

© 2023 ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Поступила 26.09.2023
Принята к печати 20.11.2023

DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-4-102-107

Клинико-геномные ассоциации у пациентов с гистиоцитозом из клеток Лангерганса: когортное исследование

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

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

Контактная информация:

Осипова Дарья Сергеевна, лаборант-исследователь лаборатории молекулярной биологии ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России
Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: darya.osipova@fccho-moscow.ru

В статье представлены данные по анализу генотип-фенотипических корреляций в педиатрической когорте пациентов с гистиоцитозом из клеток Лангерганса (ГКЛ). Примерно у 60% пациентов с ГКЛ обнаруживается точечная соматическая мутация *BRAF V600E*. Многие исследования показали, что наличие данной мутации ассоциировано с более тяжелым течением заболевания и с большей вероятностью рецидива. Кроме *BRAF V600E* при ГКЛ были описаны другие мутации в генах-участниках сигнального пути RAS/RAF–MEK–ERK. Оптимальным методом поиска мутаций, отличных от *BRAF V600E*, является высокопроизводительное секвенирование (Next Generation Sequencing) ДНК с большой глубиной прочтения целевых регионов. Определение драйверной соматической мутации позволит улучшить понимание фенотипической гетерогенности ГКЛ и подходы к целевой терапии. Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

Ключевые слова: дети, гистиоцитоз из клеток Лангерганса, мутация *BRAF V600E*, высокопроизводительное секвенирование

Осипова Д.С. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2023; 22 (4): 102–7. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-4-102-107

© 2023 by «D. Rogachev NMRCPHO»

Received 26.09.2023
Accepted 20.11.2023

Clinicogenomic associations in patients with Langerhans cell histiocytosis: a cohort study

D.S. Osipova, E.V. Raykina, Yu.A. Kozlova, E.I. Lyudovskikh, D.A. Evseev, I.I. Kalinina, D.D. Baydildina, K.A. Voronin, 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

This article presents an analysis of genotype and phenotype correlations in a pediatric cohort with Langerhans cell histiocytosis (LCH). Approximately 60% of LCH patients carry *BRAF V600E* somatic point mutation. Numerous studies have demonstrated that the presence of this mutation is associated with a more severe course of the disease and a higher risk of relapse. Apart from *BRAF V600E* mutation, other mutations in genes involved in the RAS/RAF/MEK/ERK signaling pathway have been identified in LCH. Next generation sequencing of DNA with high coverage of target regions is considered an optimal approach to detect somatic mutations other than *BRAF V600E*. The identification of somatic driver mutations holds great potential for enhancing our understanding of the phenotypic heterogeneity of LCH and developing targeted therapeutic strategies. The study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology.

Key words: children, Langerhans cell histiocytosis, *BRAF V600E* mutation, next generation sequencing

Osipova D.S., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2023; 22 (4): 102–7. DOI: 10.24287/1726-1708-2023-22-4-102-107

Гистиоцитоз из клеток Лангерганса (ГКЛ) – заболевание, при котором аномально пролиферируют и накапливаются в органах и тканях клетки, фенотипически похожие на клетки Лангерганса. Это приводит к повреждению и нарушению функции пораженных органов. Клинические проявления ГКЛ могут варьировать от легких до распространенных быстро прогрессирующих форм с поражением органов риска – печени, селезенки и костного мозга. Основными механизмами развития заболевания являются клональная пролиферация патологических клеток Лангерганса и нарушение взаимодействия клеток иммунной системы в очагах поражения [1].

Множество исследований показали, что у 50–60% пациентов с ГКЛ обнаруживается точечная соматическая мутация *BRAF V600E*, приводящая к митотической активации и ингибированию апоптоза [2, 3].

Так как киназа BRAF является участником пути RAS/RAF–MEK–ERK, драйверная соматическая мутация может быть и в генах, кодирующих другие киназы этого сигнального пути. Так, по литературным данным, примерно у 50% пациентов, у которых нет мутации *BRAF V600E*, обнаруживаются мутации в экзонах 2 и 3 гена *MAP2K1*. Эти участки кодируют киназный домен или домен негативной регуляции, в результате мутации активность MAP-киназы увели-

чивается [4]. Кроме того, были найдены мутации и во многих других генах, участвующих в пути митотической активации, например *ARAF*, *ERBB3*, *NRAS*, *KRAS* и др. [5]. Также есть единичные клинические случаи, описывающие мутации в генах *PIK3CA*, *KIT*, *HRAS* и др. [6].

