer have different mutations



Triple negative ductal
Carcinoma

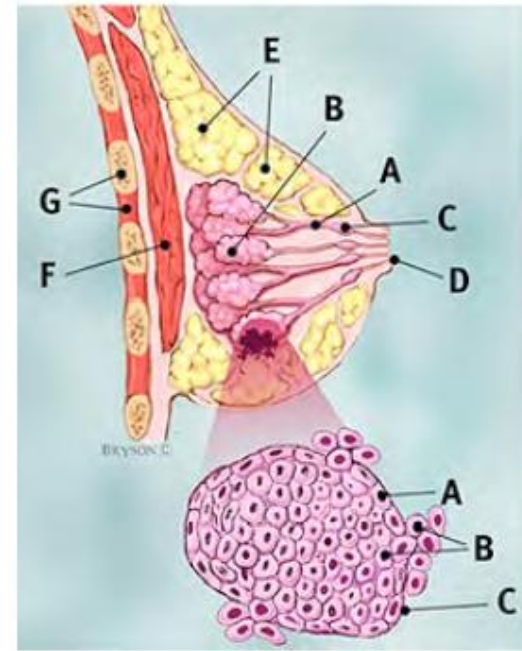
PIK3CA

Mutation:

8%

Response to
chemotherapy:

good

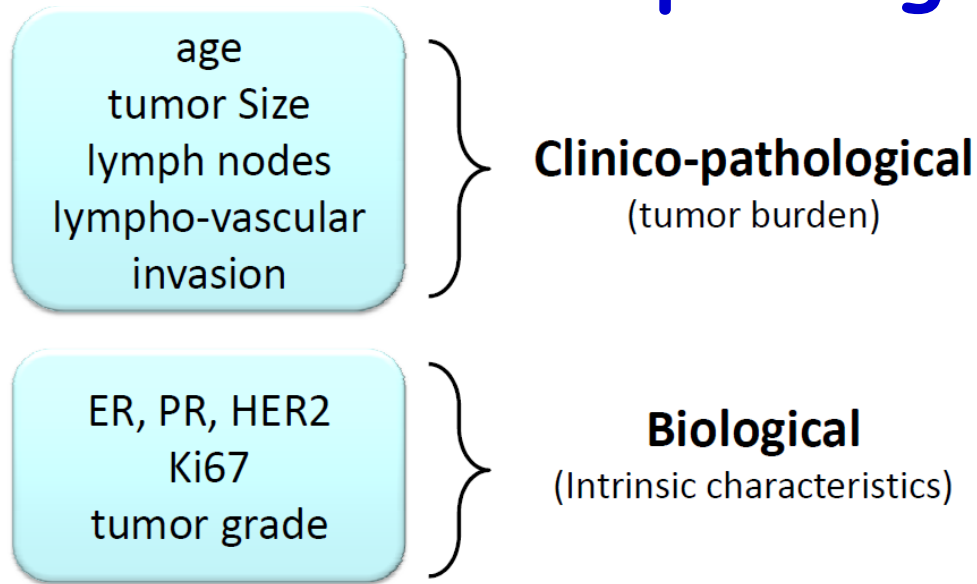


Invasive lobular
Carcinoma

40%

poor

Rutinně používané klinicko-patologické parametry



⇒ Prognóza onemocnění & predikce odpovědi na léčbu

ER a PgR pozitivní - hormonální léčba

ER a PgR negativní - chemo/radio-terapie

Her2/neu negativní - dle stavu ER/PgR (tzv. basal like ca)

Her2/neu pozitivní - trastuzumab, antracykliny

**Are these routinely used parameters
sufficient for individualized therapy?**



**NO, because Breast Cancer is
HETEROGENEOUS!**



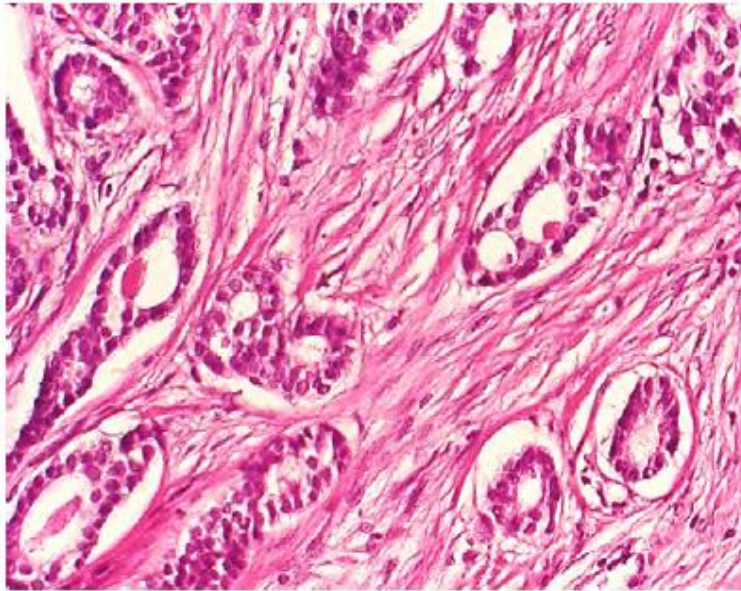
Clinically



Biologically

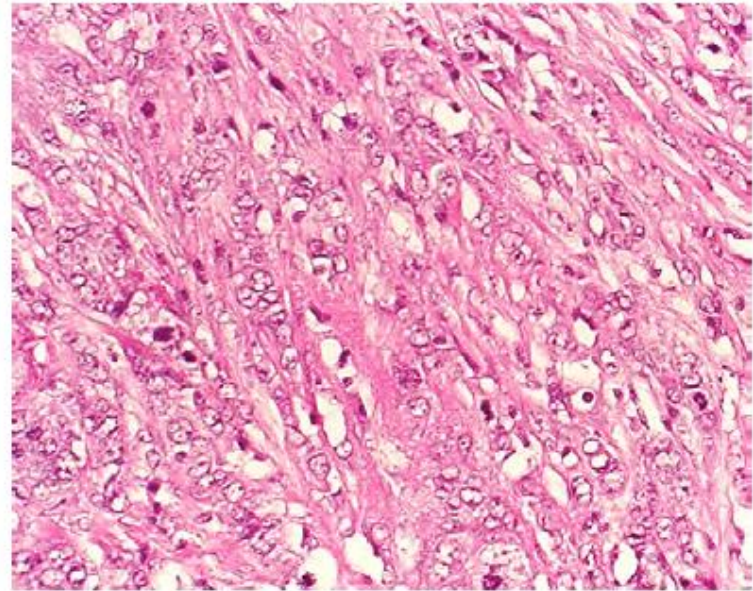
Využití mikroskopie k predikci prognózy nádorového onemocnění

