

© 2023 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева»
Минздрава России
Поступила 21.11.2022
Принята к печати 29.12.2022

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-122-125

Резистентность к терапии BRAF-ингибиторами у пациента с *BRAF V600E*-позитивным гистиоцитозом из клеток Лангерганса

Э.И. Людовских, Д.А. Евсеев, Д.С. Осипова, Е.В. Райкина, И.И. Калинина,
Д.Д. Байдильдина, А.А. Масчан, М.А. Масчан

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии
и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Контактная информация:

Людовских Эвелина Игоревна,
врач-детский онколог отделения
трансплантации гемопоэтических
стволовых клеток №2
ФГБУ «НМИЦ ДГОИ
им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва,
ул. Саморы Машела, 1
E-mail: evcola@yandex.ru

В статье представлен клинический случай применения траметиниба в составе комбинированной терапии *BRAF*-позитивного гистиоцитоза из клеток Лангерганса. На фоне длительной терапии *BRAF*-ингибитором у пациента произошла реактивация основного заболевания. На основании этого было выдвинуто предположение о формировании резистентности к терапии путем возникновения субклональной мутации. Был сделан вывод, что данное событие ставит под вопрос эффективность длительной терапии *BRAF*-ингибиторами и подчеркивает необходимость дальнейшего изучения возможных молекулярно-генетических механизмов патогенеза гистиоцитоза из клеток Лангерганса, а также разработки новых подходов к терапии. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Ключевые слова: гистиоцитоз из клеток Лангерганса, *BRAF V600E*, *BRAF*-ингибиторы, *MEK*-ингибиторы, дети

Людовских Э.И. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023; 22 (1): 122–5. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-122-125

© 2023 by «D. Rogachev NMRCPHOI»

Received 21.11.2022
Accepted 29.12.2022

Resistance to *BRAF* inhibitors in a patient with *BRAF V600E*-positive Langerhans cell histiocytosis

E.I. Lyudovskikh, D.A. Evseev, D.S. Osipova, E.V. Raykina, I.I. Kalinina, D.D. Baidildina, A.A. Maschan,
M.A. Maschan

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare
of the Russian Federation, Moscow

Correspondence:

Evelina I. Lyudovskikh,
a pediatric oncologist at the Department
of Hematopoietic Stem Cell Transplantation
№2 at the Dmitry Rogachev National Medical
Research Center of Pediatric Hematology,
Oncology and Immunology of Ministry
of Healthcare of the Russian Federation
Address: 1 Samory Mashela St.,
Moscow 117997, Russia
E-mail: evcola@yandex.ru

Here we report a clinical case of a patient with *BRAF*-positive Langerhans cell histiocytosis treated with combination therapy including trametinib. As the patient was undergoing long-term therapy with a *BRAF* inhibitor, his underlying disease reactivated. Hence it was suggested that the child might have become resistant to the treatment as a result of a subclonal mutation. It was concluded that this event undermined the efficacy of long-term therapy with *BRAF* inhibitors and highlighted the need for further study of possible molecular genetic mechanisms involved in the pathogenesis of Langerhans cell histiocytosis, as well as the need for the development of new treatment approaches. The patient's parents gave consent to the use of their child's data, including photographs, for research purposes and in publications.

Key words: Langerhans cell histiocytosis, *BRAF V600E*, *BRAF* inhibitors, *MEK* inhibitors, children

Lyudovskikh E.I., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (1): 122–5.
DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-1-122-125

Гистиоцитоз из клеток Лангерганса (ГКЛ) – заболевание, которое характеризуется аномальной пролиферацией и накоплением в органах и тканях клеток, фенотипически схожих с обычными клетками Лангерганса. Таким образом, это может приводить к избыточному разрастанию, локальному повреждению и нарушению функции пораженных органов [1].

