



ВЗАИМОСВЯЗЬ КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ С BRAF-СТАТУСОМ ОПУХОЛИ У ПАЦИЕНТОВ С МЕЛАНОМОЙ КОЖИ I СТАДИИ

К.С. Титов^{1,2}, М.В. Сорокина¹, С.С. Лебедев^{1,3}, Д.Н. Греков^{1,2}, Е.Ю. Неретин⁴, Т.А. Якушева¹

¹Московский многопрофильный научно-клинический центр им. С.П. Боткина, 2-й Боткинский проезд, д. 5, г. Москва, 125284, Россия

²Российский университет дружбы народов, ул. Миклухо-Маклая, д. 6, г. Москва, 117198, Россия

³Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр.1, г. Москва, 125993, Россия

⁴Самарский областной клинический онкологический диспансер, ул. Солнечная, д. 50, г. Самара, 443029, Россия

Резюме. Цель: изучение взаимосвязи клинико-морфологических параметров меланомы кожи BRAF-статусом опухоли у пациентов с I стадией заболевания. Материалы и методы. Исследование носило ретроспективный характер и включало 200 пациентов с меланомой кожи I стадии (pT1-2aN0M0), из которых BRAF-статус был оценен у 88 пациентов. Всем пациентам был проведен анализ клинических данных, расширенное морфологическое исследование и молекулярно-генетическое исследование на определение в первичной опухоли мутации BRAF V600E. Результаты. Медиана возраста пациентов общей выборки составила 61,5 года. Мутация в гене BRAF V600E была выявлена у 25 пациентов (28,4%). Независимыми предикторами BRAF-статуса меланомы кожи I стадии были признаны возраст пациента, локализация опухоли и толщина по Бреслоу. При увеличении возраста пациента на 1 год шанс наличия мутации BRAF V600E уменьшался на 3,4% или в 1,04 раза (ОШ = 0,966; 95% ДИ = 0,935-0,999; $p = 0,045$). При локализации меланомы в поясничной области шанс наличия мутации BRAF V600E возрастал в 15,311 раза (95% ДИ = 1,239-189,142; $p = 0,033$). При толщине опухоли по Бреслоу более 0,7 мм шанс наличия мутации BRAF V600E возрастал в 2,939 раза (95% ДИ = 1,031-8,376; $p = 0,044$). При пороговом значении логистической функции 50% чувствительность и специфичность предложенной модели составили 28,0% и 93,7% соответственно. При снижении значения пороговой функции до 25,3% чувствительность модели возрастает до 68% с одновременным падением специфичности до 61,9%. Заключение. Более молодой возраст, большая толщина опухоли по Бреслоу и локализация опухоли в поясничной области у пациентов с меланомой кожи I стадии увеличивают шанс наличия мутации BRAF V600E, в то время как остальные морфологические параметры опухоли не ассоциированы с BRAF-статусом. Однако умеренная чувствительность не позволяет достаточно точно определять наличие мутации, укрепляя тем самым убеждение о необходимости выполнения молекулярно-генетического исследования.

Ключевые слова: меланома кожи, ген BRAF V600E, соматические мутации, меланома кожи I стадии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование проводилось без спонсорской поддержки.

Соответствие нормам этики. Авторы подтверждают, что соблюдены права людей, принимавших участие в исследовании, включая получение информированного согласия в тех случаях, когда оно необходимо.

Для цитирования: Титов К.С., Сорокина М.В., Лебедев С.С., Греков Д.Н., Неретин Е.Ю., Якушева Т.А. Взаимосвязь клинико-морфологических параметров с BRAF-статусом опухоли у пациентов с меланомой кожи I стадии. Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»: Реабилитация, Врач и Здоровье. 2024;14(3):74-82. <https://doi.org/10.20340/vmi-rvz.2024.3.CLIN.2>

THE RELATIONSHIP OF CLINICAL AND MORPHOLOGICAL PARAMETERS WITH THE BRAF STATUS OF THE TUMOR IN PATIENTS WITH STAGE I SKIN MELANOMA

Konstantin S. Titov^{1,2}, Margarita V. Sorokina², Sergey S. Lebedev^{1,3}, Dmitriy N. Grekov^{1,2},
Evgeniy Yu. Neretin⁴, Tat'yana A. Yakusheva¹

¹Moscow Multidisciplinary Scientific and Clinical Center named after S.P. Botkin, 5 2nd Botkin passage, Moscow, 125284, Russia

²Peoples' Friendship University of Russia, 6 Miklukho-Maklaya str., Moscow, 117198, Russia

³Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, 2/1 Barricadnaya str., building 1, Moscow, 125993, Russia

⁴Samara Regional Clinical Oncological Dispensary, 50 Solnechnaya str., Samara, 443029, Russia

Abstract. Aim: to study the relationship between clinical and morphological parameters of skin melanoma and the BRAF status of the tumor in patients with stage I of the disease. Materials and methods. The study was retrospective and included 200 patients with stage I skin melanoma (pT1-2aN0M0), of which BRAF status was assessed in 88 patients. All patients underwent clinical data analysis, an extended morphological study and a molecular genetic study to determine the BRAF V600E mutation in the primary tumor. Results. The median age of patients in the total sample was 61.5 years. Mutation in the BRAF V600E gene was detected in 25 patients (28.4%). Patient age, tumor location and Breslow thickness were recognized as independent predictors of BRAF status of stage I skin melanoma. With an increase in the patient's age by 1 year, the chance of having a BRAF V600E mutation decreased by 3.4% or 1.04 times (OR = 0.966; 95% CI = 0.935-0.999; $p = 0.045$). When melanoma was localized in the lumbar region, the chance of having a BRAF V600E mutation increased by 15.311 times (95% CI = 1.239-189.142; $p = 0.033$). With a tumor thickness according to Breslow of more than 0.7 mm, the chance of having a BRAF V600E mutation increased by 2.939 times (95% CI = 1.031-8.376; $p = 0.044$). With a threshold value of the logistic function of 50%, the sensitivity and specificity of the proposed model were 28.0% and 93.7%, respectively. When the threshold function value is reduced to 25.3%, the sensitivity of the model increases to 68% with a simultaneous drop in specificity to 61.9%. Conclusion. Younger age, greater tumor thickness according to Breslow, and tumor localization in the lumbar region in patients with stage I skin melanoma increase the chance of having a BRAF V600E mutation, while other morphological parameters of the tumor are not associated with BRAF status. However, moderate sensitivity does not allow for a sufficiently accurate determination of the presence of a mutation, thereby strengthening the belief in the need for molecular genetic testing.



