



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ- ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«KRAS: ΡΟΛΟΣ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΚΑΙ ΣΤΟΧΕΥΟΥΣΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ»

ΦΙΛΙΩ ΑΛΕΞΑΝΔΡΗ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΠΑΠΑΘΑΝΑΣΙΟΥ ΙΩΑΝΝΑ, Επίκουρη Καθηγήτρια Ιατρικής Βιολογίας Παν. Θεσσαλίας,
Επιβλέπουσα

ΤΡΑΧΑΝΑ ΒΑΡΒΑΡΑ, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ιατρικής Βιολογίας-Κυτ. Βιολογίας Παν.
Θεσσαλίας, Συνεπιβλέπουσα

ΤΣΕΖΟΥ ΑΣΠΑΣΙΑ, Καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής Παν. Θεσσαλίας, Μέλος

ΛΑΡΙΣΑ, 2024



UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
FACULTY OF MEDICINE



POSTGRADUATE MASTER PROGRAM
“HUMAN GENETICS - GENETIC COUNSELING”

MASTER’S THESIS
“KRAS: ROLE IN CANCER AND TARGETED THERAPIES”

FILIO ALEXANDRI

EXAMINING BOARD MEMBERS

Ioanna Papathanasiou, Assistant Professor of Medical Biology, University of Thessaly, Supervisor

Varvara Trachana, Associate Professor of Medical Biology-Cell Biology, University of Thessaly, Co-Supervisor

Aspasia Tsezou, Professor of Medical Genetics, University of Thessaly, Member

LARISA, 2024

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Φτάνοντας στο τέλος της διπλωματικής μου εργασίας στο πλαίσιο του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών «Γενετική του Ανθρώπου- Γενετική Συμβουλευτική», θα ήθελα να ευχαριστήσω τους ανθρώπους που βοήθησαν ώστε να πραγματοποιηθεί.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα Επίκουρη καθηγήτρια, κα. Ιωάννα Παπαθανασίου για τον πολύτιμο χρόνο που διέθεσε για εμένα και για την ολοκλήρωση της διπλωματικής μου εργασίας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω και τα υπόλοιπα μέλη της τριμελούς επιτροπής τη συνεπιβλέπουσα, Αναπληρώτρια καθηγήτρια κα. Βαρβάρα Τραχανά και τη καθηγήτρια κα. Ασπασία Τσέζου για τον χρόνο που αφιέρωσαν ως προς την επίβλεψη της εργασίας μου.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τη μητέρα μου, που με την στήριξη της με βοήθησε να πραγματοποιήσω αυτό το μεταπτυχιακό και με στηρίζει σε κάθε μου βήμα και κάθε μου προσπάθεια.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ.....	1
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	3
ABSTRACT.....	4
ΕΙΣΑΓΩΓΗ- ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ.....	5
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ <i>KRAS</i> ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ.....	8
1.1 Το γονίδιο <i>KRAS</i>	8
1.2 Ογκογενή σηματοδοτικά μονοπάτια της πρωτεΐνης K-Ras	13
1.2.1 GEFs και GAPs.....	13
1.2.2 Το Raf- MEPK- ERK μονοπάτι.....	15
1.2.3 Το PI3K- Akt- mTOR μονοπάτι.....	16
1.2.4 Το RalGEF-Ral μονοπάτι.....	18
1.3 Μοριακή Επιδημιολογία.....	19
1.4 Ανισορροπία Αλληλομόρφων του <i>KRAS</i>.....	20
1.5 Μοτίβα Μετάλλαξης του γονιδίου <i>KRAS</i>.....	21
1.6 <i>KRAS</i> και μικροπεριβάλλον του όγκου	22
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ <i>KRAS</i> ΚΑΙ ΤΥΠΟΙ ΚΑΡΚΙΝΟΥ.....	24
2.1 Ο μη- μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα.....	25
2.1.1 <i>KRAS</i> και μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα	27
2.1.2 Κάπνισμα και μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα....	28

2.1.3 Γονίδιο <i>KRAS</i> και μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα στην Ελλάδα.....	31
2.2 Παγκρεατικός καρκίνος.....	35
2.2.1 <i>KRAS</i> και παγκρεατικός καρκίνος.....	36
2.2.2 Γονίδιο <i>KRAS</i> και καρκίνος του παγκρέατος στην Ελλάδα....	38
2.3 Ο καρκίνος του παχέος εντέρου ή ορθοκολικός καρκίνος.....	40
2.3.1 <i>KRAS</i> και καρκίνος του παχέος εντέρου	40
2.3.2 Γονίδιο <i>KRAS</i> και καρκίνος του παχέος εντέρου στην Ελλάδα	42
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΣΤΟΧΕΥΟΥΣΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ.....	45
3.1 Άμεση φαρμακευτική στόχευση του γονιδίου <i>KRAS</i>	46
3.1.1 Sotorasib.....	47
3.1.2 Adagrasib	52
3.1.3 Αναστολείς για τη μετάλλαξη <i>KRAS</i> G12D.....	55
3.1.4 CRISPR- Cas13a ως στοχεύουσα θεραπεία στο καρκίνο του παγκρέατος	57
3.1.5 Ανοσοθεραπεία.....	58
3.2 Έμμεση φαρμακευτική στόχευση του <i>KRAS</i>	60
3.2.1 Μειώνοντας την έκφραση του <i>KRAS</i>	60
3.2.2 Διακοπή της διαμεμβρανικής τοποθέτησης του <i>KRAS</i>	60
3.2.3 Αναστολή μετάδοσης του σήματος <i>KRAS</i>	61
3.3 Συνδυασμένη θεραπεία.....	62
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	66
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	67

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο καρκίνος ευθύνεται για το θάνατο εκατομμύρια ανθρώπων ανά το παγκόσμιο. Το γονίδιο *KRAS* αποτελεί ένα από τα πιο γνωστά ογκογονίδια, το οποίο σχετίζεται με την εμφάνιση εξαιρετικά θανατηφόρων καρκίνων με τη μεγαλύτερη συχνότητα μεταλλάξεων *KRAS* να εμφανίζονται στον μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (NSCLC), στο αδενοκαρκίνωμα του παγκρεατικού πόρου (PDAC) και στο καρκίνο του παχέος έντερου (CRC). Το γονίδιο *KRAS* εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 12p12.1 και αφορά κυρίως την ισόμορφη *KRAS-4B*. Οι μεταλλάξεις του γονιδίου *KRAS* σε αυτούς τους τύπους καρκίνου εντοπίζονται στη θέση 12, 13 και 61. Τα μονοπάτια σηματοδότησης που σχετίζονται με την K-Ras πρωτεΐνη εμπλέκονται σε βασικές κυτταρικές λειτουργίες όπως τη κυτταρική ανάπτυξη, διαφοροποίηση και το πολλαπλασιασμό και ενεργοποιούνται σε πολλούς τύπους καρκίνου.

Για περίπου τέσσερις δεκαετίες το μεταλλαγμένο γονίδιο *KRAS* θεωρείτο «μη θεραπεύσιμο» λόγω της τεράστιας δυσκολίας να το στοχεύσουν θεραπευτικά. Μέχρι που οι αναστολείς, αρχικά, ο sotorasib και στη συνέχεια ο adagrasib κατάφεραν να στοχεύσουν θεραπευτικά τη πιο συχνή μετάλλαξη που εμφανίζεται στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα, τη *KRAS G12C* η οποία αφορά κυρίως τους καπνιστές αναστέλλοντας αποτελεσματικά την ογκογόνο δράση της. Και οι δύο αυτοί αναστολείς είναι εγκεκριμένοι από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ. Επιπλέον, ο adagrasib μαζί με το cetuximab έλαβε έγκριση για τη χορηγία του σε ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου που φέρουν τη μετάλλαξη *KRAS G12D*. Σημαντικός στόχος αποτελεί η ανάπτυξη ειδικών αναστολέων και για τους υπόλοιπους τύπους μεταλλάξεων, καθώς και η περαιτέρω διερεύνηση των συνδυασμένων θεραπειών και των έμμεσων στοχευουσών θεραπειών είτε μειώνοντας την έκφραση του *KRAS* είτε διακόπτοντας τη διαμεμβρανική τοποθέτηση της πρωτεΐνης ή ακόμη μέσω της αναστολής μετάδοσης του σήματος *KRAS*.

Λέξεις- κλειδιά: *KRAS*, Καρκίνος, Θεραπεία

ABSTRACT

Cancer is responsible for the death of millions of people worldwide. *KRAS* gene is one of the most well-known oncogenes, associated with highly fatal cancers including non-small cell lung cancer (NSCLC), pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) and colon cancer (CRC). *KRAS* gene is located on chromosome 12p.12.1 and *KRAS* mutations related to cancer development are mainly found at codon 12 (G12), codon 13 (G13), or codon 61 (Q61). *KRAS*-mediated signaling pathways are involved in essential cellular functions such as cell growth, differentiation and proliferation and are activated in many types of cancer.

In the past, *KRAS* was considered “undruggable” target due to the intrinsic characteristics of K-Ras protein. Recently, there have been advances in directly targeted drugs for *KRAS*, especially in *KRAS*-G12C inhibitors, such as AMG510 (sotorasib) and MRTX849 (adagrasib). Both inhibitors are approved by the US Food and Drug Administration. In addition, adagrasib combined with cetuximab has been approved for use in colon cancer patients carrying the *KRAS*-G12D mutation. Direct and indirect targeted therapies against *KRAS* are extremely important approaches to inhibit the action of the *KRAS* oncogene. An important goal is the development of selective inhibitors that target specific *KRAS* mutations to effectively inhibit different mutant *KRAS* functions by reducing the expression of *KRAS* gene or interrupting membranous location of K-Ras protein or even by inhibiting *KRAS*-mediated signal transmission.

Key words: *KRAS*, Cancer, Therapy

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Γενικές πληροφορίες για το καρκίνο

Ο καρκίνος είναι μία από τις πιο σοβαρές ασθένειες της εποχής μας. Αποτελεί την κύρια αιτία θανάτου στον κόσμο και με βάση τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας βρέθηκε για το 2020 ότι ο καρκίνος ευθυνόταν για περίπου 10 εκατομμύρια θανάτους παγκοσμίως (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>). Για αυτό το λόγο, τα τελευταία χρόνια υπάρχει ραγδαία ανάπτυξη ερευνητικά στις θεραπείες που το αφορούν, με σκοπό την μακροπρόθεσμη επιβίωση των ασθενών και φυσικά με απώτερο σκοπό την επιτυχή αποτελεσματική θεραπεία κατά του καρκίνου με όσο το δυνατόν λιγότερες αρνητικές παρενέργειες για τον ίδιο τον ασθενή. Στο επίκεντρο αυτών των ερευνών βρίσκονται οι “στοχεύουσες” θεραπείες.

Τα αίτια της καρκινογένεσης αφορούν εξαιρετικά περίπλοκες διαδικασίες και περιλαμβάνουν πολλά και διαφορετικά επίπεδα ρύθμισης, έχουν σχέση με τον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου αλλά η πρόκληση της επίσης μπορεί να οφείλεται σε μεταλλάξεις γονιδίων, τα οποία ονομάζονται «ογκογονίδια» (Kiyohara et al., n.d.).

Επιπρόσθετα, χημικές ουσίες που υπάρχουν στο περιβάλλον μπορούν να αλληλεπιδράσουν τόσο με τα γονίδια όσο και με τις μεταβολικές οδούς, και έτσι να οδηγήσουν σε περίπλοκους μηχανισμούς που υπόκεινται στη καρκινογένεση (Y. J. Zhang, 2010).

Ο καρκίνος μπορεί να εμφανιστεί σε οποιοδήποτε όργανο και αφορά την ανώμαλη ανάπτυξη των κυττάρων, τα οποία και πολλαπλασιάζονται με ανεξέλεγκτο ρυθμό (Hassanpour & Dehghani, 2017). Εμφανίζεται σε διάφορα όργανα με τη μορφή μίας “μάζας κυττάρων”, η οποία ονομάζεται “όγκος”. Εξαιρέσεις ως προς την μορφή εμφάνισης αποτελούν ο καρκίνος του αίματος και του μυελού των οστών, τα οποία δεν παράγουν τέτοιου είδους “μάζα” αλλά γίνεται η διάγνωση αυτών μέσω εργαστηριακών εξετάσεων (Roy & Saikia, 2016).

Σημαντικό είναι και το γεγονός ότι ο κίνδυνος αντιμετώπισης και εμφάνισης του καρκίνου πολλαπλασιάζεται στα άτομα, των οποίων το ανοσοποιητικό σύστημα καταστέλλεται λόγω οποιουδήποτε άλλου παράγοντα, συμπεριλαμβανομένου του χρόνιου στρες, της μεγάλης ηλικίας, μίας άλλης χρόνιας εξουθενωτικής ασθένειας ή

χρήσης προηγούμενης χημειοθεραπείας καθώς και της κατάχρησης φαρμάκων όπως αναλγητικά, αντιβιοτικά και κορτικοστεροειδή (Roy & Saikia, 2016).

Τα καρκινικά κύτταρα από τη στιγμή της εμφάνισης και της δημιουργίας τους συνεχίζουν να αναπτύσσονται, εκτός αν η κατάσταση αντιμετωπιστεί εγκαίρως.

Οι συμβατικές προσεγγίσεις για την αντιμετώπιση και θεραπεία του καρκίνου αποτελούν η χημειοθεραπεία, η ακτινοθεραπεία ή η χρήση κάποιου άλλο φαρμακευτικού τρόπου αντιμετώπισης του όγκου εξειδικευμένα και τέλος η αφαίρεση του όγκου μέσω χειρουργικής επέμβασης. Επιπλέον, συμβατικές θεραπείες που χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση του καρκίνου είναι η μεταμόσχευση μυελού των οστών και η ορμονοθεραπεία (<https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types>).

Ωστόσο, το πιο σημαντικό για την καλύτερη αντιμετώπιση, αποτελεσματική θεραπεία και επιβίωση του ασθενή με καρκίνο είναι η έγκαιρη διάγνωση. Οι συνηθισμένοι τύποι καρκίνου όπως ο καρκίνος του μαστού, του προστάτη, του πνεύμονα, του παγκρέατος και του παχέος εντέρου είναι θεραπεύσιμοι, μόνο όμως αν διαγνωσθούν σε αρχικά στάδια (στάδιο I και II) (Roy & Saikia, 2016).

Η ανάπτυξη των παραπάνω θεραπειών συνέβαλε σε μεγάλο βαθμό στην παράταση της επιβίωσης των ασθενών που νοσούν από καρκίνο. Παρόλα αυτά, όμως, εξακολουθεί να υπάρχει ένα αρκετά μεγάλο ποσοστό ασθενών που εμφανίζει υποτροπή και έτσι αδυνατεί να εξασφαλίσει μία μακροπρόθεσμη επιβίωση.

Η δυσκολία στην εύρεση κατάλληλης θεραπείας έγκειται στο ότι ο καρκίνος μπορεί να προκληθεί από πολύ διαφορετικούς παράγοντες οπότε δεν υπάρχει μία στρατηγική θεραπεία για την καταπολέμηση του. Σημαντικό είναι το γεγονός ότι ανταποκρίνονται διαφορετικά στις διάφορες θεραπείες, καθώς, μία θεραπεία αδυνατεί να εφαρμοστεί και να θεραπεύσει όλους τους τύπους καρκίνου (Vähäkangas, n.d, 2003).

Για περίπου τέσσερις δεκαετίες, μία από τις πιο συχνές μεταλλάξεις που προκαλούν καρκίνο και αφορά σε ένα συγκεκριμένο γονίδιο το *KRAS*, αποτελούσε ένα δύσκολο και προκλητικό θεραπευτικό στόχο, καθώς, ήταν αδύνατο να υπάρξει κατάλληλη αποτελεσματική θεραπεία με αποτέλεσμα ο καρκίνος που εμφανιζόταν εξαιτίας μεταλλάξεων στο συγκεκριμένο γονίδιο να θεωρείται μη ιάσιμος. Τα τελευταία χρόνια, όμως, παρά τις παλαιότερες αρνητικές εκτιμήσεις επάνω στο συγκεκριμένο ζήτημα τα

αποτελέσματα των επιστημονικών ερευνών και των κλινικών μελετών είναι αρκετά ενθαρρυντικά και αισιόδοξα, αφού υπάρχει έντονη ανάπτυξη και προσπάθεια στην εύρεση «στοχευουσών» θεραπειών. Η ανάπτυξη των KRAS αναστολέων όπως για παράδειγμα των AMG510 (sotorasib) και MRTX849 (adagrasib) για μία συγκεκριμένη μετάλλαξη τη KRAS-G12C, φανερώνει ότι τα αποτελέσματα μέχρι στιγμής είναι πολύ υποσχόμενα. «Στοχεύουσες» θεραπείες οι οποίες θα μπλοκάρουν τους τελεστές των σηματοδοτικών μονοπατιών μπορούν να συνδυαστούν με αναστολείς KRAS, ανοσοθεραπεία και στοχεύουσες θεραπείες T- λεμφοκυττάρων για την καταπολέμηση του καρκίνου του παχέος εντέρου ή αλλιώς ορθοκολικού καρκίνου (CRC), του αδενοκαρκινώματος του παγκρεατικού πόρου (PDAC) και του μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα (NSCLC), οι τύποι καρκίνου με υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης λόγω των KRAS μεταλλάξεων (Huang et al., 2021b; Negri et al., 2022).

Με γνώση των παραπάνω επιτακτική ήταν και είναι η ανάγκη για την εύρεση και ανακάλυψη διαφόρων μορφών «στοχευουσών» θεραπειών για την καταπολέμηση του καρκίνου. Αυτές οι «στοχεύουσες» θεραπείες απευθύνονται σε συγκεκριμένους μεμονωμένους μοριακούς στόχους ή και μία κατηγορία μοριακών στόχων σε καρκινικά κύτταρα. Επιπλέον, σημαντικό χαρακτηριστικό αποτελεί ότι η «στοχεύουσα» θεραπεία διαθέτει ειδικό μηχανισμό δράσης του φαρμάκου, γεγονός που έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του θεραπευτικού του δείκτη. Δύο βασικές κατηγορίες “στοχεύουσας” θεραπείας που έχουν αναπτυχθεί είναι οι μικρομοριακοί αναστολείς τυροσινικής- κινάσης και τα μονοκλωνικά αντισώματα (MABs). Αυτές οι βιολογικές θεραπείες όπως τα μονοκλωνικά αντισώματα (MABs), τα εμβόλια κατά του καρκίνου, οι γονιδιακές θεραπείες αλλά και οι αναστολείς που αναφέρθηκαν και προηγουμένως είναι όλα πλέον ενεργή τομείς στην έρευνα που στόχο τους έχουν την εξάλειψη του καρκίνου για κάθε ασθενή (Roy & Saikia, 2016).

Αποτελέσματα κλινικών μελετών αποδεικνύουν, διάφορα πλεονεκτήματα, ως προς τις στοχεύουσες θεραπείες, καθώς, αυτές επεκτείνουν σημαντικά την επιβίωση του ασθενή χωρίς την περαιτέρω εξέλιξη του καρκίνου και είναι λιγότερο κυτταροτοξικές, παραδείγματος χάριν, από τις τυπικές χημειοθεραπείες (Katayama et al., 2015; Sequist et al., 2013).

Στόχος αυτής της διπλωματικής εργασίας είναι η μελέτη του *KRAS* ογκογονιδίου και K-Ras πρωτεΐνης, ξεκινώντας από την ανάλυση της δομής του και συνεχίζοντας έως

και την επεξήγηση των σηματοδοτικών μονοπατιών που ενεργοποιούν την ογκογένεση του. Επιπλέον, όμως, σκοπός της είναι να δοθεί εξίσου η κατάλληλη έμφαση στις λεπτομέρειες που αφορούν τους τρεις βασικούς τύπους καρκίνου τους οποίους προκαλεί το μεταλλαγμένο γονίδιο *KRAS*, καθώς, και το πιο σημαντικό να δοθεί προσοχή στις «στοχεύουσες» θεραπείες που υπάρχουν μέχρι στιγμής, σε αυτές που αναπτύσσονται και στις οποιεσδήποτε στρατηγικές προσβλέπουν την περαιτέρω ανάπτυξη τους στο μέλλον.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο- ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ *KRAS* ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ

1.1 Το γονίδιο *KRAS*

Το γονίδιο *KRAS* είναι το πιο γνωστό ογκογονίδιο με το υψηλότερο ποσοστό μετάλλαξης μεταξύ όλων των καρκίνων, το οποίο και σχετίζεται με μία σειρά από εξαιρετικά θανατηφόρους καρκίνους όπως προαναφέρθηκε αυτό του αδενοκαρκινώματος του παγκρεατικού πόρου (PDAC), του μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα (NSCLC) και του καρκίνου του παχέος εντέρου (CRC) (Huang et al., 2021b). Το *KRAS* ογκογονίδιο είναι ένα εκ των τριών ογκογονιδίων της οικογενείας RAS, μαζί με το *HRAS* και το *NRAS*. Τα RAS γονίδια εδράζονται σε διαφορετικά χρωμοσώματα. Το *KRAS* στο ανθρώπινο γονιδίωμα εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 12p12.1, το *HRAS* στο χρωμόσωμα 11p15.5 και το *NRAS* στο χρωμόσωμα 1p13.1 (<https://www.proteinatlas.org/>).

Όπως ήδη έχει αναφερθεί, αρχικά, από τα τρία αυτά γονίδια, αυτό που προκαλεί σε μεγαλύτερο βαθμό καρκίνο είναι το γονίδιο *KRAS*, με ποσοστό 85% (Pantsar, 2020). Οι μεταλλάξεις που προκαλούν αντικατάσταση ενός αμινοξέος (παρερμηνεύσιμες ή παρανοηματικές παραλλαγές) στο γονίδιο *KRAS* είναι ιδιαίτερα συχνές στο παγκρεατικό καρκίνο, το καρκίνο του παχέος εντέρου και του πνεύμονα.

Στον καρκίνο οι τρεις εστίες μετάλλαξης που σχετίζονται και παρατηρούνται στα γονίδια RAS, είναι το G12, G13 και το Q61. Από αυτή τη πλευρά, το *KRAS* διαφέρει από το *HRAS* και το *NRAS* καθώς το *KRAS* είναι η μόνη ισόμορφη από τις τρεις στην οποία οι μεταλλάξεις στη θέση 12 είναι επικρατέστερες (Mo et al., 2018).

Τα γονίδια *RAS* παρόλο που είναι τρία παράγουν, ωστόσο, τέσσερα γονιδιακά προϊόντα (πρωτεΐνες), το N-Ras, το H-Ras, το K-Ras4A και το K-Ras-4B. Τα K-Ras4A και K-Ras-4B είναι ισομορφές που έχουν προκύψει μέσω εναλλακτικού ματίσματος του γονιδίου *KRAS* (Buday & Downward, 2008).

Το μετάγραφο *KRAS* είναι εναλλακτικά ματισμένο προκαλώντας τη δημιουργία δύο παραλλαγών με εναλλακτικά τα 4α εξόνια (Ahearn et al., 2012). Οι ισομορφές που προκύπτουν όπως έχει ήδη αναφερθεί είναι οι K-Ras4A και K-Ras-4B, οι οποίες κωδικοποιούν σχεδόν πανομοιότυπους τομείς G που δεσμεύουν νουκλεοτίδια γουανίνης και δεσμεύουν τελεστές, αλλά διαφέρουν ως προς τις αλληλουχίες στόχευσης της C-τερματικής μεμβράνης και τις καθορισμένες υπερμεταβλητές περιοχές (HVRs), που μεσολαβούν στην υποκυτταρική διακίνηση και συσχέτιση των μεμβρανών (Tsaï et al., 2015). Από τις δύο αυτές ισομορφές η πιο καλά μελετημένη είναι η *KRAS-4B*. Αντίθετα, η λιγότερο μελετημένη είναι η *KRAS-4A* η οποία μέχρι πρόσφατα θεωρείτο έως και ασήμαντη συγκριτικά με την *KRAS-4B* (Nuevo-Taripolles & Philips, 2022).

Ωστόσο, και τα δύο *KRas-4A* και *KRas-4B* είναι ογκογόνα όταν ο *KRAS* γονιδιακός τύπος διατηρεί μετάλλαξη στα εξόνια 2 ή 3, με αποτέλεσμα να είναι ενεργές οι πρωτεΐνες k-ras και ικανές η καθεμία να μετασχηματίζουν κύτταρα (Voice et al., 1999). Ως αποτέλεσμα αυτής της ενεργοποίησης, οι διαμεσολαβούμενοι-RAS καταρράκτες σηματοδότησης, οδηγούν στην εμφάνιση του όγκου, τη συντήρηση και την εξέλιξη του μέσω της απορρύθμισης βασικών κυτταρικών διεργασιών αλλάζοντας, έτσι, το μικροπεριβάλλον του όγκου και επανασυνδέοντας τον κυτταρικό μεταβολισμό σε μία ενισχυμένη γλυκόλυση (Hobbs et al., 2016a; Mukhopadhyay et al., 2021; Pylayeva-Gupta et al., 2011; Voice et al., 1999).

Το γονίδιο *KRAS* αναφέρεται γενικά ως *KRAS-4B* λόγω του υψηλού επιπέδου mRNA που κωδικοποιεί το *KRAS-4B* στα κύτταρα (Huang et al., 2021b).

Επίσης, το γονίδιο *KRAS* (Kirsten rat sarcoma virus) ταυτοποιήθηκε ως ομόλογο του Kirsten ιού του σαρκώματος του ποντικού, το οποίο και ευθύνεται για τον κακοήγη μετασχηματισμό των κυττάρων των τρωκτικών (Timar & Kashofer, 2020).

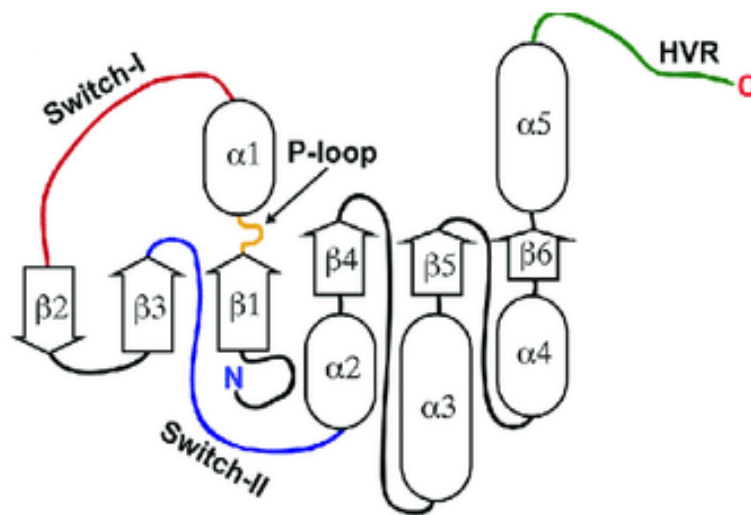
Ως το συχνότερα μεταλλαγμένο ογκογονίδιο στον άνθρωπο, το *KRAS* εμφανίζεται σε ποσοστό περισσότερο από 80% στον καρκίνο του παγκρέατος καθώς και περισσότερο

από 30% στον ορθοκολικό, χολαγγειακό καρκίνο και αδενοκαρκινώματος του πνεύμονα, καθότι, σε αυτές τις περιπτώσεις περιλαμβάνονται ενεργοποιητικές μεταλλάξεις του γονιδίου *KRAS* ως μία από τις ιδρυτικές καρκινογόνες μεταλλάξεις στο γονιδίωμα. (Buday & Downward, 2008; Timar & Kashofer, 2020).

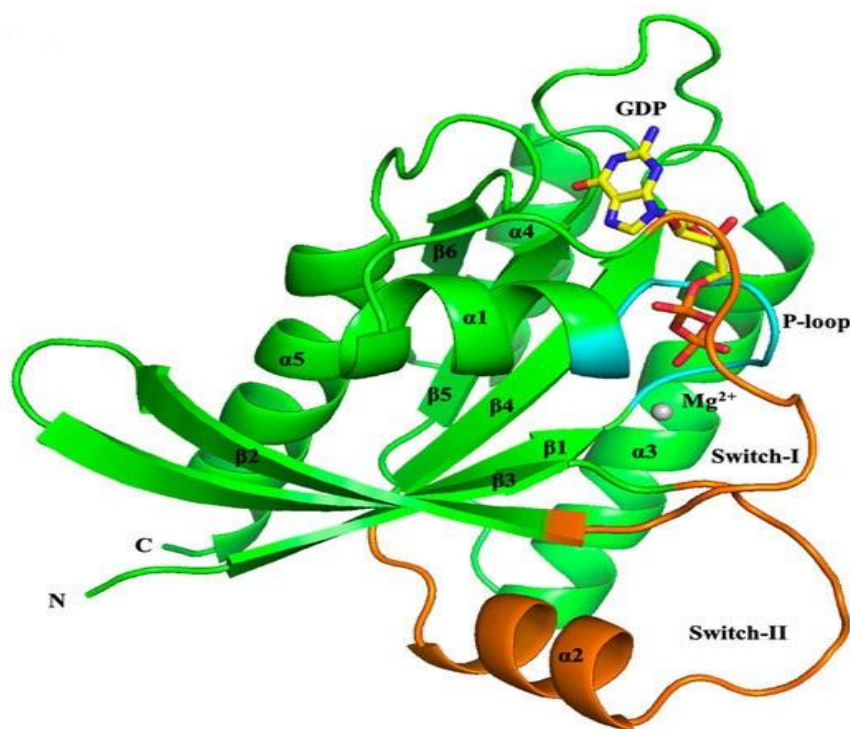
Οι RAS πρωτεΐνες αποτελούν μοριακούς δυαδικούς διακόπτες που εναλλάσσονται μεταξύ της ενεργού δεσμευμένης κατάστασης- GTP (τριφωσφορικής γουανωσίνης) και της ανενεργού δεσμευμένης κατάστασης- GDP (διφωσφορικής γουανωσίνης). Ως οικογένεια διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην κυτταρική ανάπτυξη, διαφοροποίηση και επιβίωση του κυττάρου (Simanshu et al., 2017). Αυτή αποτελείται από μικρές GTPάσες σχετιζόμενες με τη μεμβράνη οι οποίες υδρολύουν το GTP σε GDP και λειτουργούν ως ρυθμιστές των καταρρακτών μεταγωγής ενδοκυτταρικών σημάτων (Colicelli, 2004).

Στις παρακάτω εικόνες (Εικόνα 1 και 2) αναπαρίσταται η δομή της K-Ras πρωτεΐνης και των χαρακτηριστικών περιοχών της. Στην Εικόνα 1 παρουσιάζεται η δυσδιάστατη δομή της K-Ras πρωτεΐνης και στην Εικόνα 2 παρουσιάζεται αναπαράσταση της μονομερούς κρυσταλλικής δομής της K-Ras. Γενικά, η K-Ras πρωτεΐνη είναι μία 21 kDa μονομερής GTPάση που εντοπίζεται στη μεμβράνη, η οποία αποτελείται από την καταλυτική περιοχή G η οποία είναι συντηρημένη περιοχή και αποτελεί τη βάση της λειτουργικότητας των πρωτεϊνών GTPάσης (με κατάλοιπα 1-166) αλλά και από τη περιοχή C- τελική ουρά (με κατάλοιπα 166-188) η οποία είναι λιγότερο συντηρημένη και ονομάζεται υπερμεταβλητή περιοχή (HVR). Επίσης, η K-Ras αποτελείται από 5 α 2- έλικες (α 1- α 5) οι οποίες περιβάλλουν τα 6 β - φύλλα (β 1- β 6) που σχηματίζουν τον πυρήνα της πρωτεΐνης. Άλλες σημαντικές λειτουργικές περιοχές της GTPάσης είναι οι περιοχές- διακόπτες Switch I (κατάλοιπα 30- 38), Switch II (κατάλοιπα 60- 76) και το P-Loop (βρόχος δέσμευσης φωσφατάσης) οι οποίες ανήκουν στην περιοχή G. Σημαντικό είναι ότι έχει παρατηρηθεί πως οι εστίες μετάλλαξης που αφορούν το καρκίνο βρίσκονται στον βρόχο-P (P-Loop) ή στον διακόπτη II (Switch II). Οι διακόπτες Switch I και II υφίστανται σημαντικές διαμορφωτικές αλλαγές λόγω των αλλαγών του νουκλεοτιδίου της γουανίνης, δηλαδή, από τη μετατροπή του GTP σε GDP και το αντίστροφο. Το P- Loop (βρόχος δέσμευσης φωσφατάσης) (με κατάλοιπα 10- 17) περιέχει το CAAX (Cys-A-A-X)- C τερματικό μοτίβο που σχετίζεται με τον εντοπισμό της μεμβράνης και είναι μία ακόμη περιοχή της K-Ras συμμετέχει στην

επαγωγή της διαμορφωτικής αλλαγής όπου και συμβαίνει κατά τη διάρκεια της ανενεργής κατάστασης δεσμευμένης διφωσφορικής γουανοσίνης (GDP) και της ενεργής κατάστασης δεσμευμένης τριφωσφορικής γουανοσίνης (GTP). Στο τερματικό μοτίβο όπου το A είναι ισολευκίνη, λευκίνη ή βαλίνη και στο X είναι είτε μεθειονίνη είτε σερίνη. Επιπλέον, το γ - φωσφορικό του GTP αλληλεπιδρά με την τυροσίνη (Tyr) 32 και τη θρεονίνη (Thr) 35, τα οποία είναι κατάλοιπα της περιοχής- διακόπτη Switch I καθώς και με το Gly 60 που είναι συντηρημένο στην περιοχή- διακόπτη της Switch II (Bos, n.d.; Han et al., 2021a; Ostrem et al., 2013; Wittinghofer & Vetter, 2011).



Εικόνα 1: Δυσδιάστατη δομή της K-Ras (Pantsar, 2020b)



Εικόνα 2: Αναπαράσταση της μονομερούς κρυσταλλικής δομής της K-Ras (Han et al., 2021b)

Η K-Ras είναι μία ρυθμιστική πρωτεΐνη η οποία δεσμεύει στη μεμβράνη νουκλεοτίδια γουανίνης, καθότι, λειτουργεί ως ένας δυαδικός διακόπτης, αφού εναλλάσσεται μεταξύ της κατάστασης δεσμευμένης ανενεργού διφωσφορικής γουανοσίνης (GDP) και της κατάστασης ενεργού δεσμευμένης τριφωσφορικής γουανοσίνης (GTP). Η διαδικασία αυτής της εναλλαγής απεικονίζεται σχηματικά και στη παρακάτω εικόνα (Εικόνα 3) όπου φαίνεται ότι για τη μετάβαση από τη GDP- δεσμευμένη κατάσταση στη GTP- δεσμευμένη κατάσταση χρειάζεται η πρωτεΐνη GEF (guanosine exchange factor) η οποία και απομακρύνει το GDP από την περιοχή δέσμευσης του νουκλεοτιδίου, με αποτέλεσμα να δεσμευτεί το GTP καθώς υπάρχει υψηλότερη ενδοκυτταρική συγκέντρωση του GTP από του GDP. Αντίθετα, για την απενεργοποίηση της ενεργής K-Ras απαραίτητη είναι η διαδικασία της υδρόλυσης του GTP σε GDP. Για αυτή τη διαδικασία απαραίτητη είναι η πρωτεΐνη GAP (GTPase activating protein) η οποία και καταλύει την αντίδραση της υδρόλυσης. Οι GAPs είναι απαραίτητες για τη διαδικασία της υδρόλυσης, αφού, η K-Ras από μόνο του διαθέτει χαμηλή εγγενή δραστηριότητα GTPάσης, η οποία και ενισχύεται δραστικά μέσω των GAPs (Cherfils & Zeghouf, 2013; Simanshu et al., 2017). Στην Εικόνα 3, επίσης, απεικονίζονται οι μεταλλάξεις του

γονιδίου *KRAS* στις θέσεις G12, G13 και Q61 όπου η πρόκληση τους διατηρεί την ενεργή δεσμευμένη κατάσταση GTP, χωρίς να είναι δυνατή η υδρόλυση της ενεργοποιημένης δεσμευμένης- GTP σε ανενεργή μορφή της δεσμευμένης- GDP μέσω των GAPs.

Πιο κάτω αναλύονται με περισσότερη λεπτομέρεια τα ογκογενή σηματοδοτικά μονοπάτια και έτσι θα δοθούν ακόμη πιο πολλές πληροφορίες σχετικά με τις GEFs και τις GAPs πρωτεΐνες αλλά και το GDP και το GTP.

