

На правах рукописи

КУКОЛЕВА ЕЛЕНА АНАТОЛЬЕВНА

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТЫ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ BRAF И
ВЗАИМОСВЯЗИ ВЫЯВЛЕННЫХ МУТАЦИЙ С КЛИНИЧЕСКИМИ И
ГИСТОЛОГИЧЕСКИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ, ПРОГНОЗОМ У
БОЛЬНЫХ С МЕЛАНОМОЙ КОЖИ**

14.01.12 - Онкология

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Москва –2016

Работа выполнена в ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России (директор - член-корр. РАН, профессор Солодкий В.А.)

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор **Чхиквадзе Владимир Давидович**

Официальные оппоненты:

- доктор медицинских наук **Любченко Людмила Николаевна**, ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, НИИ клинической онкологии, лаборатория клинической онкогенетики, заведующая лабораторией

- доктор медицинских наук, профессор **Петерсон Сергей Борисович**, ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, кафедра онкологии и лучевой терапии лечебного факультета, заведующий кафедрой

Ведущее учреждение: ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздрава России

Защита состоится «26» сентября 2016 года в «13» часов на заседании диссертационного совета Д.208.081.01 при ФГБУ «РНЦРР» Минздрава России по адресу: 117997, г.Москва, ул.Профсоюзная, д.86.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России

Автореферат разослан «___» _____ 2016 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

Цаллагова З.С.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Меланома кожи составляет от 4 до 7% в структуре злокачественных новообразований в мире [Давыдов М.И. и др., 2014]. Самый высокий уровень заболеваемости отмечается в США и Австралии (до 20 - 40 случаев на 100 000 населения). В России меланома кожи составляет 1,7% среди всех злокачественных заболеваний. В 2003 году заболеваемость меланомой кожи была 3,4 на 100 000 населения, а в 2013 году – 4 (у женщин - 4,28; у мужчин 3,77). За тот же 10-летний период (2003-2013 гг.) отмечается и прирост смертности от данного заболевания в РФ в целом на 10,18% (у мужчин – на 14,72%, у женщин – на 7,97%). Средний возраст больных с впервые в жизни установленным диагнозом меланома кожи составил 57,7 лет. [Чиссов В.И. и др., 2015]. Меланома кожи является болезнью с агрессивным и непредсказуемым течением, активным лимфогенным и гематогенным распространением, что обуславливает быстрое развитие заболевания и высокую смертность. Своевременная диагностика на ранних стадиях заболевания и радикальное хирургическое удаление очага – определяющие факторы, которые делают лечение меланомы кожи максимально успешным. Для поздних стадий заболевания и метастатической меланомы кожи продолжаются поиски эффективной противоопухолевой терапии. Последние годы привлекают внимание достижения молекулярно – генетических исследований и разработка новых таргетных препаратов, которые вселяют надежду на улучшение результатов лечения этого, одного из наиболее злокачественных заболеваний человека.

Основанием для разработки нового направления лекарственного лечения - таргетной терапии - явились исследования сигнального пути митоген-активируемой протеинкиназы RAS/RAF/MEK/ERK. Ранее было установлено, что мутации в генах семейства RAS, RAF, регулирующих продукцию

сигнальных молекул этого пути, играют одну из ключевых ролей в развитии меланомы. Было показано, что соматические мутации гена BRAF выявляются в 40–88% случаев при местно-распространенных и метастатических формах меланомы [Davies H. et al., 2002]. Разработанные на основании результатов этих исследований лекарственные таргетные препараты – ингибиторы патологического белка BRAF показывают убедительные результаты по улучшению продолжительности жизни больных с неоперабельной и метастатической меланомой [Chapman P.V. et al., 2011]. Улучшение показателей общей и безрецидивной выживаемости также показывают препараты современной иммунотерапии, задачей которых является активация иммунной системы, запуск процесса распознавания и уничтожения опухолевых клеток [Hodi F.S. et al., 2010].

Представляет интерес выявление больных с повышенным риском неблагоприятного течения заболевания на основании не только рутинных методов исследования - установления стадии опухоли, формы ее роста и т.д., но и по молекулярно-генетическому статусу больного для проведения более интенсивного лечения и последующего тщательного наблюдения. По некоторым публикациям [Houben R. et al., 2004; Meckbach D. et al., 2014] таким прогностическим фактором может стать само наличие у больных меланомой кожи мутации в гене BRAF. На основании анализа научных публикаций можно сделать вывод о том, что этот вопрос до настоящего времени не изучался, поэтому нами были проведены исследования по выявлению влияния на течение, тактику лечения и прогноз у больных меланомой кожи наличия мутаций V600 в гене BRAF.

Цель исследования

Изучить прогностическую значимость мутации гена BRAF у больных с меланомой кожи.

Задачи исследования

1. Определить частоту мутаций в гене BRAF и ее вариантов у больных с меланомой кожи, проживающих в Московском регионе.
2. Изучить общую и безрецидивную выживаемость больных с меланомой кожи в зависимости от наличия мутаций в гене BRAF.
3. Провести сравнение клинических особенностей меланомы кожи в группах больных с мутациями и без мутаций (распределение по полу, стадии заболевания и локализации меланомы).
4. Выявить и изучить частоту неблагоприятных прогностических факторов (ранний возраст манифестации заболевания, узловая, изъязвленная и беспигментная формы) и частоту признаков активации «иммунного ответа» (лимфоидной инфильтрации и очагов регрессии в тканях опухоли) у больных меланомой кожи с мутациями и без мутаций в гене BRAF.
5. Оценить влияние наличия мутаций в гене BRAF на прогноз течения и выбор тактики лечения больных меланомой кожи.

