

## Мутация гена BRAF

Тест на наличие мутации гена BRAF показан больным с метастатической меланомой и распространенным раком легкого для отбора пациентов на терапию низкомолекулярными ингибиторами мутированного белка BRAF

### Сигнальный путь MAPK

В физиологических условиях сигнальный путь MAPK (mitogen-activated protein kinase) связывает внеклеточные сигналы (факторы роста, гормоны и др.) с ядром клеток - это приводит к активации генов, ответственных за клеточную пролиферацию, дифференцировку и апоптоз. Каскад MAPK включает белки RAS, RAF, MEK и ERK; RAS расположен ближе к внутренней поверхности клеточной мембраны, а RAF, MEK и ERK являются цитозольными белками.

Активация данного сигнального пути в норме происходит за счет стимуляции мембранных рецепторов внеклеточными сигналами. В опухолях аномальная активация процессов пролиферации может происходить вследствие мутаций, в частности, в белках KRAS, NRAS и BRAF. Для меланомы кожи наиболее характерны мутации BRAF.



### Частота и виды мутаций в гене BRAF

Частота мутаций в гене BRAF при меланоме кожи, по данным разных исследователей, варьирует от 30—40 до 70%. Наиболее распространенной (69—94% случаев) разновидностью BRAF-мутаций является V600E — замена валина на глутамин в 600-м кодоне. Эта мутация представляется доминирующей, но далеко не единственной разновидностью нарушений BRAF [14, 15]. Второй по частоте является мутация V600K — ее частота может достигать 5-10%. Мутации V600D и V600R встречаются значительно реже.

	598	599	600			601	602	AK в 600		
			1798	1799	1800					
<b>WT</b>	...	GCT	ACA	G	T	G	AAA	TCT	...	<b>V - валин</b>
V600E				G	A	G				<b>E - глут. к-та</b>
V600K				A	A	G				<b>K - лизин</b>
V600R				A	G	G				<b>R - аргинин</b>
V600E2				G	A	A				<b>E - глут. к-та</b>
V600M				A	T	G				<b>M - метионин</b>
V600D				G	A	T				<b>D - аспар. к-та</b>

## Требования к качеству отправляемого материала для определения статуса гена BRAF

- 1) Случаи с неоперабельной или метастатической меланомой (стадии IIIС-IV) и распространенным немелкоклеточным раком лёгкого.
- 2) Образцы опухолевой ткани должны быть зафиксированы в нейтральном забуференном формалине и залиты в парафин.
- 3) Для анализа на наличие мутации необходимо предоставить один парафиновый блок (обязательно!) и соответствующее именно этому блоку диагностическое стекло (желательно!) с окраской гематоксилином-эозином.
- 4) Предпочтителен биологический материал с содержанием опухолевых клеток не менее 50% в срезе.

## Методы определения BRAF мутации

Основными методами проведения молекулярно-генетических исследований являются методы, основанные на проведении полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Наиболее распространенным является секвенирование по методу Сенгера, преимуществом которого является определение всех мутаций в исследуемом экзоне. К недостаткам метода относится возможность получения ложно-негативных результатов в 2-10% случаях из-за примеси нормальных тканей.

Так же используется метод аллель-специфической ПЦР в режиме реального времени, преимуществами которого является простота, допустимость присутствия нормальных тканей, возможность выявить мутацию, даже если в образце присутствует до 1% опухолевых клеток. Недостатками является выявление мутаций, предусмотренных только тест системой.

## Статус мутации гена BRAF и выбор тактики лечения

За последние годы достигнуты значительные успехи в изучении патогенетических основ развития меланомы и сделан огромный шаг к выявлению новых потенциальных молекулярных мишеней. Открытие молекулярной мишени BRAF и понимание ее роли в патогенезе меланомы

легли в основу разработки нового класса препаратов – низкомолекулярных ингибиторов мутированного фермента BRAF. Использование этих препаратов позволяет блокировать патологически активированный сигнальный каскад, который запускается мутацией BRAFV600, и, таким образом, тормозит развитие опухоли. Следует особо отметить, что воздействие данной группы препаратов на опухолевые клетки с нормальной последовательностью BRAF, напротив, может сопровождаться патологической активацией каскада RAS-RAF-MEK-ERK и провоцировать рост меланомы. Этот феномен свидетельствует об исключительной важности достоверной диагностики статуса гена BRAF. **BRAF ингибиторы не должны использоваться в тех случаях, когда статус мутации BRAF не определен или мутация не обнаружена!**

Следует подчеркнуть, что ингибиторы BRAF и MEK зарегистрированы к применению только для терапии метастатической формы меланомы. В настоящее время отсутствуют данные по использованию ингибиторов BRAF и MEK в адьювантном режиме, поэтому они не могут быть рекомендованы пациентам, перенесшим (условно-)радикальное удаление первичной меланомы и метастатических очагов.

