

Распространенность и прогностическая значимость мутации V600E в гене *BRAF* при меланоме кожи I стадии

К.С. Титов^{1,2}, М.В. Сорокина¹, Д.Н. Греков^{1,3}, С.С. Лебедев^{1,3}

¹ГБУЗ г. Москвы «Московский многопрофильный научно-клинический центр им. С.П. Боткина Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 125284 Москва, 2-й Боткинский пр-д, 5;

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»; Россия, 117198 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6;

³ФГБУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; Россия, 125993 Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1

Контакты: Маргарита Викторовна Сорокина wwwdelicious@rambler.ru

Введение. Меланома представляет собой одну из наиболее агрессивных опухолей кожи, которая возникает на фоне злокачественной трансформации и пролиферации меланоцитов. Факторами риска развития меланомы кожи являются солнечное излучение и длительность его воздействия, пожилой возраст, индивидуальные характеристики пациента (светлая кожа, большое количество невусов, в том числе атипичных,отягощенный семейный анамнез) и др. Результаты исследований последних лет показывают, что данное заболевание ассоциировано с рядом генетических изменений как врожденного, так и приобретенного характера.

Цель исследования – изучение частоты встречаемости и прогностической значимости мутации V600E в гене *BRAF* при меланоме кожи I стадии.

Материалы и методы. Исследование носило ретроспективный характер и включало 88 пациентов с меланомой кожи I стадии (pT1–2aN0M0). Всем пациентам выполнена биопсия сигнального лимфатического узла, метастазов в нем не было выявлено (pN0). Всем больным проведен молекулярно-генетический анализ опухоли на предмет определения мутации V600E в гене *BRAF* с дальнейшей оценкой влияния на прогрессию ранней меланомы кожи в случаях ее обнаружения.

Результаты. Медиана времени наблюдения за пациентами составила 32,5 (12–214) мес. У 25 (28,4 %) больных общей выборки выявлена мутация V600E в гене *BRAF*. Прогрессия меланомы за время наблюдения возникла у 23,9 % пациентов: у 44 % с мутацией V600E в гене *BRAF* и у 15,9 % без нее ($p = 0,012$). У пациентов с этой мутацией чаще наблюдалось региональное метастазирование с преимущественной локализацией отдаленных метастазов в костях. Показатели выживаемости были значительно выше у больных без мутации в гене *BRAF*: 1-летняя безрецидивная выживаемость пациентов без мутации в этом гене составила 95 %, 3-летняя – 87 %, 5-летняя – 65 %, у пациентов с данной мутацией – 84, 57 и 37 % соответственно. В соответствии с результатами регрессионного анализа Кокса при наличии мутации в гене *BRAF* отмечалось увеличение в 2,973 раза риска прогрессии меланомы кожи I стадии ($p = 0,016$).

Заключение. Мутация V600E в гене *BRAF* встречается у 28,4 % пациентов с меланомой кожи I стадии и является прогностически неблагоприятным фактором прогрессирования заболевания.

Ключевые слова: меланома, *BRAF*, мутация V600E, прогностический фактор, выживаемость

Для цитирования: Титов К.С., Сорокина М.В., Греков Д.Н., Лебедев С.С. Распространенность и прогностическая значимость мутации V600E в гене *BRAF* при меланоме кожи I стадии. Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи 2024;16(3):61–70.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2219-4614-2024-16-3-61-70>

PREVALENCE AND PROGNOSTIC MUTATION V600E IN THE *BRAF* GENE IN STAGE I CUTANEOUS MELANOMA

K.S. Titov^{1,2}, M.V. Sorokina¹, D.N. Grekov^{1,3}, S.S. Lebedev^{1,3}

¹S.P. Botkin Moscow Multidisciplinary Scientific and Clinical Center; 5 2nd Botkinskiy Proezd, Moscow 125284, Russia;

³Russian Peoples' Friendship University; 6 Miklukho-Maklaya St., Moscow 117198, Russia;

³Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Ministry of Health of Russia; Bld. 1, 2/1 Barricadnaya St., Moscow 125993, Russia

Contacts: Margarita Viktorovna Sorokina wwwdelicious@rambler.ru

Introduction. Melanoma is one of the most aggressive skin tumors, which occurs against the background of malignant

transformation and proliferation of melanocytes. Risk factors for the development of cutaneous melanoma are solar radiation and duration of exposure, old age, individual patient characteristics (light skin, a large number of nevi, including atypical ones, family history) and others. Research in recent years shows that this disease is associated with a number of genetic changes, both congenital and acquired.

Aim. To study the frequency of occurrence and prognostic significance of the V600E mutation in the *BRAF* gene in stage I skin melanoma.

Materials and methods. The study was retrospective in nature and included 88 patients with stage I cutaneous melanoma (pT1–2aN0M0). All patients underwent a sentinel lymph node biopsy and no metastases were detected in it (pN0). All patients underwent molecular genetic analysis of the tumor to identify the V600E mutation in the *BRAF* gene with further assessment of the effect on the progression of early skin melanoma in cases of its detection.

Results. The median follow-up time for patients was 32.5 (12–214) months. In 25 (28.4 %) patients of the total sample, the V600E mutation in the *BRAF* gene was detected. Melanoma progression during follow-up occurred in 23.9 % of patients: 44 % with the V600E mutation in the *BRAF* gene and 15.9 % without it ($p = 0.012$). In patients with this mutation, regional metastasis was more often observed, with a predominant localization of distant metastases in the bones. Survival rates were significantly higher in patients without a mutation in the *BRAF* gene: 1-year disease-free survival of patients without a mutation in this gene was 95 %, 3-year – 87 %, 5-year – 65 %, in patients with this mutation – 84, 57 and 37 % respectively. According to the results of Cox regression analysis, in the presence of a mutation in the *BRAF* gene, there was an increase in the risk of progression to stage I cutaneous melanoma by 2.973 times ($p = 0.016$).

