

# Ras gény metastatického kolorektálneho karcinómu

RNDr. Katarína Hlinková

Laboratórium molekulyvej a klinickej genetiky LF UK a DFNSP, Bratislava

Monoklonové protilátky proti receptoru epidermálneho rastového faktora (anti-EGFR moAbs) sú štandardnou súčasťou liečby metastatického kolorektálneho karcinómu. Aktivujúce mutácie v génoch *K-ras* a *N-ras* predstavujú prediktívne markery rezistencie na liečbu týmito protilátkami. Úloha jednotlivých Ras proteínov pri vzniku a progresii kolorektálneho karcinómu je napriek ich vysokej štruktúrálnej homológii odlišná. Hoci onkogény Ras boli objavené pred viac ako 30 rokmi, neustále sa zisťujú nové poznatky týkajúce sa ich štruktúry, regulácie a inhibície. Pochopenie presnej funkcie Ras génov v karcinogenéze tak môže viesť nielen k zlepšeniu stratifikácie cieľenej skupiny pacientov, ale aj k vývoju efektívnejšej cieľenej liečby.

**Kľúčové slová:** metastatický kolorektálny karcinóm, cieľená terapia, Ras onkogény

## Ras genes of metastatic colorectal carcinoma

Monoclonal antibodies against the epidermal growth factor receptor (anti-EGFR moAbs) are components of standard treatment for metastatic colorectal cancer. Activating mutations of the *K-ras* and *N-ras* genes represent predictive markers of resistance to anti-EGFR treatment. Despite their high structural homology, individual Ras proteins have distinct roles in development and progression of colorectal cancer. Although Ras oncogenes have been discovered more than 30 years ago, new information about their structure, regulation and inhibition is emerging constantly. Understanding the precise function of Ras genes in carcinogenesis so can lead not only to improved stratification of targeted patient population, but also to the development of more effective targeted therapy.

**Key words:** metastatic colorectal cancer, targeted therapy, Ras oncogenes.

Onkológia (Bratisl.), 2014; roč. 9(4): 238–241

## Úvod

Kolorektálny karcinóm je v celosvetovom meradle tretie najčastejšie nádorové ochorenie. Aj napriek dostupným skríningovým a preventívnym programom je značný počet pacientov diagnostikovaných v pokročilých štádiách ochorenia. Približne 20 – 25 % pacientov má v čase diagnózy potvrdené metastázy, pričom asi u 50 % pacientov dochádza k ich vzniku v priebehu ochorenia. Nedávne pokroky v nových chemoterapeutických režimoch zvýšili medián celkového prežívania pacientov s metastatickým kolorektálnym karcinómom (mKRC) z pôvodných 11 – 12 mesiacov v ére 5-fluorouracilu (5-FU), na viac ako 24 mesiacov v ére monoklonových protilátok (1).

Monoklonové protilátky proti receptoru epidermálneho rastového faktora (anti-EGFR moAbs), cetuximab a panitumumab, sa používajú na liečbu pacientov s mKRC na Slovensku už takmer 10 rokov. Hlavným problémom tejto biologickej liečby je absencia jednoznačných prediktívnych ukazovateľov liečebnej odpovede umožňujúca presnú stratifikáciu pacientov. Iniciálne bola liečba anti-EGFR moAbs indikovaná len pre pacientov, ktorých nádory vykazovali expresiu EGFR potvrdenú imunohistochemickým vyšetrením. Neskôr sa však preukázalo, že úroveň expresie EGFR nekoreluje s liečebnou odpoveďou. Nasledovalo intenzívne skúmanie mechanizmu primárnej rezistencie zamerané na molekulárne zmeny génu EGFR a onkogénnu

aktiváciu jeho efektorov. Výsledky rozsiahlych randomizovaných klinických štúdií potvrdili klinický prospech z liečby anti-EGFR moAbs len u pacientov s nemutovaným génom *K-ras* (2). Na základe toho regulačné úrady schválili liečbu cetuximabom a panitumumabom len pre túto skupinu pacientov. Genetické vyšetrenie mutácií v exóne 2 génu *Kras* (kodóny 12 a 13) sa stalo nevyhnutnou súčasťou diagnostického algoritmu mKRC.

