

Peran Fusi Gen *BRAF* dalam Patogenesis Tumor Mesenkimal dan Implikasinya terhadap Strategi Terapi Target

Fairi Cunny, Evelina, Puspita
Eka Wuyung

Department Patologi Anatomi,
Fakultas Kedokteran, Universitas
Indonesia
Rumah Sakit Dr. Cipto
Mangunkusumo
Jakarta

Penulis korespondensi: dr. Fairi Cunny
Department Patologi Anatomi, Fakultas
Kedokteran, Universitas Indonesia
Rumah Sakit Dr. Cipto Mangunkusumo
Jl. Salemba Raya No. 6, Jakarta
email: fairicny@gmail.com

ABSTRAK

Tumor mesenkimal merupakan kelompok neoplasma heterogen dengan tantangan diagnostik yang signifikan. Perkembangan terkini menunjukkan perubahan genetik fusi gen *BRAF* berperan krusial sebagai *oncogenic driver* dalam patogenesis tumor ini. Fusi *BRAF* terjadi akibat *rearrangement* kromosom yang menggabungkan gen *BRAF* dengan gen pasangan lainnya. Gambaran morfologi tumor dengan fusi *BRAF* sering kali menunjukkan bentuk sel *spindle* yang *uniform* dengan stroma mikroid atau kolagen, yang perlu dibedakan terhadap entitas serupa. Tumor ini dapat ditemukan pada *infantile fibrosarcoma* (IFS)-like tumors, *spindle cell tumors resembling malignant peripheral nerve sheath tumors* (MPNST), dan *lipofibromatosis-like neural tumor* (LPF-NT). Deteksi fusi gen *BRAF* dapat dilakukan dengan pemeriksaan *fluorescence in situ hybridization* (FISH), *next-generation sequencing* (NGS) dan pemeriksaan berbasis imunologi. Keberadaan fusi *BRAF* memiliki implikasi penting terhadap prognosis dan pemilihan terapi, dimana terapi target berbasis inhibitor *BRAF* generasi terbaru dan inhibitor *MEK* menjadi pendekatan utama karena menunjukkan efektivitas yang lebih baik dalam menghambat jalur *downstream*. Oleh karena itu, pemahaman mengenai patogenesis, epidemiologi, serta implikasi terapeutik fusi *BRAF* menjadi sangat penting bagi seorang ahli patologi anatomi.

Kata kunci: Fusi gen *BRAF*, tumor mesenkimal, terapi target.

PENDAHULUAN

Tumor mesenkimal merupakan kelompok neoplasma yang heterogen, mencakup berbagai jenis sarkoma dan tumor jaringan lunak dengan karakteristik morfologi dan molekuler yang beragam.¹ Angka kejadian epidemiologi pada sarkoma mencakup $\pm 1\%$ dari seluruh keganasan pada dewasa dan dapat mencapai hingga 15–20% pada populasi anak, dengan insidensi global berkisar 3–7 kasus per 100.000 penduduk per tahun. Berdasarkan klasifikasi *World Health Organization* (WHO) tahun 2020, kelompok tumor ini memiliki hampir 100 entitas yang berbeda, sehingga menimbulkan tantangan besar dalam diagnosis dan klasifikasi.²

Pengetahuan mengenai perubahan genetik pada patogenesis tumor mesenkimal mengalami banyak perkembangan seiring dengan meningkatnya insidensi kasus yang dilaporkan.³ Diagnosis tumor mesenkimal merupakan tantangan tersendiri karena tidak hanya ditentukan oleh karakteristik histopatologi yang mencakup berbagai entitas dengan gambaran morfologi yang beragam serta frekuensi kejadian yang relatif jarang, tetapi juga oleh adanya perubahan genetik yang berperan sebagai *oncogenic driver*. Salah satu mekanisme penting dalam perubahan genetik tersebut adalah fusi gen yang terjadi akibat *rearrangement* kromosom, sehingga menghasilkan protein abnormal dengan aktivitas biologis yang tidak terkontrol.⁴

Perkembangan penelitian menunjukkan bahwa perubahan molekuler berperan penting dalam patogenesis tumor mesenkimal, salah satunya melibatkan gen *B-Rapidly Accelerated Fibrosarcoma (BRAF)*. Gen *BRAF* merupakan proto-onkogen yang berfungsi sebagai enzim dalam jalur *mitogen-activated protein kinase (MAPK)*, yang mengatur pertumbuhan, diferensiasi, dan *survival* sel. Mutasi *BRAF* dibagi menjadi tiga kelas, yaitu kelas I mutasi pada lokus V600 yang dapat mengaktifkan jalur MAPK secara mandiri, kelas II yang mencakup mutasi non-V600 dan fusi gen yang juga aktif melalui dimerisasi, serta kelas III dianggap sebagai *kinase-dead* yang memiliki aktivitas lebih rendah dan bergantung pada aktivasi RAS.⁵

Perubahan pada gen ini, baik berupa mutasi maupun fusi, dapat menyebabkan aktivasi abnormal yang berperan dalam perkembangan tumor. Fusi *BRAF* menjadi penting karena mekanisme aktivasinya berbeda dengan mutasi titik seperti V600E. Mutasi titik pada V600E terjadi karena perubahan nukleotida c.1799T>A dan menyebabkan substitusi residu valine (V) oleh asam glutamat (E) pada kodon 600 protein *BRAF*, sedangkan fusi *BRAF* terjadi akibat *rearrangement* kromosom yang menggabungkan bagian kinase *BRAF* dengan gen lain, seperti *KIAA1549* atau *SND1*. Proses ini menghasilkan protein gabungan yang aktif terus-menerus, sehingga jalur MAPK diaktifkan secara berkelanjutan dan mendorong perkembangan tumor.³

Berdasarkan studi retrospektif terhadap 1.964 pasien sarkoma jaringan lunak stadium lanjut di Rumah Sakit Komagome di Tokyo, Jepang pada Juni 2019 sampai Maret 2023 menunjukkan bahwa mutasi *BRAF* ditemukan pada 24 kasus (1,2%). Dari jumlah tersebut didapatkan mutasi V600E sebanyak 11 kasus (0,6%), mutasi non-V600E terjadi pada 9 kasus (0,46%), sedangkan fusi *BRAF* sebanyak 4 kasus (0,2%). Mutasi gen tersebut meskipun jarang, namun memiliki karakteristik klinis dan potensi sebagai target terapi pada pasien ini. Akhir-akhir ini sarkoma jaringan lunak seperti *spindle cell sarcoma* pada pediatrik dan *myxoinflammatory fibroblastic sarcoma* sering kali menunjukkan mekanisme aktivasi jalur MAPK melalui fusi *BRAF*.⁶

Identifikasi fusi gen *BRAF* memiliki nilai diagnostik penting karena gambaran morfologi tumor sering tidak spesifik dan dapat menyerupai entitas tumor lain. Oleh karena itu, pemeriksaan molekuler seperti *next-generation sequencing (NGS)*, *fluorescence in situ hybridization (FISH)*, atau panel fusi gen, perlu dipertimbangkan pada tumor yang secara morfologi mencurigakan tetapi tidak

menunjukkan mutasi titik *BRAF*. Deteksi fusi gen *BRAF* tidak hanya bernilai diagnostik, tetapi juga memiliki implikasi terapeutik karena dapat mempengaruhi pemilihan terapi target. Tumor dengan fusi *BRAF* umumnya mengaktifkan jalur MAPK melalui mekanisme yang berbeda dari mutasi *BRAF* V600E, sehingga penggunaan inhibitor *BRAF* generasi awal cenderung memberikan respons yang terbatas atau tidak optimal. Inhibitor jalur MEK, seperti trametinib, dilaporkan menunjukkan aktivitas terapeutik pada beberapa tumor dengan fusi *BRAF*, sehingga identifikasi fusi ini penting dalam menentukan strategi terapi yang lebih tepat.⁷ Berdasarkan hal tersebut, tinjauan pustaka ini bertujuan untuk memahami secara lebih mendalam peran, mekanisme, dan patogenesis *BRAF* dalam tumor mesenkimal, serta implikasinya dalam pengembangan terapi target.

