



INFORMATIONSBLETT MOLEKULARE PATHOLOGIE

BRAF-MUTATIONSANALYSEN

Das zunehmende Verständnis molekularer Grundlagen der Tumorbio­logie und die technischen Fortschritte in den molekularbiologischen Untersuchungsmethoden eröffnen die Möglichkeit, direkt an Gewebepreparaten tumorassoziierte Veränderungen auf molekularer Ebene zu diagnostizieren. Solche molekularpathologischen Befunde gewinnen immer mehr an Bedeutung für die Diagnostik, Therapieplanung und Prognoseeinschätzung bei verschiedenen Tumorerkrankungen. Zu den Tests der molekularen Pathologie zählt die **Mutationsanalyse von BRAF** (V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1) bei v. a. bei metastasierten kolorektalen Karzinomen, Melanomen und Schilddrüsenkarzinomen.

BIOLOGISCHER HINTERGRUND

Das BRAF-Gen codiert für das BRAF-Protein, eine Serin/Threonin Proteinkinase. BRAF ist ein essentielles Glied im EGFR-Signaltransduktionsweg (EGFR: Epidermal Growth Factor Receptor), der Wachstumssignale des EGF-Rezeptors in den Zellkern weiterleitet. Der aktivierte EGFR-Transduktionsweg forciert Wachstum (Proliferation), Zellüberleben (anti- Apoptose), Gefäßbildung (Angiogenese) und Metastasierung (Ausbildung von Motilitätsstrukturen).

In diesem Signalweg hat BRAF die Funktion eines regulierten molekularen Schalters, der durch aktiviertes KRAS in den „An“-Zustand geschaltet wird und die Signale an MEK weiterleitet. In vielen Tumoren (z. B. kolorektale Karzinome, maligne Melanome, Schilddrüsen-Karzinome, NSCLC, u. a.) ist BRAF aufgrund einer aktivierenden V600E-Mutation (Austausch von Valin zu Glutaminsäure in Kodon 600) im BRAF-Gen im permanenten „An“-Zustand und gibt die wachstumsfördernden Signale unabhängig von der Aktivierung des EGFR-Signalweges weiter – die Signalkaskade wird durch mutiertes BRAF vom EGFR entkoppelt. So kann die Blockierung des EGFR durch antiEGFR-Therapien in Tumoren mit einer aktivierenden BRAF-Mutation den EGFR-Signalweg nicht stilllegen. Andererseits stellt mutiertes BRAF einen Angriffspunkt für neue Medikamente dar.

MEDIZINISCHE UND KLINISCHE BEDEUTUNG

Kolorektales Karzinom (siehe auch KRAS- und BRAF-Mutationsanalysen und BRAF-Pathway)

Die Blockierung von EGFR durch monoklonale Antikörper wie Cetuximab, Panitumumab und Matuzumab ist mittlerweile Bestandteil der Behandlung bei kolorektalen Karzinomen und andern Tumoren. Anti-EGFR-Antikörper können hierbei die Wirksamkeit der Erstlinien-Chemotherapie steigern.

Voraussetzung für eine erfolgreiche antiEGFR-Therapie mit Panitumumab oder Cetuximab ist eine EGFR-abhängige Signalkaskade, bei der u.a. KRAS und BRAF nicht mutiert, sondern im Wildtyp vorliegen müssen. So erfolgte die Zulassung der Präparate Cetuximab und Panitumumab nur für die Therapie von kolorektalen Karzinomen ohne nachweisbare KRAS-Mutation, wobei eine BRAF-Mutation biologisch sehr ähnliche Auswirkungen hat.