Наиболее подходящим методом выявления мутации является высокопроизводительное секвенирование с большой глубиной прочтения.

Идентификация драйверной мутации при ГКЛ позволяет не только подобрать таргетную терапию, но и выявить факторы клинической гетерогенности заболевания. Так, в публикации Kempf и соавт. (2023) был выполнен поиск драйверных соматических мутаций в рамках большой педиатрической когорты. У большинства пациентов обнаружилась мутация *BRAF* V600E, и авторами была показана ее ассоциация с меньшим возрастом манифестации заболевания, большей вероятностью вовлечения органов риска, поражениями кожи, а также очагами поражений в костях, вызывающих риск поражения центральной нервной системы (ЦНС). Вторыми по распространенности были мутации в экзонах 2 и 3 *MAP2K1*. Данные мутации, напротив, были ассоциированы с моносистемными костными поражениями. Также было показано, что делеции в экзоне 12 *BRAF* ассоциированы с поражением легких [7].

Таким образом, определение драйверной мутации при ГКЛ не только дополняет имеющиеся научные сведения о характерном генетическом профиле при данном заболевании, но и позволяет модифицировать лечение, прогнозировать эффективность действия таргетных препаратов, а также расширять клинико-генетические ассоциации на основании корреляции между выявленной мутацией и клиническими проявлениями ГКЛ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева.

За период с 2021 по 2023 г. в исследование вошли 99 пациентов с ГКЛ, обратившихся в НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. Среди 99 пациентов 47 были мужского пола и 52 – женского. Медиана возраста пациентов на момент дебюта заболевания составила 16 месяцев. У 12 пациентов была моносистемная форма заболевания (SS), у 49 – мультисистемная без вовлечения органов риска (MS R0–), у 38 – мультисистемная с вовлечением органов риска (MS R0+).

На этапе первичной диагностики пациентам в первую очередь проводили определение статуса *BRAF* (наличие или отсутствие наиболее распростра-

ненной мутации V600E). В качестве исследуемого материала использовали биоптат очага поражения, фиксированный в формалине и залитый в парафиновый блок. Выделение ДНК из блоков проводили с помощью наборов Parseq Magnetic FFPE (Россия) согласно инструкции производителя. Молекулярно-генетическое исследование выполняли методом мутационно-специфической полимеразной цепной реакции (мСПЦР) в режиме реального времени с последующим секвенированием по Сэнгеру (чувствительность данного метода составляет 3%).

Пациентам, у которых с помощью секвенирования по Сэнгеру мутация *BRAF* V600E не была найдена, проводили высокопроизводительное секвенирование (Next Generation Sequencing, NGS), по результатам которого определялась драйверная мутация. Подготовку библиотек осуществляли согласно инструкции производителя с помощью основанной на ПЦР кастомизированной панели Qiaseq (Qiagen, Германия), разработанной для поиска мутаций в генах, приводящих к развитию данного заболевания, – *BRAF*, *ARAF*, *MAP2K1*, *MAP3K1*, *NRAS*, *PIK3CA*, *KIT*, *ERBB3*, *KRAS*, *PIK3CD*, *HRAS*. Перечень генов, вошедших в регион интереса, был составлен на основании анализа данных научной литературы. Метод целевого высокопроизводительного секвенирования благодаря большой глубине прочтения таргетных регионов позволяет достоверно определить драйверную соматическую мутацию и узнать ее аллельную нагрузку.

Первичную обработку данных осуществляли биоинформатическими методами с использованием программы GeneGlobe. Для оценки клинической релевантности выявленных вариантов использованы база данных Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC), The Human Genomics Community (VarSome), Human Gene Mutation Database (HGMD), а также литературные данные (PubMed).

