

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ EGFR, BRAF, KRAS, ALK ΚΑΙ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ PD-L1 ΣΕ ΣΕΙΡΑ ΜΗ ΜΙΚΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΩΝ ΠΝΕΥΜΟΝΑ ΕΝΟΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟΥ ΤΡΙΤΟΒΑΘΜΙΟΥ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΥ

Ρουμπούτσου Μ.¹, Φούκας Π.², Σπάθης Α.², Αγγελοπούλου Ε.², Λεβεντάκου Δ.², Παναγιωτίδης Ι.²

¹Β' Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ, Π.Γ.Ν. «Αττικόν», Αθήνα

²Β' Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ, Π.Γ.Ν. «Αττικόν», Αθήνα

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο μοριακός έλεγχος έχει επιτρέψει την εφαρμογή στοχευμένων θεραπειών στο καρκίνωμα πνεύμονα. Καθώς η εθνικότητα μπορεί να επιδρά στο προφίλ μεταλλάξεων των όγκων, αναζητήθηκαν γονίδια που είχαν αναλυθεί σε ασθενείς ελληνικής εθνικότητας με μη μικροκυτταρικό καρκίνωμα πνεύμονα (ΜΜΚΠ).

ΜΕΘΟΔΟΙ

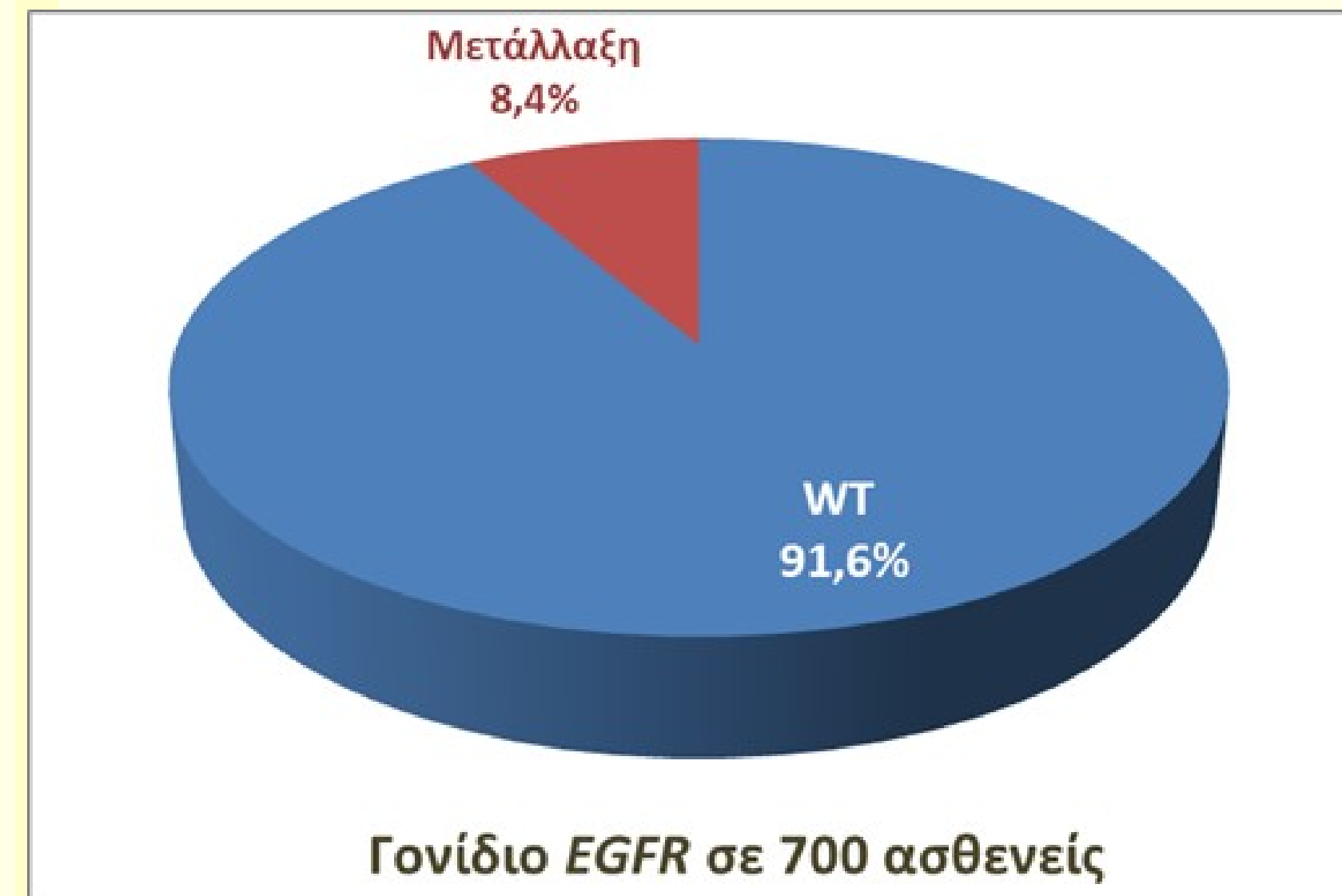
Συλλέχθηκαν 833 ασθενείς με καρκίνωμα πνεύμονα από τον Ιανουάριο 2010 έως Σεπτέμβριο 2021 στο Π.Γ.Ν. «Αττικόν». Εξαιρέθηκαν ασθενείς με μικροκυτταρικό καρκίνωμα πνεύμονα, χωρίς γνωστή ιστολογία, και με μεταστάσεις στον πνεύμονα, οπότε στη μελέτη συμπεριλήφθηκαν 718 ασθενείς με ΜΜΚΠ. Τα περισσότερα δείγματα (665) προέρχονται από ιστορικά δείγματα μονιμοποιημένα σε φορμόλη και εγκλεισμένα σε κύβους παραφίνης. Τα υπόλοιπα (53) προέρχονται από κύβους παραφίνης, στους οποίους εγκλείστηκε φυγοκεντρηθέν δείγμα προοριζόμενο για κυτταρολογική εξέταση βρογχικών εκκριμάτων ή πλευριτικού υγρού (cell block).