1.2 Ογκογενή σηματοδοτικά μονοπάτια της πρωτεΐνης K-Ras

Τα μονοπάτια σηματοδότησης που σχετίζονται με το γονίδιο *KRAS* ενεργοποιούνται σε πολλούς τύπους καρκίνου και συμμετέχουν ενεργά σε πολλές κυτταρικές λειτουργίες όπως, η κυτταρική ανάπτυξη, η κυτταρική διαφοροποίηση και πολλαπλασιασμός, η πρωτεϊνική σύνθεση, ο μεταβολισμός της γλυκόζης, η κυτταρική επιβίωση και η φλεγμονή (Hunter et al., 2015a).

Σε αυτή την ενότητα αναλύονται τα μονοπάτια σηματοδότησης της πρωτεΐνης K-Ras που είναι υπεύθυνα για την δημιουργία και εξέλιξη του καρκίνου.

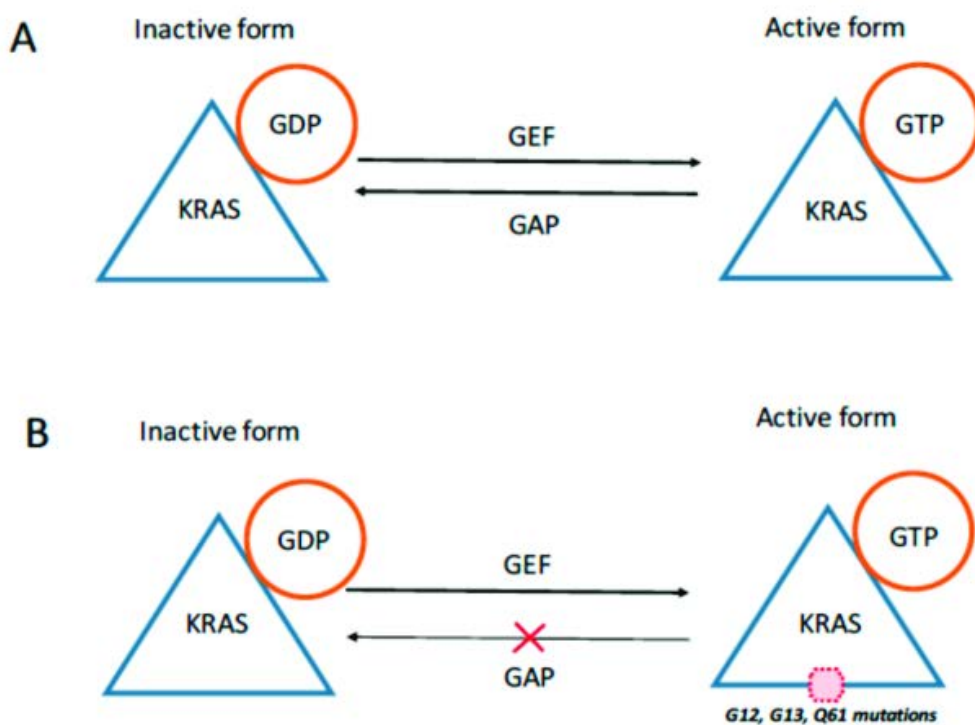
1.2.1 GEFs και GAPs

Η πρωτεΐνη K-Ras ενεργοποιείται από τα GEFs (Guanine Nucleotide exchange-factors). Σε αυτή τη κατηγορία ανήκουν τα SOS1 και SOS2, GRB2 (Πρωτεΐνη συνδεδεμένη με τον υποδοχέα αυξητικού παράγοντα 2), RASGRF2 (Παράγοντας απελευθέρωσης νουκλεοτιδίου γουανίνης ειδικός για τη πρωτεΐνη Ras 2) και τα RASGRPs (Πρωτεΐνες απελευθέρωσης Ras νουκλεοτιδίων γουανίνης). Τα ίδια τα GEFs πάλι ενεργοποιούνται από τους G- πρωτεϊνικούς διαμεμβρανικούς συζευγμένους υποδοχείς (GPCRs) και από τους υποδοχείς τυροσινών- κινασών (RTKs), όπου και λειτουργούν ως διαμεσολαβητές σε σημαντικές κυτταρικές αποκρίσεις που έχουν ήδη αναφερθεί, όπως τον πολλαπλασιασμό, την διαφοροποίηση και την επιβίωση (Buday et al., 1994 ; Iversen et al., 2014 ; Ruiz et al., 2007 ; Bos et al., 2007).

Τα GEFs αποτελούνται από το μοτίβο ανταλλαγής RAS (REM) το οποίο εμπλέκεται στη σταθεροποίηση της δέσμευσης στη RAS και από τον ομόλογο καταλυτικό τομέα CDC25 (CDC25H). Και οι δύο αυτές λειτουργικές περιοχές είναι απαραίτητες για την

ανταλλακτική (Hunter et al., 2015a) δραστηριότητα της GTPάσης. Η CDC25H καταλυτική περιοχή αλληλεπιδρά με την ανενεργή κατάσταση της δεσμευμένης διφωσφορικής γουανωσίνης (GDP) της K-Ras μέσω μίας διεπαφής των περιοχών-διακόπτων Switch I και II. Αυτή η αλληλεπίδραση προπορεύεται του σχηματισμού του συμπλόκου GEFs- Ras- GDP. Στη πορεία το GEF καταλύει την απελευθέρωση του GDP αποτελείται από την ελεύθερη σε νουκλεοτιδική κατάσταση του συμπλόκου Ras-GEF. Όταν το δεσμευμένο σε RAS, GDP αποδεσμεύεται από το GEF, τότε η K-Ras αντικαθίσταται από το GTP, μέσω μίας διαδικασίας που καθοδηγείται από αυξημένες ενδοκυτταρικές συγκεντρώσεις GTP (Popovic et al., 2013; Rojas et al., 2011; B. Zhang et al., 2005). Όσον αφορά την απενεργοποίηση της K-Ras, αυτή επιτυγχάνεται μέσω των GAPs (GTPase activating proteins). Στη κατηγορία των GAPs ανήκουν η νευροινωμάτωση τύπου 1 (NF1), ενεργοποιητής πρωτεΐνης Ras 1 ή 2 (RASAL1 ή 2) και η ομόλογη απενεργοποιημένη 2- πρωτεΐνη αλληλεπίδρασης (DAB2IP). Η K-Ras έχει ασθενή εγγενή δράση υδρόλυσης GTP, η οποία και ενισχύεται σημαντικά από τα GAPs. Το καρβοξυλικό άκρο των GAPs περιέχει την περιοχή της RAS ενεργοποιημένης GTPάσης που καταλύει των την ενεργοποίηση του κύκλου της GTPάσης (RASGAP) με την υδρόλυση της ενεργοποιημένης δεσμευμένης- GTP μορφής στην K-Ras για να παραχθεί η ανενεργή μορφή της δεσμευμένης- GDP (McLaughlin et al., 2013; M. Ohta et al., 2009; Bellazzo et al., 2017; Ratner & Miller, 2015).

Επί της ουσίας, όταν προκληθεί μετάλλαξη στο γονίδιο *KRAS* τότε αυτό, παραμένει σε ενεργή κατάσταση (ενεργή δεσμευμένη κατάσταση GTP) και αναμεταδίδει μη ελεγχόμενα πολλαπλασιαστικά σήματα (Han et al., 2021a).



Εικόνα 3: Σχηματική αποτύπωση του KRAS σηματοδοτικού μονοπατιού σε (α) φυσιολογικό (β) μεταλλαγμένο κύτταρο. Στη μεταλλαγμένη πρωτεΐνη K-Ras η δεσμευμένη ενεργή κατάσταση- GTP είναι μόνιμη (Negri et al., 2022)

1.2.2 Το Raf- MEK- ERK Μονοπάτι

Το δεύτερο σηματοδοτικό μονοπάτι που θα αναλυθεί αφορά το μονοπάτι της Raf/ ενεργοποιημένης μιτογόνου πρωτεϊνικής κινάσης (MEK/MAPK)/εξωκυτταρική σηματοδοτικά ρυθμιζόμενη κινάση (ERK). Η RAF είναι μέλος μία οικογένειας κινασών σερίνης/θρεονίνης (Ser/Thr), η οποία περιλαμβάνει την A-Raf, B-Raf και τη C- Raf/Baf1. Η Raf προσλαμβάνεται στη πλασματική μεμβράνη μέσω πρόσδεσης στη περιοχή- διακόπτης Switch I της αγκυροβολημένης μεμβράνης της ενεργούς RAS και μέσω πρόσδεσης λιπιδίων. Η μεταλλαγμένη πρωτεΐνη K-Ras προωθεί την ενεργοποίηση της ERK και την εξέλιξη του όγκου ενεργοποιώντας το σχηματισμό όμο- ή ετεροδιμερών RAF (Hu et al., 2013). Στη συνέχεια, η Raf διεγείρει την ενεργοποιημένη με μιτογόνο πρωτεΐνη, κινάση 1 και 2 (MEK1 και MEK2) οι οποίες με τη σειρά τους ενεργοποιούν τις καθοδικά εξωκυτταρικές σηματοδοτικά ρυθμιζόμενες κινάσες 1 και 2 (ERK1 και ERK2) (Brtnva et al., 1995; Rushworth et al.,

2006). Οι MEK1 και MEK2 ανήκουν στην οικογένεια των κινασών διπλής εξειδίκευσης οι οποίες και φωσφορυλιώνουν κατάλοιπα της τυροσίνης (Tyr) και της σερίνης/θρεονίνης (Ser/Thr) εντός του βρόχου ενεργοποίησης των υποστρωμάτων των MAP- κινασών τους. Αυτές οι φωσφορυλιώσεις εξαρτώνται και ενεργοποιούνται από τις φωσφορυλιώσεις της σερίνης 218 και 222 στα τμήματα ενεργοποίησης τους από το Raf (Chang & Karin, 2001).

Οι ενεργοποιημένες MEKs αλληλεπιδρούν άμεσα με την ERK μέσω των N-τελικών περιοχών και καταλύουν τις φωσφορυλιώσεις των καταλοίπων Thr και Tyr στο TERY μοτίβο (Thr- Glu- Tyr) του βρόχου ενεργοποίησης της ERK για την ενεργοποίηση της ERK (Wolf et al., 2001).

Έπειτα, η φωσφορυλιωμένη ERK μετατοπίζεται στον πυρήνα όπου και φωσφορυλιώνει και ενεργοποιεί μία ποικιλία από μεταγραφικούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων του παράγοντα τριμερούς συμπλόκου (TCF) Elk-1 και των βοηθητικών πρωτεϊνών του παράγοντα απόκρισης στον ορό Sap- 1a, Ets1, c- Myc, και Tal. Οι συγκεκριμένες ενεργοποιήσεις ρυθμίζουν την ανοδική έκφραση της πρώιμης πρωτεΐνης c-Fos η οποία επιτρέπει την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου μέσω των μιτογενετικών σημάτων G0/G1 (Sharrocks, 2006 ; Yamamoto et al., 2006).

1.2.3 Το PI3K-Akt-mTOR Μονοπάτι

Ακόμη ένα μονοπάτι που είναι εξίσου σημαντικό με τα υπόλοιπα είναι των 3- κινασών φωσφατιδυλινοσιτόλης (PI3K). Αυτό το μονοπάτι διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο για τη σηματοδότηση της μεταλλαγμένης K-Ras στον όγκο καθώς όπως έχει ήδη αναφερθεί και στα υπόλοιπα σηματοδοτικά μονοπάτια που συμμετέχει η K-Ras έτσι και αυτό βρέθηκε ότι ρυθμίζει την κυτταρική ανάπτυξη, την είσοδο στον κυτταρικό κύκλο, την επιβίωση του κυττάρου, την αναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού και τον μεταβολισμό (Han et al., 2021c).

Οι ισόμορφες του PI3-K διαχωρίζονται σε τρεις κατηγορίες με βάση την δομή και την βιοχημική τους σύσταση. Η κατηγορία I PI3K αφορά ετεροδιμερή που περιέχουν μία από τις τέσσερις καταλυτικές υπομονάδες p110 (p110α(PI3CA), p110β(PIK3CB), p110γ(PIK3CG), p110δ(PIK3CD)) και μία ρυθμιστική υπομονάδα (p85α, p85β, p55γ, p101 p84). Στη κατηγορία II εμφανίζονται σε τρεις ισομορφές τα (PI3K-C2α

(PIK3C2A), PI3K-C2β (PIK3C2B), PI3K-C2γ (PIK3C2G)). Τέλος, η κατηγορία III PI3K έχει μία καταλυτική υπομονάδα (πρωτεΐνη διαλογής κενοτοπίων 34 (Vps34)) και μία ρυθμιστική υπομονάδα (Vps15) (Jean & Kiger, 2014; Vanhaesebroeck et al., 2010).

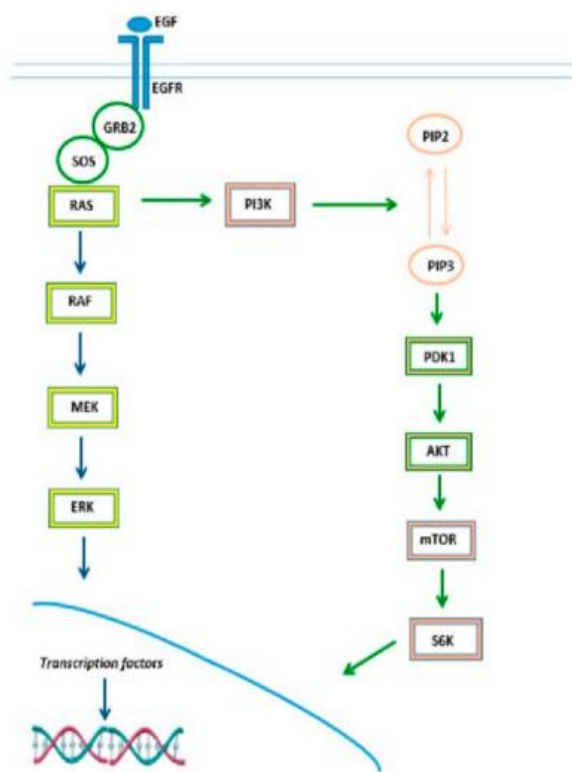
Στην Εικόνα 4 που παρουσιάζεται παρακάτω, απεικονίζεται σχηματικά το Raf-MEK- ERK μονοπάτι και το PI3K-Akt-mTOR μονοπάτι.

Συνοπτικά, όπως φαίνεται και στην εικόνα το Raf- MEK- ERK μονοπάτι καταλήγει στην ενεργοποίηση του ERK και άρα στη περαιτέρω εξέλιξη του όγκου, όπου μέσω της Raf διεγείρονται οι MEK1 και MEK2 και με τη σειρά τους καταλήγουν εν τέλει στην ενεργοποίηση των ERK1 και ERK2. Σχετικά με το PI3K-Akt-mTOR μονοπάτι, οι PI3Ks ενεργοποιούνται μέσω των RTKs ή GPCRs ή μέσω της ενεργοποιημένης K-Ras. Τα RTKs ή GPCRs παράγουν PIP3 μέσω της φωσφορυλίωσης της PIP2. Η PDK1 με τη σειρά της φωσφορυλιώνει και ενεργοποιεί την Akt, όπου η ίδια μεσολαβεί στη κυτταρική ανάπτυξη και επιβίωση μέσω του φωσφορυλιωμένου mTor. Αναλυτικότερα, τα μέλη της οικογένειας της PI3K ενεργοποιούνται μέσω των RTKs ή GPCRs στην πλασματική μεμβράνη και παράγουν 3-4-5-φωσφορική φωσφατιδυλινοσιτόλη (PIP3) μέσω της φωσφορυλίωσης της 4-5- διφωσφορικής φωσφατιδυλινοσιτόλης (PIP2) (Cantley, 2002). Επίσης, η ενεργοποιημένη K-Ras αλληλεπιδρά και ενεργοποιεί με τη σειρά τις PI3Ks (M. J. Kim et al., 2020).

Αναλυτικότερα, η PIP3 εκκινεί καθοδική σηματοδότηση μέσω των πρωτεϊνικών κινασών-B σερίνης-θρεονίνης (Akt) και των εξαρτώμενων 3- φωσφοινοσιτιδίων πρωτεϊνικών κινασών (PDK1) στην κυτταρική μεμβράνη, έτσι η PDK1 φωσφορυλιώνει και ενεργοποιεί την Akt. Η Akt απαιτεί για την ενεργοποίησή της, τη φωσφορυλίωση των δύο κύριων θέσεων ενεργοποίησης, της θέσης Thr 308 στον ενεργοποιημένο βρόγχο T και της θέσης Ser 473 του C-τερματικού υδροφοβικού άκρου μέσω των PDK1 και PDK2, αντιστοίχως (Liao & Hung, 2010).

Μόλις ενεργοποιηθεί Akt, η ίδια μεσολαβεί στην κυτταρική ανάπτυξη και επιβίωση, μέσω του φωσφορυλιωμένου mTOR, που δρα σε δύο λειτουργικά διακριτά σύμπλοκα. Το πρώτο σύμπλοκο είναι το mTOR σχετιζόμενο με το RAPTOR (mTORC1) και το δεύτερο σύμπλοκο που είναι το mTOR σχετιζόμενο με το RIPTOR (mTORC2). Αξίζει να σημειωθεί ότι το mTORC1 διαθέτει ευαισθησία στη ραπαμυκίνη, ενώ το mTORC2 είναι ανθεκτικό σε αυτή (L. C. Kim et al., 2017).

Τέλος, έχει αναφερθεί ότι το mTORC2 και το Akt αποτελούν ένα βρόχο θετικής ανάδρασης μέσω της φωσφορυλίωσης της υπομονάδας mTORC2 SIN1. Αυτή η φωσφορυλίωση της υπομονάδας είναι και που οδηγεί στην φωσφορυλίωση της Akt σερίνης (Ser) 473. Επιπλέον, η φωσφορυλίωση των δύο κύριων ενεργών θέσεων Thr 308 και Ser 473 του Akt από PDK1 και το mTORC2 είναι απαραίτητη για το διαμεσολαβούμενο Akt δίκτυο σηματοδότησης, το οποίο περιλαμβάνει κινάση συνθάσης γλυκογόνου-3 (GSK-3), το forkhead box O (FOXO), το σύμπλεγμα κονδυλώδους σκλήρυνσης (TSC2) και το mTORC1 (Yang et al., 2015 ; Manning & Toker, 2017 ; Yu & Cui, n.d.).



Εικόνα 4: Απεικονίζονται τα σηματοδοτικά μονοπάτια MAPK/ ERK και PI3K/Akt/ mTOR (Negri et al., 2022b)

1.2.4 Το RalGEF-Ral Μονοπάτι

Ο τρίτος καλύτερα χαρακτηρισμένος παράγοντας της K-Ras ογκογένεσης στον άνθρωπο αφορά το Ral-GEF Ral μονοπάτι (Ral- επιλεκτικοί παράγοντες ανταλλαγής νουκλεοτιδίων γουανίνης- Ras μονοπάτι) (Yan & Theodorescu, 2018).

Οι Ral πρωτεΐνες (όμοιες με Ras) είναι μικρές GTPάσες (RalA και RalB) που ανακυκλώνονται ανάμεσα στην ανενεργή κατάσταση δέσμευσης- GDP και στην ενεργή κατάσταση δέσμευσης-GTP. Ωστόσο, η Ral GTPάση είναι εξαρτημένη από το RALGEF και τις πρωτεΐνες ενεργοποίησης της GTPάσης (RALGAPs) για να καταλύσουν την ανταλλαγή GDP- GTP λόγω της αδύναμης εγγενούς δραστηριότητας της GTPάσης (Lim et al., 2005).

Η μεταλλαγμένη K-Ras ενεργοποιεί τα RalGEFs, τα οποία οδηγούν στο σχηματισμό της ενεργού κατάστασης δεσμευμένης- GTP των Ral GTPασών. Οι ενεργοποιημένες Ral GTPάσες διεγείρουν ένα ευρύ φάσμα τελεστών και ρυθμίζουν τις ενεργοποιήσεις τους. Οι ενεργοποιήσεις που αναφέρθηκαν περιλαμβάνουν την ZO-1-συνδεδεμένη πρωτεΐνη δέσμευσης νουκλειικού οξέος (ZONAB), τις εξωκυτικές υπομονάδες Sec5/Exo84, τη Filamin, τη RalA πρωτεΐνη δέσμευσης 1 (γνωστή και ως RalBP1, RLIP1 και RIP1) και τη φωσφολιπάση D1 (PLD1) (J. H. Kim et al., 1998 ; Ikeda et al., 1998 ; Moskalenko et al., 2003 ; Frankel et al., 2005 ; Y. Ohta et al., 1999).

Η ενεργοποίηση της σηματοδότησης Ral έχει αποδειχθεί ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό, την επιβίωση, τη μετάσταση, στην αναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού της ακτίνης, στη μεταγραφικοί ρύθμιση, στην διακίνηση των διακυτταρικών μεμβρανών και στον καταρράκτη σηματοδότησης της κινάσης (Han et al., 2021c).

1.3 Μοριακή Επιδημιολογία

Η πρωτεΐνη K-Ras εκφράζεται από τους περισσότερους ιστούς ομοιόμορφα αλλά σε ορισμένους υπερεκφράζεται όπως στους σκελετικούς μύες, στο μυοκάρδιο, στη μήτρα, στον φλοιό των επινεφριδίων και σε ορισμένα βλαστοκύτταρα του μυελού των οστών. Παρόλα αυτά, έχει βρεθεί ότι οι RAS καθοδηγούμενοι καρκίνοι δεν σχετίζονται με τους ιστούς στους οποίους φυσιολογικά εκφράζεται το RAS και οι οποίοι αναφέρθηκαν πιο πάνω (Timar & Kashofer, 2020).

Μεγάλο ενδιαφέρον, προκύπτει και από το γεγονός ότι σε ένα συγκεκριμένο τύπο καρκίνου, η μετάλλαξη στο γονίδιο *KRAS* μπορεί να εντοπίζεται σε ένα συγκεκριμένο τύπο ιστού. Παραδείγματος χάριν, στην περίπτωση του καρκίνου του πνεύμονα παρόλο που καθοριστικό παράγοντα στην πρόκληση και την εμφάνιση του συγκεκριμένου

τύπου καρκίνου διαδραματίζει το κάπνισμα, μετάλλαξη στο *KRAS* γονίδιο εξειδικεύεται στο αδеноκαρκίνωμα αλλά απουσιάζει παντελώς από τον καρκίνο στον μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (Kerr, 2012; Tímár, 2014). Στο ορθοκολικό αδеноκαρκίνωμα, έχει βρεθεί ότι οι καρκίνοι της δεξιάς πλευράς είναι πιο επιθετικοί σε αντίθεση με τους αυτούς της αριστερής πλευράς και για αυτό το λόγο ανταποκρίνονται και λιγότερο στη θεραπεία. Έτσι, έχει παρατηρηθεί ότι η συχνότητα γενικά μεταλλαγμένου γονιδίου *KRAS* είναι σημαντικά πιο συχνή στη δεξιά πλευρά από ότι στην αριστερή (Benedix et al., 2010; Hong et al., 2012; Imperial et al., 2018).

1.4 Ανισορροπία αλληλομόρφων του *KRAS*

Οι ογκογενετικές μεταλλάξεις μπορεί να είναι ομόζυγες ή ετερόζυγες, επηρεάζοντας έτσι την συχνότητα με την οποία εμφανίζονται τα μεταλλαγμένα αλληλόμορφα και την έκφραση της πρωτεΐνης (Timar & Kashofer, 2020).

Πειραματικά δεδομένα υποδηλώνουν ότι η παρουσία του αλληλομόρφου αγρίου τύπου *KRAS* σε συνδυασμό με την παρουσία και ενός μεταλλαγμένου έχει σημαντική επίδραση στην αποτελεσματικότητα της διαδικασίας μετασχηματισμού όπως και στη λειτουργία της σηματοδότησης του RAS μονοπατιού (Z. Zhang et al., 2001).

Έπειτα, από ανάλυση που πραγματοποιήθηκε σε μεγάλη κοόρτη ασθενών καθώς και μέσα από τη βάση δεδομένων TCGA φάνηκε ότι η αλληλική ανισορροπία του *KRAS* ήταν πολύ συχνή σε καρκίνους με ποσοστό έως και 55%. Η ετερόζυγη απώλεια του αλληλομόρφου αγρίου τύπου είχε μεγαλύτερη συχνότητα στο αδеноκαρκίνωμα του πνεύμονα αλλά ήταν επίσης και πολύ συχνή στο καρκίνο του παχέος εντέρου ή του παγκρέατος (Burgess et al., 2017).

Επιπρόσθετα, ο αριθμός των αντιγράφων, το κέρδος του μεταλλαγμένου αλληλομόρφου ήταν συχνότερα στον καρκίνο του παγκρέατος και ήταν σχετικά σπάνια στο αδеноκαρκίνωμα του πνεύμονα, καθώς και η πραγματική γονιδιακή ενίσχυση ήταν σχετικά σπάνια σε ποσοστό 10%-20% (Burgess et al., 2017).

Μέσα από τα παραπάνω δεδομένα, υποδηλώνεται ότι μεταξύ των *KRAS* μεταλλαγμένων τύπων καρκίνου, η δόση του μεταλλαγμένου γονιδίου σε σχέση με το αγρίου τύπου γονίδιο, μπορεί να είναι σημαντικά διαφορετικό, ως αποτέλεσμα των

μηχανισμών αλληλικών ανισορροπιών όπου πιθανότατα επηρεάζουν το επίπεδο έκφρασης του μεταλλαγμένου γονιδίου που μπορεί να επηρεάσει τα επίπεδα της πρωτεΐνης (Burgess et al., 2017)

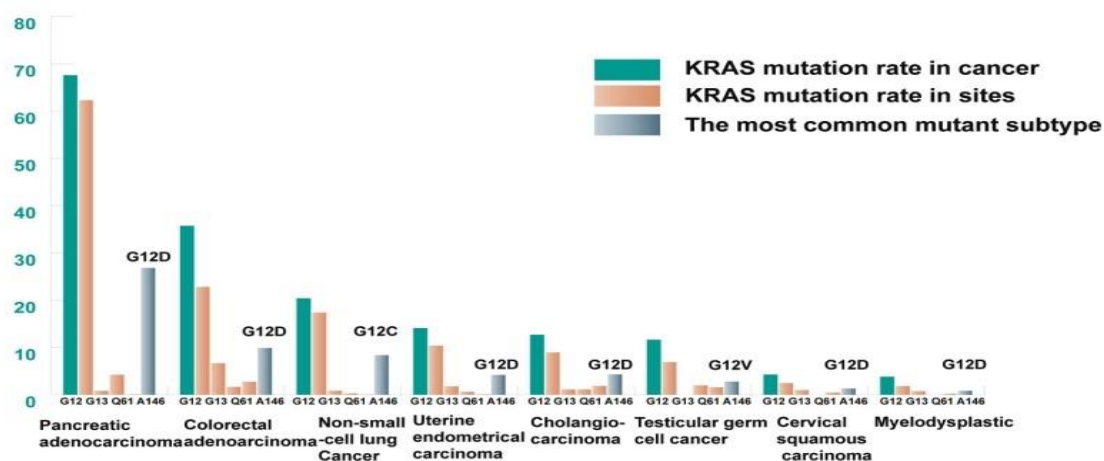
Εν κατακλείδι, σύμφωνα με τα πιο πάνω δεδομένα υπάρχουν δύο τύποι μεταλλαγμένου καρκίνου *KRAS* στον άνθρωπο, το πρώτο περιέχει ένα αλληλόμορφο αγρίου τύπου το οποίο μπορεί να επηρεάσει τη μεταλλαγμένη σηματοδότηση *KRAS* και ο δεύτερος τύπος αφορά όταν το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο βρίσκεται και εκφράζεται σε ομοζυγωτία (Haigis, 2017; Hobbs et al., 2016; Hunter et al., 2015b).

1.5 Μοτίβα μετάλλαξης του γονιδίου *KRAS*

Το μοτίβο μετάλλαξης του *KRAS* ειδικεύεται αναλόγως στον τύπο του καρκίνου που εντοπίζεται. Έπειτα από ανάλυση που έγινε, μερικά αποτελέσματα της οποίας παρουσιάζονται στο Γράφημα 1 πιο κάτω, υπέδειξε ότι οι μεταλλάξεις που αφορούν το γονίδιο *KRAS*, πρωτίστως η G12D και δευτερευόντως η G12V, είναι οι πιο συχνές ανάμεσα στους διάφορους τύπους καρκίνου που αφορούν το *KRAS* αλλά με ενδιαφέρουσες παραλλαγές. Η συχνότητα της μετάλλαξης G12D είναι η υψηλότερη στον παγκρεατικό καρκίνο και η χαμηλότερη στο αδеноκαρκίνωμα του πνεύμονα. Στη περίπτωση της μετάλλαξης G12V, αυτή εμφανίζεται περισσότερο στον καρκίνο των ωοθηκών και στον χολαγγειακό καρκίνο υπάρχει μικρότερη συχνότητα εμφάνισης. Μεγάλη εντύπωση προκαλεί η μετάλλαξη G12C η οποία είναι η πιο συχνή στο αδеноκαρκίνωμα του πνεύμονα με ποσοστό εμφάνισης περίπου 40% και σημαντικά χαμηλότερα συχνή στους υπόλοιπους τύπους καρκίνου με ποσοστό περίπου στο 10%. Όσον αφορά τις υπόλοιπες μεταλλάξεις του εξονίου 2 αυτές είναι πολύ λιγότερο διαδεδομένες αλλά και πάλι μπορούν να βρεθούν συγκεκριμένα μοτίβα ανάλογα με τον τύπο του καρκίνου. Για παράδειγμα η μετάλλαξη G12A χαρακτηρίζει τον ενδομήτριο καρκίνο, το G12S είναι ειδικό για χολαγγειακό καρκίνο, το G12R είναι μετάλλαξη που χαρακτηρίζει τον παγκρεατικό καρκίνο και η G13D είναι μετάλλαξη του ορθοκολικού καρκίνου (Prior et al., 2012; Timar & Kashofer, 2020; Waters & Der, 2018a).

Επίσης, μέσα από το Γράφημα 1, έχει παρατηρηθεί ότι η μετάλλαξη G12D είναι η πιο συχνή στους περισσότερους τύπους καρκίνου, ενώ η μετάλλαξη G12C και G12V ήταν πιο συχνές στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα και στον καρκίνο των

γεννητικών κυττάρων των όρχεων, αντίστοιχα. Τα μεταλλαγμένα μοτίβα σχετίζονται με διάφορου είδους καρκινογενέσεις και/ή μεταλλαξιογόνες διεργασίες όπως οι ελλείψεις στην επιδιόρθωση του DNA που ως εκ τούτου είναι μοναδικές για τους διάφορους τύπους καρκίνου (Kucab et al., 2019).



Γράφημα 1: Απεικονίζεται η συχνότητα των μεταλλάξεων KRAS σε συσχέτιση με τον τύπο των όγκων, συμπεριλαμβανομένης της συχνότητας μετάλλαξης των κοινών θέσεων και τον υποτύπο με το υψηλότερο ποσοστό μετάλλαξης σε διαφορετικούς τύπους όγκων (Huang et al., 2021c)

1.6 KRAS και το μικροπεριβάλλον του όγκου

Το μικροπεριβάλλον του όγκου είναι ένα δυναμικό δίκτυο, το οποίο δεν αποτελείται μόνο από τα καρκινικά κύτταρα αλλά και από άλλους διάφορους τύπους κυττάρων που δεν φέρουν όγκο. Σε αυτά τα κύτταρα περιλαμβάνονται τα στρωματικά κύτταρα όπως τα ανοσοκύτταρα, δηλαδή, τα μακροφάγα, τα ουδετερόφιλα, τα δενδριτικά, τα φυσικά φονικά κύτταρα και τα κατασταλτικά κύτταρα που προέρχονται από μυελοειδή (MDSCs) και τα Β και Τ κύτταρα. Επίσης, στο μικροπεριβάλλον του όγκου υπάρχουν ινοβλάστες, τα λιποκύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, οι νευρώνες, οι οστεοβλάστες, οστεοκλάστες και η εξωκυτταρική μήτρα (ECM). Η μη κυτταρική σύσταση του μικροπεριβάλλοντος του όγκου, σε συνδυασμό με τον όγκο και τα μη-καρκινικά κύτταρα δημιουργούν ένα δυναμικό μικροπεριβάλλον με ιδιαιτερότητες οι οποίες ρυθμίζουν τις δραστηριότητες των καρκινικών κυττάρων και διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην εξέλιξη του όγκου.

Σημαντικό ρόλο κατέχει και η φλεγμονή ως προς την εκκίνηση και την εξέλιξη της ογκογένεσης, καθότι, ενορχηστρώνει την ανοσολογική επιτήρηση και ανοσολογική διαφυγή και έτσι καταλήγει να επηρεάζει την ανταπόκριση στην θεραπεία. Η φλεγμονή που προάγει τον όγκο έχει συνδεθεί στενά με τις μεταλλάξεις του γονιδίου *KRAS*, για παράδειγμα στο καρκίνο του παχέος εντέρου η πλειονότητα των περιπτώσεων με υψηλό επιπολασμό μεταλλάξεων *KRAS* συσχετίζεται με χρόνιες φλεγμονώδεις νόσους.

Οι μεταλλάξεις του *KRAS* έχουν συνδεθεί περισσότερο με το αντιφλεγμονώδες και κατά συνέπεια το προ-καρκινικό περιβάλλον παρά με το προφλεγμονώδες. Μέσα από αρκετές μελέτες όμως έχει παρατηρηθεί συσχέτιση μεταξύ της K-Ras και με προφλεγμονώδες και αντικαρκινικές κυτοκίνες και χημοκίνες. Οι χημοκίνες με τις οποίες έχουν συσχετιστεί οι *KRAS* μεταλλάξεις είναι οι ICAM-1, IL-18 και IL-6, ενώ, καθώς οι πρώτες δύο χημοκίνες που αναφέρθηκαν έχουν συνδεθεί με τη προφλεγμονώδη δράση των μεταλλάξεων *KRAS* αντίθετα η IL-6 κατέχει ένα αντιφλεγμονώδες ρόλο στο μεταλλαγμένο γονίδιο *KRAS*.

Η K-Ras αποτελεί έναν κρίσιμο ρυθμιστή του μικροπεριβάλλοντος του όγκου, καθώς αυτό δεν αποτελείται μόνο από τα καρκινικά κύτταρα αλλά και από άλλα μη καρκινικά κύτταρα όπως τα ανοσοκύτταρα, τους ινοβλάστες τα λιποκύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και άλλα ακόμη διαφορετικών τύπων κύτταρα που διαμορφώνουν αλλά και μπορεί να διαμορφωθούν και από άλλους παράγοντες όπως τις μεταλλάξεις του *KRAS*. Το μικροπεριβάλλον του όγκου αποτελεί ένα δυναμικό και απαιτητικό περιβάλλον και αρκετές μελέτες έχουν αναφέρει ότι οι μεταλλάξεις του *KRAS* μπορούν να οδηγήσουν στην έκκριση αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών όπως οι IL-10, TGF- β και το GM-CSF με την ικανότητα να διατηρούν ένα ανοσοκατεσταλμένο περιβάλλον όγκου, προάγοντας τη περαιτέρω εξέλιξη του. Άλλες μελέτες έχουν παρατηρήσει ότι οι μεταλλάξεις *KRAS* παρεμβαίνουν στην έκκριση προφλεγμονωδών κυτταροκινών, με αντικαρκινική δράση όπως οι ICAM-1, TNF- α , και το IL-18.

Η K-Ras και οι αλληλεπιδράσεις του είναι ικανοί για τη διαμόρφωση του ανοσοποιητικού του μικροπεριβάλλοντος του μέσω της επαγωγής του πυρηνικού παράγοντα κ απα- ενισχυτής ελαφριάς αλυσίδας της σηματοδότησης ενεργοποιημένων B- κυττάρων (NF)- κ B που με τη σειρά του προάγει τη μεταγραφή αρκετών κυτοκινών και χημειοκινών, συμπεριλαμβανομένης της ιντερλευκίνης (IL)-1 $^{\alpha/\beta}$, IL- 6 α -παράγοντας νέκρωσης όγκου (TNF- α), Cys-X- Cys χημειοκίνη (CXCL)- 1,2,5 και 8,

μονοκυτταρική χημειοελκυστική πρωτεΐνη 1 (MCP-1 ή CCL2), επαγωγίμη συνθάση νιτρικού οξειδίου (Inos), ενδοκυτταρική προσκόλληση μορίου 1 (ICAM- 1) και το μόριο προσκόλλησης ενδοθηλιακών κυττάρων 1 (ELAM1).

