

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2024.06.3-10>

Однонуклеотидные замены в генах сигнального пути MAPK (NRAS, KRAS, BRAF) при плазмноклеточных новообразованиях

Руденкова Т.В.¹, Климович Н.Н.¹, Костюк С.А.¹, Козич Ж.М.²

1 – Белорусский государственный медицинский университет
220083, Республика Беларусь, г. Минск, пр. Дзержинского, д. 83

2 – Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека
246040, Республика Беларусь, г. Гомель, ул. Ильича, д. 290

Плазмноклеточные новообразования представляют собой мультифокальную неопластическую пролиферацию плазматических клеток, секретирующих моноклональный белок. При формировании множественной миеломы происходит многоступенчатый процесс трансформации клеток, включающий изменения генетического профиля из-за дополнительных событий, таких как соматические мутации, эпигенетические и хромосомные изменения, что приводит к прогрессированию заболевания от моноклональной гаммапатии неутонченного значения до симптоматической множественной миеломы и, в конечном итоге, у некоторых пациентов к агрессивному экстрамедуллярному заболеванию. Профиль генетических изменений, ассоциированных с прогрессированием плазмноклеточных новообразований, включает однонуклеотидные замены в генах сигнального пути MAPK. Белки семейств RAS и RAF являются компонентами сигнального пути RAS/RAF/MEK/ERK, который переносит внешние сигналы в ядро клетки. Однонуклеотидные замены в генах RAS и RAF приводят к необоснованной активации каскадных реакций сигнального пути MAPK, вызывая изменения клеточного цикла и опосредуя злокачественную трансформацию клеток.

Ключевые слова: плазмноклеточные новообразования, множественная миелома, сигнальный путь MAPK, однонуклеотидные замены, NRAS, KRAS, BRAF.

Для цитирования: Руденкова Т.В., Климович Н.Н., Костюк С.А., Козич Ж.М. Однонуклеотидные замены в генах сигнального пути MAPK (NRAS, KRAS, BRAF) при плазмноклеточных новообразованиях. *Медицинская генетика* 2024; 23(6): 3-10.

Автор для корреспонденции: Руденкова Т.В.; e-mail: t.rudenkova@mail.ru

Финансирование. Исследование выполнено без спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 18.06.2024

Single nucleotide polymorphisms in the mark signaling pathway genes (NRAS, KRAS, BRAF) in plasma cell neoplasms

Rudenkova T.V.¹, Klimkovich N.N.¹, Kostiuk S.A.¹, Kozich J.M.²

1 – Belarusian State Medical University
83, Dzerzhinsky Ave., Minsk, 220083, Republic of Belarus

2 – Republican Scientific and Practical Center for Radiation Medicine and Human Ecology
290, Ilyicha st., Gomel, 246040, Republic of Belarus

Plasma cell neoplasms are a multifocal neoplastic proliferation of plasma cells that secrete a monoclonal protein. During the formation of multiple myeloma, a multistep process of cell transformation occurs, including changes in the genetic profile due to additional events such as somatic mutations, epigenetic and chromosomal changes, which leads to the progression of the disease from monoclonal gammopathy of unspecified significance to symptomatic multiple myeloma and, ultimately, in some patients to aggressive extramedullary disease. The profile of genetic changes associated with the progression of plasma cell neoplasms includes single nucleotide polymorphisms in the genes of the MAPK signaling pathway. Proteins of the RAS and RAF families are components of the RAS/RAF/MEK/ERK signaling pathway, which transmits external signals into the cell nucleus. Single-nucleotide polymorphisms in the RAS and RAF genes lead to aberrant activation of the MAPK signaling pathway cascade reactions, causing changes in the cell cycle and mediating malignant transformation of cells.

Key words: plasma cell neoplasms, multiple myeloma, MAPK signaling pathway, single nucleotide polymorphisms, NRAS, KRAS, BRAF.

For citation: Rudenkova T.V., Klimkovich N.N., Kostiuk S.A., Kozich J.M. Single nucleotide polymorphisms in the MARK signaling pathway genes (NRAS, KRAS, BRAF) in plasma cell neoplasms. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]* 2024; 23(6): 3-10. (In Russ.)

Corresponding author: T.V. Rudenkova; e-mail: t.rudenkova@mail.ru

Funding. The study was carried out without sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Accepted: 18.06.2024

Плазмоклеточные новообразования представляют собой мультифокальную неопластическую пролиферацию плазматических клеток в костном мозге, секретирующих моноклональный белок. Это гетерогенная группа заболеваний включает моноклональную гаммапатию неустоенного значения (MGUS — monoclonal gammopathy of undetermined significance), множественную миелому (ММ), болезнь Вальденстрема, первичный системный амилоидоз легких цепей, экстрамедуллярную плазмоцитому, POEMS синдром и так далее [1].

