



Результат OncoDEEP

Дані пацієнта

Дата народження:

Стать:

Клінічні дані:

Клінічний діагноз:

Гістологічний діагноз:

Зразок:

Локалізація первинної

пухлини:

Відсоток пухлини:

Дата забору:

КЛЮЧОВІ ГЕНЕТИЧНІ ЗМІНИ*

Ген	Зміна білка/Категор.	Частота /№ копій	Зміна ДНК	Біол. Категор.	Терапевт. Категор.
PIK3CA	p.(E542K)	3.61%	NM_0062 18.4:c.16 24G>A	Патогенна	Tier IIC
APC	p.(S1362Tfs *14)	22.71%	NM_000 038.6:c.4 083_408 4insACC C	Ймовірно патогенна	Tier IIC
APC	p.(R554*)	23.50%	NM_000 038.6:c.1 660C>T	Ймовірно патогенна	Tier IIC

• патогенний варіант

ГЕНОМНІ ПОКАЗНИКИ

TMB: низький (7.22 Mut/Mb)

MSI: стабільний (5.82%)

HRD: невизначений

ДОДАТКОВІ МАРКЕРИ

CD8: позитивний (20.0%)

ERCC1: низький (5.0%)

Fusion Panel: не виявлено

HER2: не виявлено (0.0%)

MGMT статус: виявлено

PD-L1: низький (0.0%)

TS: не виявлено

ГЕНИ БЕЗ ЗМІН-МІШЕНЕЙ ДЛЯ ТЕРАПІЇ*

NRAS

BRAF

KRAS

*Наведені тільки патогенні і ймовірно патогенні варіанти.

Повний список виявлених варіантів наведено в оригіналі репорту.

**Специфічні для даного діагнозу

ПОТЕНЦІЙНО ЕФЕКТИВНА ТЕРАПІЯ

Назва препаратів	Клас препаратів	Статус	Показання
Асоційований біомаркер: TS: не виявлено			
Фторурацил	Інгібітори тимідилатсинтази	Схвалено FDA / NCCN / ESMO / EMA	Тип пухлини пацієнта
Асоційований біомаркер: ERCC1: низька експресія			
Оксаліплатин	Зшиваючі агенти ДНК	Схвалено FDA / NCCN / ESMO / EMA	Тип пухлини пацієнта
Асоційований біомаркер: Мутаційне навантаження пухлини: низьке			
Атезоліумаб та меркаптопурин та Тіогуанін		В розробці	Інші типи пухлин
Асоційований біомаркер: MSI: стабільний			
Ботензілімаб та Бальстілімаб	Інгібітори PD-L1 та CTLA4	В розробці	Інші типи пухлин
FOG-001		В розробці	Інші типи пухлин
Ніволумаб та ФЛОКС	Інгібітор реплікації ДНК та інгібітор PD-1	В розробці	Інші типи пухлин
Пемброліумаб та Бевацізумаб	Інгібітор PD-1 та засіб проти ангіогенезу	В розробці	Інші типи пухлин
Регорафеніб та Авелумаб	Рецептор тирозинкінази та інгібітори PD-L1	В розробці	Інші типи пухлин
SX-682 та Ніволумаб	Інгібітори Cxcr1/2 та PD-1	В розробці	Інші типи пухлин
Асоційований біомаркер: PIK3CA: p.(E542K)			
Паксалісіб	Інгібітори PIK3CA	В розробці	Інші типи пухлин
STX-478	Інгібітори PIK3CA	В розробці	Інші типи пухлин
Асоційований біомаркер: APC: INS / APC: p.(R554*)			
Тегавівінт		В розробці	Інші типи пухлин
Асоційований біомаркер: MGMT статус: виявлено			
Темозоломід та Капецитабін	Алкілюючий агент та інгібітор тимідилатсинтази	В розробці	Інші типи пухлин
Темозоломід та Тувусертиб	Алкілюючі агенти та інгібітор ATR	В розробці	Інші типи пухлин

Шановний лікарю!
 Експерти ДІЛА надають інформаційну підтримку щодо трактування результатів лабораторного дослідження та інших професійних питань.
Шановний клієнте!
 Результати лабораторних досліджень не є клінічним діагнозом. Для коректної інтерпретації результатів досліджень, зверніться, будь ласка, до лікаря.
 Ліцензія МОЗ України АД №071280 від 22.11.2012 р. ТОВ «МЛ «ДІЛА» сертифіковано згідно вимог міжнародного стандарту ISO 9001

КЛІНІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Назва	Фаза	Країни	NCT ID
A Phase I/II Study of Regorafenib Plus Avelumab in Solid Tumors	2	FR	NCT03475953
Study of Folfiri/Cetuximab in FcGammaRIIIa V/V Stage IV Colorectal Cancer Patients	2	IT	NCT03874026
Genetic Testing in Guiding Treatment for Patients with Brain Metastases	2	US	NCT03994796
Chemotherapy and Immunotherapy as Treatment for MSS Metastatic Colorectal Cancer With High Immune Infiltrate	2	FR	NCT04262687
SX-682 and Nivolumab for the Treatment of RAS-Mutated, MSS Unresectable or Metastatic Colorectal Cancer, the STOPTRAFFIC-1 Trial	2	US	NCT04599140
Tegavivint for the Treatment of Recurrent or Refractory Solid Tumors, Including Lymphomas and Desmoid Tumors	2	US	NCT04851119
Preoperative Chemoradiotherapy With CApecitabine and Temozolomide in MGMT Silenced, MSS, Locally Advanced RecTal Cancer	2	IT	NCT05136326
Thiopurine Enhanced Mutations for PD-1/Ligand-1 Efficacy	2	DK	NCT05276284
METIMMOX-2: Metastatic pMMR/MSS Colorectal Cancer - Shaping Anti-Tumor Immunity by Oxaliplatin	2	NO	NCT05504252
Testing the Combination of the Anti-Cancer Drugs Temozolomide and M1774 to Evaluate Their Safety and Effectiveness	2	US	NCT05691491
First-in-Human Study of STX-478 as Monotherapy and in Combination With Other Antineoplastic Agents in Participants With Advanced Solid Tumors	2	FR ES US IT	NCT05768139
FOG-001 in Locally Advanced or Metastatic Solid Tumors	2	US	NCT05919264
A Study of Botensilimab and Balstilimab for Rectal Adenocarcinoma	2	US	NCT06843434

Шановний лікарю!
 Експерти ДІЛА надають інформаційну підтримку щодо трактування результатів лабораторного дослідження та інших професійних питань.
Шановний клієнте!
 Результати лабораторних досліджень не є клінічним діагнозом. Для коректної інтерпретації результатів досліджень, зверніться, будь ласка, до лікаря.
 Ліцензія МОЗ України АД №071280 від 22.11.2012 р. ТОВ «МЛ «ДІЛА» сертифіковано згідно вимог міжнародного стандарту ISO 9001

РЕЗЮМЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

Зверніть увагу, що було виявлено низьку однорідність даних секвенування (значення нижче нашого порогового рівня). Тому не можуть бути надані результати щодо CNV (варіантів зміни кількості копій генів) та HRD (дефіциту гомологічної рекомбінації).

Було виявлено варіант **PIK3CA E542K**. Цей варіант знаходиться в зоні взаємодії між спіральним доменом PI3K та nSH2 (N-кінцевим SH2) регіоном регуляторної субодиниці p85. Він асоціюється з підвищеною каталізаторною активністю, що призводить до посиленого сигнального шляху AKT і онкогенної трансформації *in vitro* (PMID:15647370; PMID:16432179). Цей варіант, якщо має спадкову природу може бути пов'язаний із себорейним кератозом (KERSEB) [MIM:182000] та синдромом вродженого ліпоматозного розростання, судинних мальформацій та епідермальних невусів (CLOVE) [MIM:612918].

Цей варіант може призводити до підвищеної активації шляху PI3K/Akt/mTOR. Отже, інгібітори PI3K, mTOR та подвійні інгібітори PI3K/mTOR можуть мати потенційну клінічну користь у разі активації шляху mTOR та/або втрати або мутації PTEN (PMID:20085938; PMID:11237521; PMID:29137436). Цікаво, що інгібітори mTOR — темсиролімус і еверолімус — були схвалені FDA для лікування різних солідних пухлин. Однак, через те, що онкогенна активація шляху PI3K може відбуватись різними, часто дублюючими шляхами, клінічна ефективність інгібіторів PI3K, AKT та mTOR як монотерапії наразі є обмеженою, незважаючи на обнадійливі результати доклінічних досліджень.

Інгібітор mTOR еверолімус був схвалений FDA для використання при раку молочної залози ER+/HER2-. Однак велике дослідження фази III (BOLERO 2), яке вивчало комбінацію еверолімусу з екземестаном у пацієнок з ER+/HER2- раком молочної залози, показало, що наявність мутацій PIK3CA не є предиктором відповіді пухлини на терапію еверолімусом у поєднанні з екземестаном (<http://meetinglibrary.asco.org/content/111876-132>). Більше того, було показано, що розповсюджені мутації PIK3CA не пов'язані з відповіддю метастатичного раку молочної залози на терапію темсиролімусом (PMID:22245973).

Обґрунтування використання інгібіторів PI3K при раку молочної залози з позитивними гормональними рецепторами базується на доклінічних даних, отриманих на клітинах та ксенографтах раку молочної залози ER+/PI3K-мутаційного типу, які свідчать, що одночасне пригнічення PI3K та ER чинить синергічну протипухлинну дію (PMID:19366795; PMID:20453058). Проте результати дослідження BELLE2 показали, що хоча у пацієнок з мутацією PIK3CA спостерігалось покращення загальної виживаності (OS) при застосуванні бупарлісибу з фулвестрантом у порівнянні з плацебо з фулвестрантом, ця різниця не була статистично значущою (PMID:30241001).

Мутації PIK3CA зустрічаються приблизно у 20–30% випадків колоректального раку людини (PMID:15016963; PMID:12094235; PMID:22357840). Мутації в екзоні 9 гена PIK3CA ймовірно пов'язані з помірною резистентністю до анти-EGFR терапії (PMID:28002810; PMID:28002810).

РЕЗЮМЕ ДОСЛІДЖЕННЯ (продовження)

Сигнальний шлях PI3K взаємодіє з іншими ключовими сигнальними шляхами при колоректальному раку. Тому користь для виживаності від інгібування інших шляхів може залежати від статусу мутації PIK3CA. Аспірин, нестероїдний протизапальний препарат, який інгібує PTGS1 та PTGS2, показав здатність знижувати захворюваність і смертність від колоректального раку [Drew DA, та ін. Nat Rev Cancer. 2016;16:173–186]. Використання аспірину після встановлення діагнозу пов'язане з довшою тривалістю життя пацієнтів з PIK3CA-мутаційним типом раку (PMID:23094721). У цьому контексті аспірин може пригнічувати прогресування колоректального раку шляхом інгібування PTGS2 і синтезу простагландину E2, які активуються за умов підвищеної активності PI3K-шляху.