EPIDEMIOLOGI TUMOR MESENKIMAL

Tumor mesenkimal merupakan kelompok neoplasma yang berasal dari jaringan penunjang tubuh, seperti jaringan fibrosa, adiposa, otot polos, otot serat lintang, pembuluh darah, saraf perifer, tulang, dan tulang rawan.² Tumor ini memiliki insidensi kurang dari 6 per 100.000 penduduk.⁸ Analisis *Global Burden of Disease 2021* melaporkan bahwa jumlah kasus sarkoma jaringan lunak meningkat dari sekitar 54.631 kasus pada tahun 1990 menjadi sekitar 96.201 kasus pada tahun 2021.⁹ Data ini mengungkapkan bahwa tumor mesenkimal ganas merupakan kelompok tumor yang jarang, tetapi penting secara klinis karena dapat terjadi pada berbagai kelompok usia, berbagai lokasi anatomi, dan berbagai pola diferensiasi jaringan. Dalam beberapa tahun terakhir, perkembangan teknologi NGS telah mengungkapkan bahwa sebagian tumor mesenkimal didorong oleh kelainan genetik spesifik berupa fusi gen, termasuk fusi yang melibatkan gen *BRAF*. Salah satu kelainan molekuler yang semakin mendapat perhatian adalah fusi gen *BRAF*, yang merupakan bagian dari aktivasi jalur MAPK.⁵

B-RAPIDLY ACCELERATED FIBROSARCOMA (B-RAF) DAN GEN BRAF

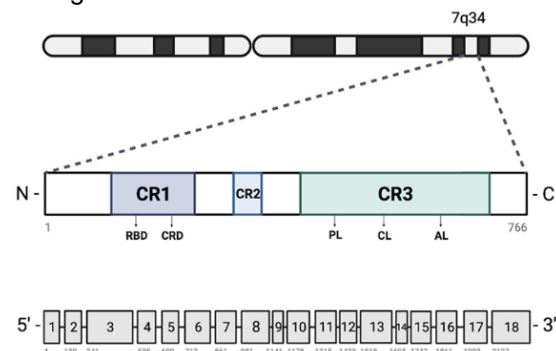
BRAF merupakan proto-onkogen yang mengkode protein *serine/threonine kinase* dan berperan penting dalam jalur pensinyalan MAPK melalui interaksi dengan RAS. Jalur ini berfungsi dalam mengatur berbagai proses seluler, termasuk siklus sel, proliferasi, diferensiasi, dan *survival* sel. Dalam struktur genomnya, *BRAF* terletak pada kromosom 7 lengan panjang (7q34), terdiri atas 18 ekson dan 17 intron, serta mengkode protein dengan

panjang 766 asam amino. *BRAF* termasuk dalam keluarga RAF kinase bersama ARAF dan CRAF (RAF-1), yang memiliki kesamaan struktur berupa tiga *conserved regions* (CR), yaitu CR1 sebagai domain pengikat RAS, CR2 sebagai domain regulator, dan CR3 sebagai domain kinase katalitik (Gambar 1).¹⁰

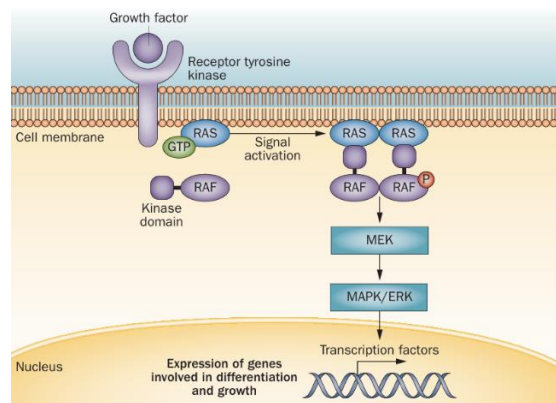
Struktur protein BRAF tersusun atas domain regulator pada bagian N-terminal (CR1 dan CR2) dan domain kinase pada bagian C-terminal (CR3). Domain CR1 mencakup *RAS-binding domain* (RBD) dan *cysteine-rich domain* (CRD), yang masing-masing berperan dalam interaksi dengan RAS dan membran fosfolipid. Interaksi antara RBD dan RAS bergantung pada keadaan aktif RAS (RAS-GTP), sedangkan CRD dapat berikatan secara independen. Domain CR2 merupakan *serine/threonine rich region* serta terdapat *phosphorylation site* yang berikatan dengan protein regulator 14-3-3, yaitu suatu protein regulator yang dapat berikatan dengan berbagai protein pemberi sinyal seperti kinase, fosfatase dan reseptor transmembran. Domain CR3 sebagai domain katalitik terdiri atas dua lobus, yaitu lobus kecil N-terminal dan lobus besar C-terminal yang dipisahkan oleh celah katalitik (*catalytic cleft*). Lobus N-terminal mengandung *glycine-rich ATP-binding loop* (P-loop) yang berperan dalam pengikatan ATP dan berinteraksi dengan *activation segment*.¹⁰

Dari segi fungsi, protein BRAF berperan sebagai faktor kunci dalam jalur pensinyalan RAS-RAF-MEK-ERK (MAPK) yang mengatur proliferasi, diferensiasi, dan *survival* sel. Aktivasi jalur ini dimulai ketika ligan, seperti faktor pertumbuhan, sitokin, atau hormon, berikatan dengan *receptor tyrosine kinase* (RTK) di permukaan sel, kemudian mengalami dimerisasi dan autofosforilasi. Aktivasi RTK ini merekrut protein adaptor GRB2 dan SOS, yang memfasilitasi perubahan RAS dari bentuk inaktif (RAS-GDP) menjadi bentuk aktif (RAS-GTP). Selanjutnya, RAS aktif merekrut protein RAF, termasuk BRAF, ke membran plasma dan menginduksi aktivasi melalui proses dimerisasi dan fosforilasi.^{12,13} BRAF yang telah teraktivasi kemudian memfosforilasi MEK1/2, selanjutnya mengaktifkan ERK1/2. ERK terfosforilasi akan bertranslokasi ke inti sel dan mengatur aktivitas berbagai faktor transkripsi, sehingga mengendalikan ekspresi gen yang berperan dalam proliferasi, diferensiasi, apoptosis, dan *survival* sel (Gambar 2). Selain melalui mekanisme yang bergantung pada ligan, jalur ini juga dapat diaktifkan secara independen oleh stres lingkungan, seperti radiasi atau cedera jaringan. BRAF memiliki peran penting dalam transduksi sinyal seluler melalui aktivitas

kinasanya dan berkontribusi dalam regulasi fungsi sel normal maupun proses onkogenesis.¹²



Gambar 1. Skema struktur gen dan protein BRAF yang menunjukkan domain fungsional. CR: *conserved region*; RBD: *RAS-binding domain*; CRD: *cysteine-rich domain*; PL: *phosphate-binding loop*; CL: *catalytic loop*; AL: *activation loop*.¹¹

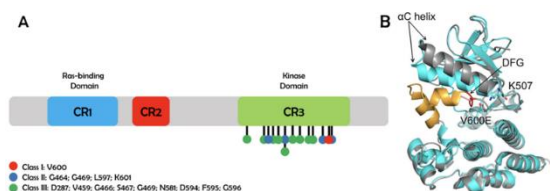


Gambar 2. Aktivasi RAF pada jalur MAPK. Kaskade pensinyalan pertumbuhan diaktifkan oleh banyak sinyal ekstraseluler yang berbeda seperti pengikatan *epidermal growth factor* (EGF) ke *epidermal growth factor receptor* (EGFR) di permukaan sel. Protein RAS yang diaktifkan akan mengaktifkan protein RAF. RAF memfosforilasi MEK, yang memfosforilasi dan mengaktifkan ERK, memulai transduksi sinyal proliferasi, pertumbuhan serta *survival* sel.¹⁴

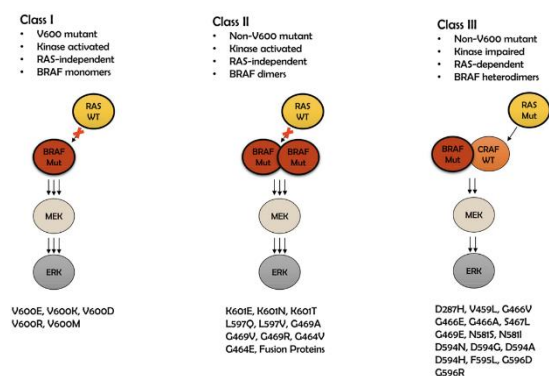
MUTASI BRAF DAN PERANNYA PADA KEGANASAN

Mutasi pada *BRAF* merupakan *oncogenic driver* penting pada berbagai kanker, tidak hanya terjadi pada tumor mesenkimal, juga dapat terjadi pada kanker seperti melanoma, kanker kolorektal, karsinoma tiroid papiler, *non-small cell lung cancer* (NSCLC), limfoma non-hodgkin dan glioblastoma. Mutasi ini sering mengaktifkan jalur MAPK dan menjadi target terapi efektif, terutama pada tipe V600.¹ Mutasi ini diklasifikasikan menjadi tiga kelas berdasarkan jalur aktivasi dan aktivitas kinasanya (Gambar 3). Kelas I mencakup mutasi V600 (terutama V600E), yang mengaktifkan BRAF secara konstitutif sebagai monomer dan mampu mengaktifkan jalur

MAPK secara independen dari RAS yang menyebabkan aktivasi kinase yang tinggi. Kelas II terdiri atas mutasi non-V600, termasuk mutasi *missense*, fusi gen, dan delesi *in-frame*, yang membentuk dimer aktif dengan aktivitas kinase menengah hingga tinggi dan juga mengaktifkan jalur MAPK secara independen melalui dimerisasi. Sementara itu, kelas III mencakup mutasi dengan aktivitas kinase rendah yang bergantung pada aktivasi RAS untuk meneruskan sinyal. Seluruh ketiga kelas mutasi ini menyebabkan aktivasi jalur MAPK, terutama melalui peningkatan fosforilasi ERK (Gambar 4).¹⁰