Научная новизна

Впервые изучена частота встречаемости мутаций в гене BRAF и ее вариантов у больных меланомой кожи определенного региона - г. Москвы и Московской области. Установлено, что у исследуемых больных меланомой кожи мутации V600 в гене BRAF отмечались у 67,3% (74 из 100) больных. При этом наибольшее число больных - 63 (85,1%) имели вариант мутации V600E; реже – мутацию V600K (13,5%) , и только у одного больного была мутация типа V600R.

Впервые установлено, что у больных с мутацией V600E в гене BRAF опухоль достоверно чаще развивалась в более молодом возрасте, а у больных с мутацией V600K - достоверно чаще в более пожилом возрасте, чем у больных без мутаций.

Впервые установлено, что в группе больных с мутациями в гене BRAF достоверно чаще встречались как признаки агрессивного течения заболевания

(более ранний возраст манифестации заболевания, узловой характер роста, беспигментная и изъязвленная формы опухоли), так и признаки активации иммунного ответа организма (наличие лимфоидной инфильтрации и очагов регрессии опухоли).

Впервые установлено, что мутационный статус гена BRAF не может использоваться как самостоятельный прогностический фактор у больных с меланомой кожи.

Теоретическая и практическая значимость

Работа дает направление для дальнейших научных исследований в области изучения механизмов функционирования иммунной системы больного при развитии меланомы, одним из пусковых моментов которой является мутационный статус в гене BRAF. Полученные результаты исследования позволяют учитывать мутационный статус в гене BRAF для индивидуализации комбинированного лечения больных с меланомой кожи.

Определение мутационного статуса гена BRAF у больных меланомой кожи можно использовать для практического применения в профессиональной деятельности врачей-онкологов и врачей-генетиков в специализированных научно-исследовательских и клинических учреждениях и центрах системы здравоохранения РФ, при медико-генетических консультациях, а также для разработки методических рекомендаций.

Положения, выносимые на защиту

1. У больных меланомой кожи с мутациями в гене BRAF достоверно чаще встречаются как неблагоприятные клиничко - гистологические признаки (более ранний возраст манифестации заболевания, узловой характер роста, изъязвленные и беспигментные формы опухоли), так и признаки активации иммунного ответа организма пациента (наличие лимфоидной инфильтрации и очагов регрессии).

2. Отсутствие достоверных различий в общей и безрецидивной выживаемости у больных с меланомой кожи в группах с мутациями и без мутаций не позволяет рассматривать наличие мутации в гене BRAF в качестве самостоятельного прогностического фактора течения заболевания.

Внедрение результатов работы

Исследование мутационного статуса в гене BRAF у больных с меланомой кожи внедрено в клиническую практику ФГБУ «РНЦПР».

Апробация материалов диссертации

Материалы диссертационной работы доложены на XII Всероссийской конференции молодых ученых «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической онкологии, Москва, ноябрь 2013 г., а также представлены в виде стендового доклада на XVII Российском онкологическом конгрессе, Москва, ноябрь 2013 г.

Апробация работы состоялась на совместном заседании научно-практической конференции и совета по апробациям кандидатских диссертаций ФГБУ «РНЦПР» 07 декабря 2015 года.

Публикации по материалам диссертации

По теме научной работы опубликованы 3 работы, из них 2 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК РФ.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 103 страницах машинописного текста. Работа состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа иллюстрирована 14 таблицами, 27 рисунками. Список литературы включает 132 источника, из которых 27 отечественных и 105 зарубежных.

Содержание работы

Материалы и методы

В наше исследование были включены 110 больных из Москвы и Московской области, проходивших обследование и лечение в ФГБУ «РНЦРР» МЗ РФ по поводу первичной меланомы кожи (72,7%), после нерадикальных операций (7,3%), рецидивов после лечения (20,0%) в период с 2003 по 2015 гг.

Диагноз меланомы кожи больным был установлен и морфологически подтвержден в РНЦРР или других медицинских учреждениях с пересмотром стекол-препаратов и блоков в РНЦРР. Критерием отбора больных была гистологически подтвержденная в РНЦРР меланома кожи. Всем больным было проведено хирургическое лечение, которое, в зависимости от стадии заболевания и других факторов, дополнялось лекарственным лечением и лучевой терапией. В наше исследование не включались больные, которым по различным причинам не проводилось лечение или сроки лечения были существенно нарушены; больные, включенные в программы клинических исследований современных таргетных препаратов. В наше исследование не были включены больные с увеальной меланомой и акральнo-лентигинозной меланомой. На нашем клиническом материале в 26,7% наблюдений меланома кожи располагалась на участках тела с повышенным уровнем экспозиции к солнечному излучению (голова, шея, верхние конечности), а в 73,3% на участках с более низкой экспозицией солнечного излучения (туловище и нижние конечности).

