

**Analisi del profilo mutazionale di geni candidati nel  
carcinoma broncogeno non a piccole cellule (NSCLC)  
condotta su DNA tumorale circolante.**

Il cancro è una malattia genetica che origina, in un contesto di instabilità, dalla deregolazione delle vie di segnale che controllano la crescita e la proliferazione cellulare<sup>i</sup>. Alterazioni nella sequenza codificante sono causa dell'attivazione di oncogeni. Nei tumori solidi, in media, 80 geni sono attivati in conseguenza della presenza di mutazioni che, per contro, non si ritrovano nelle cellule non trasformate<sup>ii</sup>. Tali mutazioni somatiche possono essere considerate marcatori genetici del tumore molto più specifici rispetto ad altri che sono utilizzati nella pratica clinica di routine.

È ormai stato ampiamente definito nella patogenesi del NSCLC il ruolo svolto da mutazioni attivanti oncogeni (tra cui EGFR, K-RAS, PIK3CA) e, meno frequentemente, inattivanti geni oncosoppressori (e.g. p53, PTEN)<sup>iii</sup>. E' opportuno ricordare che, nel processo di oncogenesi polmonare, il gene codificante per il recettore del fattore di crescita epidermico (EGFR) gioca un ruolo determinante come oncogene in quanto o risulta iper-espresso dalla cellula neoplastica o presenta delle mutazioni responsabili della sua iper-attività<sup>iv</sup>. Con lo scopo di bloccare EGFR sono stati individuati anticorpi monoclonali (Cetuximab-Panitumab) in grado di legarsi al dominio extracellulare del recettore: l'efficacia dell'anticorpo è proporzionale all'entità di espressione della proteina sulle cellule neoplastiche<sup>v</sup>. Il blocco dell'attivazione del sito catalitico del recettore viene, invece, ottenuto con piccole molecole (Gefitinib-Elotinib) attive nella condizione in cui la sequenza codificante il dominio catalitico del recettore presenta mutazioni che ne inducono una modificazione della struttura terziaria a livello del sito di legame dell'ATP<sup>vi</sup>. Per quanto attiene le mutazioni, l'azione attivante avviene nei portatori di mutazioni negli esoni 18-21 del gene codificante per EGFR. È importante evidenziare che tali mutazioni sono relativamente frequenti in un ristretto gruppo di pazienti ( donne asiatiche, non fumatrici ) affetti da adenocarcinoma (anche se sono state descritte in SCC) e che nella popolazione caucasica si ritrovano in circa il 12 % dei vari istotipi di NSCLC<sup>4,vii,viii</sup>. EGFR codifica per un recettore transmembrana a funzione tirosin chinasi: la trasmissione del segnale a livello intracellulare è mediata principalmente dal pathway di segnale mediato da KRAS-BRAF ( coinvolto nella promozione della proliferazione cellulare) e da PIK3CA-AKT-mTOR che promuove la motilità e invasività cellulare<sup>4</sup>. È stato dimostrato che l'attivazione degli oncogeni EGFR e K-RAS attraverso mutazioni somatiche si verifica in modo mutualmente esclusivo e caratterizza le vie patogenetiche distinte del NSCLC che insorge in

soggetti fumatori (attivazione della via di segnale di K-RAS) vs non fumatori (attivazione della via di segnale di EGFR)<sup>ix</sup>. La presenza di mutazioni di K-RAS correla, quindi, in modo predittivo negativo con la risposta ad inibitori di EGFR. Inoltre è stato ampiamente dimostrato, nel carcinoma colo-rettale, che l'efficacia di due anticorpi monoclonali anti-EGFR (Cetuximab e Panitumumab) è strettamente correlata allo stato mutazionale dell'oncogene K-RAS<sup>x,xi</sup>. In questo tipo di tumori umani, lo stato mutazionale di K-RAS è richiesto come dato preliminare all'impostazione della terapia con Panitumumab<sup>xii</sup>. L'analisi del profilo mutazionale di geni candidati rappresenta quindi un momento di notevole rilevanza nell'ambito della impostazione di una terapia antineoplastica personalizzata, mirata anche a ridurre i rischi di tossicità in assenza di efficacia terapeutica. Su questa base lo studio del profilo mutazionale di oncogeni attivati nel *pathway* di segnale mediato dalla cinasi EGFR (EGFR K-RAS, B-RAF e PIK3CA) consente di predire la sensibilità/resistenza alla terapia con inibitori di EGFR, che è validata, per NSCLC, come approccio di seconda linea.