Було виявлено 2 стоп-кодони у гені **APC**. Ці варіанти спричиняють передчасне утворення стоп-кодонів і продукцію усіченого білка, що, ймовірно, призводить до втрати його функції. Оскільки APC діє як пухлинний супресор, контролюючи рівні бета-катеніну в цитоплазмі, який є центральним активатором транскрипції у сигнальному шляху Wnt (PMID:21859464; PMID:19928349; PMID:21937258), ця передчасна термінація може призвести до активації WNT-шляху. Дійсно, втрата APC запобігає фосфорилуванню бета-катеніну ферментом GSK3 та імітує постійну активацію ліганду, що спричиняє його накопичення в цитоплазмі, транслокацію до ядра та постійну експресію цільових генів, сприяючи пухлиногенезу.

Крім того, мишача модель APC Min/+ демонструє більшу кількість поліпів і підвищену васкуляризацію пухлин на ранніх стадіях, що вказує на зв'язок між втратою функції APC і підвищеним ангиогенезом (PMID:24885408).

Інші функції гена APC включають регуляцію міграції клітин, апікально-базальної полярності, мікротрубочних структур, клітинного циклу, реплікації та репарації ДНК, а також апоптозу. Мутації в гені APC є поширеними при колоректальному раку (CRC), і понад 90% таких мутацій призводять до утворення стабільних усічених продуктів гена. Усічені варіанти гена APC передбачають чутливість клітин CRC до інгібіторів танкірази (PMID:28179481). Крім того, сполука TASIN-1 (селективний інгібітор усіченого APC), є малою молекулою, яка специфічно знищує клітини з усіченим APC, не пошкоджуючи нормальні або ракові клітини з диким типом APC.

Важливо, що статус APC може впливати на лікування пухлинних клітин хіміотерапевтичними алкілюючими агентами (наприклад, метил-метансульфонатом – MMS), тобто клітини з мутаціями APC можуть бути більш резистентними, ніж клітини з диким типом APC. Зрештою, втрата функції APC може сприяти підвищенню ангиогенезу та активації WNT-шляху. Отже, інгібітори цих процесів можуть бути корисними. Проте, наразі недостатньо клінічних доказів, щоб робити остаточні висновки.

У гені **BRAF** не було виявлено патогенних або ймовірно патогенних варіантів, отже, цей варіант гену вважається **диким типом**. Інгібітори BRAF не асоціюються з клінічною користю.

У генах **KRAS** та **NRAS** також не виявлено патогенних або ймовірно патогенних варіантів, тому ці варіанти також розцінюються як **дикий тип**. Інгібітори **HER2** можуть мати потенційну клінічну користь при **HER2+ колоректальному раку з диким типом RAS**.

Згідно з аналізом пакетного профілю, **пацієнт має бути чутливим до хіміотерапії на основі 5-FU, препаратів платини та Темозоломіду**.

З іншого боку, пацієнт **не потенційно нечутливий до інгібіторів NTRKx, RET та HER2**.

Примітка:

Імунограма показує низький потенціал відповіді на імунотерапію. Незважаючи на позитивну інфільтрацію CD8+ Т-клітин у пухлину, також спостерігався низький рівень експресії PD-L1 (0% мембранного фарбування). Крім того, не виявлено мікросателітної нестабільності (MSI), високого мутаційного навантаження (TMB) або мутацій, пов'язаних із чутливістю/резистентністю.

Попереднє розміщення CD8+ Т-клітин на інвазивному краю пухлини пов'язується з експресією інгібіторної осі PD-1/PD-L1 і може слугувати предиктором відповіді на терапію (PMID:25428505). Також було показано, що під час лікування збільшення кількості CD8+ клітин у серійних зразках пухлини корелює з кращою відповіддю на лікування.

Однак аналіз тільки інфільтрації CD8+ Т-клітин не має достатньої прогностичної цінності, оскільки експресія CD8 залежить від гетерогенності пухлини та тимчасових змін. Тому, незважаючи на позитивну інфільтрацію CD8+ лімфоцитів, **не можна повністю виключити потенційну користь від імунотерапії.**

Аналізи були виконані на блоці з маркуванням .

СПИСОК ПРЕПАРАТІВ

Назва препаратів	Клас препаратів	Статус	Показання	Клінічна користь
Асоційований біомаркер: TS: не виявлено				
Фторурацил	Інгібітори тимідилатсинтази	Схвалено FDA / NCCN / ESMO / EMA	Тип пухлини пацієнта	Потенційно ефективно
Асоційований біомаркер: ERCC1: низька експресія				
Оксаліплатин	Зшиваючі агенти ДНК	Схвалено FDA / NCCN / ESMO / EMA	Тип пухлини пацієнта	Потенційно ефективно
Асоційований біомаркер: PIK3CA: p.(E542K)				
CAPEOX та Цетуксимаб	Хіміотерапія та інгібітор EGFR	Схвалено NCCN	Тип пухлини пацієнта	Потенційно не ефективно
CAPEOX та Панітумумаб	Хіміотерапія та інгібітор EGFR	Схвалено NCCN	Тип пухлини пацієнта	Потенційно не ефективно
Цетуксимаб та Іринотекан	Інгібітори EGFR та топоізомерази 1	Схвалено FDA / NCCN / EMA	Тип пухлини пацієнта	Потенційно не ефективно
FOLFIRI та Панітумумаб	Хіміотерапія та інгібітор EGFR	Схвалено FDA / NCCN / EMA	Тип пухлини пацієнта	Потенційно не ефективно
FOLFOX та цетуксимаб	Хіміотерапія та інгібітор EGFR	Схвалено FDA / EMA	Тип пухлини пацієнта	Потенційно не ефективно
FOLFOX та Панітумумаб	Хіміотерапія та інгібітор EGFR	Схвалено FDA / NCCN / ESMO / EMA	Тип пухлини пацієнта	Потенційно не ефективно
Панітумумаб та Іринотекан	Інгібітори EGFR та топоізомерази 1	Схвалено NCCN	Тип пухлини пацієнта	Потенційно не ефективно
Асоційований біомаркер: NRAS: не виявлено / KRAS: не виявлено / PIK3CA: p.(E542K)				
Цетуксимаб	Інгібітори EGFR	Схвалено FDA / NCCN / ESMO / EMA	Тип пухлини пацієнта	Потенційно не ефективно
Панітумумаб	Інгібітори EGFR	Схвалено FDA / NCCN / ESMO / EMA	Тип пухлини пацієнта	Потенційно не ефективно

Шановний лікарю!
 Експерти ДІЛА надають інформаційну підтримку щодо трактування результатів лабораторного дослідження та інших професійних питань.
Шановний клієнте!
 Результати лабораторних досліджень не є клінічним діагнозом. Для коректної інтерпретації результатів досліджень, зверніться, будь ласка, до лікаря.
 ТОВ «МЛ «ДІЛА» сертифіковано згідно вимог міжнародного стандарту ISO 9001
 Ліцензія МОЗ України АД №071280 від 22.11.2012 р.

СПИСОК ПРЕПАРАТІВ

Асоційований біомаркер: MSI: стабільний

Достарлімаб-gxly	PD-1 інгібітор	Схвалено FDA / NCCN / ESMO / EMA	Тип пухлини пацієнта	Потенційно не ефективно
Ніволумаб	PD-1 інгібітор	Схвалено FDA / NCCN / ESMO / EMA	Тип пухлини пацієнта	Потенційно не ефективно
Ніволумаб та Іпілімуаб	PD-1 та CTLA4 інгібітори	Схвалено FDA / NCCN / ESMO / EMA	Тип пухлини пацієнта	Потенційно не ефективно
Ботензілімаб та Бальстилімаб	PD-1 та CTLA4 інгібітори	в розробці	інші пухлини	Потенційно ефективно
FOG-001	-	в розробці	інші пухлини	Потенційно ефективно
Ніволумаб та ФЛОКС	Інгібітор реплікації ДНК та інгібітор PD-1	в розробці	інші пухлини	Потенційно ефективно
Пембролізумаб та Бевацізумаб	Інгібітор PD-1 та антиангіогенний засіб	в розробці	інші пухлини	Потенційно ефективно
Регорафеніб та Авелумаб	Інгібітори тирозинкінази рецепторів та PD-L1	в розробці	інші пухлини	Потенційно ефективно
SX-682 та Ніволумаб	Інгібітори Cxcr1/2 та PD-1	в розробці	інші пухлини	Потенційно ефективно

Асоційований біомаркер: BRAF: не виявлено

Енкорафеніб та Цетуксимаб	Інгібітори BRAF та EGFR	Схвалено FDA / NCCN / ESMO / EMA	Тип пухлини пацієнта	Потенційно не ефективно
Енкорафеніб та Цетуксимаб та MFOLFOX6	-	Схвалено FDA	Тип пухлини пацієнта	Потенційно не ефективно

Асоційований біомаркер: Fusion panel: не виявлено

Ентректиніб	Інгібітори рецепторної тирозинкінази	Схвалено FDA	Тип пухлини пацієнта	Потенційно не ефективно
Ларотрентиніб	Інгібітори NTRK	Схвалено FDA	Тип пухлини пацієнта	Потенційно не ефективно
Репотрентиніб	Інгібітори рецепторної тирозинкінази	Схвалено FDA	Тип пухлини пацієнта	Потенційно не ефективно
Селперкатиніб	Інгібітори RET	Схвалено FDA	Тип пухлини пацієнта	Потенційно не ефективно

Шановний лікарю!
 Експерти ДІЛА надають інформаційну підтримку щодо трактування результатів лабораторних досліджень, зверніться до лікаря.
Шановний клієнте!
 Результати лабораторних досліджень не є клінічним діагнозом. Для коректної інтерпретації результатів досліджень, зверніться до лікаря.
 ТОВ «МЛ «ДІЛА» сертифіковано згідно вимог міжнародного стандарту ISO 9001
 Ліцензія МОЗ України АД №071280 від 22.11.2012 р.

