

Appunti di genomica e oncologia

Importanza clinica delle mutazioni BRAF

Cos'è il melanoma

Il melanoma è la forma più aggressiva di neoplasia maligna cutanea. Ha origine nei melanociti, le cellule pigmentarie responsabili della colorazione della cute, dei peli e degli occhi. La maggior parte dei melanomi sono di colore nero o marrone, sebbene in alcune lesioni possano essere presenti aree di colore rosso, rosa, viola, blu o bianco.



L'incidenza del melanoma è in aumento in tutto il mondo. Secondo alcune stime recenti, ogni anno vengono diagnosticati circa 8.000 nuovi casi di melanoma in Italia¹ e 197.000 in tutto il mondo.²

Il melanoma è causato principalmente dall'esposizione alle radiazioni solari ultraviolette (UVA e UVB). I soggetti di carnagione chiara con tendenza alle scottature solari presentano un maggior rischio di sviluppare il melanoma rispetto ai soggetti di carnagione scura, sebbene il melanoma possa colpire qualsiasi tipo di pelle.

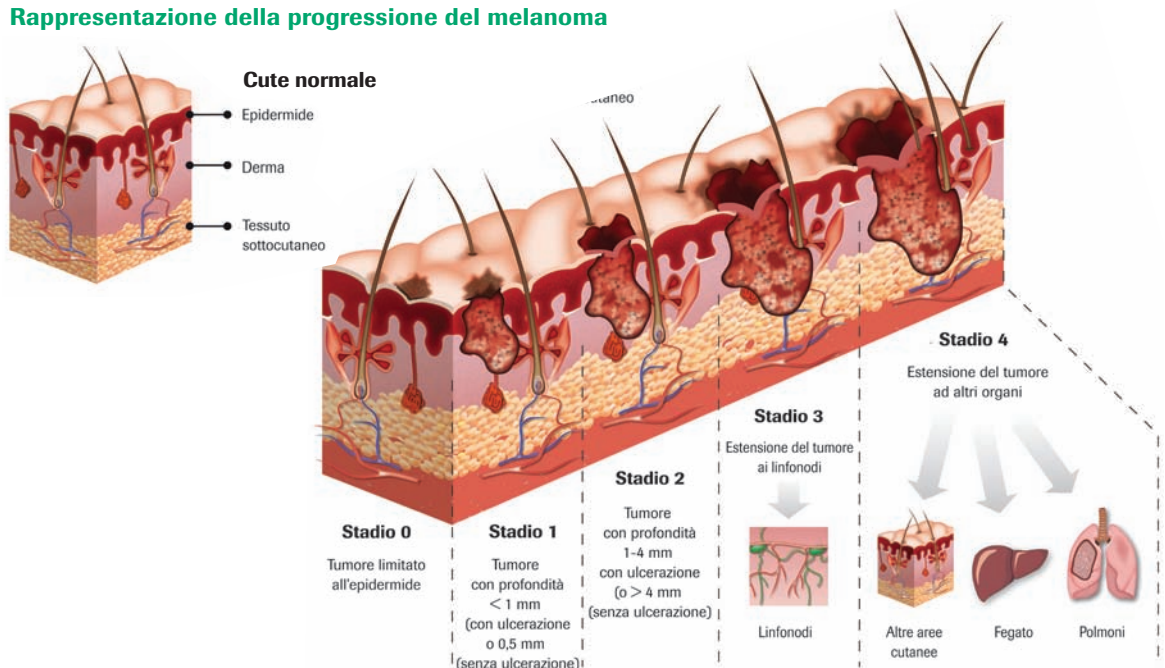
Anche la familiarità rappresenta un importante fattore di rischio.

Lo stadio patologico del melanoma è determinato dallo spessore della lesione, dalla profondità di penetrazione e dal grado di metastasi linfonodali e remote della neoplasia. L'esito del melanoma è notevolmente influenzato dallo stadio di malattia alla presentazione. La prognosi dei pazienti trattati tempestivamente, quando il melanoma interessa esclusivamente gli strati cutanei superficiali, è eccellente e la patologia va spesso incontro a guarigione definitiva.

