

## ARTIGO DE REVISÃO

## EXPRESSÃO DAS PROTEÍNAS MUTANTES DO KRAS NO ADENOCARCINOMA COLORRETAL – REVISÃO BIBLIOGRAFICA

Virgílio Ribeiro Guedes<sup>1</sup>, Natália Ferreira Bueno<sup>1</sup>, Victor Vargas de Oliveira<sup>1</sup>, Maria Cristina da Silva Pranchevicius<sup>1</sup>.

## RESUMO

**Introdução:** Os tumores colorretais foram o terceiro tipo de câncer mais diagnosticado em 2018. Na tentativa de aumentar a sobrevivência de pacientes com metástases, o teste KRAS é relevante para a escolha da terapia mais apropriada para o carcinoma colorretal (CCR). O gene KRAS (Kirsten Ras Oncogene) acompanhado dos genes BRAF e NRAS é responsável por codificar as proteínas RAS da importante via de sinalização celular RAS/RAF/MEK/ERK. A presença de KRAS mutante no CCR é o principal biomarcador tecidual que indica a resistência do tumor à terapia de primeira linha com anticorpos monoclonais inibidores do EGFR (Cetuximabe e Panitumumabe). **Metodologia:** Foi realizado um levantamento bibliográfico na base eletrônica Google Scholar utilizando os descritores: “colorectal cancer” and “KRAS gene”. **Resultados:** A conversão do aminoácido glicina (G) para ácido aspártico (D) no códon 12, também chamada de KRAS G12D, é a mutação mais frequente do KRAS nas neoplasias malignas gastrointestinais. Cerca de 40% dos CCRs têm a mutação no gene KRAS nos códons 12 e 13 do éxon 2. Houve predomínio (57,4%) das mutações no sexo masculino, e todas as amostras de cólon esquerdo, 66% das de cólon direito e 51,8% das de reto apresentaram mutações no KRAS. A sinalização de células com KRAS mutante determina um papel crítico no rompimento inicial da submucosa e, por isso é essencial para a progressão da invasão e metástase do CCR. A eficácia de anti-EGFR é limitada em pacientes que possuem mutação KRAS, entretanto 20% dos pacientes com KRAS selvagem se beneficiam diante da terapia. Atualmente não há droga ou vacina que consiga focalizar efetivamente a proteína KRAS G12D em humanos. **Conclusão:** Pode-se inferir que o CCR é um câncer de prognóstico ainda reservado. A decisão terapêutica apropriada depende do conhecimento do status mutacional do KRAS e as mutações no éxon 2 são claramente preditivas às terapias com anticorpos monoclonais inibidores do EGFR.

**Palavras-chave:** Carcinoma colorretal; gene KRAS; mutação.



ACESSO LIVRE

**Citação:** Guedes VR, Bueno NF, Oliveira VV, Pranchevicius MCS (2019) Expressão das proteínas mutantes do KRAS no adenocarcinoma colorretal – revisão bibliográfica. Revista de Patologia do Tocantins, 6(1): 50-53.

**Instituição:** <sup>1</sup>Universidade Federal do Tocantins, Tocantins, Brasil.

**Autor correspondente:** Virgílio Ribeiro Guedes; vrguedes@uft.edu.br

**Editor:** Guedes V. R. Medicina, Universidade Federal do Tocantins, Brasil.

**Publicado:** 06 de maio de 2019.

**Direitos Autorais:** © 2019 Guedes et al. Este é um artigo de acesso aberto que permite o uso, a distribuição e a reprodução sem restrições em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

