



Estudo Genético da Resposta a Terapia anti-EGFR do Carcinoma Colorectal Metastático

Para uso em diagnóstico genético.

PACIENTE		INSTITUIÇÃO DE SAÚDE	
Nome:	N.A.	Nome do médico:	Isabel Gaspar
Data de nascimento:	N.A.	Referência médica:	GM042535
Género:	N.A.	Instituição de colheita:	IPO Porto
Etnia:	N.A.	Instituição:	HeartGenetics
Número de consulta/processo:	GM042535		
História familiar:	N.A.	Data de entrada:	2017-03-30
Motivo do médico requisitante:	Terapia anti-EGFR do carcinoma colorectal metastático	Data de saída:	2017-07-12
Motivo do laboratório de genética:	N.A.		
Propósito do teste:	Farmacogenética		
Tipo de amostra:	FFPE - Adenocarcinoma do cólon		

1. RESULTADOS

1.1. ANÁLISE MOLECULAR

Marcadores preditivos do efeito do tratamento com anticorpos monoclonais anti-EGFR (*KRAS*, *NRAS*):

Estado Mutacional: **POSITIVO**

A amostra analisada apresenta 1 mutação(ões):

KRAS c.34G>T, p.Gly12Cys: Esta mutação é preditiva de falta de resposta a terapia com anticorpos anti-EGFR.

Marcadores de prognóstico negativo (*BRAF*):

Estado Mutacional: **NEGATIVO**

Não foram identificadas mutações nestes marcadores.

Marcadores emergentes (*ERBB2*, *EGFR*, *KRAS*, *NRAS*, *PIK3CA*):

Estado Mutacional: **NEGATIVO**

Não foram identificadas mutações nestes marcadores.

1.2. RECOMENDAÇÕES DE GUIDELINES

De acordo com as recomendações da Sociedade Europeia para a Medicina Oncológica (ESMO), nos indivíduos com carcinoma colorectal metastático (CRCm), mutações no gene *RAS* são marcadores preditivos negativos do efeito do tratamento com anticorpos monoclonais anti-EGFR, enquanto que mutações no gene *BRAF* são marcadores de prognóstico negativo [1]. Deste modo, apenas indivíduos com CRCm com *RAS* não mutado devem ser considerados para o tratamento com cetuximab e panitumumab [1]. O algoritmo de Zurique da ESMO orienta a gestão terapêutica de acordo com o estado mutacional dos genes *RAS* e *BRAF* [1]. Mutações em *PIK3CA*, exão 20, mutações ativadoras em *ERBB2* e mutações no ectodomínio de *EGFR* são consideradas biomarcadores emergentes, existindo evidências insuficientes para que a sua utilização seja recomendada para fins de seleção terapêutica, fora do contexto de um ensaio clínico [1].

2. INFORMAÇÃO TÉCNICA

2.1. METODOLOGIA

1. A extração de DNA foi realizada no equipamento de extração automática MagNA Pure Compact (ROCHE) a partir de adenocarcinoma do colon em FFPE. A avaliação da concentração e qualidade de DNA foi realizada por recurso ao espectrofotómetro MultiskanGo (Thermo Scientific).
2. Avaliaram-se 171 mutações em 6 genes (Painel OncoAlvo®) utilizando uma plataforma Microchip de DNA de elevado rendimento, o sistema iPLEX® (Agena Bioscience, Inc). Esta plataforma permite uma análise genética otimizada, combinando os benefícios da química de extensão de primers de elevada precisão com a espectrometria de massa MALDI-TOF. As diferentes massas de cada produto de PCR gerado são depois convertidas em informação do estado mutacional.
3. O sistema iPLEX® tem uma precisão de 99%.

2.2. PAINEL OncoAlvo

BRAF	B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase ENST00000288602	KRAS	KRAS proto-oncogene, GTPase ENST00000311936
EGFR	epidermal growth factor receptor ENST00000275493	NRAS	neuroblastoma RAS viral oncogene homolog ENST00000369535
ERBB2	erb-b2 receptor tyrosine kinase 2 ENST00000269571	PIK3CA	phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha NM_006218.1

2.3. RISCOS E LIMITAÇÕES

A HeartGenetics utiliza um rigoroso controlo de qualidade, não sendo, no entanto, de excluir a possibilidade de erro que possa influenciar o resultado. A fiabilidade dos resultados está garantida sempre e quando tenham sido seguidas as recomendações da HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA, para a realização deste teste genético. Os resultados do presente relatório estão limitados ao conhecimento científico existente até à data de desenvolvimento deste exame. A HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA garante a qualidade do conhecimento científico apresentado no relatório. Assumiram-se como verdadeiras as declarações relativas à identidade do doente e médico, propósito do estudo, caso índice e à natureza e identificação dos produtos biológicos analisados.

2.4. GESTÃO DA QUALIDADE

A HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA é uma empresa com sistema de gestão da qualidade com certificação ISO NP 9001 e ISO 13485, e que aplica um Programa de Avaliação Externa da Qualidade do UK NEQAS. O laboratório que realiza os testes genéticos compromete-se, em qualquer momento, a cumprir todas as certificações e leis aplicáveis no seu território.