Множественная миелома — злокачественное новообразование, при котором пролиферирующий клон представлен опухолевыми плазматическими клетками (ПК), секретирующими моноклональный белок, представленный иммуноглобулинами IgG, IgA, IgD, IgE и/или лёгкими цепями (κ и λ). Клинические симптомы, связанные с этим заболеванием, обусловлены поражением костного мозга, секрецией парапротеина, активацией остеокластов, что приводит к повреждению органов-мишеней, нарушению функции почек, поражению костей скелета и развитию панцитопении. Несмотря на достижения в лечении, включая ингибиторы протеасом, иммуномодулирующие препараты и таргетные моноклональные антитела, которые повысили показатели общей выживаемости пациентов, ММ по-прежнему считается неизлечимым заболеванием. Однако у некоторых пациентов болезнь прогрессирует в течение нескольких месяцев после постановки диагноза, тогда как другие живут более 10 лет [2-7].

По результатам эпидемиологических исследований среднегодовой показатель заболеваемости ММ составляет 3—4 случая на 100 000 населения в год, однако исследователи отмечают существенные межпопуляционные и межрасовые различия в распространённости данной патологии. Считается, что развитие ММ характерно для пациентов пожилого возраста. Распространённость данной патологии среди пациентов моложе 40 лет составляет около 2%, а с увеличением возраста экспоненциально возрастает, и среди пациентов старше 80 лет показатель заболеваемости составляет 64,5 на 100 000 населения.

Гетерогенность опухоли является ключевым фактором, влияющим на вариабельность клинического течения и выживаемость пациентов с ММ. Спектр молекулярно-генетических маркеров, которые имеют прогностическое значение при ММ постоянно расширяется, а понимание механизмов молекулярного патогенеза ММ постоянно совершенствуется, что сопровождается внедрением в клиническую практику новых высо-

котехнологических методов молекулярной диагностики, использование которых позволяет прогнозировать варианты клинических исходов и оптимизировать выбор тактики лечения пациентов с ММ [4, 8].

При формировании ММ происходит многоступенчатый процесс трансформации клеток, включающий изменения генетического профиля из-за дополнительных событий, таких как соматические мутации, эпигенетические и хромосомные изменения, что приводит к прогрессированию заболевания от моноклональной гаммапатии неустоенного значения до симптоматической ММ и, в конечном итоге, у некоторых пациентов к агрессивному экстрамедуллярному заболеванию [9].

Первичные генетические аномалии при формировании ММ, такие как трисомия 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 и 21 хромосом, транслокации, включающие locus тяжелой цепи иммуноглобулина (IgH) на хромосоме 14q32, обнаруживаются у пациентов уже на стадии моноклональной гаммапатии неустоенного значения. Некоторые пациенты с этими генетическими аномалиями могут сохранять диагноз моноклональная гаммапатия неустоенного значения в течение многих лет без трансформации в ММ. Это позволяет предположить, что данные генетические факторы участвуют в инициации клонирования, но не опосредуют злокачественную трансформацию [10].

Профиль генетических изменений, ассоциированных с прогрессированием заболевания, включает однонуклеотидные замены в генах сигнального пути MAPK (mitogen activated protein kinase — митоген-активируемой протеинкиназы), таких как *KRAS*, *NRAS* и *BRAF*. Сигнальный путь MAPK (также известный как путь RAS/RAF/MEK/ERK) активируется в ответ на внешние стимулы и регулирует процессы пролиферации, дифференцировки и апоптоза клеток в ответ на стимулирующее воздействие цитокинов, факторов роста, гормонов и других факторов окружающей среды. MAPK-путь представляет собой трехуровневый киназный каскад, состоящий из высоко консервативных серин/треониновых протеинкиназ, который реагирует на внешние стимулы и служит для связи плазматической мембраны с цитоплазматическими и ядерными структурами клеток. Нарушения регуляции пути RAS/RAF/MEK/ERK играют одну из главных ролей в контексте онкогенеза. Поэтому внимание исследователей направлено на гены сигнального пути MAPK при изучении и поиске генетических маркеров, обладающих потенциалом для оценки риска возникновения и прогрессирования онкологических заболеваний [11-15].

Путь MAPK, опосредованный белками RAF, является одним из нескольких важных каскадов активируемых RAS-белками. Находящийся на мембране белок RAS после взаимодействия с внешним стимулом активирует белок RAF (ARAF, BRAF или CRAF), который в свою очередь фосфорилирует и активирует MEK1 и/или MEK2, запускающий фосфорилирование и активацию ERK1 и/или ERK2. ERK1/2 являются конечными эффекторами и оказывают влияние на большое количество нижестоящих молекул-посредников, как ядерных, так и цитозольных. Субстратами ERK1/2 выступают ядерные компоненты, факторы транскрипции, мембранные белки и протеинкиназы, которые контролируют процессы клеточного гомеостаза [16, 17].

Сложная схема взаимодействий между множеством молекул сигнального пути RAS/RAF/MEK/ERK призвана поддерживать в клетке баланс входящих и эффекторных сигналов, осуществлять контроль процессов клеточного цикла, роста, миграции, изменений цитоскелета, апоптоза и старения. Нарушения работы этих сетей связаны с формированием и развитием патологических процессов в организме, что подчеркивает важность их изучения для поиска объективных и надежных маркеров диагностики, критериев оценки прогноза течения и риска развития осложнений, а также для выбора адекватных терапевтических подходов к лечению пациентов [18-20].