**Conflito de interesses:** os autores declararam que não existem conflitos de interesses.

## ABSTRACT

**Introduction:** Colorectal tumors were the third most diagnosed type of cancer in 2018. Trying to improve the overall survival of patients with metastasis, the KRAS test is relevant for choosing a more appropriate therapy for the colorectal carcinoma (CRC). The KRAS gene (Kirsten Ras Oncogene) along with BRAF and NRAS genes is responsible for encoding RAS proteins from the important RAS / RAF / MEK / ERK cell signaling pathway. The presence of mutant KRAS in the CCR is the major tissue biomarker indicating the patient's resistance to first-line therapy with the monoclonal vaccine EGFR inhibitors (Cetuximabe and Panitumumabe). **Methodology:** A bibliographic survey was carried out in the database of Google Scholar using the descriptors: "colorectal cancer" and "KRAS gene". **Results:** The conversion of the amino acid glycine (G) to aspartic acid (D) at codon 12, also called KRAS G12D, is a more frequent mutation of KRAS in gastrointestinal malignancies. About 40% of the RCCs have a mutation in the KRAS gene at codons 12 and 13 of exon 2. There was a predominance (57.4%) of the mutations in the male sex, and all samples from the left colon, 66% of the right colon and 51.8% of the mutational changes in KRAS. Marking of cells with mutant KRAS determines a non-initial critical role of the submucosa and is therefore essential for progression of CCR invasion and metastasis. Anti-EGFR is limited to patients who have KRAS mutation, in addition, 20% of wild-type KRAS patients benefit from the therapy. There is currently no drug or vaccine that can concentrate on a KRAS G12D protein in humans. **Conclusion:** It can be inferred that the CRC still has a reserved prognosis. The multitude of KRAS and mutations in exon 2 are clearly prescribed in therapies with EGFR inhibitory monoclonal antibodies.

**Keywords:** Colorectal cancer; KRAS gene; mutation.

## INTRODUÇÃO

O câncer foi responsável por 9,6 milhões de mortes em 2018.<sup>1</sup> Em nível global, uma em cada seis mortes está relacionada à doença, ou seja, é a segunda causa de morte no mundo.<sup>1</sup> Os tumores colorretais são o terceiro tipo de câncer mais diagnosticado -1,8 milhão de casos- e o segundo tipo de câncer mais fatal - 862 mil mortes.<sup>1</sup>

Cerca de 90% dos carcinomas colorretais (CCR) são adenocarcinomas.<sup>2</sup> Lesões originárias de pólipos benignos que podem crescer na parede interna do intestino grosso e/ou reto e evoluírem a uma neoplasia maligna. Se realizado um diagnóstico precoce, este pode impedir o aparecimento de metástases e, possivelmente, permitirá a cura. Entretanto, aproximadamente 40%-50% dos pacientes desenvolvem câncer metastático e 80%-90% destes apresentam metástases não ressecáveis.<sup>3</sup>

O tratamento do CCR metastático inclui a quimioterapia, sendo que os principais fármacos utilizados são 5-Fluorouracil/Leucovorina, Irinotecano, Oxaliplatina e Trifluridina/Tipiracil.<sup>4</sup> Os quimioterápicos atuam em nível sistêmico e dessa forma, a não seletividade com as células cancerosas permite sua interferência no crescimento de células normais e resulta no aparecimento de efeitos colaterais.<sup>5</sup>

Na tentativa de aumentar a sobrevida de pacientes com metástases, o teste KRAS é relevante para a escolha da terapia mais apropriada para o CCR.<sup>4,6,7</sup> O gene KRAS (Kirsten Ras Oncogene), localizado no braço curto do cromossomo 12, juntamente com os genes BRAF e NRAS é responsável por codificar as proteínas RAS da importante via de sinalização celular RAS/RAF/MEK/ERK.<sup>4</sup>

A presença de mutações envolvendo o gene KRAS reduz dramaticamente a taxa de hidrólise do GTP com posterior aumento de estímulos intracelulares e formação resultante de células desordenadas.<sup>4,8</sup> Os polimorfismos nos códons 12,13,61,146 dos éxons 2,3,4 são encontrados em torno de 50% dos casos de CCR.<sup>4,8,9,10,11,12</sup>

Atualmente, a classificação do status mutacional do KRAS tem consequências clínicas importantes. A presença de KRAS mutante no CCR é o principal biomarcador tecidual que indica a resistência do tumor à terapia de primeira linha com anticorpos monoclonais inibidores do EGFR (Cetuximabe e Panitumumabe).<sup>4, 6,10</sup>

## METODOLOGIA

A revisão de literatura foi realizada na base de dados eletrônica Google Scholar. Para o levantamento bibliográfico foram utilizados os seguintes descritores: “*colorectal cancer*” and “*KRAS gene*”. Os artigos foram selecionados com base na leitura de títulos e resumos, considerando trabalhos apenas em inglês. Foram escolhidos 10 artigos com data de publicação nos últimos 5 anos.