Studi molto recenti hanno, inoltre, dimostrato che è possibile isolare cellule tumorali circolanti e DNA tumorale dal sangue periferico dalla frazione *cell-free* del plasma<sup>xiii,xiv,xv,xvi,xvii</sup>. I potenziali vantaggi di poter condurre l'analisi mutazionale su materiale genetico tumorale estratto dal sangue periferico sono evidentemente innumerevoli sia in termini di raggiungimento della diagnosi, sia in termini di possibilità di monitoraggio costante e incruento della risposta terapeutica.

Il tema del seminario verte sulla procedura di validazione di tecniche biomolecolari di sequenziamento del materiale genetico tumorale ottenuto da sangue intero, su una casistica di pazienti affetti da tumore polmonare NSCLC

## Riferimenti bibliografici

---

- <sup>i</sup> Vogelstein B, Kinzler KW. Cancer genes and the pathways they control. *Nat Med.* 2004; 10(8):789-99
- <sup>ii</sup> Wood LD, Parsons DW, Jones S, et al. The genomic landscapes of human breast and colorectal cancers. *Science* 2007 ;318(5853):1108-13
- <sup>iii</sup> Herbst RS, Heymach JV, Lippman SM. Lung cancer. *N Engl J Med* 2008; 359:1367
- <sup>4</sup> Sharma SV, Bell DW, Settleman J, Haber DA. Epidermal Growth Factor Receptor mutations in lung cancer. *Nat Rev Cancer*, 2007; 7(3):169-178
- <sup>v</sup> Ciardiello F, Tortora G. EGFR antagonists in cancer treatment. *N Engl J Med* 358:1160, March 13, 2008
- <sup>vi</sup> Di Nicolantonio F, Arena S, Gallicchio M, et al. Replacement of normal with mutant alleles in the genome of normal human cells unveils mutation-specific drug responses. *PNAS* 2008, 105:20864-20869
- <sup>vii</sup> Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, et al. Activating mutation in Epidermal Growth Factor Receptors underlying responsiveness of Non-Small-Cell Lung Cancer to Gefitinib. *NEJM*, 2004; 350(21):2129-39
- <sup>viii</sup> Paez JG, Jänne PA, Lee JC, et al. EGFR mutations in lung cancer : correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science*, 2004,304,1497-1500
- <sup>ix</sup> Sun S, Schiller JH, Gazdar AF. Lung cancer in never smokers- a different disease. *Nat Rev Cancer* 2007; 7, 778-90
- <sup>x</sup> Moroni M, Veronese S, Benvenuti S, et al. Gene copy number for epidermal growth factor receptor (EGFR) and clinical response to anti EGFR treatment in colorectal cancer: A cohort study. *Lancet Oncol* 2005; 6:279-286
- <sup>xi</sup> Di Nicolantonio F, Martini M, Molinari F, et al. Wild-type BRAF is required for Response to Panitumumab or Cetuximab in Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26(35):5705-12.
- <sup>xii</sup> <http://www.emea.europa.eu/humandocs/PDFs/EPAR/vectibix/H-741-it1.pdf>
- <sup>xiii</sup> Nagrath S, Sequist LV, Maheswaran S, et al. Isolation of rare circulating tumour cells in cancer patients by microchip technology. *Nature*. 2007; 450(7173):1235-9.
- <sup>xiv</sup> Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, et al. Circulating tumor cells, disease progression and survival in metastatic breast cancer. *N Engl J Med*. 2004;351(8):781-91
- <sup>xv</sup> Goebel G, Zitt M, Muller HM. Circulating nucleic acids uin plasma or serum (CNAPS) as prognostic and perdictive markers in patients with solid neoplasias. *Dis Marker* 2005, 21: 105-120
- <sup>xvi</sup> Gormally E, Caboux E, Vineis P, Hainaut P. Circulating free DNA in plasma or serum as biomarker of carcinogenesis: practical aspects and biological significante. *Mutat Res* 2007, 635,105-117
- <sup>xvii</sup> Diehl F, Schmidt K, Choti MA, et al. Ciurculating mutant DNA to assess tumor dynamics. *Nat Med* 2008 14( 9) 985-990, 2008