

MÉTHODES UTILISÉES POUR LA RECHERCHE DES MUTATIONS KRAS

	SEQUENCAGE DIRECT	PYROSEQUENCAGE	DHPLC	HRM High Resolution Melting	PCR EN TEMPS REEL	PUCES ADN (LCD array)
SENSITIVITE (MT/WT, %)	~ 15-20 %	~ 5 %	~ 2-5 %	~ 2-5 %	~ 1-2 %	<1 %
AVANTAGES	<ul style="list-style-type: none"> Détection de toute variation génétique au niveau de l'amplicon séquencé 	<ul style="list-style-type: none"> Technique sensible Détection spécifique des mutations recherchées 	<ul style="list-style-type: none"> Technique sensible Détection de toute variation génétique au niveau de l'amplicon analysé 	<ul style="list-style-type: none"> Technique sensible Détection de toute variation génétique au niveau de l'amplicon testé 	<ul style="list-style-type: none"> Technique sensible Rendu des résultats rapide (1 semaine) Détection spécifique des mutations recherchées 	<ul style="list-style-type: none"> Technique sensible Rendu des résultats rapide (1 semaine) Facilité d'utilisation Une seule réaction PCR nécessaire pour identifier les mutations Présence d'un suppresseur spécifique des allèles sauvages « Wild Type suppressor sequence (WSC) » permettant une meilleure sensibilité de la technique Détection spécifique des mutations recherchées
INCONVENIENTS	<ul style="list-style-type: none"> Technique peu sensible Connaissance en biologie moléculaire requise Délai allongé (4 jours à 2 semaines) 	<ul style="list-style-type: none"> Connaissance en biologie moléculaire requise Délai allongé (4 jours à 2 semaines) 	<ul style="list-style-type: none"> Connaissance en biologie moléculaire requise Identification de la mutation nécessaire par une autre technologie Délai allongé (4 jours à 2 semaines) 	<ul style="list-style-type: none"> Connaissance en biologie moléculaire requise Identification de la mutation par une autre technique Délai allongé (4 jours à 2 semaines) 	<ul style="list-style-type: none"> Détection uniquement d'une seule mutation par réaction : temps technique allongé 	

Références

Clinical relevance of EGFR- and KRAS-status in colorectal cancer patients treated with monoclonal antibodies directed against the EGFR. Heinemann V et al - Cancer Treat Rev. 2009 May;35(3):262-71.

KRAS mutations and sensitivity to epidermal growth factor receptor inhibitors in colorectal cancer: practical application of patient selection. Jimeno A et al - J Clin Oncol. 2009 Mar 1;27(7):1130-6.

K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer. Karapetis CS et al - N Engl J Med. 2008 Oct 23;359(17):1757-65.

Assessment of somatic k-RAS mutations as a mechanism associated with resistance to EGFR-targeted agents: a systematic review and meta-analysis of studies in advanced non-small-cell lung cancer and metastatic colorectal cancer. Linardou H et al - Lancet Oncol. 2008 Oct;9(10):962-72.

KRAS mutations as an independent prognostic factor in patients with advanced colorectal cancer treated with cetuximab. Lièvre A et al - J Clin Oncol. 2008 Jan 20;26(3):374-9.

Clinical relevance of KRAS mutation detection in metastatic colorectal cancer treated by Cetuximab plus chemotherapy. Di Fiore F et al - Br J Cancer. 2007 Apr 23;96(8):1166-9.

Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. Amado RG et al - J Clin Oncol. 2008 Apr 1;26(10):1626-34.

Mutations in the epidermal growth factor receptor and in KRAS are predictive and prognostic indicators in patients with non-small-cell lung cancer treated with chemotherapy alone and in combination with erlotinib. Eberhard DA et al - J Clin Oncol. 2005 Sep 1;23(25):5900-9.

Ras oncogenes in human cancer: a review. Bos JL. Cancer Res. 1989 Sep 1;49(17):4682-9.

Pré-analytique

Liquide fixateur : Formol – pas de Bouin

L'analyse est réalisée :

- Soit à partir d'un bloc tumoral inclus en paraffine (les échantillons tumoraux sont renvoyés après analyse)
- Soit à partir de lames blanches non colorées (coupes de 10 à 20 µm)
 - Masse tumorale : 5 lames
 - Biopsies : 10 lames

Merci de nous faire parvenir une copie du compte-rendu anatomopathologique. Une coloration HES sera effectuée au laboratoire Biomnis afin d'évaluer le pourcentage d'infiltration tumorale sur la coupe réalisée ou sur les lames transmises.

Rendu de résultats : 10 jours

Contacts

Unité biologique des Hémopathies Malignes et des Tumeurs solides

Secrétariat :

Tél. : 04 72 80 23 65

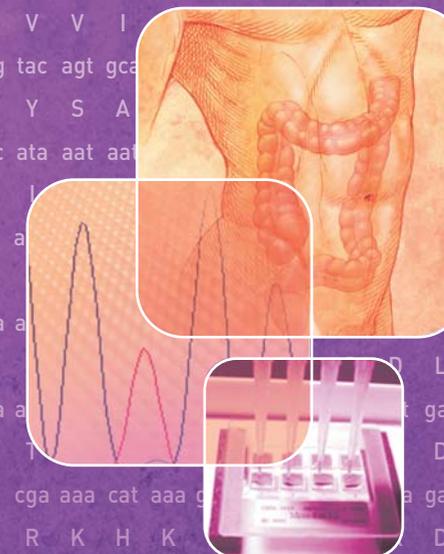
Fax : 04 72 80 23 66

- Saïd EL MOUATASSIM
Benôit QUILICHINI
Arnaud MILLARET

Biomnis
www.biomnis.com

19 av. Tony Garnier - 69007 LYON - Tél. : 04 72 80 10 10
78 av. de Verdun 94200 IVRY-SUR-SEINE - Tél. : 01 49 59 16 16

Le point sur...