Rozsiahle klinické skúsenosti s liečbou anti-EGFR moAbs však odhalili, že takmer polovica pacientov s nemutovaným génom *K-ras* nedosahuje liečebnú odpoveď (3). Napriek tomu, že mutácie v géne *Kras* sú prediktívne markery rezistencie na anti-EGFR moAbs, prítomnosť nemutovaného génu *Kras* nie je jednoznačným ukazovateľom liečebnej odpovede. V roku 2013 boli publikované výsledky troch randomizovaných klinických štúdií PRIME, FIRE-3 a PEAK, ktoré preukázali, že mutácie v ďalších kódujúcich exónoch génu *Kras* (exóny 3 a 4), ako i mutácie v géne *N-ras* (exóny 2, 3 a 4) rovnako korelujú s rezistenciou na liečbu anti-EGFR moAbs. Mutácie v týchto oblastiach sa vyskytujú približne u 17 % pacientov, u ktorých nebola potvrdená mutácia v exóne 2 génu *K-ras* (4). V súčasnosti je na začatie liečby anti-EGFR moAbs preto nevyhnutné vylúčiť prítomnosť mutácií v exónoch 2, 3 a 4 génov *K-ras* a *N-ras*, čím sa dosiahne presnejšia stratifikácia cieľenej skupiny pacientov.

## Ras onkogény

Ras onkogény patria do rozsiahlej RAS superrodiny, ktorá pozostáva z viac ako 150 malých guanozín-5-trifosfatáz (GTPáz). Pôvodne boli objavené pred viac ako 30 rokmi Jeniferom Harveyom a Wernerom Kirstenom, ktorých vysoko onkogénne sarkómové retrovírusy viedli k rýchlej tvorbe nádorov u myší. Gény zodpovedné za ich onkogénne vlastnosti dostali názov podľa svojich objaviteľov Harvey ras (*H-ras*) a Kirsten ras (*K-ras*) z myšieho sarkómu (*rat sarcoma*). Ďalšie štúdie viedli k objaveniu tretieho Ras génu v bunkách neuroblastómu, ktorý získal označenie ako Neuroblastoma-Ras (*N-ras*) (5).

Ras gény kódujú štyri vysoko príbuzné proteíny zložené zo 181 – 189 aminokyselín (H-RAS, N-RAS, K-RAS4A, K-RAS4B), ktoré majú rovnakú schopnosť viazať a hydrolyzovať guanínové nukleotidy. Ras proteíny neustále prechádzajú medzi aktívnym a neaktívnym štádiom v závislosti od väzby s GDP (guanosinmonofosfát) alebo s GTP (guanosintrifosfát). Za normálnych podmienok je Ras prítomný v neaktívnom štádiu vo väzbe s GDP, v ktorom zotrúva pokiaľ nedôjde k extracelulárnemu stimulu, akým je prítomnosť mitogénov, cytokínov alebo rastových faktorov. Ihneď po vytvorení väzby s GTP dochádza k štruktúrnym zmenám dvoch oblastí Ras proteínu označených ako „switch 1“ a „switch 2“. Tieto oblasti sú zodpovedné za funkčné interakcie s pozitívnymi alebo negatívnymi bunčnými regulátormi, ktoré za fyziologických

podmienok regulujú prechod medzi dvoma štádiami. Negatívnymi regulátormi sú výmenné faktory guanínových nukleotidov (GEFs), ktoré urýchľujú výmenu GDP za GTP, čím podporujú aktiváciu Ras proteínov. Medzi pozitívne regulátory patria GTP-ázové aktivačné proteíny (GAPs), ktoré stimulujú a niekoľkonásobne zvyšujú vlastnú GTP-ázovú aktivitu Ras proteínov, čo vedie k hydrolyze GTP a následne k ich inaktivácii (6).

Primárna štruktúra Ras proteínov zahŕňa vysoko konzervované domény. Sekvencia aminokyselín lokalizovaná na N-terminálnom konci proteínov vykazuje 100 % homológiu, pričom homológia nasledujúcich 80 aminokyselín je takmer 85 %. Jednotlivé Ras proteíny sa vzájomne odlišujú zložením posledných 25 aminokyselín na ich C-terminálnom konci, ktorý sa označuje ako hypervariabilný región (HVR) (obrázok 1). Špecifická aminokyselínová sekvencia HVR je výsledkom rozdielnej posttranslačnej modifikácie jednotlivých Ras proteínov a určuje ich subcelulárnu lokalizáciu, ako aj biologickú aktivitu (7).