СПИСОК ПРЕПАРАТІВ

Стор. 9/12

Асоційований біомаркер: HER2: не виявлено

Фам-Трастузумаб Дерукстекан-хкі	Інгібітори HER2 та топоізомерази 1	Схвалено FDA / NCCN / ESMO / EMA	Тип пухлини пацієнта	Потенційно не ефективно
------------------------------------	---------------------------------------	-------------------------------------	-------------------------	----------------------------

Лапатиніб та Трастузумаб	Інгібітори HER2	Схвалено FDA / NCCN / ESMO / EMA	інші пухлини	Потенційно не ефективно
-----------------------------	-----------------	-------------------------------------	--------------	----------------------------

Пертузумаб та Трастузумаб	Інгібітори HER2	Схвалено FDA / NCCN / ESMO / EMA	інші пухлини	Потенційно не ефективно
------------------------------	-----------------	-------------------------------------	--------------	----------------------------

Асоційований біомаркер: BRAF: не виявлено / PIK3CA: p.(E542K) / KRAS: не виявлено

FOLFIRI та цетуксимаб	Хіміотерапія та інгібітор EGFR	Схвалено FDA / NCCN / ESMO / EMA	Тип пухлини пацієнта	Потенційно не ефективно
-----------------------	-----------------------------------	-------------------------------------	-------------------------	----------------------------

Асоційований біомаркер: MSI: стабільний / Tumor Mutational Burden: низький

Пембролізумаб	Інгібітор PD-1	Схвалено FDA / NCCN / ESMO / EMA	Тип пухлини пацієнта	Потенційно не ефективно
---------------	----------------	-------------------------------------	-------------------------	----------------------------

Асоційований біомаркер: NRAS: не виявлено / KRAS: не виявлено / HER2: негативна експресія

Тукатиніб та Трастузумаб	Інгібітор HER2	Схвалено FDA / NCCN / ESMO / EMA	Тип пухлини пацієнта	Потенційно не ефективно
--------------------------	----------------	-------------------------------------	-------------------------	----------------------------

Асоційований біомаркер: Tumor Mutational Burden: низький

Атезолізумаб та Меркаптопурин та Тіогуанін		В розробці	інші пухлини	Потенційно ефективно
--	--	------------	--------------	-------------------------

Асоційований біомаркер: PIK3CA: p.(E542K)

Паксалісіб	Інгібітор PIK3CA	В розробці	інші пухлини	Потенційно ефективно
------------	------------------	------------	--------------	-------------------------

STX-478	Інгібітор PIK3CA	В розробці	інші пухлини	Потенційно ефективно
---------	------------------	------------	--------------	-------------------------

Асоційований біомаркер: APC: INS / APC: p.(R554*)

Тегавівінт	Інгібітор PIK3CA	В розробці	інші пухлини	Потенційно ефективно
------------	------------------	------------	--------------	-------------------------

Асоційований біомаркер: MGMT статус: YES

Темозоломід та Капецитабін	Алкілюючий агент та інгібітор тимідилатсинтази	В розробці	інші пухлини	Потенційно ефективно
-------------------------------	--	------------	--------------	-------------------------

Темозоломід та Тувусертиб	Алкілюючі агенти та інгібітор ATR	В розробці	інші пухлини	Потенційно ефективно
------------------------------	--------------------------------------	------------	--------------	-------------------------

Шановний клієнте! Результати лабораторних досліджень не є клінічним діагнозом. Для коректної інтерпретації результатів досліджень, зверніться, будь ласка, до лікаря. Ліцензія МОЗ України АД №071280 від 22.11.2012 р. ТОВ «МЛ «ДІЛА» сертифіковано згідно вимог міжнародного стандарту ISO 9001

Шановний лікарю!

Експерти ДІЛА надають інформаційну підтримку щодо трактування результатів лабораторного дослідження та інших професійних питань.

СПИСОК ВИЯВЛЕНИХ ВАРІАНТІВ

Ген	Категор.	Частота/ № копій	Зміна ДНК	Зміна білку	Біол. Категор.	Терап. Категор.	Потенц. Спадк.	Глибина прочит.
PIK3CA	SNV	3.61%	NM_006218. 4:c.1624G>A	p.(E542K)	патогенна	Tier IIC	Так	277
APC	SNV	23.50%	NM_000038. 6:c.1660C>T	p.(R554*)	ймовірно патогенна	Tier IIC	Так	234
APC	INS	22.71%	NM_000038. 6:c.4083_4084insACCC	p.(S1362Tfs*14)	ймовірно патогенна	Tier IIC	Так	339
BRAF	WT	0.00	-	-	дикий тип	Tier IIA	Hi	-
KRAS	WT	0.00	-	-	дикий тип	Tier IIA	Hi	-
NRAS	WT	0.00	-	-	дикий тип	Tier IIA	Hi	-
ANKRD11	SNV	54.57%	NM_013275. 6:c.5736C>A	p.(D1912E)	VUS	Tier III	Hi	1314
CARD11	SNV	19.61%	NM_032415. 7:c.89G>A	p.(R30Q)	VUS	Tier III	Hi	918
CYP2D6	INS	8.56%	NM_000106. 6:c.632_638delinsGAGGGATC	p.(E211Gfs*43)	VUS	Tier III	Hi	759
GRIN2A	SNV	21.15%	NM_000833. 5:c.3622C>T	p.(R1208W)	VUS	Tier III	Hi	832
JAK3	SNV	19.15%	NM_000215. 4:c.793C>T	p.(H265Y)	VUS	Tier III	Hi	914
KDM6A	SNV	100.00%	NM_021140. 4:c.2177C>A	p.(T726K)	VUS	Tier III	Hi	334
KEL	SNV	45.87%	NM_000420. 3:c.1268C>T	p.(A423V)	VUS	Tier III	Hi	1369
KEL	SNV	44.06%	NM_000420. 3:c.1334C>T	p.(A445V)	VUS	Tier III	Hi	926
KMT2C	INS	32.04%	NM_170606. 3:c.2447dup	p.(Y816*)	VUS	Tier III	Hi	927
MAP3K1	SNV	47.24%	NM_005921. 2:c.3293G>A	p.(S1098N)	VUS	Tier III	Hi	326
MYC	SNV	63.86%	NM_002467. 6:c.906C>A	p.(H302Q)	VUS	Tier III	Hi	3973
NOTCH1	SNV	13.61%	NM_017617. 5:c.575G>A	p.(G192E)	VUS	Tier III	Hi	1367

Шановний лікарю!
 Експерти ДІЛА надають інформаційну підтримку щодо трактування результатів лабораторного дослідження та інших професійних питань. ТОВ «МЛ «ДІЛА» сертифіковано згідно вимог міжнародного стандарту ISO 9001
Шановний клієнте!
 Результати лабораторних досліджень не є клінічним діагнозом. Для коректної інтерпретації результатів досліджень, зверніться, будь ласка, до лікаря. Ліцензія МОЗ України АД №071280 від 22.11.2012 р.

Шановний клієнте!
 Результати лабораторних досліджень не є клінічним діагнозом.
 Для коректної інтерпретації результатів досліджень, зверніться, будь ласка, до лікаря.
 Ліцензія МОЗ України АД №071280 від 22.11.2012 р. ТОВ «МЛ «ДІЛА» сертифіковано згідно вимог міжнародного стандарту ISO 9001

Шановний лікарю!

Експерти ДІЛА надають інформаційну підтримку щодо трактування результатів лабораторного дослідження та інших професійних питань.

Ген	Категор.	Частота/ № копій	Зміна ДНК	Зміна білку	Біол. Категор.	Терап. Категор.	Потенц. Спадк.	Глибина прочит.
PAX5	SNV	17.00%	NM_016734. 3:c.117G>C	p.(Q39H)	VUS	Tier III	Hi	859
SH2B3	SNV	35.73%	NM_005475. 3:c.1561C>T	p.(P521S)	VUS	Tier III	Hi	1447
STAG1	SNV	39.01%	NM_005862. 3:c.403A>G	p.(R135G)	VUS	Tier III	Hi	182
TCF7L2	SNV	40.85%	NM_0013679 43.1:c.1462C >T	p.(R488C)	VUS	Tier III	Hi	306
TERT	SNV	99.85%	NM_198253. 3:c.-79-889T >C	-	VUS	Tier III	Hi	1297
TERT	SNV	11.20%	NM_198253. 3:c.-79-2010 T>C	-	VUS	Tier III	Hi	250
TERT	SNV	45.24%	NM_198253. 3:c.-79-1303 T>C	-	VUS	Tier III	Hi	431
TERT	SNV	16.12%	NM_198253. 3:c.-79-2015 G>A	-	VUS	Tier III	Hi	273
TERT	SNV	27.38%	NM_198253. 3:c.-79-1824 T>C	-	VUS	Tier III	Hi	168
TERT	SNV	17.21%	NM_198253. 3:c.-79-2629 A>G	-	VUS	Tier III	Hi	122
TERT	SNV	22.46%	NM_198253. 3:c.-79-1831 T>G	-	VUS	Tier III	Hi	138
TERT	SNV	50.80%	NM_198253. 3:c.-79-499C >A	-	VUS	Tier III	Hi	1370
TERT	SNV	12.93%	NM_198253. 3:c.-79-2022 T>C	-	VUS	Tier III	Hi	294
TERT	SNV	12.06%	NM_198253. 3:c.-79-2002 A>G	-	VUS	Tier III	Hi	199

Ген	Категор.	Частота/ № копій	Зміна ДНК	Зміна білку	Біол. Категор.	Терап. Категор.	Потенц. Спадк.	Глибина прочит.
TERT	SNV	10.31%	NM_198253. 3:c.-79-2812 T>C	-	VUS	Tier III	Hi	223
TERT	SNV	6.76%	NM_198253. 3:c.-79-2027 T>C	-	VUS	Tier III	Hi	355
TERT	SNV	100.00%	NM_198253. 3:c.-79-2075 A>G	-	VUS	Tier III	Hi	516
TERT	SNV	8.86%	NM_198253. 3:c.-79-2818 T>C	-	VUS	Tier III	Hi	271
TP53BP1	SNV	25.85%	NM_005657. 4:c.1234G>A	p.(G412S)	VUS	Tier III	Hi	561
TP53BP1	SNV	99.25%	NM_005657. 4:c.3406A>C	p.(K1136Q)	VUS	Tier III	Hi	402
TYRO3	SNV	5.49%	NM_006293. 4:c.1876-2_1 876-1delinsT T	-	VUS	Tier III	Hi	437
TYRO3	SNV	13.32%	NM_006293. 4:c.751G>A	p.(G251S)	VUS	Tier III	Hi	976
TYRO3	SNV	6.79%	NM_006293. 4:c.1252+2_1 252+3delins CC	-	VUS	Tier III	Hi	486
USP8	SNV	8.24%	NM_005154. 5:c.2353A>G	p.(T785A)	VUS	Tier III	Hi	364

Шановний лікарю!

Експерти ДІЛА надають інформаційну підтримку щодо трактування результатів лабораторного дослідження та інших професійних питань. ТОВ «МЛ «ДІЛА» сертифіковано згідно вимог міжнародного стандарту ISO 9001

Шановний клієнте!

Результати лабораторних досліджень не є клінічним діагнозом. Для коректної інтерпретації результатів досліджень, зверніться, будь ласка, до лікаря. Ліцензія МОЗ України АД №071280 від 22.11.2012 р.



OncoDEEP Analysis Report

Patient

ID:

Date of Birth:

Sex:

Cancer Type:

Clinical

Medical Doctor:

Clinical Diagnosis:

Sample

Primary Tumor Site:

Percentage:

Collection Date:

KEY GENOMIC ALTERATIONS*

Gene	AA / Cat.	Var. Freq. / Copy Nb	cDNA	Biological Impact	Therapeutical Impact
PIK3CA ●	p.(E542K)	3.61%	NM_006218.4:c.1624G>A	Pathogenic	Tier IIC
APC	p.(S1362Tfs*14)	22.71%	NM_000038.6:c.4083_4084insACC	Likely Pathogenic	Tier IIC
APC	p.(R554*)	23.50%	NM_000038.6:c.1660C>T	Likely Pathogenic	Tier IIC

● Pathogenic variants of interest

GENOMIC SIGNATURES

TMB: Low (7.22 Mut/Mb)

MSI: Stable (5.82%)

HRD: Failed

ADDITIONAL BIOMARKERS

CD8: Positive (20.0%)

ERCC1: Low (5.0%)

Fusion panel: NO

HER2: Negative (0.0%)

MGMT status: YES

PD-L1: Low (0.0%)

TS: Negative (0.0%)

RELEVANT GENES WITH NO ACTIONABLE ALTERATIONS**

NRAS

BRAF

KRAS

* Only variants classified as pathogenic and likely pathogenic are reported here. The full list of identified variants is available in the report.

