

Συχνότητα μεταλλάξεων του KRAS σε πληθυσμό ασθενών με μεταστατικό κολορθικό καρκίνο, κατοίκων του Νομού Κερκύρας

Νίκος Καποδίστριας
Άννα Μουζακίτη

Παθολόγοι - Ογκολόγοι

Λέξεις Κλειδιά:

Συχνότητα KRAS, Επιδερμικός υποδοχέας αυξητικού παράγοντα, Μεταστατικός καρκίνος του παχέος εντέρου, έλεγχος κατάστασης KRAS, Βιοδείκτες, Μόνιμοι κάτοικοι .

Περίληψη:

Εισαγωγή: Οι μεταλλάξεις του KRAS στην παθογένεση του κολορθικού καρκίνου έχουν πρόσφατα ερευνηθεί παγκοσμίως και αποτελούν φαινόμενο διαφόρων περιβαλλοντικών παραγόντων(διατροφικοί, χημικοί, φυσικοί κ.τ.λ).

Σκοπός: Σύγκριση της συχνότητας των μεταλλάξεων του KRAS σε αριθμό ασθενών μόνιμων κατοίκων σε σχέση με τα αναφερόμενα στη διεθνή βιβλιογραφία .

Μέθοδος: Έγινε έλεγχος των μεταλλάξεων του KRAS σε 41 δείγματα ασθενών με μεταστατικό κολορθικό καρκίνο, καθώς επίσης και συσχέτιση των μεταλλάξεων με την εντόπιση της πρωτοπαθούς εστίας του εντέρου.

Αποτελέσματα: Η συχνότητα των KRAS μεταλλάξεων ανευρέθει σε ποσοστό 49% (20 από τους 41 ασθενείς εμφανίζουν μετάλλαξη στο εξόνιο 2 η 3 του KRAS). Σε σύγκριση με τα αναφερόμενα στη διεθνή βιβλιογραφία , αλλά και με ποσοστά επιδημιολογικών δεδομένων άλλων περιοχών της Μεσογείου το ποσοστό είναι πολύ υψηλότερο.

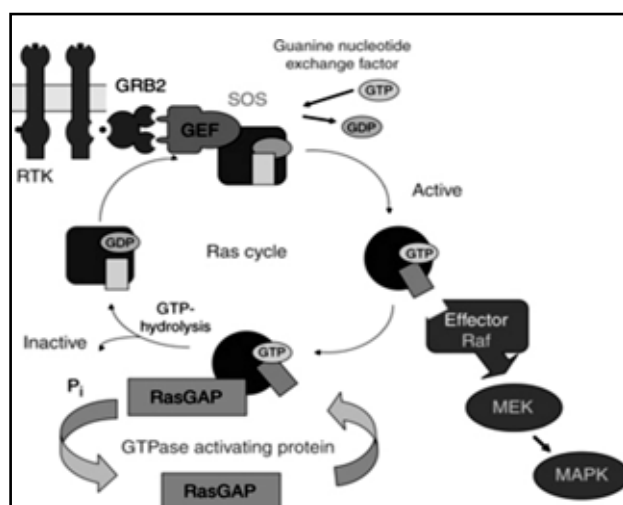
Το δείγμα των ασθενών αναμένεται να εμπλουτίζεται συνεχώς με την καταγραφή όλων των εμφανιζόμενων νέων περιστατικών. Σκοπός η χαρτογράφηση των μεταλλάξεων και της συχνότητά τους, σε όλα τα διαμερίσματα του νομού .

Συμπέρασμα: Το υψηλό ποσοστό των KRAS μεταλλάξεων στο συγκεκριμένο δείγμα ασθενών κατοίκων του νομού Κερκύρας αναμένεται να επιβεβαιωθεί με νεότερα δεδομένα.

Εισαγωγή

Το KRAS

Η GTPάση KRAS επίσης γνωστό ως V- Ki- RAS2 Kirsten ομόλογο ογκογονίδιο του ιού του σαρκώματος αρουαίου ή KRAS, είναι μία πρωτεΐνη που στον άνθρωπο κωδικοποιείται από το γονίδιο KRAS^{1,2}. Η πρωτεΐνης του φυσιολογικού γονιδίου KRAS εκτελεί μία ουσιώδη λειτουργία στην κανονική σηματοδότηση των ιστών και η μετάλλαξη του γονιδίου KRAS αποτελεί ουσιαστικό βήμα για την ανάπτυξη πολλών καρκίνων³. Όπως και, άλλα μέλη της οικογένειας Ras (H-Ras , N- Ras), η πρωτεΐνη KRAS είναι μια GTPάση και είναι ένας πρώιμος παράγοντας σε πολλά μονοπάτια μεταγωγής σήματος. Το KRAS είναι συνήθως δεμένο με κυτταρικές μεμβράνες, λόγω της παρουσίας μιας ομάδας ισοπροπενυλ επί C - άκρο του.



Εικόνα 1.

Το KRAS δεσμεύεται με GTP και διασπά το τερματικό φωσφορικό του νουκλεοτιδίου μετατρέποντάς το σε GDP.