Για την μοριακή ανάλυση εφαρμόστηκε RT PCR (Real Time PCR), ενώ για την ανίχνευση των ανασυνδυασμών του γονιδίου ALK χρησιμοποιήθηκε FISH. Σε 5 ασθενείς πραγματοποιήθηκε NGS (Next Generation Sequencing).

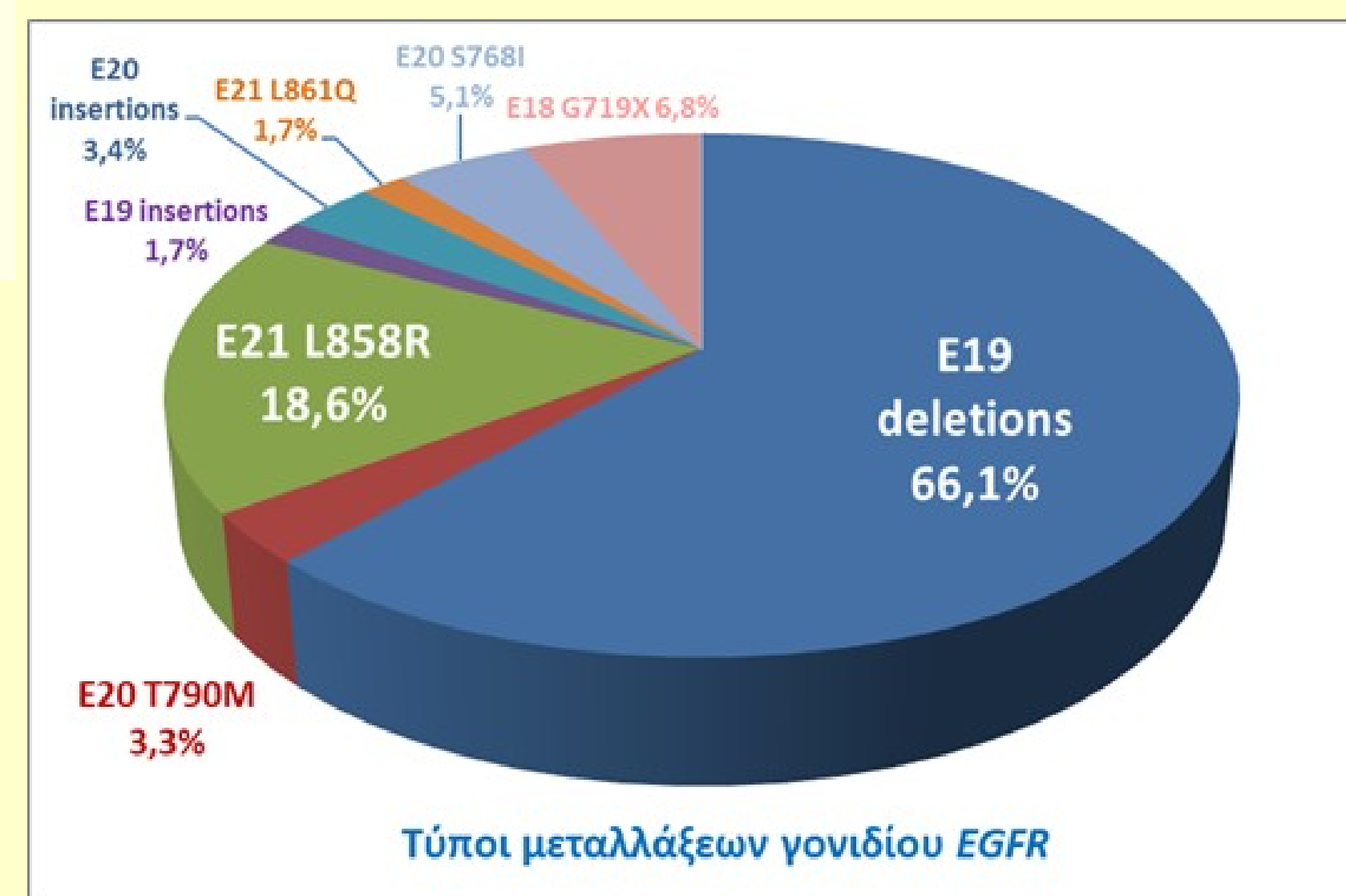
Η έκφραση του PD-L1 υπολογίστηκε μέσω IHC και υπολογίστηκε το TPS (Tumour Proportional Score). Οι συσχετίσεις μεταξύ μεταλλάξεων EGFR, KRAS, BRAF, ανασυνδυασμού ALK και έκφρασης PD-L1 με κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους έγιναν σε ένα μέρος του πληθυσμού μελέτης για κάθε μετάλλαξη ξεχωριστά, καθώς δεν είχαν ελεγχθεί όλοι οι ασθενείς για όλες τις μεταλλάξεις. Οι συσχετίσεις έγιναν με Pearson χ^2 ή με Fischer exact test (όπου ήταν κατάλληλο) μέσω του λογισμικού IBM® SPSS®. Η στατιστική σημαντικότητα τέθηκε στο 5%.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Οι περισσότεροι ασθενείς ήταν άνδρες (72.1%), με μέση ηλικία 67 έτη (ελάχιστο 34, μέγιστο 93). 126 ασθενείς (17.7% του δείγματος) έφεραν μεταλλάξεις. 59 ασθενείς (8.4% από 700) έφεραν μεταλλάξεις EGFR, με συχνότερες τις E19del (5.4%). 61 ασθενείς (34.7% από 176) είχαν μεταλλάξεις KRAS, με συχνότερη την G12C (13.6%). Μόνο 6 από 358 ασθενείς που είχαν ελεγχθεί για μεταλλάξεις BRAF έφεραν τη μετάλλαξη V600E (1.7%). 4 από 482 ασθενείς (0.8%) έφεραν ανασυνδυασμό ALK. Από 379 ασθενείς που είχε υπολογιστεί το PD-L1 TPS, 162 (42.7%) είχαν TPS <1%, 141 (37.2%) TPS 1-49% και 76 (20.1%) TPS ≥50%.