## RESULTADOS

Há predomínio de mutações do KRAS em malignidades epiteliais.<sup>8</sup> A conversão do aminoácido glicina (G) para ácido aspártico (D) no códon 12, também chamada de KRAS G12D, é a mutação mais frequente do KRAS nas

neoplasias malignas gastrointestinais. Cerca de 45% dos cânceres pancreáticos e 13% dos cânceres colorretais têm a mutação KRAS G12D.<sup>11</sup> Mutações somáticas no KRAS ocorrem em 30-55% dos CCRs com predominância no códon 12.<sup>13, 14</sup> Cerca de 40% dos CCRs têm a mutação no gene KRAS nos códons 12 e 13.<sup>12</sup>

O KRAS é um importante biomarcador que identifica resistência à terapia com anticorpo monoclonal anti-EGFR.<sup>6, 13, 14</sup> A determinação de seu status faz parte da prática clínica na maioria dos países: na França, a prescrição em primeira linha do teste KRAS chega a 81%.<sup>6</sup>

Em um estudo,<sup>9</sup> 53,8% dos CCRs apresentavam mutações no KRAS, sendo a mais comum a mutação no códon 13, seguida da mutação no códon 12. Houve também mutação nos dois códons simultaneamente, sugerindo um caráter heterogêneo das mutações e do tumor.<sup>9, 10</sup> Ainda nesse estudo<sup>9</sup>, houve predomínio (57,4%) das mutações no sexo masculino, e todas as amostras de cólon esquerdo, 66% das de cólon direito e 51,8% das de reto apresentaram mutações no KRAS.

Em outro estudo,<sup>15</sup> não houve diferença da expressão de EGFR e gene KRAS entre o grupo controle e o grupo com câncer colorretal, e a expressão do gene KRAS foi maior em pacientes diagnosticados com CCR abaixo dos 60 anos de idade. Em uma comparação entre pacientes com KRAS selvagem e KRAS G13D, os pacientes com KRAS G13D tiveram uma pior resposta tumoral.<sup>12</sup> Apesar de um estudo correlacionar a expressão do KRAS com o grau de diferenciação do tumor<sup>9</sup> outro estudo determinou que a expressão do KRAS não mostrou correlação com o desfecho clínico.<sup>15</sup>

Para Boutin et.al,<sup>9</sup> apesar da sinalização do KRAS oncogênico ser dispensável para o crescimento adenomatoso, ela é essencial para a progressão da invasão e metástase do CCR. De acordo com o grupo, células com KRAS mutante ativado superam as células com KRAS selvagem e sua sinalização determina um papel crítico no rompimento inicial da submucosa. Ainda no mesmo estudo<sup>9</sup>, a tendência de maior frequência alélica do KRAS no avanço do estágio 1 para o estágio 4 do CCR confirmou a hipótese dos pesquisadores de que o oncogene KRAS é indispensável para a manutenção do CCR avançado. Além disso, tal estudo também comprovou que a extinção da sinalização do KRAS previne e elimina células cancerígenas invasivas ou metastáticas.<sup>9</sup>

Knigh e Irving,<sup>8</sup> constataram que mutações no KRAS aumentam a proporção de pacientes com recaída no tratamento e com envolvimento do Sistema Nervoso Central (SNC). Em outro estudo<sup>9</sup>, metástases pulmonares do CCR foram correlacionadas com a presença do oncogene, indicando que esta é duas vezes mais comum na presença de KRAS mutante nos pacientes. Kosmidou et.al<sup>10</sup> destacou em outro estudo que 68,2% das metástases hepáticas também apresentam a mutação. Entretanto, análises de estudos demonstraram que o CCR com KRAS selvagem é capaz de metastatizar e por isso a sobrevida de pacientes é limitada.<sup>9,16</sup>

No CCR metastático a decisão terapêutica apropriada só pode ser tomada quando o estado mutacional do KRAS for conhecido.<sup>6</sup> A eficácia de anti-EGFR é limitada em pacientes que possuem mutação KRAS.<sup>14</sup> Células que apresentam mutação C.38 G>A são mais sensíveis à terapia anti-EGFR comparada a outras mutações no KRAS, ao passo que

mutações nos códons 61 e 146 conferem resistência à essa terapia.<sup>10</sup> Já a mutação do KRAS no éxon 2 é preditiva para o não benefício com anti-EGFR.<sup>12</sup> Quando se excluem pacientes com mutação no KRAS, apenas 20% dos pacientes se beneficiam diante da terapia com anti-EGFR.<sup>13</sup>

A ativação do anticorpo anti-EGFR não só falhou ao tentar aprimorar desfechos, como também reduziu a sobrevida geral (SG) e a sobrevida livre de progressão (SLP) em tais pacientes, independente do estado mutacional ou não do KRAS.<sup>16</sup> No entanto, para outro estudo<sup>12</sup> não houve diferença na SG de pacientes com KRAS selvagem e KRAS G13D e apenas a KRAS G12D estava associada com efeito preditivo negativo na SG. Nesse mesmo estudo,<sup>12</sup> detectou-se também uma significância estatística no efeito do tratamento sobre a SLP entre KRAS selvagem e KRAS mutante.