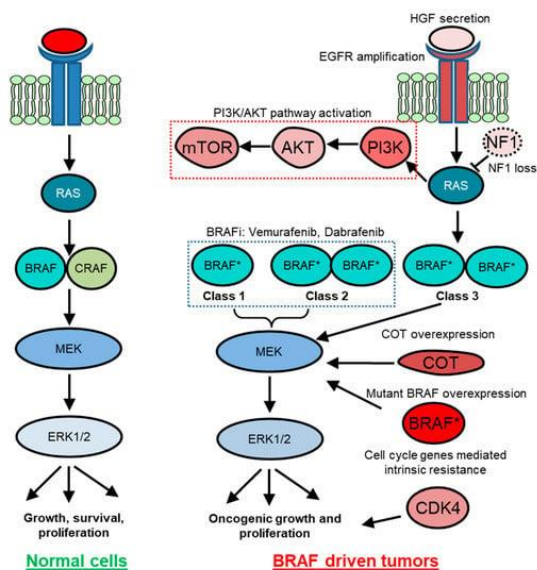
Gambar 3. Struktur protein proto-onkogen B-raf (*BRAF*). (A) Mutasi *BRAF* ditunjukkan pada struktur protein *BRAF* (CR1; biru, CR2; merah, CR3; hijau). (B) Bentuk aktif protein *BRAF* (biru) dan bentuk tidak aktif protein *BRAF* (abu-abu dan oranye). Motif Asp-Phe-Gly (DFG) (merah).¹⁰



Gambar 4. Klasifikasi mutasi *BRAF* berdasarkan mekanisme aktivasi jalur MAPK. Kelas I berkaitan dengan kodon 600. *BRAF* V600 bekerja sebagai monomer aktif, tidak bergantung pada RAS, dan menyebabkan fosforilasi ERK secara konstitutif. Pada kelas II, transduksi sinyal melibatkan mutasi non-V600. Aktivasi kinase bekerja melalui pembentukan dimer *BRAF*, dan juga tidak bergantung pada RAS. Kelas III merupakan mutasi non-V600 dengan aktivitas kinase rendah, yang mengaktifkan sinyal *downstream* melalui heterodimerisasi dengan *CRAF* dan memerlukan aktivasi RAS.¹⁰

Pada mutasi kelas I, terdapat variasi lain pada kodon V600 (misalnya V600K, V600R, dan V600D) dengan karakteristik klinis yang berbeda. Mutasi kelas II umumnya terletak pada *activation segment* atau *P-loop* (seperti K601, L597, G464, dan G469), yang dapat mengganggu mekanisme *auto-inhibitor* aktivitas kinase, sehingga mempertahankan atau meningkatkan aktivitas kinase *BRAF* secara konstitutif. Sebaliknya, mutasi kelas III, seperti pada residu D594 yang terletak pada motif DFG, menurunkan aktivitas kinase, tetapi tetap dapat mengaktifkan jalur MAPK melalui ketergantungan pada RAS; mutasi ini pada beberapa kanker dilaporkan memiliki prognosis yang lebih baik dibandingkan mutasi V600E. Baik mutasi kelas I maupun kelas II sebagian besar tidak lagi bergantung pada regulator *upstream*, yaitu RAS GTPase, untuk aktivasinya. Ketidaktergantungan ini menyebabkan aktivasi *BRAF* secara konstitutif yang tidak bergantung pada rangsangan *upstream* untuk pertumbuhan dan proliferasi sel kanker. Sebaliknya, mutasi *BRAF* kelas III bergantung pada sinyal RAS untuk mencapai aktivasi yang optimal (Gambar 5).¹⁰

Fusi gen *BRAF* sering dikategorikan sebagai mutasi kelas II, yang memiliki aktivitas kinase sedang hingga tinggi. Tidak seperti mutasi *BRAF* V600, fusi *BRAF* mengaktifkan jalur MAPK dengan menghilangkan daerah N-terminal *auto-inhibitor* yang menyebabkan dimerisasi konstitutif protein *BRAF*. Akibatnya, mutasi *BRAF* akan meningkatkan aktivasi ERK yang selanjutnya mengatur berbagai faktor transkripsi, seperti c-Myc dan c-Fos, yang berperan dalam proliferasi dan *survival* sel. Aktivasi jalur ini juga dapat mempengaruhi proses transisi epitel ke mesenkimal (*epithelial-mesenchymal transition/EMT*) melalui modulasi jalur TGF- β , sehingga berkontribusi terhadap progresi dan metastasis tumor. *BRAF* merupakan *oncogenic driver* penting sekaligus target terapi potensial dalam berbagai keganasan.¹³



Gambar 5. Pada sel normal, rangsangan pertumbuhan ekstraseluler mengaktifkan *receptor tyrosine kinase* (RTK), kemudian RAS, dan selanjutnya meneruskan sinyal melalui kaskade MAPK. Pada kanker dengan mutasi *BRAF*, sinyal pertumbuhan dapat menjadi hiperaktif melalui mekanisme yang berbeda-beda. Mutasi kelas I bekerja sebagai monomer yang tidak bergantung pada RAS, mutasi kelas II bekerja melalui dimerisasi *BRAF* yang juga relatif independen dari RAS, sedangkan mutasi kelas III memiliki aktivitas kinase rendah dan memerlukan aktivasi RAS serta CRAF untuk meneruskan sinyal *downstream*.¹⁵

FUSI GEN *BRAF* DAN PERANNYA PADA KEGANASAN.

Fusi gen merupakan suatu peristiwa molekuler genetik di mana dua gen yang sebelumnya terpisah di dalam genom menjadi bergabung membentuk satu unit transkrip baru yang bersifat onkogenik. Proses ini umumnya diawali oleh adanya kerusakan fisik pada untai ganda DNA (*double-strand breaks*) yang dipicu oleh faktor eksogen seperti paparan radiasi atau zat karsinogenik kemudian diperbaiki secara tidak sempurna oleh mekanisme seluler atau rekombinasi yang salah arah. Dalam kondisi normal, mekanisme perbaikan DNA bertujuan menjaga stabilitas genom, namun pada keadaan tertentu akibat paparan radiasi, zat karsinogen, stres replikasi atau instabilitas genom, proses perbaikan ini dapat salah menyambungkan ujung DNA dari dua gen yang berbeda, sehingga terbentuklah fusi suatu gen.¹⁶

Fusi gen terjadi melalui beberapa mekanisme *rearrangement* kromosom. Mekanisme tersebut dapat berupa translokasi, insersi, delesi, duplikasi, inversi dan *chromothripsis*. Mekanisme yang paling umum adalah translokasi, di mana sebagian segmen kromosom berpindah ke kromosom lain, sehingga

dua gen yang sebelumnya terpisah menjadi berdekatan dan akhirnya menyatu. Selain itu, fusi dapat terjadi melalui insersi, yaitu perpindahan fragmen DNA dari satu lokasi genom ke lokasi lain di dalam kromosom yang sama atau antar kromosom, atau melalui delesi yang menghilangkan segmen DNA di antara dua gen sehingga keduanya menjadi berdampingan. Pada mekanisme duplikasi, terjadi ketika suatu segmen genom mengalami duplikasi dan salinan tersebut berada berurutan pada lokasi asalnya yang menyebabkan bagian dari satu gen bergabung dengan gen lain berada dalam regio yang sama, sehingga menghasilkan fusi gen, seperti fusi gen *KIAA1549::BRAF*. Fusi juga dapat terjadi melalui inversi, yaitu ketika suatu segmen kromosom patah, berputar, kemudian bergabung kembali dalam posisi terbalik. Sedangkan *chromothripsis*, pada mekanisme ini, satu kromosom, satu regio kromosom, atau beberapa kromosom mengalami fragmentasi masif dalam satu peristiwa katastrofik, kemudian fragmen-fragmen tersebut disusun kembali secara tidak tepat.¹⁶

Hasil dari proses ini adalah terbentuknya gen yang dapat menghasilkan protein kimerik yang kehilangan domain regulasi normalnya sehingga protein selalu aktif dan memiliki fungsi baru yang mendorong proliferasi sel. Dalam konteks tumor, gen yang mengalami fusi ini sering bertindak sebagai *driver mutation*, karena dapat mengaktifkan jalur sinyal penting seperti jalur proliferasi dan *survival* sel secara terus-menerus. Pada fusi kinase seperti *BRAF*, domain kontrol *auto-inhibitor* pada terminal-N sering kali hilang dan digantikan oleh domain dari gen pasangan (seperti *KIAA1549*). Bagian dari gen lain (biasanya ujung-N) menyatu dengan domain kinase gen *BRAF* (biasanya ujung-C), yang mengakibatkan protein *BRAF* menjadi aktif secara terus-menerus tanpa memerlukan sinyal dari luar. Hasil dari penyatuan ini adalah pembentukan protein kimerik yang kehilangan domain regulasi *auto-inhibitor* pada terminal-N, namun tetap mempertahankan domain kinase pada terminal-C. Konsekuensi dari hilangnya domain regulasi ini adalah protein fusi *BRAF* secara aktif membentuk homodimer yang stabil tanpa memerlukan stimulasi dari protein *upstream* seperti RAS yang mengakibatkan domain kinase pada terminal-C menjadi aktif secara terus-menerus yang kemudian mengirimkan sinyal proliferasi sel tanpa henti ke dalam inti sel. Dalam keadaan normal, jalur MAPK terkendali dengan ketat, namun protein dari hasil fusi ini menyebabkan aktivasi konstitutif pada jalur sinyal tersebut yang secara terus-menerus memicu proliferasi sel, sintesis protein dan penghambatan apoptosis.