Se invece la neoplasia diventa invasiva e si estende ad altre parti dell'organismo, il melanoma diventa molto difficile da curare e risulta solitamente fatale.

La sopravvivenza media dei pazienti affetti da melanoma metastatico è inferiore a nove mesi.³

Rappresentazione della progressione del melanoma



Opzioni terapeutiche per il melanoma

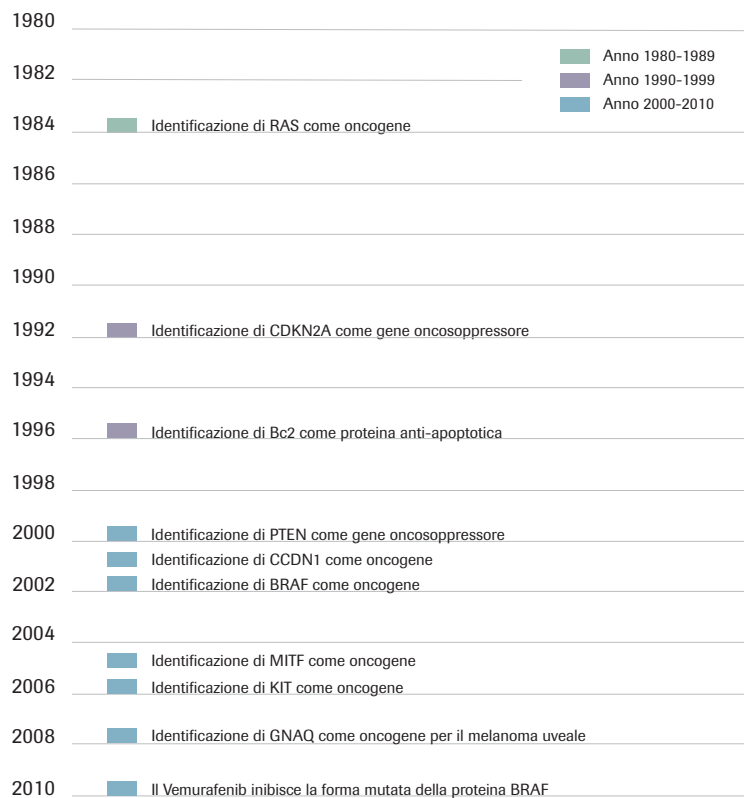
Le opzioni terapeutiche per il melanoma comprendono: chirurgia, radioterapia, chemioterapia e immunoterapia. L'ablazione chirurgica rappresenta il trattamento primario per i pazienti affetti da melanoma allo stadio iniziale. Nei pazienti con patologia ad alto rischio, la terapia adiuvante con interferone riduce il rischio di recidiva, pur non migliorando la sopravvivenza complessiva.⁴

Una volta che la neoplasia si sia estesa ad altri organi, nella maggior parte dei pazienti l'opzione prevalente è rappresentata dalla terapia sistemica. Anche la chirurgia e la radioterapia possono essere utilizzate per la palliazione o l'attenuazione della sintomatologia. Le terapie standard attualmente praticate per il melanoma in fase avanzata sono la dacarbazina (DTIC) e l'interleuchina-2.

Nonostante l'attuale carenza di terapie efficaci per il melanoma metastatico, nell'ultimo decennio sono stati compiuti notevoli progressi nell'individuazione dei complessi meccanismi di biologia molecolare che sottendono a questa patologia. Da questo tipo di ricerca iniziano quindi ad emergere agenti farmacologici mirati, come il Vemurafenib (Roche), che inibisce selettivamente la proteina BRAF mutata.

