

Kuchnicka Julia, Kuchnicka Aleksandra, Kosz Katarzyna, Remjasz Klaudia, Zarankiewicz Natalia, Zielińska Martyna, Sapuła Klaudia, Aleksandrowicz Jakub, Siedlecki Wojciech. Braf protein mutation and its significance within patients with melanoma. *Journal of Education, Health and Sport*. 2022;12(8):938-944. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2022.12.08.076> <https://apcz.umk.pl/JEHS/article/view/JEHS.2022.12.08.076> <https://zenodo.org/record/7017217>

The journal has had 40 points in Ministry of Education and Science of Poland parametric evaluation. Annex to the announcement of the Minister of Education and Science of December 21, 2021. No. 32343. Has a Journal's Unique Identifier: 201159. Scientific disciplines assigned: Physical Culture Sciences (Field of Medical sciences and health sciences); Health Sciences (Field of Medical Sciences and Health Sciences).

Punkty Ministerialne z 2019 - aktualny rok 40 punktów. Załącznik do komunikatu Ministra Edukacji i Nauki z dnia 21 grudnia 2021 r. Lp. 32343. Posiada Unikatowy Identyfikator Czasopisma: 201159. Przepisane dyscypliny naukowe: Nauki o kulturze fizycznej (Dziedzina nauk medycznych i nauk o zdrowiu); Nauki o zdrowiu (Dziedzina nauk medycznych i nauk o zdrowiu).

© The Authors 2022;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Nicolaus Copernicus University in Torun, Poland
Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author (s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non commercial license Share alike. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Received: 02.08.2022. Revised: 07.08.2022. Accepted: 23.08.2022.

BRAF PROTEIN MUTATION AND ITS SIGNIFICANCY WITHIN PATIENTS WITH MELANOMA

MUTACJA BIAŁKA BRAF I JEJ ZNACZENIE DLA PACJENTÓW Z CZERNIAKIEM SKÓRY

Julia Kuchnicka

Szpital Specjalistyczny w Brzezinach

<https://orcid.org/0000-0003-0409-5695>

Aleksandra Kuchnicka

Absolwent Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

<https://orcid.org/0000-0001-8481-7592>

Katarzyna Kosz

Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny Nr 4 w Lublinie

<https://orcid.org/0000-0001-6848-0598>

Klaudia Remjasz

Absolwent Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

<https://orcid.org/0000-0002-0879-7515>

Natalia Zarankiewicz

Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny Nr 4 w Lublinie

<https://orcid.org/0000-0001-9203-3376>

Martyna Zielińska

Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny Nr 4 w Lublinie

<https://orcid.org/0000-0001-8886-8274>

Klaudia Sapuła

Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny Nr 4 w Lublinie

<https://orcid.org/0000-0003-2436-0150>

Jakub Aleksandrowicz

Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny Nr 4 w Lublinie

<https://orcid.org/0000-0002-4534-9682>

Wojciech Siedlecki

1 Wojskowy Szpital Kliniczny w Lublinie

<https://orcid.org/0000-0002-9917-5411>

Abstract

Introduction and purpose:

This review aims to analyze BRAF mutation significance and its influence on progression and therapy methods within patients with melanoma.

Material and method:

This review was mainly based on articles collected in Pubmed in years 2004-2018. The research was done by looking through keywords as follows “braf kinase”, “braf mutation”, “melanoma” “wemurafenib”.

Results:

The selected studies have demonstrated that it is justified to identify patient with BRAF mutation due to its influence on treatment's method choosing.

Conclusions:

Cited researches have proven BRAF mutation significance in growth and progressions of many malignant tumors. Further tests are likely to not only prolong life expectancy within patients with melanoma, but also being a source of crucial knowledge about tumors development.

Keywords :braf kinase, braf mutation, melanoma, wemurafenib

BIAŁKO BRAF

Prawidłowe białko BRAF jest enzymem należącym do rodziny kinaz serynowo-treoninowych RAF, uczestniczącym w szlaku sygnałowym aktywowanym mitogenami (MAPK). Szlak ten obejmuje kinazy RAS/RAF/MEK/ERK, przekazujące sygnały do wzrostu/podziału komórki poprzez serię fosforylacji. Jego zadaniem jest zatem regulowanie

funkcji komórki poprzez kontrolę jej proliferacji, różnicowania i apoptozy. W warunkach fizjologicznych reaguje wyłącznie na zewnętrzny bodziec wysyłany przez tzw „czynniki wzrostu” takie jak naskórkowy EGF, insulinopodobny IGF czy transformujący. W przypadku wystąpienia mutacji genu kodującego BRAF, produkt transkrypcji staje się onkogenem. Powstałe nieprawidłowe białko nie podlega zewnętrznej regulacji, a więc wysyła sygnały do wzrostu w sposób niepohamowany i niekontrolowany. Przyczynia się zatem do nabrania przez komórkę cech złośliwości. [1]