У человека идентифицированы три гена семейства RAS: ген *HRAS* (Harvey rat sarcoma virus oncogene – гомологичный онкогену вируса саркомы крыс Харви), ген *KRAS* (Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog – гомолог онкогена вируса саркомы крыс Кирстен) и ген *NRAS* (neuroblastoma ras oncogene – впервые выделен из нейробластомы человека) [21]. Гены RAS эволюционно консервативны, включают около 30 000 п.н., имеют сходную структуру и состоят из четырех экзонов. Эти гены кодируют четыре высоко гомологичных белка (*HRAS*, *KRAS-4A*, *KRAS-4B*, *NRAS*) массой около 21 кДа, называемых p21, с общим эффекторным доменом в N-концевой области. Белки RAS располагаются на внутренней поверхности плазматической мембраны, где они могут эффективно взаимодействовать со своими вышестоящими активаторами и нижестоящими мишенями [22].

Структура белков RAS включает 5 α -спиралей и 6 β -нитей, которые образуют два основных домена: каталитический домен, называемый доменом G, и гипервариабельную область (HVR) [23]. Домен G состоит из трех областей: переключателя I (switch I), переключателя II (switch II) и эффекторной области – петли

P (P loop), которая связывает гуаниновые нуклеотиды и активирует передачу сигналов путем взаимодействия с эффекторами. Гипервариабельная область содержит мотив CAAX, связанный с мембраной.

RAS-белки могут существовать в двух состояниях: активном, в котором они связаны с молекулой GTP, и неактивном, в котором GTP гидролизован до GDP. В физиологических условиях активная изоформа инициирует пролиферацию клеток через RAS-зависимый киназный каскад. Обладая внутренней GTP-азной активностью белки RAS контролируют собственную активность путем расщепления GTP, что обеспечивает инактивацию. При опухолевой трансформации клеток точечные нуклеотидные замены в генах RAS, могут приводить к потере собственной GTP-азной активности, и в результате белок больше не способен переходить в неактивную форму и блокировать сигналы, стимулирующие пролиферацию клеток [22].

Функционально белки RAS представляют собой мембраноассоциированный регуляторный G-белок, работающий по принципу бинарного переключателя за счет присоединения GDP/GTP, который контролирует передачу сигнала от активированных мембранных рецепторов к внутриклеточным молекулам, то есть контролирует запуск сигнальных каскадов путем перехода между активированными (GTP-связанными) и инактивированными (GDP-связанными) конформациями. Активированная форма белков RAS может запускать несколько сигнальных путей, включая RAS/RAF/MEK/ERK и PI3K/AKT/mTOR в клетках млекопитающих [24].

Изменения в нуклеотидных последовательностях генов RAS являются ранними генетическими событиями при прогрессировании многих злокачественных новообразований. Однако, как правило, необходимо еще какое-либо генетическое изменение в дополнение к мутации в гене семейства RAS для онкогенной трансформации клетки, например, нарушение функции одного из генов-супрессоров опухолевого роста (*TP53*, *LKB1*, *APC*), что вместе с aberrантной активацией RAS приводит к усилению формирования и прогрессирования опухолевых клеток. Мутации в генах RAS появляются, как правило, на ранних стадиях формирования опухолевого процесса, однако установлено, что экспрессия мутантного гена RAS необходима также и для поддержания роста опухоли. В связи с этим активно развивается поиск методов лечения, направленных на подавление функции мутантных генов RAS с помощью РНК-интерференции, что приводит к на-

рушению роста RAS-ассоциированных мутантных раковых клеток [25].

По результатам проведенных мета-анализов до 30% опухолевых новообразований у человека несут однонуклеотидные замены в генах *RAS*. При изучении генетического профиля различных новообразований были выявлены высокие (около 25%) показатели частоты изменений гена *KRAS*, а в генах *NRAS* и *BRAF* распространенность изменений была ниже, около 8% и около 10%, соответственно. Появление изменений структуры генов семейства *RAS* уже на ранних стадиях прогрессирования опухоли является веским аргументом в пользу причинной роли генов этого семейства в онкогенезе. Однако необходимо отметить, что частота мутаций в разных генах *RAS*, а также спектры однонуклеотидных и аминокислотных замен существенно различаются в зависимости от вида и типа онкологического процесса [20, 26].

Драйверные мутации в генах *KRAS* или *NRAS* выявляются примерно у 20% пациентов с впервые диагностированными плазмоклеточными новообразованиями, а около 10% пациентов имеют мутации в гене *BRAF* [14, 27]. В ряде исследований было показано, что у пациентов с ММ изменения нуклеотидных последовательностей в генах семейства *RAS* преимущественно выявляются в гене *NRAS* (45–80%), а однонуклеотидные замены в гене *KRAS* составляют 20–50% случаев среди пациентов с впервые диагностированной и тлеющей миеломой. Отмечается, что замены в генах *KRAS* и *NRAS* были ассоциированы с быстрой злокачественной трансформацией и более агрессивным клиническим течением заболевания. [28–30].