Key words: skin melanoma, BRAF V600E gene, somatic mutations, stage I skin melanoma.

Competing interests. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study was conducted without sponsorship.

Compliance with ethical principles. The authors confirm that the rights of the people who participated in the study were respected, including obtaining informed consent where necessary.

Cite as: Titov K.S., Sorokina M.V., Lebedev S.S., Grekov D.N., Neretin E.Yu., Yakusheva T.A. The relationship of clinical and morphological parameters with the BRAF status of the tumor in patients with stage I skin melanoma. *Bulletin of the Medical Institute "REAVIZ": Rehabilitation, Doctor and Health*. 2024;14(3):74-82. <https://doi.org/10.20340/vmi-rvz.2024.3.CLIN.2>

Введение

Распространённость меланомы составляет около 2% от случаев онкологических заболеваний, однако доля смертности от меланомы достигает 70,3 % в структуре летальных исходов от злокачественных опухолей кожи [1, 2]. Меланома кожи ассоциирована с рядом эпигенетических изменений, вовлечённых в её онкогенез. Достижения современной молекулярной биологии значительно расширили возможности оценки генетических биомаркеров опухоли, позволив тем самым осуществлять персонализированный подбор терапии [3]. Одним из наиболее распространённых маркеров, оцениваемых при меланоме кожи, является мутация в гене BRAF, кодирующем цитоплазматическую серинтреониновую протеинкиназу, участвующую в активации MAPK-каскада, что, в свою очередь, запускает клеточный рост и пролиферацию. Мутации в гене BRAF встречаются в 60% опухолей [4], однако по некоторым данным распространённость может достигать 90% [5]. В 90% случаев мутации связаны с заменой валина на глутамат (V600E), однако могут встречаться и более редкие варианты – V600K, V600R, V600M [6].

Рутинное определение мутаций в гене BRAF, согласно действующим клиническим рекомендациям, проводится пациентам с меланомой кожи при наличии метастатического процесса или подозрении на него, что может повлиять на дальнейший выбор таргетного препарата [7, 8]. Прогностическая значимость мутации в гене BRAF при ранней меланоме кожи всё ещё находится на стадии активного обсуждения [3]. С одной стороны показано, что мутация BFAR V600E в диспластических невусах являются полностью моноклональными, что свидетельствует об инициации процесса меланоцитарной неоплазии [3, 9]. С другой стороны, в клинических работах указывается на отсутствие различий в отношении безрецидивной выживаемости пациентов с меланомой кожи I-II стадии в зависимости от BRAF-статуса [10, 11]. При этом распространённость мутаций в гене BRAF при меланоме кожи I стадии может превышать 50% [2], а 10-летняя безрецидивная выживаемость достигать 79% при среднем времени от постановки диагноза до возникновения рецидива – 3,32 года [12], наводя на мысль о возможной неблагоприятной прогностической роли генетических характеристик опухоли.

Основным методом определения BRAF-статуса при меланоме кожи является генетическое исследование с секвенированием ДНК опухоли [13]. Тем не менее предлагаются и другие варианты, в частности использование специфических антител VE1 для мутации V600E, что приводит к высокой точности с короткими сроками обработки материала [14]. Новой опцией при оценке BRAF-статуса является изучение циркулирующей опухолевой ДНК в биологических жидкостях [15], однако данный подход в рутинной практике не используется из-за ограниченной чувствительности, особенно у пациентов с низкой опухолевой нагрузкой [16].

В связи с высокой клинической значимостью BRAF-статуса у пациентов с меланомой кожи предпринимаются попытки прогнозирования наличия мутаций на образцах гистопатологического материала. Так, показано, что BRAF-статус меланомы кожи может быть ассоциирован с фенотипическими изменениями клеточных ядер и размером и формой самих опухолевых клеток [17]. Согласно данным ряда исследований, BRAF-статус может быть связан также с возрастом пациентов, полом, локализацией меланомы, стадией заболевания, наличием изъязвлений, толщиной опухоли [18, 19].

Тем самым изучение взаимосвязи клинических и морфологических характеристик опухоли и BRAF-статуса может оказаться полезным при оценке прогнозирования наличия мутации в гене BRAF уже на стадии первичного анализа биоматериала. Это особенно актуально у пациентов с ранней меланомой, когда рутинное молекулярно-генетическое исследование не предусмотрено, а наличие мутации при этом может быть ассоциировано с повышенным риском прогрессии и отдалённого метастазирования. В связи с этим целью настоящего исследования стало изучение взаимосвязи клинико-морфологических параметров меланомы кожи BRAF-статусом опухоли у пациентов с I стадией заболевания.

Материалы и методы

Дизайн исследования и набор пациентов

Исследование носило ретроспективный характер и проводилось с 2017 по 2023 год. На основании данных медицинских карт пациентов из единой медицинской информационно-аналитической системы (ЕМИАС) города Москвы было отобрано 200 чело-

век с морфологически верифицированной первичной меланомой кожи I стадии (pT1-2aN0M0) после комплексного обследования и радикального хирургического лечения. Стадия меланомы определялась в соответствии с классификацией TNM AJCC/UICC 8-го пересмотра. Всем пациентам был проведен анализ клинических данных, расширенное морфологическое исследование. 88 пациентам выполнялось молекулярно-генетическое исследование на определение в первичной опухоли мутации BRAF V600E. В результате данные 88 пациентов были отобраны для финального анализа.