Клетки Лангерганса – представители дендритных клеток, которые имеют моноцитарно-макрофагальное происхождение и выполняют в организме антигенпрезентирующую функцию [2]. Главным звеном патогенеза является клональная пролиферация патологических клеток Лангерганса и последую-

ющая дисрегуляция взаимодействия клеток иммунной системы в очагах поражения. В патологический процесс могут вовлекаться различные органы и ткани, а клиническое течение разнообразно и зависит от системности заболевания.

ГКЛ встречается, по разным оценкам, приблизительно с частотой 3–10 случаев на 1 000 000 детского населения в год [3]. Соотношение мальчиков и девочек составляет 2:1. Частота развития ГКЛ у новорожденных составляет 1–2 случая на 1 000 000 [4]. Пик заболеваемости и средний возраст постановки диагноза составляет 3,5 года [1, 4].

Согласно опубликованным данным, примерно у 60% пациентов с ГКЛ обнаружена мутация *BRAF*

V600E, приводящая к активации киназного пути RAS–RAF–MEK–ERK–MAP. Современные протоколы лечения, основанные на комплексном применении химиопрепаратов, обеспечивают выживаемость до 98% [5, 6], но обладают высокой токсичностью, а также достаточно продолжительным ответом на лечение. Для части пациентов существует возможность применения таргетной терапии.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Ребенок рожден от 1-й беременности, 1-х родов. На фоне слабости родовой деятельности было проведено родоразрешение путем экстренного кесарева сечения. Вес при рождении 3680 г, рост – 54 см. Аллергоанамнез и наследственность не отягощены. Родители пациента дали согласие на использование информации, в том числе фотографий ребенка, в научных исследованиях и публикациях.

Дебют заболевания произошел в возрасте 2 лет, когда на спине у ребенка появились пустулезно-геморрагические элементы, петехиальная сыпь, а также гепатоспленомегалия.

Учитывая данные симптомы, ребенок был госпитализирован в стационар по месту жительства. При инициальной диагностике в миелограмме выявлены гипоклеточный костный мозг и единичная гемофагия.

Впоследствии в миелограмме выявлены гемофаги в большом количестве. В гемограмме – анемия тяжелой степени, тромбоцитопения.

Для дообследования и начала специфической терапии ребенок был госпитализирован в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, где установлен диагноз: ГКЛ, мультисистемная форма с поражением кожи, органов риска (печень, селезенка, костный мозг).

Пациенту начата терапия по научно-исследовательскому протоколу NCT03585686 «Открытое исследование эффективности и безопасности применения вемурафениба в сочетании с комбинированной терапией цитарабином/2-хлордезоксиденозином у пациентов с ГКЛ с наличием мутации V600E в гене *BRAF*» [6], инициирован курс терапии вемурафенибом без верификации мутации (письменное информированное согласие мамы получено) ввиду тяжести состояния ребенка при поступлении, а также высоких рисков осложнений.

На фоне проводимой специфической терапии отмечалась выраженная положительная динамика в виде сокращения размеров печени, селезенки, разрешения пятнисто-папулезной сыпи.

В то же время пациенту было проведено молекулярно-генетическое исследование биоптата кожи методом мутационно-специфической полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с последующим секвенированием по Сэнгеру, по

результатам которого была обнаружена мутация V600E в гене *BRAF*.

Учитывая положительную динамику клинической картины, верификацию мутации в гене *BRAF*, а также хорошую переносимость препарата, была продолжена терапия в рамках протокола.

Согласно протоколу ребенку был проведен мониторинг аллельной нагрузки мутации *BRAF* V600E. По результатам исследования аллельная нагрузка мутации определялась в свободно циркулирующей ДНК (сцДНК) и популяции миелоидных предшественников (CD34⁺CD117⁺) инициально, а также в каждой последующей контрольной точке.

Окончив специфическую терапию по протоколу, пациент выписан под наблюдение по месту жительства в стабильном соматическом статусе.

Очередная госпитализация в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева была проведена в целях контроля статуса основного заболевания. Учитывая снижение показателей крови, а также сохранение специфической сыпи и аллельной нагрузки мутации (рисунки 1), состояние ребенка трактовано как рефрактерное течение заболевания. Принято решение о возобновлении терапии вемурафенибом в дозе 240 мг/сут перорально, на фоне которой отмечалось нивелирование всех симптомов, и пациент был выписан под наблюдение по месту жительства.