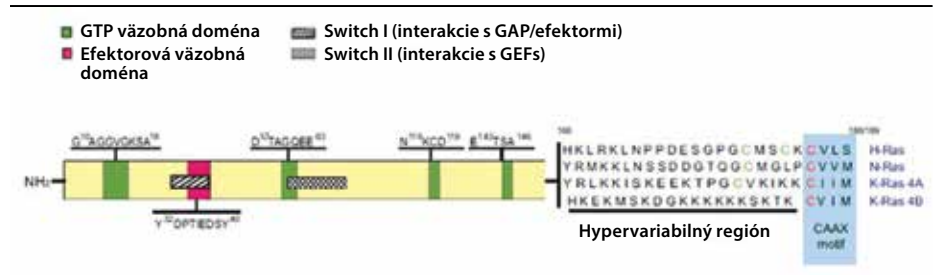
Ras proteíny kontrolujú intracelulárne signálne dráhy zahrnuté v základných bunkových procesoch vrátane proliferácie, diferenciácie, migrácií a apoptózy. V nádorových bunkách sú tieto procesy často deregulované aktivujúcou mutáciou v génoch Ras alebo v génoch kódujúcich ich efektorové proteíny. Aktivujúce mutácie v génoch Ras zhoršujú celkovú GTP-ázovú aktivitu a udržiavajú proteíny v konštitučne aktívnom stave, v ktorom zabezpečujú prenos signálov aj napriek absencii extracelulárneho stimulu. Ras onkogény sú najčastejšie mutované onkogény s 33 % incidenciou v ľudských nádoroch. Aktivujúce mutácie v génoch Ras sa najčastejšie vyskytujú v kodónoch 12, 13, alebo 61, pričom prevalencia mutácií v jednotlivých kodónoch génov *K-ras* a *N-ras* je rozdielna (obrázok 2) (8).

Ras onkogény zohrávajú významnú úlohu pri vzniku a progresii kolorektálneho karcinómu. Napriek vysokej štruktúrálnej homológii je ich biologická funkcia odlišná. Ras proteíny sa líšia nielen v posttranslačnom spracovaní, subcelulárnej lokalizácii a rozdielnym vzorom expzie, ale výrazne sa odlišujú aj v transformačnom a metastatickom potenciáli (7).

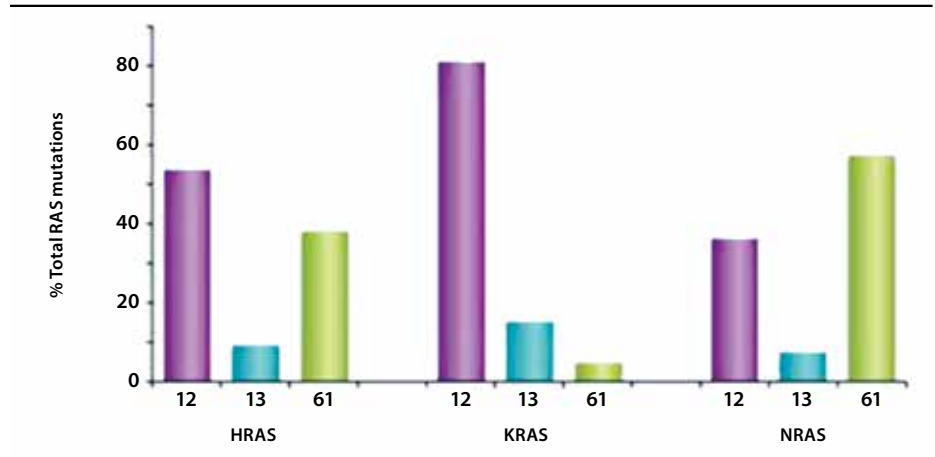
### Aktivujúce mutácie v géne *K-ras*

Gén *Kras* je lokalizovaný na chromozóme 12 v oblasti 12p12.1 a obsahuje 6 exónov, z toho exóny 2, 3 a 4 sú kódujúce. Gén kóduje dva proteínové varianty známe ako K-RAS4A a K-RAS4B, ktoré vznikajú alternatívnym zostrihom 4 exónu génu *Kras*. *K-ras* je najčastejšie mutovanou izoforomou a zodpovedá za 86 % všetkých Ras mutácií.

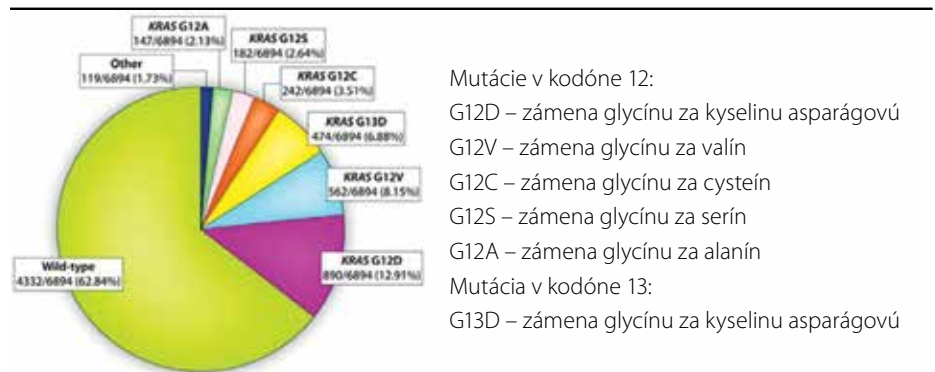
**Obrázok 1.** Primárna štruktúra Ras proteínov (7)