Ген *KRAS* кодирует белок KRAS, который является членом суперсемейства малых GTP-аз RAS, имеет молекулярную массу 23,2 кДа, содержит 188 аминокислот и выполняет функцию первого сенсора внутриклеточных сигнальных путей. Однонуклеотидные замены в гене *KRAS* изменяют аминокислотную последовательность белка KRAS и нарушают его способность переключаться между активным и неактивным состояниями, что приводит к нарушениям клеточного цикла, злокачественной трансформации клеток и способствует формированию устойчивости к химиотерапии [31, 32].

Ген *KRAS* локализован на коротком плече хромосомы 12 (12p11.1–12p12.1), также на хромосоме 6 (6p11–12) выделяют псевдоген *KRAS1*. Ген *KRAS* уникален среди генов *RAS* тем, что он кодирует два генных продукта, которые получаются путем альтернативного сплайсинга. Различия локализованы в четвертом экзоне, что позволяет получить две изоформы KRAS-4A и KRAS-

4B, которые различаются карбокси-концевыми остатками и состоят из 189 и 188 аминокислот, соответственно. Два сплайсинговых варианта обладают и дифференциальной экспрессией. Важно отметить, что изменения нуклеотидной последовательности гена *KRAS*, обнаруживаемые при различных новообразованиях человека, которые делают KRAS конститутивно активным, расположены в экзонах 1 и 2, поэтому оба варианта сплайсинга, экспрессируемые с мутированного аллеля, кодируют онкогенные белки. Поскольку уровни мРНК KRAS-4A, ниже, чем KRAS-4B, первый считается минорным вариантом сплайсинга локуса *KRAS* [33].

В гене *KRAS* преобладают однонуклеотидные миссенс-замены, 98% из которых вызывают изменения аминокислотной последовательности в кодонах 12 (G12), 13 (G13) или 61 (Q61), препятствуя гидролизу GTP и тем самым поддерживая белки в активном состоянии, вследствие чего происходит постоянная активация сигнальных каскадов [24, 31]. Перечень аминокислотных замен в белке KRAS и ассоциированных с ними однонуклеотидных полиморфизмов в гене *KRAS* представлен в табл. 1.

Ген *NRAS* кодирует мембранный белок, который обеспечивает связь между аппаратом Гольджи и плазматической мембраной. Белок NRAS содержит 189 аминокислот, обладает внутренней GTP-азной активностью, активируется фактором обмена гуаниновых нуклеотидов. Расположен ген *NRAS* на коротком плече хромосомы 1 (1p22–1p32). Установлено, что мутации в этом гене связаны с развитием рака прямой кишки, фолликулярного рака щитовидной железы, аутоиммунного лимфопролиферативного синдрома, синдрома Нунан и ювенильного миеломоноцитарного лейкоза [14, 24, 28].

Наиболее распространенные изменения аминокислотной последовательности NRAS сосредоточены в кодоне 61 (например, Q61R и Q61K), а также в кодонах 12 или 13 (G12/13). Они, так же как и изменения в белке KRAS, способствуют сохранению GTP-ассоциированной активной конформации белка NRAS, что приводит к нарушению контроля клеточной пролиферации [14, 27, 29].

Перечень аминокислотных замен, которые были идентифицированы в кодонах 12, 13 и 61 NRAS и однонуклеотидных полиморфизмов в гене *NRAS* представлен в табл. 2.

Ген *BRAF* расположен на хромосоме 7 (7q34) и кодирует белок BRAF, состоящий из 766 аминокислот, принадлежащий к семейству серин/треониновых киназ RAF. Белок BRAF имеет три высококонсерватив-

Таблица 1. Аминокислотные замены в белке KRAS, ассоциированные с однонуклеотидными полиморфизмами в гене KRAS

Table 1. Amino acid substitutions in the KRAS protein associated with single nucleotide polymorphisms in the KRAS gene

Кодон	Аминокислотная замена	Нуклеотидная замена	Номер rs
12	G12C (p.Gly12Cys)	c.33_34delinsCT	rs2135806256
	G12C (p.Gly12Cys)	c.34G>T	rs121913530
	G12S (p.Gly12Ser)	c.34G>A	
	G12R (p.Gly12Arg)	c.34G>C	
	G12A (p.Gly12Ala)	c.35G>C	rs121913529
	G12V (p.Gly12Val)	c.35G>T	
	G12D (p.Gly12Asp)	c.35G>A	
13	G13A (p.Gly13Ala)	c.38G>C	rs112445441
	G13V (p.Gly13Val)	c.38G>T	
	G13D (p.Gly13Asp)	c.38G>A	
	G13R (p.Gly13Arg)	c.36_37delinsGC	rs2135806200
	G13S (p.Gly13Ser)	c.37G>A	rs121913535
	G13C (p.Gly13Cys)	c.37G>T	
	G13R (p.Gly13Arg)	c.37G>C	
61	Q61H (p.Gln61His)	c.183A>C	rs17851045
	Q61H (p.Gln61His)	c.183A>T	
	Q61P (p.Gln61Pro)	c.182A>C	rs121913240
	Q61L (p.Gln61Leu)	c.182A>T	
	Q61R (p.Gln61Arg)	c.182A>G	
	Q61E (p.Gln61Glu)	c.181C>G	rs121913238
	Q61K (p.Gln61Lys)	c.181C>A	