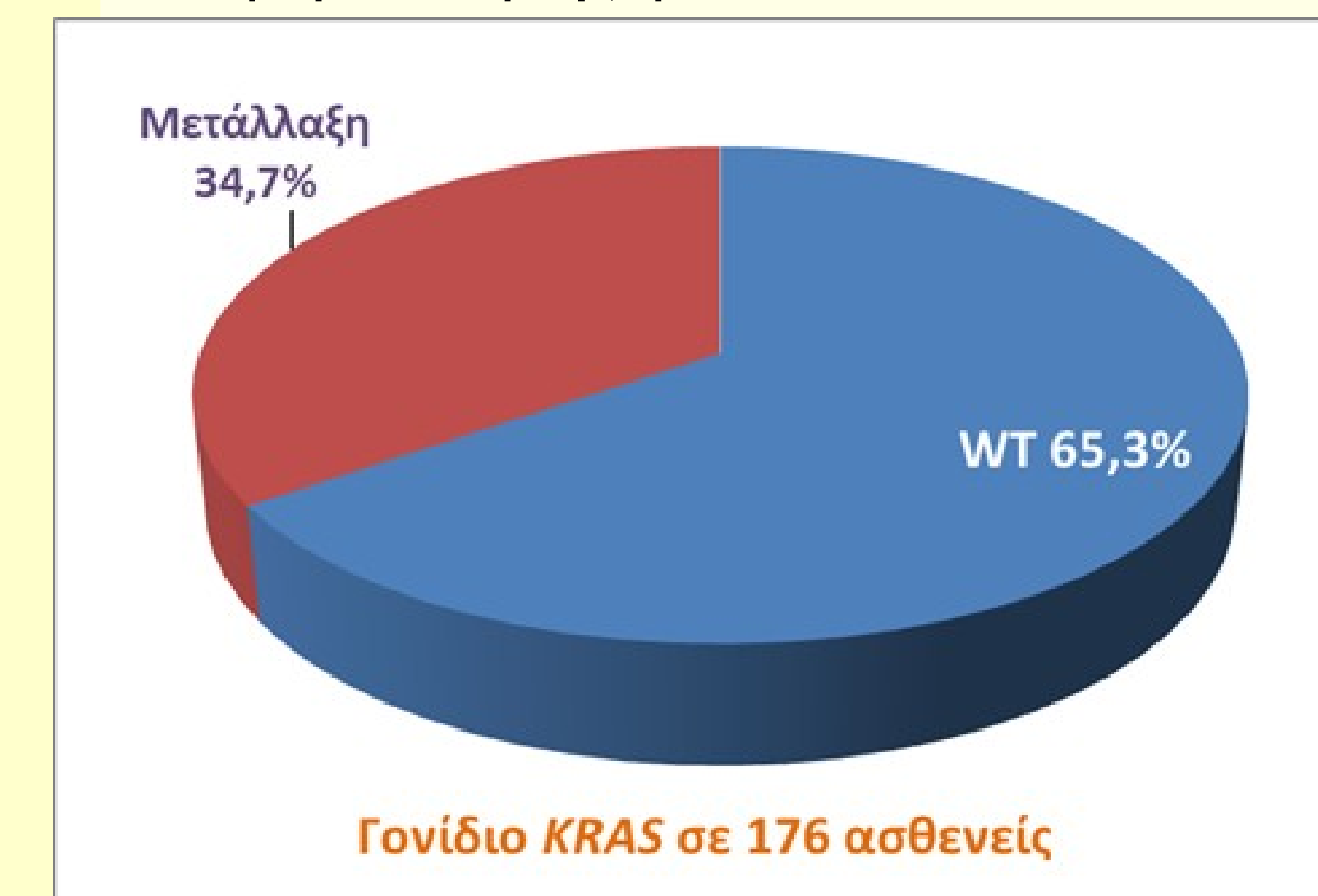
Εικόνα 1. Ποσοστό ασθενών με EGFR μετάλλαξη