- Grade 1



Low risk

- Grade 3



High risk

Histological grade

Histological Grade

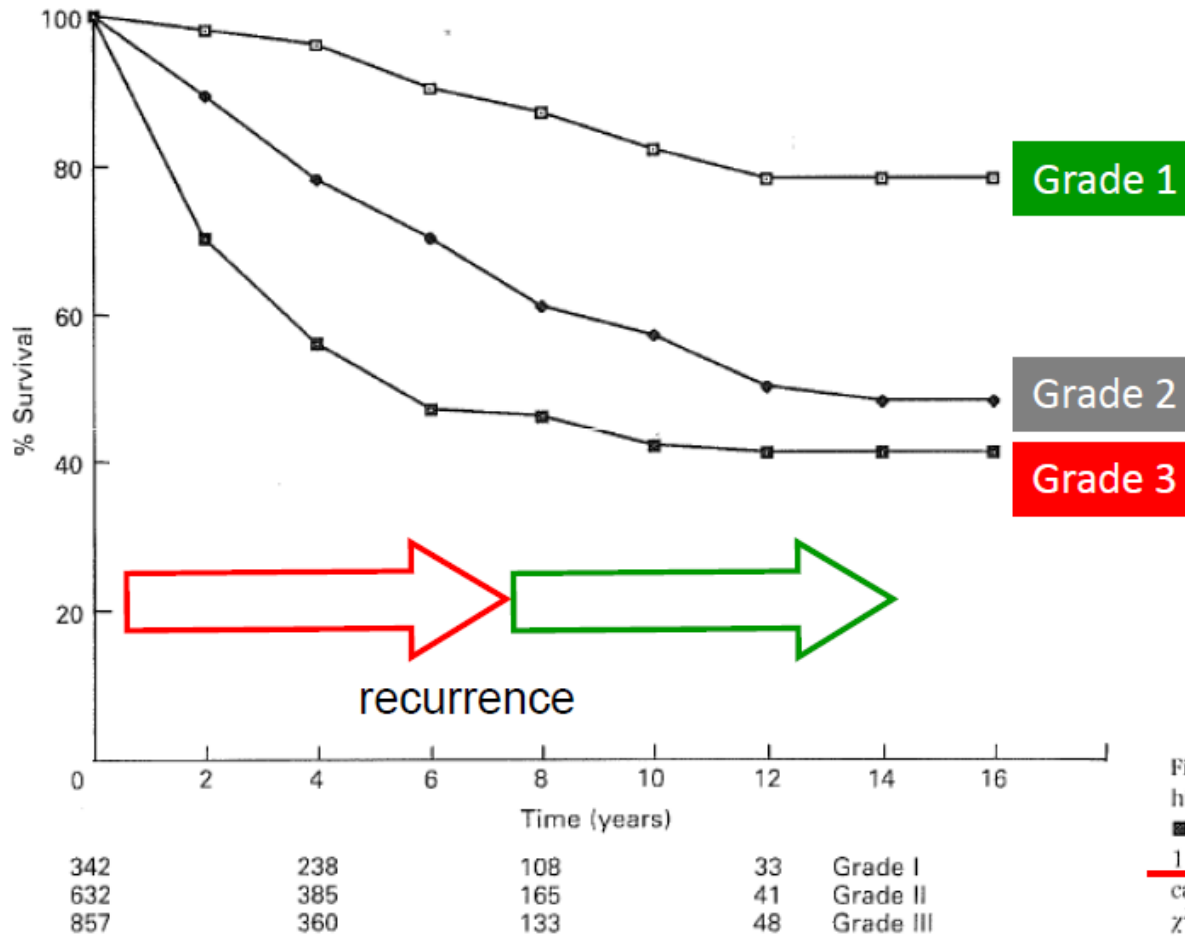


Figure 3. Relationship between histological grade (\square = I; \blacklozenge = II; \blacksquare = III) and overall survival in 1830 patients with primary carcinoma of the breast; $\chi^2 = 198.06$, 2 d.f.; $P < 0.0001$.

Reproducibility of histological grade is suboptimal!

		Pathologist B		
		Well	Moderate	Poor
Pathologist A	Well	105	114	5
	Moderate	24	241	31
	Poor	3	82	63

Concordance = 61%

		Pathologist A		
		Well	Moderate	Poor
Pathologist C	Well	76	31	0
	Moderate	140	221	52
	Poor	8	44	96

Concordance = 59%

		Pathologist B		
		Well	Moderate	Poor
Pathologist C	Well	56	50	1
	Moderate	74	309	30
	Poor	2	78	68

Concordance = 65%

Overall Concordance = 43%!!!