Таблица 2. Аминокислотные замены в белке NRAS, ассоциированные с однонуклеотидными полиморфизмами в гене NRAS

Table 2. Amino acid substitutions in the NRAS protein associated with single nucleotide polymorphisms in the NRAS gene

Кодон	Аминокислотная замена	Нуклеотидная замена	Номер rs
12	G12F (p.Gly12Phe)	c.34_35delinsTT	3029607
	G12S (p.Gly12Ser)	c.34G>A	rs121913250
	G12R (p.Gly12Arg)	c.34G>C	
	G12C (p.Gly12Cys)	c.34G>T	
	G12A (p.Gly12Ala)	c.35G>C	rs121913237
	G12V (p.Gly12Val)	c.35G>T	
	G12D (p.Gly12Asp)	c.35G>A	
13	G13S (p.Gly13Ser)	c.37G>A	rs121434595
	G13C (p.Gly13Cys)	c.37G>T	
	G13R (p.Gly13Arg)	c.37G>C	
	G13A (p.Gly13Ala)	c.38G>C	rs121434596
	G13V (p.Gly13Val)	c.38G>T	
	G13D (p.Gly13Asp)	c.38G>A	
61	Q61R (p.Gln61Arg)	c.181_182delinsAG	rs1057519834
	Q61R (p.Gln61Arg)	c.182_183delinsGG	rs1057519695
	Q61L (p.Gln61Leu)	c.182_183delinsTG	
	Q61* (p.Gln61Ter)	c.181C>T	rs121913254
	Q61E (p.Gln61Glu)	c.181C>G	
	Q61K (p.Gln61Lys)	c.181C>A	
	Q61L (p.Gln61Leu)	c.182A>T	rs11554290
	Q61P (p.Gln61Pro)	c.182A>C	
	Q61R (p.Gln61Arg)	c.182A>G	
	Q61H (p.Gln61His)	c.183A>C	rs121913255
	Q61H (p.Gln61His)	c.183A>T	

ных домена (CR1, CR2 и CR3). CR1 и CR2 представляют собой регуляторные области, расположенные ближе к N-концу белка. CR1 включает RAS-связывающий домен (RBD – RAS-binding domain), который взаимодействует с белками RAS, и обогащенный цистеином домен (CRD – cysteine-rich domain), который связывает два иона цинка. CR2 представляет собой богатый серином/треонином домен, CR3 имеет киназный домен, расположенный на C-конце и регулируемый посредством фосфорилирования, который эволюционно консервативен у большинства видов живых организмов. Являясь компонентом сигнального пути MAPK (RAS/RAF/MEK/ERK) белок BRAF передает информацию от внешних рецепторов в ядро клетки и принимает участие в регуляции роста, миграции и пролиферации клеток. Хотя все белки семейства RAF могут фосфорилировать MEK (MEK1 и MEK2), именно белок BRAF обладает наибольшей активирующей способностью, стимулируя параллельно и экспрессию многих генов-мишеней в ядре клетки [34–36].

Изменения в аминокислотной последовательности BRAF разделяют на три подтипа в соответствии с характеристиками путей активации MAPK. Мутации класса I связаны с аминокислотными заменами в кодоне 600 (BRAF V600 Mut), при этом мутантный белок представляет собой мономер, который действует независимо от белков RAS и конститутивно активирует нижестоящие киназы путем фосфорилирования. Му-

тации класса II не связаны с кодоном V600, при этом мутантные белки являются димерами BRAF-субъединиц, которые независимо от белков RAS активируют сигнальный путь MAPK. Мутации класса III не связаны с кодоном V600, мутантный белок формируется в виде гетеродимера, состоящего из BRAF и CRAF субъединиц, активация происходит с участием белков RAS. Несмотря на то, что механизм стимуляции каскадных реакций при различных типах мутаций отличается взаимодействием RAF-белков с RAS-белками и киназами, а также структурой самого белка и его димеров, в конечном итоге все они активируют фосфорилирование ERK, запуская каскад реакций сигнального пути MAPK [34].

Наиболее распространенным мутантным вариантом BRAF является V600E, который вызывает непрерывную активацию и передачу сигнала независимо от внешнего стимула, в результате чего пролиферация и инвазия клеток усиливаются. В некоторых исследованиях были выявлены мутантные варианты BRAF со сниженной киназной активностью, которые активируют сигнальный путь MEK/ERK посредством CRAF, т.е. способствующие прогрессированию опухолевого процесса посредством другого механизма [35–38].

Перечень аминокислотных замен, которые были идентифицированы в 600 и 601 кодонах BRAF и одонуклеотидных полиморфизмов в гене *BRAF* представлен в табл. 3.