** Cancer type specific

THERAPIES ASSOCIATED WITH CLINICAL BENEFIT

Drug Name	Class	Status	Indicated for
Associated Biomarker: TS: Negative expression			
Fluorouracil	Thymidylate synthase inhibitors	FDA / NCCN / ESMO / EMA approved	patient's tumor type
Associated Biomarker: ERCC1: Low expression			
oxaliplatin	DNA crosslinking agents	FDA / NCCN / ESMO / EMA approved	patient's tumor type
Associated Biomarker: Tumor Mutational Burden: Low			
Atezolizumab And Mercaptopurine And Tioguanine		In Development	other tumor types
Associated Biomarker: MSI: Stable			
Botensilimab And Balstilimab	PD-1 and CTLA4 inhibitor	In Development	other tumor types

(Continues on next page)

(Continued from previous page)

Drug Name	Class	Status	Indicated for
FOG-001		In Development	other tumor types
Nivolumab And FLOX	DNA replication inhibitor and PD-1 inhibitor	In Development	other tumor types
Pembrolizumab And Bevacizumab	PD-1 inhibitor and antiangiogenesis agent	In Development	other tumor types
Regorafenib And Avelumab	Receptor tyrosine kinase and PD-L1 inhibitors	In Development	other tumor types
SX-682 And Nivolumab	Cxcr1/2 and PD-1 inhibitors	In Development	other tumor types
Associated Biomarker: PIK3CA: p.(E542K)			
Paxalisib	PIK3CA inhibitors	In Development	other tumor types
STX-478	PIK3CA inhibitors	In Development	other tumor types
Associated Biomarker: APC: INS / APC: p.(R554*)			
Tegavivint		In Development	other tumor types
Associated Biomarker: MGMT status: YES			
Temozolomide And Capecitabine	Alkylating agent and Thymidylate synthase inhibitor	In Development	other tumor types
Temozolomide And Tuvusertib	Alkylating agents and ATR inhibitor	In Development	other tumor types

CLINICAL TRIALS

Name	Phase	Countries	NCT ID
A Phase I/II Study of Regorafenib Plus Avelumab in Solid Tumors	Phase 2	FR	NCT03475953
Study of Folfiri/Cetuximab in FcGammaRIIIa V/V Stage IV Colorectal Cancer Patients	Phase 2	IT	NCT03874026
Genetic Testing in Guiding Treatment for Patients with Brain Metastases	Phase 2	US	NCT03994796
Chemotherapy and Immunotherapy as Treatment for MSS Metastatic Colorectal Cancer With High Immune Infiltrate	Phase 2	FR	NCT04262687
SX-682 and Nivolumab for the Treatment of RAS-Mutated, MSS Unresectable or Metastatic Colorectal Cancer, the STOPTRAFFIC-1 Trial	Phase 2	US	NCT04599140
Tegavivint for the Treatment of Recurrent or Refractory Solid Tumors, Including Lymphomas and Desmoid Tumors	Phase 2	US	NCT04851119
Preoperative Chemoradiotherapy With CApecitabine and Temozolomide in MGMT Silenced, MSS, Locally Advanced RecTal Cancer	Phase 2	IT	NCT05136326
Thiopurine Enhanced Mutations for PD-1/Ligand-1 Efficacy	Phase 2	DK	NCT05276284
METIMMOX-2: Metastatic pMMR/MSS Colorectal Cancer - Shaping Anti-Tumor Immunity by Oxaliplatin	Phase 2	NO	NCT05504252

(Continues on next page)

(Continued from previous page)

Name	Phase	Countries	NCT ID
Testing the Combination of the Anti-Cancer Drugs Temozolomide and M1774 to Evaluate Their Safety and Effectiveness	Phase 2	US	NCT05691491
First-in-Human Study of STX-478 as Monotherapy and in Combination With Other Antineoplastic Agents in Participants With Advanced Solid Tumors	Phase 2	FR ES US IT	NCT05768139
FOG-001 in Locally Advanced or Metastatic Solid Tumors	Phase 2	US	NCT05919264
A Study of Botensilimab and Balstilimab for Rectal Adenocarcinoma	Phase 2	US	NCT06843434

COMPREHENSIVE SUMMARY

Please note that we detected a low uniformity (value under our threshold). Therefore, no CNV neither HRD results can be provided.

We found a **PIK3CA** E542K variant. This variant occurs in the interface between the PI3K helical domain and the nSH2 (N-terminal SH2) region of the p85 regulatory subunit. It is associated with increased catalytic activity resulting in enhanced downstream AKT signaling pathway and oncogenic transformation in vitro (PMID:15647370 ; PMID:16432179). This variant might be associated with Keratosis, seborrheic (KERSEB) [MIM:182000] and Congenital lipomatous overgrowth, vascular malformations, and epidermal nevi (CLOVE) [MIM:612918] syndromas.

This variant may lead to increase activation of the PI3K/Akt/mTOR pathway. Therefore, PI3K, mTOR and dual PI3K/mTOR inhibitors would show potential clinical benefit upon mTOR pathway activation and/or PTEN loss or mutated (PMID:20085938; PMID:11237521; PMID:29137436). Interestingly, the mTOR inhibitors temsirolimus and everolimus have been approved by the FDA for use in various solid tumors. However, because oncogenic PI3K pathway activation is achieved in diverse, potentially redundant ways, the clinical efficacy of PI3K, AKT, and mTOR inhibitors as monotherapies has, so far, been limited, despite demonstrating promising preclinical activity.

The mTOR inhibitor everolimus has been approved by the FDA for use in breast cancer ER+/HER2-. However, a large phase III trial (BOLERO 2) of everolimus plus exemestane combination therapy in ER+/HER2-breast cancer patients revealed that the presence of PIK3CA mutations is not predictive of tumor response to everolimus plus exemestane therapy (<http://meetinglibrary.asco.org/content/111876-132>). Moreover, it has been shown that PIK3CA hotspot domains are not associated with response of metastatic breast cancer to temsirolimus therapy (PMID:22245973).

The rationale for the use of PI3K inhibitors in hormone receptor positive breast cancer came from preclinical evidence with ER+/PI3K-mutant breast cancer cells and xenografts suggesting that simultaneous inhibition of PI3K and ER exerts synergistic antitumor activity (PMID:19366795; PMID:20453058). But the results from the BELLE2 study indicated that although patients with PIK3CA variant had OS results in favour of buparlisib plus fulvestrant versus placebo plus fulvestrant, there was no statistical significance (PMID:30241001).

PIK3CA and mutations occur in 20–30% of human colorectal cancers (PMID:15016963; PMID:12094235; PMID:22357840). It seems that PIK3CA exon 9 mutations are associated with weak resistance to anti-EGFR (PMID:28002810; PMID:28002810).

The PI3K pathway interacts with other key signaling pathways in colorectal cancer. Therefore, survival benefits associated with inhibition of other pathways may differ by PIK3CA variant status. Aspirin, a nonsteroidal anti-inflammatory drug inhibits PTGS1 and PTGS2 and aspirin use has shown to reduce colorectal cancer incidence and mortality [Drew DA, et al. Nat Rev Cancer. 2016;16:173–186]. Postdiagnosis aspirin use is associated with long patient survival specifically in PIK3CA-mutant cancer (PMID:23094721). In this context, aspirin may suppress colorectal cancer progression through inhibition of PTGS2 and prostaglandin E2 synthesis, which are enhanced by activated PI3K signaling.

We found 2 stop codons in **APC** gene. These variants induce premature stop codons and the production of a truncated protein leading to a probable loss of function of the protein. Since APC acts as tumor suppressor by restraining cytoplasmic cellular levels of Beta-catenin, the central activator of transcription in the Wnt signaling pathway (PMID:21859464; PMID:19928349; PMID:21937258), this premature stop codon could lead to the activation of the WNT pathway. Indeed, the loss of APC prevents phosphorylation of beta-catenin by GSK3 and mimics constitutive ligand activation, resulting in persistent accumulation and nuclear translocation of beta-catenin along with the continual expression of downstream target genes increasing tumorigenesis.

Moreover, mouse APC Min/+ model shows higher number of polyps as well as a higher vascularized tumor at earlier stages indicating a relationship between the loss of function of APC and the increase of angiogenesis (PMID:24885408).

Other activities of APC include mediating cell migration, regulation of apical-basal polarity, microtubule networks, cell cycle, DNA replication and repair, and apoptosis.

Mutations in the APC gene are common in colorectal cancer (CRC), and more than 90% of those mutations generate stable truncated gene products. Short-form APC mutations predict the sensitivity of CRC cells to tankyrase inhibitors (PMID:28179481). Moreover, TASIN-1 (truncated APC selective inhibitor-1), a small molecule, specifically kills cells with APC truncations but spares normal and cancer cells with wild-type APC.

Importantly, APC status could impact treatment of tumor cells with chemotherapeutic alkylating agents (DNA alkylating agent methylmethane sulfonate), meaning that cells with APC mutations may be more resistant than those with wild-type APC.

Finally, loss of function of APC might increase the angiogenesis and activate the WNT pathway. Therefore, inhibitors of those processes might be useful. However, we do not have enough clinical evidence to make any conclusion.

No variant pathogenic nor likely pathogenic has been identified in **BRAF**. Therefore we consider this variant as wild type. BRAF-inhibitors are associated with lack of clinical benefit.

No variant pathogenic nor likely pathogenic has been identified in **KRAS** and **NRAS**. Therefore we consider these variants as wild type. HER2-inhibitors are also associated with potential clinical benefit in RAS wild-type HER2+ colorectal cancer.

Based on package plus analysis, this patient **should be sensitive** to 5-FU, platinum salt and temozolomide based chemotherapies.

On the other hand, this patient **should not be sensitive** to NTRKx, RET and HER2 inhibitors.

Rmk:

The immunogram shows a low potential response to immunotherapy. Despite the positive infiltration of CD8 + T cells in the tumor, we showed also a low expression of PD-L1 (0% membranous staining). Moreover, we didn't observe microsatellite instability (MSI), tumor mutational burden (TMB) or sensibility/resistance mutation. Pre-existing CD8 T-cells distinctly located at the invasive tumour margin are associated with expression of the PD-1/PD-L1 immune inhibitory axis and may predict response to therapy (PMID:25428505). Further, it was shown that during a therapy, an increase in CD8+ cells in serial tumor samples was associated with better response. However, testing CD8+ T cell infiltration alone might not have a big predictive value because CD8 expression is affected by tumor heterogeneity and temporal variability. Therefore, based on the positive CD8 lymphocyte infiltration, **we can't completely exclude a potential benefit for treatment based on immunotherapy.**

The analyses were performed on the block labelled 12345.

