

Investigação do Padrão de Mutação do gene EGFR, o status de outros membros da família HER e Expressão de PD1 e PDL1 em Casos de Câncer Cervical Epidermóide e Adenocarcinoma.

Michelle Torres, Andréia Melo, Isabele Ávila Small, Rachel Fonseca, Hayna Inada, Thais Abreu, Carlos Gil Ferreira, Luiz Claudio S Thuler
INCA, RJ

INTRODUÇÃO

Mundialmente, o câncer cervical (CC) é o segundo tipo de câncer mais comum em mulheres(1). A prevenção é uma das ações mais importantes para a estagnação do crescimento do número de mulheres que desenvolverão o CC, mas um diagnóstico precoce e um tratamento eficaz são fundamentais para a diminuição da morbidade e da mortalidade relacionados a essa doença.

Assim como no câncer de pulmão (2), se a mutação no EGFR estiver presente, assim no câncer de mama se o HER 2 estiver alterado e assim como no melanoma, se a expressão de PD1 e PDL1 estiver aumentada, um tratamento personalizado com inibidores de EGFR, HER 2 e PD1 e PDL1 pode trazer grande benefício para esses pacientes.

O EGFR faz parte da família HER (Human Epidermal growth factor Receptor) que é composta por 4 ligantes, HER1 ou EGFR, HER2, HER3 e HER4. Apesar do EGFR ser o receptor mais estudado no CC, a literatura vem demonstrando que diferentes membros da família HER têm papel na carcinogênese de certos tumores, sobretudo o HER 1, HER2 e HER3(3). O câncer de mama e o câncer de pulmão são os tumores malignos onde temos mais informações sobre o papel e potencial interação dos membros da família HER no processo carcinogênico.

Pela elevada mortalidade do CC, a busca de uma população alvo para um tratamento específico poderá mudar o curso da doença para os portadores de mutação no EGFR e alteração da expressão dos membros da família HER e PD1 e PDL1.

Na literatura, não há um consenso com relação à presença, frequência e consequências da mutação do EGFR e da expressão dos membros da família HER e PD1 e PDL1 no CC.

A maioria dos estudos relata não ter encontrado essa mutação em nenhuma das amostras avaliadas (4-8), todavia, nota-se com atenção, o fato de Write et al, 2012 detectaram mutação do EGFR em 9 dos 25 casos de CC epidermóide avaliados. O estudo vigente visa explorar amplamente a dicotomia na literatura com relação à presença da mutação do EGFR e o expressão dos membros da família HER e PD1 e PDL1 no CC.