Больные были разделены на 2 группы:

Больные с наличием мутации в гене BRAF - 74 человека:

подгруппа А–больные с мутацией V600E– 63 (85,14%);

подгруппа Б– больные с мутацией V600K– 10 (13,51%);

подгруппа В - больные с мутацией V600R– 1 (1,35%).

Больные без мутации в гене BRAF - 36 человек.

Возраст больных варьировал от 20 лет до 91 года, в среднем составил 54,4 (51,3 ÷ 57,6) года. Мужчин было 53 (48,2%) больных, женщин – 57 (51,8%).

Всем 110 пациентам было проведено молекулярно-генетическое исследование, включающее поиск мутаций в «горячей точке» 15-го экзона гена BRAF в ДНК, выделенной из гистологического материала парафинового блока больных, методом аллель-специфической ПЦР с последующей проверкой полученных результатов методом секвенирования по Сэнгеру.

Результаты собственных исследований

Частота встречаемости мутаций V600 в генах семейства BRAF у больных меланомой кожи, распределение по полу, стадиям заболевания

Мутации V600 в гене BRAF были выявлены у 74 (67,3%) больных, у остальных 36 (32,7%) - мутации выявлены не были. Полученные данные в целом соответствуют данным из международных и российских источников [Brose M.S. et al., 2002; Maldonado J.L. et al., 2003; Shinozaki M. Et al., 2004; James M.R. et al., 2006]. Однако, частота встречаемости BRAF-мутаций у больных Москвы и Московской области в нашем исследовании выше опубликованных общероссийских данных - 60,6% [Франк Г.А. и др., 2014].

В результате предыдущих исследований было установлено, что мутации V600 в гене BRAF могут быть разных типов, когда замена валина происходит не только на глутаминовую кислоту, но на лизин, аргинин, аспарагиновую кислоту, метионин. В нашем исследовании из 74 у 63 (85,1%) больных был выявлен вариант мутация V600E; а у 10 (13,5%) - V600K, и только у одного больного - мутация V600R. Другие, более редкие типы мутаций (V600D, V600M, K601E, T599_V600insT, D594N, L597S, K601N), в нашем исследовании не встретились.

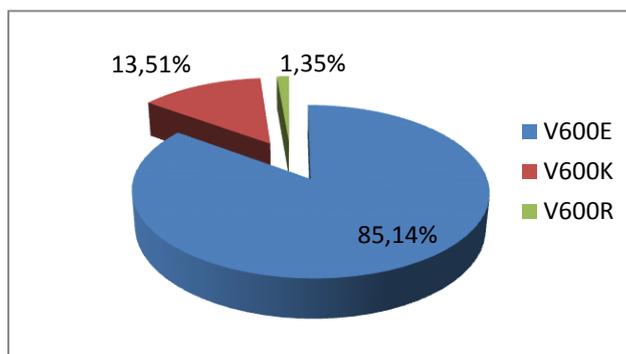


Рис.1 Частота встречаемости различных типов мутаций V600 в гене BRAF у пациентов с меланомой кожи

Как видно из рисунка 1 мутации V600E в нашем клиническом материале встречались несколько чаще, чем представлено в современных публикациях (V600E– 70-80%). Частота встречаемости мутаций V600K и V600R находилась в рамках приводимых в публикациях интервалов (V600K 5-20%, V600R 1-5%) [Garnett M.J. et al., 2004; Forbes S.A. et al., 2008].

Среди 53 мужчин мутации были выявлены несколько чаще - в 37 (69,81%) наблюдениях, а среди 57 женщин – в 20 (64,91%). Однако, различия не достоверны ($p > 0.05$).

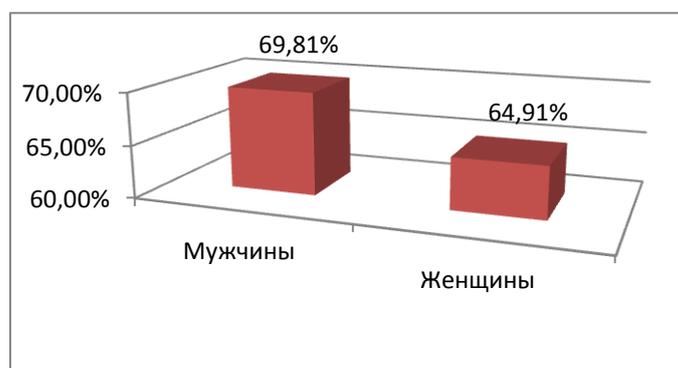


Рис.2 Частота встречаемости мутаций в гене BRAF в зависимости от пола

Анализ распределения больных по уровням инвазии меланомы кожи по W.H.Clark показал, что I-II-III уровни инвазии (опухолевые клетки достигают сосочкового и границы с ретикулярным слоем дермы) имели 84,21% пациентов с мутациями в гене BRAF, тогда как пациенты без мутаций - только в 71,43%

случаев. IV-V уровни инвазии (опухоли, клетки которых обнаруживались в ретикулярном слое дермы и в подкожной жировой клетчатке), наоборот, чаще

Таблица 1. Результаты распределения больных с мутациями и без мутаций по уровню инвазии согласно методике W.H.Clark