Анализ клинических данных включал оценку возраста пациента на момент постановки диагноза, пол пациента, оценку наследственного анамнеза на предмет наличия у родственников онкологических заболеваний кожи, оценку наличия диспластических невусов и оценку фототипа кожи по Фицпатрику.

В рамках расширенного морфологического исследования гистологических образцов были оценены следующие параметры: гистологический тип опухоли, толщина опухоли по Бреслоу, уровень инвазии опухоли по Кларку, наличие изъязвлений эпидермиса, митотический индекс (количество митозов в поле зрения), край резекции, инфильтрация лимфоцитами, спонтанная регрессия, фаза роста опухоли, лимфоваскулярная инвазия, нейротропизм, связь меланомы с предшествующим невусом. Оценка пролиферативной активности опухоли проводилась при помощи иммуногистохимического исследования по экспрессии Ki-67.

Молекулярно-генетическое исследование на наличие мутации гена BRAF V600E

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

1) на ручной пробоподготовке для выделения геномной ДНК из ткани, фиксированной формалином и залитой в парафин (FFPE);

2) на ПЦР-амплификации и детекции ДНК-мишени с помощью пар комплиментарных праймеров и двух 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 использованием набора «ДНК-Ткань-Ф» (ООО «ТестГен»,

Россия), а её количество и чистоту оценивали по отношению оптических плотностей OD (A260/280nm) в соответствии с рекомендациями изготовителей используемых наборов реагентов.

Статистический анализ данных

Статистический анализ данных был проведен при помощи программного обеспечения IBM SPSS Statistics (версия 26). При оценке распределения характера количественных переменных гипотеза о нормальности была отвергнута в каждом случае, в результате чего количественные переменные были представлены в виде медианы и межквартильного интервала (25–75%), а при сравнении данных параметров в двух группах использовались методы непараметрической статистики (критерий Манна – Уитни). Категориальные переменные были представлены в виде абсолютных значений (n) и частотных характеристик (%). Для бинарной классификации пациентов по наличию или отсутствию мутации BRAF V600E нами были использованы методы регрессионного анализа (однофакторного и многофакторного) с оценкой чувствительности и специфичности предложенных моделей. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$ в каждом случае.

Результаты

В исследование было включено 88 пациентов с меланомой кожи I стадии. Мутация в гене BRAF V600E была выявлена у 25 пациентов (28,4%). Медиана возраста пациентов общей выборки составила 61,5 года. Сравнительная характеристика пациентов в зависимости от наличия мутации представлена в таблице 1.

В ходе сравнения клинико-морфологических параметров пациентов статистически значимых различий между группами обнаружено не было, однако 4 показателя отличались пограничным уровнем значимости. Так, пациенты с мутацией BRAF V600E оказались моложе, чем пациенты без мутации: медиана возраста 56,0 и 66,0 года соответственно ($p = 0,058$). Также при наличии мутации меланома чаще локализовалась в поясничной области или области живота ($p = 0,068$ и $0,097$ соответственно), в то время как при отсутствии мутации меланома чаще встречалась на верхних и нижних конечностях. Подробные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1. Сравнительный анализ клинико-морфологических параметров у пациентов в зависимости от наличия мутации BRAF V600E
Table 1. Comparative analysis of clinical and morphological parameters in patients depending on the presence of the BRAF V600E mutation

Параметр	Всего, Total n = 88	BRAF V600E+ n = 25	BRAF V600E- n = 63	p
Возраст, лет, медиана (25%-75%)	61,5 (49,0-72,3)	56,0 (48,0-66,0)	66,0 (52,0-73,0)	0,058
Пол, м/ж, % (n)	25,0% (22) / 75,0% (66)	24,0% (6) / 76,0% (19)	25,4% (16) / 74,6% (47)	0,891**
Отягощённый анамнез, % (n)	39,8% (35)	52,0% (13)	34,9% (22)	0,217**
Фототип по Фицпатрику: • I, % (n) • II, % (n) • III, % (n) • IV, % (n)	• 3,4% (3) • 67,8% (59) • 27,6% (24) • 1,1% (1)	• 4,2% (1) • 75,0% (18) • 20,8% (5) • 0%	• 3,2% (2) • 65,1% (41) • 30,2% (19) • 1,6% (1)	0,746*
Диспластические невусы, % (n)	23,9% (21)	28,0% (7)	22,2% (14)	0,767**
Локализация меланомы: • Верхние конечности, % (n) • Нижние конечности, % (n) • Грудная клетка, % (n) • Поясничная область, % (n) • Область живота, % (n) • Ягодичная область, % (n)	• 22,7% (20) • 33,0% (29) • 30,7% (27) • 4,5% (4) • 8,0% (7) • 1,1% (1)	• 16,0% (4) • 24,0% (6) • 32,0% (8) • 12,0% (3) • 16,0% (4) • 0%	• 25,5% (16) • 36,5% (23) • 30,2% (19) • 1,6% (1) • 4,8% (3) • 1,6% (1)	0,505** 0,382** 0,529** 0,068*** 0,097*** 1,000***
Связь меланомы с предшествующим невусом, % (n)	20,5% (18)	16,0% (4)	22,2% (14)	0,719**
Гистологический тип опухоли: • Эпителиоидноклеточная, % (n) • Поверхностно-распространяющаяся, % (n) • Узловая, % (n)	• 39,8% (35) • 54,5% (48) • 5,7% (5)	• 48,0% (12) • 48,0% (12) • 4,0% (1)	• 36,5% (23) • 57,1% (36) • 6,4% (4)	0,594*
Толщина опухоли по Бреслоу, мм, медиана (25%-75%)	0,7 (0,5-1,0)	1,0 (0,5-1,0)	0,7 (0,5-0,9)	0,125
Толщина опухоли по Бреслоу • 0,7 мм и менее, % (n) • Более 0,7 мм, % (n)	• 50,0% (44) • 50,0% (44)	• 55,6% (35) • 44,4% (28)	• 36,0% (9) • 64,0% (16)	0,098*
Уровень инвазии опухоли по Кларку: • I, % (n) • II, % (n) • III, % (n) • IV, % (n)	• 3,4% (3) • 44,8% (39) • 49,4% (43) • 2,3% (2)	• 4,0% (1) • 36,0% (9) • 56,0% (14) • 4,0% (1)	• 3,2% (2) • 48,4% (30) • 46,8% (29) • 1,6% (1)	0,708*
Эластоз, % (n)	29,3% (12)	16,0% (4)	25,0% (8)	0,407***
Изъязвление эпидермиса, % (n)	8,0% (7)	4,0% (1)	9,5% (6)	0,668***
Митотический индекс, количество митозов в ПЗ, медиана (25%-75%)	0,0 (0,0-1,0)	0,0 (0,0-1,0)	0,0 (0,0-1,0)	0,963
Ki-67, % (n)	27,8% (10)	8,0% (2)	30,8% (8)	0,420***
Ki-67, %, медиана (25%-75%)	15,0 (8,5-20,0)	15,0 (12,5-17,5)	15,0 (10,0-20,0)	0,133
Край резекции • R0, % (n) • R1, % (n)	• 100,0% (88) • 0%	• 100% (25) • 0%	• 100,0% (63) • 0%	1,000***
Лимфоцитарная инфильтрация, % (n)	70,5% (62)	72,0% (18)	69,8% (44)	0,953**
Спонтанная регрессия, % (n)	34,1% (14)	33,3% (3)	34,4% (11)	1,000***
Фаза роста опухоли • Вертикальная, % (n) • Горизонтальная, % (n)	• 36,4% (32) • 63,6% (56)	• 32,0% (8) • 68,0% (17)	• 38,1% (24) • 61,9% (39)	0,772**
Лимфоваскулярная инвазия, % (n)	6,8% (6)	8,0% (2)	6,4% (4)	1,000***
Нейротропизм, % (n)	1,1% (1)	0%	1,6% (1)	1,000***

