

CANCER BRONCHO-PULMONAIRE: EGFR et KRAS

Le gène KRAS est un facteur pronostic, pas encore de traitement mais très fréquemment muté dans le cancer du poumon

Le gène EGFR est une cible thérapeutique en routine

EPIDEMIOLOGIE :

- 12% de l'ensemble des cancers diagnostiqués chez l'Homme
- 1^{ère} cause de décès par cancer chez l'homme et 3^{ème} cause chez la femme, dû au diagnostic tardif à un stade où le traitement guéri difficilement le patient. Donc l'efficacité thérapeutique à un stade avancé est assez médiocre.
- Survie globale sur 5 ans ~ 10%

- 2 axes dans la thérapie actuelle : _traitement ciblé et

_diagnostic précoce avec prévention et examens de + en + performants.

*Le risque de Mutations d'ADN augmente à partir de 100cigarettes.

* ->Très nette augmentation du %age de jeunes et ++ femmes qui fument, or susceptibilité aux mutations + importante chez les jeunes.

* AUCUN cancer familiaux connus

*Il y a un risque variable en fonction du profil enzymatique des patients à consommation de tabac égale

Tout est possible : non fumeur avec mutation ou fumeurs avec système de réparations des mutations très efficaces donc ne développant pas de cancer...

Il n'y pas que la mutation elle-même qui initie le cancer, il y a aussi d'autres facteurs individuels comme la susceptibilité individuelle...

MOYENS DE DIAGNOSTIC :

Il y a plusieurs moyens de diagnostiquer un cancer du poumon histologiquement : (confirme le diagnostic suite à une forte suspicion)

- **endoscopie bronchique classique avec biopsies** : pour tumeurs plutôt proximales
- **sous scanner avec biopsies transpariétales** : lésions périphériques accessibles
- **thoracoscopie** avec biopsie pulmonaire : retrait du nodule non accessible par ponction si on pense que les ganglions sont atteints

A ce moment on va avoir un diagnostic, en fonction de ce diagnostic et du bilan d'extension (stade loco-régional, métastase, classification cTNM) on va prendre une décision thérapeutique :

- chirurgie d'exérèse + ou - chimioradiothérapie néoadjuvante.
- Chimioradiothérapie



**** PAS DE CHIRURGIE SUR UN PATIENT POLY-METASTATIQUE , OR CHIRURGIE EST LE SEUL MOYEN DE GUERIR TOTALEMENT UN CANCER PULMO !**

**** SAVOIR SI LE CANCER EST CHIMIOSENSIBLE = carcinome bronchopulmo à petites cellules.**

ANALYSE ANATOMOPATHOLOGIQUE :

Une fois qu'on a la pièce opératoire : prise en charge macroscopique par les anatopath pour:

- confirmation ou établissement d'un diagnostic histologique
- évaluation du stade de la tumeur: classification pT(tumeur)N(nodule :gg lymph)M(métastase)
- congélation du matériel tumoral et sain (TUMOROTHEQUE)

Le compte rendu d'anapath comportera :

- la classification OMS de la tumeur et histo-moléculaire (de + en +) = type histologique
- la taille
- le siège de la liaison
- les rapports avec la plèvre
- La qualité de la recoupe
- Extension ganglionnaire
- L'extension à des structures médiastinales et pariétales annexées à la PO
- La classification pTNM

ADK +++ type histologique le + fréquent dans les KC pulmo car la fumée de cigarette donne des cancers périphériques c-à-d des glandes.

90% des ADK sont liés au tabac avec une augmentation de l'incidence chez la femme. C est aussi le cancer le plus fréquent chez le non fumeur.

Les lésions pré-invasives ont un intérêt lors de leur détection précoce par l'imagerie (TDM, PET scanner..) et s'il y a une prise en charge précoce.

LE STADE A UNE VALEUR PRONOSTIC IMPORTANTE :

- **Lésion pré invasive** avant la rupture de la membrane basale et le développement du tissu conjonctif = lésions de surface. Taux de survie sur 5 ans de ces ADK = 100%
- Dysplasie des pneumocytes: cellules épithéliales qui tapissent l'alvéole du poumon sont dysplasiques
- Stade in situ: cellules tumorales tapissent encore les alvéoles mais pas d'atteinte de la membrane basale, pas d'infiltration tumorale aucun envahissement de la plèvre= lésion **pré-invasive**

- **Adénocarcinome à invasion minimale**: reste in situ mais quelques plaques commencent à infiltrer : plaque < 5mm. Bon pronostic des lésions ;
- **Adénocarcinome invasif**

Lésions in situ et pré invasives sont **précurseurs** de la néoplasie.

Evolution prend plusieurs années et n'est PAS obligatoire !

L'invasion peut être à prédominance lépidique, acineuse, micropapillaire, solide

SEQUENCE HAA

Dans le cas de l'Hyperplasie Adénomateuse Atypique il y a une accumulation séquentielle de modifications géniques qui accompagnent ou précèdent des altérations morphologiques.