Sono stati inoltre compiuti progressi sul fronte dell'immunoterapia. Bloccando l'antigene 4 associato al linfocita T citotossico (CTLA-4) sulla superficie delle cellule T, si migliora la sopravvivenza complessiva dei pazienti affetti da melanoma metastatico.⁹

Melanoma: principali scoperte in genetica e trattamenti emergenti



Cos'è BRAF

La via di segnale della proteinchinasi attivata dai mitogeni (MAPK) svolge un ruolo fondamentale nel melanoma. Nelle cellule normali, questa via è strettamente regolata, ma nel caso del melanoma circa il 60% delle neoplasie sono portatrici di una mutazione attivante della chinasi BRAF.⁹

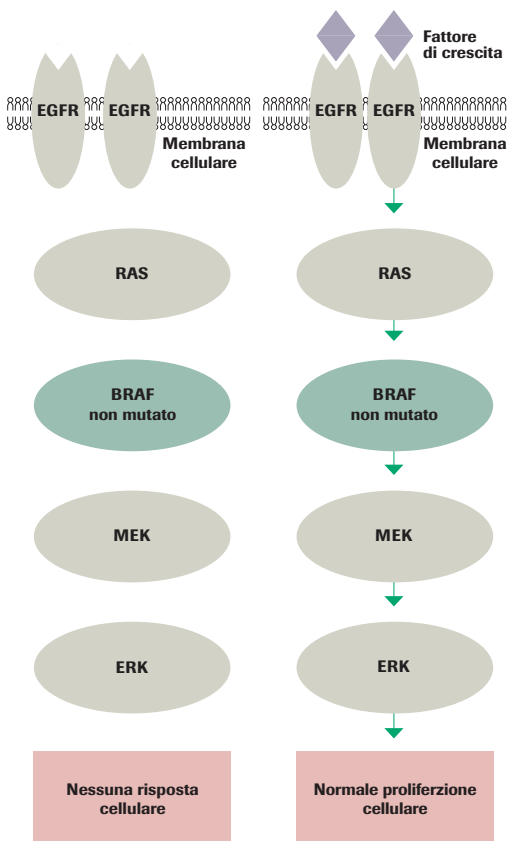
La mutazione più comune, che rappresenta circa l'80% delle mutazioni BRAF, è chiamata V600E¹⁰ e comporta la sostituzione della valina con acido glutammico nel codone 600. Questa mutazione dà luogo all'attivazione costitutiva della chinasi BRAF e della via di segnale della MAPK a valle determinando la proliferazione tumorale. Le mutazioni BRAF sono presenti anche nel 40-70% dei carcinomi tiroidei e in una piccola percentuale di altre neoplasie.

Il Vemurafenib (noto anche come RG7204) è una piccola molecola inibitoria della proteina BRAF mutata.

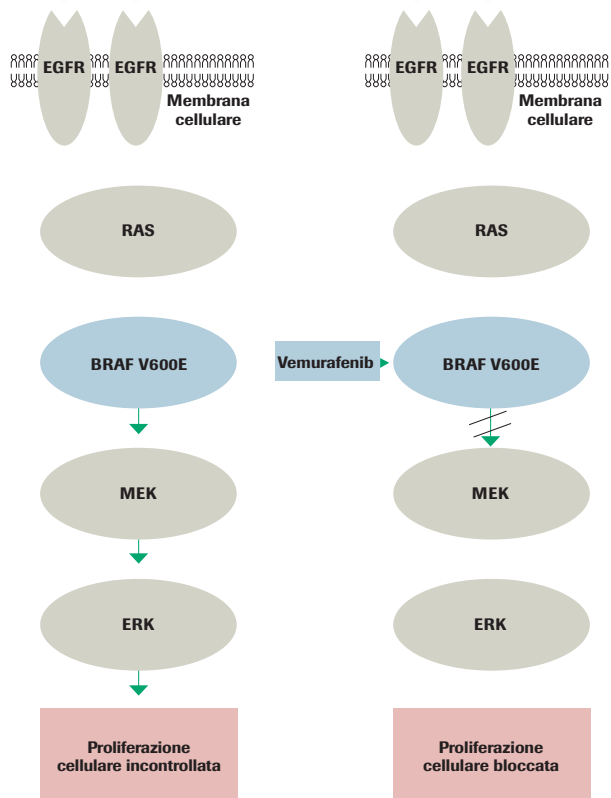
Le ricerche sugli inibitori della mutazione BRAF V600E sono tuttora in corso. Gli effetti del Vemurafenib sulla sopravvivenza complessiva sono tuttora al vaglio dello studio multinazionale di fase III (BRIM-3).