Białko BRAF jest najczęściej mutującą kinazą serynowo-treoninową wśród wszystkich biorących udział w patogenezie nowotworów u ludzi. [2] Dotychczas rozpoznano aż 432 rodzaje mutacji. [1] Mutacje występują w ok. 15% wszystkich przypadków nowotworów złośliwych, natomiast najczęstsza spośród nich dotyczy eksonu 15 genu. W jej wyniku dochodzi do substytucji waliny przez kwas glutaminowy w kodonie 600 (V600E). Kwas glutaminowy ponieważ w przeciwieństwie do waliny nie jest hydrofobowy, a posiada ujemnie naładowaną resztę aminokwasową, powoduje destabilizację oddziaływań hydrofobowych-a co za tym idzie białko występuje w formie stale aktywnej. [3] Wykazano, iż aktywność białka BRAF z obecną mutacją V600E jest 480 razy większa od podstawowej, oraz posiada niespełna pięciokrotnie większą zdolność do aktywacji kinaz niż enzym w formie niezmutowanej. [4]

Udowodniony wpływ obecności mutacji na rozwój, jak również jej znacząca częstość występowania wśród wszystkich przypadków chorych w nowotworach takich jak czerniak stanowi punkt wyjściowy dla metod terapeutycznych wykorzystujących leki blokujące transkrypcję ww. białka. [1]

CZERNIAK ETIOLOGIA I EPIDEMIOLOGIA

Czerniak jest złośliwym nowotworem skóry, wywodzącym się z neuroektodermalnych komórek melanocytarnych. Wśród najbardziej istotnych czynników zwiększonego ryzyka zachorowania wymienia się takie jak: nadmierna ekspozycja na promieniowanie ultrafioletowe (zarówno promienie słoneczne jak i tak zwane solaria), immunosupresja, jasny fenotyp skóry, mnogie znamiona, czy dodatni wywiad rodzinny. [5,6] Dodatkowo badania kohortowe wskazują, że rozwój tego nowotworu koreluje z intensywnością ekspozycji w większym stopniu niż czasie (częściej pojawia się na skórze narażonej w przeszłości na

krótkotrwałą i intensywną ekspozycję niż przewlekłą). Co za tym idzie udowodnionym czynnikiem ryzyka będzie znaczna liczba oparzeń słonecznych w dzieciństwie. [1]

Według Krajowego Rejestru Nowotworów w Polsce dochodzi do około 2400 nowych zachorowań rocznie (6 przypadków na 100 tysięcy ludności), natomiast co istotne-liczba zachorowań wykazuje znaczną dynamikę wzrostu. W 2002 roku zaobserwowano niemal trzykrotnie większą liczbę rozpoznań niż w roku 1982. [6]

Wśród nowotworów skóry, melanoma stanowi główną przyczynę zgonów. Wskaźniki 5-letniego przeżycia określa się na poziomie 70-95% we wczesnych postaciach, oraz odpowiednio 20-70% i 20-30% w stadium regionalnym i zaawansowanym z przerzutami (PTOK 2019). Należy również nadmienić, iż wg Krajowego Rejestru Nowotworów w latach 2007-2017 odnotowano powolny wzrost liczby zgonów z powodu ww. nowotworu skóry, z najwyższą jak do tej pory liczbą w wysokości 1410 przypadków.