Примечание: *Хи-квадрат, **Хи-квадрат с поправкой Йейтса, ***Точный критерий Фишера. * Chi-square, ** Chi-square with Yates correction, ***Fisher's exact test.

В рамках следующего этапа исследования нами был выполнен однофакторный регрессионный анализ для оценки BRAF-статуса опухоли в зависимости от оцениваемых нами клинико-морфологических данных (табл. 2). Оказалось, что ни один из предикторов не взаимосвязан с BRAF-статусом опухоли статистически значимо, однако для трёх параметров – возраста, локализации меланомы в поясничной области и области живота также был характерен пограничный уровень значимости. В результате три данных параметра, а также толщина опухоли по Бреслоу в виде бинарной величины, обладавшая

пограничным значением в ходе сравнительного анализа, были включены в единую многофакторную модель, представленную в таблице 2 (шаг 1). Оказалось, что независимыми предикторами, взаимосвязанными с BRAF-статусом опухолей, являются возраст (ОШ = 0,964; 95% ДИ = 0,932-0,998; $p = 0,037$) и локализация опухоли в поясничной области (ОШ = 16,731; 95% ДИ = 1,350-207,365; $p = 0,028$), в то время как локализация в области живота и толщина опухоли по Бреслоу статистически значимого влияния не оказывали. Однако при дальнейшем пошаговом исключении переменных после удаления параметра

«локализация в области живота» три оставшихся предиктора были признаны факторами, определяющими BRAF-статус меланомы кожи I стадии. Так, при увеличении возраста пациента на 1 год шанс наличия мутации BRAF V600E уменьшался на 3,4% или в 1,04 раза (ОШ = 0,966; 95% ДИ = 0,935-0,999; $p = 0,045$). При локализации меланомы в поясничной области шанс наличия мутации BRAF V600E возрастал в 15,311 раза (95% ДИ = 1,239-189,142; $p = 0,033$). При толщине опухоли по Бреслоу более 7 мм шанс наличия мутации BRAF V600E возрастал в 2,939 раза (95% ДИ = 1,031-8,376; $p = 0,044$). Результаты многофакторного анализа представлены также в таблице 2.

Наблюдаемая зависимости описывалась следующим уравнением:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-z}} \cdot 100\%;$$

$$z = 0,360 - 0,34 \cdot X_1 + 1,078 \cdot X_2 + 2,729 \cdot X_3,$$

где X_1 - возраст, лет; X_2 - толщина опухоли по Бреслоу (0 - 0,7 мм и менее, 1 - более 0,7 мм); X_3 - локализация меланомы в поясничной области

(0 - другая локализация, 1 - локализация в поясничной области).

Полученная модель оказалась статистически значимой ($p = 0,007$). Пороговое значение логистической функции составило 50%. При значениях $p > 50\%$ определялся высокий риск наличия мутации BRAF V600E, в то время как при значениях $p < 50\%$ - низкий риск. Чувствительность и специфичность предложенной модели составили 28,0% и 93,7% соответственно, что не позволяло выявить наличие мутации у пациентов, а только предсказать её отсутствие. В результате для увеличения чувствительности и специфичности нами было подобрано наиболее оптимальное пороговое значение логистической функции, равное 25,3%. То есть при значениях $p > 25,3\%$ определялся высокий риск наличия мутации BRAF V600E, в то время как при значениях $p < 25,3\%$ - низкий риск. Такое пороговое значение позволило добиться повышения чувствительности до 68,0% со специфичностью 61,9%. Тем не менее данные характеристики всё ещё отличались низкой прогностической точностью в оценке BRAF-статуса меланомы кожи I стадии.