On a donc des cellules bronchioalvéolaires et alvéolaires qui vont subir une HAA puis vont former un ADK in situ puis un ADK à invasion minimale et à long terme un ADK invasif.

TTF1 :

= facteur de transcription impliqué dans le développement pulmonaire et la différenciation du poumon distal.

Exprimé dans les pneumocytes de type II et les cellules de Clara, dans le poumon normal

Exprimé dans **80%** des ADK pulmo primitifs, dans **100%** des ADK bronchioalvéolaire non-mucineux (négatif dans les mucineux), dans **70%** des ADK papillaires et acineux

- ⇒ Ac anti-TTF1 en Immunohistochimie: très important pour différencier une tumeur primitive, d'une métastase

VOIES DE SIGNALISATION IMPLIQUEES DANS LA CARCINOGENESE DES ADK PULMONAIRES

EGFr :

Principal Ac utilisé pour le diagnostic est l'Ac EGFr .

- Différents types histologiques de cancers **pas très muco-sécrétants** expriment très souvent les mutations EGFr.
- KC très muco-sécrétant n'expriment pas la mutation.

→ dû à la différence d'origine.

Modification du récepteur fréquemment liée à une mutation EGFr cible pour les cancers à petites cellules.

Structure biochimique du récepteur :

_ 1 domaine extracellulaire : liaison au ligand puis dimérisation

_ 1 domaine transmembranaire

_ 1 domaine intra cytoplasmique : activité tyrosine kinase avec ses sites de phosphorylations.

⇒ Récepteur actif quand phosphorylé

La **mutation** du récepteur EGFr entraîne une **activation constitutive** qui va donner à la cellule la capacité de survivre et de proliférer indépendamment de tout signal= La cascade de signalisation est activée constitutivement : **constante prolifération**.

Plusieurs voies d'activation en interaction : PI3Kinase, MASras, STAT : effets cellulaires : prolifération tumorale, angiogénèse, inhibition de l'apoptose, capacité invasive (traversée membrane basale et paroi vasculaire pour métastaser)

Inhibiteurs du récepteur EGFr: vont agir selon 2 mécanismes, on s'intéresse à celui du cancer du poumon (donné aussi pour les cancers du côlon mais mécanisme différent: Ac fixe le récepteur, bloque le site de liaison à l'origine de l'activation du récepteur et donc bloque interaction avec ligand et stoppe la cascade). Dans les cancers pulmonaires traitement de 1^{ère} ligne : chimiothérapie.

En 2nde intention: pour les tumeurs résistantes aux chimio et stades avancés, on bloque l'activité tyrosine kinase intra-cellulaire donc le traitement entre en compétition avec le ligand et blocage du site de phosphorylation (Gefitinib et Erlotinib). Arrêt des cascades par les inhibiteurs des tyrosines kinases ce qui entraîne la mort cellulaire : « fonte » de la tumeur mais ⚠ aux récidives très fréquentes un an après, et aux effets secondaires puisque EGFR est présent aussi dans les cellules saines.

Mutation du gène :

Plusieurs mécanismes peuvent entraîner des mutations du K7 :

- mutation du gène active le récepteur de façon constitutive,
- mutation SOMATIQUE c-à-d des mutations qui sont dans la tumeur augmentation protéique du récepteur
- trop de ligand
- amplification de gènes

La mutation :

Brin court du K7 possède des sites kinases au niveau des exons 18 à 21 : ce sont ces exons qui font l'objet des recherches de mutations puisque ce site correspond à l'expression de l'activité tyrosine kinase. Ce sont des mutations de sensibilité au traitement inhibiteur des tyrosine-kinases (il existe aussi des mutations de résistance au traitement)

Réponse dans 80% de cas aux anti-TKI.

Le génotypage :

Répond à une question de coût, d'effets secondaires et de résistance.

On screen surtout les exons 18, 19 et 21 qui sont sujets +++ aux mutations.
(Exon 20 : résistance aux TKI)

Il y a des profils de patients qui sont mutés pour l'EGFr: le phénotype typique= femme asiatique non fumeuse avec adénocarcinome du poumon : 70% mutation de l'EGFR contrairement à un homme non asiatique fumeur seulement 5% de mutations EGFR.

Dans la pop générale il y a 10 à 15% des mutations EGFR. Le pré-screening est interdit (pas le droit de juger sur le profil pour se passer du phénotypage).

Mutations de résistance : de novo= initiale

Ou se développant après traitement par TKI ce qui entraîne la résistance au traitement: apparition de la mutation de résistance

Concerne dans ce cas ++ **exon 20**

Importance **mutations KRAS et EGFR = mutations EXCLUSIVES** (soit l'un, soit l'autre)

Ex: Le génotypage du patient révèle une mutation KRAS (mais pas EGFR) le traitement anti-EGFR n'a alors plus aucun intérêt car on bloque l'action du récepteur EGFR mais la cascade en aval va être déclenchée de toute façon par KRAS qui lui est activé constitutivement et donc produit tous les effets néfastes.