В рандомизированных клинических исследованиях ингибиторы BRAF – вемурафениб и дабрафениб - продемонстрировали значительное преимущество по сравнению со стандартной химиотерапией в отношении частоты объективных ответов, продолжительности жизни без прогрессирования и общей продолжительности жизни у пациентов с метастатической меланомой и подтвержденной мутацией гена BRAF, ранее не получавших системного лечения (см. рис. 2). Полученные результаты привели к пересмотру международных клинических рекомендаций, которые включили эти препараты в современные стандарты лечения метастатической меланомы кожи с BRAF мутацией.

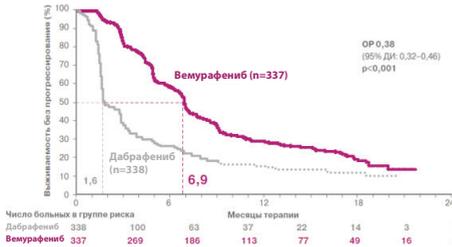
Результаты последних исследований показали, что двойное ингибирование сигнального пути MAPK, которое достигается при одновременном использовании ингибиторов BRAF и MEK, обладает более высокой эффективностью по сравнению с ингибитором BRAF в монорежиме. Важно отметить, что помимо более высокой эффективности комбинация препаратов снижает вероятность развития резистентности к проводимой терапии и отдельных нежелательных явлений, в том числе плоскоклеточного рака кожи. В рамках клинического исследования соBRIM было подтверждено, что комбинированная терапия с использованием препаратов вемурафениб и кобиметиниб в 90% случаев позволяет достичь ответа на терапию у больных BRAF+ метастатической меланомой. У каждого второго пациента более года отсутствовали признаки прогрессирования заболевания, а общая выживаемость приближалась к 2 годам (рис 3).

Сходные результаты были продемонстрированы в исследованиях дабрафениба и траметиниба. В частности, исследование COMBI-V (дабрафениб+траметиниб vs монотерапия вемурафенибом) продемонстрировало значимой увеличение общей продолжительности жизни у пациентов, получавших комбинированную терапию, по сравнению с применением вемурафениба без ингибитора MEK (25.6 мес. vs 18 мес.; рис. 4, табл. 1). В клиническом испытании COMBI-D сравнивалась эффективность комбинации дабрафениб+траметиниб по отношению к монотерапии дабрафенибом в сочетании с плацебо. Примечательно, что в этом исследовании были

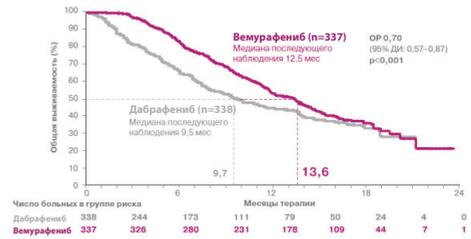
зарегистрированы практически идентичные показатели общей продолжительности жизни (25.1 мес. vs 18.7 мес.; рис. 5, табл. 1).

Определение статуса гена BRAF является обязательным компонентом выработки тактики лечения всех пациентов с неоперабельной/метастатической меланомой кожи.

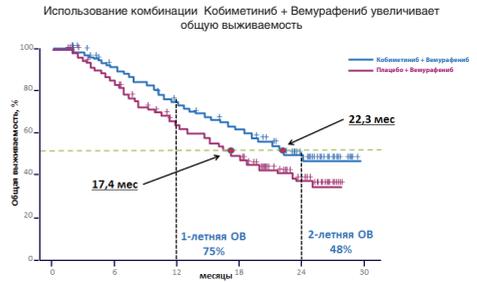
## Выживаемость без прогрессирования (ВБП)