Λειτουργία

Το KRAS ενεργεί ως μοριακός διακόπτης on / off. Μόλις ενεργοποιηθεί, στρατολογεί και ενεργοποιεί πρωτεΐνες, που είναι απαραίτητες για τη διάδοση του αυξητικού παράγοντα και του σήματος πολλών « υποδοχέων », όπως c- Raf και PI 3 - κινάση. Το KRAS δεσμεύεται με GTP στην ενεργή κατάσταση και διαθέτει μία ενδογενή ενζυμική δραστηριότητα που διασπά το τερματικό φωσφορικό του νουκλεοτιδίου, μετατρέποντάς το σε GDP [είκονα 1]. Με την μετατροπή του GTP σε GDP το KRAS είναι απενεργοποιημένο. Ο ρυθμός μετατροπής είναι συνήθως αργός, αλλά μπορεί να επιταχυνθεί δραματικά με μία βοηθητική πρωτεΐνη της τάξης της GTPάσης, πρωτεΐνη ενεργοποίησης

(GAP), για παράδειγμα RasGAP⁴. Με τη σειρά του το KRAS μπορεί να συνδεθεί με τις πρωτεΐνες της τάξης του νουκλεοτιδίου της γουανίνης Exchange Factor (GEF), για παράδειγμα SOS1, η οποία αναγκάζει την απελευθέρωση

του δεσμευμένου νουκλεοτιδίου. Στη συνέχεια, το k-ras δεσμεύει GTP από το κυτταρόπλασμα και το GEF απελευθερώνεται από ras-GTP.

Άλλα μέλη της οικογένειας Ras περιλαμβάνουν: HRAS και NRAS. Αυτές οι πρωτεΐνες ρυθμίζονται κατά τον ίδιο τρόπο και φαίνεται να διαφέρουν σε μεγάλο βαθμό ανάλογα με τη θέση δράσης τους εντός του κυττάρου.

Κλινική σημασία

Στο KRAS μία απλή αντικατάσταση αμινοξέος, και συγκεκριμένα μία απλή υποκατάσταση νουκλεοτιδίου, είναι υπεύθυνη για μια μετάλλαξη ενεργοποίησης. Η πρωτεΐνη μετασχηματισμού, που ακολουθεί, εμπλέκεται σε διάφορες κακοήθειες, συμπεριλαμβανομένου του αδενοκαρκινώματος πνεύμονα, βλεννώδες αδένωμα, πορογενές καρκίνωμα του παγκρέατος και ορθοκολικό καρκίνωμα⁵.

Οι σωματικές μεταλλάξεις KRAS έχουν βρεθεί σε υψηλά ποσοστά σε λευχαιμίες, καρκίνο του παχέος εντέρου⁶, παγκρεατικό καρκίνο⁷ και τον καρκίνο του πνεύμονα⁸.

Στον καρκίνο του παχέος εντέρου

KRAS μεταλλάξεις ανιχνεύονται περίπου στο 35-40 % του συνόλου των ορθοκολικού καρκινώματος πρώιμου σταδίου (CRC), αλλά και μεταστατικού,¹⁰ γεγονός που υποδηλώνει ότι η KRAS πρωτεΐνες είναι σημαντικοί παράγοντες στην ανάπτυξη των όγκων. Περισσότερες από 54 μεταλλάξεις του KRAS επηρεάζουν τα κωδικόνια 12 και 13 (80 % και 20 % , αντιστοίχως)¹¹, και η G12D είναι η πιο κοινή αλλαγή αμινοξέος που προκύπτει από τέτοιες μεταλλάξεις¹⁰. Σε αντίθεση, πολύ χαμηλότερα ποσοστά μετάλλαξης έχουν βρεθεί σε N -ras (1-3 % των δειγμάτων που αναλύθηκαν CRC)¹², ενώ μη ενεργοποιητικές μεταλλάξεις έχουν αναφερθεί μέχρι στιγμής για H-ras σε CRC¹³.

Η ανίχνευση των μεταλλαγμένων KRAS σε αμφοτέρα πρώιμα και όψιμα στάδια CRC υποδηλώνει ότι, όπως στον καρκίνο του παγκρέατος, KRAS μεταλλάξεις μπορεί να είναι πρώιμα γεγονότα στην ανάπτυξη του όγκου^{14,15}. Αν και ακόμα αμφιλεγόμενη, έχει προταθεί από την άποψη αυτή ότι, σε μερικά CRCs, οι KRAS μεταλλάξεις μπορεί να συμβούν ως πρώιμα γεγονότα στο σχηματισμό ανώμαλων κρυπτικών εστιών που θα μπορούσε αργότερα να εξελιχθούν σε υπερπλαστικούς πολύποδες και τελικά σε CRC¹⁶. Ωστόσο, σε αντίθεση με παγκρεατικά καρκινώματα, όπου KRAS μεταλλάξεις είναι διαδεδομένες, πολλές άλλες γενετικές αλλοιώσεις, εκτός από KRAS μεταλλάξεις, μπορεί να συμβούν στον CRC, το οποίο θα μπορούσε να είναι υπεύθυνο για την έναρξη και την εξέλιξη του όγκου σε αυτή την περίπτωση¹⁷.