KRAS :

Il a un rôle primordial dans la régulation du cycle cellulaire et ses voies d'activation essentielles sont RAS, mekR et pip3kinase.

Il y a une dérégulation en amont par activation constitutionnelle d'EGFR, et donc KRAS est suractivé en aval.

Le gène KRAS est le + fréquemment muté dans les cancers du poumon, soit 30% de muté (contre 10 à 15% de muté EGFR) dans la population générale

Pas encore de cible thérapeutique mais recherche +++ en cours

Intérêt de rechercher cette mutation : Un patient muté KRAS sera résistant aux inhibiteurs des tyrosine-kinases et c'est un facteur de mauvais pronostic.

Mutation KRAS et le tabac : forte association (EGFR + fréquent chez les non-fumeurs) mais pas de relation avec la quantité de tabac fumé, dépend bcp de la sensibilité individuelle donc pour certains la mutagénèse est précoce.

Le type histologique des adénocarcinomes est plutôt mucineux-muco sécrétants, en général TTF1 négative et EGFR non muté.

Ce sont des mutations somatiques ponctuelles qui donnent des codons FAUX sens

entraînant l'accumulation de mauvaises protéines continuellement actives (prolifération constante) ++ sur codon 12

Beaucoup de recherches en cours sur KRAS : dûes à la fréquence des mutations et à l'intérêt de trouver des traitements (ex : bloquer BRAF espoir++)

Rôle du pathologiste devant cette nouvelle fonction acquise : activité de soin = diagnostic (histologique et moléculaire) + traitement

Analyse directement sur le tissu : approche histologique et diagnostic morphologique de la tumeur est indispensable donc un bon résultat fiable est basé sur un bon prélèvement (au bon endroit)

Il existe des seuils de détection de l'ADN : même dans un prélèvement tumoral toutes les cellules ne sont pas mutées d'où l'intérêt de cibler le prélèvement pour qu'il soit le + riche possible en cellules mutées et ainsi que l'ADN muté soit détecté

LE PRELEVEMENT INITIAL EST PRIMORDIAL ET GUIDE TOUTES ANALYSES ULTERIEURES

Quelles mutations rechercher ? EGFR, KRAS, BRAF, réarrangement par techniques FISH

Techniques longues et coûteuses or elles sont exclusives donc on screen EGFR et KRAS si 1 des 2 est mutés on stoppe, si ils sont wild type on poursuit les recherches sur BRAF et NF4

EGFR plutôt pour les adénocarcinomes

TTF1+

Facteur primitif de réponse au traitement par les inhibiteurs des tyrosines kinases

AMM pour les stades adénocarcinomes métastatiques ou avancés (stade limité : traité par chirurgie)

KRAS

Plutôt pour les tumeurs et adénocarcinomes TTF1 négatif

Prédit la résistance aux TKI

On teste KRAS et EGFR simultanément pour ne pas perdre de temps pour le traitement, si un des 2 est positif on s'arrête là

- Mutation exclusive

Analyse histo-moléculaire : pièce op -> analyse morpho -> profil mutationnel -> rapport histo-moléculaire -> thérapie ciblée

Comment on extrait l'ADN tumoral ?

- Sur un tissu congelé
- Sur un bloc de paraffine après fixation (préféré le formol car préserve l'ADN)

On choisit l'échantillon et pour enrichir on va faire une macrodissection (dissection de la zone du bloc la + riche en cellules tumorales)

Ou microdissection (faisceau laser qui sélectionne les cellules d'intérêt uniquement)

Dosage de l'ADN extrait et vérification de la qualité de l'ADN puis recherche des mutations par différentes techniques :

- PCR standard
- RTPCR pour l'ARN

Orientation vers les techniques de détection haut-débit (cartographie en tps réel de tous les gènes)

- Pyroséquençage +++ pratique _ reproductible _ plus rapide _ moins subjectif qu'une PCR standard _ meilleur seuil de détection (détecte un %age de cellules mutées très basses) principe : injection de nucléotides, on a la séquence complémentaire dans notre échantillon il y a fixation en miroir sur l'ADN et on mesure ce qui n'a pas fixé comme ce sont des mutations ponctuelles, on vise les séquences supposées mutées. Cette technique permet de cibler des mutations recherchées, on cible les mutations d'intérêt. Le logiciel cible l'exon pas la totalité de la mutation

CONCLUSION :

Importance des _ Phases pré-analytiques : phase avant la recherche de mutations (comment le prélèvement a été fixé et dans quel support? Quels est la zone tumorale ? Combien de temps est-il resté non fixé?)

_ Méthodes de détection : recherche d'**EGFR** car 1^{er} marqueur décisionnel dans les cancers du poumon, pouvant bénéficier d'un traitement en 2^{ème} ligne des tumeurs avancées du poumon : bénéfique chez 10 à 20% des patients atteints des cancers du poumon

Recherche de **KRAS** facteur pronostic important, et de résistance aux TKI et permet une classification histo-moléculaire, c'est un bio-marqueur émergent donc beaucoup d'espoir pour mettre en place un traitement (concerne 30% des patients).