## Общая выживаемость (ОВ)



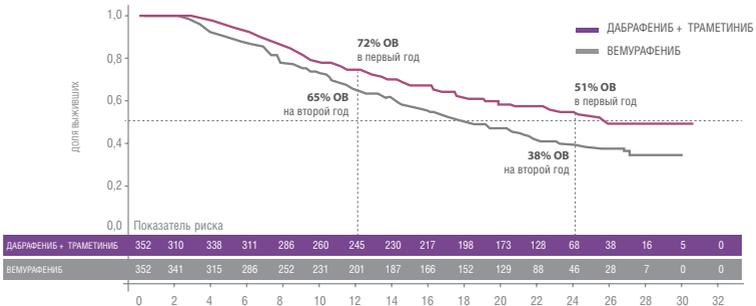
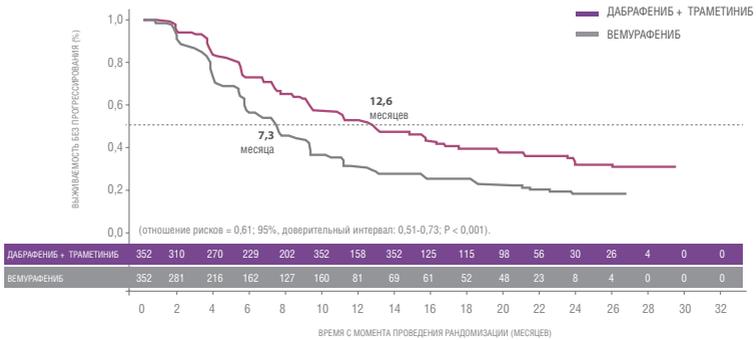
**Рис. 2.** Результаты рандомизированного исследования BRIM-3: сравнение эффективности вемурафениба и дабрафениба в 1-й линии терапии метастатической меланомы с мутацией BRAF



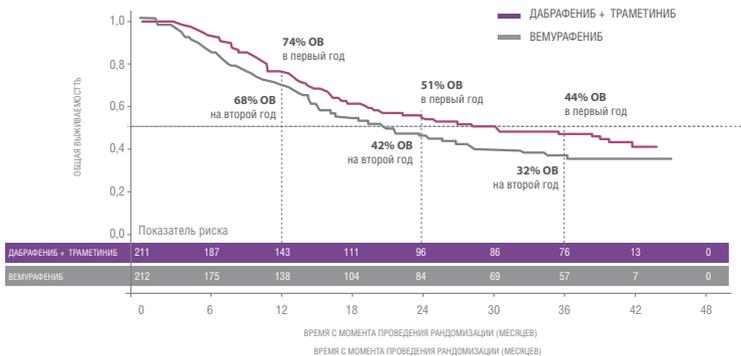
**Рис. 3.** Результаты рандомизированного исследования соBRIM: сравнение эффективности комбинации кобиметиниба+вемурафениба и вемурафениба+плацебо в 1-й линии терапии метастатической меланомы с мутацией BRAF

# Мутации гена BRAF

**Рис. 4.** Результаты клинического исследования COMBI-V: (дабрафениб+траметиниб vs монотерапия вемурафенибом).



**Рис. 5.** Результаты клинического испытания COMBI-D: эффективность комбинации дабрафениб+траметиниб по отношению к монотерапии дабрафенибом в сочетании с плацебо.



Сводные данные по всем исследованиям представлены в таблице 1.

Исследование	COMBI-d		COMBI-v	
	Д + Т	Д + пла	Д + Т	В
Препарат(ы)				
Кол-во пациентов, n	211	212	352	352
Медиана ВБП, мес.	11.0	8.8	12.6	7.3
Медиана ОВ, мес.	25.1	18.7	25.6	18.0
Медиана ОВ, ЛДГ ≤ ВГН	Нет анализа		НД	21.5
Медиана ОВ, ЛДГ > ВГН			10.8	8.9

Сокращения: В – вемурафениб, К – кобиметиниб, Д – дабрафениб, Т- траметиниб, пла – плацебо, НД – не достигнута, ВГН – верхняя граница нормы.

Таким образом, использование BRAF/МЕК ингибиторов у пациентов с мМК, имеющей BRAF мутацию, представляет первый успешный пример персонализированной терапии, изменившей представление о мМК как об опухоли, рефрактерной к лекарственному лечению. Эти препараты пришли на смену химиотерапии и стали новым стандартом лечения меланомы с BRAF мутацией, что подтверждает ранее сформулированный постулат о необходимости разработки различных подходов к лечению для различных молекулярно-генетических подтипов меланомы. Появляются результаты исследований таргетных препаратов и при других типах меланомы, имеющих альтернативные мутации (NRAS, cKIT). Можно ожидать, что определение молекулярно-генетического портрета опухоли уже в ближайшее время станет неотъемлемой частью разработки стратегии лечения каждого пациента, имеющего диагноз «меланома».