Το IL-10 και ο αυξητικός μετασχηματιστικός παράγοντας- β (TGF-β) αποτελούν αντιφλεγμονώδεις κυτοκίνες οι οποίες έπειτα από μελέτες έχει αναδειχθεί ότι οι μεταλλάξεις στο γονίδιο *KRAS* μπορούν να οδηγήσουν στην έκκριση τους. Με αυτό το τρόπο επιδρούν στην ικανότητα διατήρησης ενός ανοσοκατασταλτικού μικροπεριβάλλοντος όγκου. Ορισμένες άλλες μελέτες, αντίθετα, έδειξαν ότι οι μεταλλάξεις στο γονίδιο *KRAS* μπορούν να επηρεάσουν την έκκριση προφλεγμονωδών. Αξίζει να αναφερθεί ότι τα καθοδικά μονοπάτια της πρωτεΐνης K-Ras όπως οι RAF/MAPK και PI3K είναι αυτά που επάγουν την έκφραση του IL-10, του αυξητικού μετασχηματιστικού παράγοντα- β (TGF-β), καθώς και του κοκκιοκυττάρου-μακροφάγου διεγερτικού παράγοντα αποικιών (GM-CSF) (Pereira et al., 2022).

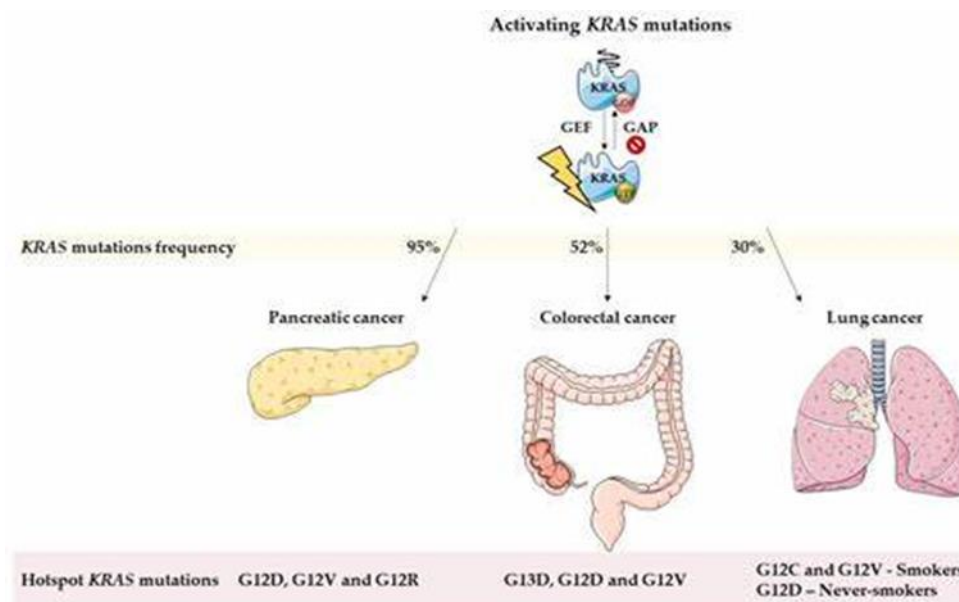
Ορισμένα δεδομένα υποστηρίζουν ότι η K-Ras, η κυτοκίνη ICAM-1 και η φλεγμονή ότι επιδρούν ως προς την ανάπτυξη του αδενοκαρκίνωματος του παγκρεατικού πόρου. Οι μεταλλάξεις *KRAS* μπορούν επίσης να τροποποιήσουν το μικροπεριβάλλον του όγκου μειώνοντας την έκκριση της IL-18, εμποδίζοντας την ανοσοδιεγερτική λειτουργία και, ως εκ τούτου, συμβάλλοντας στην αποφυγή του τοπικού ανοσοποιητικού συστήματος κατά τη διάρκεια της ανάπτυξη του όγκου.

Σύμφωνα με τα μέχρι στιγμής δεδομένα φαίνεται ότι η K-Ras δρα ως ρυθμιστής με αντιφλεγμονώδη και προφλεγμονώδη τρόπο στο μικροπεριβάλλον του όγκου.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2- ΜΕΤΑΛΛΑΞΕΙΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ *KRAS* ΚΑΙ ΤΥΠΟΙ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

Σύμφωνα με τους Pereira et al. και τη παρακάτω εικόνα οι μεταλλάξεις του γονιδίου *KRAS* αποτελούν τις πιο κοινές μεταλλάξεις που εντοπίζεται σε συμπαγείς όγκους και ιδιαίτερα στο καρκίνο του παγκρέατος με ποσοστό 95%, του παχέος εντέρου με 52% και του καρκίνου του πνεύμονα με ποσοστό συχνότητας 30%. Για τον παγκρεατικό καρκίνο οι κύριες μεταλλάξεις είναι οι G12D, G12V και G12R, για το καρκίνο του παχέος εντέρου είναι οι G13D, G12D και G12V ενώ για το καρκίνο του πνεύμονα είναι

οι G12C και G12V για τους καπνιστές και G12D για τους μη καπνιστές (δεν έχουν υπάρξει ποτέ καπνιστές στη ζωή τους).



Εικόνα 5: Απεικόνιση των τριών τύπων καρκίνου που προκαλεί η μετάλλαξη του KRAS, δηλαδή, του παγκρεατικού καρκίνου, του καρκίνου του παχέος εντέρου και του καρκίνου του πνεύμονα και με τη συχνότητα εμφάνισης τους. Αναγράφονται, επίσης, οι κύριες μεταλλάξεις με βάση τη συχνότητα εμφάνισης τους για τον κάθε τύπο καρκίνου ξεχωριστά. (Pereira et al., 2022)

2.1 Ο μη- μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα

Υπάρχουν δύο κύριοι τύποι καρκίνου του πνεύμονα, ο μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα και ο μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα (<https://www.cancer.gov/types/lung/patient/non-small-cell-lung-treatment-pdq>).

Ο μη-μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα (Non Small Cell Lung Cancer, NSCLC) είναι η ασθένεια η οποία αφορά το σχηματισμό κακοήθων (καρκινικών) κυττάρων στους ιστούς του πνεύμονα. Σύμφωνα με τους R. Shi et al., ο μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα είναι η κύρια αιτία θανάτου από καρκίνο παγκοσμίως με συνολικό ποσοστό 5ετούς επιβίωσης σε ποσοστό 15%. Επίσης, σύμφωνα με τον Παγκόσμιο

Οργανισμό Υγείας βρέθηκε ότι για το έτος 2020, ευθυνόταν 1,8 εκατομμύρια θανάτους (18%) (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/lung-cancer>).

Το κάπνισμα αποτελεί τον κύριο παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση του μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα. Τα σημάδια για τη πιθανή ύπαρξη του μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα είναι κατά κύριο λόγο ο βήχας που δεν υποχωρεί αλλά και η δύσπνοια. Ο μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα διακρίνεται σε διάφορους τύπους με βάση τα διαφορετικά είδη καρκινικών κυττάρων που φέρει ο καθένας. Τα καρκινικά κύτταρα κάθε τύπου αναπτύσσονται και εξαπλώνονται με διαφορετικούς τρόπους (<https://www.cancer.gov/types/lung/patient/non-small-cell-lung-treatment-pdq>).

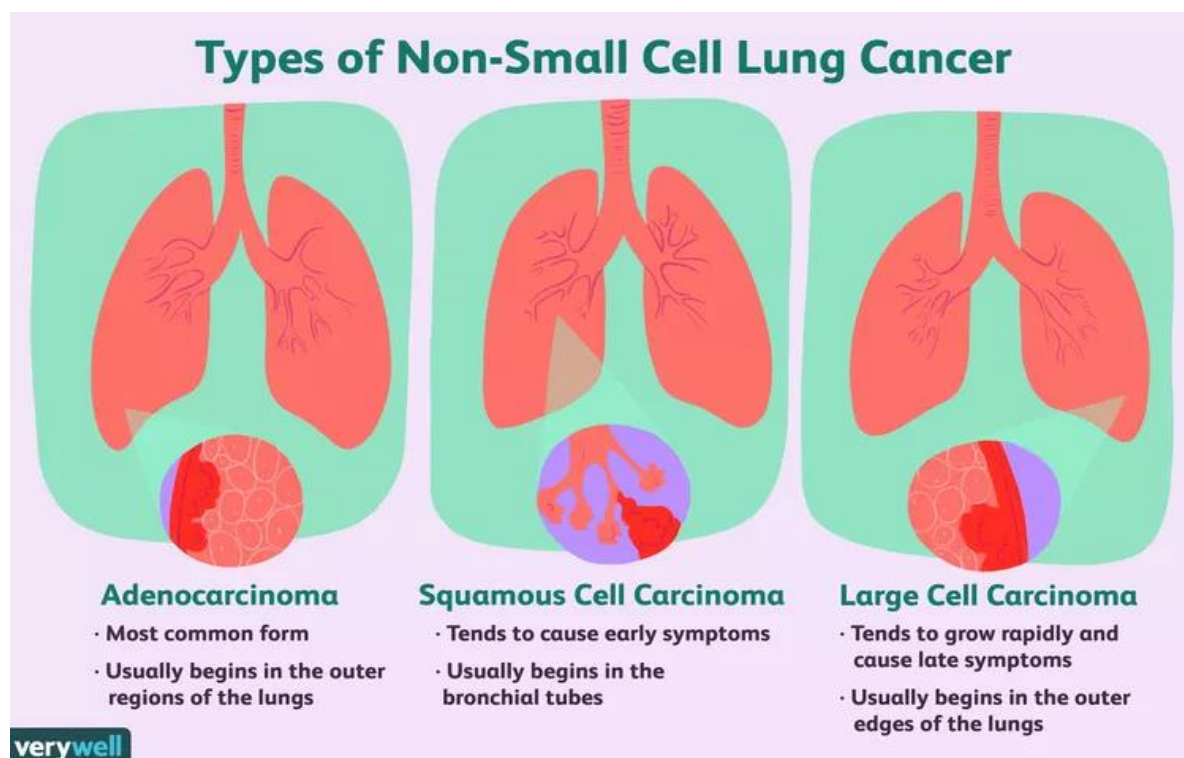
Στην Εικόνα 6, απεικονίζονται οι τρεις κύριοι τύποι μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα και κάποια βασικά χαρακτηριστικά τους. Αυτοί οι τύποι μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα διακρίνονται με βάση τα είδη των κυττάρων που βρίσκονται στον καρκίνο και το πως φαίνονται αυτά στο μικροσκόπιο:

Πλακώδες κυτταρικό καρκίνωμα: Όγκος που ξεκινά από πλακώδη κύτταρα, τα οποία είναι λεπτά επίπεδα κύτταρα και αποτελούν επένδυση της αναπνευστικής οδού και της πεπτικής οδού, καθώς, επίσης βρίσκονται και στον ιστό, που σχηματίζει την επιφάνεια του δέρματος και την επένδυση των κοίλων οργάνων του σώματος. Επίσης, το πλακώδες κυτταρικό καρκίνωμα συνδέεται με φτωχή κλινική πρόγνωση και δεν διαθέτει στοχευμένους παράγοντες σε σχέση με το αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα (Li et al., 2018).

Μεγαλοκυτταρικό καρκίνωμα: Όγκος που μπορεί να ξεκινήσει σε διάφορους τύπους μεγάλων κυττάρων.

Αδενοκαρκίνωμα: Όγκος που ξεκινά από τα κύτταρα που επενδύουν τις κυψελίδες, σχηματίζεται στον αδενικό ιστό ο οποίος επενδύει ορισμένα εσωτερικά όργανα. Παράγει και απελευθερώνει ουσίες όπως βλέννα, πεπτικούς χυμούς και άλλα υγρά. Η σχετική συχνότητα του αδενοκαρκινώματος του πνεύμονα αυξάνεται σταθερά τις τελευταίες δεκαετίες, σε αντίθεση, με το πλακώδες κυτταρικό καρκίνωμα. Το γεγονός αυτό πιθανότατα οφείλεται στην χρήση τσιγάρων με χαμηλή περιεκτικότητα σε νικοτίνη. Πλέον το αδενοκαρκίνωμα αποτελεί το πιο συχνά ιστολογικό τύπο καρκίνου του πνεύμονα και αντιπροσωπεύει περισσότερο από το 40% του συνόλου. Επίσης,

επικρατεί ελαφρώς στους άνδρες ασθενείς, αλλά εμφανίζεται αρκετά συχνά και στις γυναίκες, ιδιαίτερα στις νεαρές ή ακόμη και σε άτομα που δεν έχουν καπνίσει ποτέ (36-Article Text-163-1-10-20190717, n.d- Kuhn et al., 2018).



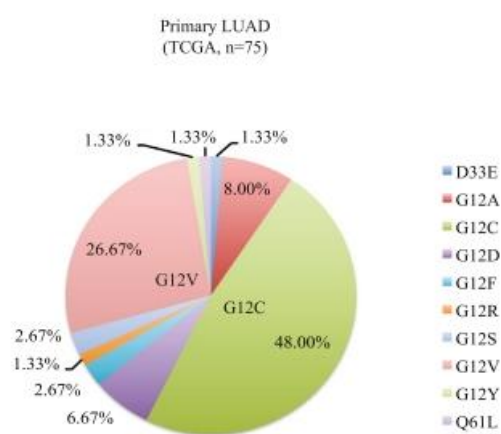
Εικόνα 6: Οι τρεις κύριοι τύποι μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα
(<https://www.verywellhealth.com/what-is-the-most-common-type-of-lung-cancer-2249359>)

Άλλοι μη μικροκυτταρικοί τύποι καρκίνου λιγότερο συχνοί είναι το αδενοπλακώδες καρκίνωμα, το σαρκωματοειδές καρκίνωμα, το καρκίνωμα σιελογόνων αδένων, ο καρκινοειδής όγκος και το μη ταξινομημένο καρκίνωμα
(<https://www.cancer.gov/types/lung/patient/non-small-cell-lung-treatment-pdq>).

2.1.1 Μεταλλάξεις του γονιδίου *KRAS* και μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα

Στο καρκίνο του πνεύμονα η μετάλλαξη στο γονίδιο *KRAS* εμφανίζεται περισσότερο στο κωδικόνιο 12 του εξονίου 2 και λιγότερο συχνά στο κωδικόνιο 13 με ποσοστό 3-5%. Πιο σπάνια μετάλλαξη του *KRAS* σε αυτό το τύπο καρκίνου θα εμφανιστεί στο κωδικόνιο 61 του εξονίου 3 με ποσοστό εξαιρετικά χαμηλό, δηλαδή, 1%. Η μετάλλαξη που εμφανίζεται στο κωδικόνιο 12 και 13 του εξονίου 2 επηρεάζει τη δομή του

φωσφορικού νουκλεοσιδικού βρόχου γουανίνης της περιοχής G, γεγονός, που έχει ως αποτέλεσμα τη σταθεροποίηση της αλληλεπίδρασης με το GTP που κλειδώνει στην ενεργή κατάσταση και αναστέλλει τη δραστηριότητα της GTPάσης. Στο κωδικόνιο 61 η μετάλλαξη αναστέλλει τη δυνατότητα της πρωτεΐνης της GTPάσης με αποτέλεσμα να προκύψει συσσώρευση της δεσμευμένης- GTP RAS πρωτεΐνης. Αυτές οι μεταλλάξεις καθιστούν την πρωτεΐνη K-Ras συστατικά ενεργή για τη διέγερση των σηματοδοτικών μονοπατιού που συμμετέχει (Ihle et al., 2012; Smith et al., 2013; Young et al., 2013).



Γράφημα 2: Στο κυκλικό γράφημα πίτας απεικονίζεται η κατανομή των διαφορετικών μεταλλάξεων του γονιδίου *KRAS* που αναλύθηκε σε ιστό με πρωτογενή αδеноκαρκίνωμα του πνεύμονα (LUAD) (H. Wang et al., 2019)

Σύμφωνα με τους Wang et al., οι μεταλλάξεις του γονιδίου *KRAS* με τα υψηλότερα ποσοστά συχνότητας εμφάνισης είναι, αρχικά, η *KRAS* G12C, η *KRAS* G12V, η *KRAS* G12A και η *KRAS* G12D σε ποσοστό 48.00%, 26.67%, 8.00% και 6.67%, αντίστοιχα. Όλες οι μεταλλάξεις αφορούν το αδеноκαρκίνωμα του πνεύμονα σε πρωτογενή ιστό σε 75 άτομα ως δείγμα πληθυσμού.

2.1.2 Το κάπνισμα και ο μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα

Οι πέντε διαφορετικές μεταλλάξεις που αντιπροσωπεύουν το 70% των ασθενών με μετάλλαξη στο γονίδιο *KRAS* είναι οι G12D, G12V, G12C, G13D και Q61R. Από αυτές τις μεταλλάξεις, η πιο κοινή που προκαλεί καρκίνο του πνεύμονα είναι η G12C, η οποία

προκαλείται εξαιτίας μεταλλάξεων που σχετίζονται με τη μεταστροφή, δηλαδή, την αντικατάσταση μίας πουρίνης με μία πυριμιδίνη ή το αντίστροφο. Συγκεκριμένα στη περίπτωση, της KRAS G12C υπερισχύει η αντικατάσταση της γουανίνης με τη κυτοσίνη σε σύγκριση με την αντικατάσταση της θυμίνης με μία αδενίνη (G:C>T:A), όπου και οι δύο αυτές αντικαταστάσεις αφορούν τη μεταστροφή. Η μετάλλαξη της KRAS G12C που προκαλεί καρκίνο του πνεύμονα αφορά τη μεταστροφή, η οποία σχετίζεται με τα καρκινογόνα πρόσθετα στο DNA που παράγονται από μεταλλαξιογόνους παράγοντες που εντοπίζονται στον καπνό του τσιγάρου. (Seo et al., 2000).

Οι μεταλλάξεις KRAS μπορεί και να σχετίζονται με κακή πρόγνωση και ανταπόκριση σε προχωρημένο ή μεταστατικό στάδιο του μη- μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα (Goulding et al., 2020). Η τυπική, συμβατική θεραπεία για ασθενείς με μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα λόγω μεταλλάξεων στο γονίδιο *KRAS* είναι η χημειοθεραπεία με μέσο ποσοστό συνολικής επιβίωσης (OS- average overall survival rate) είναι λιγότερο από δύο χρόνια (Awad et al., 2021).

Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι οι μεταλλάξεις *KRAS* σε ασθενείς με μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα έχουν αρνητικό αντίκτυπο στο μέσο ποσοστό συνολικής επιβίωσης (OS), στην επιβίωση χωρίς εξέλιξη (PFS) και στο ποσοστό ελέγχου της νόσου (DCR) (Macerelli et al., 2014; Marabese et al., n.d.). Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι οι ασθενείς που φέρουν γενικά μετάλλαξη *KRAS* αναπτύσσουν συνήθως μεταστάσεις στο ήπαρ και στον εγκέφαλο και βιώνουν μία πιο επιθετική μορφή της νόσου (Macerelli et al., 2014).

Η πιο κοινή μετάλλαξη στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα, όπως έχει ήδη αναφερθεί είναι η G12C και για τον ίδιο τύπο καρκίνου ακολουθεί η μετάλλαξη G12V, G12D και G12A (Ceddia et al., 2022). Επιπρόσθετα, στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα έχει παρατηρηθεί ότι η *KRAS* μετάλλαξη είναι παρούσα σε ποσοστό περίπου 30% ενώ, αντίθετα, στα πλακώδη κυτταρικά καρκινώματα η *KRAS* μετάλλαξη εμφανίζεται σε ποσοστό πολύ μικρότερο και πιο συγκεκριμένα στο 5%. Αυτές οι αλλοιώσεις είναι πιο συχνές στο δυτικό πληθυσμό με ποσοστό 26% παρά στον ασιατικό πληθυσμό όπου εμφανίζεται στο 11%, ενώ στους καπνιστές σε ποσοστό 30% και στους μη καπνιστές σε ποσοστό 10% (Dogan et al., 2012; Garrido et al., 2017; Ricciuti et al., 2016). Αντίθετα, στους ασιατικούς πληθυσμούς έχει αποδειχθεί ότι η

μετάλλαξη EGFR είναι πολύ πιο συχνή και με υψηλότερο ποσοστό εμφάνισης σε σχέση με τη KRAS. Η συνήθεια του καπνίσματος έχει συσχετιστεί έντονα με τη μετάλλαξη του γονιδίου *KRAS*. Οι μεταλλάξεις αλλαγής μιας βάσης, όπως η μετάλλαξη αντικατάστασης της γουανίνης σε θυμίνη είναι πιο συχνές σε νυν ή πρώην καπνιστές, αντίθετα, ασθενείς που δεν έχουν καπνίσει ποτέ, συνήθως, πιο συχνά φέρουν μεταλλάξεις που σχετίζονται με τη μετάπτωση δηλαδή την αντικατάσταση μίας πουρίνης με μία άλλη πουρίνη ή μίας πυριμιδίνης με μία άλλη πυριμιδίνη και οι οποίες προκαλούνται από άλλους τύπους καρκινογόνων ουσιών (Dogan et al., 2012).

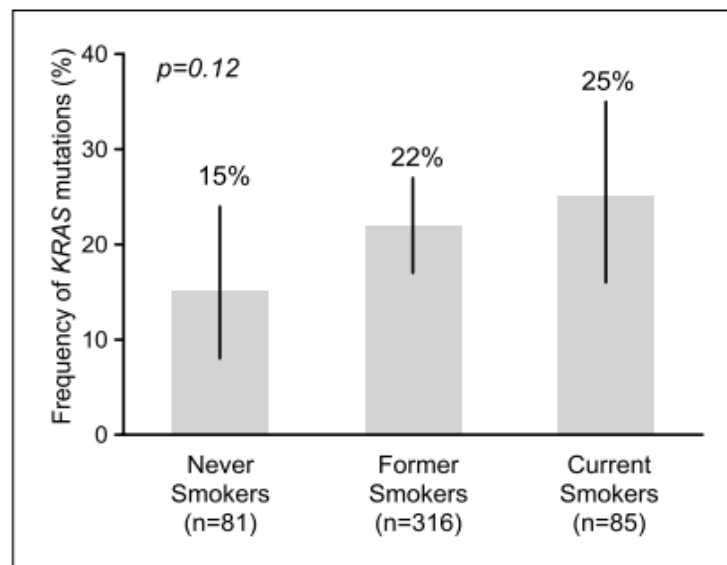
Στον καρκίνο του πνεύμονα των καπνιστών ασθενών οι G12C, G12V, G12A αλλαγές αμινοξέων είναι κυρίαρχες, ενώ σε μη καπνιστές ασθενείς με KRAS μετάλλαξη κυρίαρχες είναι οι G12D, G13D και G12S (Riely et al., 2008).

Οι ταυτόχρονες διπλές μεταλλάξεις όπως η KRAS με EGFR ή η KRAS με την ALK είναι σπάνιες στο αδеноκαρκίνωμα του πνεύμονα. Ωστόσο, εξαίρεση αποτελεί η B-RAF μετάλλαξη η οποία μπορεί να προκληθεί μαζί με τη KRAS στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (Imielinski et al., 2012).

Η εμφάνιση συνοδών μεταλλάξεων μαζί με το KRAS στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα αφορά αρχικά το TP53 που είναι γονίδιο υπεύθυνο για τη καταστολή του όγκου, τη κινάση σερίνης/θρεονίνης 11 (STK11) και τη kelch- σχετιζόμενη ECH πρωτεΐνη 1 (KEAP1). Οι συνοδές μεταλλάξεις που αναφέρθηκαν, έχουν παρατηρηθεί σε αρκετές μεταλλάξεις *KRAS* που αφορούν τον μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (Skoulidis et al., 2015).

Έχουν οριστεί τρία υποσύνολα με βάση τη παρουσία του KRAS και συν-μεταλλαγών το STK11/LKB1 ή «LK», το TP53 ή «KP» και η απενεργοποίηση του CDKN2A/B ή αλλιώς «KC». Ακόμη μία σημαντική συνοδή μετάλλαξη είναι η KEAP1/NFIE2L2 η οποία έχει συμπεριληφθεί στην ομάδα «KL» (Skoulidis et al., 2015). Οι ασθενείς με αυτή τη συνοδή μετάλλαξη KEAP1/NFIE2L2 έχουν σημαντικά μικρότερη επιβίωση. Οι όγκοι που έφεραν μεταλλάξεις TP53 έδειξαν ένα βελτιωμένο συνολικό ποσοστό απόκρισης, καθώς το ((ORR) συνολικό ποσοστό απόκρισης)) για το «KP» που αφορά το TP53 ήταν 35,7% άρα μεγαλύτερο σε σύγκριση με το «KL» που ήταν 7,4% και για τις μεταλλάξεις KRAS μόνο που ήταν 28,6%. Επίσης, οι συν-μεταλλάξεις του KRAS με STK11/LKB1 συσχετίστηκαν με χαμηλότερη απόκριση με αποκλεισμό στο σημείο ελέγχου του ανοσοποιητικού, το φτωχό ανοσοποιητικό στο μικρο- περιβάλλον και τη

χαμηλή έκφραση PD-L1, καθώς, αποδείχθηκαν ανοσοαδρανείς όγκοι (Marinelli et al., 2020; Skoulidis et al., 2015).



Γράφημα 3: Στο γράφημα στηλών απεικονίζεται η συχνότητα μετάλλαξης του KRAS για το μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα με βάση το ιστορικό καπνίσματος (Riely et al., 2008)

Σύμφωνα με τους Riely et al., και το παραπάνω διάγραμμα το υψηλότερο ποσοστό συχνότητας εμφάνισης της KRAS μετάλλαξης το εμφάνισε η κατηγορία των τωρινών καπνιστών όπου από τους 482 συνολικά ασθενείς ήταν 85 με ποσοστό 25%. Η δεύτερη κατηγορία που ακολούθησε ήταν αυτή των πρώην καπνιστών με 316 ασθενείς και ποσοστό 22% και τέλος οι ασθενείς που δεν είχαν καπνίσει ποτέ τους με 81 ασθενείς σε αυτή τη κατηγορία και ποσοστό συχνότητας εμφάνισης 15%.

2.1.3 Γονίδιο *KRAS* και μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα στην Ελλάδα

Όσον αφορά τον Ελλαδικό χώρο υπάρχουν δύο έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί και αφορούν το *KRAS* και τον μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα.

Σύμφωνα με την έρευνα των Papadopoulos et al., που διεξήχθη το 2015 και αφορούσε κυρίως το EGFR αλλά και το *KRAS* στον καρκίνο του πνεύμονα έχουν αναδειχθεί διάφορα αποτελέσματα και μερικές συσχετίσεις σε σχέση με το γονίδιο *KRAS*. Στη συγκεκριμένη μελέτη ο στόχος ήταν αρχικά η διερεύνηση της συχνότητας και του φάσματος των μεταλλάξεων EGFR σε 1,472 Έλληνες ασθενείς με μη μικροκυτταρικό

καρκίνο του πνεύμονα αλλά ταυτόχρονα πραγματοποιήθηκε και ανάλυση που αφορούσε τις KRAS μεταλλάξεις σε ασθενείς με γνωστό ιστορικό καπνίσματος προκειμένου να προσδιοριστεί η συσχέτιση τύπου και συχνότητας της μετάλλαξης με το κάπνισμα. Οι ασθενείς διακρίθηκαν σε τρεις κατηγορίες στους μη- καπνίζοντες (<100 τσιγάρα στη ζωή τους), στους πρώην καπνιστές (σταμάτησαν το τσιγάρο περίπου πριν από ≥ 5 χρόνια) και στους καπνιστές (σταμάτησαν το τσιγάρο πριν από < 1 χρόνο). Από τους συνολικά 1,472 ασθενείς που αναφέρθηκαν, μόνο για τους 561 υπάρχει γνωστό ιστορικό που να αφορά του κάπνισμα και για αυτό τον αριθμό ασθενών πραγματοποιήθηκε η ανάλυση του εξονίου 2 που αφορούσε τις μεταλλάξεις KRAS.

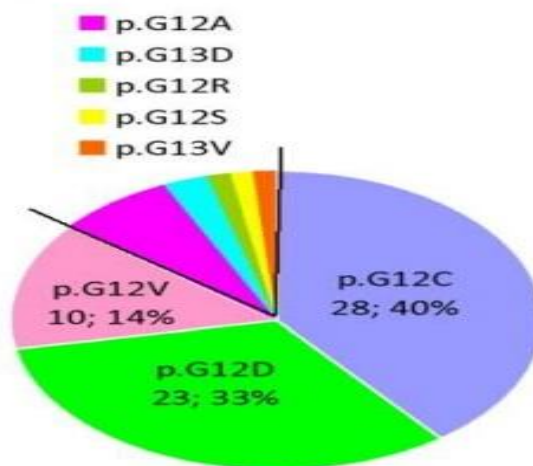
Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης ανέδειξαν ότι μεταλλάξεις KRAS του εξονίου 2 παρατηρήθηκαν σε ποσοστό 18.89% (106/561) για όλους τους ασθενείς με καρκίνο που αναλύθηκαν με γνωστό ιστορικό καπνίσματος. Επίσης, παρατηρήθηκε ότι η πλειονότητα των μεταλλάξεων KRAS βρίσκεται στο κωδικόνιο 12 (90/106 με ποσοστό 84,90%). Επιπλέον, παρατηρήθηκε πως δεν υπάρχει καμία διαφορά στη συχνότητα μετάλλαξης μεταξύ των συχνοτήτων μετάλλαξης των καπνιστών, των μη καπνιστών και των πρώην καπνιστών, γεγονός που ισχύει και για τα δύο φύλα. Σημαντικό αποτελεί και το γεγονός ότι η πλειοψηφία των KRAS μεταλλάξεων που εντοπίζεται στις κατηγορίες των καπνιστών και των πρώην καπνιστών, με ποσοστά 81,54% και 100%, αντίστοιχα αφορά μεταλλάξεις που σχετίζονται με τη μετατροφή, δηλαδή, την αντικατάσταση μίας πουρίνης με μία πυριμιδίνη ή το αντίστροφο. Μέσα από και άλλες μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί στο παρελθόν φάνηκε και εκεί η συσχέτιση μεταξύ του καπνίσματος και των μεταλλάξεων KRAS που αφορούν την αντικατάσταση μίας πουρίνης με μία πυριμιδίνη ή και το ανάποδο. Αντίθετα, όσον αφορά την κατηγορία των μη καπνιστών εκεί βρέθηκε ότι τα ποσοστά των μεταλλάξεων KRAS που αφορούν τη μεταστροφή δηλαδή την αντικατάσταση μίας πουρίνης με μία πυριμιδίνη ή και το αντίστροφο, αλλά και αυτές που αφορούν τη μετάπτωση δηλαδή την αντικατάσταση μίας πουρίνης με μία άλλη πουρίνη ή μίας πυριμιδίνης με μία άλλη πυριμιδίνη ήταν σχεδόν ισόποσα κατανομημένα, με 57,14% για τις μεταλλάξεις που αφορούν τη μεταστροφή και με 42,86% για τις μεταλλάξεις που αφορούν τη μετάπτωση (Papadopoulou et al., 2015).

Τα παραπάνω αποτελέσματα συγκριτικά με τα αποτελέσματα από πολυάριθμες μελέτες που αφορούσαν το KRAS είχαν έρθει σε διαφωνία τουλάχιστον όσον αφορά τη συχνότητα της μετάλλαξης KRAS η οποία φαίνεται ότι σε άλλες μελέτες ήταν

σημαντικά χαμηλότερη στους μη καπνιστές σε σχέση με τους καπνιστές από ότι στη συγκεκριμένη που αφορά τον Ελληνικό πληθυσμό. Επιπρόσθετα, σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες, έχει παρατηρηθεί μία διαφορετική κατανομή μετάλλαξης μεταξύ των μη καπνιστών, των καπνιστών και των πρώην καπνιστών. Ο επιπολασμός των μεταλλάξεων που αφορούν τη μεταστροφή, δηλαδή την αντικατάσταση μίας πουρίνης με μία πυριμιδίνη ή το αντίστροφο σε πρώην καπνιστές και καπνιστές είναι σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες, γεγονός που αναδεικνύει τη συσχέτιση αυτών των μεταλλάξεων με το κάπνισμα. Ενώ οι μεταλλάξεις του *KRAS* που σχετίζονταν με τη μετάπτωση, δηλαδή, την αντικατάσταση μίας πουρίνης με μία άλλη πουρίνη ή μίας πυριμιδίνης με μία άλλη πυριμιδίνη ήταν πιο συχνές σε αδενοκαρκινώματα του πνεύμονα από ασθενείς χωρίς οποιοδήποτε ιστορικό καπνίσματος (Papadopoulou et al., 2015).

Επίσης, δεδομένα σχετικά με τη μετάλλαξη *KRAS* στον ελληνικό πληθυσμό συλλέχθηκαν και από μία μελέτη που δημοσιεύθηκε το 2019, των Linardou et al. Στη συγκεκριμένη μελέτη όπου και πάλι αφορούσε τις μεταλλάξεις όχι μόνο του *KRAS* αλλά και του *EGFR* για τον μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα, ένας από τους κύριους στόχους αυτής της μελέτης ήταν η διερεύνηση του προγνωστικού ρόλου των μεταλλάξεων *KRAS* και *EGFR* σε ασθενείς με μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα, τόσο σε ολόκληρο τον πληθυσμό της της μελέτης όσο και στην υποομάδα που λαμβάνει χημειοθεραπεία πρώτης γραμμής. Οι γονότυποι *KRAS* και *EGFR* αξιολογήθηκαν κεντρικά σε 421 ασθενείς με μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα, όπου παράλληλα λήφθηκαν υπόψιν και κλινικοπαθολογικοί παράμετροι. Επιπλέον, στα αποτελέσματα πραγματοποιήθηκαν συγκρίσεις σε 288 ασθενείς που έλαβαν την πρώτη γραμμή θεραπείας. Οι 288 ασθενείς έλαβαν τη θεραπεία πρώτης γραμμής λόγω του προχωρημένου σταδίου όπου βρισκόταν η νόσος και ήταν χωρίς εγχείρηση. Στα αποτελέσματα παρατηρήθηκε ότι οι μεταλλάξεις *KRAS* βρέθηκαν σε 70 όγκους ασθενών, που αντιστοιχεί σε 16,6 % όλων των ιστολογικών τύπων και σε 21, 9% των αδενοκαρκινωμάτων. Οι περισσότεροι ασθενείς ήταν άντρες (78.6%), άνω των 60 χρόνων (63.9%), ήταν καπνιστές (51.1%) και είχαν όγκους με ιστολογία αδενοκαρκινώματος (63.9%). Ακόμη, παρατηρήθηκε όπως φαίνεται και στο σχετικό διάγραμμα παρακάτω ότι οι πιο κοινές μεταλλάξεις *KRAS* ήταν οι p.G12C, p.G12D και p.G12V. Μόνο σε έναν όγκο οι μεταλλάξεις *KRAS* και *EGFR* συνυπήρχαν. Σύμφωνα με το Γράφημα 4 που παρουσιάζεται παρακάτω και αφορά ένα κυκλικό γράφημα

«πίττας», οι τρεις κύριες μεταλλάξεις *KRAS* που εμφανίστηκαν στον ελληνικό πληθυσμό για μελέτη του 2019 στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα είναι αρχικά η πιο συχνή μετάλλαξη *KRAS G12C* με ποσοστό 40%, έπειτα η *KRAS G12D* μετάλλαξη με ποσοστό 33% και η *KRAS G12V* 14%. Στα αποτελέσματα, επίσης, φάνηκε ότι οι μεταλλάξεις *KRAS* συσχετίστηκαν με ιστολογία του αδеноκαρκινώματος στον πληθυσμό με διαθέσιμα δεδομένα. Σημαντικό είναι και το γεγονός πως στα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης δεν παρουσιάστηκε συσχέτιση μεταξύ του καπνίσματος και των μεταλλάξεων *KRAS* για τον πληθυσμό της μελέτης αλλά και για τους ασθενείς που βρίσκονταν σε προχωρημένο στάδιο της νόσου και είχαν ήδη λάβει θεραπεία πρώτης γραμμής. Η μετάλλαξη *KRAS* αποτελεί έναν δυσμενή προγνωστικό παράγοντα για τη συνολική επιβίωση (OS, $p = 0.016$). Η επίδραση της μετάλλαξης *KRAS* ήταν ισχυρή, η διάμεση διαφορά στη συνολική επιβίωση ήταν περίπου 10 μήνες μεταξύ των ασθενών με *KRAS* αγρίου τύπου και αυτών με *KRAS* μεταλλαγμένου τύπου (Linardou et al., 2019).