Conclusion. The V600E mutation in the *BRAF* gene occurs in 28.4 % of patients with stage I cutaneous melanoma and is an unfavorable prognostic factor for disease progression.

Keywords: melanoma, *BRAF*, V600E mutation, prognostic factor, survival

For citation: Titov K.S., Sorokina M.V., Grekov D.N., Lebedev S.S. Prevalence and prognostic mutation V600E in the *BRAF* gene in stage I cutaneous melanoma. *Sarkomy kostei, miagkikh tkanei i opukholi kozhi* = Bone and Soft Tissue Sarcomas, Tumors of the Skin 2024;16(3):61–70. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/2219-4614-2024-16-3-61-70>

Введение

Меланома представляет собой одну из наиболее агрессивных опухолей кожи, которая возникает на фоне злокачественной трансформации и пролиферации меланоцитов. По данным Всемирной организации здравоохранения наибольшая распространенность меланомы кожи наблюдается в Австралии, Новой Зеландии и странах Скандинавии — Дании, Норвегии, Швеции [1]. В мире данная патология занимает 19-е место в структуре онкологических заболеваний и 23-е место в структуре смертности от них, в России — 14-е и 19-е место соответственно. В абсолютных величинах распространенность меланомы кожи и смертность от нее во всем мире составляет 3,2 и 0,53 случая на 100 тыс. населения соответственно, в нашей стране — 5,3 и 1,5 случая на 100 тыс. населения соответственно [1].

Факторами риска развития меланомы кожи являются солнечное излучение и длительность его воздействия, пожилой возраст, индивидуальные характеристики пациента (светлая кожа, большое количество невусов, в том числе атипичных,отягощенный семейный анамнез) и генетическая нестабильность [2]. Результаты исследований последних лет показывают, что данная патология ассоциирована с рядом генетических изменений как врожденного, так и приобретенного характера. Приобретенные мутации происходят главным образом на различных уровнях каскада митоген-активируемых протеинкиназ, контролирующих транс-

крипцию генов, метаболизм клеток, их пролиферацию и процессы апоптоза [3, 4]. Одним из наиболее изученных генов является *BRAF*, кодирующий одноименную серин/треониновую протеинкиназу B-raf. Распространенность онкогенных мутаций в гене *BRAF* при меланоме кожи в зависимости от популяции может достигать 60 % [5], причем 90 % из них представляют собой замену валина на глутамат в кодоне 600 (V600E) [3], что запускает онкогенез, опухолевую прогрессию и обуславливает в дальнейшем высокий риск прогрессирования заболевания [6]. Показано, что мутантные варианты гена *BRAF* зачастую встречаются у пациентов более молодого возраста, с большим количеством невусов и без анамнеза хронического пребывания на солнце; меланома у лиц молодого возраста отличается более агрессивным поведением и склонностью к метастазированию в головной мозг [7, 8].

Согласно действующим клиническим рекомендациям молекулярно-генетическое исследование гистологического материала удаленной меланомы кожи на наличие мутаций в кодоне 600 гена *BRAF* выполняется только при лечении метастатического процесса, поскольку может повлиять на выбор таргетного препарата из группы ингибиторов протеинкиназы [9]. При локализованной меланоме I–II стадии такое исследование не предусмотрено, а лечение заключается в радикальном иссечении первичной опухоли в пределах здоровых тканей [9].

С учетом различий в ведении пациентов с меланомой кожи большинство имеющих на сегодняшний день исследований направлены на изучение распространенности мутаций в гене *BRAF* при метастатической меланоме, а также оценку влияния мутантных аллелей на эффективность различных химиотерапевтических препаратов и их комбинаций. Встречаются отдельные публикации относительно меланомы II стадии, в то время как изучение наиболее распространенной меланомы кожи I стадии отходит на второй план, а молекулярно-генетическая диагностика начинается только при прогрессии опухоли и метастазировании. Результаты нескольких исследований демонстрируют, что распространенность мутации V600 в гене *BRAF* при меланоме кожи I стадии может превышать 50 % [10]. Однако, согласно данным последних крупных систематических обзоров, этот показатель не рассматривается в качестве прогностического маркера при меланоме ранней стадии в связи с отсутствием исследований, посвященных данному вопросу [11].

В связи с этим **цель** настоящего **исследования** — изучение частоты встречаемости и прогностической значимости мутации V600E в гене *BRAF* при меланоме кожи I стадии.

Материалы и методы

Дизайн исследования и набор пациентов. В исследование включены 88 пациентов с меланомой кожи туловища и конечностей I стадии. Стадия меланомы определялась в соответствии с классификацией Tumor, Nodus and Metastasis 8-го пересмотра. Набор пациентов осуществлялся ретроспективно — на основании анализа данных их медицинских карт из единой медицинской информационно-аналитической системы (ЕМИАС) г. Москвы с 2017 по 2023 г. Дата установления диагноза определялась как время получения гистологического заключения после удаления первичной опухоли. Она использовалась для расчета возраста пациентов на момент установления диагноза, времени наблюдения за ними и времени до возникновения рецидива. Всем пациентам выполнена биопсия сигнального лимфатического узла, метастазов в нем выявлено не было (pN0). Всем больным проведен молекулярно-генетический анализ опухоли на предмет определения мутации V600E в гене *BRAF* и в случаях ее обнаружения в дальнейшем оценивалось влияние данной мутации на прогрессию ранней меланомы кожи.