THERAPIES (FULL LIST)

Drug Name	Class	Status	Indicated for	Clinical Benefit
Associated Biomarker: TS: Negative expression				
Fluorouracil	Thymidylate synthase inhibitors	FDA / NCCN / ESMO / EMA approved	patient's tumor type	Potential
Associated Biomarker: ERCC1: Low expression				
oxaliplatin	DNA crosslinking agents	FDA / NCCN / ESMO / EMA approved	patient's tumor type	Potential
Associated Biomarker: PIK3CA: p.(E542K) / KRAS: WT				
CAPEOX And Cetuximab	Chemotherapy and EGFR inhibitor	NCCN approved	patient's tumor type	Potential Lack
CAPEOX And Panitumumab	Chemotherapy and EGFR inhibitor	NCCN approved	patient's tumor type	Potential Lack
Cetuximab And Irinotecan	EGFR and Topoisomerase 1 inhibitors	FDA / NCCN / EMA approved	patient's tumor type	Potential Lack
FOLFIRI And Panitumumab	Chemotherapy and EGFR inhibitor	NCCN / ESMO / EMA approved	patient's tumor type	Potential Lack

(Continues on next page)

(Continued from previous page)

Drug Name	Class	Status	Indicated for	Clinical Benefit
FOLFOX And Cetuximab	Chemotherapy and EGFR inhibitor	NCCN / EMA approved	patient's tumor type	Potential Lack
FOLFOX And Panitumumab	Chemotherapy and EGFR inhibitor	FDA / NCCN / ESMO / EMA approved	patient's tumor type	Potential Lack
Panitumumab And Irinotecan	EGFR and Topoisomerase 1 inhibitors	NCCN approved	patient's tumor type	Potential Lack

Associated Biomarker: NRAS: WT / KRAS: WT / PIK3CA: p.(E542K)

cetuximab	EGFR inhibitors	FDA / NCCN / ESMO / EMA approved	patient's tumor type	Potential Lack
Panitumumab	EGFR inhibitors	FDA / NCCN / ESMO / EMA approved	patient's tumor type	Potential Lack

Associated Biomarker: MSI: Stable

Dostarlimab-gxly	PD-1 inhibitor	FDA / NCCN / ESMO / EMA approved	patient's tumor type	Potential Lack
Nivolumab	PD-1 inhibitor	FDA / NCCN / ESMO / EMA approved	patient's tumor type	Potential Lack
Nivolumab and Ipilimumab	PD-1 and CTLA4 inhibitor	FDA / NCCN / ESMO / EMA approved	patient's tumor type	Potential Lack
Botensilimab And Balstilimab	PD-1 and CTLA4 inhibitor	In Development	other tumor types	Potential
FOG-001		In Development	other tumor types	Potential
Nivolumab And FLOX	DNA replication inhibitor and PD-1 inhibitor	In Development	other tumor types	Potential
Pembrolizumab And Bevacizumab	PD-1 inhibitor and antiangiogenesis agent	In Development	other tumor types	Potential
Regorafenib And Avelumab	Receptor tyrosine kinase and PD-L1 inhibitors	In Development	other tumor types	Potential
SX-682 And Nivolumab	Cxcr1/2 and PD-1 inhibitors	In Development	other tumor types	Potential

Associated Biomarker: BRAF: WT

Encorafenib And Cetuximab	BRAF and EGFR inhibitors	FDA / NCCN / ESMO / EMA approved	patient's tumor type	Potential Lack
Encorafenib And Cetuximab And MFOLFOX6		FDA approved	patient's tumor type	Potential Lack

Associated Biomarker: Fusion panel: NO

Entrectinib	Receptor tyrosine kinase inhibitors	FDA Approved	patient's tumor type	Potential Lack
Larotrectinib	NTRK inhibitors	FDA Approved	patient's tumor type	Potential Lack
Repotrectinib	Receptor tyrosine kinase inhibitors	FDA Approved	patient's tumor type	Potential Lack
Selpercatinib	RET inhibitors	FDA Approved	patient's tumor type	Potential Lack

(Continues on next page)

(Continued from previous page)

Drug Name	Class	Status	Indicated for	Clinical Benefit
Associated Biomarker: HER2: Negative expression				
fam-trastuzumab deruxtecan-nxki	HER2 and Topoisomerase 1 inhibitors	FDA / NCCN / ESMO / EMA approved	patient's tumor type	Potential Lack
Lapatinib and Trastuzumab	HER2 inhibitors	FDA / NCCN / ESMO / EMA approved	other tumor types	Potential Lack
Pertuzumab and Trastuzumab	HER2 inhibitors	FDA / NCCN / ESMO / EMA approved	other tumor types	Potential Lack
Associated Biomarker: BRAF: WT / PIK3CA: p.(E542K) / KRAS: WT				
FOLFIRI And Cetuximab	Chemotherapy and EGFR inhibitor	FDA / NCCN / ESMO approved	patient's tumor type	Potential Lack
Associated Biomarker: MSI: Stable / Tumor Mutational Burden: Low				
Pembrolizumab	PD-1 inhibitor	FDA / NCCN / ESMO / EMA approved	patient's tumor type	Potential Lack
Associated Biomarker: NRAS: WT / KRAS: WT / HER2: Negative expression				
Tucatinib And Trastuzumab	HER2 inhibitors	FDA / NCCN / ESMO / EMA approved	patient's tumor type	Potential Lack
Associated Biomarker: Tumor Mutational Burden: Low				
Atezolizumab And Mercaptopurine And Tioguanine		In Development	other tumor types	Potential
Associated Biomarker: PIK3CA: p.(E542K)				
Paxalisib	PIK3CA inhibitors	In Development	other tumor types	Potential
STX-478	PIK3CA inhibitors	In Development	other tumor types	Potential
Associated Biomarker: APC: INS / APC: p.(R554*)				
Tegavivint		In Development	other tumor types	Potential
Associated Biomarker: MGMT status: YES				
Temozolomide And Capecitabine	Alkylating agent and Thymidylate synthase inhibitor	In Development	other tumor types	Potential
Temozolomide And Tuvusertib	Alkylating agents and ATR inhibitor	In Development	other tumor types	Potential

GENOMIC SIGNATURES

TMB: Low (7.22 Mut/Mb)

We did not observe a high tumor mutational burden (TMB). In patients with high TMB, checkpoint inhibitors (PD-1/PD-L1 blockade) have been associated with clinical benefits across diverse tumors (PMID:28835386). Therefore, treatments based on PD-1/PD-L1 inhibitors would be associated with a lack of clinical benefit for this patient. Nonetheless, this information may need to be combined with other biomarkers like the ones present in the personalized immunogram.

The TMB calculation is performed by the biologists as stated below:
TMB is defined as the number of mutations per megabase (Mb).

First, the number of covered bases during the sequencing of the patient's DNA is calculated. On average, 2Mb is sequenced but, this number may slightly vary in each run. Hence, this calculation is done for every patient.

Then, the number of mutations is assessed considering only the SNVs that are VUS (>10%) and excluding all pathogenic/likely pathogenic variants, specific germline mutations (based on gnomad), synonymous mutations, polymorphisms (based on gnomad), low coverage (80X) are excluded.

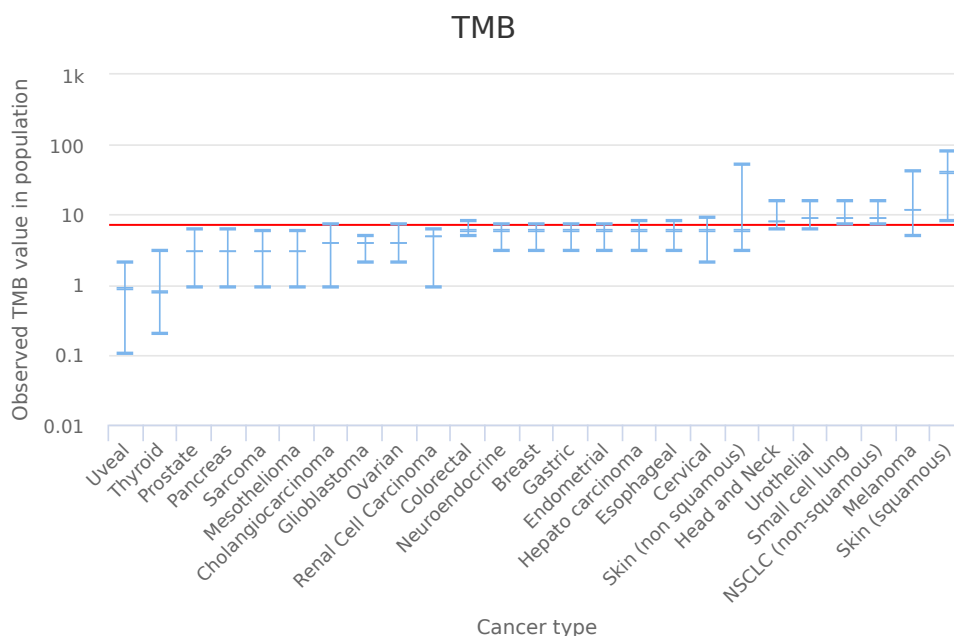
The TMB obtained is classified as the following (PMID:28835386):

High: ≥ 10 mut/Mb

Low: <10 mut/Mb

Remark 1: Our TMB calculation has been benchmarked against the [Sample Seracare Tumor Mutation Load Assay](#), obtaining similar result:

Remark 2: For the moment, the cut-offs used are the same independently of the cancer type; however, we are working on a cancer type-specific TMB determination, as the number of mutations varies greatly across tumor types, and different cut-offs may be needed.



MSI: Stable (5.82%)

We did not observe a high level of microsatellite instability (MSI). MSI-High has been linked to increased sensitivity to immune checkpoint inhibitor drugs (PD-1/PD-L1 inhibitors) (PMID:28877075). Therefore, PD-1/PD-L1 inhibitors would be associated with a lack of clinical benefit for this patient. Nonetheless, this information may need to be combined with other biomarkers like the ones present in the personalized immunogram.

Rmk: dMMR negatively affects the response of CRCs to chemotherapeutics such as pyrimidine analogues, oxaliplatin, cisplatin, temozolomide and procarbazine. Moreover, fluorouracil-based adjuvant chemotherapy seems to improve patient outcome, in particular those with colon cancer with microsatellite-stable or MSI-Low tumours but not those with tumours exhibiting MSI-H (PMID:12867608; PMID:20627535; PMID:20498393; PMID:25474278). Nonetheless, the approved treatments for CRC involve several chemotherapy combinations, and the ESMO 2018 guidelines advice not to base the choice of the chemotherapy combination on the MSI status. Therefore, MSI-H should not be considered as a marker related to lack of clinical benefit for the approved chemotherapies in colorectal cancer.