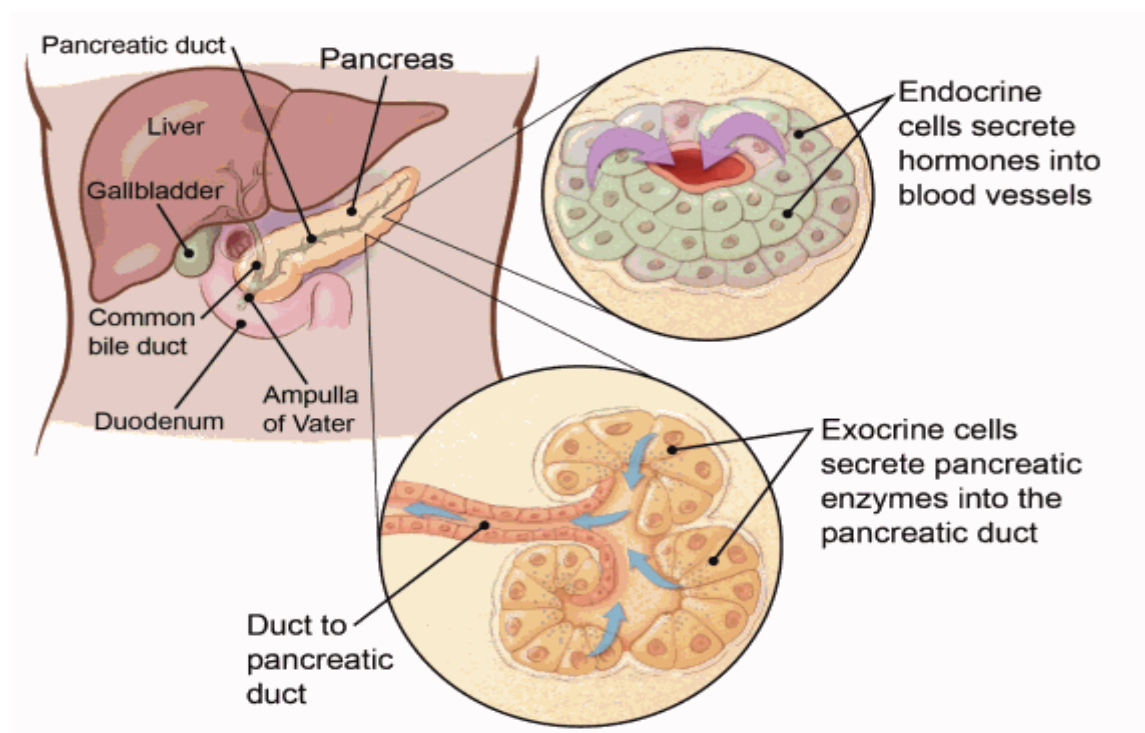
Γράφημα 4: Στο κυκλικό γράφημα πίττας απεικονίζονται οι τύποι μεταλλάξεων *KRAS* που εντοπίστηκαν στον Ελληνικό πληθυσμό σε μελέτη του 2019 (Linardou et al., 2019)

2.2 Παγκρεατικός καρκίνος

Ο καρκίνος του παγκρέατος όπως φαίνεται και στη παρακάτω εικόνα μπορεί να αναπτυχθεί από δύο είδη κυττάρων στο πάγκρεας, τα εξωκρινή κύτταρα και τα νευροενδοκρινικά κύτταρα, όπως τα κύτταρα των νησίδων. Επίσης, σύμφωνα και με την παρακάτω εικόνα τα εξωκρινή κύτταρα εκκρίνουν τα παγκρεατικά ένζυμα μέσα στον παγκρεατικό πόρο ενώ τα ενδοκρινή κύτταρα εκκρίνουν ορμόνες στα αιμοφόρα αγγεία.

Ο τύπος με τα εξωκρινή κύτταρα είναι πιο συχνός και τις περισσότερες φορές εντοπίζεται σε προχωρημένο στάδιο. Από την άλλη οι νευροενδοκρινής όγκοι του παγκρέατος (όγκοι κυττάρων νησίδας) είναι λιγότερο συχνοί και έχουν καλύτερη πρόγνωση (<https://www.cancer.gov/types/pancreatic>).

Το 95% των παγκρεατικών καρκίνων ανήκουν στην κατηγορία των εξωκρινών καρκίνων και ο πιο συχνός τύπος παγκρεατικού καρκίνου είναι το αδενοκαρκίνωμα του παγκρεατικού πόρου (PDAC) (<https://www.pancreaticcancer.org.uk/information/just-diagnosed-with-pancreatic-cancer/types-of-pancreatic-cancer/>).



Εικόνα 7: Τα δύο είδη κυττάρων του παγκρέατος που προκαλούν καρκίνο.

<https://www.cancer.org/cancer/types/pancreatic-cancer/about/what-is-pancreatic-cancer.html>)

Περίπου το 85% των καρκίνων του παγκρέατος αφορά το αδενοκαρκίνωμα του παγκρεατικού πόρου (PDAC) που προκύπτει από τον κακοήγη μετασχηματισμό των επιθηλιακών κυττάρων του πόρου που σχηματίζουν το τριχοειδές σύστημα αγωγών που μεταφέρει ένζυμα και άλλες εκκρίσεις μακριά από το πάγκρεας.

Το αδενοκαρκίνωμα του παγκρεατικού πόρου ξεπέρασε τον καρκίνο του μαστού και έγινε η τρίτη κύρια αιτία θανάτου από καρκίνο στις Ηνωμένες Πολιτείες (Rahib et al., 2014, 2021). Αρκετά ανησυχητικό είναι και το γεγονός ότι το PDAC προβλέπεται να ξεπεράσει τον καρκίνο του παχέος εντέρου πριν από το 2040. Το PDAC είναι η αμέσως κύρια αιτία θνησιμότητας μετά τον καρκίνο του πνεύμονα (Kleeff et al., 2016).

2.2.1 KRAS και παγκρεατικός καρκίνος

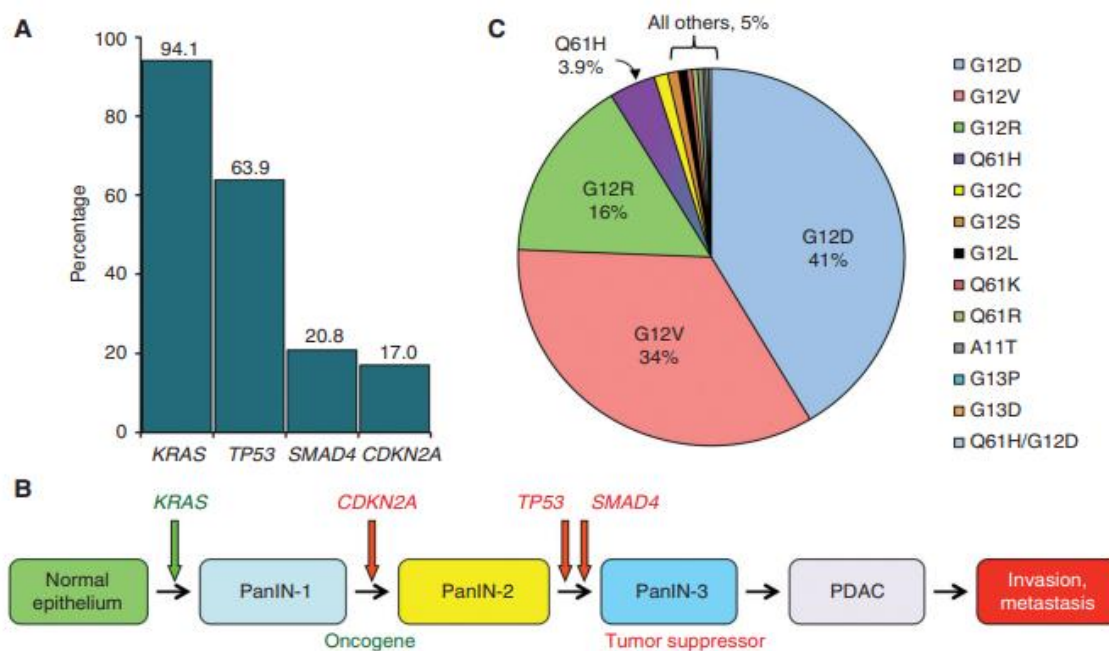
Παρά την εξέλιξη και τη πρόοδο στη διάγνωση και τη θεραπεία που συνέβη τη τελευταία δεκαετία, το ποσοστό πενταετούς επιβίωσης από το καρκίνο του παγκρέατος είναι περίπου στο 9% (D. P. Ryan et al., 2014). Το γεγονός αυτό οφείλεται εν μέρει σε δύο παράγοντες. Ο πρώτος παράγοντας αφορά την έλλειψη καλής και έγκαιρης διάγνωσης. Οι ασθενείς που νοσούν από καρκίνο του παγκρέατος και βρίσκονται σε πρώιμο στάδιο, σε αρκετές περιπτώσεις στερούνται συγκεκριμένων συμπτωμάτων αλλά επίσης δεν έχουν αναπτυχθεί αξιόπιστοι πρώιμοι βιοδείκτες για μη επεμβατική διάγνωση πρώιμου σταδίου. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα οι ασθενείς να διαγνωσθούν με καρκίνο του παγκρέατος σε προχωρημένο ή μεταστατικό στάδιο της ασθένειας. Ο δεύτερος παράγοντας είναι η έλλειψη αποτελεσματικής θεραπείας. Η θεραπεία του καρκίνου του παγκρέατος που δεν έχει χειρουργηθεί περιλαμβάνει τη χημειοθεραπεία που συρρικνώνει τους όγκους αλλά περιορίζεται από την εμφάνιση ανθεκτικότητας στο φάρμακο (Neoptolemos et al., 2018). Οι στοχεύουσες θεραπείες που έχουν δοκιμαστεί ήταν περιορισμένης επιτυχίας και το olaparib για PDAC που φέρει μεταλλάξεις ομόλογου ανασυνδυασμού, ενδείκνυται σε ένα μικρό κλάσμα ασθενών με περιορισμένο όφελος επιβίωσης (Luo, 2021).

Αυτό που περιπλέκει την έγκαιρη διάγνωση είναι ότι η ασθένεια είναι ασυμπτωματική σε ένα μεγάλο βαθμό ή ότι τα συμπτώματά της είναι ακαθόριστα. Επιπλέον υπάρχει έλλειψη διαγνωστικών βιοδεικτών για τους όγκους πρώιμου σταδίου αλλά σημαντικό

είναι και το ότι η ανατομική θέση του παγκρέατος χαρακτηρίζεται ως «δυσπρόσιτη» αποτρέπει το screening- ρουτίνας ως εξέταση (Cronin et al., 2022).

Σε γενετική ανάλυση κλινικών δειγμάτων έχει βρεθεί ότι γενικά οι μεταλλάξεις *KRAS* αποτελούν ένα πρώιμο συμβάν που υπάρχει στο πρώτο στάδιο της παγκρεατικής επιθηλιακής νεοπλασίας (PanIN) (Collisson et al., 2019).

Το PDAC γενετικά ορίζεται από επαναλαμβανόμενες μεταλλάξεις τόσο σε ογκογονίδια όσο και σε ογκοκατασταλτικά γονίδια των οποίων οι μεταλλάξεις σχετίζονται με την εξέλιξη της νόσου. Μεταξύ αυτών οι πιο κοινές είναι οι μεταλλάξεις στα γονίδια *KRAS* (~85%), *TP53* (60-70%), *CDKN2A* (>50%) και *SMAD4* (~50%). Επίσης, γονίδια που εμπλέκονται στην επιγενετική ρύθμιση (*ARID1A*, *ARID1B*, *SMARCA1*, *MLL2*, *MLL3*, *KDM6A*) και στην απόκριση βλάβης DNA (*ATM*, *BRCA2*) βρέθηκαν μεταλλαγμένα αν και σε χαμηλότερες συχνότητες PDAC (Collisson et al., 2019; Ryan et al., 2014).



Γράφημα 5: Σε αυτή την εικόνα απεικονίζονται μεταλλάξεις *KRAS* του καρκίνου του παγκρέατος. (α) Στο γράφημα στηλών απεικονίζεται η συχνότητα των μεταλλάξεων των τεσσάρων κύριων γονιδίων του καρκίνου του παγκρέατος. (β) Απεικονίζεται η γενετική εξέλιξη του καρκίνου του παγκρέατος. (γ) Στο κυκλικό γράφημα απεικονίζεται η συχνότητα των *KRAS* μεταλλάξεων που αφορούν το καρκίνο του παγκρέατος (Waters & Der, 2018b)

Σύμφωνα με τους Waters & Der, 2018b και όπως απεικονίζεται και στη παραπάνω εικόνα τα τέσσερα κύρια γονίδια στα οποία οφείλεται η πρόκληση εμφάνισης του καρκίνου του παγκρέατος είναι το *KRAS*, το *TP53*, το *SMAD4* και το *CDKN2A*. Από τα τέσσερα αυτά γονίδια το *KRAS* με ποσοστό 94.1% αποτελεί το συχνότερο γονίδιο εμφάνισης στο καρκίνου του παγκρέατος με το υψηλότερο ποσοστό. Η μετάλλαξη *KRAS* αποτελεί ένα από αρχικά γεγονότα στη διαδικασία της ογκογένεσης. Ακολουθούν το *TP53*, το *SMAD4* και το *CDKN2A* με ποσοστά συχνότητας 63.9%, 20.8% και 17.0%, αντίστοιχα. Όσον αφορά το γονίδιο *KRAS*, οι συχνότεροι τύποι μεταλλάξεων είναι αρχικά το *KRAS G12D*, το *KRAS G12V* και το *KRAS G12R* με ποσοστά 41%, 34% και 16%, αντίστοιχα.

2.2.2 Γονίδιο *KRAS* και καρκίνος του παγκρέατος στην Ελλάδα

Σε μελέτη που δημοσιεύθηκε το 2019 των Zarkavelis et al., αφορούσε τον παγκρεατικό καρκίνο και τα πιο συχνά μεταλλαγμένα γονίδια που σύμφωνα με τον Καρκινικό Γενομικό Άτλαντα (Cancer Genomic Atlas) είναι υπεύθυνα για την πρόκληση παγκρεατικού αδενοκαρκινώματος (PAC). Αυτά τα γονίδια ήταν το *TP53*, το *SMAD4*, το *CDKN2A* αλλά και φυσικά ανάμεσα τους ήταν και το *KRAS*. Ο σκοπός αυτής της αναδρομικής μελέτης ήταν η περιγραφή της φύσης και της επίπτωσης των γονιδιακών μεταλλάξεων αλλά και της γονιδιωματικής αστάθειας στα παγκρεατικά αδενοκαρκινώματα των ασθενών του ελληνικού πληθυσμού σε συνδυασμό με κλινικοπαθολογικά δεδομένα. Σε αυτή τη μελέτη προσδιορίστηκαν οι μεταλλάξεις στο *KRAS*, στο *TP53*, στο *SMAD4* και στο *CDKN2A* ως οι πιο διαδεδομένες μεταλλάξεις. Εξαίρεση αποτελεί η χαμηλότερη επίπτωση που παρατηρήθηκε σε μεταλλάξεις που αφορούν το *KRAS*. Η χαμηλότερη επίπτωση του *KRAS* στον ελληνικό πληθυσμό της μελέτης συγκρίθηκε με την αναφερόμενη επίπτωση η οποία φτάνει έως το 90% για το παγκρεατικό αδενοκαρκίνωμα (PAC) θα μπορούσε να συνεπάγεται πιθανή συσχέτιση της επίπτωσης με το περιβάλλον, ηθικούς ή γεωγραφικούς παράγοντες που πρέπει να διερευνηθούν περαιτέρω.

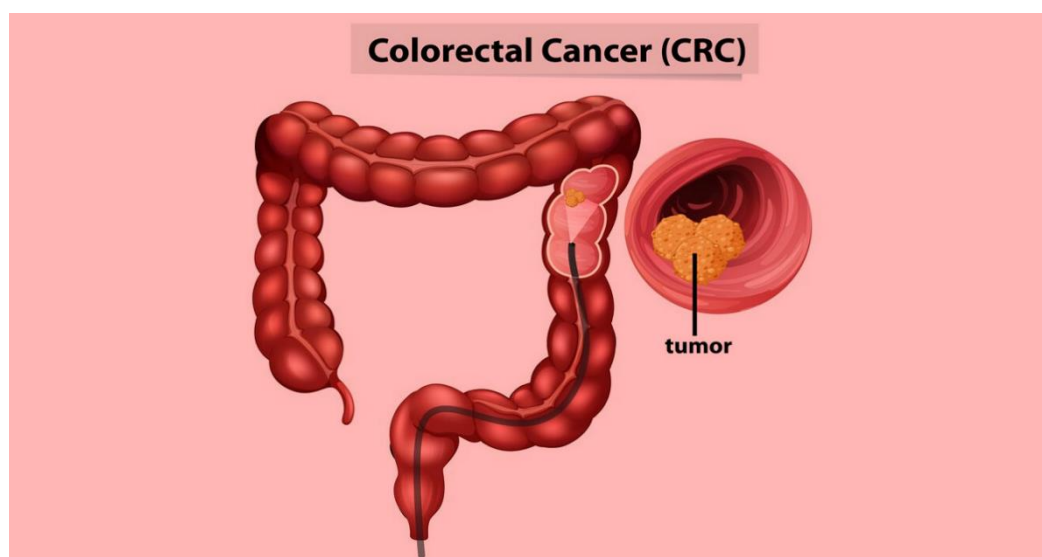
Επίσης, εντοπίστηκαν όλες οι μεταλλάξεις *KRAS* σε 112 ασθενείς και οι οποίες κατατάχθηκαν ως παθογόνες μεταλλάξεις, με ποσοστό 65.5% σε όλους τους όγκους

και 74.5% στους μεταλλαγμένους όγκους. Η ταυτόχρονη εμφάνιση παθογόνων μεταλλάξεων *KRAS* και *TP53* στον όγκο παρατηρήθηκαν σε 67 ασθενείς από τους 171 δηλαδή, σε ποσοστό 39.2%. Σε ολόκληρη τη κοόρτη, όσων αφορά τη παρουσία μεταλλάξεων *KRAS*, αυτές συσχετίστηκαν με χειρότερη επιβίωση, καθώς επίσης οι ασθενείς που έφεραν παθογόνες μεταλλάξεις στο *KRAS* και στο *TP53* είχαν σημαντικά υψηλότερο κίνδυνο θανάτου. Αξίζει να σημειωθεί ότι ολόκληρη η κοόρτη έχει διαχωριστεί ως εξής: α) ασθενείς με προχωρημένο παγκρεατικό καρκίνωμα που έλαβαν συστηματική θεραπεία πρώτης γραμμής είτε μέσω στοχεύουσας θεραπείας (κοόρτη T) ή κυτταροτοξική χημειοθεραπεία μόνο (κοόρτη C).

Και στις δύο υποομάδες ασθενών, η παρουσία παθογόνων μεταλλάξεων *KRAS* αλλά και συνδυασμός *KRAS* και *TP53* συσχετίστηκαν με μεγαλύτερη πιθανότητα θανάτου. Εν κατακλείδι, η συνύπαρξη τόσο της μετάλλαξης *KRAS* όσο και της *TP53* φάνηκε ότι επηρέαζαν δυσμενώς την έκβαση των ασθενών είτε έλαβαν στοχεύουσα θεραπεία που περιείχε EGFR TKI είτε PI3K/ Akt / mTOR ή κυτταροτοξικό φάρμακο. Στην κοόρτη T, η παρουσία παθογόνων μεταλλάξεων τόσο στο *KRAS* όσο και στο *TP53* ήταν ένας ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας που σχετιζόταν με τη χειρότερη επιβίωση. Οι ασθενείς που έφεραν τη μετάλλαξη *KRAS* παρατηρήθηκε ότι είχαν χειρότερο overall survival (OS), δηλαδή, συνολική επιβίωση και μεγαλύτερη πιθανότητα θανάτου. Ακόμη, ασθενείς με παθογόνες μεταλλάξεις *KRAS* και *SMAD4* παρουσίαζαν αυξημένο κίνδυνο θανάτου. Επιπλέον, στην κοόρτη C ασθενείς που έλαβαν θεραπεία μόνο με κυτταροτοξική χημειοθεραπεία πρώτης γραμμής, και έφεραν παθογόνες μεταλλάξεις στο *KRAS* παρατηρήθηκε ότι παρουσίασαν αυξημένο κίνδυνο θανάτου. Ωστόσο, αυτό που προκαλεί ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι οι μεταλλάξεις *KRAS* είχαν εντοπιστεί μόνο στο 65.5% του ασθενών αυτής της μελέτης ενώ, το σε άλλες μελέτες το *KRAS* βρέθηκε να είναι μεταλλαγμένο στο 80-93% των παγκρεατικών αδενοκαρκινωμάτων που είναι το περισσότερο συχνό ογκογονίδιο και η πιο πρώιμη μετάλλαξη κατά τη διάρκεια της διαδικασίας της ογκογένεσης που επηρεάζει πολλαπλά καθοδικά σηματοδοτικά μονοπάτια όπως το RAF/MAPK/Mek/Erk, το PI3K/Pdk1/AKT/mTOR και το RalGDS/p38MAPK.

2.3 Καρκίνος του παχέος εντέρου ή ορθοκολικός καρκίνος

Ο καρκίνος του παχέος εντέρου ή ορθοκολικός καρκίνος όπως φαίνεται και στη παρακάτω εικόνα ξεκινά συχνά ως μία ανάπτυξη που ονομάζεται πολύποδας στο εσωτερικό του παχέος εντέρου ή του ορθού. Η έγκαιρη εύρεση και αφαίρεση των πολυπόδων μπορεί να αποτρέψει την ανάπτυξη καρκίνου του παχέος εντέρου (<https://www.cancer.gov/types/colorectal>).



Εικόνα 8: Απεικόνιση το καρκίνου του παχέος εντέρου

(<https://www.onlymyhealth.com/what-are-the-warning-signs-of-colorectal-cancer-1711610980>)

2.3.1 KRAS και καρκίνος του παχέος εντέρου ή ορθοκολικός καρκίνος

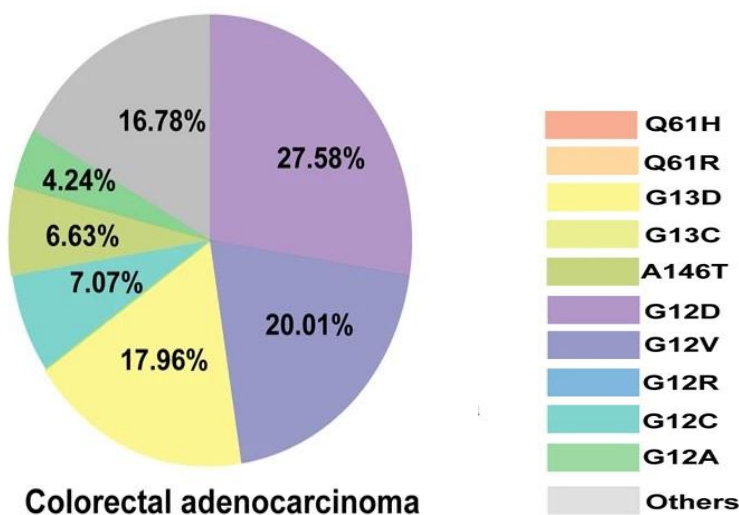
Οι ενεργές *RAS* μεταλλάξεις υπάρχουν σε περισσότερο από το 20% των ανθρώπινων καρκίνων, ενώ έχει παρατηρηθεί ότι τα ποσοστά μετάλλαξης του *RAS* είναι ανόμοια σε διαφορετικές εθνότητες και στις διαφορετικές θέσεις του καρκίνου του παχέος εντέρου (CRC) (Negri et al., 2022b).

Το 1990 υποστηρίχθηκε για πρώτη φορά από τους Fearon Vogelstein η σύνδεση μεταξύ της μετάλλαξης *KRAS* και του καρκίνου του παχέος εντέρου (CRC) (Fearon & Vogelstein, 1990). Οι ίδιοι περιέγραψαν το μοντέλο της καρκινογένεσης ως μία

διαδικασία που περιλαμβάνει πολλά στάδια και στην οποία συσσωρεύονται μεταλλάξεις. Η ενεργοποίηση της μετάλλαξης *KRAS* είναι ένα ιδιαίτερα σημαντικό γεγονός για τον κακοήγη μετασχηματισμό του παχέος εντέρου. Έχει παρατηρηθεί ότι το 30-50% των ασθενών με CRC αναπτύσσουν μετάλλαξη *KRAS* σε πρώιμο στάδιο (Bos1987, n.d.; Forrester1987, n.d.).

Η ενεργοποιημένη σημειακή μετάλλαξη του ογκογονιδίου *KRAS* στο κωδικόνιο 12 (εξόνιο 2) είναι το αρχικό συμβάν έναρξης στην πλειονότητα των CRC περιπτώσεων με ποσοστό 83% (Andreyev et al., 2001; Colussi et al., 2013). Σε μικρότερο βαθμό συμβάλλουν οι μεταλλάξεις των κωδικονίων 13, 61 και 146 ως προς την ανάπτυξη καρκίνου του παχέος εντέρου με ~17%, ~2% και ~4%, αντίστοιχα (Papke & Der, n.d.-a.,2017).

Οι πιο συχνές κλινικά υποκαταστάσεις είναι η G12D με 36% ακολουθούμενη από τη G12V με 23% όπου και οι δύο βρέθηκαν να εμφανίζονται στο κωδικόνιο 12 (Papke & Der, n.d.-a.,2017). Όσον αφορά το καρκίνο του ορθού, οι μεταλλάξεις *KRAS* ανιχνεύονται σε ~35-45% των ασθενών με τοπικά προχωρημένο καρκίνο του ορθού και η μετάλλαξη *KRAS* δεν δείχνει διαφορά μεταξύ του καρκίνου του παχέος εντέρου και του καρκίνου του ορθού (Sclafani et al., 2020; Xie et al., 2019).



Γράφημα 6: Το κυκλικό γράφημα πίτας απεικονίζει τους διάφορους τύπους μεταλλάξεων *KRAS* για το καρκίνο του παχέος εντέρου (Huang et al., 2021c)

Σύμφωνα με τους Huang et al., οι τρεις πιο συχνές μεταλλάξεις *KRAS* ήταν οι *KRAS* G12D και *KRAS* G12V με ποσοστά 27.58% και 20.01%, αντίστοιχα.

2.3.2 Γονίδιο *KRAS* και ο καρκίνος του παχέος εντέρου στην Ελλάδα

Η μελέτη των (Samara et al., 2015a) για τον καρκίνο του παχέος εντέρου που πραγματοποιήθηκε σε δείγμα του ελληνικού πληθυσμού αφορούσε στις μεταλλάξεις *KRAS* και *BRAF*, της οποίας σκοπός της ήταν ο χαρακτηρισμός του προφίλ αυτών των μεταλλάξεων για τον προσδιορισμό της πιθανής συσχέτισης αυτών των μεταλλάξεων με συγκεκριμένες κλινικές και ιστολογικές παραμέτρους. Έτσι, αξιολογήθηκε η κατανομή των πιο κοινών μεταλλάξεων *KRAS* και *BRAF* σε μία μεγάλη ομάδα Ελλήνων ασθενών με καρκίνο στο παχύ έντερο ή ορθοκολικό καρκίνο. Χρησιμοποιήθηκαν στο σύνολο 322 δείγματα και αποτελούσαν καρκινώματα του παχέος εντέρου μονιμοποιημένα με φορμαλίνη και ενσωματωμένα σε παραφίνη που ανασύρθηκαν από το Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας. Αυτά τα δείγματα λήφθηκαν από ασθενείς οι οποίοι είχαν υποβληθεί σε χειρουργική θεραπεία και οι οποίοι είχαν διαγνωσθεί ιστολογικά με καρκίνο του παχέος εντέρου κατά τη περίοδο 2008-2012. Επίσης, διάφορα κλινικοπαθολογικά δεδομένα ανακτήθηκαν και λήφθηκαν υπόψιν και σε αυτή τη μελέτη, καθώς και ιστοπαθολογικά κριτήρια, όπως η ταξινόμηση pT και pN, ο βαθμός διαφοροποίησης (ιστολογικός βαθμός), ο ιστολογικός υπότυπος, η παρουσία αγγειακής διήθησης και το προϋπάρχον αδένωμα. Από τα 322 δείγματα των ασθενών 180 (55.9%) ανήκαν σε άντρες και τα 142 (44.1%) ανήκαν σε γυναίκες. Η διάμεση ηλικία κατά τη στιγμή της διάγνωσης ήταν τα 67 έτη (SD 10.7 έτη) χωρίς καμία σημαντική διαφορά μεταξύ ανδρών και γυναικών ασθενών. Με βάση τα χαρακτηριστικά των ασθενών και τις ιστοπαθολογικές παραμέτρους παρατηρήθηκε στα αποτελέσματα ότι οι άνδρες ασθενείς είχαν παρουσιάσει κοινά, ελαφρώς διαφοροποιημένα καρκινώματα σε σύγκριση με τις γυναίκες (7.7%) ($P < 0.05$). Ωστόσο, καμία άλλη διαφορά δεν παρατηρήθηκε στη συχνότητα των ιστοπαθολογικών παραμέτρων του όγκου μεταξύ των δύο φύλων (Samara et al., 2015b).

Όσον αφορά την εντόπιση του ορθοκολικού όγκου, εντοπίστηκαν καρκινώματα στο δεξιό κόλον (ανιόν και εγκάρσιο κόλον), τα οποία ήταν ελάχιστα διαφοροποιημένα (22.5%) σε σύγκριση με τους όγκους που εντοπίστηκαν στον αριστερό κόλον και στο ορθό (6.6%) ($P < 0.05$). Εκτός από το αρσενικό φύλο και τη θέση του όγκου, φτωχή ιστολογική διαφοροποίηση παρατηρήθηκε είχε συσχετιστεί, επίσης, με τη παρουσία

αγγειακής διήθησης ($0.01 < P < 0.025$), καθώς και με την παρουσία μεταστάσεων στους λεμφαδένες ($P < 0.005$). Επιπλέον, οι όγκοι που βρίσκονταν σε κοντινή τοποθεσία βρέθηκε ότι παρουσίαζαν περισσότερο κοινά προχωρημένα στάδια p T3/T4 (92%) σε σύγκριση με τους όγκους που βρίσκονταν σε περιφερική τοποθεσία (80%) ($P < 0.05$). Ένας συνολικός αριθμός 118 ασθενών (36.6%) είχαν τη μετάλλαξη KRAS στο δείγμα του όγκου, όπου οι 44 ασθενείς έφεραν τη μετάλλαξη Gly12Asp και οι 34 ασθενείς έφεραν τη μετάλλαξη Gly12Val. Επιπλέον, στο κωδικόνιο 12, οι 10 ασθενείς έφεραν τη μετάλλαξη Gly12Cys, οι 7 ασθενείς έφεραν τη μετάλλαξη Gly12Ala, οι 4 ασθενείς έφεραν τη μετάλλαξη Gly12Ser και οι 3 ασθενείς έφεραν τη μετάλλαξη Gly12Arg (Samara et al., 2015b).

Άλλες μεταλλάξεις που παρατηρήθηκαν βρίσκονταν στο κωδικόνιο 13 όπου 14 ασθενείς έφεραν τη μετάλλαξη Gly13Asp και 1 ασθενής για τις μεταλλάξεις Gly13Arg και Gly13Cys για τη καθεμία ξεχωριστά (Samara et al., 2015b).

Οι μεταλλάξεις που αφορούν τη μετατροπή του G σε A εμφανίστηκαν σε ποσοστό 52.4%, οι μεταλλάξεις που αφορούν τη μετατροπή του G σε T ή C ανήκουν στο ποσοστό του 38.3% και 9.3%, αντίστοιχα. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι μεταλλάξεις στη πρώτη βάση του κωδικονίου 12 ή 13 εμφανίστηκαν σε ποσοστό 15% ενώ στη δεύτερη βάση στο υπόλοιπο 85% των περιπτώσεων. Ο ρυθμός μετάλλαξης και στα δύο κωδικόνια 12 και 13 δεν ήταν σημαντικά διαφορετικός μεταξύ των δύο φύλων. Παρόλα αυτά, μέσα από μία πιο λεπτομερή ανάλυση της μελέτης παρατηρήθηκε στους τύπους μετάλλαξης σε σχέση με το φύλο του ασθενούς ότι οι άνδρες είχαν τις πιο συχνές μεταλλάξεις στο κωδικόνιο 13 (20%) σε σύγκριση με τις γυναίκες ασθενείς (7%) ($P < 0.05$). Όσον αφορά τον εντοπισμό του όγκου, οι μεταλλάξεις KRAS εμφανίστηκαν πιο συχνά στα εγγύς καρκινώματα (44%) σε σύγκριση με εκείνα που εντοπίζονται στο αριστερό κόλον (32%) ή στο ορθό (34%) ($P < 0.05$). Σημαντικό ήταν και το γεγονός ότι εντοπίστηκε πως η συχνότητα των μεταλλάξεων και των δύο κωδικονίων ήταν αρκετά υψηλότερη στις περιπτώσεις όπου προϋπήρχαν αδενώματα (49%) σε σύγκριση με εκείνα χωρίς αντίστοιχα ιστολογικά ευρήματα (Samara et al., 2015b).

Σε σχέση με την ιστολογική διαφοροποίηση, τα δεδομένα εκείνης της μελέτης είχαν δείξει ότι τα 25 (66%) από τα 38 καλά διαφοροποιημένα καρκινώματα, τα 77 (38%) από τα 202 μέτρια διαφοροποιημένα καρκινώματα και τα 4 (10%) από τα 39 κακώς διαφοροποιημένα καρκινώματα έφεραν μία μετάλλαξη KRAS. Σε 43 όγκους παρατηρήθηκε μείζονα ιστολογική ετερογένεια και ταξινομήθηκαν από μέτρια ως

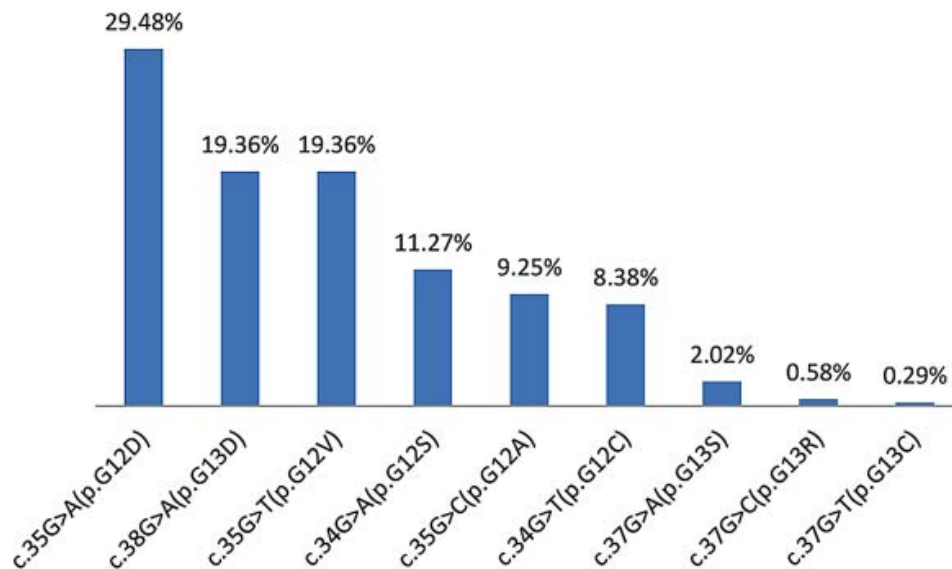
ελάχιστα διαφοροποιημένα καρκινώματα, από τα οποία τα 12 (28%) έφεραν τη μετάλλαξη *KRAS* (Samara et al., 2015b).

Επίσης, δεν υπήρχε εμφανής συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας μετάλλαξης *KRAS* και άλλων ιστοπαθολογικών κριτηρίων, όπως ο ιστολογικός υπότυπος, η αγγειακή διήθηση και ο παθολογικός όγκος (p T) ή ο λεμφαδένας (p N). Ωστόσο, συγκεκριμένες μεταλλάξεις συσχετίστηκαν με τη παρουσία μεταστάσεων στους λεμφαδένες. Οι όγκοι του παχέος εντέρου που έφεραν τη μετάλλαξη μεταστροφής G>T στο κωδικόνιο 12 είχε πιο συχνά μεταστατική εξάπλωση στους λεμφαδένες (51%) σε σύγκριση με τους όγκους που έφεραν τη μετάλλαξη μετάπτωσης G>A (31%) ($P < 0.05$). Τέλος, καρκινώματα με μετάλλαξη μεταστροφής G>C στο κωδικόνιο 12 εμφάνισε αποκλειστικά μεταστατική νόσο λεμφαδένων ($P < 0.005$) (Samara et al., 2015b).