Учитывали такие характеристики, как возраст, пол пациентов, наличие отягощенного анамнеза и диспластических невусов, локализация первичной опухоли, а также прогностические показатели: наличие рецидива, время от установления диагноза до развития рецидива, характер метастазирования (местный, региональный, отдаленный) и локализация отдаленных метастазов. Ни один больной до рецидива не получал адъювантное лечение.

Методика определения мутации V600E в гене *BRAF*.

Для определения мутации V600E в гене *BRAF* использовали тест на мутации cobas® 4800 *BRAF*V600 Mutation Test (тест cobas *BRAF*) (Roche Diagnostics, США), основанный на:

- ручной пробоподготовке для выделения геномной ДНК из ткани, фиксированной формалином и залитой в парафин;
- амплификации с помощью полимеразной цепной реакции и детекции ДНК-мишени с использованием пар комплементарных праймеров и 2 олигонуклеотидных зондов, меченных различными флуоресцентными красителями. Один зонд предназначен для детекции дикого типа последовательности V600 гена *BRAF*, другой — для детекции мутантной последовательности V600E.

Также дополнительно использовали тест-BRAF-ткань (ООО «ТестГен», Россия). ДНК выделяли с помощью набора «ДНК-Ткань-Ф» (ООО «ТестГен», Россия), а ее количество и чистоту оценивали по отношению к оптическим плотностям (optical density, OD) (A260/280nm) в соответствии с рекомендациями изготовителей применяемых наборов реагентов.

Статистический анализ данных. Статистический анализ проведен с использованием программных обеспечений IBM SPSS Statistics (версия 26) и Jamovi (версия 2.2.5). В ходе оценки нормальности распределения количественных переменных гипотеза о нормальности была отклонена, в результате чего при описании количественных переменных применялись значения медианы и межквартильного интервала (Q_{25} – Q_{75}). Качественные переменные были представлены в виде абсолютных значений (*n*) и относительных величин (%).

Сравнение количественных переменных проводилось с помощью U-критерия Манна–Уитни, качественных переменных — χ^2 -критерия, χ^2 -критерия с поправкой Йейтса и точного критерия Фишера. Для оценки безрецидивной выживаемости (БРВ) пациентов использованы метод Каплана–Майера и регрессионный анализ Кокса. Различия в каждом случае считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

В исследование вошли 88 пациентов (25 % мужчин и 75 % женщин) с меланомой кожи I стадии. Средний возраст больных составил 61,5 года, медиана времени наблюдения за ними — 32,5 (12–214) мес.

Прогрессия меланомы за время наблюдения наблюдалась у 21 (23,9 %) пациента. Медиана времени до прогрессии составила 13 мес.

У 25 (28,4 %) пациентов общей выборки в ходе молекулярно-генетического исследования обнаружена мутация V600E в гене *BRAF*. В табл. 1 представлены клинические факторы и прогноз больных в зависимости от наличия мутации V600E в гене *BRAF*.

Таблица 1. Клинические факторы и прогноз пациентов в зависимости от наличия мутации V600E в гене BRAF**Table 1.** Clinical factors and prognosis in the patients depending on the presence of V600E mutation in the BRAF gene

Показатель Parameter	Общая выборка (n = 88) Total sample (n = 88)	Пациенты с мутацией в гене BRAF (n = 25) Patients with BRAF gene mutation (n = 25)	Пациенты без мутации в гене BRAF (n = 63) Patients without BRAF gene mutation (n = 63)	p
Возраст, медиана (Q ₂₅ –Q ₇₅), лет Age, median (Q ₂₅ –Q ₇₅), years	61,5 (49,0–72,3)	56,0 (48,0–66,0)	66,0 (52,0–73,0)	0,058
Пол, n (%): Sex, n (%): мужской male женский female	22 (25,0) 66 (75,0)	6 (24,0) 19 (76,9)	16 (25,4) 47 (74,6)	0,891**
Отягощенный анамнез, n (%) Aggravated anamnesis, n (%)	36 (9,8)	13 (52,0)	22 (34,9)	0,217**
Диспластические невусы, n (%) Dysplastic nevi, n (%)	21 (23,1)	7 (28,0)	14 (22,2)	0,767**
Локализация первичной опухоли, n (%): Primary tumor location, n (%): верхние конечности upper limbs нижние конечности lower limbs грудная клетка thoracic cage поясничная область lumbar area область живота abdomen ягодичная область glutes	20 (22,7) 29 (33,0) 27 (30,7) 4 (4,5) 7 (8,0) 2 (1,1)	4 (16,0) 6 (24,0) 8 (32,0) 3 (12,0) 4 (16,0) 0	16 (25,5) 23 (36,5) 19 (30,2) 8 (1,6) 3 (4,8) 1 (1,6)	0,505** 0,382** 0,529** 0,068*** 0,097*** 1,000***
Прогрессия опухоли, n (%) Tumor progression, n (%)	21 (23,9)	11 (44,0)	10 (15,9)	0,012**
Время до прогрессии, медиана (Q ₂₅ –Q ₇₅), мес Time to progression, median (Q ₂₅ –Q ₇₅), months	13,0 (11,0–36,0)	13,0 (10,0–31,0)	18,0 (11,0–45,0)	0,647
Метастазирование, n (%): Metastases, n (%): местное local региональное regional отдаленное distant несколько вариантов several types	2 (2,3) 6 (6,8) 6 (6,8) 7 (8,0)	1 (4,0) 6 (24,0) 1 (4,0) 3 (12,0)	1 (1,6) 0 5 (7,9) 4 (6,4)	0,490*** <0,001*** 0,450*** 0,400***
Отдаленные метастазы, n (%): Distant metastases, n (%): 1 локализация 1 location ≥2 локализации ≥2 locations	6 (6,8) 6 (6,8)	2 (8,0) 2 (8,0)	4 (6,4) 4 (6,4)	1,000***