Спустя 1 год у ребенка появились неспецифические симптомы: пятнисто-папулезная сыпь в естественных складках, кризы с повышением температуры до фебрильных цифр, гепатоспленомегалия (рисунки 2) и трехростковая цитопения.

На фоне приема глюкокортикостероидов по месту жительства соматический статус стабилизировался, отмечались уменьшение печени и селезенки, нивелирование сыпи. В целях определения дальнейшей тактики терапии пациент в очередной раз был госпитализирован в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

Рисунок 1

Мониторинг аллельной нагрузки мутации *BRAF* V600E методом цифровой капельной полимеразной цепной реакции в свободно циркулирующей ДНК в 6 контрольных точках согласно протоколу. Синие точки отражают наличие амплификации мутантного аллеля

Figure 1
BRAF V600E allele load monitoring in circulating free DNA using droplet digital polymerase chain reaction at 6 time points as defined in the protocol. The blue dots indicate mutant allele amplification

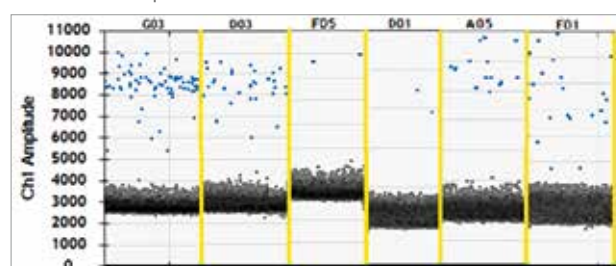
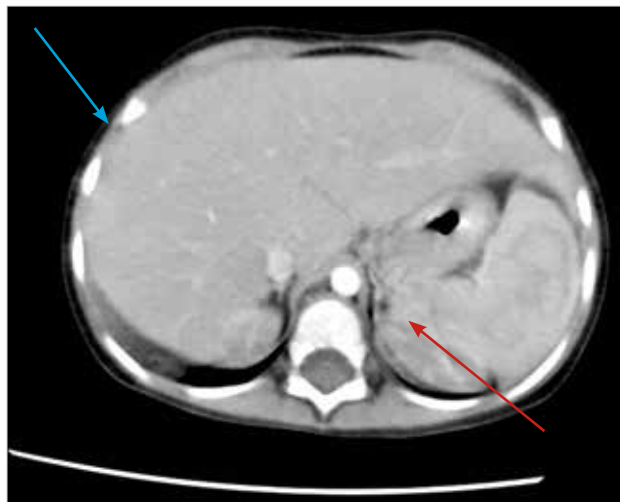


Рисунок 2

Мультиспиральная компьютерная томография органов брюшной полости с контрастным усилением. Исследование при возможной реактивации заболевания. Синей стрелкой обозначена гепатомегалия, красной стрелкой – спленомегалия

Figure 2

Contrast-enhanced multispiral computed tomography of the abdominal cavity. The computed tomography was performed because of suspected disease reactivation. The blue arrow indicates hepatomegaly, the red arrow – splenomegaly



Отмечено нарастание симптомов реактивации основного заболевания в виде увеличения печени и селезенки, появления пустулезных и инфильтративных элементов по всему телу, фебрильной лихорадки.

Таким образом, учитывая результаты проведенного дообследования и наличие анамнестически сходного процесса наряду с лихорадкой неясного генеза, гепатоспленомегалией, а также элевацией воспалительных маркеров на фоне проводимой терапии BRAF-ингибитором (вемурафениб), наиболее вероятной причиной возникновения данного процесса могло стать появление субклональной мутации, что привело к невозможности контроля заболевания данным препаратом.

На основании этого было принято решение о начале специфической терапии MEK-ингибитором (траметиниб 0,5 мг/сут перорально). На 2-е сутки приема BRAF- и MEK-ингибиторов отмечалась положительная динамика в виде уменьшения размеров печени и селезенки, афебрилитета и полного восстановления гемопоэза. Проявлений какой-либо токсичности препаратов не выявлено.