Αρκετές πρόσφατες μελέτες έχουν καταγράψει συσχέτιση μεταξύ μεταλλάξεων του KRAS και κακή πρόγνωση των επιθετικών καρκινωμάτων του παχέος εντέρου¹⁸. Άλλες μελέτες επίσης αναφέρουν ότι το ποσοστό για μετάλλαξη του KRAS ενισχύεται σε ασθενείς με πνευμονικές μεταστάσεις¹⁹ και ότι η παρουσία των μεταλλάξεων

του KRAS σε ασθενείς με κολοορθικό καρκίνο με μετάσταση στο ήπαρ είναι προβλεπτική κακής πρόγνωσης²⁰.

Ανάλυση της κατάστασης μεταλλάξεων των γονιδίων *ras* έχει αποδειχθεί ότι είναι πολύ σημαντική για την επιλογή των θεραπευτικών προσεγγίσεων σε CRC. Έτσι, για τους όγκους με υψηλά επίπεδα έκφρασης του EGFR και WT KRAS, σημαντικό κλινικό όφελος προέρχεται (35% συνολικό ποσοστό ανταπόκρισης) από τη θεραπεία με ειδικά μονοκλωνικά αντισώματα έναντι του EGFR (cetuximab, panitumumab), ενώ μηδενικό όφελος παρατηρείται σε ασθενείς που φέρουν μεταλλαγμένο KRAS²¹. Επιπλέον, στο ελεύθερο νόσου διάστημα ή στη συνολική επιβίωση δείχνει καλύτερα αποτελέσματα σε ασθενείς WT KRAS σε σχέση με εκείνους που φέρουν ογκογόνες μεταλλάξεις. Παρά το γεγονός ότι τα στοιχεία αυτά είναι ελπιδοφόρα για τους ασθενείς με WT KRAS, τα αποτελέσματα εξακολουθούν να είναι φτωχά^{22,23}.

Μεταλλαξιγόνα του KRAS

Οι μεταλλάξεις του KRAS απαντώνται συχνά και πιθανά ανάλογα με την έκθεση σε τοπικά ή επαγγελματικά καρκινογόνα.

Η αλκυλουανίνη, N1-αλκυλαδενίνη, και παράγωγα αθενοκυκλικών ενώσεων (εποξειδία και εποξειδικά χημικά), με ταυτόχρονες μεταλλάξεις του KRAS και p53, έχουν ανιχνευθεί σε ζώα ή / και εργαζόμενους, που εκτίθενται σε αρκετές από αυτές τις χημικές ουσίες. Η ταξινόμηση αυτών στις χημικές καρκινογόνες ουσίες από το IARC και NTP έγιναν με βάση ζωικά και ανθρώπινα στοιχεία και τα αποτελέσματα των μηχανιστικών μελετών. Μείωση της επαγγελματικής και περιβαλλοντικής έκθεσης σε αυτές τις χημικές ουσίες σίγουρα μειώνουν τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου στον άνθρωπο³².

Ο καπνός του τσιγάρου περιέχει πολλαπλές κατηγορίες καρκινογόνων ουσιών, στις οποίες συμπεριλαμβάνονται τα βενζο(α)πυρένια, οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες και οι νιτροζαμίνες. Οι περισσότερες από αυτές τις ενώσεις ασκούν γονιδιοτοξικές επιδράσεις με σχηματισμό προϊόντων προσθήκης DNA και την παραγωγή δραστικών ελευθέρων ριζών οξυγόνου, προκαλώντας μεταλλάξεις σε ζωτικής σημασίας γονίδια, όπως KRAS και p53²⁵.

Η νιτροζαμίνη 4 - (μεθυλονιτροσαμίνη) -1- (3-πυριδυλ)-1-βουτανόνη (NNK), ένα σημαντικό καρκινογόνο, βρέθηκε στα προϊόντα καπνού, και προκαλεί μεταλλάξεις γονιδίου στο KRAS, σε καρκίνο του πνεύμονα²⁷. Η έκθεση σε μονού τοιχώματος νανοσωλήνες άνθρακα (SWCNT) και νανοϊνες άνθρακα (CNF), και όχι έκθεση σε αμίαντο, αύξησε την συχνότητα εμφάνισης της K-ras ογκογονίδιο μετάλλαξης στον πνεύμονα²⁶. Καπνός του τσιγάρου στις γυναίκες διεγείρει το μεταβολισμό του E (2) προς τους γονιδιοτοξικούς μεταβολίτες, 4-OHE (1) και 4-OHE (2), τα οποία αλληλεπιδρούν με το DNA σε γονίδια σχετιζόμενα με καρκίνο, συμπεριλαμβανομένου του

ογκοκατασταλτικού γονιδίου, p53, και του πρωτο-ογκογονιδίου KRAS, δύο γονίδια, που μεταλλάσσονται συχνά σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα²⁸.

Η συχνότητα μετάλλαξης του γονιδίου KRAS είναι στο 25% στον καρκίνο πνεύμονα μη-επαγγελματικής έκθεσης (HLC), ενώ στο 44,4% που σχετίζονται με έκθεση στον αμίαντο HLC³³. Το οξειδίο του αιθυλενίου είναι ένα πολυεστιακό καρκινογόνο σε πειραματόζωα με τρωκτικά και ταξινομείται ως καρκινογόνο για τον άνθρωπο στην Τοξικολογία. Υπάρχει ισχυρή υποψία για την ανάπτυξη μεταλλάξεων του KRAS που προκαλείται από οξειδίο του αιθυλενίου στους πνεύμονες και νεοπλασμάτα της μήτρας. Αυτό υποδηλώνει ότι το οξειδίο του αιθυλενίου στοχεύει συγκεκριμένα το γονίδιο KRAS σε πολλαπλούς ιστούς και ότι το γεγονός αυτό είναι σημαντικό στην πρόκληση ογκογένεσης²⁹.