Окончание табл. 1
End of table 1

Показатель Parameter	Общая выборка (n = 88) Total sample (n = 88)	Пациенты с мутацией в гене <i>BRAF</i> (n = 25) Patients with <i>BRAF</i> gene mutation (n = 25)	Пациенты без мутации в гене <i>BRAF</i> (n = 63) Patients without <i>BRAF</i> gene mutation (n = 63)	p
Локализация отдаленных метастазов, n (%): Distant metastasis location, n (%):				
кости bones	5 (5,7)	3 (12,0)	2 (3,2)	0,137***
легкие lungs	9 (10,2)	2 (8,0)	7 (11,1)	1,000***
головной мозг brain	3 (3,4)	0	3 (4,8)	0,556***
печень liver	3 (3,4)	1 (4,0)	2 (3,2)	1,000

* χ^2 -критерий. ** χ^2 -критерий с поправкой Йейтса. ***Точный критерий Фишера.Примечание. Жирным шрифтом выделены наиболее значимые клинические факторы в зависимости от наличия мутации V600E в гене *BRAF*. Q_{25} – 25-й квартиль; Q_{75} – 75-й квартиль.* χ^2 -test. ** χ^2 -test with Yates correction. ***Fisher's exact test.Note. The most significant clinical factors depending on the presence of the V600E mutation in *BRAF* gene are shown in bold. Q_{25} – 25th quartile; Q_{75} – 75th quartile.

В ходе сравнения выявлено, что по возрастному-половому составу, локализации опухоли, наличию диспластических невусов и отягощенному наследственному анамнезу пациенты с мутацией в гене *BRAF* и без нее были сопоставимы. Больные с мутацией оказались моложе, чем больные, у которых она не была обнаружена (медиана возраста 56 и 66 лет соответственно), однако уровень значимости данного фактора оказался пограничным ($p = 0,058$). Аналогичная тенденция отмечалась и для локализации меланомы: при наличии мутации V600E в гене *BRAF* опухоль чаще локализовалась в области живота и поясничной области, чем при ее отсутствии, однако уровень значимости данного показателя для различий также был пограничным (с учетом каждой локализации ($p = 0,068$ и $p = 0,097$ соответственно)).

За время наблюдения прогрессия опухоли немножко чаще отмечалась у пациентов с мутацией V600E в гене *BRAF*, чем у пациентов без нее: в 44 и 15,9 % случаев соответственно ($p = 0,012$).

Во время рецидива у пациентов с мутацией V600E в гене *BRAF* чаще возникало региональное метастазирование. У 3 (12 %) больных отмечалось метастазирование сразу на нескольких уровнях: у 1 – местное и отдаленное, у 2 – региональное и отдаленное. У пациентов без мутации в гене *BRAF* частота различных вариантов метастазирования была значительно ниже. При наличии мутации отдаленные метастазы чаще локализовались в костях, чем в случаях ее отсутствия (12 % случаев против 3,2 % случаев), однако различия оказались статистически незначимыми ($p = 0,137$). У 8 больных с мутацией в гене *BRAF* метастазы отмечались в легких, у 4 % –

в печени, однако различия с больными без мутации также оказались незначимыми.

Локализация отдаленных метастазов при меланоме кожи I стадии в зависимости от *BRAF*-статуса показана на рис. 1.

Безрецидивная выживаемость пациентов с меланомой кожи I стадии при различных сроках наблюдения с мутацией в гене *BRAF* и без нее в зависимости от срока наблюдения представлена в табл. 2 и 3.

Согласно полученным данным 1-летняя БРВ пациентов без мутации в гене *BRAF* составила 95 %, 3-летняя – 87 %, 5-летняя – 65 %, что значительно превышало аналогичные показатели у пациентов с мутацией в этом гене: 84, 57 и 37 % соответственно.

На следующем этапе БРВ больных меланомой кожи I стадии в зависимости от мутации V600 в гене *BRAF* была представлена с помощью кривых Каплана–Майера (рис. 3).

Результаты анализа выживаемости показали, что медиана срока БРВ, соответствующая предполагаемому сроку развития рецидива не менее чем у 50 % пациентов, у больных меланомой I стадии с мутацией в гене *BRAF* и без нее составила 40 и 204 мес соответственно, средний срок возникновения рецидива не менее чем у 50 % пациентов – $48,9 \pm 7,6$ и $144,9 \pm 23,4$ мес соответственно. Зависимость риска развития рецидива от наличия мутации в гене *BRAF* при меланоме кожи I стадии, оцененная с помощью log-rank критерия Манталя–Кокса, была статистически значимой ($p = 0,012$).

При оценке влияния наличия мутации в гене *BRAF* на риск развития рецидива у пациентов с меланомой

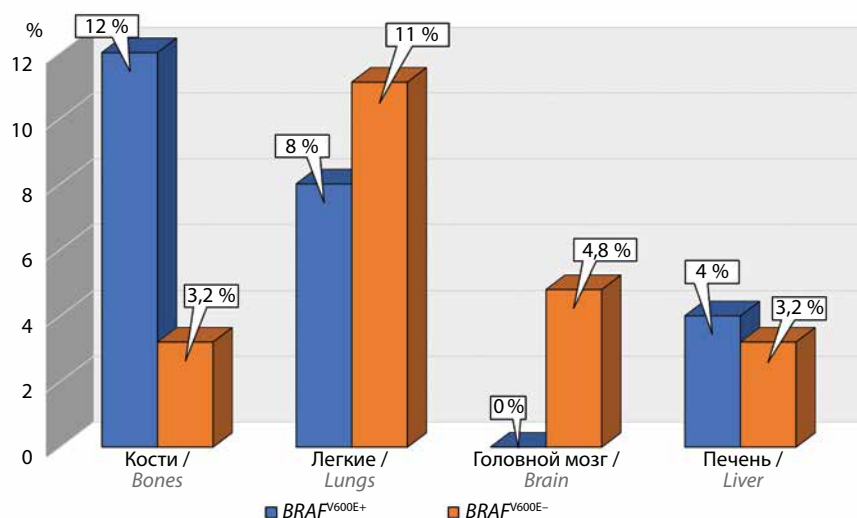


Рис. 1. Локализация отдаленных метастазов при меланоме кожи I стадии в зависимости от BRAF-статуса