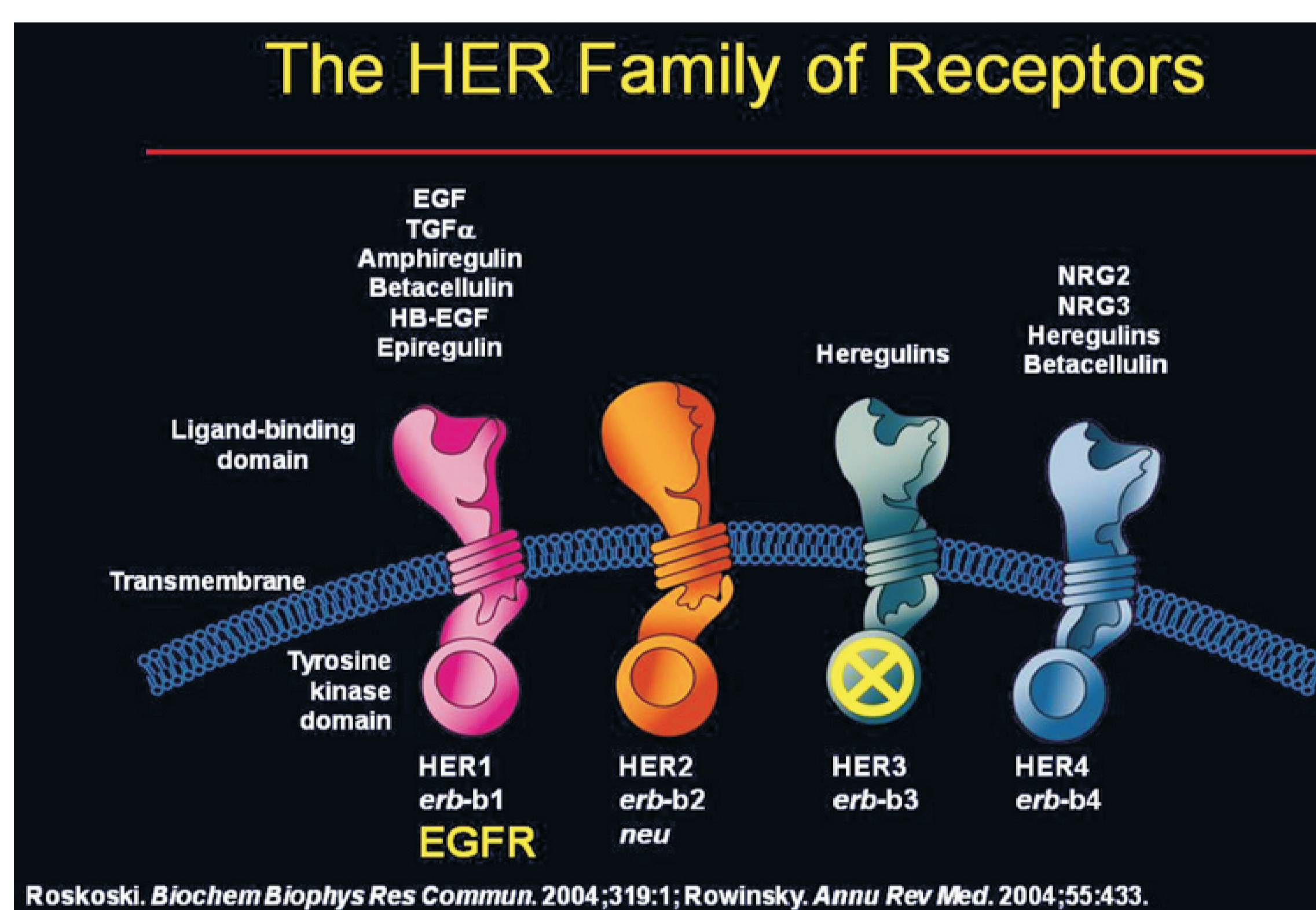


Figura 1: Os receptores da família HER

OBJETIVOS DO ESTUDO

Objetivo Principal:

Avaliar o padrão de mutação do gene EGFR e a sua prevalência em pacientes com CC. Nossa hipótese primária é que um subgrupo de pacientes com CC apresente mutação do EGFR.

Objetivos Secundários:

Avaliar os outros genes membros da família HER e PD 1 e PDL 1 em busca de amplificação ou alteração na expressão. Nossa hipótese secundária é que um subgrupo de pacientes com CC possa apresentar alguma alteração em outro membro da família HER e/ou em PD1 e PDL1.

MATERIAIS E MÉTODOS

Nos últimos cinco anos, o Instituto Nacional do Câncer (INCA), teve em média 600 casos de CC por ano, dentre eles 80% são do tipo epidermóide e 20% são adenocarcinoma. Para testar a hipótese principal, planejamos analisar todos os pacientes de 2011 com CC para a presença de expressão e mutação do EGFR e expressão de PD e PDL1. A pesquisa está sendo realizada da seguinte forma:

- 1) Seleção dos Blocos
- 2) Extração de DNA
- 3) Quantificação e análise da qualidade dos ácidos nucleicos
- 4) Avaliação da mutação do EGFR através de sequenciamento direto
- 5) Tipagem do HPV
- 6) Montagem da TMA para avaliação de HER, PD1 e PDL1
- 7) Imuno-histoquímica para HER 2, HER 3, HER 4 PD1 e PDL1
- 8) FISH para HER 2

RESULTADOS

Em 2 anos de estudo, revisamos todos os paciente com CC de 2011 que foram tratados no INCA, por volta de 650 lâminas. Realizei 180 cortes do material selecionado, extraí DNA de 230 amostras, sequenciei 173 amostras e 1 mutação foi encontrada. Confeccionamos as TMAs. Uma mutação foi encontrada no éxon 18, uma substituição do aminoácido Glutamato por Glutamina na posição 711 (E711Q ou c.2131G>C). Mutação nesta posição do EGFR já foi encontrada em Câncer de Pulmão (COSMIC database). As TMAs estão sendo analisadas.

CONCLUSÕES

Há uma grande perda de pacientes durante o processo de seleção e extração de DNA por conta da má conservação do material. Até agora, encontramos apenas uma mutação no EGFR sendo improvável que possa ser usado como alvo de tratamento específico. Apesar desse resultado negativo, a expressão dos outros membros da família HER e PD1 e PDL1 podem trazer informações relevantes sobre carcinogêneses e possível tratamento alvo.

REFERENCIAS

- (1) <http://www1.inca.gov.br/estimativa/2012/>
- (2) Longatto-Filho A, Pinheiro C, Martinho O, Moreira MA, Ribeiro LF, Queiroz GS, Schmitt FC, Baltazar F, Reis RM. Molecular characterization of EGFR, PDGFRA and VEGFR2 in cervical adenocarcinoma. BMC Cancer. 2009 Jun 29;9:212
- (3) da Cunha Santos G., Shepherd F.A., Tsao M.S. Egfr mutations and lung cancer. Annu. Rev. Pathol. 2011;6:49–69.
- (4) Iida K, Nakayama K, Rahman MT, Rahman M, Ishikawa M, et al. (2011) EGFR gene amplification is related to adverse clinical outcomes in cervical squamous cell carcinoma, making the EGFR pathway a novel therapeutic target, Br J Cancer. 105: 420–427.
- (5) Arias-Pulido H, Joste N, Chavez A, Muller CY, Dai D, Smith HO, Verschraegen CF. Absence of epidermal growth factor receptor mutations in cervical cancer. Int J Gynecol Cancer. 2008;18:749–754.
- (6) El Hamdani W, Amrani M, Attaleb M, Laantri N, Ennaji MM, Khyatti M, El Mzibri M. EGFR, p16INK4a and E-cadherin immuno-histochemistry and EGFR point mutations analyses in invasive cervical cancer specimens from Moroccan women. Cell Mol Biol. 2010 Sep 11;56 Suppl:OL1373-84
- (7) Woodworth CD, Diefendorf LP, Jette DF, Mohammed A, Moses MA, Searleman SA, Stevens DA, Wilton KM, Mondal S. Virology. Inhibition of the epidermal growth factor receptor by erlotinib prevents immortalization of human cervical cells by Human Papillomavirus type 16. Virology. 2011 Dec 5;421(1):19-27.
- (8) Schilder RJ, Sill MW, Lee YC, Mannel R. A phase II trial of erlotinib in recurrent squamous cell carcinoma of the cervix: a Gynecologic Oncology Group Study. Int J Gynecol Cancer. 2009 Jul;19(5):929-33