Microsatellite instability (MSI) is a hypermutable phenotype caused by the loss of DNA mismatch repair (MMR) activity (PMID:20420947), which is associated with inactivation, loss or epigenetic silencing of MMR genes (MSH2, MLH1, MSH6 and PMS2).

METHOD

We rely on an automated process for MSI testing and prediction of MSI state via a machine learning process driven from

microsatellite region mappings for specific loci in the genome.

DATA PREPROCESSING

After an initial read mapping against the human reference genome, an alignment processing using BWA and a duplicate reads removing using Picard, a fully local indel realignment was then performed using ABRA (Assembly Based ReAligner) [<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu376>]. Indel calling was performed through a home made process to find complex alterations using pysam library. Indel detection is performed only for markers with a minimum coverage of 80. Therefore, microsatellite loci covered by a read depth below 80 were not considered and instead were reported as failed markers.

MSI-Detecting

For each marker passing the coverage QC check, read counts for each indel of a unique length were quantified. Thus the number of alleles observed and their size is calculated for each marker and compared to a population of normal controls. Loci were considered unstable if the observed number of repeats was statistically different from that observed in the control population. MSI status was determined by the fraction of unstable microsatellite loci. Microsatellite instability for at least 40% of the analyzed markers is interpreted as MSI-High.

Baseline construction

We first calculated descriptive statistics about the number and size of unique alleles observed at each locus across an independent population of MSI-negative control samples to establish baseline reference values. Assuming that the distribution and variance of alleles within the population is unknown. We perform an estimation by a confidence interval. The unique alleles observed in the population are thus framed by a two-sided confidence interval with an error rate of 5% (i.e. 2.5% on each side). Thus for an analyzed sample, if the number of unique alleles is outside the calculated confidence intervals, it is considered statistically different from what is normally expected in a population and the loci is considered as unstable.

USUAL MARKERS FOR MSI

Here follows a list of the usual markers used for detecting MSI in the cancer and their status. These markers are located in specific regions of the genome and are known to be prone to MSI.

Marker	Status
BAT-25	Stable
BAT-26	Failed
D2S123	Stable
NR-21	Failed
NR-27	Failed

HRD: Failed

Unfortunately, the quality of the sequencing data **did not allow us to assess the BRCA1/2 status nor to calculate a genomic scar** with precision for this patient.

Therefore, **we can not make any conclusion** on the homologous recombination proficiency nor deficiency for this patient.

Module to detect Loss of Heterozygosity events (LOH) and to predict homologous recombination deficiency (HRD).

The **HRD test** is a combination of the analysis of the BRCA1/2 status and the genomic scar (GS).

The module is based on the analysis of highly polymorphic SNPs from dbSNP with MAF>0.3. These selected SNPs are distributed along the genome and on telomeric regions. LOH is computed on targeted genes and HRD score is computed on 3 ways:

a global score called genomic scar (GS) on all the targets:

- a score only on the Allelic Disparity on Telomere (ADT)
- a score on all the regions except the telomeric ones (LOH)
- a score of large-scale Rearrangements (LR)

GS is considered as positive if >37

Rmk: The genomic HRD test should be interpreted with caution and take into consideration with other information and data available. The HRD test is relevant for tumor types for which defective DNA repair is well documented (e.g. breast, ovarian, pancreatic and prostate cancer) since its significance with other cancer remains unknown and under investigation through clinical trials. Caution should also be used when interpreting score associated with poor quality or low tumoral content (<20%) sample since this may cause bias.

ADDITIONAL BIOMARKERS

CD8: Positive (20.0%)

We showed by IHC analysis a positive expression of CD8, indicating the presence of CD8+ T cells around the tumor. Since the formation of the complex between PD-1 (on the surface of T cells) and PD-L1 (on the surface of tumor cells) transmits an inhibitory signal to CD8+ T cells, treatments based on PD-1/PD-L1 inhibitors would be associated with potential clinical benefit for this patient. Nonetheless, this marker may not be enough by its own and it may need to be combined with other biomarkers like the ones present in the immunogram.

The CD8 co-receptor is expressed on the surface of cytotoxic T cells (also called CD8+ T cells or CTLs). CD8 has been shown to be involved in CTL co-activation by increasing antigen sensitivity and stabilising the interaction between TCR (on T cells) and peptide-MHC class I (pMHC1; on target cell). In order to carry out these functions, the CD8 co-receptor binds to a largely invariant region of MHC1 that is spatially distinct from the TCR binding platform, allowing the potential for tripartite (TCR-pMHC1-CD8) complex formation.

Scoring criteria

CD8+ infiltration is scored semi-quantitatively. Ideally, 8-10 representative tumor fields are assessed when possible. We avoid counting areas with necrosis to minimize false or non-specific reactions. The 0-1-2-3 score represents average infiltration into the pathologist selection.

To provide a more quantitative assessment of these four levels of infiltration, we determine the approximate numbers of CD8+ cells per mm², which correspond to the 0-3 scores.

(Although they vary between microscopes, a typical high-powered field (10x ocular and 40x objective) is 0.15 mm², meaning that there are ~7 high power fields (HPF) per mm²)

Lymphocyte CD8+ infiltration is considered as positive for score of 2 or greater.

Scoring:

0 (absent/negative) = 0-14 Lymphocytes CD8+/HPF

1 (low/negative) = 15-39 Lymphocytes CD8+/HPF

2 (moderate/positive) = 40-69 Lymphocytes CD8+/HPF

3 (high/positive) ≥ 70 Lymphocytes CD8+/HPF

ERCC1: Low (5.0%)

We showed by IHC analysis a low expression of ERCC1. Therefore, chemotherapy based on platinum would be associated with potential clinical benefit for this patient (PMID:24520224; PMID:23481186).

Rmk: Cisplatin and carboplatin are not used in colorectal cancer.

Rmk: The **combined low expression of ERCC1 and TS** has been reported to be predictive of positive response in patients treated with FOLFOX (PMID:26083491).

Rmk: CRC with **wild-type KRAS and ERCC1 overexpression** might be associated with oxaliplatin resistance (PMID:33468383).

ERCC1 protein functions in the nucleotide excision repair pathway, and is required for the repair of DNA lesions such as those induced by UV light or formed by electrophilic compounds including cisplatin. The encoded protein forms a heterodimer with the XPF endonuclease (also known as ERCC4), and the heterodimeric endonuclease catalyzes the 5' incision in the process of excising the DNA lesion. The heterodimeric endonuclease is also involved in recombinational DNA repair and in the repair

of inter-strand crosslinks (NCBI).

Scoring Criteria

The nuclear staining intensity was graded on a scale of 0 to 3 (endothelial cells in tonsil control tissue used as a reference; intensity assigned of 2).

The percentage of immunoreactive cells was scored as follows: 0%: 0; 1–9%: 0.1; 10–49%: 0.5; ≥ 50%: 1

The H-score (0–3) = Percentage of immunoreactive cells x Nuclear staining intensity

H-score >1: high expression

Fusion panel: NO

We didn't observe any translocation nor splicing variants in this RNAseq panel. Therefore treatment targeting any of these protein associated with a positive fusion/splicing variant will be associated with a potential lack of clinical benefit for this patient.

This analysis applies to the identification of somatic mutations with the OncoDEEP V7 RNA panel. The panel is composed of probes targeting 22 genes for fusion analysis and unusual splicing events (ALK, ROS1, RET, FGFR1, FGFR2, FGFR3, NTRK1, NTRK2, NTRK3, BRAF, NRG1, BRCA1, BRCA2, PTEN, AR, EGFR, ERBB2, MET, PALB2, RB1, TMPRSS2 and EWSR1).

HER2: Negative (0.0%)

We showed by IHC analysis a negative expression of HER2 (1+/0). Therefore, treatments based on HER2 inhibitors would be associated with potential lack of clinical benefit for this patient.

HER2 protein (encoded by the *erbB2* oncogene) is a member of the *erbB* class of receptor tyrosine kinases consisting of four homologous proteins: HER1 (EGFR/*ErbB1*), HER2 (*ErbB2/Neu*), HER3 (*ErbB3*), and HER4 (*ErbB4*). Structurally, the HER family consists of an extracellular growth factor ligand-binding domain, a lipophilic alpha helical transmembrane region, and a catalytically active intracellular tyrosine kinase domain. Members of the HER family, with the exception of HER2, have been shown to exhibit ligand specificity, where ligand binding induces receptor homodimerization or heterodimerization. Receptor dimers allow intracellular autophosphorylation of specific tyrosine residues within the catalytic kinase domain. The activated dimer complex triggers important downstream cell signaling pathways such as MAPK, PI3K/Akt, phospholipase C, and protein kinase C among others. There are no known natural ligands that bind to HER2 specifically. HER2 is known to be a preferred dimerization partner forming potent heterodimers with EGFR and HER3 despite its inability for direct ligand interaction (PMID:25251190).

Scoring criteria

Following ASCO recommendations:

0 = No staining observed, or incomplete membrane staining that is faint or barely perceptible in less than 10% of the cells =>Negative expression

1+ = Incomplete membrane staining that is faint or barely perceptible in more than 10% of the cells =>Negative expression

2+ = Weak to moderate complete membrane staining observed in more than 10% of the cells =>Low expression

3+ = Uniform intense membrane staining of at least 10% of invasive tumor cells =>Positive expression

MGMT status: YES

We observed methylation of the MGMT promoter, which is associated with loss of MGMT protein expression (PMID:24151575). mCRC patients whose tumors expressed low or undetectable levels of MGMT protein had better outcomes following temozolomide treatment than their counterparts (PMID:30579113). Therefore, temozolomide therapy would be associated with potential clinical benefit for this patient.

Rmk: Clinical trials are ongoing to test temozolomide as an inductor of hypermutated patients. The primary hypothesis is that tumors with acquired resistance to temozolomide become hypermutated and are therefore sensitive to immunotherapies.

The MGMT gene (O6-methylguanine-DNA-methyltransferase) encodes a DNA repair protein that counteracts

chemotherapy-induced DNA alkylation and that is therefore a key component of chemoresistance (PMID:24157870). Determination of MGMT promoter methylation status is a relevant factor of the patient molecular profile, as it is associated with loss of protein expression (PMID:24151575) and response to temozolomide (alkylating agent).

MGMT promoter analysis is done via a Qiagen kit. The thescreen MGMT Pyro Kit is an in vitro nucleic acid sequence-based detection test based on Pyrosequencing® technology for quantitative measurements of methylation status in exon 1 of the human MGMT gene in genomic DNA derived from human tissue samples (PMID:26635047).

PD-L1: Low (0.0%)

We showed by IHC analysis a low expression of PD-L1. Since the formation of the complex between PD-1 (on the surface of T cells) and PD-L1 (on the surface of tumor cells) transmits an inhibitory signal to T cells, treatments based on PD-1/PD-L1 inhibitors would be associated with a lack of clinical benefit for this patient. Nonetheless, this marker may not be enough by its own and it may need to be combined with other biomarkers like the ones present in the immunogram.