Fig. 1. Location of distant metastases of stage 1 cutaneous melanoma depending on BRAF status

Таблица 2. Безрецидивная выживаемость пациентов с меланомой кожи I стадии с мутацией в гене BRAF в зависимости от сроков наблюдения

Table 2. Recurrence-free survival of patients with stage 1 cutaneous melanoma and BRAF gene mutation depending on the follow-up duration

Срок наблюдения, мес Follow-up duration, months	Число пациентов, наблюдаемых онкологом, к концу срока наблюдения, <i>n</i> Number of patients under oncologist's observation at the end of follow-up, <i>n</i>	Риск развития рецидива, <i>n</i> (%) Risk of recurrence, <i>n</i> (%)	Безрецидивная выживаемость, % Recurrence-free survival, %
3	25	0	100
6	24	1 (4)	96
12	21	4 (16)	84
18	16	6 (24)	76
24	14	7 (29)	71
36	8	8 (43)	57
48	5	10 (51)	49
60	2	11 (63)	37

Таблица 3. Безрецидивная выживаемость пациентов с меланомой кожи I стадии без мутации в гене BRAF в зависимости от сроков наблюдения

Table 3. Recurrence-free survival of patients with stage 1 cutaneous melanoma and without BRAF gene mutation depending on the follow-up duration

Срок наблюдения, мес Follow-up duration, months	Число пациентов, наблюдаемых онкологом, к концу срока наблюдения, <i>n</i> Number of patients under oncologist's observation at the end of follow-up, <i>n</i>	Риск развития рецидива, <i>n</i> (%) Risk of recurrence, <i>n</i> (%)	Безрецидивная выживаемость, % Recurrence-free survival, %
3	63	0	100
6	62	1 (2)	98
12	60	3 (5)	95
18	47	5 (8)	92
24	44	5 (8)	92
36	17	7 (13)	87
48	6	9 (35)	65
60	6	9 (35)	65

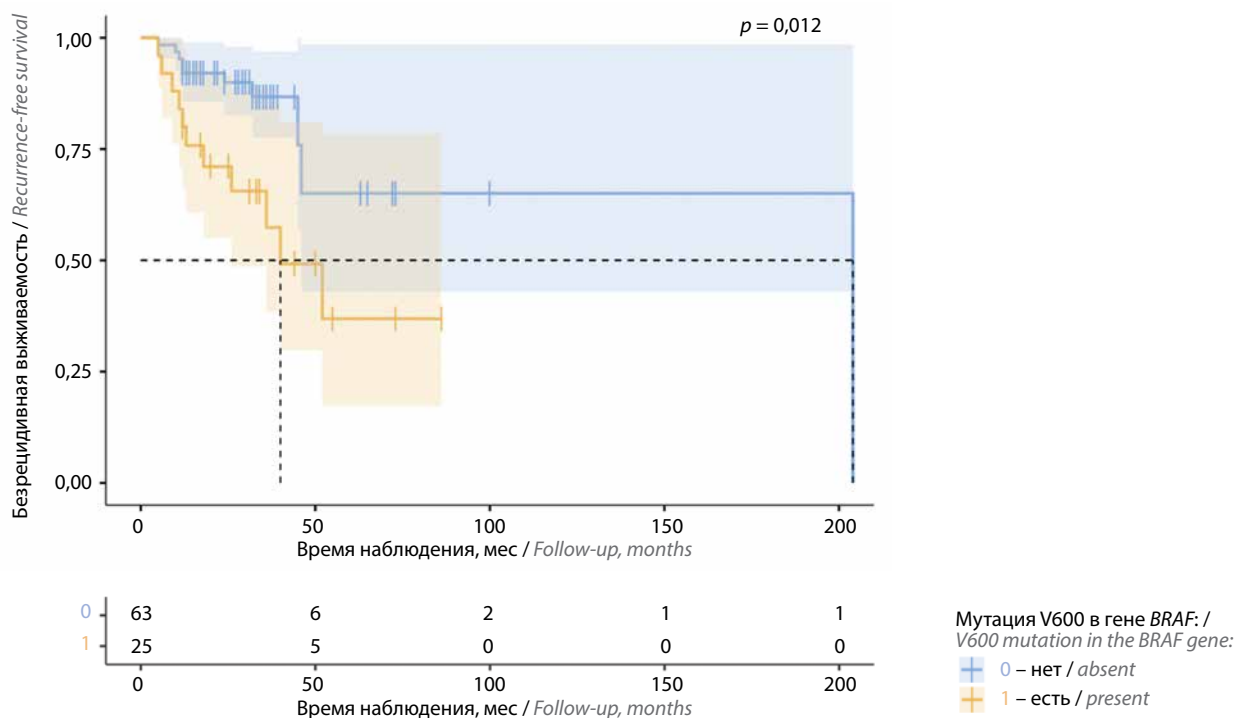


Рис. 2. Безрецидивная выживаемость пациентов с меланомой кожи I стадии в зависимости от мутации V600 в гене BRAF. Кривые Каплана–Майера