Уровень инвазии	Группа I (мутации в гене BRAF +), число б-х (%)	Группа II (мутации в гене BRAF -), число б-х (%)
I уровень, n = 5	3 (5,26%)	2 (7,14%)
II уровень, n = 20	14 (24,56%)	6 (21,43%)
III уровень, n = 43	31 (54,39%)	12 (42,85%)
Итого: n = 68	48 (84,21%)	20 (71,43%)
IV уровень, n = 13	9 (15,79%)	4 (14,29%)
V уровень, n = 4	0 (0%)	4 (14,29%)
Итого: n = 17	9 (15,79%)	8 (28,57%)
Всего: n = 85	57 (100%)	28 (100%)

наблюдались у больных с отсутствием мутаций – у 28,57%, чем у больных с мутациями – у 15,79%. При этом у последних ни один больной не имел опухолевые клетки в подкожной жировой клетчатке, т.е. V уровень инвазии (см. табл. 1).

Различия не достоверны ($p > 0,05$), имеется только тенденция превышения доли пациентов с мутациями на более ранних стадиях заболевания.

При анализе распределения больных с мутациями и без мутаций по толщине опухоли по Бреслоу необходимо отметить, что у 82,35% больных с мутациями также превалировала толщина опухоли до 4 мм, в отличие от больных без мутаций, у которых опухоли толщиной до 4 мм составили 62,96%. Различия статистически достоверны ($p < 0,05$). Соответственно опухоли толщиной более 4 мм встречались чаще у больных без мутаций – в 37,04% случаев против 17,65% в группе больных с мутациями. Распределение больных по толщине опухоли представлено на рисунке 3.

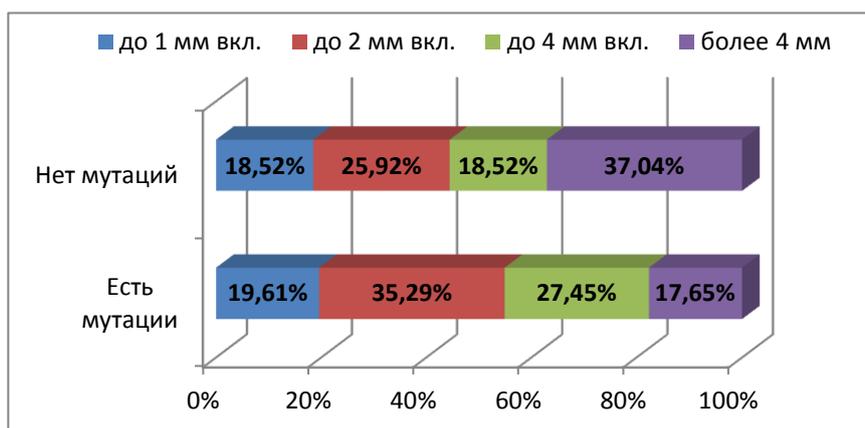


Рис.3 Распределение больных с мутациями и без мутаций по толщине опухоли по Бреслоу

У больных с мутациями в гене BRAF достоверно чаще встречались опухоли толщиной до 4 мм, чем у больных без мутаций ($p < 0,05$).

У 82 больных нам была известна стадия заболевания: меланома in situ имела у 4 больных (4,88%), I стадия заболевания - у 28 больных (34,15%), II стадия - у 40 (48,78%), III стадия - у 9 больных (10,97%) и IV стадия была у одного больного (1,27%).

Среди больных с мутациями гена BRAF 0, I и II стадия заболевания были выявлены в 85,45% наблюдений, III-IV – у 14,55%. У больных без мутаций 0, I и II стадии меланомы отмечены в 92,59% наблюдений, III-IV – в 7,41%. Таким образом, в обеих группах больных преобладали пациенты с ранними стадиями заболевания (рисунок 4), различия в группах не достоверны ($p > 0,05$).

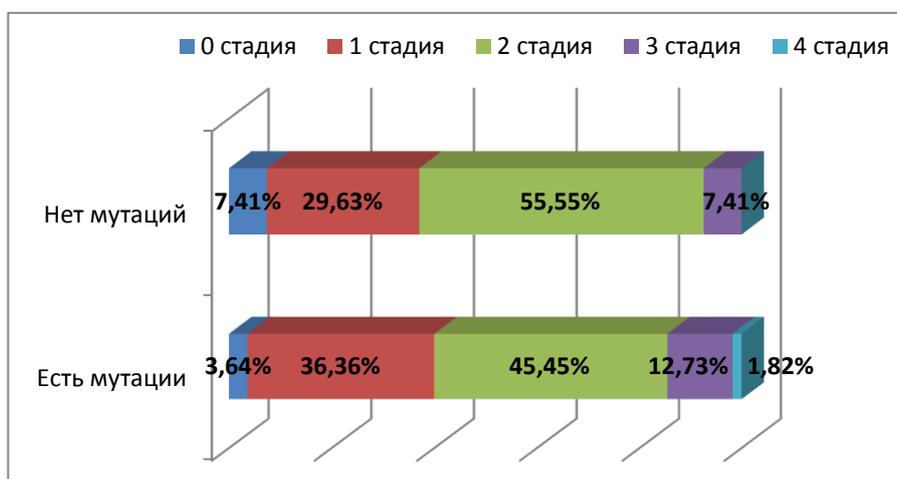


Рис.4 Распределение больных с мутациями и без мутаций по стадиям заболевания

В ряде исследований было показано, что меланома с мутациями в гене BRAF чаще возникает на кожных покровах, не подвергшихся хроническому солнечному излучению [Черненко П.А., 2012]. На рисунке 5 показана частота локализации опухолей на участках кожи, открытых для солнечного воздействия