Aktivasi jalur MAPK yang tidak terkendali inilah yang menjadi *oncogenic driver* dalam transformasi sel normal menjadi sel neoplastik.¹⁶

INSIDENS DAN PREVALENSI TUMOR DENGAN FUSI *BRAF*

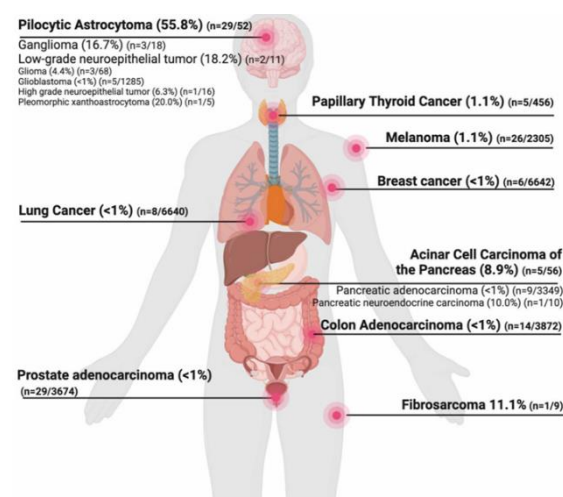
Fusi *BRAF* merupakan mutasi genetik yang relatif jarang ditemukan, namun menunjukkan distribusi yang luas pada berbagai jenis tumor. Studi besar berbasis profil genomik pada hampir 2.000 pasien sarkoma jaringan lunak menunjukkan bahwa mutasi *BRAF* hanya ditemukan pada sekitar 1,2% kasus, dengan fusi *BRAF* sendiri sekitar 0,2% dari seluruh tumor mesenkimal. Frekuensi fusi *BRAF* relatif rendah dibandingkan mutasi titik *BRAF*. Meskipun jarang, fusi ini tersebar pada berbagai tipe histologi dan melibatkan beragam pasangan gen, mencerminkan heterogenitas molekuler yang tinggi. Pada populasi besar kanker, fusi *BRAF* hanya ditemukan pada sebagian kecil kasus, tetapi memiliki distribusi yang luas dan melibatkan banyak pasangan gen yang berbeda, menunjukkan bahwa fusi *BRAF* memiliki heterogenitas molekuler yang tinggi.⁶

Berdasarkan penelitian oleh Chen *et al*¹ dari 97.024 sampel berbagai jenis tumor dilakukan analisis genomik terhadap 69.337 pasien menggunakan NGS, ditemukan 241 kasus tumor dengan fusi *BRAF*, dan 195 diantaranya merupakan fusi *de novo*. Dari hasil ini didapatkan angka prevalensi fusi *BRAF de novo* kurang dari 1% dari seluruh kanker yang diperiksa. Fusi ini teridentifikasi pada 52 jenis tumor yang berbeda, menunjukkan bahwa fusi *BRAF* tersebar pada berbagai tipe neoplasma. Fusi gen *BRAF* menunjukkan angka kejadian yang tinggi terutama pada tumor sistem saraf pusat seperti *pilocytic astrocytoma* yang memiliki prevalensi sekitar 56%, kemudian fibrosarkoma memiliki prevalensi 11,1% (Gambar 6).¹

Pada umumnya, fusi *BRAF* lebih sering ditemukan pada tumor yang terjadi pada anak dan remaja. Hasil penelitian Penning *et al*¹⁷ pada 10 dari 14 kasus (71%) *spindle cell neoplasm* dengan morfologi IFS-like terjadi pada populasi usia rata-rata 6 bulan (dengan rentang usia dari kongenital hingga 32 tahun), serta lebih banyak terjadi pada laki-laki. Seluruh tumor melibatkan jaringan lunak pada lokasi di ekstremitas (n=4), aksial (n=3), retroperitoneum (n=2), kepala dan leher (n=1). Berdasarkan penelitian Kao *et al*¹⁸, pada kasus yang sama, yakni *spindle cell neoplasm* dengan morfologi IFS-like, didapatkan prevalensi usia 2 hari hingga 16 tahun pada 5 dari 10 kasus (50%), terutama pada kasus yang negatif terhadap fusi *NTRK3*. Organ yang

terlibat meliputi pelvis (2 kasus), retroperitoneum, paraspinal, dan paha. Hal ini menunjukkan bahwa aktivasi jalur pensinyalan MAPK melalui mekanisme fusi gen merupakan salah satu mekanisme molekuler penting dalam patogenesis tumor pada populasi pediatrik.¹

Distribusi usia pada tumor yang mengandung fusi *BRAF* menunjukkan kecenderungan yang berbeda antara populasi pediatrik dan dewasa. Pada populasi dewasa, fusi *BRAF* tetap dapat ditemukan, tetapi prevalensinya lebih rendah dan jenis tumornya lebih beragam. Fusi ini tidak hanya terbatas pada tumor mesenkimal, melainkan juga dilaporkan pada tumor non-mesenkimal. Perbedaan distribusi usia ini menunjukkan adanya heterogenitas biologis dalam aktivasi jalur MAPK. Pasangan gen fusi *BRAF* yang paling banyak ditemukan adalah *KIAA1549, SND1, AGN, MKRN1, dan TRIM24*.¹



Gambar 6. Prevalensi keganasan dengan fusi *BRAF* pada dewasa dan anak, dengan tingkat kejadian yang berbeda menurut jenis kanker.¹

POLA HISTOLOGI DAN IMUNOHISTOKIMIA TUMOR DENGAN FUSI *BRAF*

Keragaman jenis sel yang berasal dari mesenkimal pada sarkoma menyebabkan sarkoma sangat heterogen, dimana lebih dari 80 entitas merepresentasikan bentuk ganas dari sel mesenkimal normal. Berdasarkan epidemiologi, tumor jenis sarkoma relatif jarang pada dewasa ($\pm 1\%$) namun lebih sering ditemukan pada pasien anak (hingga 20%), dengan hampir 100 entitas telah diklasifikasikan oleh WHO.^{1,2}

Hampir separuh dari seluruh entitas sarkoma yang terdapat translokasi kromosom akan mendukung proses pembentukan fusi gen. Perkembangan teknologi seperti NGS telah mengungkap lebih dari 100 protein fusi pada sekitar 40% dari semua entitas sarkoma.

Fusi gen ini penting secara diagnostik karena bersifat spesifik terhadap jenis tumor.²

Tumor Mesenkimal

Gambaran histopatologi pada sarkoma dengan fusi *BRAF* sering kali menunjukkan bentuk sel *spindle* dibandingkan dengan bentuk sel lainnya. Salah satu yang paling banyak ditemukan yakni pola *infantile fibrosarcoma-like (IFS-like)*. *IFS-like* dengan fusi *BRAF* merupakan tumor mesenkimal sel *spindle* yang ditemukan pada populasi pediatri dan dewasa muda, yang gambaran morfologinya menyerupai *IFS* klasik, tetapi tidak memiliki fusi *NTRK* dan justru menunjukkan fusi *BRAF*.¹⁷

Morfologi fusi *BRAF* umumnya menunjukkan proliferasi sel *spindle* dengan susunan pola pertumbuhan *intersecting fascicles* tidak teratur di dalam stroma matriks ekstraseluler yang dapat bervariasi antara kolagen padat hingga area miksoid, kadang-kadang disertai dengan infiltrat sel inflamasi kronis di dalam tumor. Pada sebagian kasus terdapat *herring-bone pattern* atau *fish-bone pattern*. Derajat atipik inti sel biasanya bervariasi dari ringan hingga sedang, dengan aktivitas mitosis yang juga bervariasi tergantung pada derajat keganasan tumor. Sel tumor menunjukkan inti sel berbentuk oval sampai *spindle*, kromatin halus sampai granular, nukleoli kecil dengan tingkat pleomorfisme ringan sampai sedang. Tumor ini juga memiliki sitoplasma dengan eosinofilik relatif sedikit, batas sel tidak jelas

dan tampak seperti sel fibroblas atau myofibroblas. Sebagian besar tumor menunjukkan pertumbuhan infiltratif ke jaringan adiposa atau jaringan lunak di sekitarnya. Pada beberapa kasus, tampak gambaran vaskular yang prominen dengan pola percabangan *hemangiopericytoma-like*. Tumor ini juga dapat menunjukkan pulasan positif pada CD34 dan S100.¹⁷