Таблица 2. Результаты однофакторного и многофакторного регрессионного анализа для оценки BRAF-статуса меланомы кожи I стадии
Table 2. Results of univariate and multivariate regression analysis to assess the BRAF status of stage I skin melanoma

Параметр	Однофакторная регрессия ОШ (95%ДИ)	p	Многофакторная регрессия (шаг 1) ОШ (95% ДИ)	p	Многофакторная регрессия (шаг 2) ОШ (95% ДИ)	p
Возраст	0,971 (0,940-1,002)	0,070	0,964 (0,932-0,998)	0,037	0,966 (0,935-0,999)	0,045
Пол, м/ж	0,928 (0,315-2,729)	0,891	-	-	-	-
Отягощённый анамнез	2,019 (0,789-5,169)	0,143	-	-	-	-
Фототип по Фицпатрику	0,610 (0,241-1,545)	0,297	-	-	-	-
Диспластические невусы	1,361 (0,473-3,913)	0,567	-	-	-	-
Локализация меланомы						
• Верхние конечности	0,560 (0,167-1,877)	0,347	-	0,028 0,119	-	0,033
• Нижние конечности	0,741 (0,438-1,254)	0,264	-		-	
• Грудная клетка	1,090 (0,402-2,956)	0,866	-		-	
• Поясничная область	8,455 (0,835-85,589)	0,071	16,731 (1,350-207,365)		15,311 (1,239-189,142)	
• Область живота	3,810 (0,787-18,445)	0,097	3,832 (0,707-20,781)		-	
• Ягодичная область	-	1,000	-		-	
Связь меланомы с предшествующим невусом	0,667 (0,196-2,265)	0,516	-	-	-	-
Гистологический тип опухоли	0,658 (0,291-1,491)	0,316	-	-	-	-
Толщина опухоли по Бреслоу	2,144 (0,538-8,545)	0,279	-	-	-	-
Толщина опухоли по Бреслоу						
• 0,7 мм и менее	2,222 (0,854-5,780)	0,102	2,514 (0,859-7,357)	0,092	2,939 (1,031-8,376)	0,044
• более 0,7 мм	-	-	-	-	-	-
Уровень инвазии опухоли по Кларку	1,446 (0,659-3,174)	0,358	-	-	-	-
Эластоз	2,400 (0,515-11,185)	0,265	-	-	-	-
Изъязвление эпидермиса	0,396 (0,045-3,467)	0,403	-	-	-	-
Митотический индекс	1,089 (0,768-1,542)	0,633	-	-	-	-
Ki-67	0,563 (0,097-3,267)	0,521	-	-	-	-
Лимфоцитарная инфильтрация	1,110 (0,398-3,096)	0,841	-	-	-	-
Спонтанная регрессия	0,955 (0,199-4,571)	0,954	-	-	-	-
Фаза роста опухоли	1,308 (0,490-3,492)	0,592	-	-	-	-
Лимфоваскулярная инвазия	1,283 (0,220-7,488)	0,782	-	-	-	-
Нейротропизм	-	1,000	-	-	-	-

Обсуждение

Ранняя меланома кожи имеет относительно высокую частоту прогрессии опухолевого процесса, которая после радикального хирургического лечения составляет 15-25% [20]. Согласно исследованиям Diana Paola Arteaga Ceballos и соавт. (2022), среди пациентов с меланомой кожи IV стадии и положительным статусом BRAF у 12,1% (8 пациентов из 66) исходно была диагностирована меланома кожи I стадии, однако при дальнейшем динамическом наблюдении без адъювантного лечения была отмечена прогрессия [21]. При этом рутинное определение генетических особенностей опухолей I стадии не рекомендовано, несмотря на высокую распространённость мутации в гене BRAF V600E, способную запускать процессы онкогенеза, приводить к неконтролируемой пролиферации клеток и неблагоприятному прогнозу в виде уменьшения общей и опухолевоспецифической выживаемости пациентов [4, 22, 23].

Подавляющее большинство молекулярно-генетических исследований BRAF-статуса опухолей всё ещё сосредоточено на метастатической меланоме кожи. Тем не менее уже сейчас создаются предпосылки для изучения BRAF-статуса и при ранней меланоме кожи с целью выявления потенциально неблагоприятных для I стадии заболеваний мутаций. Рядом специалистов предпринимались попытки оценки BRAF-статуса при помощи разработки алгоритмов машинного обучения, основанных на комбинации клинко-морфологических особенностей опухолей [2, 24, 25]. В общую выборку включались в том числе и пациенты с I стадией меланомы кожи, однако отдельный анализ для прогнозирования наличия мутации в гене BRAF V600E не проводился, а выборка оставалась гетерогенной [25]. Подробное изучение частоты встречаемости мутации BRAF V600E при меланоме кожи I стадии, а также оценка взаимосвязи BRAF-статуса опухоли с клинко-морфологическими особенностями было проведено в настоящем исследовании.

В рамках настоящей работы было показано, что распространённость мутации BRAF V600E при меланоме кожи I стадии составляла 28,4%. При этом для пациентов с мутацией BRAF V600E был характерен более молодой возраст, большая толщина опухоли по Бреслоу и более частая локализация в поясничной области, а данные параметры являются независимыми предикторами BRAF-статуса, в то время как остальные клинко-морфологические характеристики при наличии и отсутствии мутации сопоставимы.

В исследовании Kevin Cheung и соавт. (2022) в рамках изучения генетических характеристик ранней меланомы кожи оценивалась их взаимосвязь с клиническими данными пациентов [26]. Из 135 включенных в анализ пациентов у 74,1% (100 человек) была диагностирована меланома кожи I стадии,

у 11,9% – 0 стадия и у 14% – II стадия. При проведении регрессионного анализа для выявления взаимосвязи между BRAF-статусом опухоли и клиническими данными было показано, что предикторами BRAF-статуса является возраст пациента и локализация меланомы: увеличение возраста было ассоциировано с меньшей вероятностью наличия мутаций в гене BRAF, также как и локализация опухоли на голове, шее и конечностях по сравнению с туловищем [26], что подтверждало полученные нами результаты. При увеличении возраста пациента на 1 год шанс наличия мутации BRAF V600E уменьшался на 3,4% или в 1,04 раза. Локализация меланомы на туловище (поясничная область) в настоящей работе также увеличивала шанс наличия мутации BRAF V600E, что могло быть связано с более интенсивным воздействием ультрафиолетового излучения на данную анатомическую область. Так, согласно данным Shaowei Wu и соавт. (2014), шанс наличия мутации BRAF V600E был значительно выше при более высоких значениях ультрафиолетового индекса, воздействию которого подвергались пациенты в течение жизни [23], а такие участки как грудь, спина, шея, плечи и бедра подвергаются наиболее интенсивному воздействию в течение жизни, что исследователи связывают с большим риском неблагоприятного исхода [27].