Molekulární subtypy

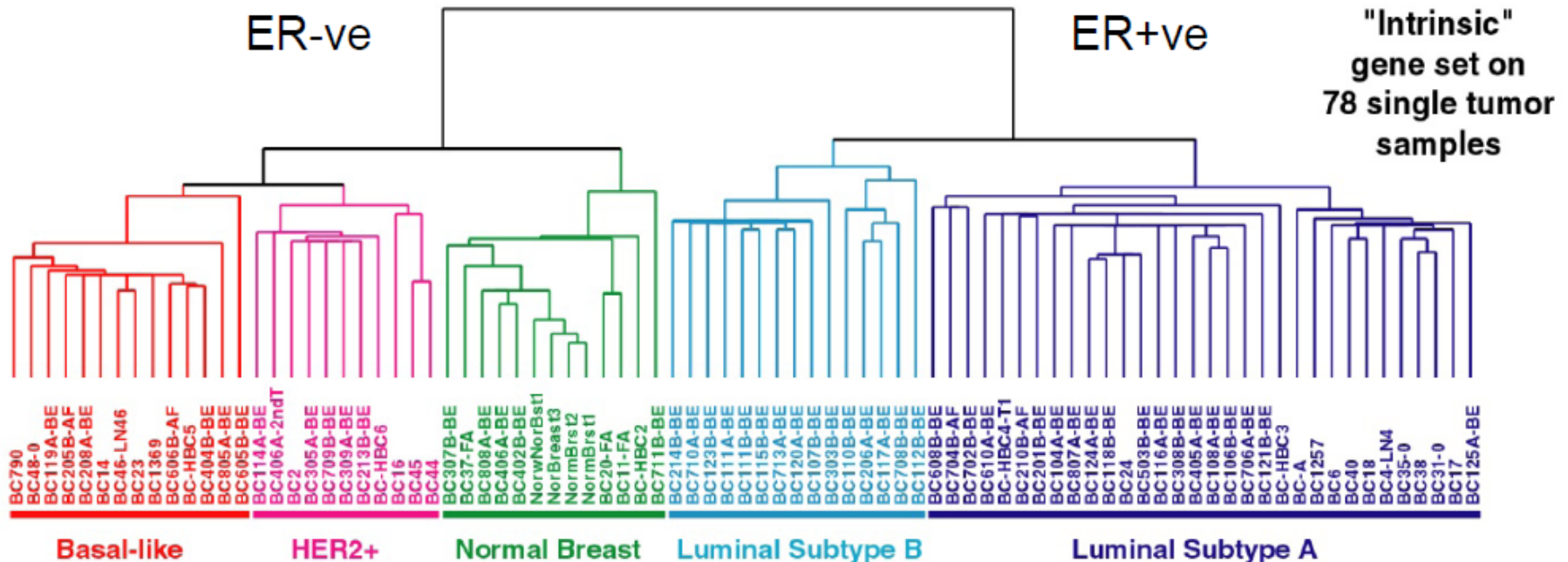
letters to nature

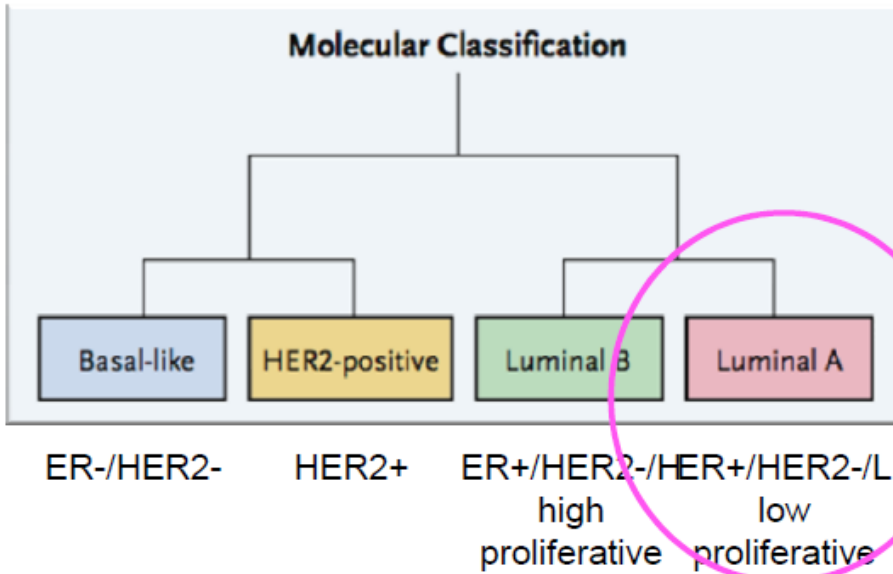
Molecular portraits of human breast tumours

Charles M. Perou^{1†}, Therese Sorlie^{1,2,3}, Michael B. Eisen⁴,
 Matt van de Rijn⁵, Stefanie S. Jeffrey¹, Christian A. Rees¹,
 Jonathan R. Pollack⁶, Douglas T. Ross⁶, Hilde Johnsen²,
 Lars A. Akslen⁷, Øystein Fluge⁸, Alexander Pergamenschikov⁹,
 Cheryl Williams⁸, Shirley X. Zhu⁵, Per E. Lønning^{1*},
 Anne-Lise Borresen-Dale^{1,2}, Patrick O. Brown^{1††} & David Botstein^{1*}

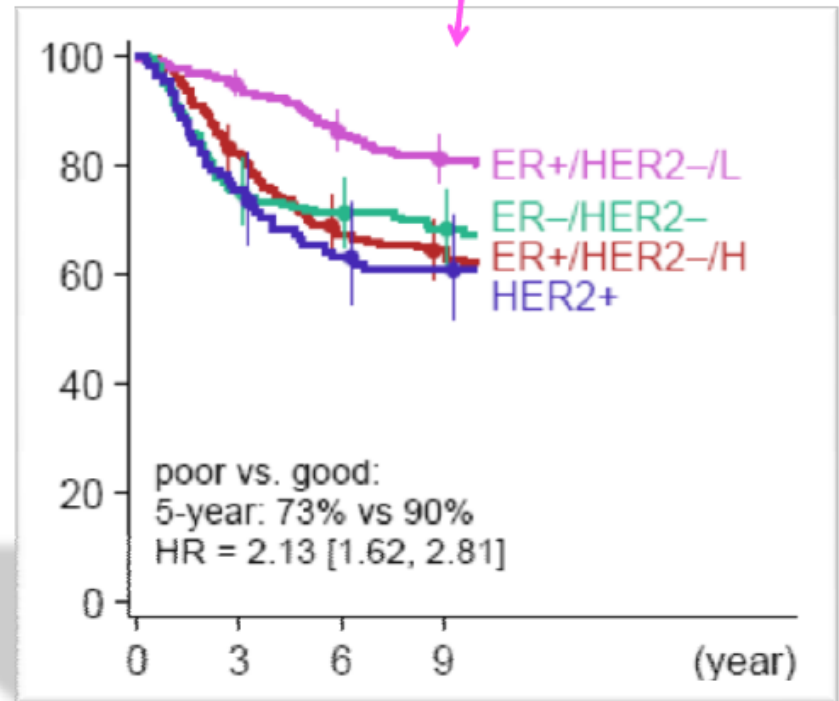
Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications

Therese Sorlie^{1,2,3}, Charles M. Perou^{1,4}, Robert Tibshirani⁵, Turid Aas⁶, Stephanie Geisler⁹, Hilde Johnsen⁸, Trevor Hastie⁵,
 Michael B. Eisen⁷, Matt van de Rijn¹, Stefanie S. Jeffrey¹, Thor Thorsen⁸, Hanne Quist¹, John C. Matese⁶,
 Patrick O. Brown¹⁰, David Botstein⁵, Per Eystein Lønning⁹, and Anne-Lise Borresen-Dale^{1,11}



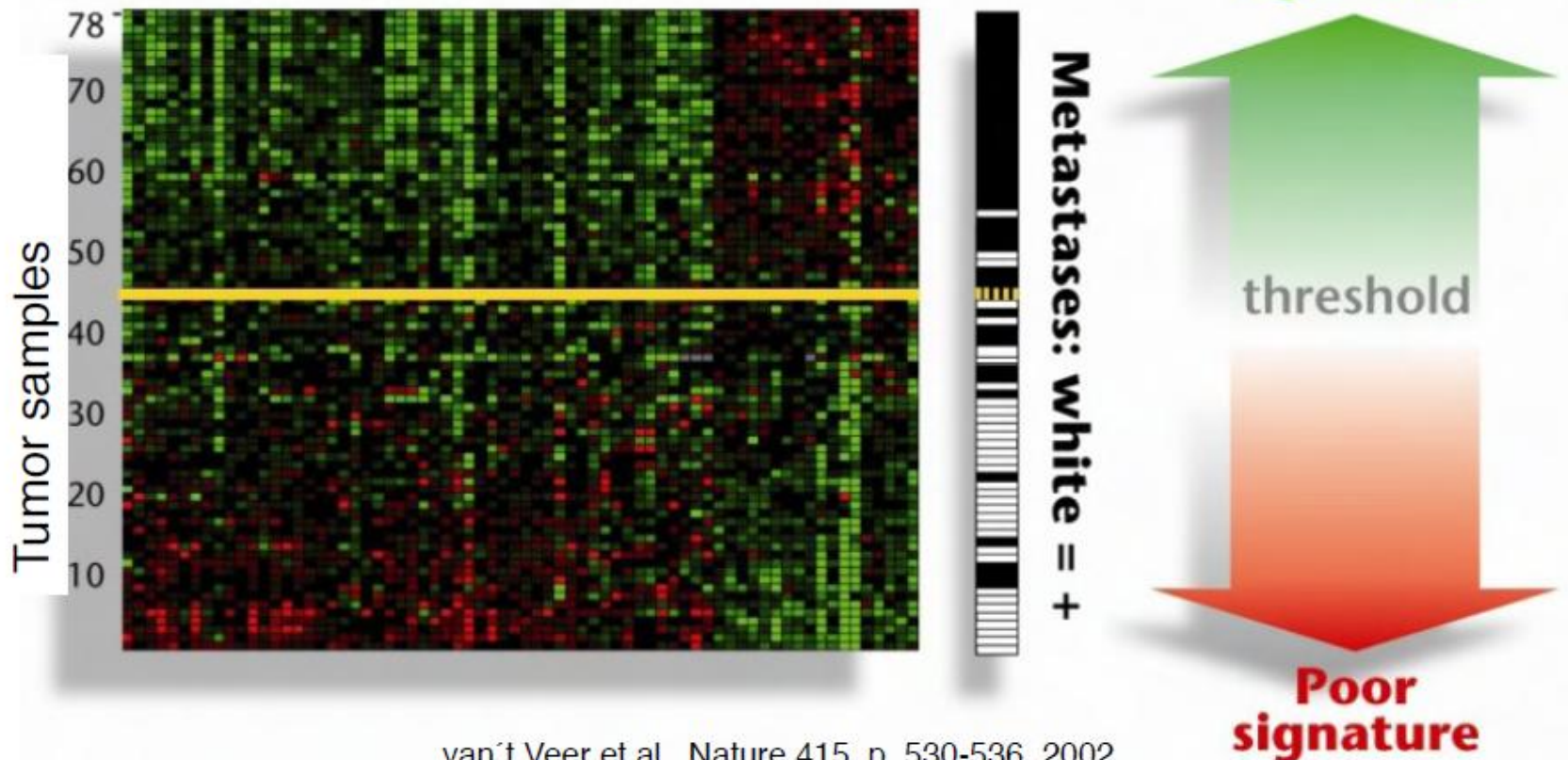


distinct
clinical outcome



MammaPrint: stanovení prognózy na základě expresního profilu 70 genů

70 significant prognosis genes

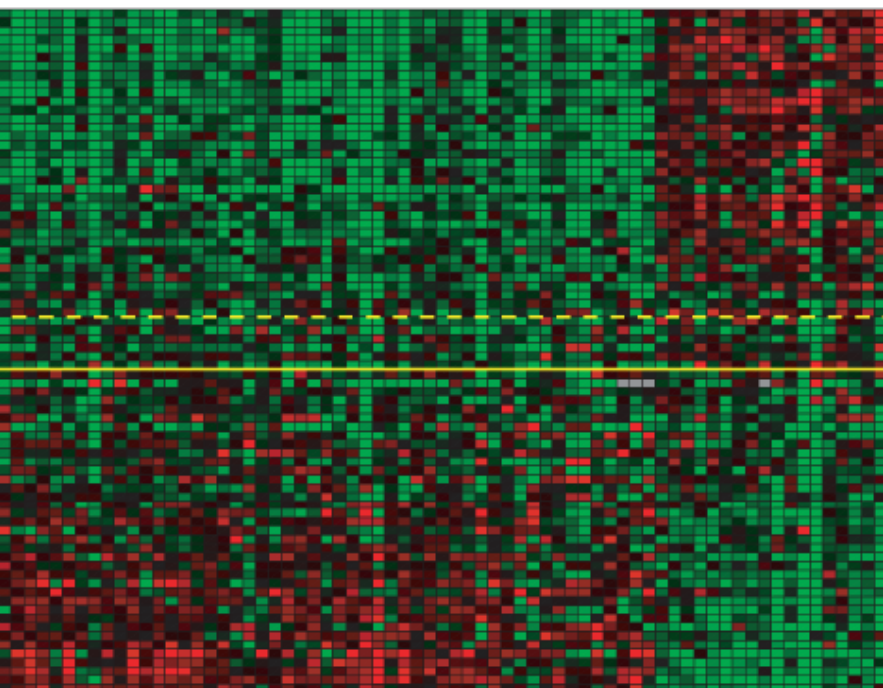
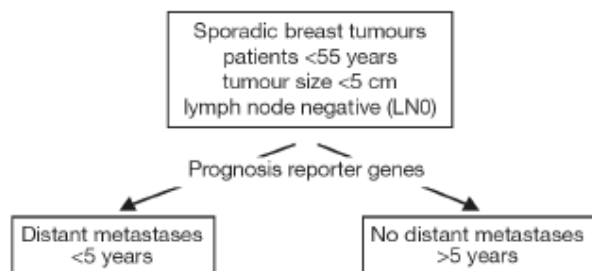


van't Veer et al., Nature 415, p. 530-536, 2002

Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer

Laura J. van 't Veer^{†‡}, Hongyue Dai^{†‡}, Marc J. van de Vijver^{†‡},