BIAŁKO BRAF A CZERNIAK

Mutacja białka BRAF występuje u około 50% pacjentów z rozpoznaniem czerniakiem skóry (ponad 90% stanowi mutacja V600E). Jest częstsza u pacjentów, u których nowotwór pojawił się na skórze pozbawionej indukowanym przez słońce przewlekłym uszkodzeniem. Rzadziej natomiast jest rozpoznawana wśród pacjentów, u których zmiany powstają z części śluzówkowej bądź szczytowej skóry. [7] Obecność mutacji związana jest z młodszym wiekiem pacjenta w chwili zachorowania (rozpoznanie przed 55 rokiem życia), częstszym przerzutowaniem do regionalnych węzłów chłonnych, występowaniem owrzodzeń oraz silniejszym naciekaniem limfocytów. W pewnym konflikcie pozostaje natomiast kwestia wpływu na całkowitą przeżywalność tej grupy chorych, co do którego źródła są sprzeczne. [1]

BADANIA NAD WPROWADZENIEM INHIBITORÓW BRAF DO TERAPII

Sorafenib, czyli nieselektywny doustny inhibitor kinaz tyrozynowych w związku z zachęcającymi wynikami badań przedklinicznych (w tym na modelach mysich) został dopuszczony do badań klinicznych. Niestety, badanie II fazy u chorych z przerzutowym czerniakiem w żaden sposób nie potwierdziło przeciwnowotworowej aktywności leku. Spośród 37 osób tylko jedna wykazała odpowiedź na leczenie zgodnie z kryteriami RECIST dla guzów litych. Kolejne badania kliniczne II i III fazy nie udowodniły skuteczności działania sorafenibu zarówno samodzielnego jak i w połączeniu z karboplatyną i

paklitakselem. Rozczarowujące wyniki jak również ilość działań niepożądanych leku skłoniła do poszukiwań inhibitorów nowej generacji. [1,7]

W Polsce sorafenib zarejestrowany jest do leczenia zaawansowanego raka nerkowokomórkowego u osób u których leczenie interferonem-alfa lub interleukiną-2 się nie powiodło, lub którzy nie zostali zakwalifikowani do tego leczenia, jak również w postępującym, przerzutowym lub miejscowo zaawansowanym, zróżnicowanym raku tarczycy, który wykazał oporność na terapię jodem radioaktywnym. [8]

Kolejnym inhibitorem, którego działanie zbadano był wemurafenib, niskocząteczkowy lek blokujący ekspresję BRAF V600E do stosowania doustnego. W badaniach in vitro wykazano indukowanie przez niego zatrzymania cyklu komórkowego (faza G1). Prowadzi do tego zahamowanie fosforylacji ERK w zmutowanych komórkach czerniaka. Nie wykazano tego działania w komórkach z prawidłowym, niezmutowanym BRAF. W badaniu klinicznym I fazy dotyczącym grupy 32-pacjentów z przerzutowym nowotworem uzyskano zadowalające wyniki zarówno pod względem skuteczności leku, jak i toksyczności dawki. Finalnie na leczenie zareagowało aż 81% chorych, wśród których u 2 wystąpiła całkowita remisja. W związku z tym sukcesem przeprowadzono wielośrodkowe badanie kliniczne II i III fazy, którego wyniki potwierdziły efektywność działania jak i bezpieczeństwo w stosowaniu wemurafenibu. Nie oznacza to jednakże, iż lek nie wykazuje działań niepożądanych. Podczas badań zaobserwowano występowanie łysienia, nadwrażliwości na światło, bólu stawów, zmian skórnych oraz zmęczenia. Ponadto ze względu na zjawisko paradoksalnej aktywacji białek RAS w wyniku blokowania enzymu BRAF, po kilku miesiącach od rozpoczęcia terapii wemurafenibem zaobserwowano pojawienie się wtórnych nowotworów, takich jak rogiowiak kolczystokomórkowy czy rak kolczystokomórkowy skóry. Nowowory te wystąpiły z częstością około 26%.

W 2011 roku po wynikach kolejnych trzech wielośrodkowych badań klinicznych został zaakceptowany przez Agencję ds. Żywności i Leków (FDA) w terapii zaawansowanego lub nieresekcyjnego czerniaka z mutacją BRAF V600E u dorosłych pacjentów. W 2012 roku tą samą rekomendację wemurafenib uzyskał od Europejskiej Agencji Medycznej (EMA). [1]