Fig. 2. Recurrence-free survival of patients with stage 1 cutaneous melanoma depending on V600 mutation in the BRAF gene. Kaplan–Meier curves

кожи I стадии с помощью метода регрессии Кокса была получена модель, которая показала статистически значимое увеличение риска развития рецидива меланомы кожи I стадии (в 2,973 раза) при наличии мутации в гене *BRAF* ($p = 0,016$). Модель оказалась статистически значимой ($p = 0,012$). Значение $-2LL$ для базовой модели составило 155,7. Этот показатель для модели с учетом мутации в гене *BRAF* оказался значимо ниже ($-2LL = 150,0$; $\chi^2 = 6,333$; $p = 0,012$), т. е. наша модель обладает большей предсказательной способностью по сравнению с базовой.

Обсуждение

При первичной меланоме кожи до 85 % всех опухолей представлены локализованными формами, в 10 % случаев выявляются регионарные метастазы, в 5 % — отдаленные [12]. При этом почти у 1/3 пациентов с локализованными формами наблюдается прогрессирование заболевания с локальным и отдаленным метастазированием [13]. Согласно результатам исследования S.S. Ertekin и соавт., 10-летняя БРВ пациентов с меланомой кожи IA стадии составляет 88–91 %, IB стадии — 79–80 %, медиана времени от установления диагноза до выявления первого метастаза при меланоме кожи I стадии — 3,32 года (межквартильный

интервал 1,72–6,14 года) [13]. При этом потенциальные факторы риска развития рецидива, прогрессии опухоли и метастазирования при меланоме кожи I стадии остаются не до конца изученными.

Одним из важнейших прогностических факторов при распространенных формах меланомы является наличие мутаций в гене *BRAF* [14], однако для меланомы кожи I стадии рутинное молекулярно-генетическое исследование не рекомендовано, оно выполняется только в случае дальнейшего прогрессирования заболевания [9]. Тем не менее при данной патологии очень важна оценка факторов риска рецидивирования, которая может существенно увеличить выживаемость пациентов в эпоху таргетной терапии [15]. В связи с этим мы проанализировали распространенность и прогностическую значимость мутации V600E в гене *BRAF* при меланоме кожи I стадии и впервые показали, что ее наличие в 2,973 раза увеличивает риск прогрессирования после первичного радикального иссечения опухоли. Средний срок возникновения рецидива не менее чем у 50 % пациентов при отсутствии мутации в гене *BRAF* составил $144,9 \pm 23,4$ мес, при ее наличии — $48,9 \pm 7,6$ мес. Согласно полученным нами данным показатели 1-, 3- и 5-летней БРВ больных меланомой кожи I стадии с мутацией V600E в гене *BRAF*

оказались значительно ниже, чем у пациентов без нее: 84, 57 и 37 % и 95, 87 и 65 % соответственно. Аналогичные данные на сегодняшний день отсутствуют, но в некоторых исследованиях оценивается распространенность мутации в гене *BRAF* при заболевании различных стадий.

Распространенность мутации V600 в гене *BRAF* при первичной меланоме кожи с учетом стадии заболевания была изучена О. Dudin и соавт. [16]. Только у 16 (5,4 %) из 299 больных первичной меланомой диагностирована меланома I стадии. У 31,3 % (у 5 из 16) из них выявлен мутантный вариант *BRAF*, в то время как у оставшихся 68,7 % (у 11 из 16) пациентов обнаружен ген без мутации [16]. Согласно данным Н.В. Lee и соавт., мутантный аллель *BRAF* присутствует у 18,8 % (у 3 из 16) больных меланомой кожи I стадии, а у оставшихся 81,2 % больных — ген без мутации [17].

В работе L. Schneider и соавт. для создания классификации, отражающей вероятность наличия мутации в гене *BRAF* на основании клинико-патологических характеристик меланомы, использованы доступные базы данных проекта «Атлас ракового генома» (The Cancer Genome Atlas, TCGA). У 49 из 171 пациента с меланомой кожи диагностировано заболевание I стадии, причем у 53,1 % выявлен мутантный аллель *BRAF* [10], что значительно превосходило частоту распространенности мутации в нашей когорте пациентов, которая составила 28,4 %. L. Schneider и соавт. проанализировали данные Университетской клиники Мангейма (Германия) и выявили, что у 23,1 % (3 из 13) больных меланомой кожи I стадии присутствовала мутация в гене *BRAF* [10], что лучше согласовывается с полученными нами результатами. В ходе изучения распространенности мутации V600E в гене *BRAF* на ирландской популяции обнаружено, что только у 5 (9,6 %) из 52 пациентов с меланомами кожи pT1a и pT1b был мутантный вариант этого гена [18]. При этом такая низкая распространенность, характерная для каждой стадии заболевания, рассматривалась авторами как неблагоприятный популяционный фактор, ассоциированный с невозможностью дальнейшего подбора таргетной терапии [18].

S. Naimy и соавт. проанализировали распространенность и БРВ пациентов в зависимости от наличия мутации V600E в гене *BRAF* преимущественно на когорте пациентов с меланомой кожи I стадии [19]. У 104 (62,6 %) из 166 пациентов с первичной меланомой диагностирована I стадия заболевания, у 24 (14,5 %) — IIa, у 38 (22,9 %) — III. У 51,9 % больных с опухолью I стадии обнаружена мутация V600E в гене *BRAF*. Частота ее встречаемости намного превысила этот показатель в нашем исследовании. Дополнительно авторы выявили, что наличие этой мутации не приводит к повышению уровня экспрессии белка BRAF, а активация сигнального пути в таком случае может быть связана с ростом биохимической активности одноименной протеинкиназы на фоне мутации. В ходе анализа вы-

живаемости пациентов с первичной меланомой обнаружено, что мутация в гене *BRAF* связана с меньшим риском развития рецидива заболевания и лучшими показателями общей выживаемости, однако это не согласуется с данными нашего исследования. Такие результаты могут быть связаны с гетерогенной выборкой, состоящей как из больных меланомой ранних стадий, так и из больных с наличием метастазов в лимфатических узлах, а также с терапией, которая могла улучшить показатели выживаемости пациентов с мутацией V600E в гене *BRAF* [19, 20].