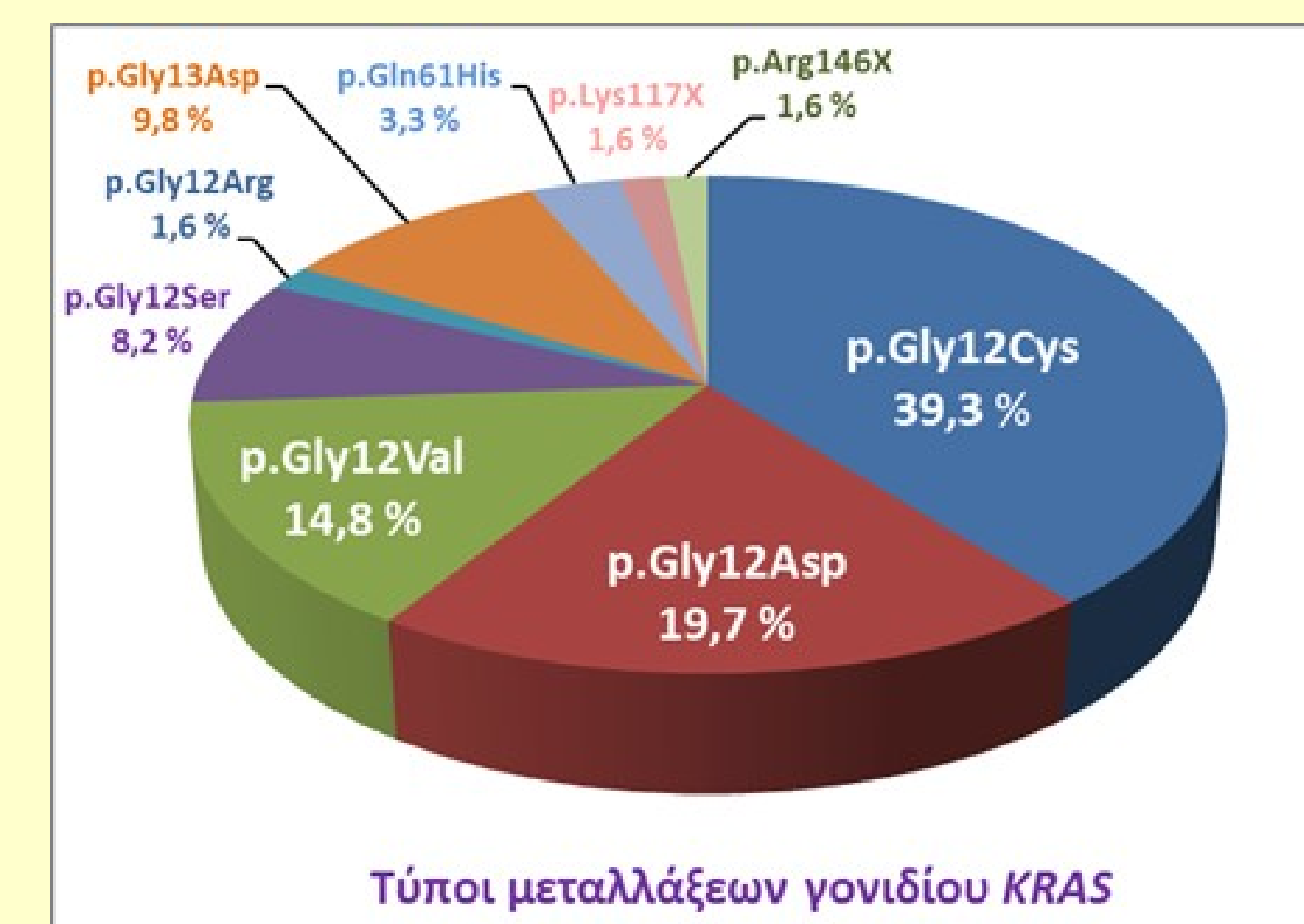
Εικόνα 2 Ποσοστά διαφορετικών τύπων EGFR μεταλλάξεων