Таким образом, на фоне терапии BRAF- и MEK-ингибиторами отмечалось клинико-гематологическое улучшение. Пациент был выписан по месту жительства в стабильном соматическом статусе. Через 2 мес было проведено контрольное обследование, по результатам которого пациент по-прежнему находился в клинико-гематологической ремиссии.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Учитывая разные формы и множество проявлений ГКЛ, его терапия не может быть универсальной. На данный момент стандартом лечения является протокол Международного гистиоцитарного сообщества (HS) LCH-IV [7]. Согласно протоколу пациентам групп промежуточного и высокого риска показана системная полихимиотерапия.

В НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева разработан научно-исследовательский протокол [8], согласно которому пациенты с подтвержденной мутацией *BRAF* V600E получают таргетную терапию BRAF-ингибитором в сочетании с комбинированной полихимиотерапией (низкие дозы цитарабина и кладрибина).

За период наблюдения у пациента констатировано рефрактерное течение заболевания в связи с появлением симптомов реактивации на фоне терапии цитозаром и кладрибином. С учетом этого было принято решение о возобновлении терапии вемурафенибом, в результате чего был достигнут полный ответ.

В данном случае у пациента на фоне терапии вемурафенибом в монорежиме в первые месяцы отмечался полный ответ в виде регресса всех симптомов основного заболевания.

В течение нескольких месяцев сохранялся ответ на терапию, однако через год на фоне применения вемурафениба появились признаки реактивации заболевания в виде снижения показателей гемопоэза, появления пустулезных элементов на коже по всему телу, увеличения объема живота за счет гепатоспленомегалии, а также лихорадки неясного генеза.

В целях выяснения генеза вышеописанного симптомокомплекса был исключен инфекционный генез заболевания. Принимая во внимание схожие симптомы в самом дебюте заболевания, сохранение мутации *BRAF* V600E в сДНК и популяции миелоидных предшественников, а также адекватную концентрацию вемурафениба, было выдвинуто предположение о формировании резистентности к терапии BRAF-ингибиторами путем возникновения субклональной мутации в патологических клетках Лангерганса. Таким образом, было принято решение о комбинировании таргетной терапии путем добавления траметиниба. На 5-е сутки отмечался полный регресс симптомов.

Так как при инициальном исследовании была выявлена характерная для ГКЛ мутация *BRAF* V600E, поиск дополнительных мутаций не проводили. Поиск субклональной мутации диагностически затруднен в связи с отсутствием субстратов на периферии (кожа) и крайне низким содержанием патологических клеток в костном мозге.

Эффективность добавления к прежней терапии MEK-ингибитора (быстрый регресс всех имеющихся

симптомов) однозначно свидетельствует о наличии дополнительного события в патологических клетках и формировании субклонального события.

Патологические гистиоциты сохраняли мутацию *BRAF* V600E, что, вероятно, позволяло контролировать течение заболевания на фоне терапии вемурафенибом. При анализе зарубежной литературы отмечено только одно сообщение [9] о клиническом случае ребенка, у которого на фоне длительной терапии дабрафенибом при лечении *BRAF* V600E-позитивного ГКЛ развился острый миелоидный лейкоз. В качестве молекулярно-генетического исследования было проведено высокопроизводительное секвенирование, которое выявило моносомию 7, *BRAF* V600E, *NRAS*-, *KRAS*- и *EZH2*-мутации в костном мозге. Дополнительные соматические мутации неясного значения были идентифицированы как в образцах ГКЛ, так и в образцах острого миелоидного лейкоза. Это натолкнуло на теорию о возможной потенциальной злокачественной трансформации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленный клинический случай позволяет усомниться в эффективности долгосрочного приема ингибиторов пути МАРК у пациентов с ГКЛ и демонстрирует необходимость дополнительных исследований для изучения новых возможностей терапии.