Détection des mutations de l'oncogène **KRAS** chez les patients porteurs d'un cancer colorectal métastatique

JUIN 2009

biomnis
BIOLOGIE MÉDICALE SPÉCIALISÉE

Données cliniques

En France, le cancer colorectal (CCR) est le 3ème cancer le plus fréquemment diagnostiqué. Il représente la deuxième cause de mortalité liée à un cancer. Environ 30% des patients présentant un CCR ont une maladie métastatique au diagnostic (mCCR).

La recherche des mutations de l'oncogène *KRAS* est réalisée dans le cadre d'une stratégie thérapeutique des mCCR (thérapie anti EGFR).

Plusieurs mutations au niveau du gène *KRAS* ont été décrites (codons 12, 13, 61 et 63). La détermination du statut mutationnel *KRAS* permet d'une part l'identification des patients éligibles aux nouvelles thérapies anti-EGFR et d'autre part d'éviter l'administration de drogues faiblement efficaces, coûteuses et potentiellement toxiques pour les patients admis comme non répondeurs aux traitements ciblés.

KRAS non muté :
Patients répondeurs aux anti-EGFR

KRAS muté:
Patients non répondeurs aux anti-EGFR

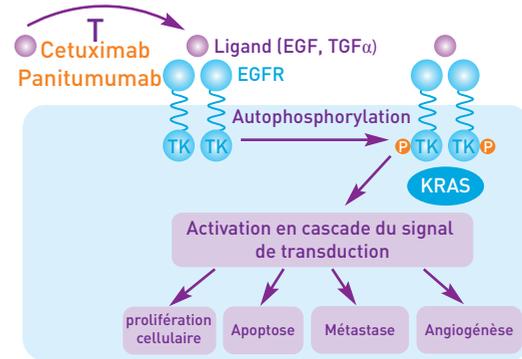
Données scientifiques

Des mutations somatiques de la famille de l'oncogène *RAS* (*HRAS*, *KRAS* and *NRAS*) ont été identifiées dans plusieurs type de cancers : colorectal (33-53 %), pancréas (~80 %), poumon (~30 %), ovaire, endomètre, vessie, voies biliaires (~45 %), thyroïde (~55 %) et dans certaines hémopathies malignes. Le gène *KRAS* est localisé sur le chromosome 12. Il code pour une protéine qui est impliquée dans la carcinogénèse. *KRAS* joue un rôle central dans le développement tumoral en régulant d'autres protéines impliquées en aval dans le contrôle de la prolifération cellulaire, l'apoptose ou l'angiogénèse.

L'activation de la voie de l'EGF (Epidermal Growth Factor) est classiquement décrite dans les CCR. L'EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) est activé par autophosphorylation au niveau de son domaine intracellulaire tyrosine kinase après fixation du ligand à sa partie extracellulaire. Ceci aboutit à l'activation des deux principales voies de signalisation PI3K/AKT et RAS/MEK/ERK. La présence d'une mutation dans un des gènes dont la protéine joue un rôle d'effecteurs en aval de l'EGFR peut induire une autoactivation d'une voie de signalisation (on parle alors de mutation activatrice) indépendamment de la fixation du ligand à son récepteur. Ceci va rendre inefficace des thérapies ciblées anti récepteur de facteur de croissance telles que les thérapies ciblées anti EGFR.

Thérapies ciblées

Trois anticorps monoclonaux ont montré leur efficacité dans la thérapie des CCR dont les anticorps anti-récepteur des facteurs de croissances à l'EGF (anti-EGFR) et les anticorps anti-facteur de croissance endothélial vasculaires (anti-VEGF). Les nouvelles thérapies ciblant EGFR tels que le cetuximab (Erbix®; Merck Serono) et le panitumumab (Vectibix®; Amgen) bloquent la liaison du ligand à son récepteur et entraîne ainsi l'inhibition des voies de signalisation en aval. Ces anticorps ont obtenu une autorisation de mise sur le marché après avoir montré leur efficacité dans les mCCR. La détermination du statut muté ou non muté du gène *KRAS* est essentielle pour la stratification thérapeutique des mCCR.



Mutations de KRAS

Distribution des mutations *KRAS* dans le cancer colorectal métastatique

p.G12V; c.35G > T	21,7 - 28,1 %	Codon 12 80 %
p.G12A; c.35G > C	6,4 - 8,2 %	
p.G12D; c.35G > A	35,7 - 38 %	
p.G12S; c.34G > A	7,6 - 9,9 %	Codon 13 15 %
p.G12C; c.34G > T	5,3 - 7,6 %	
p.G12R; c.34G > C	1,2 - 1,6 %	
p.G13D; c.38G > A	11,7 - 15,8 %	Autres (codon 61 et 63) < 5 %
p.G13C; c.37G > A	0,6 %	

D'autres mutations à rechercher ?

L'impact clinique pour la stratégie thérapeutique de la détection des mutations BRAF et PI3K est en cours d'évaluation, en particulier pour les patients non répondeurs aux anti EGFR ne présentant pas de mutation dans l'oncogène *KRAS*.

STRATÉGIE DE BIOMNIS POUR LA DÉTECTION DES MUTATIONS DE L'ONCOGÈNE *KRAS*