Статистическая обработка полученных результатов представляла собой попарное сравнение групп пациентов с наиболее часто выявленными мутациями (*BRAF* V600E, *BRAF* экзон 12, *MAP2K1*) и установление достоверных различий между ними (или их отсутствия) в клинических проявлениях. Для попарного сравнения групп использовался точный критерий Фишера с поправкой Бонферрони–Холма, достоверными считали результаты при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Инициальное исследование методом мСПЦР с последующим секвенированием по Сэнгеру выявило мутацию *BRAF* V600E у 41/99 (41%) пациента. *BRAF*-негативными оказались 58/99 (59%) больных.

Для *BRAF*-негативных пациентов был выполнен поиск драйверной мутации с

помощью таргетного высокопроизводительного секвенирования. В результате были выявлены следующие мутации: *BRAF* V600E – 3 пациента (случаи с низкой аллельной нагрузкой, которые не удалось определить методом секвенирования по Сэнгеру); делеции без сдвига рамки считывания в экзоне 12 *BRAF* – 17 пациентов; различные варианты (миссенс или небольшие делеции без сдвига рамки считывания) в экзонах 2 и 3 гена *MAP2K1* – 19 пациентов; другое – 2 пациента (*NRAS* p.Q61K, *KRAS* p.Q61H). У 17 пациентов казуативные варианты обнаружены не были. В таблице 1 представлен подробный список выявленных вариантов.

Итоговое распределение драйверных мутаций в данной когорте представлено на рисунке 1.

Таким образом, в нашей выборке доля *BRAF*-положительных пациентов составила 44%, что соотносится с данными литературы по распространенности этой мутации у пациентов с ГКЛ [2].

Как видно из полученных данных, среди нашей когорты пациентов наиболее распространенными драйверными мутациями являются *BRAF* V600E, варианты (миссенс или делеции без сдвига рамки считывания) в экзонах 2 и 3 *MAP2K1* и делеции без сдвига рамки считывания в экзоне 12 *BRAF*. Дальнейшее сравнение клинических проявлений заболевания проводили среди данных 3 групп пациентов.

Распределение пациентов в зависимости от мутационного статуса и системности заболевания (моно- и мультисистемные формы с или без поражения органов риска) представлено на рисунке 2.

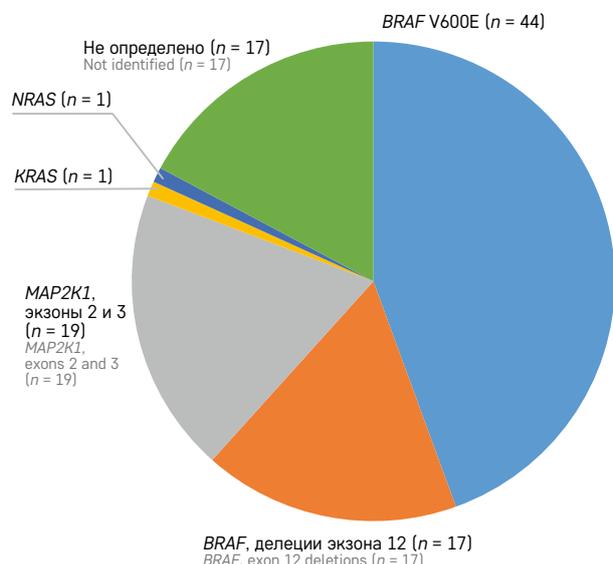
Различия между системностью поражения являются достоверными в случаях сравнения между собой групп пациентов с *BRAF* V600E и делециями в

Рисунок 1

Выявленные в нашей когорте драйверные соматические мутации (n = 99)

Figure 1

Somatic driver mutations identified in our cohort (n = 99)



экзоне 12 *BRAF*, а также между *BRAF* V600E и *MAP2K1* ($p = 0,008$ и $p = 0,006$ соответственно), однако группы с делециями в экзоне 12 *BRAF* и мутациями в *MAP2K1* между собой достоверно не различаются ($p > 0,999$). Таким образом, *BRAF* V600E чаще вызывает мультисистемные поражения с вовлечением органов риска и литературные данные о более тяжелом течении заболевания при мутации *BRAF* V600E подтверждаются [8].

Среди указанных 3 групп также проводили попарное сравнение клинических проявлений (поражение кожи, костей и легких) Данные по очагам поражения у пациентов с ГКЛ представлены в таблице 2.

На рисунке 3 представлено попарное сравнение поражений кожи среди 3 групп пациентов.