**Obrázok 2.** Frekvencia mutácií v kodónoch 12, 13 a 61 génov Ras (8)



**Obrázok 3.** Frekvencia jednotlivých typov mutácií v géne *K-ras* u pacientov s kolorektálnym karcinómom (14)



Mutácie v kodóne 12:  
 G12D – zámena glycinu za kyselinu asparágovú  
 G12V – zámena glycinu za valín  
 G12C – zámena glycinu za cysteín  
 G12S – zámena glycinu za serín  
 G12A – zámena glycinu za alanín  
 Mutácia v kodóne 13:  
 G13D – zámena glycinu za kyselinu asparágovú

Aktivujúca mutácia v géne *K-ras* sa vyskytuje v 22 % ľudských nádorov, pričom najčastejšie je prítomná v karcinóme pankreasu (> 80 %), kolorektálnom karcinóme (35 – 45 %) a nemalobunkovom karcinóme pľúc (20 – 30 %) (9).

Mutácie v géne *K-ras* zohrávajú významnú úlohu v počiatočných štádiách vzniku kolorektálneho karcinómu. Mutovaný KRAS stimuluje hyperproliferáciu intestinálnych epiteliálnych buniek v závislosti od aktivácie signálnej dráhy MAPK (mitogénmi aktivovaná proteínkináza). V bunkách vykazujúcich stratu funkcie tumorsupresorového génu *APC* (adenomatous polyposis coli) vedie k poruchám terminálnej diferenciácie a k expanzii nádorových kmeňových buniek (10).

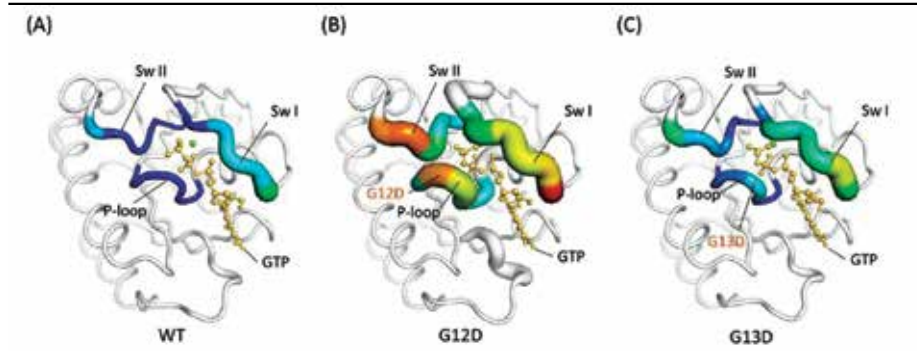
Približne 90 % všetkých aktivujúcich mutácií sa nachádza v exóne 2 génu *K-ras*, a to v kodóne 12 (80 % mutácií) a v kodóne 13 (10 % mutácií). Frekvencia jednotlivých mutácií v kodónoch 12

a 13 génu *K-ras* u pacientov s mKRK je zobrazená na obrázku 3. Mutácie v ostatných kódujúcich exónoch sú menej časté. Mutácie v exóne 3 génu *K-ras* (kodóny 59 a 61) sa vyskytujú v 5 % a v exóne 4 (kodóny 117 a 146) v 1 – 4 % prípadov (11).

Prítomnosť mutácie v géne *K-ras* nie je výrazne asociovaná s klinicko-patologickými znakmi. Niektoré štúdie však potvrdili vyšší výskyt mutácií v géne *K-ras* u žien ako mužov (41 % verus 32 %) a u pacientov starších ako 60 rokov. Mutácie v kodóne 13 génu *K-ras* sú častejšie asociované s nemucinóznym typom karcinómu, metastázami v lymfatických uzlinách a u pacientov v klinickom štádiu III (štádium C podľa Dukesa). Mutácie v kodóne 12 sú naopak častejšie prítomné v mucinóznom adenokarcinóme (12).