2.5. TERMOS E CONDIÇÕES

A HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA não será responsável, seja por contrato, responsabilidade civil, garantia ou qualquer outro estatuto ou qualquer outra base de danos especiais, incidentais, indiretos, punitivos, múltiplos ou consequenciais em relação aos resultantes deste documento ou a utilização inadequada do produto descrito neste documento ou qualquer utilização deste produto fora do âmbito de aplicação das licenças escritas expressas ou permissões concedidas pela HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA, na medida permitida pela lei.

Os resultados apresentados na Secção 3.1, Informações Genéticas, são da responsabilidade do laboratório que realizou o teste genético.

Nenhuma parte desta publicação pode ser reproduzida, distribuída ou transmitida sob qualquer forma ou por qualquer meio (eletrónico, mecânico, fotocópia ou gravação) ou armazenada num sistema de recuperação, por qualquer motivo que não seja o uso interno pelo licenciado sem a permissão prévia por escrito da HeartGenetics.

No desenvolvimento da sua atividade a HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA cumpre com rigor todas as exigências previstas na legislação adotada pelas instâncias da União Europeia. Cabe aos parceiros da HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA o cumprimento das normas internas dos ordenamentos jurídicos respetivos. A HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA não se responsabiliza por eventuais violações das normas vigentes nos países de origem dos seus parceiros.

© 2017 HeartGenetics, Genetics and Biotechnology SA. **Todos os direitos reservados.**

DIREÇÃO TÉCNICA

Cantanhede, 2017-07-12

Helena Vazão

Bióloga Molecular, PhD
Diretora Associada de Laboratório
(Responsabilidade da operação)

Susana Rodrigues Santos

Especialista em Genética Humana; Bióloga Molecular, PhD
Diretora de Laboratório
(Responsabilidade da validação)

3. APÊNDICE

3.1. INFORMAÇÃO GENÉTICA

Os resultados, descritos de acordo com a nomenclatura HGVS (<http://www.hgvs.org>), são apresentados na tabela seguinte. Não foram identificadas outras variantes do painel HeartGenetics, além das mostradas na tabela.

Gene	Referência COSMIC	Alteração nucleotídica ¹	Alteração aminoacídica	Frequência alélica ²
<i>KRAS</i>	COSM516	c.34G>T	p.Gly12Cys	57%

¹A identificação numérica associada a cada uma das alterações é indexada a uma sequência de referência obtida da base de dados COSMIC (<http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>).

²Frequência alélica determinada na amostra analisada. Este valor não reflete necessariamente a frequência alélica existente no tumor.

3.2. EVIDÊNCIAS PARA OS MARCADORES MOLECULARES

KRAS

KRAS é um proto-oncogene que codifica para uma proteína de baixo peso molecular com atividade GTPase, K-Ras, que transmite sinais a partir de recetores transmembranares EGFR, e outros recetores cinase de tirosina, até ao núcleo, controlando processos chave como a proliferação, a diferenciação e a sobrevivência celular [2]. Mutações específicas em *KRAS* tornam a proteína resultante constitutivamente ativa, independentemente do estado de EGFR [2, 3]. Por esta razão, os anticorpos monoclonais anti-EGFR cetuximab e panitumumab são ineficazes em clones contendo estas mutações ativadoras em *KRAS* [4, 5, 6, 7, 8].

4. REFERÊNCIAS

- [1] E. Van Cutsem, A. Cervantes, R. Adam, A. Sobrero, J. Van Krieken, D. Aderka, E. Aranda Aguilar, A. Bardelli, A. Benson, G. Bodoky, *et al.*, *Annals of Oncology* **27**, 1386 (2016).
- [2] N. Normanno, S. Tejpar, F. Morgillo, A. De Luca, E. Van Cutsem, and F. Ciardiello, *Nature reviews Clinical oncology* **6**, 519 (2009).
- [3] S. Lee, J. Cao, T. May, J. Li, L. Corona, N. Lee, Y. Wu, C. Wong, K. DeMartin, V. H. Brophy, *et al.*, *Journal of Molecular Biomarkers & Diagnosis* **6**, 1 (2015).
- [4] J.-Y. Douillard, K. S. Oliner, S. Siena, J. Tabernero, R. Burkes, M. Barugel, Y. Humblet, G. Bodoky, D. Cunningham, J. Jassem, *et al.*, *New England Journal of Medicine* **369**, 1023 (2013).
- [5] E. Van Cutsem, H.-J. Lenz, C.-H. Köhne, V. Heinemann, S. Tejpar, I. Melezínek, F. Beier, C. Stroh, P. Rougier, J. H. van Krieken, *et al.*, *Journal of Clinical Oncology* **33**, 692 (2015).
- [6] S. Misale, F. Di Nicolantonio, A. Sartore-Bianchi, S. Siena, and A. Bardelli, *Cancer discovery* **4**, 1269 (2014).
- [7] W. De Roock, B. Claes, D. Bernasconi, J. De Schutter, B. Biesmans, G. Fountzilas, K. T. Kalogeras, V. Kotoula, D. Papamichael, P. Laurent-Puig, *et al.*, *The lancet oncology* **11**, 753 (2010).
- [8] C. Therkildsen, T. K. Bergmann, T. Henrichsen-Schnack, S. Ladelund, and M. Nilbert, *Acta oncologica* **53**, 852 (2014).