Σε πειραματικά μοντέλα καρκινογένεσης ο ρόλος της ενεργοποίησης *ras* έχει πλέον μελετηθεί λεπτομερώς: στο δέρμα, θύμο, μαστικό αδένες και ήπαρ. Η ενεργοποίηση των τριών διαφορετικών μελών της οικογένειας *ras* συνδέεται με συγκεκριμένους τύπους όγκων, καρκινογόνους παράγοντες και καρκινογόνα στάδια, γεγονός που υποδηλώνει ότι οι πρωτεΐνες *ras* μπορεί να εμπλέκονται σε διαφορετικές βιολογικές λειτουργίες³¹. Το 1-amino-2,4-dibromoanthraquinone (ADBAQ) είναι μία βαφή ανθρακίνης, και ένα ισχυρό καρκινογόνο σε πειραματόζωα. Σε μία μελέτη διάρκειας 2 ετών με τη διατροφική έκθεση σε 10.000 ή 20.000 ppm ADBAQ, αυξημένη συχνότητα προστομάχου και όγκων του πνεύμονα παρατηρήθηκε στα ποντίκια B6C3F1. Ανευρέθησαν επίσης γενετικές αλλοιώσεις στα πρωτο-ογκογονίδια H-ras και KRAS³⁰.

Επαγγελματική έκθεση σε διαλύτες υδρογονάνθρακα (αλειφατικές, αρωματικές, βενζόλιο, άλλοι οργανικοί διαλύτες) έχει βρεθεί να σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εξωκρινούς καρκίνου του παγκρέατος (EPC), την κακοήθεια με την υψηλότερη επικράτηση των μεταλλάξεων του KRAS³⁴.

Μεταλλάξεις KRAS σε εξωκρινή καρκίνο του παγκρέατος (EPC) είχαν σημαντικά περισσότερες πιθανότητες από ό, τι περιπτώσεις άγριου τύπου να έχουν εκτεθεί σε βαφές και οργανικές χρωστικές ουσίες. Υπήρξε κάποια ένδειξη με ασθενέστερες συσχετίσεις μεταξύ των μεταλλάξεων του KRAS και της επαγγελματικής έκθεσης σε μόλυβδο, PAHs, βενζο [α] πυρένιο, βενζίνης, νικέλιο, εισπνευστική έκθεση στο χρώμιο και καθιστική εργασία. Η επίδραση με τις ενώσεις του χρωμίου ήταν ισχυρότερη για τις G σε T μεταστροφές, ένα εύρημα συμβατό με πειραματικές μελέτες σχετικά με το φάσμα μετάλλαξης για το χρώμιο³⁵.

Οργανοχλωριούχες ενώσεις όπως, p, p'-DDT, p, p'-DDE και μερικά από τα PCB (πολυχλωριωμένα διφαινύλια) θα μπορούσαν να διαδραματίσουν ένα ρόλο στην παθογένεση του εξωκρινούς παγκρεατικού καρκίνου, μέσω της ενεργοποίησης του KRAS. Τα αποτελέσματα απαιτούν

επαλήθευση, αλλά δείχνουν νέους ρόλους στις οργανο-χλωριούχες ενώσεις στην ανάπτυξη διαφόρων καρκίνων στον άνθρωπο³⁶.

Στον ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα (HCC), μετάλλαξη στο ογκοκατασταλατικό γονίδιο p53, κωδικόνιο 249, σχετίζεται με έκθεση σε AFB (1) και μεταλλάξεις στο KRAS ογκογονίδιο σχετίζονται με την έκθεση σε βινυλοχλωρίδιο³⁷. Παρατηρήθηκαν επίσης KRAS -2 πρότυπο μετάλλαξης στο οξειδίο του χλωροαιθυλενίου, ένας από τις καρκινογόνους μεταβολίτες του βίνυλοχλωριδίου (VC), όπου αναλύονται σε ζωικά μοντέλα. Τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι το VC είχε άμεσες τοξικές επιδράσεις, όχι μόνο σε ενδοθηλιακά κύτταρα, αλλά και σε ηπατοκύτταρα, όπως περιγράφηκε προηγουμένως μόνο σε ζωικά μοντέλα³⁸.

Γονική έκθεση σε υδρογονάνθρακες στην εργασία ή τη χρήση των συγκεκριμένων φαρμάκων σχετίζονται με gas μεταλλάξεις γονιδίων στα κύτταρα λευχαιμίας των παιδιών με ΟΛΛ. Η μητρική έκθεση σε διαλύτες και πλαστικά υλικά κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και πλαστικών υλών μετά την εγκυμοσύνη είχαν σχέση με KRAS μεταλλάξεις³⁹.