Исходя из полученных данных, можно говорить о достоверных различиях в наличии кожных поражений между группами *BRAF* V600E и *MAP2K1* ($p = 0,015$) и отсутствии различий между группами *BRAF* с V600E и делециями в экзоне 12 и между *BRAF* с делециями в экзоне 12 и *MAP2K1*.

Сравнение наличия поражений костей среди 3 групп пациентов достоверных различий не выявило ($p > 0,05$) (рисунок 4).

Достоверным оказалось лишь различие в наличии поражения легких – оно в большей степени ассоциировано с делециями в экзоне 12 гена *BRAF* по сравнению с группой пациентов с *BRAF* V600E и *MAP2K1* ($p = 0,018$) (рисунок 5).

Рисунок 2

Системность поражения при различных мутациях, характерных для ГКЛ

Всего 80 пациентов, из них *BRAF* V600E – 44, делеции экзона 12 *BRAF* – 17, *MAP2K1* – 19. * – точный тест Фишера с поправкой Бонферрони–Холма

Figure 2

Different disease extents in patients with *BRAF* V600E, *BRAF* exon 12, or *MAP2K1* mutations
Out of 80 patients, 44 had *BRAF* V600E mutations, 17 had *BRAF* exon 12 deletions, and 19 had *MAP2K1* mutations. * – Fisher's exact test with Bonferroni–Holm correction