In questo studio, circa 600 pazienti affetti da melanoma in fase avanzata con mutazione BRAF V600E sono stati arruolati e randomizzati per il trattamento con Vemurafenib o dacarbazina.

Via di segnale regolata per la proteinchinasì attivata dai mitogeni nelle cellule normali



Via di segnale non regolata per la proteinchinasì attivata dai mitogeni nelle cellule con mutazione BRAF V600E



Test delle mutazioni BRAF

Poiché solo i pazienti con mutazione BRAF V600E sembrano trarre beneficio dal trattamento con gli inibitori di BRAF V600E, per determinare a quali pazienti debba essere somministrata la terapia occorre effettuare il test mutazionale BRAF.

Metodi analitici per il test mutazionale BRAF

Negli studi condotti sulla frequenza delle mutazioni BRAF nei melanomi sono stati descritti diversi metodi analitici per la determinazione dello stato di tali mutazioni, tra cui:

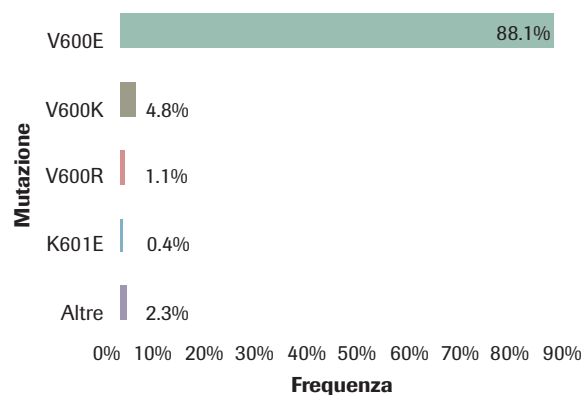
- Reazione a catena della polimerasi (PCR)
- Sequenziamento diretto
- Analisi di melting ad alta risoluzione, validata dal sequenziamento diretto
- Pirosequenziamento
- Analisi dei polimorfismi della conformazione del filamento singolo

Il sequenziamento diretto del DNA è uno dei metodi più usati per l'analisi del DNA ed è stato utilizzato per rilevare le mutazioni BRAF.¹² Si tratta di una tecnica altamente specifica, ma meno sensibile rispetto ad alcune tecniche di PCR real-time. I limiti di sensibilità possono comportare dei falsi negativi (mutazioni non rilevate). Le differenze di sensibilità possono spiegare le notevoli differenze riportate in letteratura relativamente alla frequenza delle mutazioni BRAF.¹² Il rischio di un falso negativo comporterebbe, per il paziente in questione, il mancato accesso alla terapia.

Inoltre, il sequenziamento diretto può richiedere un tempo più lungo per l'esecuzione (in media, 7-10 giorni). I metodi basati sulla PCR, sono più sensibili, più facilmente automatizzabili e più robusti. I kit PCR attualmente disponibili per le mutazioni BRAF iniziano ora ad apparire in commercio, ma gli esperti non sono a tutt'oggi concordi su quale sia il metodo ottimale per la determinazione delle mutazioni BRAF nei campioni clinici.

Il database COSMIC è un registro internazionale che cataloga le mutazioni somatiche nelle neoplasie e viene aggiornato di frequente. Le mutazioni BRAF più comuni per tipo di tumore riportate nel database COSMIC a partire dalla versione 47 sono catalogate sotto:

Mutazioni BRAF rilevate nelle neoplasie cutanee¹³



Il ruolo di BRAF nella medicina personalizzata

Prestare un'assistenza sanitaria personalizzata significa mirare il trattamento a gruppi specifici di pazienti che sono in grado di rispondere meglio a una determinata tipologia di farmaci. Si tratta quindi di un approccio su misura che, lungi dal proporre un modello generico, tiene conto del fatto che nella realtà clinica ogni paziente è diverso dall'altro e lo stesso vale per la patologia che lo affligge.