В исследовании Tatjana Zablocka и соавт. (2021) основной целью стал анализ взаимосвязи клинко-морфологических характеристик меланомы кожи I-II стадии с BRAF-статусом опухолей. Было показано, что наличие мутации BRAF V600E ассоциировано с уровнем инвазии опухоли по Кларку, толщиной опухоли по Бреслоу, лимфоваскулярной инвазией, женским полом и лимфоцитарной инфильтрацией, в то время как взаимосвязи между митотическим индексом и наличием изъязвлений выявлено не было [28]. В работе Wendy Liu и соавт. (2007) независимым морфологическим предиктором наличия мутации BRAF V600E были признаны более высокий уровень пигментации меланомы ($ОШ = 8,6$; 95% ДИ = 1,6–46,6; $p = 0,013$), а независимыми клиническими предикторами – расположение опухоли на конечностях или туловище, более частое нахождение на солнце, меньшее количество веснушек и наличие солнечного кератоза [29].

F. Tas и K. Erturk (2019) показали, что BRAF-статус меланомы кожи может быть ассоциирован с полом, локализацией опухоли, гистологическим подтипом и спонтанной регрессией, однако при аналогичном анализе для пациентов с I-II стадией заболевания данные параметры оказались статистически незначимыми. Помимо этого, наличие мутации в гене BRAF не было связано с морфологическими особенностями опухоли, такими как толщина опухоли по Бреслоу, уровень инвазии опухоли по Кларку,

лимфоцитарная инфильтрация, митотический индекс, нейротропизм, лимфоваскулярная инвазия [10], что частично соответствовало результатам настоящей работы, где единственным морфологическим предиктором BRAF-статуса опухоли оказалась толщина по Бреслоу. При этом анализ в каждом исследовании проводился для гетерогенных по стадиям заболевания групп пациентов с ранней меланомой кожи [10, 28], в то время как в настоящей работе клинические и морфологические факторы оценивались в рамках однородной группы пациентов с меланомой кожи I стадии.

Похожая работа была выполнена Nancy E Thomas и соавт. (2015) с привлечением данных 912 пациентов с первичной меланомой кожи, из которых у 748 (82,0%) определялась T1a/T1b/T2a стадии [30]. Анализ для общей выборки пациентов, в том числе с более распространёнными формами меланомы, показал, что наличие мутаций в гене BRAF ассоциировано с более молодым возрастом пациентов, большим количеством митозов в поле зрения, а также стадией заболевания. При увеличении стадии отмечался повышенный шанс наличия мутации в гене BRAF [30]. Похожие выводы были сделаны и в 2015 году при проведении мета-анализа, посвящённого взаимосвязи наличия мутаций в гене BRAF и клинко-морфологических характеристик первичной меланомы кожи. Было показано, что шанс наличия мутации в гене BRAF в 1,7 раза выше у пациентов в возрасте младше 50 лет, а также у пациентов с более распространёнными формами меланомы, в то время как толщина опухоли и наличие изъязвлений значимой ассоциации с BRAF-статусом не имели. При этом шанс выявления мутации в гене BRAF при меланоме кожи 0, I и II стадии был в 1,551 раза ниже ($p = 0,003$), чем при меланоме III и IV стадии [31], что, вместе с результатами предыдущей описанной работы, ещё более убеждает в необходимости выполнения раздельного анализа для оценки взаимосвязи BRAF-статуса и клинко-морфологических характе-

ристик опухоли. Такой анализ был выполнен в рамках настоящего исследования. Мы провели комплексное исследование клинко-морфологических параметров пациентов с меланомой кожи I стадии в зависимости от наличия мутации BRAF V600E. При этом оказалось, что независимыми предикторами наличия мутации являются более молодой возраст пациента, большая толщина опухоли по Бреслоу и локализация меланомы в поясничной области, в то время как остальные морфологические характеристики пациентов в зависимости от BRAF-статуса не отличались. При этом чувствительность модели с данными факторами оставалась средней и при изменении порога логистической функции не превышала 68% при средней специфичности, составляющей 61,9%. Тем самым полученные нами данные показывают, что у 68% пациентов при прогнозировании наличия мутации BRAF V600E при меланоме кожи I стадии на основании клинко-морфологических параметров пациентов прогноз окажется верным, однако всё ещё присутствует достаточно высокий процент ошибочной классификации, укрепляя тем самым необходимость выполнения молекулярно-генетического исследования.

Заключение

Более молодой возраст, большая толщина опухоли по Бреслоу и локализация опухоли в поясничной области у пациентов с меланомой кожи I стадии значительно увеличивают шанс наличия мутации BRAF V600E у данной категории лиц, в то время как остальные морфологические параметры опухоли не ассоциированы с BRAF-статусом. При этом полученная модель отличалась умеренной чувствительностью и специфичностью (68% и 61,9% соответственно), не позволяя тем самым достаточно точно определять наличие мутации и укрепляя убеждение о необходимости выполнения молекулярно-генетического исследования.