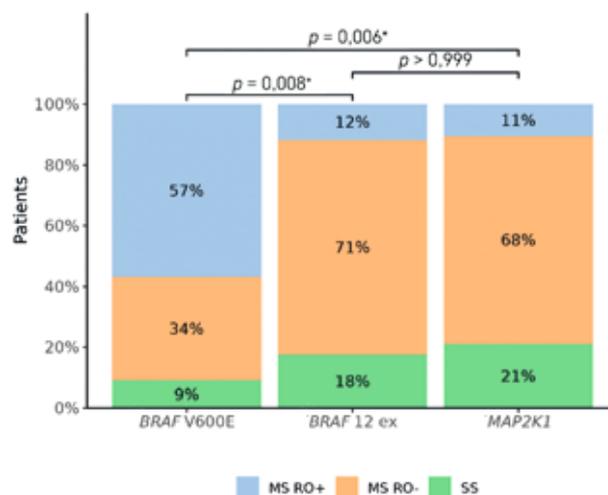


Таблица 1
Перечень выявленных вариантов

Table 1
A list of identified variants

Ген ¹ Gene	Вариант и его координаты Variant and its coordinates		Экзон/ интрон Exon/ intron	Тип варианта Variant type	COSMIC ID ²	Клиническая значимость варианта ³ Clinical significance of the variant ³	Число паци- ентов Number of pa- tients
	Геном (hg19) Genome (hg19)	CDS, белок CDS, protein					
<i>BRAF</i>	chr7:140453136 A>T	c.1799T>A p.(Val600Glu) p.(V600E)	Экзон 15 Exon 15	Миссенс Missense	COSM476	Высокая предиктивная (IA) Tier IA, prognostic	44
<i>MAP2K1</i>	chr15:66727442- 66727457del	c.159_173del p.(Phe53 Gln58delinsLeu) p.(p.F53_Q58delinsL)	Экзон 2 Exon 2	Делеция без сдвига рамки считывания Non-frameshift deletion	COSM4166149	Потенциально предиктивная (IIC) Tier IIC, prognostic	4
<i>MAP2K1</i>	chr15:66727457- 66727471del	c.173_187del p.(Gln58_Glu62del) p.(Q58_E62del)	Экзон 2 Exon 2	Делеция без сдвига рамки считывания Non-frameshift deletion	COSM5031100	Потенциально предиктивная (IIC) Tier IIC, prognostic	4
<i>MAP2K1</i>	chr15:66727454- 66727468del	c.171_185del p.(Gln58_Glu62del) p.(Q58_E62del)	Экзон 2 Exon 2	Делеция без сдвига рамки считывания Non-frameshift deletion	COSM5031101	Потенциально предиктивная (IIC) Tier IIC, prognostic	4
<i>MAP2K1</i>	chr15:66727451- 66727466del	c.168_182del p.(Lys57 Gly61del) p.(K57_G61del)	Экзон 2 Exon 2	Делеция без сдвига рамки считывания Non-frameshift deletion	COSM4166150	Потенциально предиктивная (IIC) Tier IIC, prognostic	3
<i>MAP2K1</i>	chr15:66727448- 66727463del	c.165_179del p.(Gln56_Val60del) p.(Q56_V60del)	Экзон 2 Exon 2	Делеция без сдвига рамки считывания Non-frameshift deletion	COSM9114756	Потенциально предиктивная (IIC) Tier IIC, prognostic	1
<i>MAP2K1</i>	chr15:66727451 A>C	c.167A>C p.(Gln56Pro) p.(Q56P)	Экзон 2 Exon 2	Миссенс Missense	COSM1235481	Потенциально предиктивная (IIC) Tier IIC, prognostic	1
<i>MAP2K1</i>	chr15:66729093- 66729099del	c.302_307del p.(Glu102_ Ile103del) p.(E102_ I103del)	Экзон 3 Exon 3	Делеция без сдвига рамки считывания Non-frameshift deletion	COSM404998	Потенциально предиктивная (IIC) Tier IIC, prognostic	1
<i>MAP2K1</i>	chr15:66729105- 66729111del	c.314_319del p.(Pro105 Ile107delinsLeu) p.(P105_I107delinsL)	Экзон 3 Exon 3	Делеция без сдвига рамки считывания Non-frameshift deletion	COSM6940184	Потенциально предиктивная (IIC) Tier IIC, prognostic	1
<i>BRAF</i>	chr7:140477835- 140477850del	c.1458_1472del p.(Thr486 Asn491delinsLys) p.(N486_T491delinsK)	Экзон 12 Exon 12	Делеция без сдвига рамки считывания Non-frameshift deletion	COSM4172556	Потенциально предиктивная (IIC) Tier IIC, prognostic	6
<i>BRAF</i>	chr7:140477834- 140477849del	c.1457_1471del p.(Asn486_Pro490del) p.(N486_P490del)	Экзон 12 Exon 12	Делеция без сдвига рамки считывания Non-frameshift deletion	COSM26503	Потенциально предиктивная (IIC) Tier IIC, prognostic	7
<i>BRAF</i>	chr7:140477838- 140477853del	c.1455_1469del p.(Leu485 Pro490delinsPhe) p.(L485_P490delinsF)	Экзон 12 Exon 12	Делеция без сдвига рамки считывания Non-frameshift deletion	COSM9511422	Потенциально предиктивная (IIC) Tier IIC, prognostic	4
<i>KRAS</i>	chr12:25380275 T>G	c.183A>C p.(Gln61His) p.(Q61H)	Экзон 3 Exon 3	Миссенс Missense	COSV55498802	Потенциально предиктивная (IIC) Tier IIC, prognostic	1
<i>NRAS</i>	chr1:115256530 G>T	c.181C>A p.(Gln61Lys) p.(Q61K)	Экзон 3 Exon 3	Миссенс Missense	COSV54736310	Потенциально предиктивная (IIC) Tier IIC, prognostic	1

Примечание. *BRAF* – транскрипт NM_004333.6, ENST00000646891.2; *MAP2K1* – транскрипт NM_002755.4, ENST00000307102.10; *KRAS* – транскрипт NM_033360.4, ENST00000256078.4; *NRAS* – транскрипт NM_002524.5, ENST00000369535.5. Средняя глубина прочтения целевых регионов – 4223x. ¹ – названия генов даны по HUGO Gene Nomenclature Committee; ² – приведены идентификаторы вариантов в базе данных COSMIC; ³ – генетические варианты, влияющие на прогноз заболевания, верификацию диагноза или маркеры чувствительности к препаратам молекулярно-направленной терапии на основании рекомендаций AMP, ASCO, CAP (DOI: 10.1016/j.jmoldx.2016.10.002).