Schilddrüsenkarzinom

Bei Schilddrüsenkarzinomen ist die BRAF V600E-Mutation ein spezifischer Marker, der nur in papillären und ähnlichen Schilddrüsenkarzinomen und nicht in follikulären Schilddrüsenkarzinomen oder benignen Läsionen zu finden ist. Damit kommt der BRAF V600E Mutation eine diagnostische Bedeutung für den spezifischen Nachweis von papillären Schilddrüsenkarzinomen und ähnlichen Malignitäten

LITERATUR

- De Rook *et al.* Effects of KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: a retrospective consortium analysis. *Lancet Oncol.* 2010; Jul 7.
- Siena *et al.* Biomarkers predicting clinical outcome of epidermal growth factor receptortargeted therapy in metastatic colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2009; 101: 1308–1324.
- Nicolantonio D. *et al.* Wild-type BRAF is required for response to panitumumab or cetuximab in metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2008 Dec 10;26(35):5705-12.
- Lievre *et al.* Oncogenic mutations as predictive factors in colorectal cancer. *Oncogene.* 2010; 29: 3033–3043
- Wellbrock C, Hurlstone A. BRAF as therapeutic target in melanoma. *Biochem Pharmacol.* 2010 Mar 27.
- Nikiforova MN, Nikiforov YE. Molecular diagnostics and predictors in thyroid cancer. *Thyroid.* 2009 Dec;19(12):1351-61.
- Zatelli MC *et al.* BRAF V600E mutation analysis increases diagnostic accuracy for papillary thyroid carcinoma in fine-needle aspiration biopsies. *Eur J Endocrinol.* 2009 Sep;161(3):467-73.
- Loughrey M *et al.* Incorporation of somatic BRAF mutation testing into an algorithm for the investigation of hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Fam Cancer.* 2007;6(3):301-10.
- Baretton GB. Serrated pathway of colorectal carcinogenesis. *Pathologie.* 2010 Feb;31(1):9-15.
- Noffsinger AE. Serrated polyps and colorectal cancer: new pathway to malignancy. *Annu Rev Pathol.* 2009;4:343-64.

insbesondere bei schwierigem Probenmaterial wie Feinnadel-Biopsien zu.

Zudem ist die BRAF V600E-Mutation ein prädiktiver, molekularer Marker für ein aggressives Tumorwachstum und eine schlechte Prognose, was wiederum eine stringendere Therapie indiziert.

Malignes Melanom

Ca. 60 % der malignen Melanome zeigen eine BRAF V600E Mutation. Derzeit befinden sich verschiedene Therapeutika in klinischen Studien, die gezielt der Wirkung von mutiertem BRAF entgegenwirken sollen. Ein sehr vielversprechender Kandidat ist PLX4032 von Plexxikon, das spezifisch mutiertes BRAF blockiert. PLX4032 befindet sich derzeit in Phase 3 einer klinischen Studie.

Bei der **HNPCC-Diagnostik** (Hereditary non-polyposis colorectal cancer; erblicher Darmkrebs) ist die BRAF-Mutationsanalyse ein molekulares Werkzeug, dass bei den hochgradig mikrosatelliteninstabilen Tumoren (MSI-H) mit hMLH1-Ausfall eine Assoziation mit HNPCC ausschließt und so eine weitere Analyse auf MLH1-Keimbahnmutationen erspart.

Gastrointestinale Polypen

BRAF V600E-Mutationen kommen in sessilen serratierten Adenomen häufiger vor als in anderen Adenomen. Daher kann bei Adenomen eine BRAF V600E-Mutation auf den sessil serratierten Karzinogeneseweg und damit auf das Malignitätspotenzial hinweisen.

INDIKATION FÜR KRAS- UND BRAF-MUTATIONSANALYSE

- Anti-EGFR-Therapie mit z.B. Cetuximab, Matuzumab oder Panitumumab bei kolorektalem Karzinom.
- Diagnostik von Gastrointestinaler Polypen
- Diagnostik von papillären Schilddrüsenkarzinomen und deren Abgrenzung von follikulären Schilddrüsenkarzinomen sowie Verlaufsprognose bei papillären Schilddrüsenkarzinomen.
- Ausschluss eines Lynch-Syndroms bei der HNPCC-Diagnostik.

NACHWEISMETHODE

PCR-Amplifikation mit HRM (high resolution melting)

UNTERSUCHUNGSMATERIAL

Frisches oder Formalin-fixiertes Tumorgewebe (Primärtumor oder Metastase) aus PE oder OP-Präparat.

ANSPRECHPARTNER

Dr. Marcus Bettstetter