Mutações no KRAS são fatores negativos para a eficácia do Cetuximabe,<sup>14</sup> e em pacientes com tumores que apresentam KRAS mutante, o uso de Cetuximabe apresentou efeito prejudicial.<sup>16</sup> Entretanto, o benefício do Cetuximabe também foi limitado em pacientes com tumor que apresentam KRAS selvagem, com apenas 3.5 meses de SG.<sup>16</sup> Em se tratando de mutações específicas, pacientes com mutações KRAS G13D se beneficiaram com a adição de Cetuximabe: 7.6 meses contra 5.7 meses na SG; 4 meses contra 1.9 meses na SLP.<sup>12</sup> O Cetuximabe teve uma resposta melhor em pacientes com mutação KRAS G13D em relação a pacientes com KRAS G12D.<sup>12</sup>

O uso de Cetuximabe e quimioterapia em relação a quimioterapia exclusiva apresentou diferença insignificante na SLP em pacientes com KRAS G13D.<sup>12</sup> A adição de Cetuximabe ao 5-Fluoracil (5-FU) / Leucovorina e Irinotecan não ocasionou nenhuma diferença na SLP independente do estado mutacional do KRAS. Contudo, pacientes com KRAS selvagem recebendo 5-FU tiveram sua SLP prolongada no grupo que recebeu Cetuximabe.<sup>16</sup>

Em relação ao Panitumumabe, sua adição ao 5-FU/Leucovorina e Oxaliplatina teve benefício restrito em pacientes com KRAS selvagem, com ligeiro aumento na SLP e aumento insignificante na SG. Sua adição ao 5-FU/Leucovorina e Irinotecan aumentou a SLP em pacientes com tumor KRAS selvagem,<sup>16</sup> porém não apresentou benefício na SLP em pacientes com KRAS mutante (7.3 semanas em relação a 7.4 semanas).<sup>12</sup>

O benefício do Cetuximabe e Panitumumabe foi restrito em pacientes com CCR metastático que apresentaram mutação no KRAS. Apenas 20-40% dos pacientes com CCR com KRAS selvagem respondem ao Cetuximabe seja em monoterapia ou em terapia combinada.<sup>14</sup>

Atualmente não há droga ou vacina que consiga focalizar efetivamente a proteína KRAS G12D em humanos<sup>11</sup>, porém segundo um relato de caso, paciente com CCR metastático teve regressão do seu tumor após administração de células TCD8<sup>+</sup> tendo como alvo o KRAS G12D mutante<sup>11</sup>. Inibidores da MEK suprimiram a resistência ao Cetuximabe em células de CCR com mutação KRAS.<sup>14</sup>

Com a progressão da doença, alelos KRAS mutados podem ser encontrados em amostras de sangue de pacientes com CCR, inclusive naqueles que respondem ao tratamento anti-EGFR.<sup>13</sup> Sua porcentagem cai quando o tratamento com anti-EGFR é suspenso e se mantém abaixo da detecção após

tratamento subsequente, e seu nível é reduzido até mesmo em populações com CCR resistente à terapia.<sup>13</sup>

Em relação a outros genes e marcadores tumorais, mutações no KRAS foram detectadas na maioria dos tumores PIK3CA, o que sugere um efeito sinérgico de ambos.<sup>10</sup> O KRAS e o BRAF atualmente estão sendo focados como potenciais biomarcadores de prognóstico e predição em pacientes com CCR metastático tratados com anti-EGFR.<sup>10</sup> A amplificação de genes KRAS e MET assim como mutação no domínio extracelular do EGFR mantem a resistência a anticorpos anti-EGFR em pacientes com CCR.<sup>13</sup> A expressão do gene KRAS não sofreu diferença com a variação do antígeno carcino-embriogênico (CEA) prévio ao início do tratamento do câncer.<sup>15</sup>