Zhoda medzi prítomnosťou mutácie v géne *K-ras* v primárnom nádore a vzdialených metastázach je 90 %. Vyššia miera nezahody (25 %)

**Obrázok 4.** Vplyv mutácií v géne *Kras* na primárnu štruktúru KRAS proteínu (18). Počítačová analýza regulačných oblastí nemutovaného KRAS proteínu (A), KRAS s mutáciou G12D (B) a KRAS s mutáciou G13D (C)



bola zaznamenaná v metastázach lymfatických uzlín, a preto tento typ materiálu nie je vhodný na genetické vyšetrenie. Metaanalýza rozsiahlych štúdií potvrdila, že mutácie v géne *K-ras* identifikované v primárnom nádore sú asociované so zvýšeným rizikom vzniku metastáz v pľúcach a mozgu, avšak nesúvisia so vznikom metastáz v pečeni (12). Prítomnosť mutácií v géne *K-ras* v pľúcnych metastázach je asociovaná s vyšším rizikom ich rekurencie. Na základe týchto výsledkov sa predpokladá, že analýza *K-ras* mutácií v pľúcnych metastázach môže pomôcť predpovedať priebeh ochorenia po ich chirurgickom odstránení (13).

### Prognostická a prediktívna hodnota jednotlivých typov mutácií v géne *K-ras*

Prognostický vplyv mutácií v géne *K-ras* u pacientov s mKRK bol skúmaný viacerými štúdiami, avšak s rozporuplnými výsledkami. Výsledky prvej multicentrickej štúdie RASCAL skúmajúcej prognostický význam jednotlivých typov *K-ras* mutácií viedol k záveru, že mutácia G12V je nepriaznivým rizikovým faktorom zlého prežívania. Ďalšie analýzy následne odhalili prognostický význam iných typov *K-ras* mutácií (14). Metaanalýza 23 štúdií však jednoznačne vylúčila prognostickú hodnotu mutácií v géne *K-ras* u pacientov s kolorektálnym karcinómom (15). Pravdepodobnou príčinou konfliktných výsledkov sú variácie v zbere údajov, štatistických analýzach, ako aj v rozličnej senzitivite použitých metód molekulárnej analýzy. Prognostická úloha mutácií v géne *K-ras* tak zostáva stále nejasná.

V súčasnosti sa veľmi intenzívne skúma vplyv mutácií v géne *K-ras* na účinnosť cytotoxikkej chemoterapie. Vplyv mutácií v géne *K-ras* na celkové prežitie (OS) a prežitie bez progresie (PFS) sa skúma u pacientov s mKRK liečených oxaliplatinou v monoterapii (FOLFOX6 ± bevacizumab). Pacienti s mutovaným génom *K-ras* dosahovali oveľa lepšie PFS (10 verus 8 mesiacov), OS

(24 verus 18 mesiacov) a mieru liečebnej odpovede (56 % verus 26 %) v porovnaní s pacientmi s nemutovaným génom *K-ras*. Aktivujúce mutácie v géne *K-ras* tak môžu predstavovať prediktívne markery liečebnej odpovede na oxaliplatinu (16).

Mutácie v géne *K-ras* predstavujú predovšetkým prediktívny marker rezistencie na liečbu anti-EGFR moAbs. Avšak jednotlivé typy mutácií odlišným spôsobom menia primárnu štruktúru proteínu, a následne tak vedú k rozdielnym biologickým vlastnostiam. Malignný potenciál nádorových buniek nesúcich mutáciu v kodóne 12 a 13 génu *K-ras* sa výrazne líši. Kým nádorové bunky s mutáciou v kodóne 13 majú nižšiu transformačnú schopnosť a sú menej agresívne, nádory nesúce mutáciu v kodóne 12 majú vyššiu schopnosť proliferácie a agresívnejší fenotyp. Jednotlivé mutácie v géne *K-ras* tak môžu dosahovať odlišnú prediktívnu hodnotu (7).

V súčasnosti je predmetom rozsiahlych štúdií vplyv mutácie G13D s liečebnou odpoveďou na anti-EGFR moAbs. Prvotná retrospektívna štúdia potvrdila spojitosť tejto mutácie s liečebnou odpoveďou na cetuximab v kombinácii s chemoterapiou. Pacienti s mutáciou G13D, na rozdiel od pacientov s mutáciou v kodóne 12, dosahovali štatisticky lepšie OS (7,6 verus 5,7 mesiaca) a PFS (4,0 verus 1,9 mesiaca). Tieto výsledky boli následne potvrdené aj v metaanalýze ďalších 10 štúdií. Avšak štúdia skúmajúca vplyv mutácií v géne *K-ras* s liečebnou odpoveďou na panitumumab (v prvej línii, druhej línii a v monoterapii) viedla k záveru, že mutácia G13D má rovnako nepriaznivý vplyv na OS ako mutácie v kodóne 12 a nemá vplyv na mieru odpovede a PFS. Tieto konfliktné výsledky sú pravdepodobne spôsobené rozdielmi medzi anti-EGFR moAbs – chimérická verus plne humanizovaná (17). Počítačová analýza primárnej štruktúry KRAS proteínu odhalila, že proteín nesúci mutáciu G12D má oveľa menšiu schopnosť viazať GAP z dôvodu rozsiahlych konformačných zmien lokalizovaných vo väzobnom mieste proteínu,