Μία ακόμα μελέτη που δημοσιεύθηκε το 2014 και αφορούσε σε δείγμα ελληνικού και ρουμάνικου πληθυσμού αφορούσε τις μεταλλάξεις *NRAS*, *BRAF* αλλά και *KRAS* σε σχέση με τον καρκίνο του παχέος εντέρου. Σύμφωνα, λοιπόν, με αυτή τη μελέτη των Negru et al., 2014 είχε τα εξής αποτελέσματα, αρχικά, οι μεταλλάξεις του εξονίου 2 του *KRAS* εντοπίστηκαν σε 702 ασθενείς από τους συνολικά 1699 Έλληνες ασθενείς με ορθοκολικό καρκίνωμα, με ποσοστό 41.3%. Συνολικά, το 77.3% των μεταλλάξεων σε αυτή τη μελέτη ανιχνεύθηκε στο κωδικόνιο 12 και το 22.7% στο κωδικόνιο 13. Η πιο διαδεδομένη μετάλλαξη όπως φαίνεται και στο Γράφημα 7 πιο κάτω ήταν η c.35G>A (p.G12D) που αντιπροσώπευε το 29.48% του συνόλου των μεταλλάξεων του εξονίου 2. Έπειτα, είχαν ακολουθήσει οι μεταλλάξεις c.38G>A (p.G13D) και c.35G>T (p. G12V) που αποτελούσαν το ποσοστό του 19.36% για τη καθεμία (Negru et al., 2014).

Οι άλλες μεταλλάξεις c.34G>A (p.G12S), c.35G>C, (p.G12A), c.34G>T (p.G12C), c.37G>A (p. G13S), c.37G>C (p.G13R) και c.37G>T (p.G13C) εμφανίστηκαν σε χαμηλότερα ποσοστά 11.27%, 9.25%, 8.38%, 2.02%, 0.58% και 0.29%, αντίστοιχα. Με βάση το Γράφημα 7 είναι φανερό ότι οι μεταλλάξεις στο κωδικόνιο 13 εμφάνισαν σημαντικά χαμηλότερα ποσοστά σε σχέση με το κωδικόνιο 12. Από τα 354 δείγματα DNA που είχαν ληφθεί τα 193 ήταν ελληνικής καταγωγής, από αυτά τα 82 δείγματα έφερε μετάλλαξη στο εξόνιο 2 του γονιδίου *KRAS* με ποσοστό συχνότητας 42.48%. Από τα υπόλοιπα δείγματα του ελληνικού πληθυσμού εντοπίστηκαν 12 μεταλλάξεις στο *KRAS*, τα 4 ανήκαν στο εξόνιο 3 και τα 8 ανήκαν στο εξόνιο 4. Έτσι, σε αυτή τη μελέτη είχε βρεθεί ότι το 15.31% των δειγμάτων του εξονίου 2 αγρίου τύπου *KRAS*

(κωδικόνια 12/13) περιείχαν μία μετάλλαξη στα εξόνια 3 και 4 του *KRAS* (Negru et al., 2014).



Γράφημα 7: Κατανομή των διαφορετικών τύπων μετάλλαξης που βρίσκονται στο εξόνιο 2 του *KRAS* (κωδικόνιο 12 και 13) σε ασθενείς που φέρουν μεταλλάξεις στο ορθοκολικό καρκίνωμα. Τα ποσοστά αναφέρονται στην ομάδα των μεταλλαγμένων όγκων (Negru et al., 2014).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΣΤΟΧΕΥΟΥΣΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ

Η στοχεύουσα θεραπεία αφορά έναν τύπο θεραπείας για το καρκίνο που στοχεύει πρωτεΐνες που ελέγχουν τον τρόπο με τον οποίο αναπτύσσονται, διαιρούνται και εξαπλώνονται τα καρκινικά κύτταρα. Θεωρείται ότι είναι το θεμέλιο της ιατρικής ακριβείας. Όπως είναι αναμενόμενο καθώς οι μελετητές και οι επιστήμονες μαθαίνουν όλο και περισσότερα για τις αλλαγές στο DNA και τις πρωτεΐνες που οδηγούν στον καρκίνο, είναι σε καλύτερη θέση για να σχεδιάσουν θεραπείες που στοχεύουν τις πρωτεΐνες αυτές (Y. T. Lee et al., 2018).

Οι περισσότερες στοχεύουσες θεραπείες διαχωρίζονται σε δύο κατηγορίες. Αυτές που αφορούν τα μικρά μόρια και αυτές που αφορούν τα μονοκλωνικά αντισώματα.

Αρχικά, τα μικρομοριακά φάρμακα είναι αρκετά μικρά για να εισέρχονται στα κύτταρα, έτσι ώστε να χρησιμοποιούνται πιο εύκολα για στόχους που βρίσκονται μέσα

στα κύτταρα. Από την άλλη, τα μονοκλωνικά αντισώματα τα οποία είναι γνωστά και ως θεραπευτικά αντισώματα, είναι πρωτεΐνες που παράγονται στο εργαστήριο. Αυτές οι πρωτεΐνες έχουν σχεδιαστεί για να προσκολλώνται σε συγκεκριμένους στόχους στα καρκινικά κύτταρα. Επίσης, ορισμένα μονοκλωνικά αντισώματα σηματοδοτούν τα καρκινικά κύτταρα με σκοπό να είναι καλύτερα ορατά και να καταστραφούν από το ανοσοποιητικό σύστημα. Επιπλέον, άλλα μονοκλωνικά αντισώματα εμποδίζουν άμεσα την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων ή προκαλούν την αυτοκαταστροφή τους και άλλοι πάλι μεταφέρουν τοξίνες στα καρκινικά κύτταρα (Y. T. Lee et al., 2018).

Όσον αφορά το KRAS, οι θεραπευτικές του προσεγγίσεις και η φαρμακευτική στόχευση για την αντιμετώπιση του είναι και έμμεση και άμεση πλέον, αλλά επίσης υπάρχει και συνδυασμένη θεραπεία η οποία συνίσταται για τη καταπολέμηση του.

3.1 Άμεση φαρμακευτική στόχευση του γονιδίου KRAS

Η ανάπτυξη χρήσιμων και αποτελεσματικών φαρμάκων για την πρόληψη της ογκογένεσης που καθοδηγείται από ένα εκ των τριών ογκογονιδίων της οικογένειας RAS αποτελούσε μία πρόκληση που διήρκησε περισσότερο από τρεις δεκαετίες, το RAS θεωρούνταν και συνεχίζει να είναι ένας δύσκολος στόχος για την ανάπτυξη φαρμάκων και μέχρι πριν λίγο ήταν «μη θεραπεύσιμος» φαρμακευτικά (Negri et al., 2022b). Όμως, παρόλες τις δυσκολίες μέσα από τις έντονες προσπάθειες που έχουν πραγματοποιηθεί, τα τελευταία χρόνια έχουν αναδυθεί ελπιδοφόρα αποτελέσματα όσον αφορά την άμεση στόχευση του KRAS ογκογονιδίου.

Μία από τις δυσκολίες των πρωτεϊνών RAS, είναι ότι στερούνται βαθιάς θήκης για τη δέσμευση μικρών μορίων με υψηλή συγγένεια. Απ' την άλλη οι υψηλές ενδοκυτταρικές συγκεντρώσεις GTP και η ισχυρή συγγένεια του GTP με το KRAS είχε επιφέρει φτωχά αποτελέσματα σε πολλές προσπάθειες για εύρεση μικρών μορίων που σκοπό τους είχαν να καταφέρουν να προσδεθούν ισχυρά στις RAS πρωτεΐνες για φαρμακευτικό σκοπό.

Επιπρόσθετα, σημαντικός παράγοντας δυσκολίας εύρεσης φαρμάκου κατά του KRAS αποτελεί η αδιάκριτη αναστολή και υψηλά επίπεδα πρωτεϊνών στο αίμα όπου και χρειάζονται για τον αποκλεισμό της λειτουργίας του KRAS θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε μεγάλη πιθανή τοξικότητα (Cox et al., 2014; J. M. L. Ostrem & Shokat, 2016; Papke & Der, n.d.-b). Για αυτούς τους λόγους, ήταν απαραίτητο να βρεθούν εναλλακτικές θεραπευτικές προσεγγίσεις οι οποίες αρχικά εστίαζαν στην αναστολή της

δραστηριότητας της πρωτεΐνης K-Ras με έμμεσες στρατηγικές οι οποίες και τελικά έδειξαν χαμηλή αποτελεσματικότητα, γεγονός που εξηγείται λόγω των εκτεταμένων μετα-μεταγραφικών τροποποιήσεων και της ενεργοποίησης διαφορετικών οδών σηματοδότησης KRAS. Έτσι, απαραίτητη είναι η ανάδειξη και εξέλιξη των στοχευουσών θεραπειών και η προσέγγιση της KRAS με διαφορετικές ταυτόχρονες στρατηγικές (Papke & Der, n.d.-b., 2017).

Τα πρώτα ελπιδοφόρα σημάδια σχετίζονται με την μετάλλαξη KRAS G12C. Σε αντίθεση με τις μεταλλάξεις KRAS G12D και τη KRAS G12V, η KRAS G12C μπορεί να διατηρήσει εναλλακτικές αλληλεπιδράσεις με τους μεταγενέστερους παράγοντες μέσω ενός ενεργού κύκλου μεταξύ των καταστάσεων δεσμευμένης- GDP και δεσμευμένης- GTP (Hunter et al., 2015c). Αυτή η διαφορά επιτρέπει στο KRAS G12C να κλειδωθεί σε μία ανενεργή διαμόρφωση αντιδρώντας με τα υπολείμματα της κυστεΐνης (Negri et al., 2022b).

Χαρακτηριστικός αποτελεί ένα αλλοστερικό συνδετικό θυλάκιο πίσω από τον διακόπτη- II, που ορίζεται ως ο θύλακας switch-II (διακόπτης- II), στη μεταλλαγμένη KRAS G12C πρωτεΐνη. Το κωδικόνιο G12 είναι hotspot μετάλλαξης για το γονίδιο KRAS. Η εγγενώς αντιδραστική φύση της κυστεΐνης που εντοπίζεται στο κωδικόνιο 12, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή μικρών αναστολέων μορίων (Gehring & Laufer, 2019). Το αγρίου τύπου KRAS δεν διαθέτει κυστεΐνες στο ενεργό κέντρο και επομένως το KRAS G12C μπορεί να αναστέλλεται ειδικά (Negri et al., 2022b).

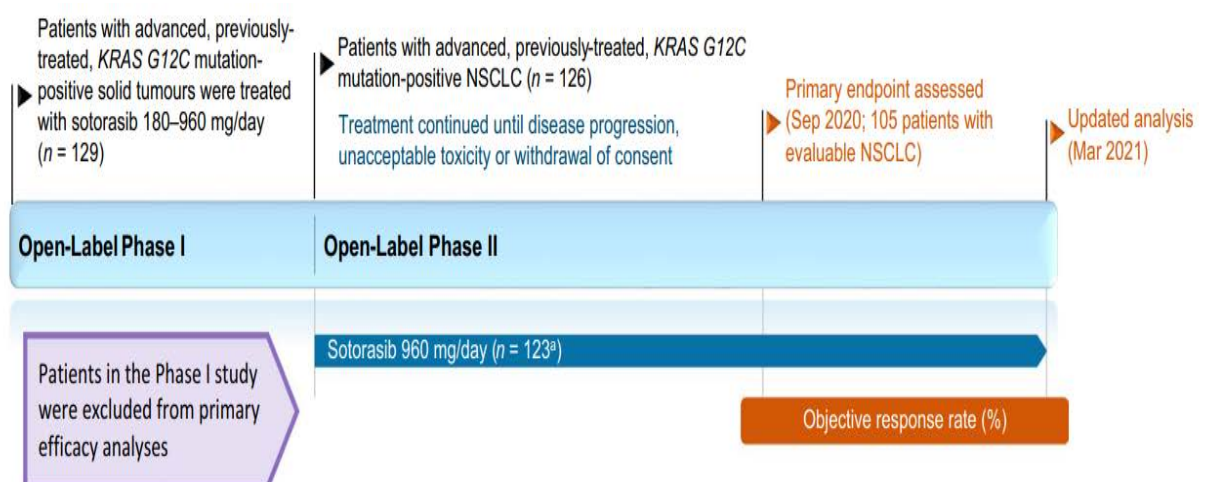
Εν κατακλείδι, η επιτυχής ανάπτυξη των αναστολέων KRAS G12C οφείλεται στην ομοιοπολική αναστολή της κυστεΐνης και στην υψηλή δραστηριότητα της GTPάσης της μετάλλαξης KRAS G12C, η οποία δεν είναι πλήρως παρούσα σε άλλες μεταλλάξεις KRAS (Hunter et al., 2015c).

3.1.1 Sotorasib

Ο αναστολέας AMG510 ο οποίος έχει το εμπορικό όνομα sotorasib αποτελεί έναν αναστολέα των RAS GTPασών και στις 28 Μαΐου του 2021 εγκρίθηκε από τον FDA (Food and Drug Administration) και κρίθηκε κατάλληλο για να χρησιμοποιηθεί ως θεραπεία σε ενήλικες ασθενείς που φέρουν τη μετάλλαξη KRAS G12C για τοπικά

προχωρημένο ή μεταστατικό ΜΜΚΠ (NSCLC). Εγκρίθηκε έπειτα, από προσδιορισμένο από τον FDA τεστ όπου οι ασθενείς είχαν λάβει προηγουμένως μία τουλάχιστον συστηματική θεραπεία (<https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-accelerated-approval-sotorasib-kras-g12c-mutated-nsclc>).

Σύμφωνα με την Εικόνα 9 ο σχεδιασμός της κλινικής δοκιμής φάσης I/II CodeBreak 100 για τον αναστολέα sotorasib κατά του μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα ξεκίνησε με τη κλινική φάση I και τη χορήγηση 180-960 mg/ανά ημέρα sotorasib σε 129 ασθενείς με προχωρημένο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα οι οποίοι προηγουμένως είχαν λάβει συστηματική θεραπεία. Ακολούθως, συνεχίστηκε με τη κλινική δοκιμή φάσης II, αρχικά με 126 ασθενείς και στη πορεία με 123 ασθενείς οι οποίοι έφεραν τα ίδια κριτήρια που αναφέρθηκαν προηγουμένως και με χορήγηση 960 mg/ανά ημέρα sotorasib. Η θεραπεία με το sotorasib συνεχίστηκε μέχρι τη περαιτέρω εξέλιξη της νόσου, την εμφάνιση μη επιτρεπτής τοξικότητας ή την ανάκληση της συγκατάθεσης του ασθενούς. Η κλινική δοκιμή φάσης I/II αξιολογήθηκε το Σεπτέμβριο του 2020 σε 105 ασθενείς με μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα και με βάση το αντικειμενικό ποσοστό απόκρισης.



Εικόνα 9: Απεικονίζεται ο σχεδιασμός η κλινική δοκιμή φάσης I/II CodeBreak 100 για τον αναστολέα sotorasib κατά του μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα.

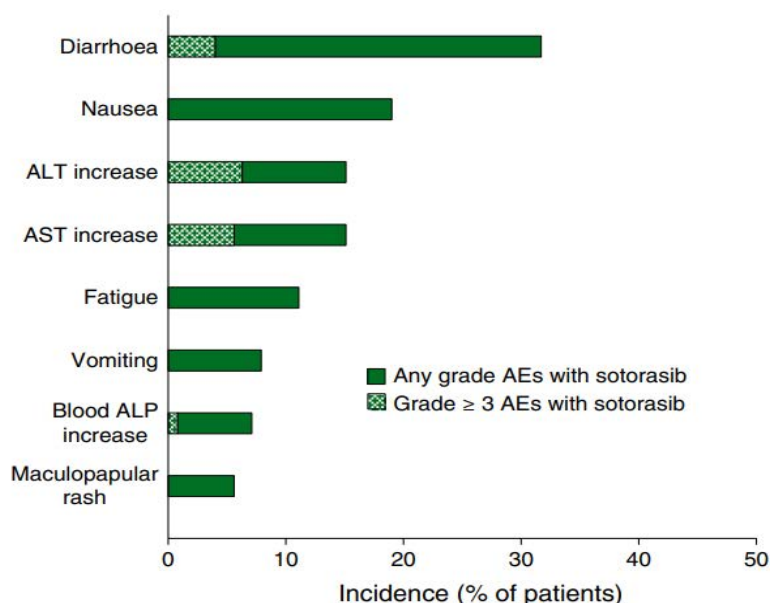
Είναι το πρώτο φάρμακο που έχει εγκριθεί για την αναστολή της πρωτεΐνης KRAS G12C και συνίσταται γενικά ως δεύτερη ή επόμενη γραμμή θεραπείας στις κατευθυντήριες οδηγίες για το MMKP (A. Lee, 2022). Το sotorasib συνδέεται μόνιμα με την KRAS G12C πρωτεΐνη και την κλειδώνει σε αδρανοποιημένη κατάσταση σταματώντας και την περαιτέρω ογκογόνο σηματοδότηση. Πρόκειται για έναν εκλεκτικό και μη αναστρέψιμο αναστολέα μιας και δεσμεύεται μη αναστρέψιμα στη μοναδική κυστεΐνη της KRAS G12C, κλειδώνοντας την στην ανενεργή κατάσταση δεσμευμένης-GDP, αναστέλλοντας έτσι την καθοδική σηματοδότηση (A. Lee, 2022). Επίσης, η ανάλυση των πρωτεϊνών για τα κατάλοιπα της κυστεΐνης των κυττάρων που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με το sotorasib έδειξε ότι μόνο το πεπτίδιο που περιέχει G12C του KRAS τροποποιήθηκε ομοιοπολικά. Το sotorasib ανέστειλε τη σηματοδότηση του KRAS, εκλεκτικά, σε όλες τις KRAS G12C μεταλλαγμένες σειρές, αλλά όχι σε κυτταρικές σειρές χωρίς τη μετάλλαξη KRAS G12C (Blair, 2021).

Όπως έχει ήδη αναφερθεί η θεραπεία αυτή δίνεται σε ενήλικες ασθενείς οι οποίοι προηγουμένως έχουν λάβει συστηματική θεραπεία είτε μέσω χημειοθεραπείας η οποία βασίζεται στη πλατίνα είτε ανοσοθεραπεία ή και τις δύο (A. Lee, 2022). Το sotorasib εκτός από τις ΗΠΑ, δίνεται ως θεραπεία και στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης, στην Αυστραλία, στον Καναδά, στη Βραζιλία και στην Αγγλία (A. Lee, 2022).

Η συνιστώμενη δόση για το sotorasib είναι 960mg ημερησίως με ή χωρίς τροφή, λαμβάνοντας το από το στόμα και βασίστηκε σε κλινικά δεδομένα, αλλά και σε φαρμακοκινητικά και φαρμακοδυναμικά μοντέλα (<https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-accelerated-approval-sotorasib-kRAS-g12C-mutated-nsclC>). Το sotorasib διαθέτει μη γραμμική, χρονικά εξαρτώμενη φαρμακοκινητική σε εύρος δόσης 180- 960mg μία φορά την ημέρα με παρόμοια συστηματική έκθεση (Blair, 2021).

Σύμφωνα με τον FDA, οι πιο συχνές ανεπιθύμητες ενέργειες ($\geq 20\%$) που έχουν αναφερθεί είναι η διάρροια, ο μυοσκελετικός πόνος, η ναυτία, η αίσθηση της κόπωσης, η ηπατοτοξικότητα και ο βήχας. Όσον αφορά εργαστηριακές ανωμαλίες ($\geq 25\%$) που εμφανίστηκαν, αυτές αφορούσαν τα μειωμένα λεμφοκύτταρα και αιμοσφαιρίνη, την αυξημένη ασπαρτική αμινοτρανσφεράση, καθώς και την αυξημένη αμινοτρανσφεράση αλανίνης. Επίσης, ανεπιθύμητη ενέργεια ήταν και η εμφάνιση μειωμένου ασβεστίου, η αυξημένη αλκαλική φωσφατάση, η αυξημένη πρωτεΐνη στα ούρα και το μειωμένο

νάτριο (<https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-accelerated-approval-sotorasib-kras-g12c-mutated-nsclc>).



Γράφημα 8: Απεικονίζονται οι ανεπιθύμητες παρενέργειες που σχετίζονται με τη θεραπεία με τον αναστολέα sotorasib σε ασθενείς με τοπικά προχωρημένο ή μεταστατικό μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα με επίπτωση $\geq 5\%$ που παρατηρήθηκαν στη φάση II CodeBreaK 100 (n=126) (A. Lee, 2022)

Σύμφωνα με τον Lee, 2022 και την πιο πάνω εικόνα που παρουσιάζει το Γράφημα 8 σχετικά με τις ανεπιθύμητες παρενέργειες που παρατηρήθηκαν περισσότερο στη φάση II CodeBreaK 100 (n=126), οι πιο συχνές που εντοπίστηκαν σε οποιοδήποτε βαθμό ανεπιθύμητων παρενεργειών είναι η διάρροια, η ναυτία και η αυξημένη αμινοτρανσφεράση αλανίνης. Όσον αφορά τις ανεπιθύμητες ενέργειες που βρίσκονταν στο βαθμό 3 $>$ οι κύριες ανεπιθύμητες ενέργειες ήταν αρχικά η διάρροια, αυξημένη αμινοτρανσφεράση αλανίνης, η επίσης αυξημένη ασπαρτική αμινοτρανσφεράση και σε λιγότερο βαθμό η αύξηση της αλκαλικής φωσφατάσης στο αίμα. Όλες αυτές οι παρατηρήσεις που αφορούν τις ανεπιθύμητες παρενέργειες του sotorasib σε σχέση με το μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα είναι με επίπτωση $\geq 5\%$. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες λόγω της θεραπείας με το sotorasib είναι αντιμετωπίσιμες. Για τη διαχείριση ανεπιθύμητων παρενεργειών επιτρέπεται η μείωση ή και ακόμη προσωρινή διακοπή του sotorasib μπορεί να συμβεί για τη καλύτερη διαχείριση τέτοιων παρενεργειών (A. Lee, 2022). Στη περίπτωση που χρειαστεί λόγω ανεπιθύμητων

παρενεργειών να μειωθεί η δόση, η συνιστώμενη μείωση των επιπέδων της δόσης γίνεται ως εξής: αρχικά, η πρώτη μείωση είναι στα 480mg με ημερήσια χορήγηση του sotorasib, τη δεύτερη μείωση της δόσης είναι στα 240mg και πάλι η λήψη της γίνεται μία φορά την ημέρα. Αν οι ασθενείς παρουσιάσουν ανεπιθύμητες παρενέργειες με τη δόση των 240mg και τη χορήγηση της μία φορά την ημέρα τότε η θεραπεία με το sotorasib θα πρέπει να διακοπεί (Blair, 2021).

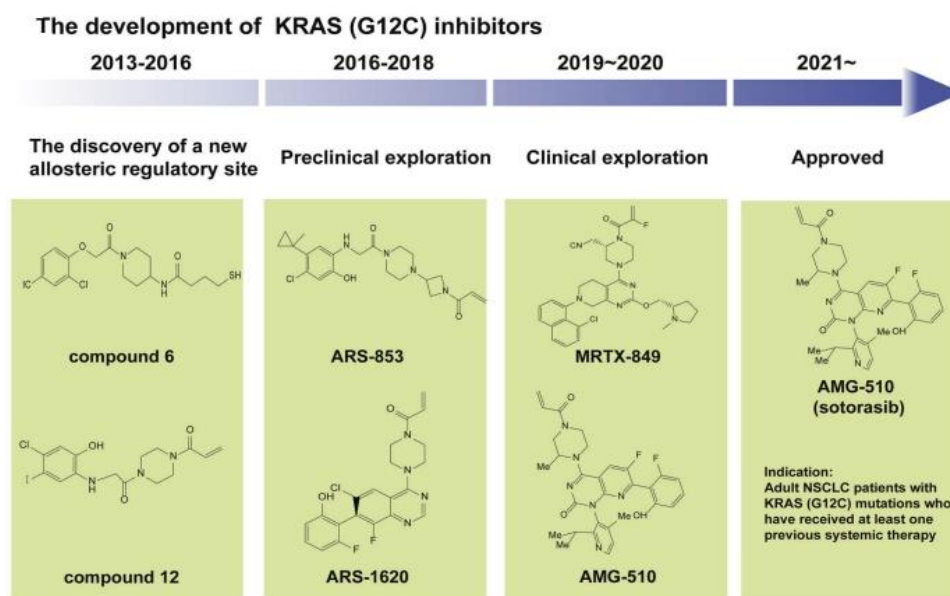
Επίσης, για λόγους πρόληψης αλλά και διαχείρισης ανεπιθύμητων παρενεργειών συνίσταται η παρακολούθηση ασθενών για ηπατοτοξικότητα ή νέα ή επιδεινούμενα πνευμονικά συμπτώματα. Συμπεριλαμβάνονται δοκιμές ηπατικής λειτουργίας που διεξάγονται κάθε τρεις βδομάδες για τους πρώτους τρεις μήνες θεραπείας, και μηνιαία ή όπως υποδεικνύεται κλινικά στη συνέχεια της θεραπείας (A. Lee, 2022).

Η έγκριση που έχει λάβει το sotorasib από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA) βασίστηκε στα θετικά αποτελέσματα της κλινικής μελέτης I/II CodeBreak 100 (Identifier: NCT03600883). Η αποτελεσματικότητα της CodeBreak 100 αξιολογήθηκε σε 124 ασθενείς στους οποίους η ασθένεια είχε προχωρήσει ως προς την ανάπτυξη της ή τουλάχιστον οι ίδιοι είχαν λάβει προηγουμένως τουλάχιστον μία συστηματική θεραπεία. Σε αυτή τη κλινική μελέτη οι ασθενείς είχαν λάβει 960mg sotorasib από το στόμα ημερησίως. Το συνολικό ποσοστό ανταπόκρισης (ORR) 36% (95% CI: 28%, 45%) και η διάμεση διάρκεια ανταπόκρισης (DOR) 10 μήνες (εύρος 1.3+, 11.1) (<https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-accelerated-approval-sotorasib-kras-g12c-mutated-nslcl>).

Επίσης, έχει ακολουθήσει και ακόμη μία κλινική μελέτη φάσης III CodeBreak 200 (Identifier: NCT04303780) αξιολόγησε το sotorasib έναντι του docetaxel σε 345 ενήλικες ασθενείς με τοπικά προχωρημένο ή μεταστατικό μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα και τη μετάλλαξη KRAS G12C. Όμως ασθενείς με ενεργές μεταστάσεις στον εγκέφαλο εξαιρούνταν και δεν έλαβαν μέρος σε αυτή τη κλινική δοκιμή (S. S. Zhang et al., 2023).

Η εξέλιξη των αναστολέων που στοχεύουν τη μετάλλαξη KRAS G12C σύμφωνα και με την παρακάτω εικόνα (Εικόνα 10), αρχικά ξεκίνησε από το 2013 με την ανακάλυψη μίας νέας αλλοστερικής ρυθμιστικής θέσης και των χημικών δομών 6 και 12. Από το 2016 έως το 2018 ακολούθησε η προκλινική εξερεύνηση των αναστολέων ARS-853

και ARS-1620. Έπειτα, το 2019 έως το 2020 συνεχίστηκε με την κλινική εξερεύνηση των αναστολέων MPTX-849 και AMG-510 φτάνοντας τελικά μέχρι το 2021 και την έγκριση του AMG-510 (sotorasib) από τον FDA για ενήλικες που φέρουν τη μετάλλαξη KRAS G12C και νοσούν από μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα και αφού έχουν λάβει προηγουμένως τουλάχιστον μία συστηματική θεραπεία.



Εικόνα 10: Απεικονίζεται η ανάπτυξη μέσα στα χρόνια και οι χημικές δομές των αναστολέων που στοχεύουν τη μετάλλαξη KRASG12C (Huang et al., 2021c)

3.1.2 Adagrasib

Ακόμη ένας αναστολέας ο MRTX849, ο οποίος είναι γνωστός με το εμπορικό όνομα adagrasib είναι ένα μικρό μόριο που αποτελεί ομοιοπολικό αναστολέα για το KRAS G12C και χορηγείται από το στόμα. Στις 12 Δεκεμβρίου του 2022 το adagrasib έλαβε από τον FDA (Food and Drug Administration) έγκριση για τη χορήγηση του σε ενήλικες ασθενείς που φέρουν τη μετάλλαξη KRAS G12C για τοπικά προχωρημένο ή μεταστατικό μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (NSCLC), οι οποίοι προηγουμένως έχουν λάβει ήδη μία συστηματική θεραπεία (<https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-accelerated-approval-adagrasib-kras-g12c-mutated-nsclc>).

Η έγκριση βασίστηκε σε μία κλινική δοκιμή KRYSTAL- 1 (Identifier: NCT03785249) όπου είχαν αξιολογηθεί 112 ενήλικες ασθενείς των οποίων η νόσος εξελίχθηκε κατά ή μετά από χημειοθεραπεία με βάση την πλατίνα και έναν αναστολέα του σημείου ελέγχου του ανοσοποιητικού, ο οποίος χορηγούνταν είτε ταυτόχρονα είτε διαδοχικά. Το συνολικό ποσοστό ανταπόκρισης (ORR) 43% (95% CI: 34%, 53%) και η διάμεση διάρκεια ανταπόκρισης (DOR) 8.5 μήνες (95% CI: 6.2, 13.8) (<https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-accelerated-approval-adagrasib-kras-g12c-mutated-nsc1c>).

Πρόσφατα, στις 21 Ιουνίου του 2024 ο FDA (Food and Drug Administration) χορήγησε και άλλη έγκριση για το adagrasib και το cetuximab για ενήλικες οι οποίοι φέρουν τη μετάλλαξη KRAS G12C σε τοπικά προχωρημένο ή μεταστατικό καρκίνο του παχέος εντέρου (CRC) (<https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-accelerated-approval-adagrasib-cetuximab-kras-g12c-mutated-colorectal-cancer>). Παρόλο που η μετάλλαξη KRAS G12C εντοπίζεται μόνο σε ένα μικρό ποσοστό ,περίπου 3-4%, στο καρκίνο του παχέος εντέρου μεταστατικά, όμως αυτοί οι ασθενείς φαίνεται να παρουσιάζουν μία πιο επιθετική μορφή της νόσου, με μειωμένη πιθανότητα επιβίωσης και δίχως ειδική θεραπεία για να αντιμετωπιστεί. Η έγκριση βασίστηκε στην αξιολόγηση της κλινικής δοκιμής KRYSTAL- 1 όπου οι 94 ασθενείς προηγουμένως είχαν λάβει χημειοθεραπεία βασισμένη στη φθοριοπυριμιδίνη, οξαλιπλατίνη και ιρινοτεκάνη και έναν αναστολέα VEGF, εάν ήταν κατάλληλος. Στους ασθενείς χορηγήθηκε το adagrasib σε δόση των 600mg δύο φορές την ημέρα με λήψη μέσω του στόματος και το cetuximab το οποίο είχε χορηγηθεί είτε δύο φορές την εβδομάδα είτε εβδομαδιαία. Επίσης, οι εκτιμήσεις για τον όγκο των ασθενών πραγματοποιούνταν κάθε έξι εβδομάδες. Σημαντικό ως προς την αναφορά του αποτελεί το γεγονός ότι η διακοπή του adagrasib απαιτούσε τη διακοπή του cetuximab, ωστόσο οι ασθενείς μπορούσαν να συνεχίσουν τη λήψη του adagrasib εάν είχε διακόψει το cetuximab. Το συνολικό ποσοστό ανταπόκρισης (ORR) 34% (95% CI: 25%, 45%), όλες οι αποκρίσεις ήταν μερικές αποκρίσεις και η διάμεση διάρκεια ανταπόκρισης (DOR) 5.8 μήνες (95% CI: 4.2, 7.6). Το 31% των ασθενών που ανταποκρίθηκαν είχαν DOR τουλάχιστον 6 μήνες (<https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-accelerated-approval-adagrasib-cetuximab-kras-g12c-mutated-colorectal-cancer>).

Πρόκειται για έναν αναστολέα ο οποίος έχει ευνοϊκές φαρμακοκινητικές ιδιότητες, συμπεριλαμβανομένου και ενός μακριού χρόνου ημιζωής (23 ώρες), δοσοεξαρτώμενη φαρμακοκινητική και διείσδυση στο ΚΝΣ (Κεντρικό Νευρικό Σύστημα) (Hallin et al., 2020a; Ignatius Ou et al., 2022; Taieb et al., 2022). Επίσης, δεσμεύει εκλεκτικά και μη αναστρέψιμα τη μεταλλαγμένη πρωτεΐνη στην ανενεργή κατάσταση της, δηλαδή, δεσμευμένη στο GDP. Γενικά, η συνεχής έκθεση στο adagrasib πάνω από ένα όριο-στόχο επιτρέπει την αναστολή της εξαρτώμενης σηματοδότησης από το KRAS κατά τη διάρκεια του διαστήματος της δοσολογίας και προβλέπεται ότι θα μεγιστοποιήσει την αντικαρκινική δραστηριότητα (Fell et al., 2020; Hallin et al., 2020).

Η συνιστώμενη δόση για το adagrasib είναι 600mg δύο φορές την ημέρα με λήψη μέσω του στόματος. Όσον αφορά το cetuximab υπάρχουν άλλες διαφορετικές οδηγίες σε σχέση με τη συνιστώμενη δόση του. Σύμφωνα με τον FDA οι πιο συχνές ανεπιθύμητες ενέργειες ($\geq 20\%$) ήταν τα εξανθήματα, η διάρροια, η ναυτία, ο εμετός, η κόπωση, ο μυοσκελετικός πόνος, η ηπατοτοξικότητα, ο πονοκέφαλος, η ξηροδερμία, το κοιλιακό άλγος, η μειωμένη όρεξη, το οίδημα, η αναιμία, ο βήχας, η ζάλη, η δυσκοιλιότητα και η περιφερική νευροπάθεια (<https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-accelerated-approval-adagrasib-kras-g12c-mutated-nsclc>).

Και οι δύο αυτοί αναστολείς του KRAS G12C, το sotorasib (AMG 510) και adagrasib (MRTX 849) είναι δύο ενώσεις που έχουν ως κοινό στόχο και λειτουργία, την αναστολή της μεταλλαγμένης πρωτεΐνης K-Ras που βρίσκεται υπό τη GDP-δεσμευμένη κατάσταση δρώντας μέσω του κοινού τους μηχανισμού. Ωστόσο, οι δύο αυτοί αναστολείς διαφέρουν ελαφρώς ως προς τις δεσμευτικές ιδιότητες τους (Blaquier et al., 2021) Επίσης και οι δύο αναστολείς έχουν δείξει περιορισμένη δραστηριότητα στο καρκίνο του παχέος εντέρου (CRC). Το sotorasib έδειξε ποσοστό αντικειμενικής ανταπόκρισης (objective response rate (RR)) 37.1% μεταξύ των ασθενών με MMΚΠ και 10% σε ασθενείς με CRC (D. S. Hong et al., 2020). Επιπλέον, για το adagrasib διάφορα αποτελέσματα από τις κλινικές δοκιμές φάσης 1/ 2 που περιλαμβάνουν ασθενείς με τη μετάλλαξη KRAS G12C έχουν δείξει επίσης υψηλότερο αντικειμενικό RR μεταξύ των ασθενών με MMΚΠ σε σχέση με ασθενείς με CRC, με ποσοστά 45% και 17%, αντίστοιχα (10.1016@S0959-80492031077-7, n.d.; Jänne et al., 2020; Riely et al., 2021).

Οι ειδικοί αναστολείς των αλληλομόρφων KRAS G12C έχουν αλλάξει το επιστημονικό τοπίο θεραπείας για τους RAS- όγκους. Αυτοί οι αναστολείς αναπτύχθηκαν και εγκρίθηκαν από τον FDA για θεραπευτικό σκοπό για ανθεκτικούς όγκους που έχουν προκληθεί από RAS μετάλλαξη όπως PDAC, CRC και LUAD.

3.1.3 Αναστολείς για τη μετάλλαξη KRAS G12D

Η Mirati Therapeutics ανέπτυξε ένα μικρό μόριο με φαρμακευτικό σκοπό για την αναστολή της μετάλλαξης KRAS G12D. Ο MRTX1133 είναι ένας νέος επιλεκτικός και μη ομοιοπολικός αναστολέας για τη μετάλλαξη KRAS G12D, ο οποίος έχει δείξει σημαντική προκλινική αντικαρκινική δράση και αφορά κυρίως το αδενοκαρκίνωμα του παγκρεατικού πόρου (PDAC). Προκλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι η εφαρμογή του MRTX1133 είχε τη δυνατότητα να επιφέρει αλλαγή στην θεραπεία της PDAC και πως αυτός ο αναστολέας μπορούσε να συνδεθεί στην ενεργή κατάσταση της πρωτεΐνης KRAS G12D, με αποτέλεσμα την αναστολή της οδού KRAS. Έχει παρατηρηθεί, επίσης, ότι ο αναστολέας MRTX1133 ήταν εξαιρετικά επιλεκτικός για την πρωτεΐνη KRAS G12D, περισσότερο από 1000 φορές υψηλότερη από τη πρωτεΐνη KRAS αγρίου τύπου. Αυτό ήταν φανερό και από το γεγονός ότι ο MRTX1133 επιλεκτικά εμπόδιζε την ενεργοποίηση του KRAS και κατέστέλλε τον πολλαπλασιασμό των HPAC (ανθρώπινη κυτταρική σειρά PDAC με μετάλλαξη KRAS-G12D) κυττάρων (Tang & Kang, 2023).