Литература [References]

- 1 Waseh S., Lee J.B. Advances in melanoma: epidemiology, diagnosis, and prognosis. *Frontiers in Medicine*. 2023;10:1-14.
- 2 Schneider L., Wies C., Krieghoff-Henning E.I., et al. Multimodal integration of image, epigenetic and clinical data to predict BRAF mutation status in melanoma. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*. England. 2023;183:131-138.
- 3 Castellani G., Buccarelli M., Arasi M.B., et al. BRAF Mutations in Melanoma: Biological Aspects, Therapeutic Implications, and Circulating Biomarkers. *Cancers. Switzerland*. 2023;15-16.
- 4 Zhang X., Wang W., Wang Y., et al. Identification of genes and pathways leading to metastasis and poor prognosis in melanoma. *Aging. United States*. 2021;13(18):22474-22489.
- 5 Masri R., Al Housseiny A., Aftimos G., et al. Incidence of BRAF V600E Gene Mutation Among Lebanese Population in Melanoma and Colorectal Cancer: A Retrospective Study Between 2010 and 2019. *Cureus. United States*. 2022;14(9):e29315.
- 6 Zablocka T., Kreismane M., Pjanova D., et al. Effects of BRAF V600E and NRAS mutational status on the progression-free survival and clinicopathological characteristics of patients with melanoma. *Oncology letters. Greece*. 2023;25(1):27.
- 7 Меланома кожи и слизистых оболочек. Клинические рекомендации. 2023. 139 p. (In Russ).
- 8 Wagstaff W., Mwamba R.N., Grullon K., et al. Melanoma: Molecular genetics, metastasis, targeted therapies, immunotherapies, and therapeutic resistance. *Genes & diseases. Netherlands*. 2022;9(6):1608-1623.
- 9 Yeh I., von Deimling A., Bastian B.C. Clonal BRAF mutations in melanocytic nevi and initiating role of BRAF in melanocytic neoplasia. *Journal of the National Cancer Institute. United States*. 2013;105(12):917-919.

- 10 Tas F., Erturk K. Clinical and prognostic significance of BRAF V600E mutation in non-metastatic cutaneous melanoma patients. *Neoplasma. Slovakia*. 2019;66(4):631-636.
- 11 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. *European journal of dermatology: EJD. France*. 2021;31(5):616-622.
- 12 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 dermato-venereologica. Sweden*. 2021;101(7):adv00502.
- 13 Vanni I., Pastorino L., Tanda E.T., et al. Whole-Exome Sequencing and cfDNA Analysis Uncover Genetic Determinants of Melanoma Therapy Response in a Real-World Setting. *International journal of molecular sciences. Switzerland*. 2023;24(5).
- 14 Long-Mira E., Picard-Gauci A., Lassalle S., et al. Comparison of Two Rapid Assays for the Detection of BRAF V600 Mutations in Metastatic Melanoma including Positive Sentinel Lymph Nodes. *Diagnostics (Basel, Switzerland). Switzerland*. 2022;12(3).
- 15 Diefenbach R.J., Lee J.H., Stewart A., et al. Anchored Multiplex PCR Custom Melanoma Next Generation Sequencing Panel for Analysis of Circulating Tumor DNA. *Frontiers in oncology. Switzerland*. 2022;12:820510.
- 16 Csoma S.L., Madarász K., Chang Chien Y.C., et al. Correlation Analyses between Histological Staging and Molecular Alterations in Tumor-Derived and Cell-Free DNA of Early-Stage Primary Cutaneous Melanoma. *Cancers. Switzerland*. 2023;15(21).
- 17 Kim R.H., Nomikou S., Coudray N., et al. Deep Learning and Pathomics Analyses Reveal Cell Nuclei as Important Features for Mutation Prediction of BRAF-Mutated Melanomas. *The Journal of investigative dermatology. United States*. 2022;142(6):1650-1658.e6.
- 18 Eigentler T., Assi Z., Hassel J.C., et al. Which melanoma patient carries a BRAF-mutation? A comparison of predictive models. *Oncotarget. United States*. 2016;7(24):36130-36137.
- 19 Verdelho M., Gonçalves S., Gonçalves L., et al. Predictive Biomarkers in Melanoma: Detection of BRAF Mutation Using Dermoscopy. 2022:176-186.
- 20 Sánchez-Sendra B., González-Muñoz J.F., Pérez-Deben S., et al. The Prognostic Value of miR-125b, miR-200c and miR-205 in Primary Cutaneous Malignant Melanoma Is Independent of BRAF Mutational Status. *Cancers. Switzerland*. 2022;14(6).
- 21 Arteaga Ceballos D.P., Saeed-Kamil Z., King I., et al. Turnaround Times in Melanoma BRAF Testing and the Impact on the Initiation of Systemic Therapy at a Single Tertiary Care Cancer Center. *JCO oncology practice. United States*. 2022;18(5):e642-e647.
- 22 Meevassana J., Anothaisatapon K., Subbalekha S., et al. BRAF V600E Immunohistochemistry Predicts Prognosis of Patients with Cutaneous Melanoma in Thai population. *Plastic and reconstructive surgery. Global open. United States*. 2022;10(10): e4605.
- 23 Wu S., Kuo H., Li W.-Q., et al. Association between BRAFV600E and NRASQ61R mutations and clinicopathologic characteristics, risk factors and clinical outcome of primary invasive cutaneous melanoma. *Cancer causes & control : CCC. Netherlands*. 2014;25(10):1379-1386.
- 24 Figueroa-Silva O., Pastur Romay L.A., Viruez Roca R.D., et al. Machine Learning Techniques in Predicting BRAF Mutation Status in Cutaneous Melanoma From Clinical and Histopathologic Features. *Applied immunohistochemistry & molecular morphology : AIMM. United States*. 2022;30(10):674-680.
- 25 Liu Z., Xu H., Weng S., et al. Machine learning algorithm-generated and multi-center validated melanoma prognostic signature with inspiration for treatment management. *Cancer immunology, immunotherapy : CII. Germany*. 2023;72(3):599-615.
- 26 Cheung K., Bossler A.D., Mott S.L., et al. The Genetics of Early-Stage Melanoma in a Veteran Population. *Frontiers in oncology. Switzerland*. 2022;12:887768.
- 27 Gordon D., Hansson J., Eloranta S., et al. Primary tumor sites in relation to ultraviolet radiation exposure and skin visibility correlate with survival in cutaneous melanoma. *International journal of cancer. United States*. 2017;141(7):1345-1354.
- 28 Zablocka T., Nikolajeva A., Kreismane M., et al. Addressing the importance of melanoma tumor-infiltrating lymphocytes in disease progression and clinicopathological characteristics. *Molecular and clinical oncology. England*. 2021;15(6):255.
- 29 Liu W., Kelly J.W., Trivett M., et al. Distinct clinical and pathological features are associated with the BRAF(T1799A(V600E)) mutation in primary melanoma. *The Journal of investigative dermatology. United States*. 2007;127(4):900-905.
- 30 Thomas N.E., Edmiston S.N., Alexander A., et al. Association Between NRAS and BRAF Mutational Status and Melanoma-Specific Survival Among Patients With Higher-Risk Primary Melanoma. *JAMA oncology. United States*. 2015;1(3):359-368.
- 31 Kim S.Y., Kim S.N., Hahn H.J., et al. Metaanalysis of BRAF mutations and clinicopathologic characteristics in primary melanoma. *Journal of the American Academy of Dermatology. United States*. 2015;72(6):1036-46.e2.