Berdasarkan kelompok usia, gambaran morfologi pada anak-anak sering menyerupai gambaran *IFS* secara umum tetapi tanpa *herring-bone pattern* yang klasik dengan sel yang cenderung lebih padat dengan sitoplasma yang sedikit. Sedangkan pada dewasa menunjukkan gambaran yang lebih agresif dengan aktivitas mitosis yang lebih tinggi dan area nekrosis, namun tetap mempertahankan komponen sel *spindle* sebagai ciri utama.¹⁷

Penning *et al*¹⁷ melaporkan kasus-kasus fusi *BRAF* pada *undifferentiated spindle cell sarcoma* atau *fibroblastic tumor* di berbagai lokasi seperti ekstremitas, batang tubuh, kepala, leher, retroperitoneum serta jaringan lunak lainnya yang memiliki gambaran morfologi tidak khas untuk sarkoma dimana seluruhnya memiliki fusi *BRAF* yaitu *ADCK2::BRAF*, *EPB41L2::BRAF*, *MCC::BRAF*, *AGAP3::BRAF*, *KIAA1549::BRAF*, *OSBP::BRAF*, *DAAM1::BRAF*, *TEX41::BRAF*, *NRF1::BRAF*, *FOXN3::BRAF* dan *TRIP11::BRAF* (Tabel 1).¹⁷

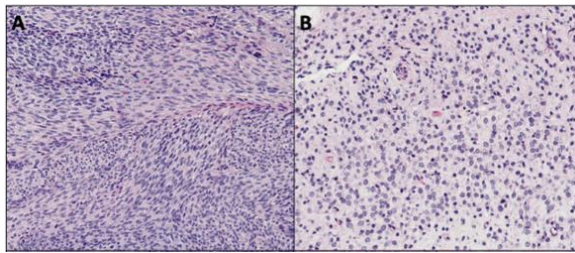
Tabel 1. Karakteristik klinikopatologi pada fusi *BRAF*.¹⁷

Case	Age	Sex	Site	Genetics	IHC				Mits	Treatment	Mets	Outcome	Follow-up (mo)
					CD34	S100	SMA	Pan-Trk					
1	Congenital	M	Paraspinal	<i>BRAF</i> p.L485F; <i>BRAF-ADCK2</i>	-	+	Focal+	-	N/A	N/A	N/A	IUFD at 29 WGA	N/A
2	9 days	M	Perirectal/submucosal	<i>BRAF</i> p.V600D	Patchy+	Patchy+	-	-	10	UNK	UNK	UNK	UNK
3	9 months	F	Neck	<i>BRAF</i> p.V600E	+	-	UNK	Equivocal	1	Resection	NO	NED	6
4	1 year	M	Leg	<i>BRAF</i> p.V600E	-	-	-	-	2	TBD	UNK	UNK	UNK
5	18 months	F	Kidney (cCMN)	<i>BRAF</i> p.V600E	-	Patchy+	-	-	3	Resection	NO	NED	24
6	Congenital	M	Scalp	<i>EPB41L2-BRAF</i> ^a	Focal+	Focal+	Patchy+	-	1	Resection	NO	AWD	60
7	Congenital	M	Leg	<i>MCC-BRAF</i>	-	-	+	-	1	MEK inhibitor	NO	AWD	11
8	1 month	M	Leg	<i>AGAP3-BRAF</i>	+	-	-	-	1	MEK inhibitor, MEK/mTOR inhibitor combo	NO	AWD	8
9	3 months	M	Paraspinal	<i>KIAA1549-BRAF</i>	-	-	-	-	6	Resection	NO	NED	12
10	5 months	M	RP	<i>OSBP-BRAF</i>	-	-	-	-	44	Resection, adjuvant chemo	NO	NED	10
11	7 months	M	Arm	<i>DAAM1-BRAF</i>	-	-	-	-	1	Resection, adjuvant chemo	NO	NED	24
12	15 years	M	Leg	<i>TEX41-BRAF</i>	Patchy+	-	+	UNK	1	Resection	NO	NED	12
13	18 years	F	Anterior mediastinum	<i>NRF1-BRAF</i>	Patchy+	-	UNK	Focal cyto+	1	UNK	NO	AWD	3
14	32 years	M	RP	<i>FOXN3-BRAF</i> ; <i>TRIP11-BRAF</i>	-	-	-	UNK	10	Resection, adjuvant chemo, BRAF/MEK inhibitor combo	YES	DOD	9

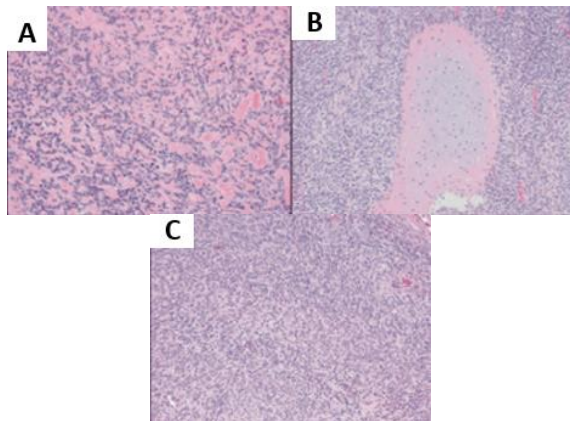
Gambaran histopatologi dari sarkoma dengan fusi *KIAA1549::BRAF* menunjukkan sel berbentuk oval hingga *spindle* tersusun berjaras saling berpotongan secara acak. Tumor dengan fusi *OSBP::BRAF* tampak gambaran pembuluh darah ektatik atau *hemangiopericytoma (HPC)-like*. Sarkoma dengan fusi *DAAM1::BRAF* tampak gambaran hiposeluler dan pertumbuhan infiltratif. Jenis tumor dengan fusi *AGAP3::BRAF* menunjukkan pola

morfologi utama berupa pertumbuhan infiltratif ke dalam jaringan adiposa seperti pada lipofibromatosis. Morfologi tumor dengan fusi *EPB41L2::BRAF* menunjukkan deposisi hialin perivaskular dan stroma. Sedangkan pada satu tumor dengan fusi *ADCK2::BRAF* yang terletak di paraspinal tampak mengandung diferensiasi tulang rawan heterogen (Gambar 7-9). Pulasan IHC pada kasus-kasus fusi *BRAF* tersebut tidak menunjukkan imunofenotipe spesifik yang khas

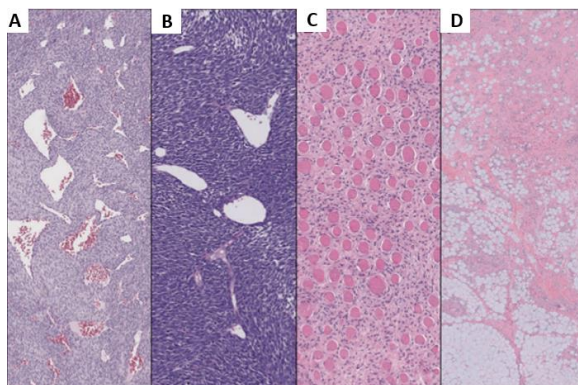
untuk mendeteksi adanya suatu fusi *BRAF* (Gambar 10).¹⁷



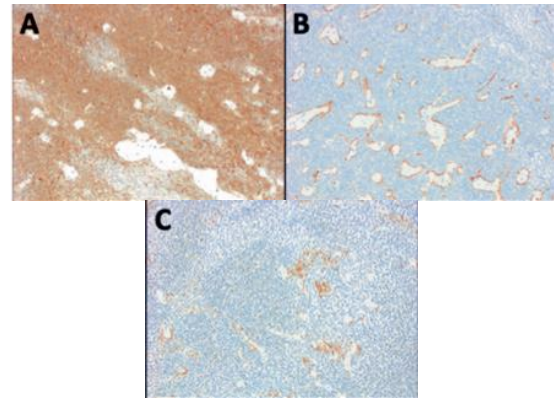
Gambar 7. Morfologi tumor dengan mutasi *BRAF*. A. Sel berbentuk oval hingga *spindle* tersusun berjaras. B. Sel tersusun *haphazardly* dengan stroma kolagen atau stroma miksoid.¹⁷



Gambar 8. Morfologi tumor dengan mutasi *BRAF*. A. Hialinasi stroma dan/atau perivascular. B. Gambaran diferensiasi tulang rawan heterolog. C. Sel *spindle* tersusun berjaras.¹⁷