MGMT είναι μια πρωτεΐνη επιδιόρθωσης του DNA, που αφαιρεί προσαγωγές από τη θέση Ο6 της γουανίνης στο DNA. Υπερμεθυλίωση του γονιδίου MGMT, ένα φαινόμενο που συχνά εμφανίζεται σε κύτταρα καρκίνου του παχέος εντέρου, οδηγεί σε αποσιώπηση του γονιδίου, και σε μετάλλαξη του k-ras με μετατροπές του ζεύγους γουανίνης-κυτοσίνης σε ζεύγος αδενίνης-θυμίνης⁴².

Οι γενετικές αλλοιώσεις επίσης σε σποραδικά ορθοκολικά καρκινώματα δε σχετίζονται με το οικογενειακό ιστορικό και επομένως, η διατροφή, το περιβάλλον και ή παράγοντες του τρόπου ζωής μπορούν να συμβάλλουν στην απόκτηση της KRAS μεταλλάξης γονιδίου, που εμπλέκεται στα πρώτα στάδια της καρκινογένεσης⁴¹. Σε μέλετη Ιρακινών ασθενών με κολοορθικό καρκίνο(CRC) το 48% εμφανίζουν σποραδικές μεταλλάξεις, με σχετικά υψηλότερες συχνότητες στις G> T μεταστροφές και Gly> Val κωδικόνιο 12 αντικαταστάσεις, σε σχέση με αυτές που συναντώνται σε ομολόγους τους στις ανεπτυγμένες χώρες²⁴.

Μέθοδος

Εξετάσαμε τα αποτελέσματα σε 43 δείγματα, από 41ασθενείς με μεταστατικό κολοορθικό καρκίνο στους οποίους είχε γίνει έλεγχος μεταλλάξεων του KRAS, προκειμένου να λάβουν στοχευμένη θεραπεία με αντί EGRF μονοκλωνικό αντίσωμα για προχωρημένη νόσο στο παρελθόν. Όλοι οι ασθενείς είναι κάτοικοι του νομού Κέρκυρας και κατά προσέγγιση εκτίθενται σε παρόμοιους φυσικούς, χημικούς, διατροφικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες και κατ' επέκταση σε πιθανά κοινά τοπικά καρκινογόνα. Ο μέσος όρος ηλικίας των ασθενών τη

στιγμή της λήψης του δείγματος της βιοψίας ήταν 61,5 έτη.Το 49 % (20 ασθενείς) ήταν γυναίκες και το 51 % (21 ασθενείς) ήταν άνδρες. Για όλους τους ασθενείς τα δείγματα ιστού ήταν σε κύβο παραφίνης. Το 95,35% (41/43) των δειγμάτων αφορούσαν τον πρωτοπαθή όγκο ενώ το 4,65%(2/43) ήταν από μεταστατικές εστίες (υποτροπή πυέλου, εγκεφαλική μετάσταση) στις οποίες είχε γίνει επανάληψη ελέγχου KRAS status [πίνακας 1].

41 ασθενείς	
φύλο	Γυναίκες 20 Άνδρες 21
Ηλικία	61.5 μέση ηλικία
εντόπιση	ορθού, 12 (30%) σιγμοειδούς 19 (46%) τυφλού 7 (17%) εγκαρσίο 2 (5%) ανιον 1 (2%)
μεταλλάξεις	20 μεταλλαγμένα (49%) 21 Αγριου τύπου (51%)

Πίνακας 1.

Εντοπίσεις της πρωτοπαθούς εστίας στους ασθενείς που ελέγχθηκαν για kras μετάλλαξη.

Αποτελέσματα

Από όλα τα δείγματα, που εξετάστηκαν το 49 % (σε 19 ασθενείς) έδειξαν μετάλλαξη στο εξώνιο 2 κωδικόνιο 12 η/και13 του KRAS πρωτοογκογονιδίου και αντιστρόφως το 51 % (σε 21 ασθενείς) έδειξε άγριου τύπου (μη μεταλλαγμένο).Τα αποτελέσματα του ποσοστού αυτού σε μικρό δείγμα τοπικού πληθυσμού είναι από τα υψηλότερα που αναφέρονται στη βιβλιογραφία.

Συμπεράσματα

Μελέτες από διάφορες χώρες έχουν αναλύσει τη συχνότητα του τύπου K-ras μετάλλαξη σε καρκίνο του παχέος εντέρου. Αυτές οι μελέτες διεξήχθησαν στο Ηνωμένο Βασίλειο, την πρώην Γιουγκοσλαβία, Τσεχική Δημοκρατία, η Νορβηγία, Ελβετία, το Μεξικό, ΗΠΑ και Ολλανδία⁴⁰.

Σε μια μελέτη από τη Σαρδηνία, συνολικά, το ποσοστό μεταλλάξεων KRAS του όγκου ήταν 30% (145/478 θετικές περιπτώσεις). Η γεωγραφική κατανομή των μεταλλάξεων ήταν διαφορετική στο εσωτερικό του νησιού: 87/204 (43%) στη Βόρεια Σαρδηνία, έναντι 58/274 (21%) στη Μέση-Νότια Σαρδηνία.

