

KRAS geeni mutatsioonid NRAS/BRAF geenide mutatsioonid

Geneetika ja personaalmeditsiini kliinik, laboratoorse geneetika osakond, molekulaardiagnostika labor, tel. 731 9487, 731 9488

www.kliinikum.ee/geneetika

Ras valgud kuuluvad väikeste GTP-aasete valkude perekonda, mis on olulised rakkude signaaliülekanedes. Ras valgud toimivad aktiivse (Ras-GTP) ja inaktiivse (Ras-GDP) vormi vaheldumise tõttu "lülitina" rakkude kasvu, proliferatsiooni ja diferentseerumise regulatsioonis. Ras valke kodeerivad RAS geenid. Rakupinna retseptorite stimulatsioon (nt epidermaalse kasvufaktori (EGFR) kaudu) aktiveerib RAS-RAF-MAP kinaasi signaaliraja.

KRAS (OMIM *190070) ja NRAS (OMIM *164790) on sarnaselt teiste RAS geenidega oluline varases rakusiseses signaaliülekanedes. KRAS ja NRAS on ühtlasi protoonkogeenid, mille aktiveerivad punktmutatsioonid võivad viia Kras ja Nras valgu pidevale aktivatsioonile ning selle kaudu rakkude kontrollimatule proliferatsioonile sõltumatult EGFR signaali olemasolust. KRAS/NRAS geenide somaatilised mutatsioonid on sagedased kolorektaalvähi, kopsuvähi ja pankrease vähi korral. Kolorektaalvähi korral on leitud KRAS geeni aktiveerivaid mutatsioone ~44% juhtudel (My Cancer Genome). Neist mutatsioonidest valdav osa (kuni 98–99%) on leitud geeni 2. eksonis asuvates 12. ja 13. koodonis, aga ka 3. eksonis asuvas 61. koodonis. NRAS geeni aktiveerivaid mutatsioone on 4,7% juhtudest (My Cancer Genome). KRAS ja NRAS mutatsioonid on teineteist välistavad.

KRAS ja NRAS geeni pärilikud mutatsioonid põhjustavad Noonani sündroomi ja kardio-fatsio-kutaanset sündroomi.

KRAS/NRAS geeni aktiveerivate mutatsioonide esinemine korral on ravi epidermaalse kasvufaktori (EGFR) vastaste monoklonaalsete antikehadega (nt panitumumab (*Vectibix*), tsetuksimab (*Erbix*)) vähe efektiivne ja ei ole näidustatud.

Ka kopsuvähi puhul on KRAS/NRAS aktiveerivate mutatsioonide esinemine seotud halva ravivastusega, nt erlotiniibile (*Tarceva*).

KRAS on biomarkeriks tsetuksimabi, panitumumabi, afatiniibi, dakomitiniibi, erlotiniibi, gefitiniibi, osimertiniibi ja sotorasiibi kasutamiseks vähipatsientidel.

NRAS on biomarkeriks tsetuksimabi, panitumumabi ja binimetiniibi kasutamiseks vähipatsientidel.

BRAF (OMIM *164757) kuulub seriin-treoniinvalgu kinaaside perekonda, kuhu kuuluvad ARAF, BRAF ja CRAF (RAF1). RAF kinaasid on kesksed vahendajad MAP kinaasi signaaliülekanede kaskaadis ja toimivad peamiselt MEK-i fosforüülimise ja aktiveerimise kaudu. See toimub pärast RAF molekulide dimeriseerumist. MAP kinaasi raja osana on RAF seotud paljude rakuliste protsessidega, kaasa arvatud rakkude proliferatsioon, diferentseerumine ja transkriptsiooni regulatsioon.

BRAF geeni mutatsioonid on seotud paljude kasvajatega, sealhulgas melanoomi, mitteväikerakulise kopsuvähi, kolorektaalvähi, papillaarse kilpnäärmevähi ja munasarjavähiga. Nendes kasvajates, samuti glioomides ja gastrointestinaalsetes stromaalkasvajates (GIST) on täheldatud BRAF mutatsioone.

Umbes 11% kolorektaalvähkidest esineb BRAF mutatsioon (My Cancer Genome).

Kõige sagedasem (47–96%) BRAF mutatsioon kolorektaalvähkides on aktiveeriv *missense* mutatsioon, milles glutamiinhape asendatakse valiiniga koodonis 600 (Mao et al. 2011; Rizzo et al. 2010).

Metastaatilise kolorektaalvähiga patsiendid, kes kannavad BRAF mutatsioone, ei reageeri ravile EGFR vastaste monoklonaalsete antikehadega (tsetuksimab, panitumumab) (Bardelli ja Siena 2010; Folprecht jt 2010; Gravalos et al. 2010; Lievre, Blons ja Laurent-Puig 2010). BRAF on biomarkeriks vemurafeniibi, dabrafeniibi, trametiniibi, enkorafeniibi,

tsetuksimabi, kobimetiniibi, panitumumabi, binimetiniibi, pembrolizumabi, atesolisumabi, tsemitplimabi, dasatiniibi ja imatiniibi kasutamiseks vähipatsientidel.

Uuritav muutus

- KRAS ja NRAS geeni 2., 3. ja 4. eksoni punktmutsatsioonid (18 teadaolevat somaatilist mutatsiooni koodonites 12, 13, 59, 61, 117 ja 146)
- BRAF geeni koodon 600 mutatsioonid (p.V600E/D ja p.V600K/R)

Uuritav materjal, selle võtmine, saatmine ja säilitamine

Analüüsi tellimisel tuleb sisestada elektroonne tellimus ja materjalivõtjaks määrata „Maarjamõisa patoloogia“.

Katsuti	Fikseeritud koetükid: 3 steriilset katsutit (1,5 mL) Veri: K2E/K3E-katsuti (lilla kork)
Analüüsitav kogus	Fikseeritud koelõigud: soovitatavalt kahest erinevast paikmest, 6–10 värskelt lõigatud 10 µm paksust koelõiku, neist 2–3 lõiku ühes 1,5 mL katsutis, kasvajakudet peaks materjalisis olema ≥ 50% Veri: 4–10 mL
Säilivus	Fikseeritud koelõigud: peale parafiinplokist lõikude tegemist 3–5 ööpäeva. Peale lõikude tegemist hoida +4 °C. Laborisse võib saata toatemperatuuril. Veri: peab jõudma laborisse nelja tunni jooksul

Koematerjali puudumisel on võimalik analüüsi teha plasma rakuvabast DNA-st.

Analüüsi tegemise aeg: tööpäeviti, analüüsi valmimisaeg 3 päeva alates laborisse saabumise kuupäevast.

Analüüsimeetod: reaalaja polümeraasi ahelreaktsioon (RT-PCR) (Idylla™)

Vastuse vorm

Genotüüp ja interpretatsioon

Näidustus

Enne EGFR vastaste monoklonaalsete antikehade või BRAF/MEK inhibiitorite kasutamist vähiga patsientidel.