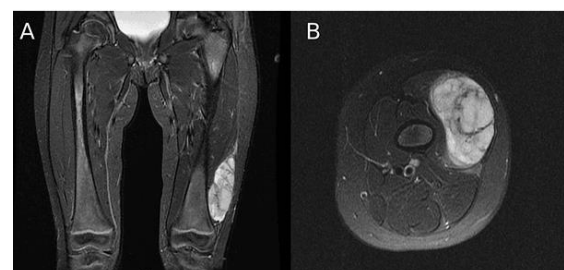
Gambar 9. Morfologi tumor dengan mutasi *BRAF*. A dan B. Pembuluh darah melebar dan HPC-like. C. Pertumbuhan infiltratif fokal. D. Pertumbuhan infiltratif pada jaringan adiposa peritumoral.¹⁷



Gambar 10. Gambaran IHK tumor dengan fusi *ADCK2::BRAF*. A. Positif terhadap S100. B. Negatif terhadap CD34, positif hanya pada sel endotel. C. Positif fokal terhadap *smooth muscle actin* (SMA).¹⁷

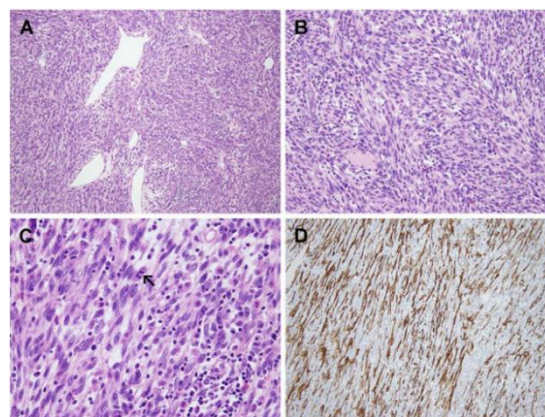
1. IFS-like tumors dengan fusi *BRAF*

IFS-like tumors merupakan sarkoma asal fibroblastik yang ditemukan pada usia anak-anak, memiliki morfologi menyerupai IFS dengan NTRK yang negatif. Sebagian besar sarkoma ini terjadi pada anak di bawah usia 2 tahun dan beberapa kasus dapat muncul hingga 16 tahun. Tumor ini mempunyai predileksi pada rongga perut, daerah paraspinal, ekstremitas dan dapat bermetastasis jauh (Gambar 11). Pada temuan klinis, tumor ini merupakan massa yang berbatas tegas, sedangkan massa yang terdapat di paraspinal menunjukkan gejala kelemahan pada ekstremitas hingga kesulitan berjalan.⁴ Sebagian kecil tumor menunjukkan gen *BRAF* mengalami duplikasi pada ekson 2. Ditemukan berbagai pasangan gen fusi *BRAF* pada IFS-like tumors yang dilaporkan pada penelitian Penning *et al*¹⁷ dimana dilakukan analisis terhadap 10 kasus fusi *BRAF*. Pasangan fusi yang ditemukan sangat heterogen dan sebagian besar merupakan fusi baru, yaitu *EV15*, *EPB41L2*, *FOXN3*, *TRIP11*, *KIAA1549*, *MCC*, *OSBP*, *DAAM1*, *TEX41*, *NRF1*, *AGAP3*, dan *ADCK2*. (Gambar 13).^{17,19}

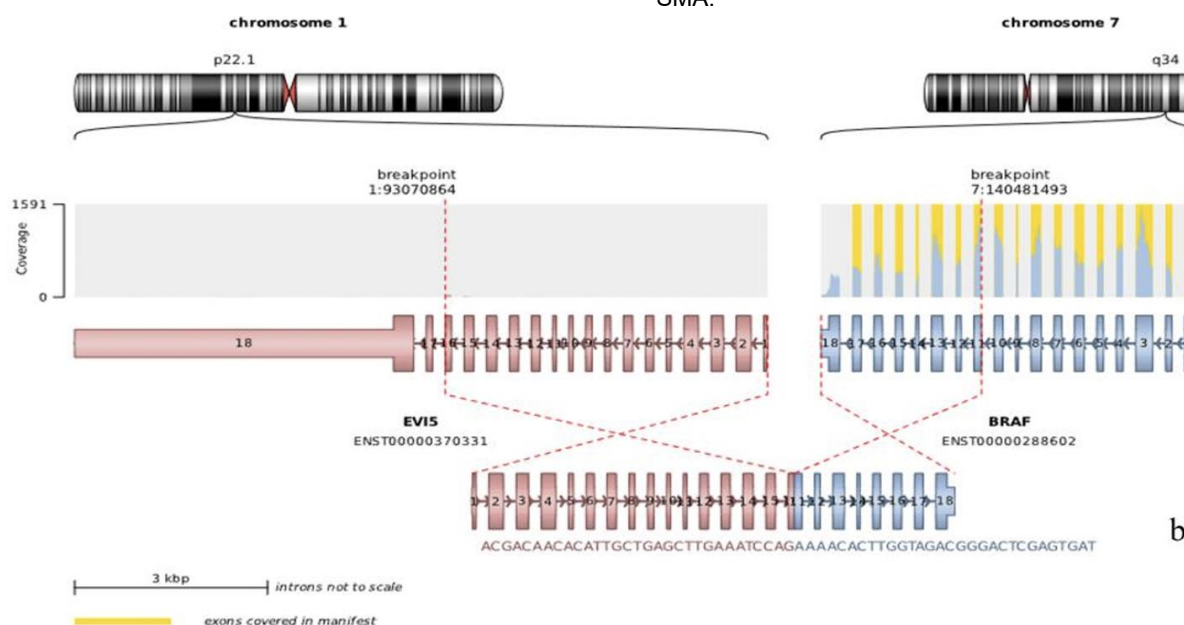


Gambar 11. A. Potongan koronal MRI tampak massa jaringan lunak di bagian lateral bawah paha kiri. B. Potongan aksial pada MRI tidak tampak invasi ke tulang sekitar.²⁰

Gambaran morfologi tumor menunjukkan bentuk sel *spindle* monomorfik tersusun berjaras saling berpotongan disertai pelebaran vaskular dengan kromatin halus dan atipia ringan pada nukleus. Pada kasus lain tampak gambaran sel *spindle* hingga oval tersusun membentuk lembaran dengan komponen *round cell* fokal, kromatin halus dan sitoplasma yang sedikit. Pada kasus kongenital dapat ditemukan pertumbuhan infiltratif ke dalam otot serat lintang, aktivitas mitosis bervariasi dan dapat ditemukan suatu nekrosis fokal (Gambar 12).⁴ Hasil IHC memberikan hasil yang bervariasi dan tidak spesifik. Beberapa kasus menunjukkan hasil positif fokal terhadap SMA. Kasus lain terdapat hasil positif terhadap S100, CD34, desmin, ETV4 dan WT1.^{4,18,20}



Gambar 12. Morfologi tumor retroperitoneal dengan fusi *BRAF*. A. Sel *spindle* monomorfik dengan pembuluh darah bercabang B. Sel tersusun berjaras yang saling berpotongan. C. Inti *spindle* hingga oval, atipia ringan, infiltrasi sel limfosit, tampak adanya mitosis (panah). D. Hasil IHC positif fokal terhadap SMA.¹⁸



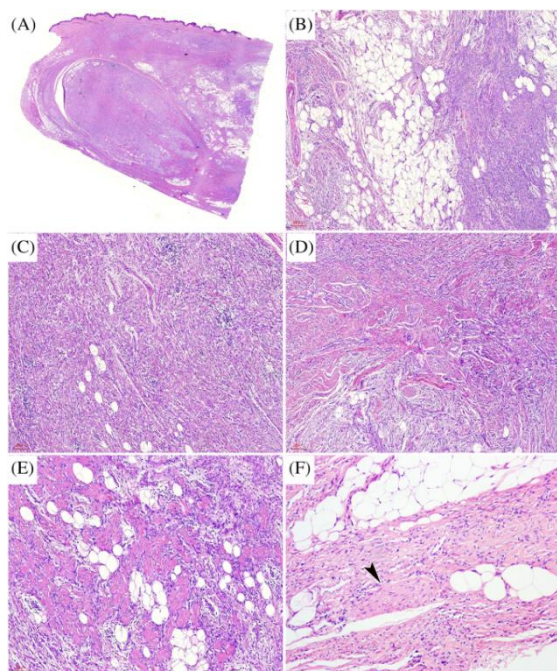
Gambar 13. Hasil pemeriksaan NGS menunjukkan titik fusi antara gen *EVI5* dan gen *BRAF*.¹⁹

2. Lipofibromatosis-like Neural Tumor (LPF-NT) dengan Fusi *BRAF*

LPF-NT merupakan sekelompok tumor sel *spindle* mesenkimal yang menyerupai lipofibromatosis, tumor jaringan lunak pediatrik yang langka. LPF-NT sering menyerang anak-anak dan dewasa muda dengan kecenderungan lokasi pada jaringan subkutan dan dermis di batang tubuh dan ekstremitas.²¹ Pasangan gen fusi *BRAF* yang paling sering dilaporkan pada kelompok tumor ini adalah KIAA1549.^{21,22} Gambaran histopatologi menunjukkan tumor sel *spindle* yang tersusun secara acak dan atipikal dengan pertumbuhan yang menginfiltrasi komponen adipositik disertai endapan kolagen stroma yang menonjol dan hialinisasi perivaskular. Sebagian