Таблица 3. Аминокислотные замены в белке BRAF, ассоциированные с одонуклеотидными полиморфизмами в гене *BRAF*
Table 3. Amino acid substitutions in the BRAF protein associated with single nucleotide polymorphisms in the *BRAF* gene

Кодон	Аминокислотная замена	Нуклеотидная замена	Номер rs
600	V600K (p.Val600Lys)	c.1798_1799delinsAA	rs121913227
	V600R (p.Val600Arg)	c.1798_1799delinsAG	
	V600E (p.Val600Glu)	c.1799_1800delinsAA	rs121913377
	V600D (p.Val600Asp)	c.1799_1800delinsAT	
	V600L (p.Val600Leu)	c.1798G>C	rs121913378
	V600L (p.Val600Leu)	c.1798G>T	
	V600M (p.Val600Met)	c.1798G>A	
	V600E (p.Val600Glu)	c.1799T>A	rs113488022
	V600A (p.Val600Ala)	c.1799T>C	
	V600G (p.Val600Gly)	c.1799T>G	
601	K601E (p.Lys601Glu)	c.1801A>G	rs121913364
	K601T (p.Lys601Thr)	c.1802A>C	rs397507484
	K601N (p.Lys601Asn)	c.1803A>C	rs121913365

Мутации в гене *BRAF* преимущественно локализуются в домене активации киназы. В большинстве случаев они связаны с заменой валина на кислотные или основные остатки в положении 600 аминокислотой последовательности, что приводит к повышению активности белка *BRAF*, конститутивно стимулируя сигнальный путь MEK-ERK и активируя путь RAS, что приводит к усилению роста клеток и ингибированию апоптоза. Аминокислотная замена V600E в экзоне 15 у 40-60% пациентов является драйверной при меланоме, а у 1–3% пациентов с немелкоклеточным раком легкого аминокислотная замена V600E выявляется в экзонах 11 и 15, также мутантный вариант встречается у 10-15% пациентов с колоректальным раком. При ММ частота выявления онкогенных мутаций в гене *BRAF* по данным различных исследований составляет от 2 до 12% в различных популяциях, и они ассоциированы с плохим ответом на проводимое лечение [39-41]. Таким образом, при различных видах новообразований у человека частота выявления изменений в гене *BRAF* колеблется в широких пределах (от 3% до 70%), что актуализирует исследование данных генетических изменений с целью окончательной интерпретации их влияния на клиническое течение заболевания и прогноз при каждой из нозологических форм [38].

Белки семейств RAS и RAF являются компонентами сигнального пути RAS/RAF/MEK/ERK. Нарушение регуляции данного каскада из-за однонуклеотидных замен в генах *RAS* и *RAF* приводит к его aberrантной активации за счет синтеза конститутивно активных белков и необоснованной активации каскадных реакций, что часто выявляется при различных онкологических заболеваниях.

В ряде исследований было показано, что активирующие мутации в генах, контролирующих синтез белков RAS-RAF, чаще наблюдаются при рецидивирующих и рефрактерных плазмоклеточных новообразованиях и связаны с худшим прогнозом, снижением выживаемости пациентов и быстрыми темпами прогрессирования опухоли [26, 30, 42]. Так, в 2023 году Li N. с соавт. показали, что мутации генов, входящих в состав MAPK-пути, встречаются примерно в 30% случаев ММ и являются признаком агрессивного течения заболевания. Эти мутации были связаны со сложным кариотипом, поздней стадией заболевания и снижением общей и бессобытийной выживаемости [4].

Данные о прогностической значимости изменений в генах *KRAS*, *NRAS* и *BRAF* у пациентов с плазмоклеточными новообразованиями немногочисленны и противоречивы. Так, в ходе некоторых исследований было

показано, что пациенты с однонуклеотидными заменами в гене *KRAS*, но без изменений в гене *NRAS*, имели более высокую опухолевую нагрузку в костном мозге и снижение выживаемости. В других исследованиях было показано, что у пациентов с однонуклеотидными заменами в гене *NRAS*, но без изменений в гене *KRAS*, клинические показатели и прогноз были хуже [29, 43].

Необходимы тщательно спланированные исследования, направленные на оценку ассоциации и прогностического значения изменений в генах сигнального пути MAPK с ММ, тлеющей миеломой, моноклональной гаммапатией неутонченного значения. Дальнейшие исследования в этой области дадут возможность уточнить мутационный профиль и спектр молекулярно-генетических маркеров, ассоциированных с риском прогрессирования и клинической картиной заболевания, а также их влиянием на прогноз и выживаемость.