Όσον αφορά την *in vivo* δράση του αναστολέα MRTX1133, πραγματοποιήθηκε ανάλυση σε μοντέλα ξενομοσχευμάτων, όπου τα ποντίκια έφεραν όγκους με μεταλλάξεις KRAS G12D από ανθρώπινες καρκινικές κυτταρικές σειρές ή ιστούς όγκων που προέρχονταν από ασθενείς. Αυτό το πείραμα αφορούσε την απόκριση των μοντέλων στη λήψη συγκεκριμένων δόσεων (3, 10, 30 mg/kg). Τα αποτελέσματα αυτού του πειράματος κατέδειξαν ότι δεν παρουσιάστηκαν σοβαρές παρενέργειες όπως απώλεια βάρους ή άλλα εμφανή συμπτώματα τοξικότητας και επισημάνθηκε πως η δραστηριότητα του MRTX1133 *in vivo* εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη μετάλλαξη KRAS G12D (Tang & Kang, 2023).

Ωστόσο, υπάρχουν εμπόδια και οι προκλήσεις που πρέπει να ξεπεραστούν όσον αφορά το MRTX1133. Αρχικά, αφορούν κυρίως το πρόβλημα της εγγενούς και της επίκτητης αντοχής σε αυτόν τον αναστολέα. Σύμφωνα με μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί

φάνηκε ότι δεν είναι όλα τα PDAC κύτταρα με μεταλλάξεις KRAS G12D ευαίσθητα στη θεραπεία με MRTX 1133 και τα καρκινικά κύτταρα αναπτύσσουν αντίσταση στην αντικαρκινική θεραπεία με τη πάροδο του χρόνου. Επίσης, υπάρχουν και άλλες μεταλλάξεις εκτός του KRAS όπως η μετάλλαξη του CDKN2A, του TP53, του SMAD4 και του PTEN που μπορούν να συμβάλλουν στην ανάπτυξη περαιτέρω επιθετικότητας και την αντίσταση της αντικαρκινικής θεραπείας. Τέλος, αναλύσεις καρκινικών κυττάρων με χαμηλότερη έκφραση της PTEN και του CDKN2A RNA έχουν δείξει ότι τα συγκεκριμένα είναι αναίσθητα στη θεραπεία με MRTX1133, καθώς και ότι η απώλεια ογκοκατασταλτικών παραγόντων όπως της PTEN και της KEAP1 μπορεί να συμβάλλει επίσης στη μερική αντίσταση στη θεραπεία με MRTX1133 (Wei et al., 2024).

Ένας δεύτερος παράγοντας που αποτελεί πρόκληση για τη θεραπεία με τον MRTX1133 είναι η ανάπτυξη αποτελεσματικών συνδυαστικών σχημάτων θεραπείας, ιδίως με την ανοσοθεραπεία με σκοπό τη μεγιστοποίηση της αντικαρκινικής αποτελεσματικότητας του αναστολέα MRTX1133. Ένας από τους λόγους που είναι απαραίτητος ο συνδυασμός του MRTX1133 με την ανοσοθεραπεία είναι ότι σε ποντίκια με ανοσολογικό σύστημα αυτός ο αναστολέας προκάλεσε μακροχρόνια υποχώρηση των όγκων αλλά σε ανοσοανεπαρκή ποντίκια δεν φάνηκε το ίδιο. Το γεγονός αυτό καταδεικνύει ότι η ανοσολογική απόκριση εμπλέκεται και κατέχει σημαντικό ρόλο στην ισχυρή αντικαρκινική επίδραση που προκαλείται από τον MRTX 1133, όταν υπάρχει ανοσολογική ικανότητα. Επιπλέον, εκτός από την ανοσοθεραπεία, η ακτινοθεραπεία αλλά και η συμβατική χημειοθεραπεία αναμένεται να ενισχύσει την αποτελεσματικότητα της αντικαρκινικής δράσης του αναστολέα MRTX1133 (Wei et al., 2024).

Η τελευταία πρόκληση που πρέπει να αντιμετωπιστεί είναι ότι ο αναστολέας MRTX 1133 έχει κάποιους σοβαρούς περιορισμούς. Ένας από τους περιορισμούς του, είναι η χαμηλή δια του στόματος βιοδιαθεσιμότητα του και η υψηλή εκλεκτικότητα για τη μετάλλαξη KRAS G12D. Για αυτό το λόγο είναι απαραίτητος ο σχεδιασμός είτε νέων πιο ισχυρών και ευρύτερων KRAS αναστολέων είτε η αντιμετώπιση αυτών των προβλημάτων μέσω εναλλακτικών οδών. Για παράδειγμα, για την αντιμετώπιση της χαμηλής δια του στόματος βιοδιαθεσιμότητας του MRTX 1133, οι ερευνητές έχουν σχεδιάσει μία σειρά προφαρμακευτικών ενώσεων, οι οποίες στοχεύουν στην κάλυψη

μίας αμινομάδας που πιστεύεται ότι είναι υπεύθυνη για τη φτωχή απορρόφηση του μορίου στο γαστρεντερικό σύστημα (Wei et al., 2024).

Εν κατακλείδι, το MRTX1133 έλαβε έγκριση ως νέο ερευνητικό φάρμακο από τον FDA τον Οκτώβριο του 2021 για μια κλινική δοκιμή φάσης I/III (NCT05737706) που ξεκίνησε στις 20 Μαρτίου 2023, με στόχο τους ασθενείς που φέρουν προχωρημένους συμπαγείς όγκους (PDAC, NSCLC, καρκίνο του παχέος εντέρου και άλλους) με μεταλλάξεις KRAS G12D. Αυτή η εν εξελίξει δοκιμή αναμένεται να ολοκληρωθεί στις 30 Αυγούστου 2026 (Wei et al., 2024).

3.1.4 CRISPR- Cas9 ως στοχεύουσα θεραπεία στο καρκίνο του παγκρέατος

Μία καινοτόμα προσέγγιση ως στοχεύουσα θεραπεία, είναι η χρήση ενός συστήματος του CRISPR- Cas9 με σκοπό την ακριβή προσέγγιση του μεταλλαγμένου KRAS σε μεταγραφικό επίπεδο για το καρκίνο του παγκρέατος (Stefanoudakis et al., 2024). Οι πρωτεΐνες Cas9 έχουν δείξει ισχυρή καταστροφή του mRNA του KRAS- G12D, αναστέλλοντας έτσι την σηματοδότηση του και παρεμποδίζοντας την ανάπτυξη του όγκου *in vivo* (Kazi et al., 2019).

Ωστόσο, έχει παρατηρηθεί σε κάποια κύτταρα του αδενοκαρκινώματος του παγκρεατικού πόρου (PDAC), ανεξάρτητη επιβίωση από το KRAS, με την PI3K οδό να διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο. Σε μελέτη έχει προταθεί να συνδυαστεί η αναστολή KRAS και PI3K ως θεραπευτική στρατηγική κατά του αδενοκαρκινώματος του παγκρεατικού πόρου (PDAC) (Muzumdar et al., 2017). Υπάρχουν ισχυρές επιπτώσεις στη θεραπεία όπου περιλαμβάνει η στόχευση των μονοπατιών MEK και PI3K στη θεραπεία του παγκρεατικού καρκίνου (Hofmann et al., 2012). Αρκετές προσπάθειες έχουν επικεντρωθεί στην ανάπτυξη θεραπευτικών μεθόδων που στοχεύουν το μεταλλαγμένο KRAS κυρίως μέσω της αναστολής σηματοδοτικών μονοπατιών του KRAS δίνοντας αρκετή έμφαση σε αυτό του RAF-MEK-ERK (Waters & Der, 2018b). Επίσης, συνδυαστικές προσεγγίσεις που στοχεύουν πολλαπλές οδούς του τελεστή KRAS, όπως η κινάση MAP και το PI3K/AKT, λαμβάνονται υπόψη μαζί με θεραπείες που αφορούν τη προσαρμοστικότητα των μεταβολικών οδών και την ετερογένεια του παγκρεατικού πόρου (Stefanoudakis et al., 2024).

3.1.5 Ανοσοθεραπεία

Υπάρχουν τρεις θεραπευτικές προσεγγίσεις που σχετίζονται με την ανοσοθεραπεία και αυτές αφορούν, τους αναστολείς του σημείου ελέγχου του ανοσοποιητικού (immune check point inhibitors), την κυτταρική θεραπεία (adoptive cell therapy- ACT) και τα εμβόλια κατά του καρκίνου (cancer vaccines).

Η πρώτη ανοσοθεραπευτική προσέγγιση αφορά τους αναστολείς του σημείου ελέγχου του ανοσοποιητικού. Όσον αφορά τους όγκους και τη σχέση τους με το ανοσοποιητικό σύστημα, οι ίδιοι αποφεύγουν την ανίχνευση τους από αυτό μέσω αρνητικών ρυθμιστικών αντιγόνων (σημεία ελέγχου). Τα σημεία ελέγχου του ανοσοποιητικού περιλαμβάνουν την κυτταροτοξική T λεμφοκυτταρική πρωτεΐνη 4 (CTLA4) το PD1 και το PDL1. Η CTLA4 ρυθμίζει αρνητικά την ενεργοποίηση των T κυττάρων. Το PD1 εκφράζεται στα T κύτταρα και δημιουργεί ένα ενδοκυτταρικό ανασταλτικό σήμα όταν συνδέεται με το PDL1 (Chen & Mellman, 2017). Οι όγκοι στην επιφάνεια των κυττάρων τους, εκφράζουν το PDL1, οπότε η αλληλεπίδραση αυτή αναστέλλει την ανοσολογική δραστηριότητα και ανταπόκριση κοντά στον όγκο (Moore et al., 2020).

Σημαντικό είναι το γεγονός ότι έχουν εγκριθεί από τον FDA επτά αντισώματα που στοχεύουν τις πρωτεΐνες του σημείου ελέγχου του ανοσοποιητικού. Το πρώτο αντίσωμα είναι ένα αντι-CTLA4 το ipilimumab, τρία αντι- PD1 τα nivolumab, pembrolizumab, cemiplimab και τρία αντι- PDL1 τα atezolizumab, avelumab και durvalumab (Moore et al., 2020). Οι ανοσοθεραπείες έχουν εγκριθεί από τον FDA για το μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα και το μελάνωμα, όπου και τα δύο αποτελούν τύπους καρκίνου που μπορούν να προκληθούν από RAS-μεταλλάξεις. Το αδενοκαρκίνωμα του παγκρεατικού πόρου (PDAC) και ο καρκίνος του παχέος εντέρου (CRC) παρουσιάζουν χαμηλή ανοσογονικότητα λόγω χαμηλού μεταλλακτικού φορτίου και ανοσοκατεσταλμένου μικροπεριβάλλοντος όγκου (Alexandrov et al., 2013; Chen & Mellman, 2017; Herbst et al., 2014; Vonderheide & Bayne, 2013). Ακριβώς, για αυτούς τους λόγους οι συγκεκριμένες ανοσοθεραπευτικές προσεγγίσεις δεν παρουσίασαν κάποιο όφελος σε αυτούς τους δύο τύπους καρκίνου (Patnaik et al., 2015). Παρόλα αυτά, μία ομάδα ασθενών με αδενοκαρκίνωμα του παγκρεατικού πόρου (PDAC) ή καρκίνο του παχέος εντέρου (CRC) που είτε εμφάνιζαν υψηλά επίπεδα μικροδορυφορικής αστάθειας (MSI-H) είτε ανεπαρκή επιδιόρθωση ασυμφωνίας (dMMR) φάνηκε να έχουν ανταποκριθεί στις ανοσοθεραπείες (Aparicio, 2015; Le et

al., n.d.; Overman et al., 2017). Το pembrolizumab έχει εγκριθεί για τη θεραπεία συμπαγών όγκων με MSI-H και το nivolumab έχει εγκριθεί για το καρκίνο του παχέος εντέρου (CRC) με MSI-H ή dMMR (Moore et al., 2020).

Η δεύτερη ανοσοθεραπευτική προσέγγιση της, αυτή της κυτταρικής θεραπείας περιλαμβάνει την αναγνώριση των αντιγόνων ειδικά για μεταλλαγμένες πρωτεΐνες RAS από το ανοσοποιητικό σύστημα (Moore et al., 2020). Στο καρκίνο του παχέος εντέρου που έφερε τη μετάλλαξη KRAS G12D, η έγχυση CD8+ κυττάρων που στοχεύουν συγκεκριμένα τη μετάλλαξη KRAS παρουσίασε αποτελεσματική υποχώρηση του συγκεκριμένου όγκου (Tran et al., 2016). Οι υποδοχείς των T-κυττάρων (TCRs) χαρακτηρίζουν μία άμεση μέθοδο απεριόριστης παραγωγής T-κυττάρων έναντι μίας συγκεκριμένης οδηγού μετάλλαξης (Q. J. Wang et al., n.d.).

Η ανοσοθεραπευτική προσέγγιση μέσω των εμβολίων κατά των όγκων που φέρουν μεταλλάξεις RAS χρησιμοποιεί γνωστά αντιγόνα των RAS μεταλλαγμένων όγκων για τη πρόκληση T κυτταρικών αποκρίσεων. Μέσω των εμβολίων υπάρχει η διαδικασία κατά την οποία ένα mRNA, δηλαδή, αγγελιοφόρο RNA χρησιμοποιείται για να κωδικοποιήσει νέο- επιτόπους για επιλεγμένες μεταλλάξεις KRAS (<https://investors.modernatx.com/news/news-details/2018/Moderna-and-Merck-Expand-mRNA-Cancer-Vaccines-Collaboration/default.aspx>). Μία κλινική δοκιμή που στόχευε στις μεταλλάξεις KRAS και αφορούσε το εμβόλιο mRNA-5671/V941 είτε ως μονοθεραπεία είτε σε συνδυασμό με το pembrolizumab έχει φτάσει μέχρι τη φάση I της κλινικής δοκιμής και μέχρι στιγμής δεν έχει προχωρήσει στις μετέπειτα φάσεις (https://www.mycancergenome.org/content/clinical_trials/NCT03948763/)

Μία ακόμη προσέγγιση μέσω του εμβολίου αφορά την ενδοδερμική έγχυση πεπτιδίων από γενικά μεταλλαγμένες πρωτεΐνες RAS σε συνδυασμό με παράγοντα διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων- μακροφάγων (GM-CSF) (Gjertsen et al., 2001). Αυτή η διέγερση έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των δενδριτικών κυττάρων και πυροδοτεί μία απόκριση των T-λεμφοκυττάρων έναντι των μεταλλαγμένων πεπτιδίων (Gjertsen et al., 2001). Σε κλινική δοκιμή φάσης I/II σε ασθενείς που έπασχαν από αδενοκαρκίνωμα του παγκρεατικού πόρου (PDAC) και έλαβαν θεραπεία με εμβόλιο ειδικό για μεταλλάξεις RAS, το Targovax TG-01, φάνηκε ότι οι ασθενείς είχαν αυξημένη ανοσοαπόκριση και αυξημένη συνολική επιβίωση (Clinical Trial: NCT02261714) (<https://clinicaltrials.gov/?os=firetv&ref=app>).

3.2 Έμμεση φαρμακευτική στόχευση του KRAS

3.2.1 Μειώνοντας την έκφραση της KRAS

Οι θεραπευτικές προσεγγίσεις που βασίζονται στο RNA για την αποικοδόμηση των υπερεκφρασμένων mRNAs έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικά *in vivo*, καθώς τα εξωσώματα δρουν ως αποτελεσματικοί φορείς για βραχεία παρεμβαλλόμενα RNAs που μεσολαβούν την είσοδο στα κύτταρα του όγκου (Kamerkar et al., 2017; Kole et al., 2012). Έχει επέλθει πρόοδος στην ανάπτυξη των αντινοσηματικών ολιγονουκλεοτιδίων (ASOs) που στοχεύουν το KRAS στον καρκίνο του πνεύμονα. Το AZD4785 είναι ένα αντινοσηματικό ολιγονουκλεοτίδιο (ASO) που στοχεύει το KRAS με μία νέα 2'-4'-περιορισμένη τροποποίηση αιθυλίου. Έτσι, η KRAS έκφραση μειώθηκε σημαντικά σε υποδόριους όγκους μετά από θεραπεία με χορήγηση AZD4785, αλλά η μείωση δεν ήταν εμφανής σε κλινικές δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν (Ross et al., 2017).

3.2.2 Διακοπή της διαμεμβρανικής τοποθέτησης του KRAS

Μόνο το δεσμευμένο σε μεμβράνη KRAS μπορεί να ενεργοποιηθεί και να ενεργοποιήσει τα μονοπάτια της σηματοδότησης. Με γνώμονα αυτό, η παρεμπόδιση του εντοπισμού της μεμβράνης μετά τη μετάφραση του KRAS τη βάση του σκεπτικού μίας αποτελεσματικής στρατηγικής. Η φαρνεσυλτρανσφεράση αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά ως δυναμικός θεραπευτικός σε πρώιμο στάδιο λόγω του βασικού της ρόλου στη τοποθέτηση της KRAS στη μεμβράνη (Cox et al., 2015). Από τους αρκετούς ισχυρούς αναστολείς φαρνεσυλτρανσφερασών (FTI), ο αναστολέας tiffany και lonafarnib έχουν εισέλθει στη φάση III των κλινικών δοκιμών (Basso et al., 2006). Το salirasib αποτελεί έναν αναστολέα φαρνεσυλτρανσφερασών (FTI) δεύτερης γενιάς που αναπτύχθηκε αλλά τερματίστηκε σε κλινική δοκιμή φάσης II, καθώς παρουσίασαν ελλιπή αποτελεσματικότητα (Riely et al., 2011).

Ένζυμα μετά- μεταφραστικής τροποποίησης, όπως το RAS- μετατροπικό ένζυμο 1 ή ισοπρενυλοκαρβοξυλομεθυλοτρανσφεράση μπορεί να είναι πιθανός θεραπευτικός στόχος για τον αποκλεισμό της διαμεμβρανικής τοποθέτησης του KRAS, ιδιαίτερα η φωσφοδιαστεράση- δ η οποία βοηθά στη μεταφορά της KRAS από τη σωμάτιο Golgi στη πλασματική μεμβράνη (Winter-Vann2005, n.d.). Ωστόσο, σχετικές μελέτες βρίσκονται σε προκλινικό στάδιο ακόμη ενώ άλλες διαφορετικές μελέτες έχουν

παρουσιάσει διαφορετικά αποτελέσματα καταδεικνύοντας ότι χρειάζεται περαιτέρω μελλοντική διερεύνηση (Majmudar et al., 2012; Zimmermann et al., 2013).

3.2.3 Αναστολή μετάδοσης του σήματος KRAS

Οι αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης- πρωτεΐνης αποτελούν μία σημαντική μορφή σηματοδότησης. Οπότε, η παρέμβαση στην αλληλεπίδραση μεταξύ της KRAS και των υπόλοιπων πρωτεϊνών αποτελεί μία πιθανή θεραπευτική στρατηγική για τον αποκλεισμό της KRAS- μεσολάβησης για μετάδοση σήματος. Τα GEFs είναι μία κατηγορία πρωτεϊνών που αλληλοεπιδρούν με το KRAS και σε αυτή τη κατηγορία ανήκει η πρωτεΐνη SOS1. Οι αναστολείς SOS1 έχουν αναπτυχθεί και συντεθεί με σκοπό να μπλοκάρουν την αλληλεπίδραση KRAS και SOS1 (Patgiri et al., 2011). Ένας pan-KRAS αναστολέας, ο BI1701963 ο οποίος είναι βιοδιαθέσιμος από το στόμα είχε εισέλθει σε κλινική δοκιμή φάσης I έχει προφανή επίδραση στην πρόκληση γήρανσης του όγκου. Επιπλέον, τα συραμμένα πεπτίδια μπορούν να μπλοκάρουν την αλληλεπίδραση των KRAS και SOS1 βασιζόμενα σε μία σταθεροποιημένη α- έλικα δομή. Θεωρούνται πολλά υποσχόμενα ως μία αποτελεσματική στρατηγική για τη παρέμβαση μεταξύ της αλληλεπίδρασης KRAS και SOS1 (Leshchiner et al., 2015).

Επίσης, έχει ταυτοποιηθεί ένας μικρομοριακός αναστολέας ο BAY- 293 που παρεμποδίζει την αλληλεπίδραση μεταξύ SOS και KRAS (Hillig et al., 2019a). Το BAY- 293 παρουσιάζει συνεργιστική ανασταλτική δράση συνδυαστικά με τον ομοιοπολικό αναστολέα του του KRAS G12C, ARS- 853 σε κυτταρικά μοντέλα KRAS G12C. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι οι αναστολείς SOS1 μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό με το KRAS G12C αναστολείς που δεσμεύονται στη GDP κατάσταση, δεδομένου ότι η αναστολείς SOS1 αυξάνουν το KRAS G12C σε καταστάσεις που δεσμεύονται στο GDP (Negri et al., 2022b).

Το SHP2 είναι ένας μη- πρωτεϊνικός υποδοχέας τυροσίνης φωσφατάσης που είναι υπεύθυνος για την ενεργοποίηση του μονοπατιού MAPK (Z.-Q. Shi et al., 2000). Ομοίως, λοιπόν με έναν αναστολέα SOS1, ο αποκλεισμός του SHP2 αποτρέπει του GTP στο RAS. Ο RMC-4550 αποτελεί έναν ισχυρό και εκλεκτικό αλλοστερικό SHP2 αναστολέα που μειώνει το κυτταρικό πολλαπλασιασμό όπως φάνηκε σε προκλινικά μοντέλα και αυτή η επίδραση ήταν εμφανής σε μεταλλαγμένα κύτταρα στο κωδικόνιο 12 αλλά όχι στο κωδικόνιο 13 και 61. Επιπλέον, η μεγαλύτερη ευαισθησία φάνηκε στα

μεταλλαγμένα κύτταρα που έφεραν τη μετάλλαξη KRAS G12C σε σύγκριση με τα κύτταρα που έφεραν τη μετάλλαξη KRAS G12D και τη KRAS G12V. Η μεγάλη ευαισθησία στη μετάλλαξη KRAS G12C φανερώνει τη μεγάλη σημασία των βιολογικών ιδιοτήτων της κάθε μετάλλαξης και πως επηρεάζει την εξάρτηση της δραστηριότητας του RAS από την ανταλλαγή γουανίνης αλλά και πως οι μεταλλάξεις με υψηλή συγγένεια ή GAP- διαμεσολαβούμενη υδρόλυση είναι ευαίσθητα στην αναστολή SHP2 (Negri et al., 2022b).

Η ανάγκη για άμεση παρεμπόδιση της αλληλεπίδρασης KRAS με τις RAF κινάσες μέσω μικρών μορίων δεν έχει ακόμη επιτευχθεί. Η δυσκολία έγκειται στο ότι δεν προσφέρονται οι κατάλληλοι θύλακες για τη δέσμευση τέτοιων μικρών μορίων αναστολέων με υψηλή συγγένεια (Mott & Owen, 2015). Μέσω συνεχούς τροποποίησης και βελτιστοποίησης έχουν σχεδιαστεί αποτελεσματικά κυκλικά πεπτίδια για τη παρεμπόδιση της δέσμευσης του KRAS και του RAF, όπως η κυκλορασίνη 9 A και το κυκλικό πεπτίδιο kD2 (Upadhyaya et al., 2015; Z. Zhang et al., 2020).

Συμπερασματικά είναι δύσκολο να επιτευχθεί αναστολή των μονοπατιών σηματοδότησης με την αναστολή μόνο ενός βασικού μορίου, η κοινή αναστολή πολλαπλών μορίων- κλειδιών απαιτείται αρκετά συχνά για επιτυχή αναστολή (Huang et al., 2021c).

3.3 Συνδυασμένη Θεραπεία

Ο σκοπός της εκάστοτε συνδυασμένης θεραπείας είναι να αυξήσει την αποτελεσματικότητα της αντιμετώπισης του καρκίνου. Οι συνδυασμένες θεραπείες που αναφέρονται αφορούν κυρίως τις στοχεύουσες θεραπείες των μεταλλάξεων KRAS σε συνδυασμό με κάποιο άλλο φάρμακο που μπορεί να συνδυαστεί και να χορηγηθούν ταυτόχρονα στους ασθενείς για τη καλύτερη αντιμετώπιση και καταπολέμηση της πάθησης του καρκίνου.

Έχει παρατηρηθεί ότι οι συνδυασμένες θεραπείες μπορούν να αυξήσουν την αντικαρκινική αποτελεσματικότητα των KRAS G12C αναστολέων. Ωστόσο, πρόβλημα με τη συνδυασμένη θεραπεία είναι ότι οι ασθενείς συχνά αδυνατούν να την ανεχθούν λόγω των σοβαρών παρενεργειών που εμφανίζονται όταν χορηγούνται στους ασθενείς δύο ή περισσότεροι αναστολείς ταυτόχρονα (Mokhtari et al., 2017). Παρόλα αυτά, κλινικά αποτελέσματα των αναστολέων KRAS G12C έχουν δείξει ότι οι ασθενείς

ανέχθηκαν τη θεραπεία χωρίς σοβαρές ανεπιθύμητες παρενέργειες. Γεγονός που δείχνει ότι οι αναστολείς KRAS G12C μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως συνδυαστικοί παράγοντες για την επίτευξη καλύτερης αποτελεσματικότητας (Huang et al., 2021c).

Ένας τέτοιος συνδυασμός αφορά τους αναστολείς KRAS G12C και τα φάρμακα που στοχεύουν τους υποδοχείς κινάσης- τυροσίνης. Ο λόγος για τον οποίο αποτελεί μία καλή συνδυασμένη στρατηγική θεραπείας είναι η αντοχή στα φάρμακα η οποία αναπτύσσεται μέσω των υποδοχέων κινάσης- τυροσίνης (RTKs) που επάγουν την επαναδραστηριοποίηση της K-Ras και των μεταγενέστερων παραγόντων (Lito et al., 2016; Patricelli et al., 2016). Η συνδυασμένη δράση των αναστολέων RTK και του ARS-853 ενίσχυσε σημαντικά την αντικαρκινική δράση σε διάφορα κύτταρα, ενώ φάνηκε ότι οι διαφορετικοί αναστολείς RTKs είχαν διαφορετική επίδραση στα KRASG12C-μεταλλαγμένα κύτταρα, γεγονός που φανερώνει και την ετερογένεια στη δράση των RTKs. Επίσης, ισχυρή αντικαρκινική δράση έδειξαν αρκετοί αναστολείς RTK σε συνδυασμό με το ARS- 1620 (M. B. Ryan et al., 2020). Όμως, παρόλη τη συνεργιστική δράση αυτών των συνδυασμών τα αποτελέσματα δεν ήταν όμοια και αποτελεσματικά σε όλα τα μοντέλα όγκου που έφεραν τη μετάλλαξη KRAS G12C. Συμπερασματικά, ο συνδυασμός ενός μόνο αναστολέα RTK σε συνδυασμό με τους αναστολείς της μετάλλαξης KRAS G12C μπορεί να μην επιδρά αποτελεσματικά στο θεραπευτικό στόχο και έτσι η θεραπεία κατά του καρκίνου με αυτόν τον συνδυασμό δεν είναι δεδομένη (Huang et al., 2021c).

Ακόμη ένας συνδυασμός που έχει μελετηθεί αφορά και πάλι τους αναστολείς της μετάλλαξης KRAS G12C και το SHP2. Το SHP2 είναι υπεύθυνο για τη ταχεία ανάπτυξη της μετάλλαξης KRAS G12C *in vivo* καθώς, επίσης κατέχει σε μεγάλο βαθμό ρόλο και για την επανενεργοποίηση του KRAS (Mainardi et al., 2018; Nichols et al., 2018; Wong et al., 2018). Η αναστολή του SHP2 έχει τη δυνατότητα της αύξησης της κατάληψης της KRAS-GDP και καταστολή της διαμεσολαβούμενης- RAS σηματοδότησης και της προσαρμοστικής σηματοδότησης που οδηγεί στην αντίσταση στη θεραπεία (Fedele et al., 2021). Ένα παράδειγμα ενός τέτοιου συνδυασμού είναι των ARS-1620 και του SHP- 099, ενός αναστολέα SHP2 όπου έχει καταδειχθεί ότι ο συνδυασμός τους μειώνει σημαντικά την ένταση του όγκου που φέρει τη μετάλλαξη KRAS G12C (M. B. Ryan et al., 2020; Xue et al., 2020). Άλλος ένας συνδυασμός είναι το MRTX849 με το RMC- 4550, έναν άλλο αναστολέα όπου ο συνδυασμός τους

εμφάνισε υψηλότερη αντικαρκινική δράση στα μοντέλα MRTX849 μέσω της περαιτέρω αναστολή της διαμεσολαβούμενης σηματοδότης του KRAS μονοπατιού (Hallin et al., 2020b). Επίσης, ο συνδυασμός του TNO155 και των αναστολέων EGFR, των αναστολέων RAF και των αναστολέων KRAS G12C έχει δείξει συνεργιστική δράση σε προκλινικές μελέτες πράγμα που υποδηλώνει την ότι το TNO155 εμποδίζει αποτελεσματικά την ανατροφοδοτούμενη ενεργοποίηση (Liu et al., 2021). Αρκετοί SHP2 αναστολείς λόγω των προκλινικών δεδομένων που έχουν συλλεχθεί, έχουν εισέλθει σε κλινικές δοκιμές σε συνδυασμό με τους αναστολείς της μετάλλαξης KRAS G12C.

Το SOS1 είναι άλλος ένα κοινός μεταγενέστερος παράγοντας των πολλαπλών μονοπατιών σηματοδότησης των RTKs. Υπάρχουν στοιχεία που καταδεικνύουν ότι το KRAS G12C εναλλάσσεται ταχέως στη δεσμευμένη GDP- κατάσταση ή στη δεσμευμένη GTP-κατάσταση αντί να είναι συνεχώς ενεργή στη δεσμευμένη-GTP κατάσταση του KRAS. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μη φυσιολογική ενεργοποίηση καθοδικών σημάτων και δείχνει ότι παρόλο που υπάρχει η μετάλλαξη KRAS G12C, η ίδια παραμένει ευαίσθητη στην λειτουργία των GEF όπως το SOS1. Η συνεργιστική δράση του BAY293 το οποίο αποτελεί έναν ισχυρό SOS1 αναστολέα, και του ARS-853 έχει αναφερθεί επειδή το BAY293 είναι ικανό να διαταράξει την αλληλεπίδραση KRAS- SOS1 για να αναστείλει την ενεργοποίηση του KRAS (Hillig et al., 2019b).

Η πρωτεΐνη K-Ras διασυνδέεται με διάφορα μονοπάτια σηματοδότησης και έτσι, αναμενόμενα οι μεταγενέστεροι παράγοντες αυτών των μονοπατιών επηρεάζουν με τη σειρά τους τη λειτουργία του KRAS σε διαφορετικό βαθμό. Η δράση του ERK3 απαιτείται για τη καρκινογένεση για τη καθοδηγούμενη KRAS καρκινογένεση *in vivo*, για αυτό και η ανεπάρκεια ERK3 αναστέλλει την ογκογόνο ανάπτυξη της μετάλλαξης KRAS G12C στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα *in vivo* υποδεικνύοντας την εφαρμογή των ERK3 αναστολέων στους όγκους που προκαλούνται από το KRAS G12C (Bogucka et al., 2021). Ο συνδυασμός ενός αναστολέα PI3K και ενός αναστολέα KRAS G12C έδειξε εμφανή συνεργιστικά αποτελέσματα σε διάφορα μοντέλα. Επίσης, η στόχευση του ATK ή του mTOR, τα οποία είναι σημαντικά PI3K έχει αποδειχθεί ότι είναι αποτελεσματική όταν συνδυάζονται με αναστολείς του KRAS G12C (Huang et al., 2021c). Για παράδειγμα η συνδυασμένη χρήση των αναστολέων mTOR, IGF1R αναστολέων και του ARS-1620 ενίσχυσε σημαντικά την καταστολή του όγκου

προκαλώντας χαμηλή τοξικότητα σε σύγκριση με τον συνδυασμό των αναστολέων MEK ή τη χρήση του ARS-1620 μόνου του σε μία σειρά μοντέλων με καρκίνο του πνεύμονα που φέρουν μετάλλαξη KRAS (Molina-Arcas et al., 2019).

Η χημειοθεραπεία αποτελεί μία σημαντική στρατηγική για την αντιμετώπιση του όγκου σε προχωρημένο στάδιο. Ωστόσο, το όφελος που λαμβάνουν οι ασθενείς κατά τη διάρκεια αυτής της θεραπείας είναι συνήθως αρκετά αμφιλεγόμενο, καθώς είναι περιορισμένο λόγω των σοβαρών παρενεργειών που προκαλεί και της ταχείας εμφάνισης αντίστασης στα φάρμακα. Καλύτερη στρατηγική θεραπείας φαίνεται πως είναι ο συνδυασμός της συμβατικής χημειοθεραπείας και νέων φαρμάκων, καθώς μπορεί να αυξήσει το όφελος στους ασθενείς (Huang et al., 2021c). Ο συνδυασμός των ομοιοπολικών αναστολέων της μετάλλαξης KRAS G12C σε συνδυασμό με τη συμβατική χημειοθεραπεία αποτελεί μία πιθανή στρατηγική για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας γενικότερα (Sun et al., 2013). Μελέτη έδειξε ότι μοντέλα με μεταλλάξεις KRAS που εμφάνισαν μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα εμφάνισαν μεγαλύτερη ευαισθησία στο pemetrexed και η έκφραση του KRAS RNA άλλαξε μετά τη θεραπεία με pemetrexed, οδηγώντας σε μειωμένη αγγειογένεση (Sun et al., 2013).

Επίσης, οι ασθενείς που φέρουν μεταλλάξεις στο KRAS συχνά αναπτύσσουν αντίσταση και στην ακτινοβολία και εμφανίζουν κακή πρόγνωση (Mak et al., 2015). Η ακτινοθεραπεία χρησιμοποιείται ευρέως σε πολλούς τύπους καρκίνου. Σε όγκους χωρίς ακτινοβολία που φέρουν μεταλλάξεις KRAS, έχει επιβεβαιωθεί ότι η ακτινοθεραπεία σε συνδυασμό με το αντίσωμα PD-1 έχουν προφανή συνεργιστική δράση (Herter-Sprrie et al., 2016). Άρα η ακτινοβολία σε συνδυασμό με τους αναστολείς KRAS μπορεί να φανούν εξαιρετικά ωφέλιμες σε ασθενείς που φέρουν KRAS μεταλλάξεις (Huang et al., 2021c).

Τέλος, όσον αφορά τη συνδυασμένη θεραπεία μεταξύ ειδικών για αλληλόμορφα RAS αναστολέων ή αναστολέων της οδού MAPK και των ανοσοθεραπειών, έχει παρουσιαστεί ότι είναι μία προσέγγιση που θα μπορούσε να βελτιώσει την απόκριση των μεταλλαγμένων όγκων RAS στην ανοσοθεραπεία. Σε κλινική δοκιμή έχει προκύψει ότι όγκοι του μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα που έφεραν μεταλλάξεις KRAS είχαν αυξημένα επίπεδα PDL1, που θα μπορούσαν να παράσχουν σε αυτούς τους όγκους ανοσοαντίσταση (Muller et al., 2017). Η μετάλλαξη KRAS

αυξορρυθμίζει άμεσα την έκφραση PDL1 αλλά αυτή η αυξορρύθμιση μπορεί να αντιστραφεί με έναν αναστολέα MEK (τραμετινίμπη) ή ένα εκλεκτικό KRAS G12C αναστολέα (ARS-853)(Coelho et al., 2017). Ωστόσο, ο συνδυασμός των αναστολέων KRAS και των αντι- PD1 ή των αντι- PDL1 για τη θεραπεία στερεών όγκων χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση (Negri et al., 2022b).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Το γονίδιο *KRAS* αποτελεί ένα από τα περισσότερα διαδεδομένα ογκογονίδια στους ανθρώπινους καρκίνους και έχουν γίνει πολλές προσπάθειες ως προς την κατανόηση της δομής και της λειτουργίας του αλλά και των διαφορετικών μεταλλάξεων του με σκοπό την αποκωδικοποίηση κατάλληλων σημείων στόχευσης για αποτελεσματική θεραπεία. Οι τρεις τύποι καρκίνου στους οποίους το γονίδιο *KRAS* εμφανίζει μεγαλύτερη συχνότητα μεταλλάξεων είναι ο μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα (NSCLC), ο καρκίνος του παγκρέατος (PDAC) και ο καρκίνος του παχέος εντέρου (CRC) με τις πιο συχνές μεταλλάξεις για το καθένα ξεχωριστά να είναι η KRAS G12C και η KRAS G12D για τους πρώτους δύο τύπους, αντίστοιχα και οι KRAS G12D και KRAS G12V για τον καρκίνο του παχέος εντέρου (CRC). Σε κλινικές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε δείγμα του Ελληνικού πληθυσμού οι μεταλλάξεις *KRAS* που εντοπίστηκαν ως πιο κοινές και συχνές είναι οι ίδιες με αυτές των κλινικών μελετών που έχουν πραγματοποιηθεί και στο εξωτερικό.