Изучение прогностической значимости мутации в гене *BRAF* при меланоме кожи проводилось рядом исследователей, однако в каждом случае выборка являлась разнородной, что приводило к включению в анализ пациентов с заболеванием различных стадий и не позволяло получить достоверные результаты для каждой группы [21, 22]. Согласно данным J. Rubió-Casadevall и соавт., частота встречаемости мутации в гене *BRAF* при меланоме кожи *in situ* составила 38,9 %, при инвазивной меланоме — 53,8 %. При этом *BRAF*-статус опухоли не оказывал влияния на выживаемость пациентов, независимым предиктором была только стадия опухолевого процесса [23]. Анализ прогностической значимости мутации V600E в гене *BRAF* выполнен также в работе F. Tas и K. Erturk на когорте пациентов с меланомой кожи I–II стадии. Распространенность мутации в данной группе составила 43,6 %. При этом различия в показателях общей и БРВ в зависимости от *BRAF*-статуса выявлено не было [24]. Похожие данные получены и М.А. Wilson и соавт.: у 56,5 % (48 из 96) пациентов с меланомой кожи I стадии, у которых отмечалась прогрессия опухоли, обнаружен мутантный вариант *BRAF*, в то время как у оставшихся 43,5 % — ген без мутации. В ходе изучения влияния мутации в гене *BRAF* на БРВ в общей выборке, состоящей из пациентов с первичной меланомой I–III стадии, также выявлено, что *BRAF*-статус не ассоциируется с прогнозом опухоли [25]. Однако в исследованиях не оценивалась прогностическая значимость наличия мутации при каждой из стадий [23–25].

Такой анализ для меланомы кожи I стадии был впервые проведен в настоящей работе. Согласно полученным нами данным прогрессирование меланомы кожи I стадии наблюдалось у 44 % пациентов с мутацией V600E в гене *BRAF* и у 15,9 % пациентов без нее ($p = 0,012$), причем в исследуемой группе чаще встречалось регионарное метастазирование с преимущественной локализацией отдаленных метастазов в костях. В ходе оценки влияния наличия мутации в гене *BRAF* на риск прогрессирования у пациентов с меланомой кожи I стадии с помощью регрессионной модели Кокса выявлено, что наличие мутации в 2,973 раза увеличивает риск метастазирования ($p = 0,016$). Это отражается и на сроках БРВ в каждой из групп.

Полученные данные указывают на прогностически неблагоприятную роль наличия мутации V600E в гене *BRAF* при меланоме кожи I стадии в отношении дальнейшего прогрессирования заболевания, что свидетельствует о необходимости выполнения дополнительного молекулярно-генетического анализа в данной группе пациентов с целью раннего выявления или предотвращения развития рецидива в эпоху таргетной терапии.