Programmed death-ligand 1 (PD-L1) is a 40 kDa type 1 transmembrane protein expressed by hematopoietic and non-hematopoietic cells, such as T cells and B cells and various types of tumor cells. Interaction of this ligand with its receptor inhibits T-cell activation and cytokine production. During infection or inflammation of normal tissue, this interaction is important for preventing autoimmunity by maintaining homeostasis of the immune response. In tumor microenvironments, this interaction provides an immune escape for tumor cells through cytotoxic T-cell inactivation.

- Programmed Death Ligand (PD-L1) Clone 22C3 pharmDx™ kit for KEYTRUDA

Scoring Criteria

TPS: Tumor Proportion Score describing the % of viable tumor cells showing complete or membrane staining (≥ +1)

TPS <1%: low expression

TPS ≥ 1%: high expression

TS: Negative (0.0%)

By IHC we showed a negative expression of TS (Thymidylate synthase). A high expression of TS in tumor tissues in cancer patients has been associated with resistance to 5-FU-based chemotherapy (PMID:21205745; PMID:25721610; PMID:7882343). Colorectal cancer cells with high TS expression were demonstrated to be more sensitive to trifluridine/tipiracil compared to 5-FU *in vitro* (PMID:15711180). Therefore treatment based on TS inhibitors like 5-FU would be associated with clinical benefit for the patient.

RMK: The **combined low expression of ERCC1 and TS** has been reported to be predictive of positive response in patients treated with FOLFOX (PMID:26083491).

Thymidylate synthetase (TS) is an enzyme that plays a crucial role in the early stages of DNA biosynthesis (PMID:12084421). It catalyzes the conversion of deoxyuridine monophosphate (dUMP) to deoxythymidine monophosphate (dTMP), a nucleotide used as a monomer in DNA. When TS is inhibited, an imbalance of deoxynucleotides and increased levels of dUTP arise, causing DNA damage.

Scoring Criteria

Positive expression: more than 10% of tumor cells with 1+ cytoplasmic staining

ACTIONABLE VARIANTS DESCRIPTION

Gene	Cat.	Exon	Var. Freq. / Copy Nb	cDNA	AA	Drugs related	
						to gene	to patient
PIK3CA	SNV	10	3.61%	NM_006218.4:c.1624G>A	p.(E542K)	2	12

BIOLOGICAL IMPACT: PATHOGENIC

This variant is located in the helical domain of p110?. It is oncogenic, shows increased lipid kinase activity (PMID:17376864) and promotes cell transformation and growth factor-independent cell survival in vitro (PMID:26627007).

THERAPEUTICAL IMPACT: TIER IIC

This variant may lead to increase activation of the PI3K/Akt/mTOR pathway. Therefore, PI3K, mTOR and dual PI3K/mTOR inhibitors would show potential clinical benefit upon mTOR pathway activation and/or PTEN loss or mutated (PMID:20085938; PMID:11237521; PMID:29137436). Interestingly, the mTOR inhibitors temsirolimus and everolimus have been approved by the FDA for use in various solid tumors. However, because oncogenic PI3K pathway activation is achieved in diverse, potentially redundant ways, the clinical efficacy of PI3K, AKT, and mTOR inhibitors as monotherapies has, so far, been limited, despite demonstrating promising preclinical activity.

The mTOR inhibitor everolimus has been approved by the FDA for use in breast cancer ER+/HER2-. However, a large phase III trial (BOLERO 2) of everolimus plus exemestane combination therapy in ER+/HER2-breast cancer patients revealed that the presence of PIK3CA mutations is not predictive of tumor response to everolimus plus exemestane therapy (<http://meetinglibrary.asco.org/content/111876-132>). Moreover, it has been shown that PIK3CA hotspot domains are not associated with response of metastatic breast cancer to temsirolimus therapy (PMID:22245973).

The rationale for the use of PI3K inhibitors in hormone receptor positive breast cancer came from preclinical evidence with ER+/PI3K-mutant breast cancer cells and xenografts suggesting that simultaneous inhibition of PI3K and ER exerts synergistic antitumor activity (PMID:19366795; PMID:20453058). But the results from the BELLE2 study indicated that although patients with PIK3CA variant had OS results in favour of buparlisib plus fulvestrant versus placebo plus fulvestrant, there was no statistical significance (PMID:30241001).

PIK3CA and mutations occur in 20–30% of human colorectal cancers (PMID:15016963; PMID:12094235; PMID:22357840). It seems that PIK3CA exon 9 mutations are associated with weak resistance to anti-EGFR (PMID:28002810; PMID:28002810).

The PI3K pathway interacts with other key signaling pathways in colorectal cancer. Therefore, survival benefits associated with inhibition of other pathways may differ by PIK3CA variant status. Aspirin, a nonsteroidal anti-inflammatory drug inhibits PTGS1 and PTGS2 and aspirin use has shown to reduce colorectal cancer incidence and mortality [Drew DA, et al. Nat Rev Cancer. 2016;16:173–186]. Postdiagnosis aspirin use is associated with long patient survival specifically in PIK3CA-mutant cancer (PMID:23094721). In this context, aspirin may suppress colorectal cancer progression through inhibition of PTGS2 and prostaglandin E2 synthesis, which are enhanced by activated PI3K signaling.

Note: OncoKB database and latest clinical evidences are taken into consideration for the classification of our treatment level of evidence.

INCIDENTAL FINDING

This variant might be associated with Keratosis, seborrheic (KERSEB) [MIM:182000] and Congenital lipomatous overgrowth, vascular malformations, and epidermal nevi (CLOVE) [MIM:612918] syndromas.

Gene	Cat.	Exon	Var. Freq. / Copy Nb	cDNA	AA	Drugs related	
						to gene	to patient
APC	INS	16	22.71%	NM_000038.6:c.4083_4084insACC	p.(S1362Tfs*14)		1

BIOLOGICAL IMPACT: LIKELY PATHOGENIC

This variant induces a premature stop codon and the production of a truncated protein leading to a probable loss of function of the protein. Since APC acts as tumor suppressor by restraining cytoplasmic cellular levels of Beta-catenin, the central activator of transcription in the Wnt signaling pathway (PMID:21859464; PMID:19928349; PMID:21937258), this premature stop codon could lead to the activation of the WNT pathway. Indeed, the loss of APC prevents phosphorylation of beta-catenin by GSK3 and mimics constitutive ligand activation, resulting in persistent accumulation and nuclear translocation of beta-catenin along with the continual expression of downstream target genes increasing tumorigenesis.

Moreover, mouse APC Min/+ model shows higher number of polyps as well as a higher vascularized tumor at earlier stages indicating a relationship between the loss of function of APC and the increase of angiogenesis (PMID:24885408).

Other activities of APC include mediating cell migration, regulation of apical-basal polarity, microtubule networks, cell cycle, DNA replication and repair, and apoptosis.

THERAPEUTICAL IMPACT: TIER IIC

Mutations in the APC gene are common in colorectal cancer (CRC), and more than 90% of those mutations generate

stable truncated gene products. Short-form APC mutations predict the sensitivity of CRC cells to tankyrase inhibitors (PMID:28179481). Moreover, TASIN-1 (truncated APC selective inhibitor-1), a small molecule, specifically kills cells with APC truncations but spares normal and cancer cells with wild-type APC.

Importantly, APC status could impact treatment of tumor cells with chemotherapeutic alkylating agents (DNA alkylating agent methylmethane sulfonate), meaning that cells with APC mutations may be more resistant than those with wild-type APC.

Finally, loss of function of APC might increase the angiogenesis and activate the WNT pathway. Therefore, inhibitors of those processes might be useful. However, we do not have enough clinical evidence to make any conclusion. Nevertheless, some clinical trials are currently trial.

INCIDENTAL FINDING

More than 700 mutations in the APC gene have been identified in families with the classic and attenuated types of familial adenomatous polyposis (FAP). Most of these mutations lead to the production of an abnormally short, nonfunctional version of the APC protein. This short protein cannot suppress the cellular overgrowth that leads to the formation of abnormal growths (polyps) in the colon, which can become cancerous. The most common variant in FAP is a deletion of five nucleotides in the APC gene, which changes the sequence of the amino acids in the resulting APC protein. Moreover, the shortened protein might allow the formation of desmoid tumors (<http://omim.org/entry/611731>).

Gene	Cat.	Exon	Var. Freq. / Copy Nb	cDNA	AA	Drugs related	
						to gene	to patient
APC	SNV	14	23.50%	NM_000038.6:c.1660C>T	p.(R554*)		1

BIOLOGICAL IMPACT: LIKELY PATHOGENIC

This variant induces a premature stop codon and the production of a truncated protein leading to a probable loss of function of the protein. Since APC acts as tumor suppressor by restraining cytoplasmic cellular levels of Beta-catenin, the central activator of transcription in the Wnt signaling pathway (PMID:21859464; PMID:19928349; PMID:21937258), this premature stop codon could lead to the activation of the WNT pathway. Indeed, the loss of APC prevents phosphorylation of beta-catenin by GSK3 and mimics constitutive ligand activation, resulting in persistent accumulation and nuclear translocation of beta-catenin along with the continual expression of downstream target genes increasing tumorigenesis.

Moreover, mouse APC Min/+ model shows higher number of polyps as well as a higher vascularized tumor at earlier stages indicating a relationship between the loss of function of APC and the increase of angiogenesis (PMID:24885408).

Other activities of APC include mediating cell migration, regulation of apical-basal polarity, microtubule networks, cell cycle, DNA replication and repair, and apoptosis.

THERAPEUTICAL IMPACT: TIER IIC

Mutations in the APC gene are common in colorectal cancer (CRC), and more than 90% of those mutations generate stable truncated gene products. Short-form APC mutations predict the sensitivity of CRC cells to tankyrase inhibitors (PMID:28179481). Moreover, TASIN-1 (truncated APC selective inhibitor-1), a small molecule, specifically kills cells with APC truncations but spares normal and cancer cells with wild-type APC.

Importantly, APC status could impact treatment of tumor cells with chemotherapeutic alkylating agents (DNA alkylating agent methylmethane sulfonate), meaning that cells with APC mutations may be more resistant than those with wild-type APC.

Finally, loss of function of APC might increase the angiogenesis and activate the WNT pathway. Therefore, inhibitors of those processes might be useful. However, we do not have enough clinical evidence to make any conclusion. Nevertheless, some clinical trials are currently trial.

INCIDENTAL FINDING

More than 700 mutations in the APC gene have been identified in families with the classic and attenuated types of familial adenomatous polyposis (FAP). Most of these mutations lead to the production of an abnormally short, nonfunctional version of the APC protein. This short protein cannot suppress the cellular overgrowth that leads to the formation of abnormal growths (polyps) in the colon, which can become cancerous. The most common variant in FAP is a deletion of five nucleotides in the APC gene, which changes the sequence of the amino acids in the resulting APC protein. Moreover, the shortened protein might allow the formation of desmoid tumors (<http://omim.org/entry/611731>).