На сегодняшний день все существующие BRAF и МЕК ингибиторы зарегистрированы на территории Российской Федерации и, при соответствующем лекарственном обеспечении, с успехом могут быть использованы для терапии мМК. Профиль безопасности, этих препаратов позволяет использовать их в амбулаторных условиях.

## Статьи

1. Г.Ю. Харкевич. Вемурафениб в лечении метастазов меланомы в головной мозг. Онкология. Журнал им.П.А.Герцена, 6, 2014.
2. Г.А. Франк et al, Первое Всероссийское молекулярно-эпидемиологическое исследование меланомы: результаты анализа мутаций в гене BRAF. Архив Патологии, 3, 2014.
3. С.А. Проценко et al, Современные возможности персонализированной терапии метастатической меланомы кожи. Современная онкология №3, том 16, 2014.
4. Larkin J et al. Update of progression-free survival and correlative biomarker analysis from coBRIM: Phase 3 study of cobimetinib plus vemurafenib in advanced-BRAF-mutated melanoma; Poster presentation at ASCO 2015
5. Robert C, et al. Ann Oncol. 2015;26 (suppl 6) [abstract 3301].
6. Flaherty K, et al. J Clin Oncol. 2016;34 (suppl; abstr 9502).

7. Hauschild A, et al. Poster presented at ESMO 2014, Abstract 1092PD
8. Robert, C. LBA4 Oral presentation at ESMO 2015

### **Эффективность BRAF/MEK ингибиторов для лечения взрослых пациентов с распространенным немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) с мутацией гена BRAF V600.**

Пациентам с раком легкого рекомендуется проводить тестирование на биомаркеры, чтобы подобрать подходящую таргетную терапию.

Дабрафениб и траметиниб являются таргетными препаратами, подавляющими активность различных представителей семейства серин-треониновых киназ, а именно BRAF и MEK1/2 в сигнальном пути RAS/RAF/MEK/ERK. Данный сигнальный путь вовлечен в развитие немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) и меланомы, а также в другие виды злокачественных новообразований. Комбинация препаратов дабрафениб и траметиниб сильнее замедляет рост опухоли, чем монотерапия.

Применение комбинации препаратов дабрафениб и траметиниб у пациентов с распространенным НМРЛ с мутацией в гене BRAF V600 основано на безопасности и эффективности дабрафениба в сочетании с траметинибом согласно результатам многоцентрового нерандомизированного открытого исследования II фазы в трех когортах, в котором участвовали пациенты с НМРЛ IV стадии с мутацией BRAF V600 (36 пациентов, ранее не получавшие химиотерапию, и 57 пациентов, ранее получавшие химиотерапию). Согласно оценке частоты объективного ответа (ЧОО), первичной конечной точки исследования, у 36 пациентов, ранее не получавших химиотерапию и принимавших 150 мг дабрафениба 2 раза в сутки и 2 мг траметиниб 1 раз в сутки, ЧОО составила 61,1% (ДИ 95%: 43,5%, 76,9%) (1). У 68% пациентов в данной группе не наблюдалось прогрессирование заболевания спустя 9 месяцев. Медианы длительности ответа (ДО) и выживаемости без прогрессирования (ВБП) в группе пациентов, ранее не получавших химиотерапию, на момент одобрения еще не были достигнуты (1). В группе пациентов, ранее получавших химиотерапию и принимавших данные препараты в той же дозировке, ЧОО составила 66,7% (ДИ 95%: 52,9%, 78,6%)<sup>1</sup>. Ответ характеризовался устойчивостью, медиана ДО составила 9,0 месяца (ДИ 95%: 6,9, 16,0), медиана ВБП – 9,7 месяца (ДИ 95%: 6,9, 19,6) (1).

К наиболее распространенным нежелательным явлениям (частота возникновения более 20%) относились лихорадка, тошнота, рвота, периферический отек, диарея, сухость кожи, потеря аппетита, астения, озноб, кашель, усталость, сыпь и диспноэ (1).

#### **Список литературы:**

1. Planchard D, et al. Lancet Oncol., 2016;17:642-650;
2. Planchard D, et al. Lancet Oncol., 2016;17:984-993.