Lo stato della mutazione BRAF svolge un ruolo cruciale nell'aiutare i medici a decidere se un paziente affetto da melanoma metastatico possa potenzialmente beneficiare o meno della terapia con inibitori di BRAF. Determinare lo stato della mutazione BRAF è importante per garantire l'idoneità dei pazienti da sottoporre a terapia con Vemurafenib, oltre ad assicurare che i pazienti non idonei per una terapia specifica possano tempestivamente ricevere un trattamento alternativo e non siano esposti a rischi di tossicità e a inutili spese terapeutiche.

La possibilità di selezionare i pazienti con la maggior probabilità di trarre beneficio dagli inibitori di BRAF riduce gli oneri individuali e collettivi spesso associati alle terapie oncologiche. Perciò, l'assistenza sanitaria personalizzata ha un potenziale enorme in termini di miglioramento della qualità, della sicurezza e dell'efficacia delle terapie, a tutto vantaggio dei pazienti, dei medici, dell'SSN e della società in generale.



Bibliografia

1. Jemal A, Siegel R, Xu J, et al. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010; 60: 277-300.
2. GLOBOCAN 2008, International Agency for Research on Cancer. Accesso l'11 ottobre 2011 all'indirizzo "<http://globocan.iarc.fr>
3. Markovic SN, Erickson LA, Rao RD, et al. Malignant melanoma in the 21st century, part 2: staging, prognosis, and treatment. *Mayo Clin Proc* 2007; 82:490-513.
4. Kirkwood JM, Strawderman MH, Ernstoff MS, et al. Interferon alpha-2b adjuvant therapy of high-risk resected cutaneous melanoma: the Eastern Cooperative Oncology Group Trial EST 1684. *J Clin Oncol* 1996; 14: 7-17.
5. Tsao H, Atkins MB, Sober AJ. Management of cutaneous melanoma. *N Engl J Med* 2004; 351: 998-1012.
6. Atkins MB, Lotze MT, Dutcher JP, et al. High-dose recombinant interleukin-2 therapy for patients with metastatic melanoma: analysis of 270 patients treated between 1985 and 1993. *J Clin Oncol* 1999; 17: 2105-2116.
7. Carvajal RD, Chapman PB, Wolchok JD, et al. A phase II study of imatinib mesylate (IM) for patients with advanced melanoma harboring somatic alterations of KIT. *J Clin Oncol* 2009; 27:15s (suppl; abstr 9001).
8. Flaherty KT, Puzanov I, Kim KB, et al. Inhibition of mutated, activated BRAF in metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2010; 363: 809-819. 10. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2010; 363: 711-723.
9. Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 2002; 417: 949-954.
10. Rubinstein JC, Sznol M, Pavlick AC, et al. Incidence of the V600K mutation among melanoma patients with BRAF mutations, and potential therapeutic response to the specific BRAF inhibitor PLX4032. *J Transl Med* 2010; 8: 67.
11. Halaban R, Zhang W, Bacchiocchi A, et al. PLX4032, a selective BRAF(V600E) kinase inhibitor, activates the ERK pathway and enhances cell migration and proliferation of BRAF melanoma cells. *Pigment Cell Melanoma Res* 2010; 23: 190-200.
12. Miller CJ, Cheung M, Sharma A, et al. Method of mutation analysis may contribute to discrepancies in reports of (V599E) BRAF mutation frequencies in melanocytic neoplasms. *J Invest Dermatol* 2004; 123: 990-992. Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 2002; 417: 949-954.
13. Database COSMIC (versione 47), HYPERLINK "<http://www.sanger.ac.uk>"<http://www.sanger.ac.uk> alla data di accesso del 1° ottobre 2010.