Литература/References

1. Chng W.J., Dispenzieri A., Chim C.S., et al. IMWG consensus on risk stratification in multiple myeloma. *Leukemia*. 2014;28:269-77. doi: 10.1038/leu.2013.247.
2. Weaver C.J., Tariman J.D. Multiple Myeloma Genomics: A Systematic Review. *Semin Oncol Nurs*. 2017 Aug;33(3):237-253. doi: 10.1016/j.soncn.2017.05.001.
3. Manier S., Salem K.Z., Park J., et al. Genomic complexity of multiple myeloma and its clinical implications. *Nat Rev Clin Oncol*. 2017 Feb;14(2):100-113. doi: 10.1038/nrclinonc.2016.122.
4. Li N., Lin P., Zuo Z., et al. Plasma cell myeloma with RAS/BRAF mutations is frequently associated with a complex karyotype, advanced stage disease, and poorer prognosis. *Cancer Med*. 2023 Jul;12(13):14293-14304. doi: 10.1002/cam4.6103.
5. Fonseca R., Bergsagel P.L., Drach J., et al. International Myeloma Working Group molecular classification of multiple myeloma: spotlight review. *Leukemia*. 2009 Dec;23(12):2210-21. doi: 10.1038/leu.2009.174.
6. Kumar S.K., Rajkumar V., Kyle R.A., et al. Multiple myeloma. *Nat Rev Dis Primers*. 2017 Jul 20;3:17046. doi: 10.1038/nrdp.2017.46.
7. Kyle R.A., Rajkumar S.V. Multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2004 Oct 28;351(18):1860-73. doi: 10.1056/NEJMra041875.
8. Abdallah N.H., Binder M., Rajkumar S.V., et al. A simple additive staging system for newly diagnosed multiple myeloma. *Blood Cancer J*. 2022 Jan 31;12(1):21. doi: 10.1038/s41408-022-00611-x.
9. Morgan G.J., Walker B.A., Davies F.E. The genetic architecture of multiple myeloma. *Nat Rev Cancer*. 2012 Apr 12;12(5):335-48. doi: 10.1038/nrc3257.
10. Chng W.J., Gonzalez-Paz N., Price-Troska T., et al. Clinical and biological significance of RAS mutations in multiple myeloma. *Leukemia*. 2008 Dec;22(12):2280-4. doi: 10.1038/leu.2008.142.
11. Lionetti M., Barbieri M., Todoerti K., et al. Molecular spectrum of BRAF, NRAS and KRAS gene mutations in plasma cell dyscrasias: implication for MEK-ERK pathway activation. *Oncotarget*. 2015 6:24205-17.
12. Liu F., Yang X., Geng M., Huang M. Targeting ERK, an Achilles' Heel of the MAPK pathway, in cancer therapy. *Acta Pharm Sin B*. 2018 8:552-62.