Η συχνότητα των μεταλλάξεων του KRAS σε ασθενείς με μεταστατικό κολοορθικό καρκίνο κατοίκων του νησιού της Κέρκυρας είναι αρκετά υψηλή παρά το σχετι-

κά μικρό δείγμα. Το υψηλό ποσοστό KRAS μεταλλάξεων στο συγκεκριμένο δείγμα, αναμένεται να επιβεβαιωθεί με τη συνεχή καταγραφή όλων των νέων περιστατικών μεταστατικού κολορθικού καρκίνου στα οποία επιβάλλεται και γίνεται έλεγχος μεταλλάξεων προκειμένου να λάβουν θεραπεία για μετασταστική νόσο. Σκοπός της καταγραφής και της πιθανά αυξημένης συχνότητας των μεταλλάξεων του k-ras είναι η συσχέτιση τους, ως δείκτη έκθεσης του τοπικού πληθυσμού σε ακαθόριστα κοινά καρκινογόνα (διατροφικά, χημικά, φυσικά). Τα καρκινογόνα αυτά πιθανά σχετίζονται και με το είδος και τη συχνότητα των μεταλλάξεων. Με το συνεχή εμπλουτισμό του αριθμού του δείγματος ασθενών αναμένεται να γίνει χαρτογράφηση των μεταλλάξεων και της συχνότητάς τους στα διάφορα διαμερίσματα του νομού.

Summary

The frequency of KRAS mutations in a population of patients with metastatic colorectal cancer, inhabitants of the Prefecture of island Corfu

Kapodistrias N., Mouzakiti A.
medical oncologists

ABSTRACT

Introduction: KRAS mutations, in pathogenesis of colorectal cancer have been recently investigated worldwide, and considered a phenomenon associated with various environmental factors (dietary, chemical, physical, etc.).

Purpose: The aim of this study was to evaluate the frequency of KRAS mutations in a population of patients residents in the island and to compare with those given in the published literature.

Method: A total of 41 specimens of patients with metastatic colorectal cancer were analysed for KRAS mutations and these mutations were correlated with the anatomical site of the primary tumor.

Results: KRAS mutations were found in 49% (20 out of 41 patients have a mutation in exon 2 or 3 of KRAS). Based on reports in published literature, and epidemiological data in mediterranean region, this frequency is significantly high.

The number of patients is expected to increase with time by recording and analysing all new cases. The purpose is mapping of the mutations and their frequencies in all departments of the county.

Conclusion: The high frequency KRAS mutations, in this population of patients residents in Corfu, should be

confirmed with new data in the future.

Keywords: KRAS frequency, Epidermal growth factor receptor, Metastatic colorectal cancer, Testing status, Biomarker, Inhabitants patients

Βιβλιογραφία

1. McGrath JP, Capon DJ, Smith DH, Chen EY, Seeburg PH, Goeddel DV, Levinson AD. Structure and organization of the human Ki-ras proto-oncogene and a related processed pseudogene. *Nature*. 1983 Aug 11-17;304(5926):501-6
2. Popescu NC, Amsbaugh SC, DiPaolo JA, Tronick SR, Aaronson SA, Swan DC. Chromosomal localization of three human ras genes by in situ molecular hybridization. *Somat Cell Mol Genet*. 1985 Mar;11(2):149-55
3. Kranenburg O. *Biochim Biophys Acta*. 2005 Nov 25;1756(2):81-2. The KRAS oncogene: past, present, and future. Epub 2005 Oct 25
4. Mittal R1, Ahmadian MR, Goody RS, Wittinghofer A. Formation of a transition-state analog of the Ras GTPase reaction by Ras-GDP, tetrafluoroaluminate, and GTPase-activating proteins. *Science*. 1996 Jul 5;273(5271):115-7
5. Kiaris H1, Spandidos D. Mutations of ras genes in human tumors (review). *Int J Oncol*. 1995 Sep;7(3):413-21
6. Burner GC1, Loeb LA. Mutations in the KRAS2 oncogene during progressive stages of human colon carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989 Apr;86(7):2403-7
7. Almoguera C1, Shibata D, Forrester K, Martin J, Arnheim N, Perucho M. Most human carcinomas of the exocrine pancreas contain mutant c-K-ras genes. *Cell*. 1988 May 20;53(4):549-54.
8. Tam IY1, Chung LP, Suen WS, Wang E, Wong MC, Ho KK, Lam WK, Chiu SW, Girard L, Minna JD, Gazdar AF, Wong MP. Distinct epidermal growth factor receptor and KRAS mutation patterns in non-small cell lung cancer patients with different tobacco exposure and clinicopathologic features. *Clin Cancer Res*. 2006 Mar 1;12(5):1647-53.
9. Brink M1, de Goeij AF, Weijenberg MP, Roemen GM, Lentjes MH, Pachen MM, Smits KM, de Bruïne AP, Goldbohm RA, van den Brandt PA. K-ras oncogene mutations in sporadic colorectal cancer in The Netherlands Cohort Study. *Carcinogenesis*. 2003 Apr;24(4):703-10
10. Neumann J1, Zeindl-Eberhart E, Kirchner T, Jung A. Frequency and type of KRAS mutations in routine diagnostic analysis of metastatic colorectal cancer. *Pathol Res Pract*. 2009;205(12):858-62. doi: 10.1016/j.prp.2009.07.010. Epub 2009 Aug 12.
11. Herreros-Villanueva M1, Rodrigo M, Claver M, Muñiz