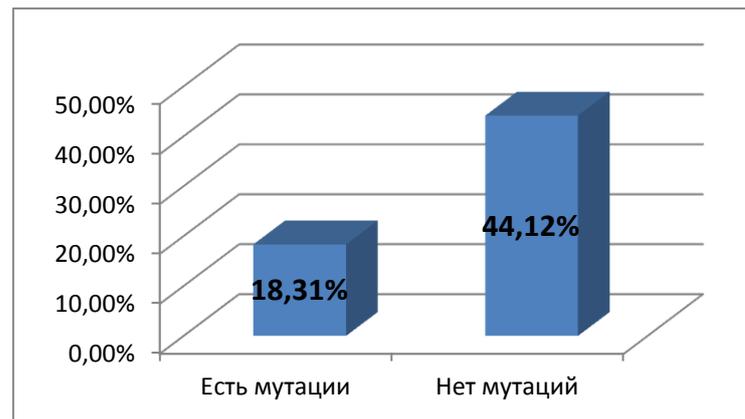


Рис.5 Распределение больных с расположением опухолей на открытых к солнечному излучению участках кожи в группах с мутациями и без мутаций

в группах больных с мутациями и без мутаций. У больных меланомой кожи без мутаций в гене BRAF опухоль чаще (в 44,12% наблюдений) располагалась на открытых участках кожи, подвергающихся солнечному воздействию, чем у больных с мутациями – у 18,31%. Различия достоверны ($p < 0,05$).

Данный факт показывает, что мутации в гене BRAF не связаны с воздействием УФ-излучения, которое является самостоятельным фактором канцерогенеза в развитии меланоцитарных опухолей кожи.

Частота неблагоприятных прогностических факторов при наличии мутации в гене BRAF

Анализ частоты распределения пациентов с мутациями и без мутаций по возрастным группам показал, что частота мутаций в гене BRAF в группах молодого и среднего возраста была примерно одинаковой - 71,88% и 70,97% соответственно, что в среднем составило 71,43%.

У пациентов в возрасте поздней зрелости и пожилого возраста мутации в гене BRAF встречались реже – 57,58% и 63,64% соответственно, что суммарно в среднем составило 59,09% (таблица 2).

Таблица 2. Частота выявления мутаций в гене BRAF в различных возрастных группах

Возрастная группа(по классификации ВОЗ)	Группа I (мутации в гене BRAF +)	Группа II (мутации в гене BRAF -)
	число б-х (%)	число б-х (%)
Молодой возраст (до 44 лет), n=32	23 (71,88%)	9 (28,12%)
Средний возраст (45-59лет), n= 31	22 (70,97%)	9 (29,03%)
Возраст поздней зрелости (60-74 года), n =33	19 (57,58%)	14 (42,42%)
Пожилой возраст и возраст долгожителей (75 лет и старше), n = 11	7 (63,64%)	4 (36,36%)
Итого:	71	36

Из полученных нами данных видно, что в молодом и среднем возрасте частота встречаемости больных с мутациями выше, чем в возрасте поздней зрелости, пожилом и возрасте долгожителей, однако, различия не достоверны ($p>0,05$) (рисунок 6).

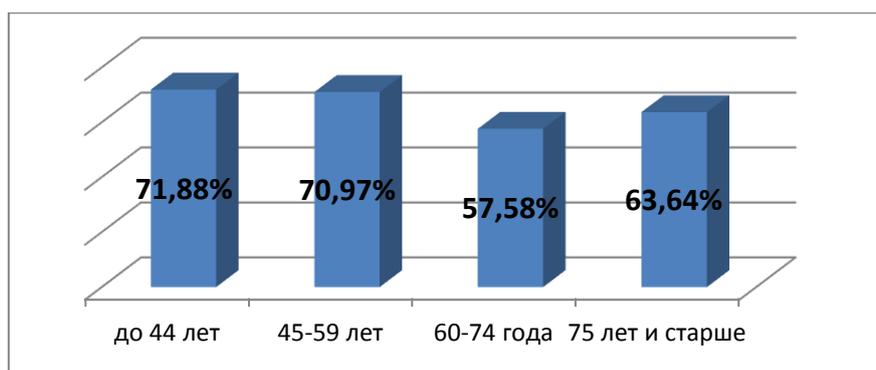


Рис. 6 Частота встречаемости больных с мутациями и без мутаций в различных возрастных группах

63,38% больных с мутациями относятся к 1 и 2 возрастным группам, т.е. меланома кожи у таких больных начала развиваться в молодом и среднем возрасте. У больных без мутаций только в 50% случаев болезнь начала развиваться в молодом и среднем возрасте. Однако, при проведении

сравнительного и корреляционного анализа статистически достоверных различий между первыми двумя группами и вторыми двумя группами нами получено не было.