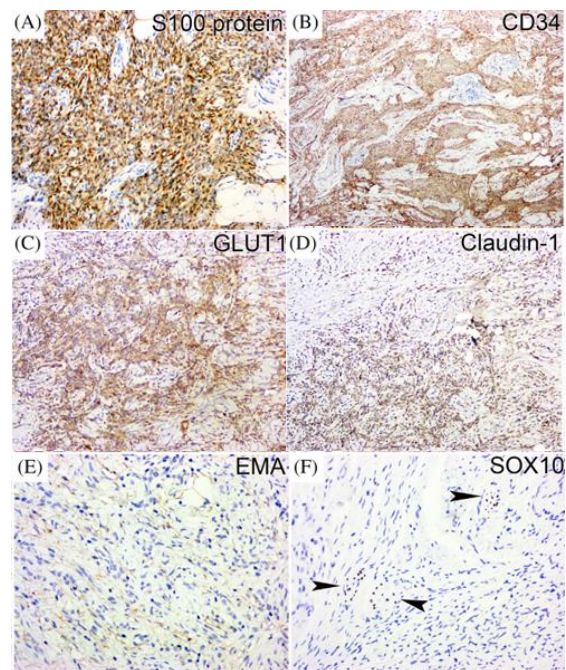
besar kasus melaporkan jumlah mitosis kurang dari 4 mitosis per 10 lapang pandang besar.²¹ Komponen LPF-NT biasanya terlihat di pinggiran area padat, mencakup 5% hingga 30% dari total tumor.²³

Sun *et al*²³ melaporkan kasus seorang pria berusia 54 tahun dengan massa tanpa rasa sakit berukuran 1,3 cm yang terletak di subkutan punggung kiri. Tumor tersebut terdiri dari sel-sel yang atipikal, tersusun secara acak, berbentuk *spindle* hingga oval dengan fasikel dan pola *whorls* yang berada di antara dan tumbuh infiltratif bercampur dengan jaringan adiposa subkutan dan berkas saraf. Hialinisasi stroma tebal berbentuk *band-like* (Gambar 14).²³



Gambar 14. (A dan B). LPF-NT dengan pola pertumbuhan sangat infiltratif (pulasan hematoxilin dan eosin (H&E), perbesaran x10 dan x100). (C dan D). Sel *spindle* yang *uniform* tersusun berjaras dan pola *whorls* dalam stroma yang sebagian besar fibrotik dan mikroid fokal dengan agregat limfosit fokal (H&E, perbesaran x100). (E). Deposisi kolagen keloid stroma berbentuk *band-like* (H&E, perbesaran x200). (F). Berkas saraf jinak yang terperangkap di antara sel tumor (panah) (H&E, perbesaran x200).²³

Sel-sel tumor aseluler dan tampak lebih polos dengan sedikit gambaran mitosis. Hasil IHC biasanya mengekspresikan protein S100 dan CD34 secara bersamaan tanpa reaktivitas SOX10 atau EMA, dan seringkali memiliki perjalanan klinis yang lambat jika sepenuhnya diangkat. Pulasan IHC menunjukkan ekspresi beberapa penanda yang terkait dengan diferensiasi perineural termasuk claudin-1 dan GLUT1 (Gambar 15).²³

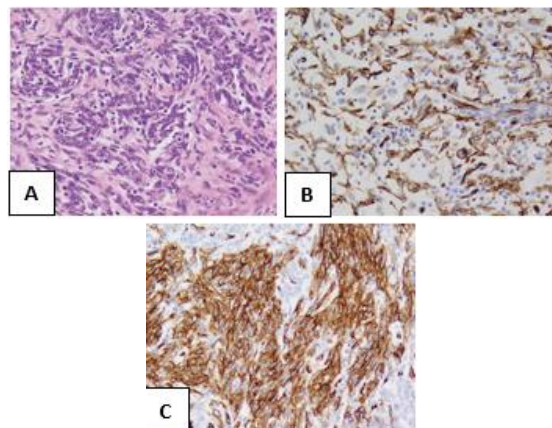


Gambar 15. Gambaran IHC LPF-NT dengan fusi *BRAF*. (A) Positif terhadap S100 (perbesaran x200). (B) Positif terhadap CD34 (perbesaran x100). (C) Positif terhadap GLUT1 (perbesaran x100). (D) Positif terhadap Claudin-1 (perbesaran x100). (E) Positif terhadap EMA (perbesaran x100). (F) Positif terhadap SOX10 pada berkas saraf yang terperangkap (panah) tetapi tidak pada sel tumor (perbesaran x200).²³

3. *Spindle cell tumors resembling malignant peripheral nerve sheath tumors (MPNST)*

Spindle cell tumors resembling MPNST merupakan kelompok neoplasma mesenkimal sel *spindle* dimana gambaran morfologinya dapat menyerupai *low-grade* hingga *intermediate-grade* MPNST, tetapi secara molekuler ditandai oleh fusi gen kinase, salah satunya *BRAF*. Tumor ini dominan pada anak-anak dan dewasa muda, dan mempunyai predileksi seperti tulang, jaringan lunak, dan organ dalam. Gambaran morfologi sebagian besar tumor ditandai dengan proliferasi sel *spindle* monomorfik, tersusun berjaras dengan pola pertumbuhan *patternless*. Ciri dari neoplasma ini adalah adanya kolagen stroma *band-like*, kolagen perivaskular *ring-like*, dan kolagen keloid. Inti sel berbentuk oval, *uniform*, dan hiperkromatik, kadang-kadang sel pleomorfik dan/atau multinukleasi. Sel-selnya memiliki sitoplasma eosinofilik yang sedikit. Sebagian besar lesi menunjukkan jumlah mitosis rendah hingga menengah dan tidak ditemukan nekrosis. Terdapat beberapa kasus *spindle cell mesenchymal neoplasm resembling LPF-NT* pada sediaan sitologi yang atipia dan pola pertumbuhan infiltratif di dalam jaringan adiposa. Pola morfologi yang

membedakan dengan LPF-NT yaitu adanya sel *spindle* primitif yang padat dan fasikular dengan hialinisasi stroma dan perivaskular. Pemeriksaan IHK S100 dan CD34 menunjukkan positif fokal hingga difus (Gambar 16).⁴ Pasangan gen fusi *BRAF* yang paling banyak ditemukan ialah *KIAA1549*.²⁴



Gambar 16. *Soft tissue tumor* dengan fusi *BRAF* resembling MPNST. A. Sel berbentuk oval hingga *spindle* di dalam stroma yang fibrosis. B dan C. Hasil IHK positif terhadap S100 dan CD34 pada wanita usia 18 tahun dengan tumor yang berlokasi di paha.⁴

Tumor Non Mesenkimal

Kasus-kasus fusi gen *BRAF* juga dapat ditemukan pada tumor yang umum dijumpai sehari-hari dan memiliki gambaran histologi yang bervariasi seperti pada melanoma spitzoid, kanker tiroid, karsinoma pankreas, NSCLC, kanker kolorektal, dan kanker tiroid papiler. Fusi gen *KIAA1549::BRAF* ditemukan pada ganglioglioma dan *pilocytic astrocytoma*. Glioma pada anak-anak ditemukan fusi gen *FAM131B::BRAF*, sedangkan fusi gen *AGAP3::BRAF* ditemukan pada melanoma, karsinoma ovarium, karsinoma sel asinar pankreas dan kanker kolorektal metastatis onset dini. Fusi gen *AKAP9::BRAF* ditemukan pada melanoma. Fusi gen *TRIM24::BRAF* ditemukan pada melanoma dan kanker kolorektal. Fusi gen *SND1::BRAF* ialah satu fusi yang teridentifikasi pada kanker tiroid dan karsinoma sel asinar pankreas. Fusi gen *AGK::BRAF* sering ditemukan pada NSCLC dan karsinoma tiroid papiler (terutama pada kasus anak-anak atau yang terpapar radiasi), fusi gen *DOCK4::BRAF* diidentifikasi pada NSCLC, fusi gen *FXR1::BRAF*, *MACF1::BRAF* dan *CDC42BPA::BRAF* ditemukan pada ganglioglioma, dimana fusi *CDC42BPA::BRAF* sering dikaitkan dengan varian *desmoplastic infantile ganglioglioma* (DIG).^{6,20,25}