Понимание патогенетических особенностей киназного пути МАРК может помочь как исследователям, так и практикующим врачам в разработке новых подходов к использованию различных комбинаций препаратов, например, как в описанном случае, совместного применения *BRAF*- и *MEK*-ингибиторов.

В настоящее время в литературе начали появляться сообщения о прогрессии или трансформации ГКЛ на длительной терапии *BRAF*-ингибиторами [10], что ранее считалось невозможным, например, в отличие от меланомы, при которой известно, что медиана наблюдения до формирования резистентности к *BRAF*-ингибиторам составляет 1 год [9]. Наиболее частыми вторыми событиями являются мутации пути *RAS*–*RAF*–*MEK*–*ERK*, некоторые из которых как раз могут быть заблокированы путем применения *MEK*-ингибиторов. Но если метастатическая форма меланомы – высокозлокачественное заболевание с высоким индексом пролиферации, то ГКЛ не обладает подобными свойствами. Вероятно, в связи с этим практически отсутствуют сообщения о формировании дополнительных мутаций, способных обусловить резистентность к *BRAF*-ингибиторам, что подчеркивает важность данного клинического случая.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование проведено при поддержке гранта Российского научного фонда, проект №22-15-00450.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Lyudovskikh E.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0717-2019>

Evseev D.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8610-0624>

Osipova D.S. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9968-9332>

Raykina E.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7634-2053>

Kalinina I.I. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0813-5626>

Baidildina D.D. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7130-8596>

Maschan A.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0016-6698>

Maschan M.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1735-0093>

Литература

1. Румянцев А.Г., Масчан А.А. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению гистиоцитоза из клеток Лангерганса. М.; 2014.
2. Lipscomb M.F., Masten B.J. Dendritic Cells: Immune Regulators in Health and Disease. *Physiol Rev* 2002; 82: 97–130.
3. Stålemark H., Laurencikas E., Karis J., Gavhed D., Fadeel B., Henter J.-I. Incidence of Langerhans cell histiocytosis in children: A population-based study. *Pediatr Blood Cancer* 2008; 51 (1): 76–81.
4. Minkov M., Prosch H., Steiner M., Grois N., Pötschger U., Kaatsch P., et al. Langerhans cell histiocytosis in neonates. *Pediatr. Blood Cancer* 2005; 45 (6): 802–7. DOI: 10.1002/pbc.20362
5. Donadieu J., Héritier S. Histiocytose langerhansienne de l'enfant. *Presse Med* 2017; 46 (1): 85–95.
6. Berres M., Lim K.P.H., Peters T., Price J., Takizawa H., Salmon H., et al. *BRAF*-V600E expression in precursor versus differentiated dendritic cells defines clinically distinct LCH risk groups. *J Exp Med* 2014; 211 (4): 669–83. DOI: 10.1084/jem.20130977
7. LCH-IV, International Collaborative Treatment Protocol for Children and Adolescents With Langerhans Cell Histiocytosis – Full Text View – ClinicalTrials.gov [Electronic resource]. URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02205762> (accessed 26.10.2022).
8. Проспективное нерандомизированное клиническое испытание фазы II вемурафениба в комбинации с цитарабином и 2-хлордезоксиденозином у детей с гистиоцитозом клеток Лангерганса с мутацией *BRAF* V600E [Электронный ресурс]. URL: <https://ichgcp.net/ru/clinical-trials-registry/NCT03585686> (дата обращения 26.10.2022).
9. Salek M., Oak N., Hines M., Maciaszek J.L., Tatevossian R., Sharma A., et al. Development of *BRAF* V600E-positive acute myeloid leukemia in a patient on long-term dabrafenib for multisystem LCH. *Blood Adv* 2022; 6 (8): 2681–4. DOI: 10.1182/bloodadvances.2021006229
10. Proietti I., Skroza N., Bernardini N., Tolino E., Balduzzi V., Marchesello A., et al. Mechanisms of Acquired *BRAF* Inhibitor Resistance in Melanoma: A Systematic Review. *Cancers (Basel)* 2020; 12 (10): 2801.