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Οι περισσότερες μεταλλάξεις παρατηρήθηκαν σε μη πλακώδη ιστολογία (19.2% vs. 6.2%, p=0.003) και στο γυναικείο φύλο (28.8% vs. 13.4%, p<0.001). Η ηλικία δε συσχετίστηκε στατιστικά σημαντικά με τις μεταλλάξεις. Οι μεταλλάξεις EGFR ήταν συχνότερες στις γυναίκες (20% vs. 4%, p<0.001) και στους μη καπνιστές (30.8% vs. 0.9% ή 5.6% σε καπνιστές ή πρώην καπνιστές, αντίστοιχα, p<0.001). Μεταλλάξεις KRAS ανιχνεύονταν συχνότερα στα χειρουργικά παρασκευάσματα (50.8% vs. 25.9% στις βιοψίες, p<0.05). Η μετάλλαξη V600E στο BRAF συσχετίστηκε με υψηλό βαθμό διαφοροποίησης (18.2% vs. 1.1% στο χαμηλό βαθμό διαφοροποίησης, p<0.001).



Εικόνα 3 Ποσοστό ασθενών με KRAS μεταλλάξεις.

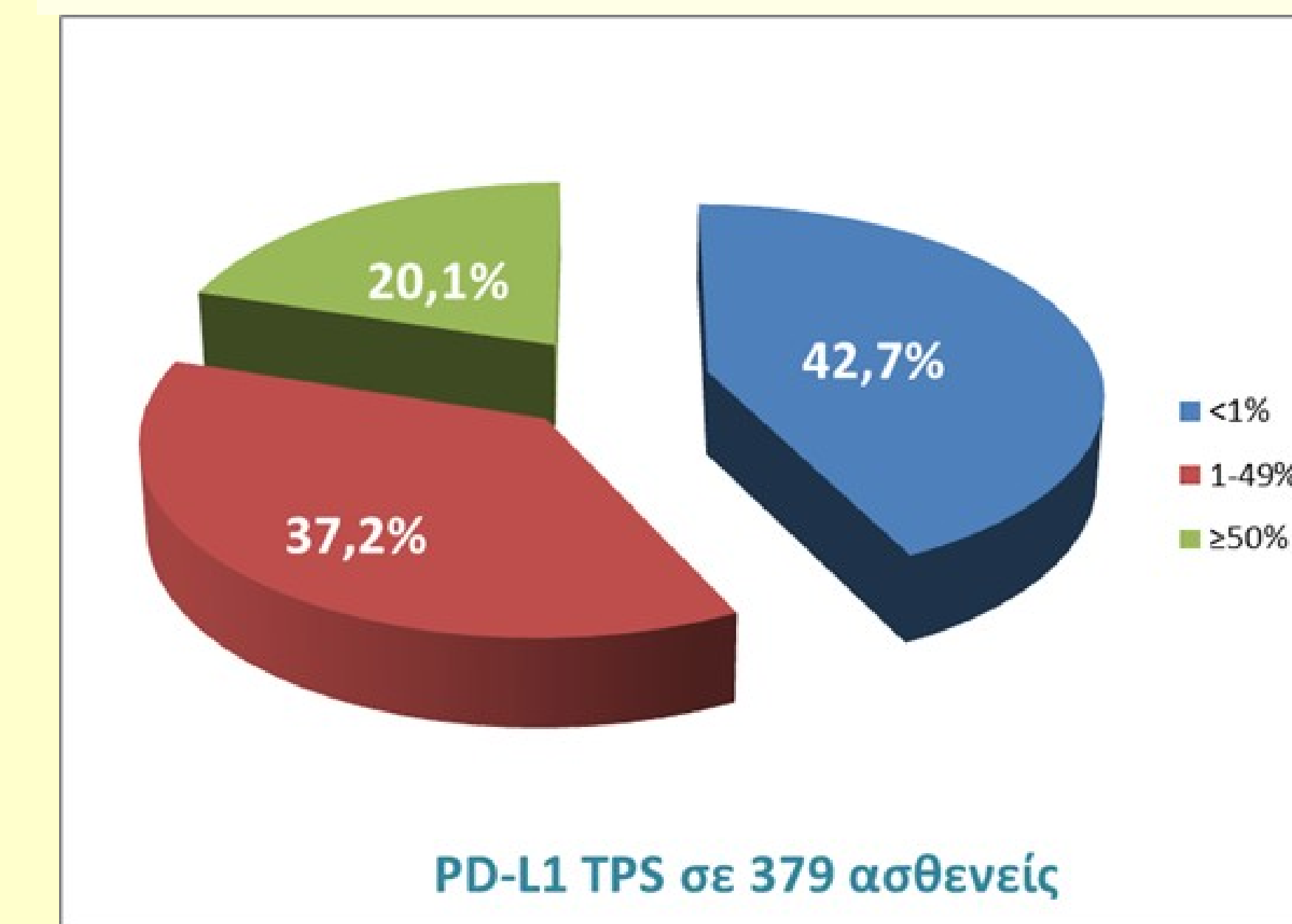


Εικόνα 4 Ποσοστά διαφορετικών τύπων KRAS μεταλλάξεων

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι ασθενείς παρουσίασαν συχνότητες μεταλλάξεων και συσχετίσεις που είναι σύμφωνες με τη βιβλιογραφία. Ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών με καρκίνωμα πνεύμονα φέρουν μεταλλάξεις που δεν έχουν ταυτοποιηθεί. Με τη σταδιακή εδραίωση του NGS στην καθ' ημέρα πράξη, αναλύονται ταυτόχρονα πολλαπλά δείγματα και με υψηλή αξιοπιστία και ακρίβεια παρέχονται πληροφορίες για γενετικές αλλαγές πολλών γονιδίων για κάθε δείγμα ξεχωριστά.

Κρίνεται αναγκαίο στις επόμενες μελέτες είτε αναδρομικές είτε προοπτικές στον ελληνικό πληθυσμό να υπάρχουν δεδομένα για όλους τους ασθενείς, συγκεκριμένα για το φύλο, την ηλικία, την κατανάλωση καπνού σε πακέτα-έτη ή την κατανάλωση ηλεκτρονικού τσιγάρου, την ιστολογική ταξινόμηση του ΜΜΚΠ με το αρχιτεκτονικό πρότυπο ανάπτυξης, το βαθμό διαφοροποίησης, την έκφραση TTF-1, τη σταδιοποίηση, τη χειρουργική αντιμετώπιση, τη ληφθείσα θεραπεία (στοχευμένη, ανοσοθεραπεία, χημειοθεραπεία), τα PFS και OS, ώστε να γίνουν συσχετίσεις με τις πιθανές γενετικές αλλαγές που θα ανιχνευθούν μέσω NGS.



Εικόνα 5. Ποσοστά ασθενών με διαφορετικά PD-L1 TPS