 Yandong D. He[‡], Augustinus A. M. Hart^{*}, Mao Mao[‡], Hans L. Peterse^{*},
 Karin van der Kooy^{*}, Matthew J. Marton[‡], Anke T. Witteveen^{*},
 George J. Schreiber[‡], Ron M. Kerkhoven^{*}, Chris Roberts[‡],
 Peter S. Linsley[‡], René Bernards^{*} & Stephen H. Friend[‡]

a



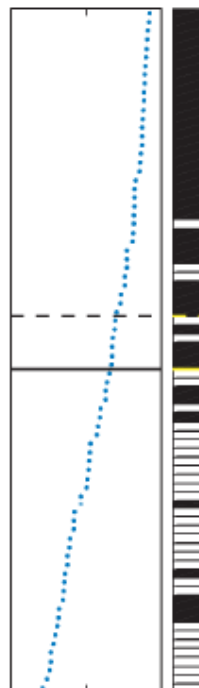
Mammaprint

Table 1 Breast cancer patients eligible for adjuvant systemic therapy

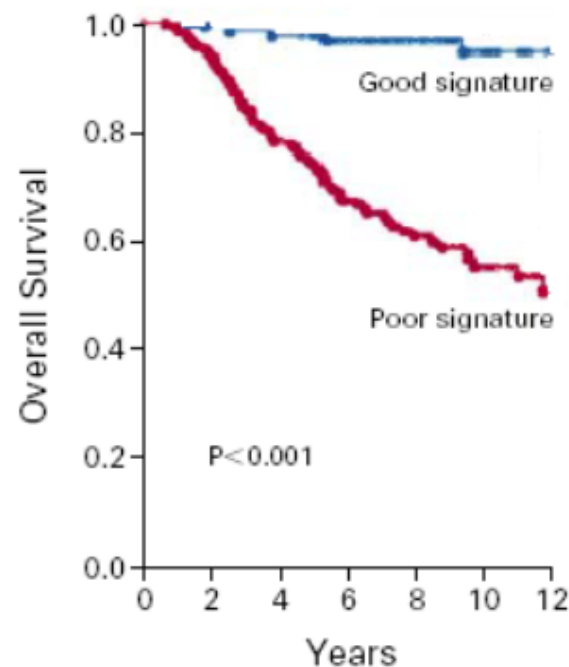
Consensus	Patient group		
	Total patient group (n = 78)	Metastatic disease at 5yr (n = 34)	Disease free at 5 yr (n = 44)
St Gallen	64/78 (82%)	33/34 (97%)	31/44 (70%)
NIH	72/78 (92%)	32/34 (94%)	40/44 (91%)
Prognosis profile*	43/78 (55%)	31/34 (91%)	12/44 (27%) (18/44 (41%))†