Авторская справка

Титов Константин Сергеевич

Д-р мед. наук, профессор кафедры онкологии и рентгенодиагностики имени академика В.П. Харченко Медицинского института, Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы; ведущий научный сотрудник, Московский многопрофильный научно-клинический центр им. С.П. Боткина.

ORCID 0000-0003-4460-9136; SPIN-код: 7795-6512

Вклад автора: концепция и дизайн исследования.

Сорокина Маргарита Викторовна

Врач-онколог, и.о. заведующего отделением диагностики и лечения заболеваний молочной железы и репродуктивной системы центра амбулаторной онкологической помощи, Московский многопрофильный научно-клинический центр им. С.П. Боткина.

ORCID 0000-0002-4436-8101; SPIN-код: 7883-1790

Вклад автора: сбор и обработка материалов, написание текста рукописи.

Author's reference

Konstantin S. Titov

Dr. Sci. (Med.), Professor of the Department of Oncology and Radiology named after Academician V.P. Kharchenko Medical Institute, Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia; Leading Researcher, Moscow Multidisciplinary Scientific and Clinical Center named after S.P. Botkin.

ORCID 0000-0003-4460-9136; SPIN code: 7795-6512

Author's contribution: concept and design of the study.

Margarita V. Sorokina

Oncologist, Acting Head of the Department of Diagnosis and Treatment of diseases of the breast and reproductive system of the Center for Outpatient Oncological Care, Moscow Multidisciplinary Scientific and Clinical Center named after S.P. Botkin.

ORCID 0000-0002-4436-8101; SPIN code: 7883-1790

Author's contribution: collecting and processing materials, writing the text of the manuscript.

Лебедев Сергей Сергеевич

Д-р мед. наук, доцент кафедры хирургии, Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования; ведущий научный сотрудник, хирург, онколог, заместитель главного врача по онкологии, руководитель, Московский многопрофильный научно-клинический центр им. С.П. Боткина. ORCID 0000-0001-5366-1281; SPIN-код: 2736-0683; AuthorID: 936520; lebedevssd@yandex.ru
Вклад автора: сбор и обработка материалов, статистическая обработка.

Греков Дмитрий Николаевич

Канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник, заместитель директора по клинической работе, главный врач, Московский многопрофильный научно-клинический центр им. С.П. Боткина; доцент кафедры хирургии хирургического факультета, Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования. ORCID 0000-0001-8391-1210; SPIN-код: 6841-7128; AuthorID: 989579; grekov.doc@list.ru
Вклад автора: сбор и обработка материалов, статистическая обработка.

Неретин Евгений Юрьевич

Д-р мед. наук, врач-онколог высшей категории консультативного отделения №1, Самарский областной клинический онкологический диспансер; доцент кафедры хирургии с курсом онкологии, Медицинский университет «Реавиз». ORCID 0000-0002-2316-7482; evg.neretin2002@mail.ru
Scopus Author ID: 57016832800; SPIN-код: 3064-8481; AuthorID: 623726
Вклад автора: обзор публикаций по теме статьи.

Якушева Татьяна Александровна

Врач-онколог, заведующий онкологическим отделением центра амбулаторной онкологической помощи, Московский многопрофильный научно-клинический центр им. С.П. Боткина. ORCID 0009-0005-2715-3933; t.a.y.2017@mail.ru
Вклад автора: обзор публикаций по теме статьи.

Sergey S. Lebedev

Dr. Sci. (Med.), Associate Professor of the Department of Surgery, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; leading researcher, surgeon, oncologist, Deputy Chief Physician for Oncology, Head, Moscow Multidisciplinary Scientific and Clinical Center named after S.P. Botkin. ORCID 0000-0001-5366-1281; SPIN code: 2736-0683; AuthorID: 936520; lebedevssd@yandex.ru
The author's contribution: collection and processing of materials, statistical processing.

Dmitriy N. Grekov

Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher, Deputy Director for Clinical Work, Chief Physician, Moscow Multidisciplinary Scientific and Clinical Center named after S.P. Botkin; Associate Professor of the Department of Surgery, Faculty of Surgery, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education. ORCID 0000-0001-8391-1210; SPIN code: 6841-7128; AuthorID: 989579; grekov.doc@list.ru
The author's contribution: collection and processing of materials, statistical processing.

Evgeniy Yu. Neretin

Dr. Sci. (Med.), oncologist of the highest category of the consultative department No. 1, Samara Regional Clinical Oncological Dispensary; Associate Professor of the Department of Surgery with a course in Oncology, Medical University "Reaviz". ORCID 0000-0002-2316-7482; evg.neretin2002@mail.ru
Scopus Author ID: 57016832800; SPIN code: 3064-8481; AuthorID: 623726
Author's contribution: review of publications on the topic of the article.

Tat'yana A. Yakusheva

Oncologist, Head of the Oncology department of the Outpatient Oncology Center, Moscow Multidisciplinary Scientific and Clinical Center named after S.P. Botkin. ORCID 0009-0005-2715-3933; t.a.y.2017@mail.ru
Author's contribution: review of publications on the topic of the article.