Οι θεραπευτικές προσεγγίσεις έχουν προσανατολιστεί προς τη περαιτέρω ανάπτυξη και εξέλιξη για την επιτυχή ανεύρεση στοχευουσών θεραπειών κατάλληλων για το κάθε τύπο καρκίνου που αφορά μεταλλάξεις στο γονίδιο *KRAS*, καθώς οι συμβατικές θεραπείες καταπολέμησης του καρκίνου δεν ήταν αποτελεσματικές. Ο αναστολέας AMG510 ή αλλιώς sotorasib ήταν ο πρώτος που κατάφερε να εγκριθεί από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA) και να χορηγηθεί σε ενήλικες ασθενείς με μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (NSCLC) που φέρουν τη μετάλλαξη KRAS G12C. Εν συνεχεία, ακολούθησε και ο αναστολέας MRTX849 ή αλλιώς adagrasib, αρχικά και ο ίδιος για τον μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (NSCLC) και έπειτα για το καρκίνο του παχέος εντέρου (CRC) και στις δύο

περιπτώσεις όμως για την ίδια μετάλλαξη, τη KRAS G12C. Ο κοινός παρονομαστής και για τους δύο αναστολείς αποτελεί η μετάλλαξη KRAS G12C και το κλειδί στη συγκεκριμένη μετάλλαξη σε αντίθεση με τις υπόλοιπες που έχουν αναφερθεί αφορά στη παρουσία της κυστεΐνης και στην ομοιοπολική αναστολή της αλλά και στην υψηλή δραστηριότητα της GTPάσης της KRAS G12C η οποία δεν είναι πλήρως παρούσα σε άλλους τύπους μεταλλάξεων KRAS. Νέοι αναστολείς αξιολογούνται είτε ως μονοθεραπεία είτε σε συνδυασμό με άλλες αποτελεσματικές και εγκεκριμένες θεραπείες σε κλινικές δοκιμές, λαμβάνοντας ενδιαφέροντα αποτελέσματα. Επίσης, έμμεσες στρατηγικές στόχευσης του γονιδίου *KRAS* διερευνώνται και αξιολογούνται περαιτέρω για την ανάπτυξη της καταλληλότητας τους.

Όσον αφορά τις μελλοντικές προσεγγίσεις για την εύρεση της ιδανικής θεραπείας που θα καταφέρει να αναστείλει τη δράση του μεταλλαγμένου KRAS σημαντικό είναι η θεραπεία να φέρει χαρακτηριστικά κατάλληλα ώστε να στοχεύουν στο επιθυμητό σημείο και με βάση τις ιδιομορφίες της εκάστοτε μετάλλαξης, λαμβάνοντας υπόψιν τα ιδιαίτερα γενετικά χαρακτηριστικά του κάθε ασθενή και τους περιβαλλοντικούς παράγοντες που συμβάλλουν στην ανταπόκριση της νόσου. Εν κατακλείδι, η ιδανική θεραπεία θα πρέπει να είναι πάνω από όλα ασφαλής για τον ασθενή, αποτελεσματική και προσβάσιμη ανεξαρτήτως οικονομικής κατάστασης σε όποιον τη χρειάζεται. Η ολοένα και μεγαλύτερη ανάπτυξη των γνώσεων των επιστημόνων που μελετούν το γονίδιο *KRAS* και τις μεταλλάξεις του σε συνδυασμό με τις κλινικές μελέτες που πραγματοποιούνται για την εξέλιξη των άμεσων και έμμεσων στοχευουσών θεραπειών είναι ελπιδοφόρες για τη καταπολέμηση του καρκίνου στο μέλλον.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

10.1016@S0959-80492031077-7. (n.d.).

36-Article Text-163-1-10-20190717. (n.d.).

Ahearn, I. M., Haigis, K., Bar-Sagi, D., & Philips, M. R. (2012). Regulating the regulator: Post-translational modification of RAS. In *Nature Reviews Molecular Cell Biology* (Vol. 13, Issue 1, pp. 39–51). <https://doi.org/10.1038/nrm3255>

Alexandrov, L. B., Nik-Zainal, S., Wedge, D. C., Aparicio, S. A. J. R., Behjati, S., Biankin, A. V., Bignell, G. R., Bolli, N., Borg, A., Børresen-Dale, A. L., Boyault, S., Burkhardt, B., Butler, A. P., Caldas, C., Davies, H. R., Desmedt, C., Eils, R., Eyfjörd, J. E., Foekens, J. A., ... Stratton, M. R. (2013). Signatures of

- mutational processes in human cancer. *Nature*, 500(7463), 415–421.
<https://doi.org/10.1038/nature12477>
- Andreyev, H. J. N., Norman, A. R., Cunningham, D., Oates, J., Dix, B. R., Iacopetta, B. J., Young, J., Walsh, T., Ward, R., Hawkins, N., Beranek, M., Jandik, P., Benamouzig, R., Jullian, E., Laurent-Puig, P., Olschwang, S., Muller, O., Hoffmann, I., Rabes, H. M., ... Urošević, N. (2001). Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer: The “RASCAL II” study. *British Journal of Cancer*, 85(5), 692–696. <https://doi.org/10.1054/bjoc.2001.1964>
- Aparicio, T. (2015). PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency: Le DT (2015) N Engl J Med May 30. *Colon and Rectum*, 9(3), 182–184.
<https://doi.org/10.1007/s11725-015-0588-4>
- Awad, M. M., Gadgeel, S. M., Borghaei, H., Patnaik, A., Yang, J. C. H., Powell, S. F., Gentzler, R. D., Martins, R. G., Stevenson, J. P., Altan, M., Jalal, S. I., Panwalkar, A., Gubens, M., Sequist, L. V., Saraf, S., Zhao, B., Piperdi, B., & Langer, C. J. (2021). Long-Term Overall Survival From KEYNOTE-021 Cohort G: Pemetrexed and Carboplatin With or Without Pembrolizumab as First-Line Therapy for Advanced Nonsquamous NSCLC. *Journal of Thoracic Oncology*, 16(1), 162–168. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2020.09.015>
- Basso, A. D., Kirschmeier, P., & Bishop, W. R. (2006). Farnesyl transferase inhibitors. In *Journal of Lipid Research* (Vol. 47, Issue 1, pp. 15–31).
<https://doi.org/10.1194/jlr.R500012-JLR200>
- Bellazzo, A., Di Minin, G., & Collavin, L. (2017). Block one, unleash a hundred. Mechanisms of DAB2IP inactivation in cancer. In *Cell Death and Differentiation* (Vol. 24, Issue 1, pp. 15–25). Nature Publishing Group.
<https://doi.org/10.1038/cdd.2016.134>
- Benedix, F., Kube, R., Meyer, F., Schmidt, U., Gastinger, I., & Lippert, H. (2010). Comparison of 17,641 patients with right- and left-sided colon cancer: Differences in epidemiology, perioperative course, histology, and survival. *Diseases of the Colon and Rectum*, 53(1), 57–64.
<https://doi.org/10.1007/DCR.0b013e3181c703a4>
- Blair, H. A. (2021). Sotorasib: First Approval. In *Drugs* (Vol. 81, Issue 13, pp. 1573–1579). Adis. <https://doi.org/10.1007/s40265-021-01574-2>
- Blaquier, J. B., Cardona, A. F., & Recondo, G. (2021). Resistance to KRASG12C Inhibitors in Non-Small Cell Lung Cancer. In *Frontiers in Oncology* (Vol. 11). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.787585>
- Bogucka, K., Marini, F., Rosigkeit, S., Schloeder, J., Jonuleit, H., David, K., Schlackow, M., & Rajalingam, K. (2021). ERK3/MAPK6 is required for KRAS-mediated NSCLC tumorigenesis. *Cancer Gene Therapy*, 28(5), 359–374.
<https://doi.org/10.1038/s41417-020-00245-w>

- Bos, J. L. (n.d.). Mini-Review Ras-like GTPases. In *Biochimica et Biophysica Acta* (Vol. 1333).
- Bos, J. L., Rehmann, H., & Wittinghofer, A. (2007). GEFs and GAPs: Critical Elements in the Control of Small G Proteins. In *Cell* (Vol. 129, Issue 5, pp. 865–877). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.05.018>
- bos1987*. (n.d.).
- Brtva, T. R., Drugan, J. K., Ghosh, S., Terrell, R. S., Campbell-Burk, S., Bell, R. M., & Der, C. J. (1995). Two distinct Raf domains mediate interaction with Ras. *Journal of Biological Chemistry*, 270(17), 9809–9812. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.17.9809>
- Buday, L., & Downward, J. (2008). Many faces of Ras activation. In *Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer* (Vol. 1786, Issue 2, pp. 178–187). <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2008.05.001>
- Buday, L., Egan, S. E., Vician, P. R., Cantrell, D. A., & Downward, J. (1994). A complex of Grb2 adaptor protein, Sos exchange factor, and a 36-kDa membrane-bound tyrosine phosphoprotein is implicated in Ras activation in T cells. *Journal of Biological Chemistry*, 269(12), 9019–9023. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(17\)37070-9](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(17)37070-9)
- Burgess, M. R., Hwang, E., Mroue, R., Bielski, C. M., Wandler, A. M., Huang, B. J., Firestone, A. J., Young, A., Lacap, J. A., Crocker, L., Asthana, S., Davis, E. M., Xu, J., Akagi, K., Le Beau, M. M., Li, Q., Haley, B., Stokoe, D., Sampath, D., ... Shannon, K. (2017). KRAS Allelic Imbalance Enhances Fitness and Modulates MAP Kinase Dependence in Cancer. *Cell*, 168(5), 817-829.e15. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.01.020>
- Cantley, L. C. (2002). The phosphoinositide 3-kinase pathway. In *Science* (Vol. 296, Issue 5573, pp. 1655–1657). <https://doi.org/10.1126/science.296.5573.1655>
- Ceddia, S., Landi, L., & Cappuzzo, F. (2022). KRAS-Mutant Non-Small-Cell Lung Cancer: From Past Efforts to Future Challenges. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 23, Issue 16). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms23169391>
- Chang, L., & Karin, M. (2001). Mammalian MAP kinase signalling cascades. In *NATURE* (Vol. 410). www.nature.com
- Chen, D. S., & Mellman, I. (2017). Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point. In *Nature* (Vol. 541, Issue 7637, pp. 321–330). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nature21349>
- Cherfils, J., & Zeghouf, M. (2013). Regulation of Small GTPases by GEFs, GAPs, and GDIs. *Physiol Rev*, 93, 269–309. <https://doi.org/10.1152/physrev.00003.2012.-Small>

- Coelho, M. A., de Carné Trécesson, S., Rana, S., Zecchin, D., Moore, C., Molina-Arcas, M., East, P., Spencer-Dene, B., Nye, E., Barnouin, K., Snijders, A. P., Lai, W. S., Blackshear, P. J., & Downward, J. (2017). Oncogenic RAS Signaling Promotes Tumor Immuno-resistance by Stabilizing PD-L1 mRNA. *Immunity*, 47(6), 1083-1099.e6. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.11.016>
- Colicelli, J. (2004). Human RAS superfamily proteins and related GTPases. In *Science's STKE : signal transduction knowledge environment* (Vol. 2004, Issue 250). <https://doi.org/10.1126/stke.2502004re13>
- Collisson, E. A., Bailey, P., Chang, D. K., & Biankin, A. V. (2019). Molecular subtypes of pancreatic cancer. In *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* (Vol. 16, Issue 4, pp. 207–220). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0109-y>
- Colussi, D., Brandi, G., Bazzoli, F., & Ricciardiello, L. (2013). Molecular pathways involved in colorectal cancer: implications for disease behavior and prevention. In *International journal of molecular sciences* (Vol. 14, Issue 8, pp. 16365–16385). <https://doi.org/10.3390/ijms140816365>
- Cox, A. D., Der, C. J., & Philips, M. R. (2015). Targeting RAS membrane association: Back to the future for anti-RAS drug discovery? *Clinical Cancer Research*, 21(8), 1819–1827. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-3214>
- Cox, A. D., Fesik, S. W., Kimmelman, A. C., Luo, J., & Der, C. J. (2014). Drugging the undruggable RAS: Mission Possible? In *Nature Reviews Drug Discovery* (Vol. 13, Issue 11, pp. 828–851). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrd4389>
- Cronin, K. A., Scott, S., Firth, A. U., Sung, H., Henley, S. J., Sherman, R. L., Siegel, R. L., Anderson, R. N., Kohler, B. A., Benard, V. B., Negoita, S., Wiggins, C., Cance, W. G., & Jemal, A. (2022). Annual report to the nation on the status of cancer, part 1: National cancer statistics. *Cancer*, 128(24), 4251–4284. <https://doi.org/10.1002/cncr.34479>
- Dogan, S., Shen, R., Ang, D. C., Johnson, M. L., D'Angelo, S. P., Paik, P. K., Brzostowski, E. B., Riely, G. J., Kris, M. G., Zakowski, M. F., & Ladanyi, M. (2012). Molecular epidemiology of EGFR and KRAS mutations in 3,026 lung adenocarcinomas: Higher susceptibility of women to smoking-related KRAS-mutant cancers. *Clinical Cancer Research*, 18(22), 6169–6177. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-3265>
- Fearon, E. F., & Vogelstein, B. (1990). A Genetic Model for Colorectal Tumorigenesis. In *Cell* (Vol. 61).
- Fedele, C., Li, S., Teng, K. W., Foster, C. J. R., Peng, D., Ran, H., Mita, P., Geer, M. J., Hattori, T., Koide, A., Wang, Y., Tang, K. H., Leinwand, J., Wang, W., Diskin, B., Deng, J., Chen, T., Dolgalev, I., Ozerdem, U., ... Neel, B. G. (2021). SHP2 inhibition diminishes KRASG12C cycling and promotes tumor

microenvironment remodeling. *Journal of Experimental Medicine*, 218(1).
<https://doi.org/10.1084/JEM.20201414>

Fell, J. B., Fischer, J. P., Baer, B. R., Blake, J. F., Bouhana, K., Briere, D. M., Brown, K. D., Burgess, L. E., Burns, A. C., Burkard, M. R., Chiang, H., Chicarelli, M. J., Cook, A. W., Gaudino, J. J., Hallin, J., Hanson, L., Hartley, D. P., Hicken, E. J., Hingorani, G. P., ... Marx, M. A. (2020). Identification of the Clinical Development Candidate MRTX849, a Covalent KRASG12CInhibitor for the Treatment of Cancer. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(13), 6679–6693.
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b02052>

forrester1987. (n.d.).

Frankel, P., Aronheim, A., Kavanagh, E., Balda, M. S., Matter, K., Bunney, T. D., & Marshall, C. J. (2005). Ra1A interacts with ZONAB in a cell density-dependent manner and regulates its transcriptional activity. *EMBO Journal*, 24(1), 54–62.
<https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600497>

Garrido, P., Olmedo, M. E., Gómez, A., Paz Ares, L., López-Ríos, F., Rosa-Rosa, J. M., & Palacios, J. (2017). Treating KRAS -mutant NSCLC: Latest evidence and clinical consequences. In *Therapeutic Advances in Medical Oncology* (Vol. 9, Issue 9, pp. 589–597). SAGE Publications Inc.
<https://doi.org/10.1177/1758834017719829>

Gehringer, M., & Laufer, S. A. (2019). Emerging and Re-Emerging Warheads for Targeted Covalent Inhibitors: Applications in Medicinal Chemistry and Chemical Biology. In *Journal of Medicinal Chemistry* (Vol. 62, Issue 12, pp. 5673–5724). American Chemical Society.
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b01153>

Gjertsen, M. K., Buanes, T., Rosseland, A. R., Bakka, A., Gladhaug, I., Søreide, O., Eriksen, J. A., Møller, M., Baksaas, I., Lothe, R. A., Saeterdal, I., & Gaudernack, G. (2001). *INTRADERMAL RAS PEPTIDE VACCINATION WITH GRANULOCYTE-MACROPHAGE COLONY-STIMULATING FACTOR AS ADJUVANT: CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL RESPONSES IN PATIENTS WITH PANCREATIC ADENOCARCINOMA*.

Goulding, R. E., Chenoweth, M., Carter, G. C., Boye, M. E., Sheffield, K. M., John, W. J., Leusch, M. S., Muehlenbein, C. E., Li, L., Jen, M. H., Rojubally, A., Jansen, J., & Druyts, E. (2020). KRAS mutation as a prognostic factor and predictive factor in advanced/metastatic non-small cell lung cancer: A systematic literature review and meta-analysis. In *Cancer Treatment and Research Communications* (Vol. 24). Elsevier Ltd.
<https://doi.org/10.1016/j.ctarc.2020.100200>

Haigis, K. M. (2017). KRAS Alleles: The Devil Is in the Detail. In *Trends in Cancer* (Vol. 3, Issue 10, pp. 686–697). Cell Press.
<https://doi.org/10.1016/j.trecan.2017.08.006>

- Hallin, J., Engstrom, L. D., Hargi, L., Calinisan, A., Aranda, R., Briere, D. M., Sudhakar, N., Bowcut, V., Baer, B. R., Ballard, J. A., Burkard, M. R., Fell, J. B., Fischer, J. P., Vigers, G. P., Xue, Y., Gatto, S., Fernandez-Banet, J., Pavlicek, A., Velastagui, K., ... Christensen, J. G. (2020a). The KRASG12C inhibitor MRTX849 provides insight toward therapeutic susceptibility of KRAS-mutant cancers in mouse models and patients. *Cancer Discovery*, 10(1), 54–71. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-19-1167>
- Hallin, J., Engstrom, L. D., Hargi, L., Calinisan, A., Aranda, R., Briere, D. M., Sudhakar, N., Bowcut, V., Baer, B. R., Ballard, J. A., Burkard, M. R., Fell, J. B., Fischer, J. P., Vigers, G. P., Xue, Y., Gatto, S., Fernandez-Banet, J., Pavlicek, A., Velastagui, K., ... Christensen, J. G. (2020b). The KRASG12C inhibitor MRTX849 provides insight toward therapeutic susceptibility of KRAS-mutant cancers in mouse models and patients. *Cancer Discovery*, 10(1), 54–71. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-19-1167>
- Han, C. W., Jeong, M. S., & Jang, S. B. (2021a). Understand kras and the quest for anti-cancer drugs. In *Cells* (Vol. 10, Issue 4). MDPI. <https://doi.org/10.3390/cells10040842>
- Han, C. W., Jeong, M. S., & Jang, S. B. (2021b). Understand kras and the quest for anti-cancer drugs. In *Cells* (Vol. 10, Issue 4). MDPI. <https://doi.org/10.3390/cells10040842>
- Han, C. W., Jeong, M. S., & Jang, S. B. (2021c). Understand kras and the quest for anti-cancer drugs. *Cells*, 10(4). <https://doi.org/10.3390/cells10040842>
- Hassanpour, S. H., & Dehghani, M. (2017). Review of cancer from perspective of molecular. *Journal of Cancer Research and Practice*, 4(4), 127–129. <https://doi.org/10.1016/j.jcrpr.2017.07.001>
- Herbst, R. S., Soria, J. C., Kowanetz, M., Fine, G. D., Hamid, O., Gordon, M. S., Sosman, J. A., McDermott, D. F., Powderly, J. D., Gettinger, S. N., Kohrt, H. E., K., Horn, L., Lawrence, D. P., Rost, S., Leabman, M., Xiao, Y., Mokatrini, A., Koeppen, H., Hegde, P. S., ... Hodi, F. S. (2014). Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature*, 515(7528), 563–567. <https://doi.org/10.1038/nature14011>
- Herter-Sprie, G. S., Koyama, S., Korideck, H., Hai, J., Deng, J., Li, Y. Y., Buczkowski, K. A., Grant, A. K., Ullas, S., Rhee, K., Cavanaugh, J. D., Neupane, N. P., Christensen, C. L., Herter, J. M., Makrigiorgos, G. M., Hodi, F. S., Freeman, G. J., Dranoff, G., Hammerman, P. S., ... Wong, K. K. (2016). Synergy of radiotherapy and PD-1 blockade in Kras-mutant lung cancer. *JCI Insight*, 1(9). <https://doi.org/10.1172/jci.insight.87415>
- Hillig, R. C., Sautier, B., Schroeder, J., Moosmayer, D., Hilpmann, A., Stegmann, C. M., Werbeck, N. D., Briem, H., Boemer, U., Weiske, J., Badock, V., Mastouri, J., Petersen, K., Siemeister, G., Kahmann, J. D., Wegener, D., Böhnke, N., Eis, K., Graham, K., ... Bader, B. (2019a). Discovery of potent SOS1 inhibitors that

- block RAS activation via disruption of the RAS–SOS1 interaction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(7), 2551–2560. <https://doi.org/10.1073/pnas.1812963116>
- Hillig, R. C., Sautier, B., Schroeder, J., Moosmayer, D., Hilpmann, A., Stegmann, C. M., Werbeck, N. D., Briem, H., Boemer, U., Weiske, J., Badock, V., Mastouri, J., Petersen, K., Siemeister, G., Kahmann, J. D., Wegener, D., Böhnke, N., Eis, K., Graham, K., ... Bader, B. (2019b). Discovery of potent SOS1 inhibitors that block RAS activation via disruption of the RAS–SOS1 interaction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(7), 2551–2560. <https://doi.org/10.1073/pnas.1812963116>
- Hobbs, G. A., Der, C. J., & Rossman, K. L. (2016a). RAS isoforms and mutations in cancer at a glance. *Journal of Cell Science*, 129(7), 1287–1292. <https://doi.org/10.1242/jcs.182873>
- Hobbs, G. A., Der, C. J., & Rossman, K. L. (2016b). RAS isoforms and mutations in cancer at a glance. *Journal of Cell Science*, 129(7), 1287–1292. <https://doi.org/10.1242/jcs.182873>
- Hofmann, I., Weiss, A., Elain, G., Schwaederle, M., Sterker, D., Romanet, V., Schmelzle, T., Lai, A., Brachmann, S. M., Bentires-Alj, M., Roberts, T. M., Sellers, W. R., Hofmann, F., & Maira, S. M. (2012). K-RAS Mutant Pancreatic Tumors Show Higher Sensitivity to MEK than to PI3K Inhibition In Vivo. *PLoS ONE*, 7(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044146>
- Hong, D. S., Fakih, M. G., Strickler, J. H., Desai, J., Durm, G. A., Shapiro, G. I., Falchook, G. S., Price, T. J., Sacher, A., Denlinger, C. S., Bang, Y.-J., Dy, G. K., Krauss, J. C., Kuboki, Y., Kuo, J. C., Coveler, A. L., Park, K., Kim, T. W., Barlesi, F., ... Li, B. T. (2020). KRAS G12C Inhibition with Sotorasib in Advanced Solid Tumors. *New England Journal of Medicine*, 383(13), 1207–1217. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1917239>
- Hong, T. S., Clark, J. W., & Haigis, K. M. (2012). Cancers of the colon and rectum: Identical or Fraternal Twins? *Cancer Discovery*, 2(2), 117–121. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-11-0315>
- Hu, J., Stites, E. C., Yu, H., Germino, E. A., Meharena, H. S., Stork, P. J. S., Kornev, A. P., Taylor, S. S., & Shaw, A. S. (2013). XAllosteric activation of functionally asymmetric RAF kinase dimers. *Cell*, 154(5). <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.07.046>
- Huang, L., Guo, Z., Wang, F., & Fu, L. (2021a). KRAS mutation: from undruggable to druggable in cancer. In *Signal Transduction and Targeted Therapy* (Vol. 6, Issue 1). Springer Nature. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00780-4>
- Huang, L., Guo, Z., Wang, F., & Fu, L. (2021b). KRAS mutation: from undruggable to druggable in cancer. In *Signal Transduction and Targeted Therapy* (Vol. 6, Issue 1). Springer Nature. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00780-4>

- Huang, L., Guo, Z., Wang, F., & Fu, L. (2021c). KRAS mutation: from undruggable to druggable in cancer. In *Signal Transduction and Targeted Therapy* (Vol. 6, Issue 1). Springer Nature. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00780-4>
- Hunter, J. C., Manandhar, A., Carrasco, M. A., Gurbani, D., Gondi, S., & Westover, K. D. (2015a). Biochemical and structural analysis of common cancer-associated KRAS mutations. *Molecular Cancer Research*, 13(9), 1325–1335. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-15-0203>
- Hunter, J. C., Manandhar, A., Carrasco, M. A., Gurbani, D., Gondi, S., & Westover, K. D. (2015b). Biochemical and structural analysis of common cancer-associated KRAS mutations. *Molecular Cancer Research*, 13(9), 1325–1335. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-15-0203>
- Hunter, J. C., Manandhar, A., Carrasco, M. A., Gurbani, D., Gondi, S., & Westover, K. D. (2015c). Biochemical and structural analysis of common cancer-associated KRAS mutations. *Molecular Cancer Research*, 13(9), 1325–1335. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-15-0203>
- Ignatius Ou, S.-H., J, P. A., Leal, T. A., Rybkin, I. I., Sabari, J. K., Barve, M. A., Bazhenova, L., Johnson, M. L., Velastegui, K. L., Cilliers, C., Christensen, J. G., Yan, X., Chao, R. C., & Papadopoulos, K. P. (2022). *First-in-Human Phase I/IB Dose-Finding Study of Adagrasib (MRTX849) in Patients With Advanced KRAS G12C Solid Tumors (KRYSTAL-1)*. <https://doi.org/10.1200/JCO.21>
- Ihle, N. T., Byers, L. A., Kim, E. S., Saintigny, P., Lee, J. J., Blumenschein, G. R., Tsao, A., Liu, S., Larsen, J. E., Wang, J., Diao, L., Coombes, K. R., Chen, L., Zhang, S., Abdelmelek, M. F., Tang, X., Papadimitrakopoulou, V., Minna, J. D., Lippman, S. M., ... Powis, G. (2012). Effect of KRAS oncogene substitutions on protein behavior: Implications for signaling and clinical outcome. *Journal of the National Cancer Institute*, 104(3), 228–239. <https://doi.org/10.1093/jnci/djr523>
- Ikeda, M., Ishida, O., Hinoi, T., Kishida, S., & Kikuchi, A. (1998). Identification and characterization of a novel protein interacting with Ral-binding protein 1, a putative effector protein of Ral. *Journal of Biological Chemistry*, 273(2), 814–821. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.2.814>
- Imielinski, M., Berger, A. H., Hammerman, P. S., Hernandez, B., Pugh, T. J., Hodis, E., Cho, J., Suh, J., Capelletti, M., Sivachenko, A., Sougnez, C., Auclair, D., Lawrence, M. S., Stojanov, P., Cibulskis, K., Choi, K., De Waal, L., Sharifnia, T., Brooks, A., ... Meyerson, M. (2012). Mapping the hallmarks of lung adenocarcinoma with massively parallel sequencing. *Cell*, 150(6), 1107–1120. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.08.029>
- Imperial, R., Ahmed, Z., Toor, O. M., Erdoğan, C., Khaliq, A., Case, P., Case, J., Kennedy, K., Cummings, L. S., Melton, N., Raza, S., Diri, B., Mohammad, R., El-Rayes, B., Pluard, T., Hussain, A., Subramanian, J., & Masood, A. (2018). Comparative proteogenomic analysis of right-sided colon cancer, left-sided colon

- cancer and rectal cancer reveals distinct mutational profiles. *Molecular Cancer*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12943-018-0923-9>
- Iversen, L., Tu, H. L., Lin, W. C., Christensen, S. M., Abel, S. M., Iwig, J., Wu, H. J., Gureasko, J., Rhodes, C., Petit, R. S., Hansen, S. D., Thill, P., Yu, C. H., Stamou, D., Chakraborty, A. K., Kuriyan, J., & Groves, J. T. (2014). Ras activation by SOS: Allosteric regulation by altered fluctuation dynamics. *Science*, 345(6192), 50–54. <https://doi.org/10.1126/science.1250373>
- Jänne, P. A., Rybkin, I. I., Spira, A. I., Riely, G. J., Papadopoulos, K. P., Sabari, J. K., Johnson, M. L., Heist, R. S., Bazhenova, L., Barve, M., Pacheco, J. M., Leal, T. A., Velastegui, K., Cornelius, C., Olson, P., Christensen, J. G., Kheoh, T., Chao, R. C., & Ou, S. H. I. (2020). KRYSTAL-1: Activity and Safety of Adagrasib (MRTX849) in Advanced/ Metastatic Non–Small-Cell Lung Cancer (NSCLC) Harboring KRAS G12C Mutation. *European Journal of Cancer*, 138, S1–S2. [https://doi.org/10.1016/s0959-8049\(20\)31076-5](https://doi.org/10.1016/s0959-8049(20)31076-5)
- Jean, S., & Kiger, A. A. (2014). Classes of phosphoinositide 3-kinases at a glance. *Journal of Cell Science*, 127(5), 923–928. <https://doi.org/10.1242/jcs.093773>
- Kamerkar, S., Lebleu, V. S., Sugimoto, H., Yang, S., Ruivo, C. F., Melo, S. A., Lee, J. J., & Kalluri, R. (2017). Exosomes facilitate therapeutic targeting of oncogenic KRAS in pancreatic cancer. *Nature*, 546(7659), 498–503. <https://doi.org/10.1038/nature22341>
- Katayama, R., Lovly, C. M., & Shaw, A. T. (2015). Therapeutic targeting of anaplastic lymphoma kinase in lung cancer: A paradigm for precision cancer medicine. *Clinical Cancer Research*, 21(10), 2227–2235. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-2791>
- Kazi, A., Xiang, S., Yang, H., Chen, L., Kennedy, P., Ayaz, M., Fletcher, S., Cummings, C., Lawrence, H. R., Beato, F., Kang, Y., Kim, M. P., Delitto, A., Underwood, P. W., Fleming, J. B., Trevino, J. G., Hamilton, A. D., & Sebt, S. M. (2019). Dual farnesyl and geranylgeranyl transferase inhibitor thwarts mutant KRAS-driven patient-derived pancreatic tumors. *Clinical Cancer Research*, 25(19), 5984–5996. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-3399>
- Kerr, K. M. (2012). Personalized medicine for lung cancer: New challenges for pathology. In *Histopathology* (Vol. 60, Issue 4, pp. 531–546). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2011.03854.x>
- Kim, J. H., Lee, S. Do, Han, J. M., Lee, T. G., Kim, Y., Park, J. B., Lambeth, J. D., Suh, P. G., & Ryu, S. H. (1998). Activation of phospholipase D1 by direct interaction with ADP- ribosylation factor 1 and Ra1A. *FEBS Letters*, 430(3), 231–235. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(98\)00661-9](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(98)00661-9)
- Kim, L. C., Cook, R. S., & Chen, J. (2017). MTORC1 and mTORC2 in cancer and the tumor microenvironment. In *Oncogene* (Vol. 36, Issue 16, pp. 2191–2201). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/onc.2016.363>

- Kim, M. J., Lee, S. J., Ryu, J. H., Kim, S. H., Kwon, I. C., & Roberts, T. M. (2020). Combination of KRAS gene silencing and PI3K inhibition for ovarian cancer treatment. *Journal of Controlled Release*, 318, 98–108. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.12.019>
- Kiyohara, C., Otsu, A., Shirakawa, T., Fukuda, S., & Hopkin, J. M. (n.d.). *Genetic polymorphisms and lung cancer susceptibility: a review*. www.elsevier.com/locate/lungcan
- Kleeff, J., Korc, M., Apte, M., La Vecchia, C., Johnson, C. D., Biankin, A. V., Neale, R. E., Tempero, M., Tuveson, D. A., Hruban, R. H., & Neoptolemos, J. P. (2016). Pancreatic cancer. *Nature Reviews Disease Primers*, 2. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.22>
- Kole, R., Krainer, A. R., & Altman, S. (2012). RNA therapeutics: Beyond RNA interference and antisense oligonucleotides. In *Nature Reviews Drug Discovery* (Vol. 11, Issue 2, pp. 125–140). <https://doi.org/10.1038/nrd3625>
- Kucab, J. E., Zou, X., Morganella, S., Joel, M., Nanda, A. S., Nagy, E., Gomez, C., Degasper, A., Harris, R., Jackson, S. P., Arlt, V. M., Phillips, D. H., & Nik-Zainal, S. (2019). A Compendium of Mutational Signatures of Environmental Agents. *Cell*, 177(4), 821–836.e16. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.03.001>
- Le, D. T., Durham, J. N., Smith, K. N., Wang, H., Bartlett, B. R., Aulakh, L. K., Lu, S., Kemberling, H., Wilt, C., Lubner, B. S., Wong, F., Azad, N. S., Rucki, A. A., Laheru, D., Donehower, R., Zaheer, A., Fisher, G. A., Crocenzi, T. S., Lee, J. J., ... Diaz, L. A. (n.d.). *Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade*. <http://science.sciencemag.org/>
- Lee, A. (2022). Sotorasib: A Review in KRAS G12C Mutation-Positive Non-small Cell Lung Cancer. *Targeted Oncology*, 17(6), 727–733. <https://doi.org/10.1007/s11523-022-00922-w>
- Lee, Y. T., Tan, Y. J., & Oon, C. E. (2018). Molecular targeted therapy: Treating cancer with specificity. In *European Journal of Pharmacology* (Vol. 834, pp. 188–196). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.07.034>
- Leshchiner, E. S., Parkhitko, A., Bird, G. H., Luccarelli, J., Bellairs, J. A., Escudero, S., Opoku-Nsiah, K., Godes, M., Perrimon, N., & Walensky, L. D. (2015). Direct inhibition of oncogenic KRAS by hydrocarbon-stapled SOS1 helices. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(6), 1761–1766. <https://doi.org/10.1073/pnas.1413185112>
- Li, Y., Gu, J., Xu, F., Zhu, Q., Ge, D., & Lu, C. (2018). Transcriptomic and functional network features of lung squamous cell carcinoma through integrative analysis of GEO and TCGA data. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34160-w>
- Liao, Y., & Hung, M.-C. (2010). Physiological regulation of Akt activity and stability. In *Am J Transl Res* (Vol. 2, Issue 1). www.ajtr.org/AJTR910005

- Lim, K. H., Baines, A. T., Fiordalisi, J. J., Shipitsin, M., Feig, L. A., Cox, A. D., Der, C. J., & Counter, C. M. (2005). Activation of RalA is critical for Ras-induced tumorigenesis of human cells. *Cancer Cell*, 7(6), 533–545. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2005.04.030>
- Linardou, H., Kotoula, V., Kouvatseas, G., Mountzios, G., Karavasilis, V., Samantas, E., Kalogera-Fountzila, A., Televantou, D., Papadopoulou, K., Mavropoulou, X., Daskalaki, E., Zaramboukas, T., Efstratiou, I., Lampaki, S., Rallis, G., Res, E., Syrigos, K. N., Kosmidis, P. A., Pectasides, D., & Fountzilas, G. (2019). Genotyping KRAS and EGFR mutations in Greek patients with non-small-cell lung cancer: Incidence, significance and implications for treatment. *Cancer Genomics and Proteomics*, 16(6), 531–541. <https://doi.org/10.21873/cgp.20155>
- Lito, P., Solomon, M., Li, L. S., Hansen, R., & Rosen, N. (2016). Cancer therapeutics: Allele-specific inhibitors inactivate mutant KRAS G12C by a trapping mechanism. *Science*, 351(6273), 604–608. <https://doi.org/10.1126/science.aad6204>
- Liu, C., Lu, H., Wang, H., Loo, A., Zhang, X., Yang, G., Kowal, C., Delach, S., Wang, Y., Goldoni, S., Hastings, W. D., Wong, K., Gao, H., Meyer, M. J., Moody, S. E., LaMarche, M. J., Engelman, J. A., Williams, J. A., Hammerman, P. S., ... Hao, H. X. (2021). Combinations with allosteric SHP2 inhibitor TNO155 to block receptor tyrosine kinase signaling. *Clinical Cancer Research*, 27(1), 342–354. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-2718>
- Luo, J. (2021). KRAS mutation in pancreatic cancer. In *Seminars in Oncology* (Vol. 48, Issue 1, pp. 10–18). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2021.02.003>
- Macerelli, M., Caramella, C., Faivre, L., Besse, B., Planchard, D., Polo, V., Ngo Camus, M., Celebic, A., Koubi-Pick, V., Lacroix, L., Pignon, J. P., & Soria, J. C. (2014). Does KRAS mutational status predict chemoresistance in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC)? *Lung Cancer*, 83(3), 383–388. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2013.12.013>
- Mainardi, S., Mulero-Sánchez, A., Prahallad, A., Germano, G., Bosma, A., Krimpenfort, P., Lieftink, C., Steinberg, J. D., De Wit, N., Gonçalves-Ribeiro, S., Nadal, E., Bardelli, A., Villanueva, A., & Bernards, R. (2018). SHP2 is required for growth of KRAS-mutant non-small-cell lung cancer in vivo letter. *Nature Medicine*, 24(7), 961–967. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0023-9>
- Majmudar, J. D., Hodges-Loaiza, H. B., Hahne, K., Donelson, J. L., Song, J., Shrestha, L., Harrison, M. L., Hrycyna, C. A., & Gibbs, R. A. (2012). Amide-modified prenylcysteine based Icm1 inhibitors: Structure-activity relationships, kinetic analysis and cellular characterization. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 20(1), 283–295. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.10.087>
- Mak, R. H., Hermann, G., Lewis, J. H., Aerts, H. J. W. L., Baldini, E. H., Chen, A. B., Colson, Y. L., Hacker, F. H., Kozono, D., Wee, J. O., Chen, Y. H., Catalano, P.