Заключение

Мутация V600E в гене *BRAF* встречается у 28,4 % пациентов с меланомой кожи I стадии и является прогностически неблагоприятным фактором прогрессирования заболевания. Наличие этой мутации ассоциировано с большой вероятностью прогрессии опухоли и метастазирования и, соответственно, с меньшей БРВ больных.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. International Agency for Research on Cancer of the World Health Organization. Cancer today. Available at: <https://gco.iarc.fr/today/home>.
2. Lopes J., Rodrigues C.M.P., Gaspar M.M. et al. Melanoma management: from epidemiology to treatment and latest advances. *Cancers (Basel)* 2022;14(19):4652. DOI: 10.3390/cancers14194652
3. Huang X., Gou W., Song Q. et al. A *BRAF* mutation-associated gene risk model for predicting the prognosis of melanoma. *Heliyon* 2023;9(5):e15939. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e15939
4. Jang H., Ryu H.J., Kim S.K. Genetic Characteristics of primary cutaneous malignant melanoma in Koreans compared with western populations. *In Vivo* 2023;37(2):862–7. DOI: 10.21873/invivo.13154
5. Wang B., Liu F., Li Y. et al. Role of single nucleotide polymorphism-related genes in tumour immune cell infiltration and prognosis of cutaneous melanoma. *BioMed Res Int* 2023;2023:3754094. DOI: 10.1155/2023/3754094
6. Celesia A., Franzò M., Di Liberto D. et al. Oncogenic *BRAF* and p53 interplay in melanoma cells and the effects of the HDAC inhibitor ITF2357 (Givinostat). *Int J Mol Sci* 2023;24(11):9148. DOI: 10.3390/ijms24119148
7. Salman P., de Melo A.C., Rico-Restrepo M. et al. Addressing the unmet needs of patients with *BRAF*-mutated melanoma in Latin America: expert perspective. *Front Oncol* 2023;13:1032300. DOI: 10.3389/fonc.2023.1032300
8. Samlowski W. The effect of non-overlapping somatic mutations in *BRAF*, *NRAS*, *NF1*, or *CKIT* on the incidence and outcome of brain metastases during immune checkpoint inhibitor therapy of metastatic melanoma. *Cancers* 2024;16(3):594. DOI: 10.3390/cancers16030594
9. Меланома кожи и слизистых оболочек. Клинические рекомендации. 2023. Доступно по: https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2023/11/melanoma_kozhi_i_slizistykh_obolochek_2023.pdf. Melanoma of the skin and mucous membranes. Clinical recommendations. 2023. Available at: https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2023/11/melanoma_kozhi_i_slizistykh_obolochek_2023.pdf. (In Russ.).
10. Schneider L., Wies C., Kriehoff-Henning E.I. et al. Multimodal integration of image, epigenetic and clinical data to predict *BRAF* mutation status in melanoma. *Eur J Cancer* 2023;183:131–8. DOI: 10.1016/j.ejca.2023.01.021
11. Maher N.G., Vergara I.A., Long G.V. et al. Prognostic and predictive biomarkers in melanoma. *Pathology* 2024;56(2):259–73. DOI: 10.1016/j.pathol.2023.11.004
12. Siegel R.L., Miller K.D., Wagle N.S. et al. Cancer statistics, 2023. *A Cancer J Clin* 2023;73(1):17–48. DOI: 10.3322/caac.21763
13. Ertekin S.S., Podlipnik S., Riquelme-Mc Loughlin C. et al. Initial stage of cutaneous primary melanoma plays a key role in the pattern and timing of disease recurrence. *Acta Derm Venereol* 2021;101(7):adv00502. DOI: 10.2340/00015555-3832
14. Castellani G., Buccarelli M., Arasi M.B. et al. *BRAF* mutations in melanoma: biological aspects, therapeutic implications, and circulating biomarkers. *Cancers (Basel)* 2023;15(16):4026. DOI: 10.3390/cancers15164026
15. Garbe C., Keim U., Amaral T. et al. Prognosis of patients with primary melanoma stage i and ii according to American Joint Committee on cancer version 8 validated in two independent cohorts: implications for adjuvant treatment. *J Clin Oncol* 2022;40(32):3741–9. DOI: 10.1200/JCO.22.00202
16. Dudin O., Mintser O., Kobylak N. et al. Incidence of *BRAF* mutations in cutaneous melanoma: histopathological and molecular analysis of a Ukrainian population. *Melanoma Management* 2023;10(1):MMT64. DOI: 10.2217/mmt-2023-0005
17. Lee H.W., Song K.H., Hong J.W. et al. Frequency of *BRAF* mutation and clinical relevance for primary melanomas. *Korean J Pathol* 2012;46(3):246–52. DOI: 10.4132/KoreanJPathol.2012.46.3.246
18. Neville G., Marzario B., Shilling D. et al. Low incidence of *BRAF* and *NRAS* mutations in a population with a high incidence of melanoma. *Virchows Arch* 2024;484(3):475–9. DOI: 10.1007/s00428-023-03732-1
19. Naimy S., Bzorek M., Eriksen J.O. et al. *BRAF*V600E expression is homogenous and associated with nonrecurrent disease and better survival in primary melanoma. *Dermatology* 2023;239(3):409–21. DOI: 10.1159/000528159
20. Kim H.J., Kim Y.H. Molecular frontiers in melanoma: pathogenesis, diagnosis, and therapeutic advances. *Int J Mol Sci* 2024;25(5):2984. DOI: 10.3390/ijms25052984
21. Tas F., Erturk K. *BRAF*V600E mutation as a prognostic factor in cutaneous melanoma patients. *Dermatol Ther* 2020;33(2):e13270. DOI: 10.1111/dth.13270
22. Meevassana J., Anothaisatapon K., Subbalekha S. et al. *BRAF*V600E immunohistochemistry predicts prognosis of patients with cutaneous melanoma in Thai population. *Sci Rep* 2024;14(1):7554. DOI: 10.1038/s41598-024-58011-z
23. Rubió-Casadevall J., Carbó-Bagué A., Puigdemont M. et al. Population-based analysis of the prevalence of *BRAF* mutation in patients diagnosed with cutaneous melanoma and its significance as a prognostic factor. *Eur J Dermatol* 2021;31(5):616–22. DOI: 10.1684/ejd.2021.4136
24. Tas F., Erturk K. Clinical and prognostic significance of *BRAF*V600E mutation in non-metastatic cutaneous melanoma patients. *Neoplasma* 2019;66(4):631–6. DOI: 10.4149/neo_2018_181006N740
25. Wilson M.A., Zhong J., Rosenbaum B.E. et al. Impact of initial stage on metastatic melanoma survival. *Melanoma Res* 2019;29(3):281–8. DOI: 10.1097/CMR.0000000000000526

Вклад авторов

К.С. Титов: разработка дизайна исследования;

М.В. Сорокина: получение данных для анализа, анализ полученных данных, написание текста статьи;

Д.Н. Греков, С.С. Лебедев: обзор публикаций по теме статьи.

Authors' contributions

K.S. Titov: development of research design;

M.V. Sorokina: obtaining data for analysis, analyzing the data obtained, article writing;

D.N. Grekov, S.S. Lebedev: review of publications on the topic of the article.

ORCID авторов / ORCID of authors

К.С. Титов / K.S. Titov: <https://orcid.org/0000-0003-4460-9136>

М.В. Сорокина / M.V. Sorokina: <https://orcid.org/0000-0002-4436-8101>

Д.Н. Греков / D.N. Grekov: <https://orcid.org/0000-0001-8391-1210>

С.С. Лебедев / S.S. Lebedev: <https://orcid.org/0000-0001-5366-1281>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Funding. The study was performed without external funding.

Статья поступила: 10.06.2024. **Принята к публикации:** 07.07.2024. **Опубликована онлайн:** 05.09.2024.

Article submitted: 10.06.2024. **Accepted for publication:** 07.07.2024. **Published online:** 05.09.2024.