Correlation to average good prognosis profile

Metastases

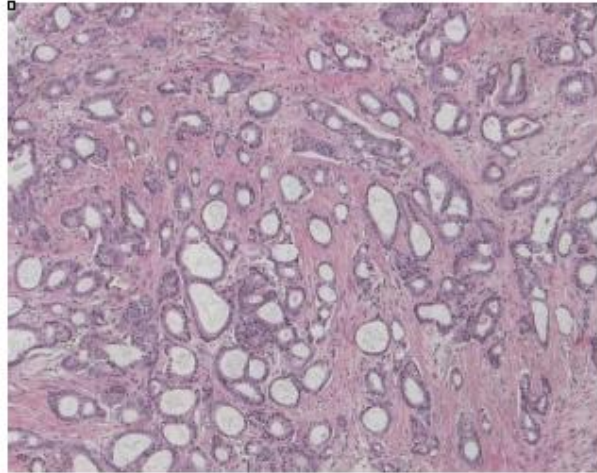


B All Patients

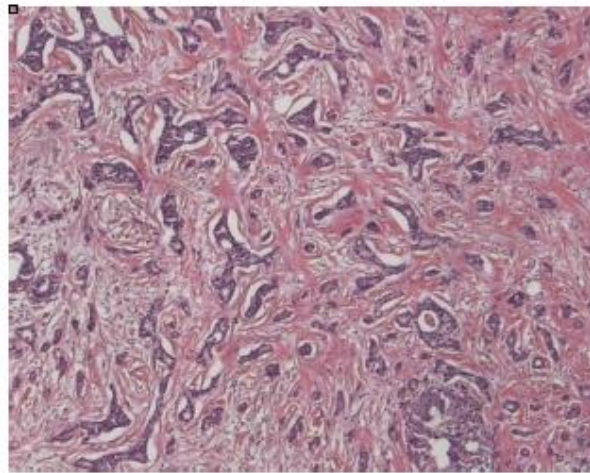


Grade x MammaPrint

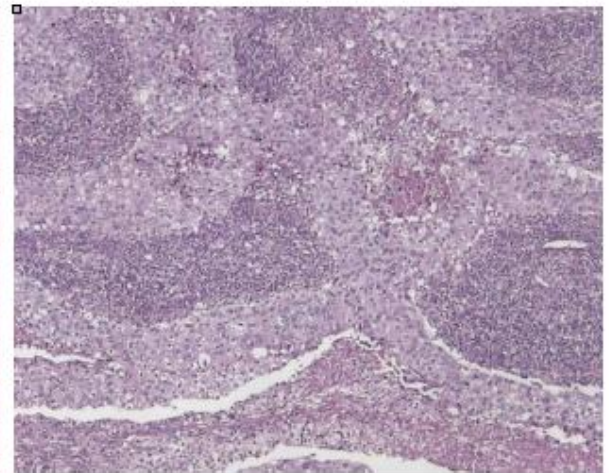
Grade 1



Grade 2



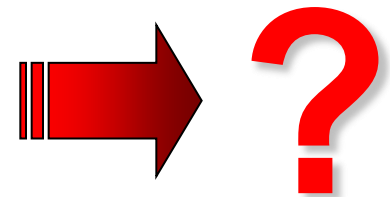
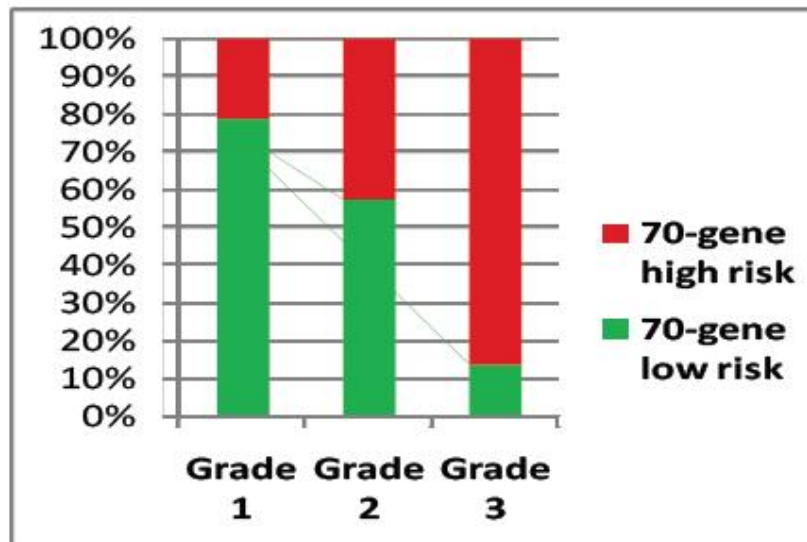
Grade 3



Low risk

“Intermediate”

High risk



Why prognostic signatures?

- Unmet clinical need
 - 70% of patients with early breast cancer
 - Receive chemotherapy
 - <15% derive benefit from treatment

<http://genomebiology.com/2000/1/3/reviews/1021.1>

Minireview

Does massively parallel transcriptome analysis signify the end of cancer histopathology as we know it?

Samuel AJR Aparicio, Carlos Caldas and Bruce Ponder

Transcriptional analysis of all the genes expressed by breast tumors has provided the first steps towards defining a molecular signature for the disease, and might ultimately make conventional diagnostic techniques obsolete.

Oncotype DX (21-gene signature)