- P, Lastra E, García-Girón C, Coma del Corral MJ Mol Biol Rep..KRAS, BRAF, EGFR and HER2 gene status in a Spanish population of colorectal cancer. 2011 Feb;38(2):1315-20. doi: 10.1007/s11033-010-0232-x. Epub 2010 Jun 20.
12. Vaughn CP1, Zobell SD, Furtado LV, Baker CL, Samowitz WS.. Epub 2011 Feb 8.Frequency of KRAS, BRAF, and NRAS mutations in colorectal cancer. Genes Chromosomes Cancer. 2011 May;50(5):307-12. doi: 10.1002/gcc.20854.
 13. Chang YS1, Yeh KT, Hsu NC, Lin SH, Chang TJ, Chang JG. .Detection of N-, H-, and KRAS codons 12, 13, and 61 mutations with universal RAS primer multiplex PCR and N-, H-, and KRAS-specific primer extension. Clin Biochem. 2010 Feb;43(3):296-301. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2009.10.007. Epub 2009 Oct
 14. Zhu D1, Keohavong P, Finkelstein SD, Swalsky P, Bakker A, Weissfeld J, Srivastava S, Whiteside TL.K-ras gene mutations in normal colorectal tissues from K-ras mutation-positive colorectal cancer patients. Cancer Res. 1997 Jun 15;57(12):2485-92.
 15. Kinzler KW1, Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer. Cell. 1996 Oct 18;87(2):159-70.
 16. Vogelstein B1, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, Preisinger AC, Leppert M, Nakamura Y, White R, Smits AM, Bos JL.Genetic alterations during colorectal-tumor development. N Engl J Med. 1988 Sep 1;319(9):525-32.
 17. Al-Kuraya K1, Novotny H, Bavi P, Siraj AK, Uddin S, Ez-zat A, Sanea NA, Al-Dayel F, Al-Mana H, Sheikh SS, Mir-lacher M, Tapia C, Simon R, Sauter G, Terracciano L, Tornillo L.HER2, TOP2A, CCND1, EGFR and C-MYC oncogene amplification in colorectal cancer. J Clin Pathol. 2007 Jul;60(7):768-72. Epub 2006 Aug 1
 18. Arrington AK1, Heinrich EL, Lee W, Duldulao M, Patel S, Sanchez J, Garcia-Aguilar J, Kim J. Prognostic and Predictive Roles of KRAS Mutation in Colorectal Cancer. Int J Mol Sci. 2012 Sep 25;13(10):12153-68. doi: 10.3390/ijms131012153.
 19. Allan Andresson Lima Pereira, Juliana Florinda De Mendonga Rego, Van Karlyle Morris, Michael J. Overman, Cathy Eng, Chris R. Association between KRAS mutation and lung metastasis in advanced colorectal cancer. J Clin Oncol 32, 2014 (suppl 3; abstr 494).2014 Gastrointestinal Cancers Symposium.General Poster Session C: Cancers of the Colon and Rectum.Abstract Number: 494
 20. Pérez-Ruiz E, Rueda A, Pereda T, Alcaide J, Bautista D, Rivas-Ruiz F, Villatoro R, Pérez D, Redondo M. Involvement of K-RAS mutations and amino acid substitutions in the survival of metastatic colorectal cancer patients. Tumour Biol 2012 Dec;33(6):1829-35. doi: 10.1007/s13277-012-0442-z. Epub 2012 Jul 13.
 21. Therkildsen C1, Bergmann TK, Henrichsen-Schnack T, Ladelund S, Nilbert M.The predictive value of KRAS, NRAS, BRAF, PIK3CA and PTEN for anti-EGFR treatment in metastatic colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. Acta Oncol. 2014 Mar 25. [Epub ahead of print] .
 22. Peeters M1, Douillard JY, Van Cutsem E, Siena S, Zhang K, Williams R, Wiezor.Mutant KRAS codon 12 and 13 alleles in patients with metastatic colorectal cancer: assessment as prognostic and predictive biomarkers of response to panitumumab.J Clin Oncol. 2013 Feb 20;31(6):759-65. doi: 10.1200/JCO.2012.45.1492. Epub 2012 Nov 26.
 23. Heinemann V, Fischer von Weikersthal L, Decker T, et al. Randomized comparison of FOLFIRI plus cetuximab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment of KRAS wild-type metastatic colorectal cancer: German AIO study KRK-0306 (FIRE-3) (abstract). J Clin Oncol 31, 2013 (suppl; abstr LBA 3506). <http://meetinglibrary.asco.org/content/110092-132> (Accessed on June 17, 2013).
 24. Al-Allawi NA1, Ismaeel AT, Ahmed NY, Merza NS.Indian J Cancer. 2012 Jan-Mar;49(1):163-8. doi: 10.4103/0019-509X.98943.The frequency and spectrum of K-ras mutations among Iraqi patients with sporadic colorectal carcinoma.
 25. Schaal C1, Chellappan SP.Mol Cancer Res. Nicotine-mediated cell proliferation and tumor progression in smoking-related cancers. 2014 Jan;12(1):14-23. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-13-0541. Epub 2014 Jan 7.
 26. Shvedova AA1, Yanamala N, Kisin ER, Tkach AV, Murray AR, Hubbs A, Chirila MM, Keohavong P, Sycheva LP, Kagan VE, Castranova V.Long-term effects of carbon containing engineered nanomaterials and asbestos in the lung: one year postexposure comparisons. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2014 Jan;306(2):L170-82. doi: 10.1152/ajplung.00167.2013. Epub 2013 Nov 8.
 27. Gordon W1, Galitovskiy V, Edwards R, Andersen B, Grando SA.The tobacco carcinogen nitrosamine induces a differential gene expression response in tumour susceptible A/J and resistant C3H mouse lungs. Eur J Cancer. 2013 Feb;49(3):725-33. doi: 10.1016/j.ejca.2012.08.027. Epub 2012 Sep 23.
 28. Gasperino J.Gender is a risk factor for lung cancer. Med Hypotheses. 2011 Mar;76(3):328-31. doi: 10.1016/j.mehy.2010.10.030. Epub 2010 Nov 23.
 29. Hong HH1, Houle CD, Ton TV, Sills RC. K-ras mutations in lung tumors and tumors from other organs are consistent with a common mechanism of ethylene oxide tumorigenesis in the B6C3F1 mouse. Toxicol Pathol. 2007 Jan;35(1):81-5.
 30. Hayashi S1, Hong HH, Toyoda K, Ton TV, Devereux TR, Maronpot RR, Huff J, Sills RC..High frequency of ras mutations in forestomach and lung tumors of B6C3F1 mice exposed to 1-amino-2,4-dibromoanthraquinone for 2 years. Toxicol Pathol 2001 Jul-Aug;29(4):422-9.
 31. Mangués R1, Pellicer A.Ras activation in experimental carcinogenesis.. Semin Cancer Biol. 1992