Проведение сравнения среднего возраста на момент манифестации заболевания показало, что у больных с мутациями средний возраст на момент установления диагноза был меньше (53,32 года), чем средний возраст больных в группе без мутации- 56,58 лет ($p > 0,05$). При анализе среднего возраста на момент установления диагноза по типам мутаций V600E и V600K в гене BRAF

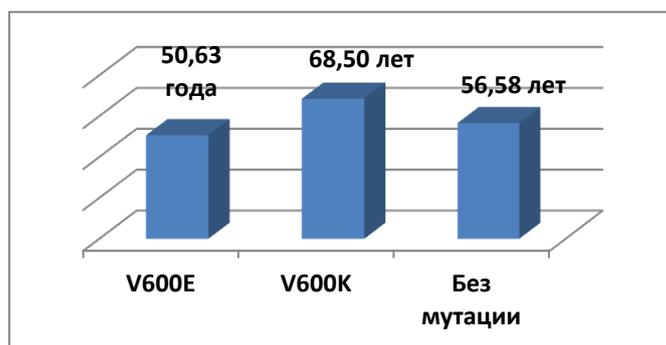


Рис.7 Средний возраст начала болезни у пациентов с различными типами мутаций и без мутаций

было выявлено, что средний возраст начала заболевания у больных с наиболее часто встречающимися мутациями V600E был достоверно ниже - 50,63 года, чем у пациентов с мутациями V600K – 68,50 лет ($p < 0,001$) и пациентов без мутаций – 56,58 лет ($p < 0,05$) (рисунок 7).

При анализе среднего возраста манифестации заболевания у мужчин и у женщин с наиболее часто встречающимися вариантами мутаций V600E, V600K и без мутаций была выявлена тенденция более низкого среднего возраста у женщин во всех трех группах, чем у мужчин ($p > 0,05$) (рисунок 8).

Анализ признаков более агрессивного течения заболевания (узловая, изъязвленная и беспигментная формы) среди больных с мутациями и без мутаций в гене BRAF представлен в таблице 3.

В целом, прогностически неблагоприятные, более агрессивные формы меланомы кожи – узловая, изъязвленная и беспигментная формы среди

больных с мутациями в гене BRAF встречались достоверно чаще - у 84,62%, чем без мутаций – у 26,92%, различия достоверны ($p < 0,05$) (рисунок 9).

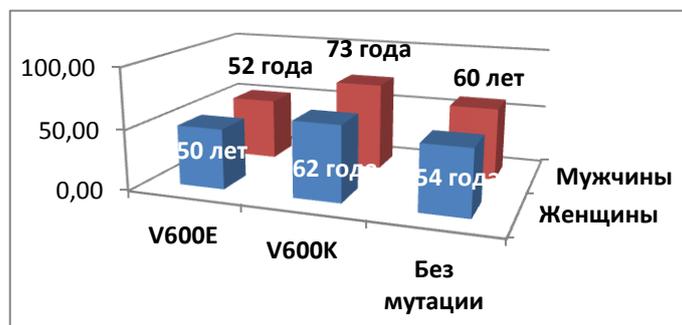


Рис. 8 Средний возраст мужчин и женщин на момент установления диагноза в группах с различными типами мутаций и без мутаций

Таблица 3. Частота выявления отдельных неблагоприятных форм меланомы кожи у больных с мутациями и без мутаций в гене BRAF

Форма опухоли	Группа I (мутации в гене BRAF +)	Группа II (мутации в гене BRAF -)
	число б-х (%)	число б-х (%)
Узловая, n = 36	55,77%	26,92%
Изъязвленная, n = 37	39,40%	34,38%
Беспигментная, n = 20	22,54%	11,11%



Рис. 9 Частота встречаемости признаков агрессивности течения заболевания в группах с мутациями и без мутаций

Частота лимфоидной инфильтрации и очагов регрессии в тканях опухоли у больных с мутациями и без мутаций в гене BRAF

В настоящее время доказано, что лимфоидная инфильтрация и признаки регрессии опухоли имеют благоприятное прогностическое значение в течение многих злокачественных новообразований, в том числе – меланомы кожи. Они свидетельствуют об активации иммунной системы организма в борьбе с меланомой. Гистологические признаки регрессии встречаются в 10-56% случаев у больных меланомой кожи [Анисимов В.В. и др, 1995].

В нашем исследовании лимфоидная инфильтрация в группе больных с мутациями в гене BRAF встречалась в 9,52% случаев, в группе без мутаций – в 3,12% ($p>0,05$). Распределение представлено на рисунке 10.

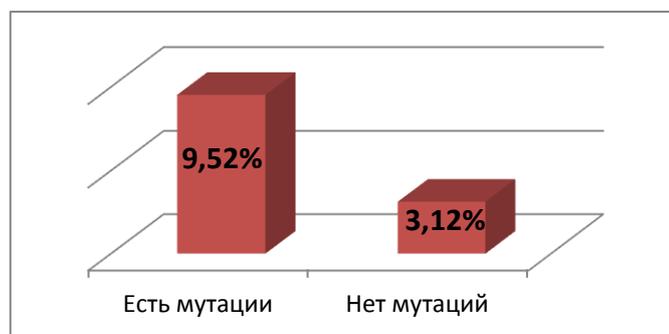


Рис.10 Частота встречаемости лимфоидной инфильтрации в группах с мутациями и без мутаций в гене BRAF

Достоверные различия в частоте больных с лимфоидной инфильтрацией в группах больных с мутациями и без мутаций нами получены не были. Несмотря на это, доля больных с лимфоидной инфильтрацией в группе больных с мутациями выше, чем в группе больных без мутаций.