13. Pasca S., Tomuleasa C., Teodorescu P., et al. KRAS/NRAS/BRAF Mutations as Potential Targets in Multiple Myeloma. *Front Oncol.* 2019 Oct 24;9:1137. doi: 10.3389/fonc.2019.01137.
14. Bolli N., Avet-Loiseau H., Wedge D.C., et al. Heterogeneity of genomic evolution and mutational profiles in multiple myeloma. *Nat Commun.* 2014; 5:2997. doi: 10.1038/ncomms3997.
15. Marshall C.J. MAP kinase kinase kinase, MAP kinase kinase and MAP kinase. *Curr Opin Genet Dev.* 1994 Feb;4(1):82-9. doi: 10.1016/0959-437x(94)90095-7.
16. Yoon S., Seger R. The extracellular signal-regulated kinase: multiple substrates regulate diverse cellular functions. *Growth Factors.* 2006 Mar;24(1):21-44. doi: 10.1080/02699050500284218.
17. Tidyman W.E., Rauen K.A. The RASopathies: developmental syndromes of Ras/MAPK pathway dysregulation. *Curr Opin Genet Dev.* 2009 Jun;19(3):230-6. doi: 10.1016/j.gde.2009.04.001.
18. Rajalingam K., Schreck R., Rapp U.R., Albert S. Ras oncogenes and their downstream targets. *Biochim Biophys Acta.* 2007 Aug;1773(8):1177-95. doi: 10.1016/j.bbamcr.2007.01.012.
19. Stites E.C., Ravichandran K.S. A systems perspective of ras signaling in cancer. *Clin Cancer Res.* 2009 Mar 1;15(5):1510-3. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2753.
20. Fernández-Medarde A., Santos E. Ras in cancer and developmental diseases. *Genes Cancer.* 2011 Mar;2(3):344-58. doi: 10.1177/1947601911411084.
21. Rodenhuis S., Slebos R.J. The ras oncogenes in human lung cancer. *Am Rev Respir Dis.* 1990 Dec;142(6 Pt 2):S27-30. doi: 10.1164/ajrcm/142.6_Pt_2.S27. PMID: 2252272.
22. Masciaux C., Iannino N., Martin B., et al. The role of RAS oncogene in survival of patients with lung cancer: a systematic review of the literature with meta-analysis. *Br J Cancer.* 2005 Jan 17;92(1):131-9. doi: 10.1038/sj.bjc.6602258.
23. Vetter I.R., Wittinghofer A. The guanine nucleotide-binding switch in three dimensions. *Science.* 2001 Nov 9;294(5545):1299-304. doi: 10.1126/science.1062023.
24. Huang L., Guo Z., Wang F., Fu L. KRAS mutation: from undruggable to druggable in cancer. *Signal Transduct Target Ther.* 2021 Nov 15;6(1):386. doi: 10.1038/s41392-021-00780-4.
25. Fey D., Matallanas D., Rauch J., et al. The complexities and versatility of the RAS-to-ERK signalling system in normal and cancer cells. *Semin Cell Dev Biol.* 2016 Oct;58:96-107. doi: 10.1016/j.semcdb.2016.06.011.
26. Forbes S.A., Bindal N., Bamford S., et al. COSMIC: mining complete cancer genomes in the Catalogue of Somatic Mutations in Cancer. *Nucleic Acids Res.* 2011 Jan;39(Database issue):D945-50. doi: 10.1093/nar/gkq929. Epub 2010 Oct 15.
27. Chapman M.A., Lawrence M.S., Keats J.J., et al. Initial genome sequencing and analysis of multiple myeloma. *Nature.* 2011 Mar 24;471(7339):467-72. doi: 10.1038/nature09837.
28. Mulligan G., Lichter D.I., Di Bacco A., et al. Mutation of NRAS but not KRAS significantly reduces myeloma sensitivity to single-agent bortezomib therapy. *Blood.* 2014 Jan 30;123(5):632-9. doi: 10.1182/blood-2013-05-504340.
29. Walker B.A., Boyle E.M., Wardell C.P., et al. Mutational Spectrum, Copy Number Changes, and Outcome: Results of a Sequencing Study of Patients With Newly Diagnosed Myeloma. *J Clin Oncol.* 2015 Nov 20;33(33):3911-20. doi: 10.1200/JCO.2014.59.1503.
30. Hu Y., Chen W., Wang J. Progress in the identification of gene mutations involved in multiple myeloma. *Onco Targets Ther.* 2019 May 24;12:4075-4080. doi: 10.2147/OTT.S205922.
31. Davies H., Bignell G.R., Cox C., et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature.* 2002 Jun 27;417(6892):949-54. doi: 10.1038/nature00766.
32. Liu F., Wang F., He J., et al. Correlation between KRAS mutation subtypes and prognosis in Chinese advanced non-squamous non-small cell lung cancer patients. *Cancer Med.* 2023 Jun;12(12):13123-13134. doi: 10.1002/cam4.5995.
33. Tsai F.D., Lopes M.S., Zhou M., et al. K-Ras4A splice variant is widely expressed in cancer and uses a hybrid membrane-targeting motif. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015 Jan 20;112(3):779-84. doi: 10.1073/pnas.1412811112.
34. Śmiech M., Leszczyński P., Kono H., et al. Emerging BRAF Mutations in Cancer Progression and Their Possible Effects on Transcriptional Networks. *Genes (Basel).* 2020 Nov 12;11(11):1342. doi: 10.3390/genes11111342.
35. Sen B., Peng S., Tang X., et al. Kinase-impaired BRAF mutations in lung cancer confer sensitivity to dasatinib. *Sci Transl Med.* 2012 May 30;4(136):136ra70. doi: 10.1126/scitranslmed.3003513.
36. Garnett M.J., Rana S., Paterson H., et al. Wild-type and mutant B-Raf activate C-Raf through distinct mechanisms involving heterodimerization. *Mol Cell.* 2005 Dec 22;20(6):963-9. doi: 10.1016/j.molcel.2005.10.022.
37. Zheng G., Tseng L.H., Chen G., et al. Clinical detection and categorization of uncommon and concomitant mutations involving BRAF. *BMC Cancer.* 2015 Oct 24;15:779. doi: 10.1186/s12885-015-1811-y.
38. Ugurel S., Thirumaran R.K., Bloethner S., et al. B-Raf and N-Ras mutations are preserved during short time in vitro propagation and differentially impact prognosis. *PLoS One.* 2007 Feb 21;2(2):e236. doi: 10.1371/journal.pone.0000236.
39. Leich E., Steinbrunn T. RAS mutations - for better or for worse in multiple myeloma? *Leuk Lymphoma.* 2016;57(1):8-9. doi: 10.3109/10428194.2015.1065984.
40. Rustad E.H., Dai H.Y., Hov H., et al. BRAF V600E mutation in early-stage multiple myeloma: good response to broad acting drugs and no relation to prognosis. *Blood Cancer J.* 2015 Mar 20;5(3):e299. doi: 10.1038/bcj.2015.24.
41. Cheung C.H.Y., Cheng C.K., Lau K.M., et al. Prevalence and Clinicopathologic Significance of BRAF V600E Mutation in Chinese Multiple Myeloma Patients. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2018 Jul;18(7):e315-e325. doi: 10.1016/j.clml.2018.05.008.
42. Kim Y., Park S.S., Min C.K., et al. KRAS, NRAS, and BRAF mutations in plasma cell myeloma at a single Korean institute. *Blood Res.* 2020 Sep 30;55(3):159-168. doi: 10.5045/br.2020.2020137.
43. Boyle E.M., Deshpande S., Tytarenko R., et al. The molecular make up of smoldering myeloma highlights the evolutionary pathways leading to multiple myeloma. *Nat Commun.* 2021 Jan 12;12(1):293. doi: 10.1038/s41467-020-20524-2.