ako aj v oboch switch regiónoch. Naproti tomu mutácia G13D spôsobuje minimálne štrukturálne zmeny proteínu a dosahuje rovnakú úroveň hydrolyzy GTP ako nemutovaný KRAS proteín (obrázok 4). Tieto výsledky čiastočne vysvetľujú liečebnú odpoveď na cetuximab u pacientov s mKRK s mutáciou G13D, avšak na potvrdenie jednoznačnej úlohy tejto mutácie sú potrebné ďalšie štúdie (18).

### Aktivujúce mutácie v géne *N-ras*

Gén *N-ras* je lokalizovaný na chromozóme 1 v oblasti 1p13.2 a obsahuje 7 exónov, z toho exóny 2 až 5 sú kódujúce. Aktivujúce mutácie v géne *N-ras* sú prítomné v 8 % ľudských malignít. Najčastejšie sa vyskytujú v hematologických malignitách, najmä v prípade akútnej myeloidnej leukémie (15 – 20 %) a v 20 – 30 % maligných melanómov (7).

Frekvencia aktivujúcich mutácií v géne *N-ras* u pacientov s kolorektálnym karcinómom sa pohybuje v rozmedzí 2 – 4 %, pričom vyšší výskyt je zaznamenaný v metastatických a zle diferencovaných nádoroch (19, 20). Mutácie v géne *N-ras* sa častejšie vyskytujú v kodóne 61 (60 %) než v kodónoch 12 a 13 (35 %). Mutácie v ostatných kodónoch (59, 117 a 146) sa vyskytujú v menej ako v 1 % prípadov. Mutácie v géne *N-ras* sú najčastejšie asociované s nemutovaným génom *K-ras*. Vzájomná prítomnosť oboch mutovaných génov je veľmi zriedkavá. Prítomnosť mutácie v géne *N-ras* však nevyklučuje mutáciu v génoch *PIK3CA* (fosfatidylinozitol-3-kináza) alebo *BRAF* (B1 homológ v-Raf myšieho sarkómového onkovírusu) (20).

NRAS zohráva odlišnú úlohu pri vzniku a progresii kolorektálneho karcinómu ako KRAS. NRAS, na rozdiel od KRAS, nemení rastové vlastnosti intestinálnych epiteliálnych buniek, ale inhibuje ich schopnosť podstúpiť apoptózu v odpovedi na stresové podmienky. Nedávno bol odhalený molekulárny mechanizmus anti-apoptickej funkcie NRAS proteínu. Na rozdiel od ostatných Ras proteínov, NRAS aktivuje MAPK signálnu dráhu fosforyláciou proteínu STAT3 (signálny transduktor a aktivátor transkripcie 3). NRAS je jediným členom Ras rodiny proteínov, ktorý môže interagovať a priamo aktivovať STAT3. Príčinou je rozdielna lokalizácia jednotlivých Ras proteínov vnútri plazmatickej membrány. NRAS je v aktívnej forme lokalizovaný v špecifických mikrodoménach plazmatickej membrány, v tzv. lipidových raftoch s vysokým obsahom cholesterolu. Lipidové rafty predstavujú signalizačné centrum uľahčujúce interakcie medzi rozličnými signálnymi proteínmi

vrátane tyrozínkináz, Src kináz a podjednotiek G-proteínov. Na základe týchto výsledkov tak možno predpokladať efektívne ciele MAPK signálnej dráhy prostredníctvom vysoko špecifických inhibítorov MEK (mitogénom aktivovaná ERK kináza). Predklinické štúdie potvrdili, že MEK inhibítory inaktivujú STAT3 a indukujú apoptózu buniek kolorektálneho karcinómu nesúcich mutáciu v géne *N-ras* (21). Využitelnosť MEK inhibítorov v liečbe pacientov s mKRK ukážu výsledky ďalších štúdií.