Notes. *BRAF* – transcript NM_004333.6, ENST00000646891.2; *MAP2K1* – transcript NM_002755.4, ENST00000307102.10; *KRAS* – transcript NM_033360.4, ENST00000256078.4; *NRAS* – transcript NM_002524.5, ENST00000369535.5. The mean read depth of target regions was 4223 x. ¹ – gene names are given according to the HUGO Gene Nomenclature Committee; ² – variant IDs are from the COSMIC database; ³ – genetic variants that influence disease prognosis, help verify the diagnosis or can serve as markers of sensitivity to molecular targeted therapy according to the AMP/ASCO/CAP Standards and Guidelines (DOI: 10.1016/j.jmoldx.2016.10.002).

Таблица 2

Распределение очагов поражения у пациентов с различными мутациями

Table 2

Specific disease sites distribution in Langerhans cell histiocytosis (LCH) patients with different mutations

Локализация очагов поражения Disease sites	Мутация Mutation		
	<i>BRAF</i> V600E	<i>BRAF</i> , экзон 12 <i>BRAF</i> , exon 12	<i>MAP2K1</i>
Кожа Skin	30	9	5
Кости Bones	36	13	16
Легкие Lungs	9	10	6
Всего пациентов Total number of patients	44	17	18

Рисунок 3

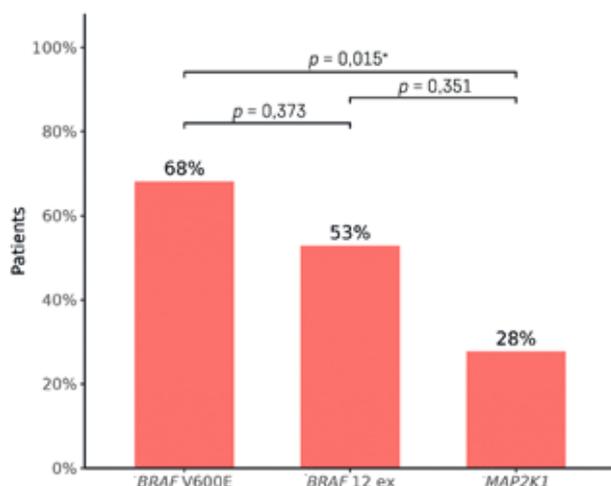
Поражение кожи у пациентов с ГКЛ и разными драйверными мутациями

* – точный тест Фишера с поправкой Бонферрони–Холма

Figure 3

Skin involvement in LCH patients with different driver mutations

* – Fisher's exact test with Bonferroni–Holm correction



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты о генотип-фенотипических ассоциациях подтвердили некоторые ранее описанные в литературе корреляции между рядом драйверных мутаций у пациентов с ГКЛ и клиническими проявлениями заболевания. В частности, было выявлено, что мутация *BRAF* V600E чаще вызывает мультисистемные поражения, также были обнаружены ассоциации между *BRAF* V600E и поражением кожи в сравнении с группой с мутациями *MAP2K1*, а также взаимосвязь между делециями в экзоне 12 гена *BRAF* и поражением легких в сравнении с *BRAF* V600E-позитивной группой.

Ввиду малого объема выборки все известные корреляции между драйверной мутацией и вовлече-