Гистологические признаки регрессии опухоли в группе больных с мутациями присутствовали в 9,52% случаев, тогда как ни в одном препарате меланомы без мутаций такие признаки выявлены не были ($p>0,05$).

Было проведено более углубленное изучение этого вопроса и выявлено, что у больных с наиболее часто встречающимися вариантами мутаций V600E и V600K достоверно чаще встречались очаги регрессии, чем у больных без мутаций ($p<0,05$) (рисунок 11).

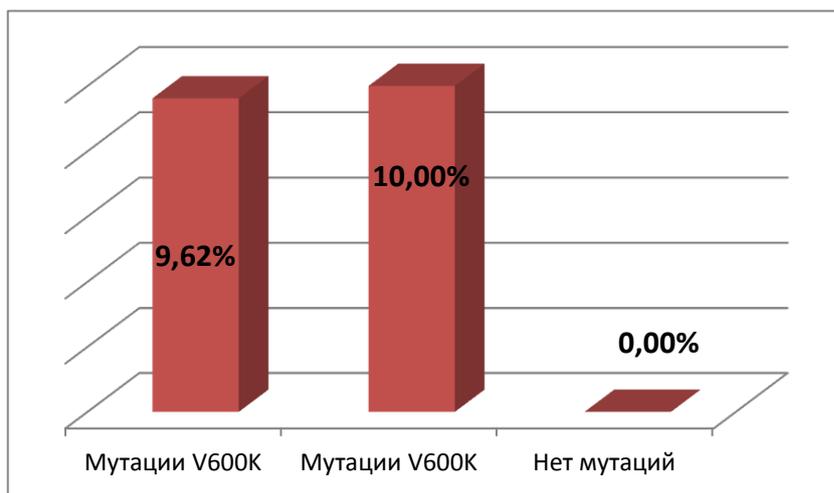


Рис.11 Частота встречаемости гистологических признаков регрессии в группах с мутациями V600E, V600K и без мутаций

Выявленная тенденция по превышению доли больных с лимфоидной инфильтрацией в группе пациентов с мутациями, а также полученные статистически значимые различия в частоте встречаемости очагов регрессии у больных с мутациями V600E и V600K, чем у больных без мутаций могут свидетельствовать о возможно более активной реакции иммунной системы на опухолевые клетки, у больных с мутациями.

Следует отметить, что при анализе литературных источников нами были встречены работы, в которых обсуждаются особенности функционирования иммунной системы у пациентов с BRAF-мутированными меланомами [Karachaliou N. et al., 2015], в частности отмечается, что в таких опухолях обнаруживается ряд различных активированных клеток иммунной системы, часть из которых при применении ингибиторов BRAF теряет свою активность.

Анализ выживаемости

Для проведения сравнения характера течения заболевания и прогноза после лечения у больных с меланомой кожи нами были рассчитаны показатели общей и безрецидивной выживаемости в группе 1 с мутациями в гене BRAF и в группе 2 – без мутаций. На графике представлены кривые общей выживаемости (рисунок 12).

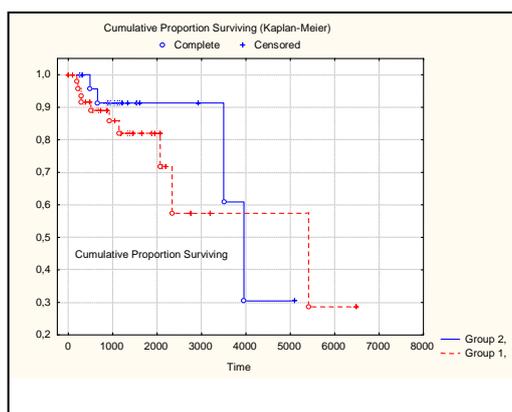


Рис.12 Кривые общей выживаемости больных с мутациями и без мутаций

Достоверных различий при оценке общей выживаемости в двух группах выявлено не было ($p = 0,26$). Однако, по представленным кривым прослеживается тенденция превышения показателей общей выживаемости в группе больных без мутаций за период наблюдения.

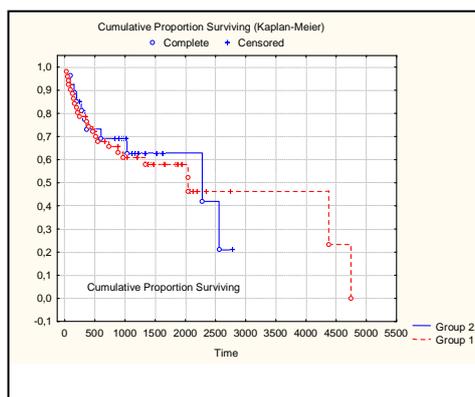


Рис.13. Кривые безрецидивной выживаемости больных с мутациями и без мутаций

Различий безрецидивной выживаемости больных для группы 1 – с мутациями и группы 2 – без мутаций получено не было ($p = 0,78$) (рисунок 13).

Анализ безрецидивной выживаемости больных после радикального лечения рецидива опухоли для группы 1 – с мутациями и группы 2 – без мутаций также не выявил существенных различий ($p=0,66$) (рисунок 14).