Dlhodobo sa predpokladalo, že gén *N-ras* kóduje jednu izoformu proteínu s veľkosťou 189 aminokyselín. Len nedávno boli objavené ďalšie 4 izoformy NRAS proteínu (izoformy 2 – 5), ktoré majú rozdielnú veľkosť, štruktúru, vnútrobunkovú lokalizáciu, úroveň expzie, ako aj transformačný potenciál. Izoformy 3 a 5 sú pomerne malé, kódujú proteíny zložené z 20 (izoforma 3) a 40 aminokyselín (izoforma 5). Na rozdiel od ostatných izoform, ktoré sú lokalizované výhradne v cytoplazme, izoformy 3 a 5 sú prítomné aj v jadre bunky. Izoforma 5 má spomedzi všetkých izoform najvyšší transformačný a proliferačný potenciál. Objavenie týchto izoform môže otvoriť nové možnosti pre vývoj efektívnejších cieľných liečiv (22).

## RAS inhibítory

Napriek výraznému progresu vo vývoji cieľnej biologickej liečby boli aktivované Ras proteíny dlhodobo považované za „necieliteľné“. Prevažná väčšina súčasných biologických liečiv cieľ G-proteínové receptory lokalizované na povrchu bunky. Mutované Ras proteíny sú intracelulárne enzýmy, ktoré strácajú enzymatickú funkciu, čo vedie k zvýšeniu ich signálnej aktivity. Obnovenie enzymatickej funkcie narušeného aktívneho miesta použitím malej molekuly je preto veľmi ťažké. Prvotné pokusy blokovat aktivovaný Ras proteín boli založené na zabránení farnezylácie proteínu, ktorá predstavuje nevyhnutný proces v posttranslačnej modifikácii Ras proteínov. Inhibícia farnezylácie prostredníctvom farnezyltransferázy však nebola úspešná. Rovnako i ďalšie možnosti inhibície Ras zamerané na ovplyvnenie ich expzie, blokovanie efektorových proteínov, ako i narušenie interakcií s regulačnými proteínmi boli neefektívne (23).

Nedávno bolo objavené kľúčové väzobné miesto lokalizované v blízkosti switch 2 regiónu KRAS proteínu, čo viedlo k intenzívnemu vývoju

malomolekulových RAS inhibítorov špecificky blokujúcich jeho aktivujúce mutácie. Prvý navrhnutý inhibítor predstavuje malú molekulu, ktorá špecificky inaktivuje mutáciu G12C. Inhibítor sa kovalentne viaže do väzobného miesta a tlmí aktivitu mutovaného proteínu, pričom funkcia nemutovaných Ras proteínov zostáva neporušená. Väzba inhibítora na G12C vedie k narušeniu oboch switch oblastí proteínu a efektívne bráni väzbe s kinázou Raf, ktorá predstavuje hlavný efektor Ras proteínov. V súčasnosti sa vyvíjajú stratégie potrebné pre hodnotenie potenciálu tohto farmaceutického prístupu v bunkových systémoch a *in vivo* modeloch. Potenciál klinickej využiteľnosti tohto inhibítora tak preukážu až ďalšie analýzy (24). V prípade potvrdenia jeho efektivity tak môžeme očakávať výrazný prelom v liečbe viacerých onkologických malignít.

## Záver

Aktivujúce mutácie v génoch *K-ras* a *N-ras* predstavujú prediktívne markery rezistencie na anti-EGFR protilátky. Napriek tomu, že oba gény sú známe niekoľko desaťročí, ich význam v karcinogéze nie je úplne objasnený. Úloha jednotlivých Ras proteínov pri vzniku a progresii kolorektálneho karcinómu je odlišná. Súčasné štúdie však potvrdili, že i jednotlivé typy mutácií v génoch Ras môžu predstavovať odlišnú prognostickú a prediktívnu hodnotu. Nevyhnutným predpokladom na zdokonalenie prediktívnych modelov je pochopenie molekulárnych mechanizmov interakcie medzi génmi Ras, cieľnými inhibítormi a cytostatikami. Vzhľadom na intenzívny výskum týchto mechanizmov môžeme v blízkej budúcnosti očakávať nielen presnejšiu stratifikáciu pacientov, ale i nové možnosti cieľnej liečby metastatického kolorektálneho karcinómu.

## Literatúra

1. Temraz S, Mukherji D, Shamseddine A. Sequencing of treatment in metastatic colorectal cancer: Where to fit the target. *World J Gastroenterol*. 2014;20(8):1993–2004.
2. Grothey A, Lenz HL. Explaining the unexplainable: EGFR antibodies in colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2012;30(15):1735–1737.
3. Pentheroudakis G, Kotoula V, De Roock W, et al. Biomarkers of benefit from cetuximab-based therapy in metastatic colorectal cancer: interaction of EGFR ligand expression with RAS/RAF, PIK3CA genotypes. *BMC Cancer*. 2013;13:49.
4. Fakih M. Targeted therapies in colorectal cancer: the dos, don't's, and future directions. *J Gastrointest Oncol*. 2013;4(3):239–244.
5. Fernández-Medarde A, Santos E. RAS in cancer and developmental diseases. *Genes Cancer*. 2011;2(3):344–358.