DETECTED VARIANTS LIST

Gene	Cat.	Var. Freq. / Copy Nb	cDNA	AA	Biological Impact	Therapeutical Impact	Incidental Findings	Depth
PIK3CA	SNV	3.61%	NM_006218.4:c.1624G>A	p.(E542K)	Pathogenic	Tier IIC	YES	277
APC	SNV	23.50%	NM_000038.6:c.1660C>T	p.(R554*)	Likely Pathogenic	Tier IIC	YES	234
APC	INS	22.71%	NM_000038.6:c.4083_4084insACCC	p.(S1362Tfs*14)	Likely Pathogenic	Tier IIC	YES	339
BRAF	WT	0.00	-	-	Wild type	Tier IA	NO	-
KRAS	WT	0.00	-	-	Wild type	Tier IA	NO	-
NRAS	WT	0.00	-	-	Wild type	Tier IA	NO	-
ANKRD11	SNV	54.57%	NM_013275.6:c.5736C>A	p.(D1912E)	VUS	Tier III	NO	1314
CARD11	SNV	19.61%	NM_032415.7:c.89G>A	p.(R30Q)	VUS	Tier III	NO	918
CYP2D6	INS	8.56%	NM_000106.6:c.632_638delinsGAGGGATC	p.(E211Gfs*43)	VUS	Tier III	NO	759
GRIN2A	SNV	21.15%	NM_000833.5:c.3622C>T	p.(R1208W)	VUS	Tier III	NO	832
JAK3	SNV	19.15%	NM_000215.4:c.793C>T	p.(H265Y)	VUS	Tier III	NO	914
KDM6A	SNV	100.00%	NM_021140.4:c.2177C>A	p.(T726K)	VUS	Tier III	NO	334
KEL	SNV	45.87%	NM_000420.3:c.1268C>T	p.(A423V)	VUS	Tier III	NO	1369
KEL	SNV	44.06%	NM_000420.3:c.1334C>T	p.(A445V)	VUS	Tier III	NO	926
KMT2C	INS	32.04%	NM_170606.3:c.2447dup	p.(Y816*)	VUS	Tier III	NO	927
MAP3K1	SNV	47.24%	NM_005921.2:c.3293G>A	p.(S1098N)	VUS	Tier III	NO	326
MYC	SNV	63.86%	NM_002467.6:c.906C>A	p.(H302Q)	VUS	Tier III	NO	3973
NOTCH1	SNV	13.61%	NM_017617.5:c.575G>A	p.(G192E)	VUS	Tier III	NO	1367
PAX5	SNV	17.00%	NM_016734.3:c.117G>C	p.(Q39H)	VUS	Tier III	NO	859
SH2B3	SNV	35.73%	NM_005475.3:c.1561C>T	p.(P521S)	VUS	Tier III	NO	1447
STAG1	SNV	39.01%	NM_005862.3:c.403A>G	p.(R135G)	VUS	Tier III	NO	182
TCF7L2	SNV	40.85%	NM_0013679.43.1:c.1462C>T	p.(R488C)	VUS	Tier III	NO	306

(Continues on next page)

(Continued from previous page)

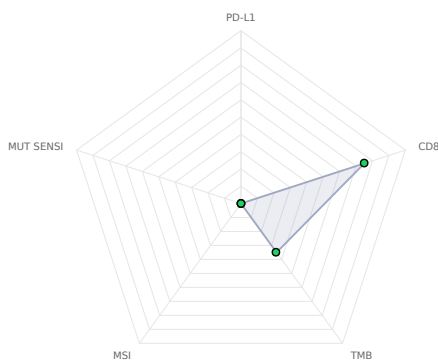
Gene	Cat.	Var. Freq. / Copy Nb	cDNA	AA	Biological Impact	Therapeutical Impact	Incidental Findings	Depth
TERT	SNV	99.85%	NM_198253. 3:c.-79-889T >C	-	VUS	Tier III	NO	1297
TERT	SNV	11.20%	NM_198253. 3:c.-79-2010 T>C	-	VUS	Tier III	NO	250
TERT	SNV	45.24%	NM_198253. 3:c.-79-1303 T>C	-	VUS	Tier III	NO	431
TERT	SNV	16.12%	NM_198253. 3:c.-79-2015 G>A	-	VUS	Tier III	NO	273
TERT	SNV	27.38%	NM_198253. 3:c.-79-1824 T>C	-	VUS	Tier III	NO	168
TERT	SNV	17.21%	NM_198253. 3:c.-79-2629 A>G	-	VUS	Tier III	NO	122
TERT	SNV	22.46%	NM_198253. 3:c.-79-1831 T>G	-	VUS	Tier III	NO	138
TERT	SNV	50.80%	NM_198253. 3:c.-79-499C >A	-	VUS	Tier III	NO	1370
TERT	SNV	12.93%	NM_198253. 3:c.-79-2022 T>C	-	VUS	Tier III	NO	294
TERT	SNV	12.06%	NM_198253. 3:c.-79-2002 A>G	-	VUS	Tier III	NO	199
TERT	SNV	10.31%	NM_198253. 3:c.-79-2812 T>C	-	VUS	Tier III	NO	223
TERT	SNV	6.76%	NM_198253. 3:c.-79-2027 T>C	-	VUS	Tier III	NO	355
TERT	SNV	100.00%	NM_198253. 3:c.-79-2075 A>G	-	VUS	Tier III	NO	516
TERT	SNV	8.86%	NM_198253. 3:c.-79-2818 T>C	-	VUS	Tier III	NO	271
TP53BP1	SNV	25.85%	NM_005657. 4:c.1234G>A	p.(G412S)	VUS	Tier III	NO	561
TP53BP1	SNV	99.25%	NM_005657. 4:c.3406A>C	p.(K1136Q)	VUS	Tier III	NO	402

(Continues on next page)

(Continued from previous page)

Gene	Cat.	Var. Freq. / Copy Nb	cDNA	AA	Biological Impact	Therapeutical Impact	Incidental Findings	Depth
TYRO3	SNV	5.49%	NM_006293.4:c.1876-2_1876-1delinsTT	-	VUS	Tier III	NO	437
TYRO3	SNV	13.32%	NM_006293.4:c.751G>A	p.(G251S)	VUS	Tier III	NO	976
TYRO3	SNV	6.79%	NM_006293.4:c.1252+2_1252+3delinsCC	-	VUS	Tier III	NO	486
USP8	SNV	8.24%	NM_005154.5:c.2353A>G	p.(T785A)	VUS	Tier III	NO	364

IMMUNOGRAM



The immunogram shows a low potential response to immunotherapy. Despite the positive infiltration of CD8 + T cells in the tumor, we showed also a low expression of PD-L1 (0% membranous staining). Moreover, we didn't observe microsatellite instability (MSI), tumor mutational burden (TMB) or sensibility/resistance mutation. Pre-existing CD8 T-cells distinctly located at the invasive tumour margin are associated with expression of the PD-1/PD-L1 immune inhibitory axis and may predict response to therapy (PMID:25428505). Further, it was shown that during a therapy, an increase in CD8+ cells in serial tumor samples was associated with better response. However, testing CD8+ T cell infiltration alone might not have a big predictive value because CD8 expression is affected by tumor heterogeneity and temporal variability. Therefore, based on the positive CD8 lymphocyte infiltration, **we can't completely exclude a potential benefit for treatment based on immunotherapy.**

CLINICAL FORM

Date informed consent given/signed	Mar, 29 2025
Initial diagnosis date	Jul, 24 2024
Clinical diagnosis	Low-differentiated adenocarcinoma of sigmoid colon; Low-differentiated adenocarcinoma rectum.
Primary tumour site	colon
Known metastatic sites	Yes
Date of biopsy/surgery or blood withdrawal	Jul, 24 2024
Sample type(s)	Solid Tumor
Histological diagnosis	Low-differentiated adenocarcinoma of sigmoid colon; Low-differentiated adenocarcinoma rectum.
TNM known ?	Yes
Biomarkers tested	No
Is the tissue sample sent for molecular diagnostics the one used for the diagnosis (detailed above) ?	Yes

(Continues on next page)

(Continued from previous page)

Sample site	Primary tumour
Does patient have comorbidities ?	-
Has the patient previously undergone organ cancer surgery?	-
Is patient currently receiving a cancer therapy ?	Yes
Known previous cancer therapies	No
Does the patient have a previous history of cancer?	-
ECOG	-
Smoking status	Unknown
Alcohol consumption	Unknown
Comments	OncoDEEP Premium. Basic sample - № 123456; Additional sample -№ 123456 A1.

PROCESS

IPG is the biggest Belgian anatomopathology laboratory and is among the biggest laboratories of its kind in Europe with headquarters in Gosselies and a large section in Brussels. It has a total workspace of 285 people, among whom medical specialists including 20 pathologists and 8 geneticists, 10 clinical biologists and highly skilled technicians. It was one of the first companies to implement a high degree of integration of anatomic pathology data and molecular genetics. The ability to integrate pathological data and molecular biology is not common and is an asset for the products provided by OncoDNA.

All the technical processes including the pathology QC check are performed by the Institute of Pathology and Genetics (IPG) which is ISO15189 accredited (ISO15189:2012 Medical Laboratories – Requirements for Quality and Competence) since the 6th October 2009 by BELAC, an ILAC MRA signatory. The quality of raw data is validated by OncoDNA before any further interpretation.

OncoDNA is compliant with the Guideline for Good Practices of the International Conference on Harmonization (ICH GCP E6 R2) and certified ISO/IEC 27001:2013 (Requirement for Information Security Management Systems) since the 23rd November 2018 by the European Certification Accredity Body ICTS – International Certification Trust Services.

REPORT

Please keep in mind that this summary is not the complete report and is to be printed only for archiving purposes. For more information, please see the dynamic version of the report displayed on oncoshare.oncokdm.com. This report has been generated and validated on **April, 23 2025**

DISCLAIMER

Although reports can be kept in the patient’s medical file, the reports do not constitute and are not intended to replace independent medical judgment and advice. The information and drug recommendations contained in the reports are intended solely for the general information of the medical doctor. Reports are not to be used “as is” for treatment purposes. The information presented in the reports is not intended to replace professional medical care. The information contained in the reports is neither intended to dictate what constitutes reasonable, appropriate or best care for any given health issue, nor is it intended to be used as a substitute for the independent judgment of the medical doctor for any given health issue. The reports merely constitute one element among all applicable information concerning the patient’s condition (such as patient and family history, physical examinations, information from other diagnostic tests, and patient preferences) to assist medical doctors in the determination or adaptation of the patients’ medical treatment. Treatment decisions remain the exclusive responsibility of the medical doctor. The medical doctor solely and exclusively decides whether (and to what extent) to take into consideration the reports with respect to his/her patient’s treatment.

Consequently, ONCODNA (including any of its subsidiaries or affiliates) assumes no liability whatsoever as to the possible consequences of the decision of the medical doctor to follow or not the (content of) the reports. By accepting the terms and conditions of this service and – where applicable –by signing or otherwise consenting to the ICF, the client, the medical doctor and patient expressly declare and acknowledge having understood and agreed to ONCODNA’s exclusion of liability.

As science changes rapidly, our proprietary database is continuously updated. Please note that depending on updates, minor discrepancies may occur and especially when, for various reasons, the reports are republished.