Также были рассчитаны показатели общей выживаемости, безрецидивной выживаемости и безрецидивной выживаемости после лечения рецидива опухоли в группах больных с наиболее часто встречающимися вариантами мутаций V600E, V600K и без мутаций. Достоверных различий как в группах с

разными вариантами мутаций между собой, так и по сравнению с группой без мутаций выявлено не было.

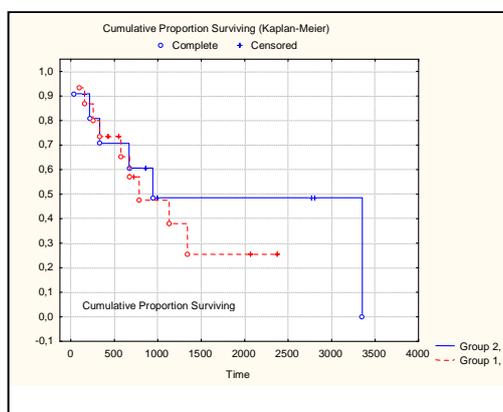


Рис.14 Кривые безрецидивной выживаемости больных с мутациями и без мутаций после радикального лечения рецидива опухоли

Анализ 1-годовой, 3-летней и 5-летней общей, безрецидивной выживаемости и безрецидивной выживаемости после радикального лечения рецидива опухоли (таблица 4) показал отсутствие достоверных различий в группах больных с мутациями и без мутаций.

Табл. 4. Анализ показателей 1, 3, 5-летней выживаемости больных с мутациями и без мутаций

Выживаемость	Период	Группа I (мутации в гене BRAF +)	Группа II (мутации в гене BRAF -)
		(%)	(%)
Общая	1 год	90,91%	100%
	3 года	80,00%	92,31%
	5 лет	62,5%	83,33%
Безрецидивная	1 год	80,65%	80,00%
	3 года	68,00%	50,00%
	5 лет	47,06%	0,00%
После радикального лечения рецидива опухоли	1 год	73,33%	80%
	3 года	41,67%	37,5%
	5 лет	18,18%	37,5%

ВЫВОДЫ

1. Среди жителей Москвы и Московской области более, чем у 2/3 больных меланомой кожи (67,3%) были выявлены мутации в гене BRAF, что чаще, чем в целом по РФ. Из них подавляющее большинство - мутации V600E (85,14% случаев), значительно реже встречались мутации V600K (13,51%) и V600R (1,35%). Другие редкие варианты мутаций у исследованных пациентов не встречались.
2. Статистически значимых различий в общей и безрецидивной выживаемости в группе больных с мутациями и без мутаций не выявлено. Отмечается тенденция к превышению показателей общей выживаемости в группе больных без мутаций.
3. У больных Московского региона с мутациями в гене BRAF меланома достоверно реже локализуется на открытых к солнечному воздействию участках кожи, чем у больных без мутаций ($p < 0,05$). Различий в распределении больных по полу и стадиям заболевания не выявлено.
4. У больных с мутациями в гене BRAF достоверно чаще встречаются признаки, указывающие на более агрессивное течение заболевания, такие как более ранний возраст манифестации заболевания, узловой характер роста, изъязвленный и беспигментный характер опухоли ($p < 0,05$).
5. У больных с мутациями в гене BRAF чаще встречаются гистологические признаки активации иммунного ответа в виде наличия лимфоидной инфильтрации (тенденция, $p > 0,05$) и очагов регрессии ($p < 0,05$) в тканях опухоли.
6. Наличие мутации в гене BRAF не может использоваться как самостоятельный прогностический фактор и не оказывает влияние на выбор тактики лечения.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Определение мутации в гене BRAF может быть рекомендовано в качестве диагностической процедуры для больных с меланомой кожи с перспективой назначения таргетной терапии.

2. Взаимосвязь мутаций в гене BRAF с активацией иммунной системы больного, которая проявляется более высокой частотой встречаемости признаков лимфоидной инфильтрации и очагов регрессии в опухолевой ткани, необходимо учитывать при планировании комбинированной лекарственной терапии больных с меланомой кожи.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Куколева, Е.А. Значение определения мутаций в гене BRAF для лечения пациентов с метастатической меланомой кожи / Е.А. Куколева, Е.Н. Тельшева, О.С. Ходорович, В.Д. Чхиквадзе // Евразийский Союз Ученых. – 2014. - № 4. – С. 99 – 102.
2. Куколева, Е.А. Значение определения BRAF-мутаций у больных с неоперабельной и метастатической меланомой кожи /Е.А. Куколева, Е.Н. Тельшева, В.Д. Чхиквадзе // В мире научных открытий. – 2015. - № 10.1. – С. 446-456.
3. Куколева, Е.А. Механизмы прогрессирования и современные подходы к лекарственному лечению меланомы кожи. Обзор литературных данных [Электронный ресурс] /Е.А. Куколева, Е.Н. Тельшева, В.Д. Чхиквадзе // Вестник РНЦПР. – 2015. – Т.15, № 4. – Режим доступа: URL: http://vestnik.rncrr.ru/vestnik/v15/papers/kukoleva_v15.htm.

Список сокращений

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

ПЦР - полимеразная цепная реакция