- Aug;3(4):229-39
32. Melnick RL. Carcinogenicity and mechanistic insights on the behavior of epoxides and epoxide-forming chemicals. *Ann N Y Acad Sci.* 2002 Dec;982:177-89.
 33. Huang B1, Liu B, Xu M, You B. K-ras gene mutations of asbestos and welding-fumes related human lung cancer. *Wei Sheng Yan Jiu.* 2000 Jan 30;29(1):7-9.
 34. Alguacil J1, Porta M, Malats N, Kauppinen T, Kogevinas M, Benavides FG, Partanen T, Carrato A; PANKRAS II Study Group. Occupational exposure to organic solvents and K-ras mutations in exocrine pancreatic cancer. *Carcinogenesis.* 2002 Jan;23(1):101-6.
 35. Alguacil J1, Porta M, Kauppinen T, Malats N, Kogevinas M, Carrato A; PANKRAS II Study Group. Occupational exposure to dyes, metals, polycyclic aromatic hydrocarbons and other agents and K-ras activation in human exocrine pancreatic cancer. *Int J Cancer.* 2003 Nov 20;107(4):635-41.
 36. Porta M1, Malats N, Jarrod M, Grimalt JO, Rifà J, Carrato A, Guarner L, Salas A, Santiago-Silva M, Corominas JM, Andreu M, Real FX. Serum concentrations of organochlorine compounds and K-ras mutations in exocrine pancreatic cancer. PANKRAS II Study Group. *Lancet.* 1999 Dec 18-25;354(9196):2125-9.
 37. Zhang YJ. Interactions of chemical carcinogens and genetic variation in hepatocellular carcinoma. *World J Hepatol.* 2010 Mar 27;2(3):94-102. doi: 10.4254/wjh.v2.i3.94.
 38. Weihrauch M1, Benick M, Lehner G, Wittekind M, Badler M, Wrbitzk R, Tannapfel A. High prevalence of K-ras-2 mutations in hepatocellular carcinomas in workers exposed to vinyl chloride. *Int Arch Occup Environ Health.* 2001 Aug;74(6):405-10.
 39. Shu XO1, Perentesis JP, Wen W, Buckley JD, Boyle E, Ross JA, Robison LL; Children's Oncology Group. Parental exposure to medications and hydrocarbons and ras mutations in children with acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Oncology Group. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2004 Jul;13(7):1230-5.
 40. Brink M1, de Goeij AF, Weijenberg MP, Roemen GM, Lentjes MH, Pachen MM, Smits KM, de Bruïne AP, Goldbohm RA, van den Brandt PA. K-ras oncogene mutations in sporadic colorectal cancer in The Netherlands Cohort Study. *Carcinogenesis.* 2003 Apr;24(4):703-10.
 41. Slattery ML1, Curtin K, Schaffer D, Anderson K, Samowitz W. Associations between family history of colorectal cancer and genetic alterations in tumors. *Int J Cancer.* 2002 Feb 20;97(6):823-7.
 42. Esteller M1, Toyota M, Sanchez-Cespedes M, Capella G, Peinado MA, Watkins DN, Issa JP, Sidransky D, Baylin SB, Herman JG. Inactivation of the DNA repair gene O6-methylguanine-DNA methyltransferase by promoter hypermethylation is associated with G to A mutations in K-ras in colorectal tumorigenesis. *Cancer Res.* 2000 May 1;60(9):2368-71
 43. Slattery ML1, Curtin K, Anderson K, Ma KN, Edwards S, Leppert M, Potter J, Schaffer D, Samowitz WS. Author information . Associations between dietary intake and Ki-ras mutations in colon tumors: a population-based study. *Cancer Res.* 2000 Dec 15;60(24):6935-41.