6. Rajalingam K, Schreck R, Rapp UR, Albert S. Ras oncogenes and their downstream targets. *Biochem Biophys Acta*. 2007;1773(8):1177–1195.
7. Castellano E, Santos E. Functional specificity of RAS isoforms: So similar but so different. *Genes Cancer*. 2011;2(3):216–231.
8. Prior IA, Lewis PD, Mattos C. A comprehensive survey of Ras mutations in cancer. *Cancer Res*. 2012;72:2457–2467.
9. Arrington AK, Heinrich EL, Lee W, et al. Prognostic and predictive roles of KRAS mutation in colorectal cancer. *Int J Mol Sci*. 2012;13:12153–12168.
10. Moon BS, Jeong WJ, Park J, et al. Role of oncogenic K-Ras in cancer stem cell activation by aberrant Wnt/ $\beta$ -catenin signaling. *J Nat Cancer Inst*. 2014;106(2):doi:10.1093/jnci/djt373.
11. Forbes SA, Bindal N, Bamford S, et al. COSMIC: mining complete cancer genomes in the Catalogue of Somatic Mutations in Cancer. *Nucleic Acids Res*. 2011;39:D945–D950.
12. Ribeiro KB, Ribeiro KB, Feres O, et al. Clinical-pathological correlation of KRAS mutation status in metastatic colorectal adenocarcinoma. *World J Oncol*. 2013;4(4–5): 179–187.
13. Zabaleta J, Aguinalgalde B, Izquierdo JM, et al. The presence of mutations in the K-RAS gene does not affect survival after resection of pulmonary metastases from colorectal cancer. *ISRN Surgery*. 2014;Article ID 157586:1–7.
14. Parsons BL, Myers MB. Personalized cancer treatment and the myth of KRAS wild-type colon tumors. *Discov Med*. 2013;15(83):259–267.
15. Ren J, Li G, Ge J, et al. Is K-ras gene mutation a prognostic factor for colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Dis Colon Rectum*. 2012;55(8):913–923.
16. Basso M, Strippoli A, Orlandi A, Martini M, et al. KRAS mutational status affects oxaliplatin-based chemotherapy independently from basal mRNA ERCC1 expression in metastatic colorectal cancer patients. *Br J Cancer*. 2013;108(1):115–120.
17. Kumar SS, Price TJ, Mohyeldin O, et al. KRAS G13D mutation and sensitivity to cetuximab or panitumumab in colorectal cancer cell line model. *Gastroint Cancer Res*. 2014;7(1):23–26.
18. Chen CH-CH, Tze-Kiong E, Yen-Yi L, et al. Computational Analysis of KRAS mutations: Implications for different effects on the KRAS p.G12D and p.G13D mutations. *PLOS ONE*. 2013;8(2):e55793.
19. Irahara N, Baba Y, Noshio K, et al. NRAS mutations are rare in colorectal cancer. *Diag Mol Pathol*. 2010;19(3):157–163.
20. Shen Y, Wang J, Han X, et al. Effectors of epidermal growth factor receptor pathway: the genetic profiling of KRAS, BRAF, PIK3CA, NRAS mutations in colorectal cancer characteristics and personalized medicine. *PLOS ONE*. 2013;8(2):e81628.
21. Wang Y, Veihö S, Vakiani E, Peng S, et al. Mutant N-Ras protects colorectal cancer cells from stress-induced apoptosis and contributes to cancer development and progression. *Cancer Discov*. 2013;3(3):294–307.
22. Eisfeld AK, Schwind S, Hoag KW, et al. NRAS isoforms differentially affect downstream pathways, cell growth, and cell transformation. *PNAS*. 2014;doi:10.1073/pnas.1401727111.
23. Stephen AG, Esposito D, Bangi RK, et al. Dragging Ras back in the ring. *Cancer Cell*. 2014;25(3):272–281.
24. Rudolph J, Stokoe D. Selective inhibition of mutant Ras protein through covalent binding. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2014;53(15):3777–3779.

## RNDr. Katarína Hlinková

Laboratórium molekulej a klinickej genetiky LF UK a DFNSP  
Limbová 1, 833 40 Bratislava  
k.hlinkova@gmail.com