- J., Wong, K. K., & Sher, D. J. (2015). Outcomes by tumor histology and kras mutation status after lung stereotactic body radiation therapy for early-stage non-small-cell lung cancer. *Clinical Lung Cancer*, 16(1), 24–32. <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2014.09.005>
- Manning, B. D., & Toker, A. (2017). AKT/PKB Signaling: Navigating the Network. In *Cell* (Vol. 169, Issue 3, pp. 381–405). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.04.001>
- Marabese, M., Ganzinelli, M., Garassino, M. C., Shepherd, F. A., Piva, S., Caiola, E., Macerelli, M., Bettini, A., Lauricella, C., Floriani, I., Farina, G., Longo, F., Bonomi, L., Fabbri, M. A., Veronese, S., Marsoni, S., Broggini, M., & Rulli, E. (n.d.). *KRAS mutations affect prognosis of non-small-cell lung cancer patients treated with first-line platinum containing chemotherapy* (Vol. 6, Issue 32). www.impactjournals.com/oncotarget
- Marinelli, D., Mazzotta, M., Scalera, S., Terrenato, I., Sperati, F., D'Ambrosio, L., Pallocca, M., Corleone, G., Krasniqi, E., Pizzuti, L., Barba, M., Carpano, S., Vici, P., Filetti, M., Giusti, R., Vecchione, A., Occhipinti, M., Gelibter, A., Botticelli, A., ... Maugeri-Saccà, M. (2020). KEAP1-driven co-mutations in lung adenocarcinoma unresponsive to immunotherapy despite high tumor mutational burden. *Annals of Oncology*, 31(12), 1746–1754. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.08.2105>
- McLaughlin, S. K., Olsen, S. N., Dake, B., De Raedt, T., Lim, E., Bronson, R. T., Beroukhim, R., Polyak, K., Brown, M., Kuperwasser, C., & Cichowski, K. (2013). The RasGAP Gene, RASAL2, Is a Tumor and Metastasis Suppressor. *Cancer Cell*, 24(3), 365–378. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2013.08.004>
- Mo, S. P., Coulson, J. M., & Prior, I. A. (2018). RAS variant signalling. In *Biochemical Society Transactions* (Vol. 46, Issue 5, pp. 1325–1332). Portland Press Ltd. <https://doi.org/10.1042/BST20180173>
- Mokhtari, R. B., Homayouni, T. S., Baluch, N., Morgatskaya, E., Kumar, S., Das, B., & Yeger, H. (2017). *Combination therapy in combating cancer SYSTEMATIC REVIEW: COMBINATION THERAPY IN COMBATING CANCER BACKGROUND* (Vol. 8, Issue 23). www.impactjournals.com/oncotarget
- Molina-Arcas, M., Moore, C., Rana, S., Van Maldegem, F., Mugarza, E., Romero-Clavijo, P., Herbert, E., Horswell, S., Li, L.-S., Janes, M. R., Hancock, D. C., & Downward, J. (2019). Development of combination therapies to maximize the impact of KRAS-G12C inhibitors in lung cancer. In *Sci. Transl. Med* (Vol. 11). <http://stm.sciencemag.org/>
- Moore, A. R., Rosenberg, S. C., McCormick, F., & Malek, S. (2020). RAS-targeted therapies: is the undruggable drugged? In *Nature Reviews Drug Discovery* (Vol. 19, Issue 8, pp. 533–552). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41573-020-0068-6>

- Moskalenko, S., Tong, C., Rosse, C., Mirey, G., Formstecher, E., Daviet, L., Camonis, J., & White, M. A. (2003). Ral GTPases Regulate Exocyst Assembly through Dual Subunit Interactions. *Journal of Biological Chemistry*, 278(51), 51743–51748. <https://doi.org/10.1074/jbc.M308702200>
- Mott, H. R., & Owen, D. (2015). Structures of Ras superfamily effector complexes: What have we learnt in two decades? In *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* (Vol. 50, Issue 2, pp. 85–133). Informa Healthcare. <https://doi.org/10.3109/10409238.2014.999191>
- Mukhopadhyay, S., Vander Heiden, M. G., & McCormick, F. (2021). The metabolic landscape of RAS-driven cancers from biology to therapy. In *Nature Cancer* (Vol. 2, Issue 3, pp. 271–283). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s43018-021-00184-x>
- Muller, M., Schouten, R. D., De Gooijer, C. J., & Baas, P. (2017). Pembrolizumab for the treatment of non-small cell lung cancer. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 17(5), 399–409. <https://doi.org/10.1080/14737140.2017.1311791>
- Muzumdar, M. D., Chen, P. Y., Dorans, K. J., Chung, K. M., Bhutkar, A., Hong, E., Noll, E. M., Sprick, M. R., Trumpp, A., & Jacks, T. (2017). Survival of pancreatic cancer cells lacking KRAS function. *Nature Communications*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00942-5>
- Negri, F., Bottarelli, L., De' Angelis, G. L., & Gnetti, L. (2022a). KRAS: A Druggable Target in Colon Cancer Patients. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 23, Issue 8). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms23084120>
- Negri, F., Bottarelli, L., De' Angelis, G. L., & Gnetti, L. (2022b). KRAS: A Druggable Target in Colon Cancer Patients. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 23, Issue 8). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms23084120>
- Negri, F., Bottarelli, L., De' Angelis, G. L., & Gnetti, L. (2022c). KRAS: A Druggable Target in Colon Cancer Patients. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 23, Issue 8). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms23084120>
- Negru, S., Papadopolou, E., Apessos, A., Stanculeanu, D. L., Ciuleanu, E., Volovat, C., Croitoru, A., Kakolyris, S., Aravantinos, G., Ziras, N., Athanasiadis, E., Touroutoglou, N., Pavlidis, N., Kalofonos, H. P., & Nasioulas, G. (2014). KRAS, NRAS and BRAF mutations in Greek and Romanian patients with colorectal cancer: A cohort study. *BMJ Open*, 4(5). <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2013-004652>
- Neoptolemos, J. P., Kleeff, J., Michl, P., Costello, E., Greenhalf, W., & Palmer, D. H. (2018). Therapeutic developments in pancreatic cancer: Current and future perspectives. In *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* (Vol. 15,

Issue 6, pp. 333–348). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41575-018-0005-x>

- Nichols, R. J., Haderk, F., Stahlhut, C., Schulze, C. J., Hemmati, G., Wildes, D., Tzitzilonis, C., Mordec, K., Marquez, A., Romero, J., Hsieh, T., Zaman, A., Olivas, V., McCoach, C., Blakely, C. M., Wang, Z., Kiss, G., Koltun, E. S., Gill, A. L., ... Bivona, T. G. (2018). RAS nucleotide cycling underlies the SHP2 phosphatase dependence of mutant BRAF-, NF1- and RAS-driven cancers. *Nature Cell Biology*, 20(9), 1064–1073. <https://doi.org/10.1038/s41556-018-0169-1>
- Nuevo-Tapioles, C., & Philips, M. R. (2022). The role of KRAS splice variants in cancer biology. In *Frontiers in Cell and Developmental Biology* (Vol. 10). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.1033348>
- Ohta, M., Seto, M., Ijichi, H., Miyabayashi, K., Kudo, Y., Mohri, D., Asaoka, Y., Tada, M., Tanaka, Y., Ikenoue, T., Kanai, F., Kawabe, T., & Omata, M. (2009). Decreased Expression of the RAS-GTPase Activating Protein RASAL1 Is Associated With Colorectal Tumor Progression. *Gastroenterology*, 136(1), 206–216. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2008.09.063>
- Ohta, Y., Suzuki, N., Nakamura, S., Hartwig, J. H., & Stossel, T. P. (1999). *Cell Biology This contribution is part of the special series of Inaugural Articles by members of the National Academy of Sciences elected on* (Vol. 96). www.pnas.org.
- Ostrem, J. M. L., & Shokat, K. M. (2016). Direct small-molecule inhibitors of KRAS: From structural insights to mechanism-based design. In *Nature Reviews Drug Discovery* (Vol. 15, Issue 11, pp. 771–785). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.139>
- Ostrem, J. M., Peters, U., Sos, M. L., Wells, J. A., & Shokat, K. M. (2013). K-Ras(G12C) inhibitors allosterically control GTP affinity and effector interactions. *Nature*, 503(7477), 548–551. <https://doi.org/10.1038/nature12796>
- Overman, M. J., McDermott, R., Leach, J. L., Lonardi, S., Lenz, H. J., Morse, M. A., Desai, J., Hill, A., Axelson, M., Moss, R. A., Goldberg, M. V., Cao, Z. A., Ledezine, J. M., Maglinte, G. A., Kopetz, S., & André, T. (2017). Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high colorectal cancer (CheckMate 142): an open-label, multicentre, phase 2 study. *The Lancet Oncology*, 18(9), 1182–1191. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30422-9](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30422-9)
- Pantsar, T. (2020a). The current understanding of KRAS protein structure and dynamics. In *Computational and Structural Biotechnology Journal* (Vol. 18, pp. 189–198). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2019.12.004>
- Pantsar, T. (2020b). The current understanding of KRAS protein structure and dynamics. In *Computational and Structural Biotechnology Journal* (Vol. 18, pp. 189–198). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2019.12.004>

- Papadopoulou, E., Tsoulos, N., Tsirigoti, A., Apessos, A., Agiannitopoulos, K., Metaxa-Mariatou, V., Zarogoulidis, K., Zarogoulidis, P., Kasarakis, D., Kakolyris, S., Dahabreh, J., Vlastos, F., Zoublios, C., Rapti, A., Papageorgiou, N. G., Veldekis, D., Gaga, M., Aravantinos, G., Karavasilis, V., ... Nasioulas, G. (2015). Determination of EGFR and KRAS mutational status in Greek non-small-cell lung cancer patients. *Oncology Letters*, 10(4), 2176–2184. <https://doi.org/10.3892/ol.2015.3600>
- Papke, B., & Der, C. J. (n.d.-a). *Drugging RAS: Know the enemy*. <https://www.science.org>
- Papke, B., & Der, C. J. (n.d.-b). *Drugging RAS: Know the enemy*. <http://science.sciencemag.org/>
- Patgiri, A., Yadav, K. K., Arora, P. S., & Bar-Sagi, D. (2011). An orthosteric inhibitor of the Ras-Sos interaction. *Nature Chemical Biology*, 7(9), 585–587. <https://doi.org/10.1038/nchembio.612>
- Patnaik, A., Kang, S. P., Rasco, D., Papadopoulos, K. P., Ellassaiss-Schaap, J., Beeram, M., Drengler, R., Chen, C., Smith, L., Espino, G., Gergich, K., Delgado, L., Daud, A., Lindia, J. A., Nicole Li, X., Pierce, R. H., Yearley, J. H., Wu, D., Laterza, O., ... Tolcher, A. W. (2015). Phase i study of pembrolizumab (MK-3475; Anti-PD-1 monoclonal antibody) in patients with advanced solid tumors. *Clinical Cancer Research*, 21(19), 4286–4293. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-2607>
- Patricelli, M. P., Janes, M. R., Li, L. S., Hansen, R., Peters, U., Kessler, L. V., Chen, Y., Kucharski, J. M., Feng, J., Ely, T., Chen, J. H., Firdaus, S. J., Babbar, A., Ren, P., & Liu, Y. (2016). Selective inhibition of oncogenic KRAS output with small molecules targeting the inactive state. *Cancer Discovery*, 6(3), 316–329. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-1105>
- Pereira, F., Ferreira, A., Reis, C. A., Sousa, M. J., Oliveira, M. J., & Preto, A. (2022). KRAS as a Modulator of the Inflammatory Tumor Microenvironment: Therapeutic Implications. *Cells*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/cells11030398>
- Popovic, M., Rensen-De Leeuw, M., & Rehmann, H. (2013). Selectivity of CDC25 homology domain-containing guanine nucleotide exchange factors. *Journal of Molecular Biology*, 425(15), 2782–2794. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2013.04.031>
- Prior, I. A., Lewis, P. D., & Mattos, C. (2012). A comprehensive survey of ras mutations in cancer. In *Cancer Research* (Vol. 72, Issue 10, pp. 2457–2467). <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-2612>
- Pylayeva-Gupta, Y., Grabocka, E., & Bar-Sagi, D. (2011). RAS oncogenes: Weaving a tumorigenic web. In *Nature Reviews Cancer* (Vol. 11, Issue 11, pp. 761–774). <https://doi.org/10.1038/nrc3106>

- Rahib, L., Smith, B. D., Aizenberg, R., Rosenzweig, A. B., Fleshman, J. M., & Matrisian, L. M. (2014). Projecting cancer incidence and deaths to 2030: The unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the united states. In *Cancer Research* (Vol. 74, Issue 11, pp. 2913–2921). American Association for Cancer Research Inc. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-0155>
- Rahib, L., Wehner, M. R., Matrisian, L. M., & Nead, K. T. (2021). Estimated Projection of US Cancer Incidence and Death to 2040. *JAMA Network Open*, 4(4). <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.4708>
- Ratner, N., & Miller, S. J. (2015). A RASopathy gene commonly mutated in cancer: The neurofibromatosis type 1 tumour suppressor. In *Nature Reviews Cancer* (Vol. 15, Issue 5, pp. 290–301). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrc3911>
- Ricciuti, B., Leonardi, G. C., Metro, G., Grignani, F., Paglialunga, L., Bellezza, G., Baglivo, S., Mencaroni, C., Baldi, A., Zicari, D., & Crinò, L. (2016). Targeting the KRAS variant for treatment of non-small cell lung cancer: Potential therapeutic applications. In *Expert Review of Respiratory Medicine* (Vol. 10, Issue 1, pp. 53–68). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1586/17476348.2016.1115349>
- Riely, G. J., Johnson, M. L., Medina, C., Rizvi, N. A., Miller, V. A., Kris, M. G., Pietanza, M. C., Azzoli, C. G., Krug, L. M., Pao, W., & Ginsberg, M. S. (2011). A phase II trial of salirasib in patients with lung adenocarcinomas with KRAS mutations. *Journal of Thoracic Oncology*, 6(8), 1435–1437. <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e318223c099>
- Riely, G. J., Kris, M. G., Rosenbaum, D., Marks, J., Li, A., Chitale, D. A., Nafa, K., Riedel, E. R., Hsu, M., Pao, W., Miller, V. A., & Ladanyi, M. (2008). Frequency and distinctive spectrum of KRAS mutations in never smokers with lung adenocarcinoma. *Clinical Cancer Research*, 14(18), 5731–5734. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-0646>
- Riely, G. J., Ou, S.-H. I., Rybkin, I., Spira, A., Papadopoulos, K., Sabari, J. K., Johnson, M., Heist, R. S., Bazhenova, L., Barve, M., Pacheco, J. M., Velastegui, K., Cilliers, C., Olson, P., Christensen, J. G., Kheoh, T., Chao, R. C., & Jänne, P. A. (2021). 99O_PR KRYSTAL-1: Activity and preliminary pharmacodynamic (PD) analysis of adagrasib (MRTX849) in patients (Pts) with advanced non–small cell lung cancer (NSCLC) harboring KRASG12C mutation. *Journal of Thoracic Oncology*, 16(4), S751–S752. [https://doi.org/10.1016/s1556-0864\(21\)01941-9](https://doi.org/10.1016/s1556-0864(21)01941-9)
- Rojas, J. M., Oliva, J. L., & Santos, E. (2011). Mammalian son of sevenless guanine nucleotide exchange factors: Old concepts and new perspectives. In *Genes and Cancer* (Vol. 2, Issue 3, pp. 298–305). SAGE Publications Inc. <https://doi.org/10.1177/1947601911408078>

- Ross, S. J., Revenko, A. S., Hanson, L. L., Ellston, R., Staniszewska, A., Whalley, N., Pandey, S. K., Revill, M., Rooney, C., Buckett, L. K., Klein, S. K., Hudson, K., Monia, B. P., Zinda, M., Blakey, D. C., Lyne, P. D., & Macleod, † A Robert. (2017). *C A N C E R Targeting KRAS-dependent tumors with AZD4785, a high-affinity therapeutic antisense oligonucleotide inhibitor of KRAS*. <http://stm.sciencemag.org/>
- Roy, P. S., & Saikia, B. J. (2016). Cancer and cure: A critical analysis. In *Indian Journal of Cancer* (Vol. 53, Issue 3, pp. 441–442). Medknow Publications. <https://doi.org/10.4103/0019-509X.200658>
- Ruiz, S., Santos, E., & Bustelo, X. R. (2007). RasGRF2, a Guanosine Nucleotide Exchange Factor for Ras GTPases, Participates in T-Cell Signaling Responses. *Molecular and Cellular Biology*, 27(23), 8127–8142. <https://doi.org/10.1128/mcb.00912-07>
- Rushworth, L. K., Hindley, A. D., O'Neill, E., & Kolch, W. (2006). Regulation and Role of Raf-1/B-Raf Heterodimerization. *Molecular and Cellular Biology*, 26(6), 2262–2272. <https://doi.org/10.1128/mcb.26.6.2262-2272.2006>
- Ryan, D. P., Hong, T. S., & Bardeesy, N. (2014). Pancreatic Adenocarcinoma. *New England Journal of Medicine*, 371(11), 1039–1049. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1404198>
- Ryan, M. B., de la Cruz, F. F., Phat, S., Myers, D. T., Wong, E., Shahzade, H. A., Hong, C. B., & Corcoran, R. B. (2020). Vertical pathway inhibition overcomes adaptive feedback resistance to KrasG12C inhibition. *Clinical Cancer Research*, 26(7), 1617–1643. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-3523>
- Samara, M., Kapatou, K., Ioannou, M., Kostopoulou, Papamichali, R., Papandreou, C., Athanasiadis, A., & Koukoulis, G. (2015a). Mutation profile of KRAS and BRAF genes in patients with colorectal cancer: Association with morphological and prognostic criteria. *Genetics and Molecular Research*, 14(4), 16793–16802. <https://doi.org/10.4238/2015.December.14.6>
- Samara, M., Kapatou, K., Ioannou, M., Kostopoulou, Papamichali, R., Papandreou, C., Athanasiadis, A., & Koukoulis, G. (2015b). Mutation profile of KRAS and BRAF genes in patients with colorectal cancer: Association with morphological and prognostic criteria. *Genetics and Molecular Research*, 14(4), 16793–16802. <https://doi.org/10.4238/2015.December.14.6>
- Sclafani, F., Wilson, S. H., Cunningham, D., Gonzalez De Castro, D., Kalaitzaki, E., Begum, R., Wotherspoon, A., Capdevila, J., Glimelius, B., Roselló, S., Thomas, J., Tait, D., Brown, G., Oates, J., & Chau, I. (2020). Analysis of KRAS, NRAS, BRAF, PIK3CA and TP53 mutations in a large prospective series of locally advanced rectal cancer patients. *International Journal of Cancer*, 146(1), 94–102. <https://doi.org/10.1002/ijc.32507>

- Seo, K.-Y., Jelinsky, S. A., & Loechler, E. L. (2000). Factors that influence the mutagenic patterns of DNA adducts from chemical carcinogens. In *Mutation Research* (Vol. 463).
- Sequist, L. V., Yang, J. C. H., Yamamoto, N., O'Byrne, K., Hirsh, V., Mok, T., Geater, S. L., Orlov, S., Tsai, C. M., Boyer, M., Su, W. C., Bennouna, J., Kato, T., Gorbunova, V., Lee, K. H., Shah, R., Massey, D., Zazulina, V., Shahidi, M., & Schuler, M. (2013). Phase III study of afatinib or cisplatin plus pemetrexed in patients with metastatic lung adenocarcinoma with EGFR mutations. *Journal of Clinical Oncology*, 31(27), 3327–3334. <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.44.2806>
- Sharrocks, A. D. (2006). Cell Cycle: Sustained ERK Signalling Represses the Inhibitors. In *Current Biology* (Vol. 16, Issue 14). <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.06.038>
- Shi, R., Radulovich, N., Ng, C., Liu, N., Notsuda, H., Cabanero, M., Martins-Filho, S. N., Raghavan, V., Li, Q., Mer, A. S., Rosen, J. C., Li, M., Wang, Y. H., Tamblyn, L., Pham, N. A., Haibe-Kains, B., Liu, G., Moghal, N., & Tsao, M. S. (2020). Organoid cultures as preclinical models of non-small cell lung cancer. *Clinical Cancer Research*, 26(5), 1162–1174. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-1376>
- Shi, Z.-Q., Yu, D.-H., Park, M., Marshall, M., & Feng, G.-S. (2000). Molecular Mechanism for the Shp-2 Tyrosine Phosphatase Function in Promoting Growth Factor Stimulation of Erk Activity. *Molecular and Cellular Biology*, 20(5), 1526–1536. <https://doi.org/10.1128/mcb.20.5.1526-1536.2000>
- Simanshu, D. K., Nissley, D. V., & McCormick, F. (2017). RAS Proteins and Their Regulators in Human Disease. In *Cell* (Vol. 170, Issue 1, pp. 17–33). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.06.009>
- Skoulidis, F., Byers, L. A., Diao, L., Papadimitrakopoulou, V. A., Tong, P., Izzo, J., Behrens, C., Kadara, H., Parra, E. R., Canales, J. R., Zhang, J., Giri, U., Gudikote, J., Cortez, M. A., Yang, C., Fan, Y., Peyton, M., Girard, L., Coombes, K. R., ... Heymach, J. V. (2015). Co-occurring genomic alterations define major subsets of KRAS-mutant lung adenocarcinoma with distinct biology, immune profiles, and therapeutic vulnerabilities. *Cancer Discovery*, 5(8), 861–878. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-14-1236>
- Smith, M. J., Neel, B. G., & Ikura, M. (2013). NMR-based functional profiling of RASopathies and oncogenic RAS mutations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(12), 4574–4579. <https://doi.org/10.1073/pnas.1218173110>
- Stefanoudakis, D., Frountzas, M., Schizas, D., Michalopoulos, N. V., Drakaki, A., & Toutouzias, K. G. (2024). Significance of TP53, CDKN2A, SMAD4 and KRAS in Pancreatic Cancer. In *Current Issues in Molecular Biology* (Vol. 46, Issue 4,

- pp. 2827–2844). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).
<https://doi.org/10.3390/cimb46040177>
- Sun, J. M., Hwang, D. W., Ahn, J. S., Ahn, M. J., & Park, K. (2013). Prognostic and Predictive Value of KRAS Mutations in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *PLoS ONE*, 8(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064816>
- Taieb, J., Bouche, O., André, T., Barbier, E., Laurent-Puig, P., Bez, J., Toullec, C., Borg, C., Randrian, V., Evesque, L., Corbinais, S., Buecher, B., Perrier, H., Di Fiore, F., Gallois, C., Lepage, C., El Hajbi, F., & Tougeron, D. (2022). LBA23 Avelumab versus standard second-line treatment chemotherapy in metastatic colorectal cancer (mCRC) patients with microsatellite instability (MSI): The SAMCO-PRODIGE 54 randomised phase II trial. *Annals of Oncology*, 33, S1390–S1391. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2022.08.019>
- Tang, D., & Kang, R. (2023). Glimmers of hope for targeting oncogenic KRAS-G12D. In *Cancer Gene Therapy* (Vol. 30, Issue 3, pp. 391–393). Springer Nature. <https://doi.org/10.1038/s41417-022-00561-3>
- Tímár, J. (2014). The clinical relevance of KRAS gene mutation in non-small-cell lung cancer. In *Current Opinion in Oncology* (Vol. 26, Issue 2, pp. 138–144). <https://doi.org/10.1097/CCO.0000000000000051>
- Timar, J., & Kashofer, K. (2020). Molecular epidemiology and diagnostics of KRAS mutations in human cancer. In *Cancer and Metastasis Reviews* (Vol. 39, Issue 4, pp. 1029–1038). Springer. <https://doi.org/10.1007/s10555-020-09915-5>
- Tran, E., Robbins, P. F., Lu, Y.-C., Prickett, T. D., Gartner, J. J., Jia, L., Pasetto, A., Zheng, Z., Ray, S., Groh, E. M., Kriley, I. R., & Rosenberg, S. A. (2016). T-Cell Transfer Therapy Targeting Mutant KRAS in Cancer. *New England Journal of Medicine*, 375(23), 2255–2262. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1609279>
- Tsai, F. D., Lopes, M. S., Zhou, M., Court, H., Ponce, O., Fiordalisi, J. J., Gierut, J. J., Cox, A. D., Haigis, K. M., & Philips, M. R. (2015). K-Ras4A splice variant is widely expressed in cancer and uses a hybrid membrane-targeting motif. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(3), 779–784. <https://doi.org/10.1073/pnas.1412811112>
- Upadhyaya, P., Qian, Z., Selner, N. G., Clippinger, S. R., Wu, Z., Briesewitz, R., & Pei, D. (2015). Inhibition of Ras Signaling by Blocking Ras-Effector Interactions with Cyclic Peptides. *Angewandte Chemie - International Edition*, 54(26), 7602–7606. <https://doi.org/10.1002/anie.201502763>
- Vähäkangas, K. (n.d.). Molecular Epidemiology of Human Cancer Risk Gene-Environment Interactions and p53 Mutation Spectrum in Human Lung Cancer. In *Molecular Pathology Methods and Reviews* (Vol. 43).
- Vanhaesebroeck, B., Guillermet-Guibert, J., Graupera, M., & Bilanges, B. (2010). The emerging mechanisms of isoform-specific PI3K signalling. In *Nature*

Reviews Molecular Cell Biology (Vol. 11, Issue 5, pp. 329–341).
<https://doi.org/10.1038/nrm2882>

- Voice, J. K., Klemke, R. L., Le, A., & Jackson, J. H. (1999). *Four Human Ras Homologs Differ in Their Abilities to Activate Raf-1, Induce Transformation, and Stimulate Cell Motility**. <http://www.jbc.org/>
- Vonderheide, R. H., & Bayne, L. J. (2013). Inflammatory networks and immune surveillance of pancreatic carcinoma. In *Current Opinion in Immunology* (Vol. 25, Issue 2, pp. 200–205). <https://doi.org/10.1016/j.coi.2013.01.006>
- Wang, H., Lv, Q., Xu, Y., Cai, Z., Zheng, J., Cheng, X., Dai, Y., Jänne, P. A., Ambrogio, C., & Köhler, J. (2019). An integrative pharmacogenomics analysis identifies therapeutic targets in KRAS-mutant lung cancer. *EBioMedicine*, 49, 106–117. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.10.012>
- Wang, Q. J., Yu, Z., Griffith, K., Hanada, K.-I., Restifo, N. P., & Yang, J. C. (n.d.). *Identification of T-cell Receptors Targeting KRAS-mutated Human Tumors*.
- Waters, A. M., & Der, C. J. (2018a). KRAS: The critical driver and therapeutic target for pancreatic cancer. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 8(9). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a031435>
- Waters, A. M., & Der, C. J. (2018b). KRAS: The critical driver and therapeutic target for pancreatic cancer. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 8(9). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a031435>
- Wei, D., Wang, L., Zuo, X., Maitra, A., & Bresalier, R. S. (2024). A Small Molecule with Big Impact: MRTX1133 Targets the KRASG12D Mutation in Pancreatic Cancer. In *Clinical Cancer Research* (Vol. 30, Issue 4, pp. 655–662). American Association for Cancer Research Inc. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-23-2098>
- winter-vann2005. (n.d.).
- Wittinghofer, A., & Vetter, I. R. (2011). Structure-function relationships of the G domain, a canonical switch motif. *Annual Review of Biochemistry*, 80, 943–971. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-062708-134043>
- Wolf, I., Rubinfeld, H., Yoon, S., Marmor, G., Hanoch, T., & Seger, R. (2001). Involvement of the Activation Loop of ERK in the Detachment from Cytosolic Anchoring. *Journal of Biological Chemistry*, 276(27), 24490–24497. <https://doi.org/10.1074/jbc.M103352200>
- Wong, G. S., Zhou, J., Liu, J. Bin, Wu, Z., Xu, X., Li, T., Xu, D., Schumacher, S. E., Puschhof, J., McFarland, J., Zou, C., Dulak, A., Henderson, L., Xu, P., O'Day, E., Rendak, R., Liao, W. L., Cecchi, F., Hembrough, T., ... Bass, A. J. (2018). Targeting wild-type KRAS-amplified gastroesophageal cancer through combined MEK and SHP2 inhibition letter. *Nature Medicine*, 24(7), 968–977. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0022-x>

- Xie, M. Z., Li, J. L., Cai, Z. M., Li, K. Z., & Hu, B. L. (2019). Impact of primary colorectal Cancer location on the KRAS status and its prognostic value. *BMC Gastroenterology*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12876-019-0965-5>
- Xue, J. Y., Zhao, Y., Aronowitz, J., Mai, T. T., Vides, A., Qeriqi, B., Kim, D., Li, C., de Stanchina, E., Mazutis, L., Risso, D., & Lito, P. (2020). Rapid non-uniform adaptation to conformation-specific KRAS(G12C) inhibition. *Nature*, 577(7790), 421–425. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1884-x>
- Yamamoto, T., Ebisuya, M., Ashida, F., Okamoto, K., Yonehara, S., & Nishida, E. (2006). Continuous ERK Activation Downregulates Antiproliferative Genes throughout G1 Phase to Allow Cell-Cycle Progression. *Current Biology*, 16(12), 1171–1182. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.04.044>
- Yan, C., & Theodorescu, D. (2018). RAL GTPases: Biology and potential as therapeutic targets in cancer. In *Pharmacological Reviews* (Vol. 70, Issue 1, pp. 1–11). American Society for Pharmacology and Experimental Therapy. <https://doi.org/10.1124/pr.117.014415>
- Yang, G., Murashige, D. S., Humphrey, S. J., & James, D. E. (2015). A Positive Feedback Loop between Akt and mTORC2 via SIN1 Phosphorylation. *Cell Reports*, 12(6), 937–943. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.07.016>
- Young, A., Lou, D., & McCormick, F. (2013). Oncogenic and wild-type ras play divergent roles in the regulation of mitogen-activated protein kinase signaling. *Cancer Discovery*, 3(1), 113–123. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-12-0231>
- Yu, J. S. L., & Cui, W. (n.d.). *Proliferation, survival and metabolism: the role of PI3K/AKT/mTOR signalling in pluripotency and cell fate determination*.
- Zarkavelis, G., Kotoula, V., Kolliou, G. A., Papadopoulou, K., Tikas, I., Karavasilis, V., Samantas, E., Dervenis, C., Efstratiou, I., Nicolaou, I., Apessou, D., Kafiri, G., Koletsa, T., Bompolaki, I., Rallis, G., Batistatou, A., Glantzounis, G., Pectasides, D., Fountzilias, G., & Pentheroudakis, G. (2019). Genetic mapping of pancreatic cancer by targeted next-generation sequencing in a cohort of patients managed with nab-paclitaxel-based chemotherapy or agents targeting the EGFR axis: A retrospective analysis of the Hellenic Cooperative Oncology Group (HeCOG). *ESMO Open*, 4(5). <https://doi.org/10.1136/esmoopen-2019-000525>
- Zhang, B., Zhang, Y., Shacter, E., & Zheng, Y. (2005). Mechanism of the guanine nucleotide exchange reaction of ras GTPase-evidence for a GTP/GDP displacement model. *Biochemistry*, 44(7), 2566–2576. <https://doi.org/10.1021/bi048755w>
- Zhang, S. S., Lee, A., & Nagasaka, M. (2023). CodeBreak 200: Sotorasib Has Not Broken the KRASG12C Enigma Code. In *Lung Cancer: Targets and Therapy* (Vol. 14, pp. 27–30). Dove Medical Press Ltd. <https://doi.org/10.2147/LCTT.S403461>

- Zhang, Y. J. (2010). Interactions of chemical carcinogens and genetic variation in hepatocellular carcinoma. *World Journal of Hepatology*, 2(3), 94–102. <https://doi.org/10.4254/wjh.v2.i3.94>
- Zhang, Z., Gao, R., Hu, Q., Peacock, H., Matthew Peacock, D., Dai, S., Shokat, K. M., & Suga, H. (2020). GTP-state-selective cyclic peptide ligands of K-ras(G12D) block its interaction with Raf. *ACS Central Science*, 6(10), 1753–1761. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.0c00514>
- Zhang, Z., Wang, Y., Vikis, H. G., Johnson, L., Liu, G., Li, J., Anderson, M. W., Sills, R. C., Hong, H. L., Devereux, T. R., Jacks, T., Guan, K. L., & You, M. (2001). Wildtype Kras2 can inhibit lung carcinogenesis in mice. *Nature Genetics*, 29(1), 25–33. <https://doi.org/10.1038/ng721>
- Zimmermann, G., Papke, B., Ismail, S., Vartak, N., Chandra, A., Hoffmann, M., Hahn, S. A., Triola, G., Wittinghofer, A., Bastiaens, P. I. H., & Waldmann, H. (2013). Small molecule inhibition of the KRAS-PDEδ interaction impairs oncogenic KRAS signalling. *Nature*, 497(7451), 638–642. <https://doi.org/10.1038/nature12205>

Διαδικτυακές πηγές

- "Cancer - World Health Organization (WHO)." 03 Φεβ. 2022, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>.
- "Types of Cancer Treatment - NCI - National Cancer Institute." <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types>.
- "The Human Protein Atlas." 07 Αυγ. 2024, <https://www.proteinatlas.org/>.
- "Non-Small Cell Lung Cancer Treatment - NCI - National Cancer Institute." <https://www.cancer.gov/types/lung/patient/non-small-cell-lung-treatment-pdq>.
- "Lung cancer - World Health Organization (WHO)." <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/lung-cancer>.
- "Pancreatic Cancer—Patient Version - NCI." <https://www.cancer.gov/types/pancreatic>.
- "Types of pancreatic cancer - Pancreatic Cancer UK." <https://www.pancreaticcancer.org.uk/information/just-diagnosed-with-pancreatic-cancer/types-of-pancreatic-cancer/>.

"Colorectal Cancer—Patient Version - NCI - National Cancer Institute."
<https://www.cancer.gov/types/colorectal>.

"FDA grants accelerated approval to sotorasib for KRAS G12C mutated NSCLC."
<https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-accelerated-approval-sotorasib-kras-g12c-mutated-nslc>.

"FDA grants accelerated approval to adagrasib for KRAS G12C-mutated NSCLC." 12 Δεκ. 2022, <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-accelerated-approval-adagrasib-kras-g12c-mutated-nslc>.

"FDA grants accelerated approval to adagrasib for colorectal cancer." 21 Ιουν. 2024, <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-accelerated-approval-adagrasib-cetuximab-kras-g12c-mutated-colorectal-cancer>.

"Moderna and Merck Expand mRNA Cancer Vaccines Collaboration." 03 Μάιος. 2018, <https://investors.modernatx.com/news/news-details/2018/Moderna-and-Merck-Expand-mRNA-Cancer-Vaccines-Collaboration/default.aspx>.

"Clinical Trial: NCT03948763 - My Cancer Genome."
https://www.mycancergenome.org/content/clinical_trials/NCT03948763/.

"ClinicalTrials.gov." <https://clinicaltrials.gov/?os=firetv&ref=app>.