Stosowanie wemurafenibu jest obarczone ryzykiem konieczności redukcji dawki z powodu działań niepożądanych. Wystąpienie ww. nowotworów skóry nie wymaga odstawienia leku, natomiast jest wskazaniem do leczenia miejscowego. W 2012 roku przedstawiono obiecujące

wyniki dla kolejnego inhibitora BRAF- dabrafenibu, którego skuteczność działania jest porównywalna, ale posiada inny profil toksyczności (między innymi mniejszą toksyczność w obrębie skóry). Kolejne badania wykazały zasadność zastosowania kombinacji leków w postaci inhibitora BRAF i MEK. Ich wyniki przedstawiły większą skuteczność w stosunku do monoterapii przy braku zwiększania toksyczności. Średnia przeżycia pacjentów przy zastosowaniu tego połączenia lekowego wydłużyła się z około 12-15 do 23-25 miesięcy. Najwyższy wskaźnik przeżycia całkowitego uzyskuje się u pacjentów z prawidłową aktywnością dehydrogenazy mleczanowej oraz prawidłowym stężeniem LDH i przerzutami w mniej niż 3 narządach. Te kombinacje lekowe (dabrafenib z trametynibem lub wemurafenib z kobimetynibem) dostępne są obecnie w Polsce w ramach programu lekowego w terapii pacjentów z zaawansowanym czerniakiem z mutacją BRAF V600E. Leki te wykazały również skuteczne działanie u chorych z przerzutami w mózgu, co wcześniej stanowiło niedostępną lukę w terapii systemowej przerzutujących czerniaków.

Ze względu na indukowaną przez inhibitory BRAF szybką odpowiedź, pozwalającą na uzyskanie kontroli, ale ograniczony czas trwania (u części chorych dochodzi do rozwinięcia oporności [6]), leki te powinno się traktować jako postępowanie z wyboru u pacjentów ze znaczącą masą nowotworu jak i u chorych objawowych. [5]

PODSUMOWANIE

Wyniki badań nad mutacją białka BRAF można uważać za przełomowe i przyczyniające się do wzrostu wiedzy na temat rozwoju niektórych nowotworów takich jak czerniak. Dalsze pozwolą na lepszą diagnostykę, odkrycie nowych sposobów leczenia i prowadzenia terapii personalizowanej a w konsekwencji do przedłużenia całkowitego czasu przeżycia pacjentów z nowotworami złośliwymi.

Bibliografia:

1. Zaleśna I, Hartman ML, Czyż M. Znaczenie mutacji BRAF dla progresji i terapii czerniaka, raka brodawkowatego tarczycy i raka jelita grubego [BRAF mutation in progression and therapy of melanoma, papillary thyroid carcinoma and colorectal adenocarcinoma]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2016 May 9;70:471-88. Polish. doi: 10.5604/17322693.1201719. PMID: 27180965.

2. Cope N, Candelora C, Wong K, Kumar S, Nan H, Grasso M, Novak B, Li Y, Marmorstein R, Wang Z. Mechanism of BRAF Activation through Biochemical Characterization of the Recombinant Full-Length Protein. *Chembiochem*. 2018 Sep 17;19(18):1988-1997. doi: 10.1002/cbic.201800359. Epub 2018 Aug 17. PMID: 29992710; PMCID: PMC6504641.
3. Paweł M. Potocki, Piotr J. Wysocki. BRAF — nowy cel terapeutyczny w raku jelita grubego [BRAF — a new therapeutic target in colorectal cancer]. *Varia Medica* 2018 tom 2, nr 3, strony 247–257 Copyright © 2018 Via Medica ISSN 2544-4212 *Oncol Clin Pract* 2018; 14; DOI: 10.5603/OCP.2018.0013 Polish
4. Wan P.T., Garnett M.J., Roe S.M., Lee S., Niculescu-Duvaz D., Good V.M., Jones C.M., Marshall C.J., Springer C.J., Barford D., Marais R., Cancer Genome Project: Mechanism of activation of the RAFERK signaling pathway by oncogenic mutations of B-RAF. *Cell*, 2004; 116: 855-867
5. Piotr Rutkowski, Piotr J. Wysocki Cutaneous melanomas *Oncol Clin Pract* 2017;13(6):241-258 DOI: 10.5603/OCP.2017.0038 Polish
6. Krajowy Rejestr Nowotworów <http://onkologia.org.pl/czerniak-skory-2/>
7. Ascierto PA, Kirkwood JM, Grob JJ, Simeone E, Grimaldi AM, Maio M, Palmieri G, Testori A, Marincola FM, Mozzillo N. The role of BRAF V600 mutation in melanoma. *J Transl Med*. 2012 Jul 9;10:85. doi: 10.1186/1479-5876-10-85. PMID: 22554099; PMCID: PMC3391993.
8. Sorafenib (opis profesjonalny) <https://www.mp.pl/pacjent/leki/subst.html?id=4577>