ER+/ LN -/ Tamoxifen treated patients

Proliferation

Ki67
STK15
Survivin
CCNB1
MYBL2

HER2

GRB7
HER2

Oestrogen

ER
PGR
BCL2
SCUBE2

Recurrence score

Low risk – $RS \leq 18$

Intermediate risk – $18 > RS < 31$

High risk – $RS \geq 31$

GSTM1

CD68

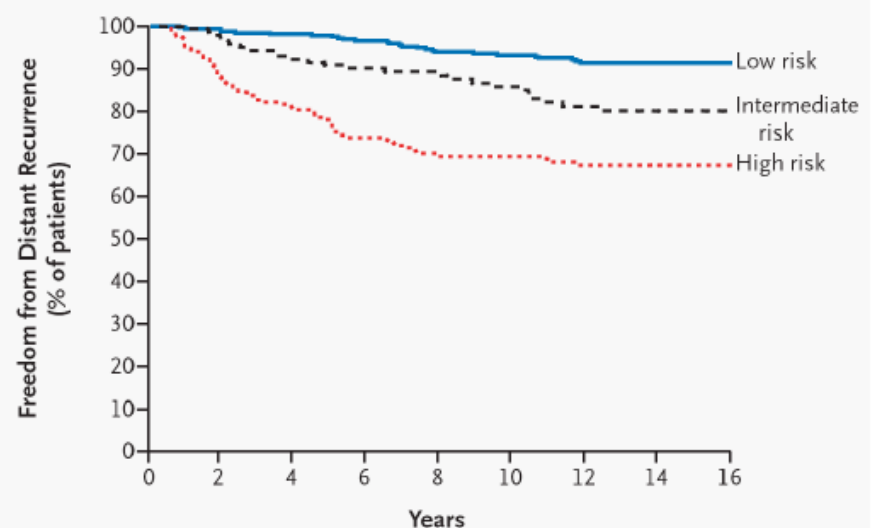
BAG1

Reference

ACTB
GAPDH
RPLPO
GUS
TFRC

Invasion

MMP11
CTSL2

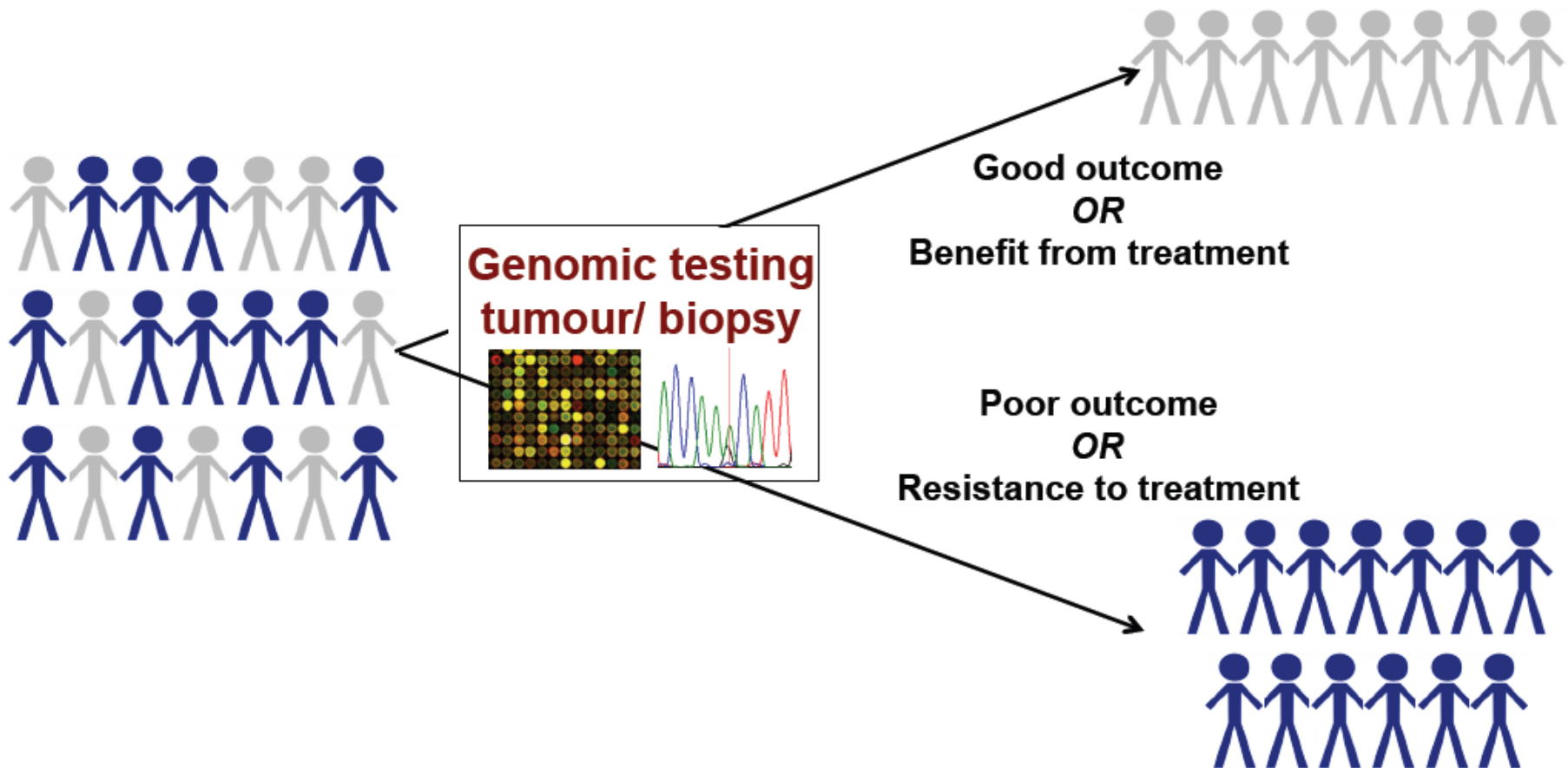


Use of Oncotype Dx

- Prognostic in patients with ER+ breast cancer
 - Treated with Tamoxifen
 - Treated with Aromatase Inhibitors
 - LN- and LN+ 1-3 (?)
- Predictive of chemotherapy benefit

RS	≤18	>18 and <31	≥31
Prognosis	Good	Intermediate	Poor
Endo benefit	High	Undetermined	Low
Chemo benefit	Negligible	Undetermined	High

Tumour profiling for treatment decision-making



Cílená terapie: efektivita vs. cena

J Natl Cancer Inst. 2009;10:1044-8

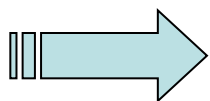
COMMENTARY

How Much Is Life Worth: Cetuximab, Non-Small Cell Lung Cancer, and the \$440 Billion Question

Tito Fojo, Christine Grady

Table 1. Estimated drug costs for indications cited in the text*

Drug (brand name)	Regimen	Dose†	Amount needed‡,§	Cost per milligram or cost per tablet	Total cost‡	Increase in OS‡
Cetuximab (Erbix)	Loading: 400 mg/m ² ; maintain: 250 mg/m ² /wk	Loading: 600 mg; maintain: 375 mg	6975 mg	\$11.52/mg	\$80352	1.2 mo (1) NSCLC
Bevacizumab (Avastin)	10 mg/kg every 14 d	600 mg every 14 d	13200 mg	\$6.88/mg	\$90816	1.5 mo§ (13) Breast
Erlotinib (Tarceva)	150 mg daily	150 mg/d; 1 tablet per day	112 tablets	\$140.64 per tablet	\$15752	10 d (14) Pancreas
Sorafenib (Nexavar)	400 mg twice a day	800 mg/d; 4 tablets per day	692 tablets	\$49.67 per tablet	\$34373	2.7 mo (15) Renal