Рисунок 4

Поражение костей у пациентов с ГКЛ и разными драйверными мутациями

* – точный тест Фишера с поправкой Бонферрони–Холма

Figure 4

Bones involvement in LCH patients with different driver mutations

* – Fisher's exact test with Bonferroni–Holm correction

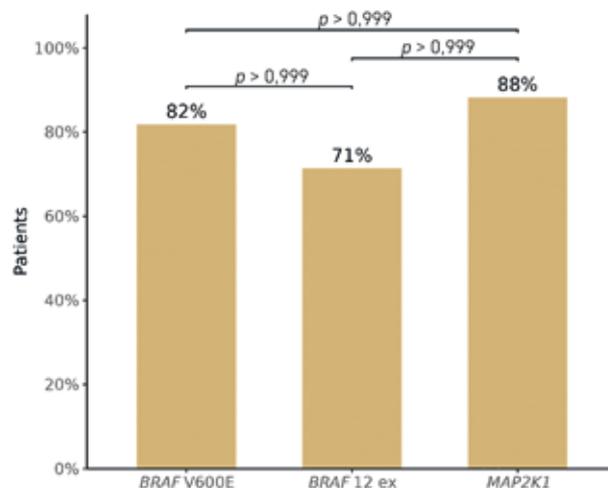


Рисунок 5

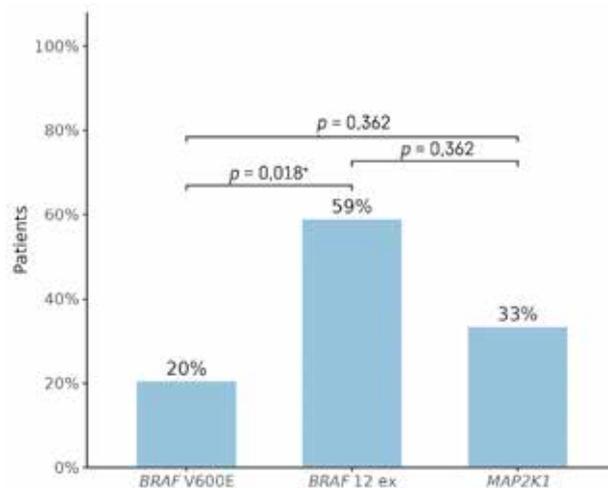
Поражение легких у пациентов с ГКЛ и разными драйверными мутациями

* – точный тест Фишера с поправкой Бонферрони–Холма

Figure 5

Lungs involvement in LCH patients with different driver mutations

* – Fisher's exact test with Bonferroni–Holm correction



нием характерного органа подтвердить не удалось, однако в дальнейшем такое исследование возможно провести на более масштабной когорте с делением как на системность, так и на локализацию поражения.

Фенотипическая гетерогенность вариантов течения ГКЛ свидетельствует о целом ряде факторов, определяющих патогенез и подтип онкогенной мутации, пока нельзя однозначно связать с клиническим течением ГКЛ. Несмотря на то, что не все мутации могут быть ассоциированы с фенотипическими или биологическими особенностями забо-

левания напрямую, определение генетического варианта молекулярными методами имеет значение как для дальнейшего поиска взаимосвязей с проявлениями ГКЛ, так и для подбора терапии. С расширением доступа к таргетной терапии важно определить точное изменение соматического драйвера у пациентов, которым могут помочь ингибиторы BRAF и MEK.

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

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

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

Kozlova Y.A. ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-5928-8557>

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

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

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

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

Voronin K.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7578-9657>

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. 2014.
2. Badalian-Very G., Jo-Anne Vergilio, Degar B.A., MacConaill L.E., Brandner B., Calicchio M.L., et al. Recurrent BRAF mutations in Langerhans cell histiocytosis. *Blood* 2010; 116 (11): 1919–23.
3. Wei R., Wang Z., Li X., Shu Y., Fu B. Frequent *BRAFV600E* mutation has no effect on tumor invasiveness in patients with Langerhans cell histiocytosis. *Biomed Rep* 2013; 1 (3): 365–8.
4. Brown N.A., Furtado L.V., Betz B.L., Kiel M.J., Weigelin H.C., Lim Megan S., Elenitoba-Johnson K.S.J. High prevalence of somatic *MAP2K1* mutations in *BRAF* V600E-negative Langerhans cell histiocytosis. *Blood* 2014; 124 (10): 1655–8.
5. Durham B., et al. Unraveling the Molecular Basis of Langerhans and Non-Langerhans Cell Histiocytic Neoplasms through Whole Exome Sequencing. *Blood* 2014; 124 (21): 1887.
6. Diamond E.L., Durham B.H., Haroche J., Yao Z., Ma J., Parikh S.A., et al. Diverse and Targetable Kinase Alterations Drive Histiocytic Neoplasms. *Cancer Discov* 2016; 6 (2): 154–65.
7. Kemps P.G., Zondag T.C.E., Arnardóttir H.B., Solleveld-Westerink N., Borst J., Steenwijk E.C., et al. Clinico-genomic associations in childhood Langerhans cell histiocytosis: an international cohort study. *Blood Adv* 2023; 7 (4): 664–79.
8. Héritier S., Hélias-Rodzewicz Z., Lapillonne H., Terrones N., Garrigou S., Normand C., et al. Circulating cell-free *BRAFV600E* as a biomarker in children with Langerhans cell histiocytosis. *Br J Haematol* 2017; 178 (3): 457–67.