## CONCLUSÃO

Pode-se inferir que o CCR é um câncer de prognóstico ainda reservado. A decisão terapêutica apropriada depende do conhecimento do status mutacional do KRAS e as mutações no éxon 2 são claramente preditivas à terapias com anticorpos monoclonais inibidores do EGFR. Dessa forma, compreender o papel da sinalização do KRAS mutante na regulação de outros processos envolvidos na carcinogênese do cólon pode contribuir para novas abordagens terapêuticas nos casos de CCR resistentes à terapia anti-EGFR.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organização Pan-americana da Saúde – OPAS (Acesso em 10/02/2019 Disponível em: [https://www.paho.org/bra.../index.php?option=com\\_content&view=article&id=5588:folha-informativa-cancer&Itemid=1094](https://www.paho.org/bra.../index.php?option=com_content&view=article&id=5588:folha-informativa-cancer&Itemid=1094)).
2. Fletcher CDM. Diagnostic histopathology of tumors. 3<sup>th</sup> ed. Livingstone: Elsevier Churchill; 2007.
3. Campo K, Lipton L Mundo J Gastroenterol. 2007 28 de julho; 13 (28): 3806-15.
4. Folletto, Eliara Fernanda. Análise da variabilidade genética do gene KRAS em pacientes portadores de câncer colorretal do Rio Grande do Sul. 2015.
5. Instituto Oncoguia (Acesso em 10/02/2019 Disponível em: <http://www.oncoguia.org.br/conteudo/quimioterapia-para-cancer-colorretal/3229/180/>).
6. Barone, C.; Pinto, C.; Normanno, N.; Capussotti, L.; Cognetti, F.; Falcone, A.; Mantovani, L. KRAS early testing: consensus initiative and costeffectiveness evaluation for metastatic colorectal patients in an Italian setting. PLoS One, 2014; v. 9, n. 1, p. e85897.
7. Alves, Sara Cristina Sequeira. Impact of mutated KRAS signalling on autophagy regulation in colorectal carcinoma. 2014.
8. Knight, T.; Irving, J. A. Ras/Raf/MEK/ERK Pathway Activation in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia and Its Therapeutic Targeting. Front Oncol.2014; v. 4, n., p. 160.
9. Boutin, Adam T. et al. Oncogenic KRAS drives invasion and maintains metastases in colorectal cancer. Genes & development. 2017; v. 31, n. 4, p. 370-382.
10. Kosmidou, V.; Oikonomou, E.; Vlasi, M.; Avlonitis, S.; Katseli, A.; Tsiaras, I.; Mourtzoukou, D.; Kontogergos, G.; Zografos, G.; Pintzas, A. Tumor heterogeneity revealed by KRAS, BRAF, and PIK3CA pyrosequencing: KRAS and PIK3CA intratumor mutation profile differences and their therapeutic implications. Hum Mutat. 2014; v. 35, n. 3, p. 329-340.
11. Tran, Eric et al. T-cell transfer therapy targeting mutant KRAS in cancer. New England Journal of Medicine.2016; v. 375, n. 23, p. 2255-2262.

12. Feng, Q. Y.; Wei, Y.; Chen, J. W.; Chang, W. J.; Ye, L. C.; Zhu, D. X.; Xu, J. M. Anti-EGFR and anti-VEGF agents: important targeted therapies of colorectal liver metastases. *World J Gastroenterol.* 2014; v. 20, n. 15, p. 4263-4275.
13. Siravegna, Giulia et al. Clonal evolution and resistance to EGFR blockade in the blood of colorectal cancer patients. *Nature medicine.* 2015; v. 21, n. 7, p. 795.
14. Jeong, W. J.; Cha, P. H.; Choi, K. Y. Strategies to overcome resistance to epidermal growth factor receptor monoclonal antibody therapy in metastatic colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2014; v. 20, n. 29, p. 9862-9871.
15. Carvalho, Thais Inácio de et al. Analysis of gene expression EGFR and KRAS, microRNA-21 and microRNA-203 in patients with colon and rectal cancer and correlation with clinical outcome and prognostic factors. *Acta cirurgica brasileira.* 2017; v. 32, n. 3, p. 243-250.
16. Mahipal, A.; Kothari, N.; Gupta, S. Epidermal growth factor receptor inhibitors: coming of age. *Cancer Control.* 2014; v. 21, n. 1, p. 74-79.