význam individualizovaného přístupu

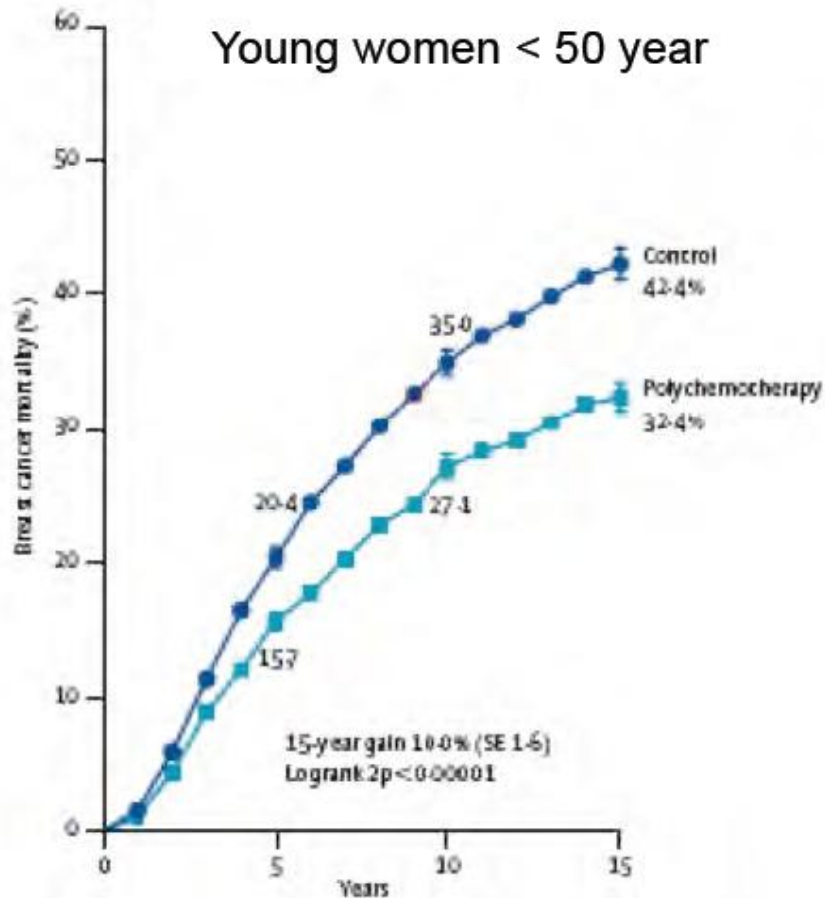
Efektivita konvenční protinádorové terapie?



ROSTE VÝZNAM BIOMARKERŮ

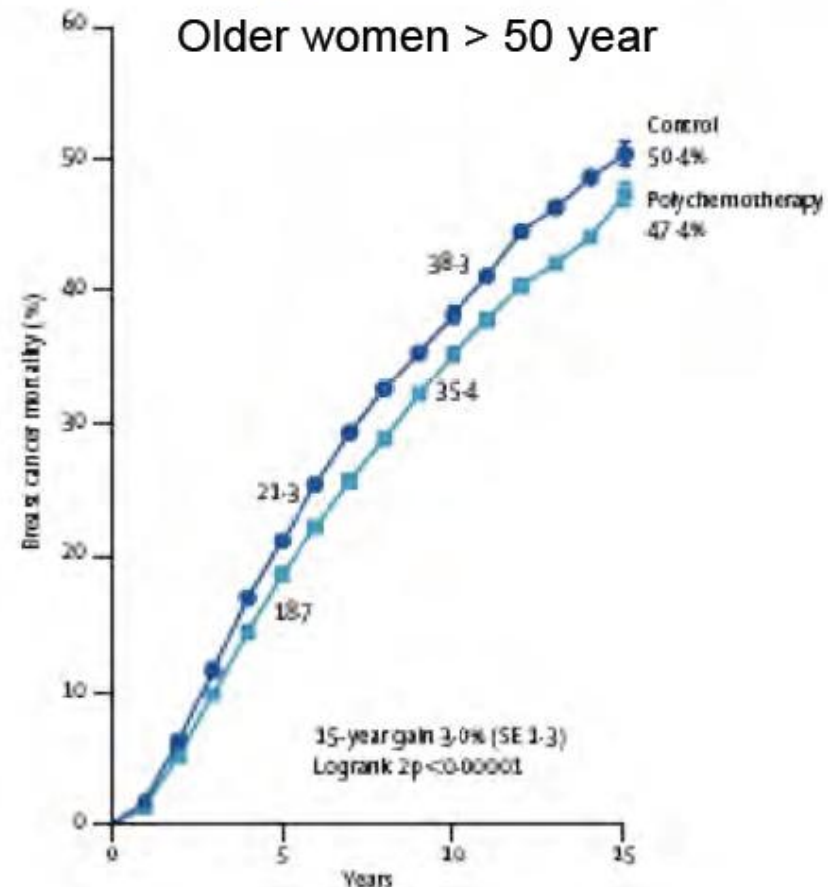


Mortalita ca mléčné žlázy



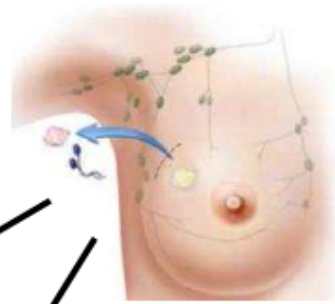
1/4

BENEFIT

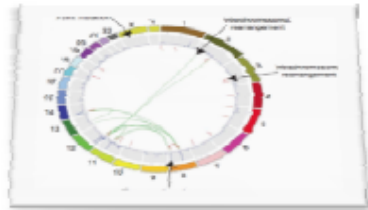


1/30

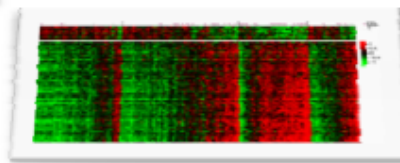
Personalized BC therapy in 2020...



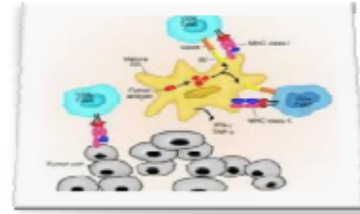
Histology
Tumor stage



Genomic
aberrations



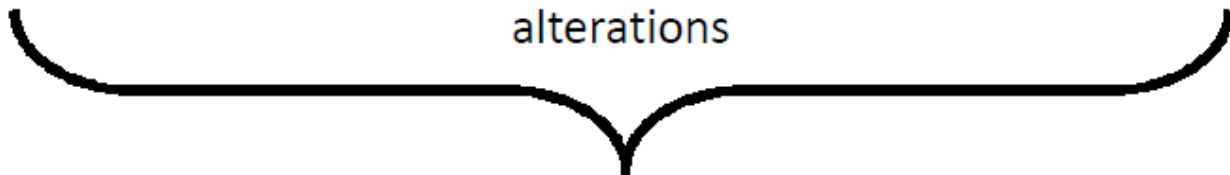
Pathway
alterations



Tumor
microenvironment



Functional
imaging



Tailored and optimal breast cancer treatment