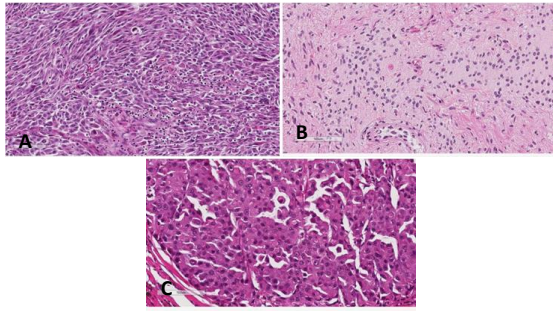
Hasil penelitian Ross *et al*²⁶ dari 20.573 tumor didapatkan 55 (0,3%) tumor yang mengalami fusi *BRAF*, pada 12 jenis tumor

yang berbeda, terdiri dari 29 pasangan fusi. Pasangan fusi yang paling sering ditemukan adalah *KIAA1549::BRAF*, yang ditemukan pada 14 dari 55 kasus (25%), dimana 11 dari 14 kasus tersebut ditemukan pada *pilocytic astrocytoma*. Pasangan fusi gen lain berikutnya adalah *AGK::BRAF*, yang ditemukan pada 5 dari 55 kasus (9%) pada melanoma spitzoid, *brain pleomorphic xanthoastrocytoma*, *anaplastic oligodendroglioma* dan karsinoma paru. Pasangan gen *TRIM24::BRAF* ditemukan pada 4 dari 55 kasus (7%) pada kanker kolorektal, spitzoid melanoma, dan NSCLC. Selanjutnya pasangan fusi gen *SND1::BRAF* ditemukan pada 3 dari 55 kasus (5%) pada karsinoma sel asinar pankreas.²⁶

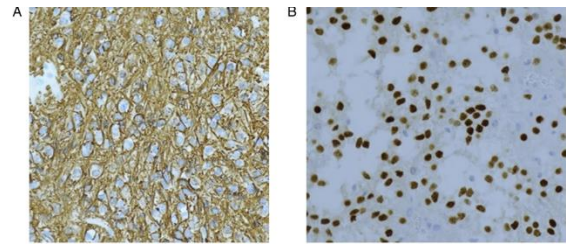
Pada kelompok tumor melanoma ditemukan pasangan fusi gen *ZNF767*, *CCDC91*, *DYNC112*, *AKAP9*, *ZKSCAN1*, *GTF2I*, *AGAP3*, *MZT1*, *RAD18*, *CUX1*, dan *SLC12A7*, pada kelompok karsinoma paru ditemukan pasangan fusi gen *EPS15*, *NUP214*, *ARMC10*, *BTF3L4*, *GHR* dan *ZC3HAV1*, pada kelompok tumor tiroid ditemukan pasangan fusi gen *KLHL7*, *TANK*, dan *RBMS3*, pada adenokarsinoma kolon juga ditemukan pasangan fusi gen *MKRN1* dan *AGAP3*, pada kelompok tumor karsinoma pankreas ditemukan pasangan fusi gen *MYRIP* dan *NUB1*.²⁶

Berdasarkan penelitian oleh Ma *et al*²⁷ didapatkan 164 kasus fusi *BRAF* memiliki prevalensi sebesar 0,2% pada tumor solid dan ditemukan pada rata-rata usia 12 tahun (dengan rentang usia 0 hingga 66 tahun) pada kasus glioma, sedangkan pada kasus non-glioma ditemukan pada rata-rata usia 64 tahun (dengan rentang usia 33 hingga 82 tahun). Fusi *BRAF* paling banyak ditemukan pada keganasan glioma, paru, dan kolorektal.²⁷

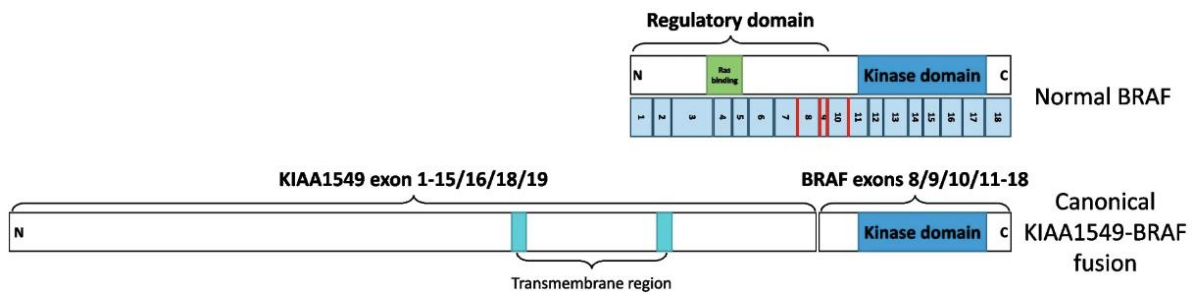
Pada kasus melanoma spitzoid dengan fusi *AKAP9::BRAF* didapatkan gambaran difus sel berbentuk *spindle* dan bercampur dengan sel-sel epiteloid bulat yang tersebar dengan sitoplasma berwarna merah muda dan limfosit yang menginfiltrasi tumor. Kasus *pilocytic astrocytoma* dengan fusi *KIAA1549::BRAF* menunjukkan inti sel berbentuk *spindle* hingga oval dengan Rosenthal *fibers*. Kasus lainnya pada karsinoma sel asinar pankreas dengan fusi *SND1::BRAF* menunjukkan gambaran sarang padat sel neoplastik poligonal dengan sitoplasma eosinofilik granular (Gambar 17).²⁶ Mayoritas hasil IHK pada *pilocytic astrocytoma* menunjukkan positifitas yang kuat dan difus terhadap *glial fibrillary acidic protein* (GFAP), S100, *oligodendrocyte transcription factor 2* (OLIG2), SOX10, sinaptofisin dan p16 (Gambar 18).²⁸



Gambar 17. Gambaran histologi fusi *BRAF* pada: (A) Melanoma maligna spitzoid (H&E, perbesaran x100). (B) *Pilocytic astrocytoma* (H&E, perbesaran x100). (C) Karsinoma asinar pankreas (H&E, perbesaran x100).²⁶



Gambar 18. Hasil IHK *pilocytic astrocytoma*. Positif kuat dan difus terhadap: (A) GFAP dan (B) OLIG2 (perbesaran x400).²⁸

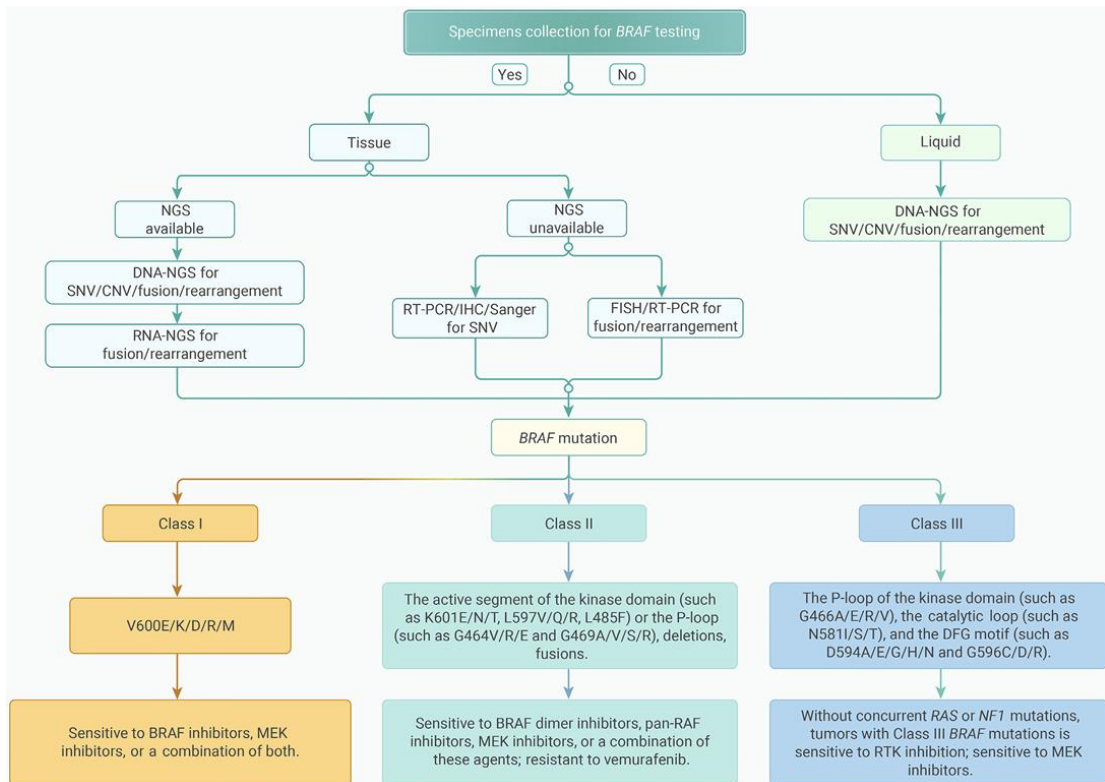


Gambar 19. Analisis genomik fusi *BRAF* pada *pilocytic astrocytoma*.²²

PEMERIKSAAN FUSI *BRAF*

Pemeriksaan untuk mendeteksi fusi *BRAF* mencakup pemeriksaan IHK, pemeriksaan FISH, pemeriksaan PCR, pemeriksaan DNA-based NGS, dan pemeriksaan RNA-based NGS. Mendeteksi

fusi *BRAF* pada tumor mesenkimal sangat penting karena morfologi dan pemeriksaan IHK saja sering kali tidak cukup untuk mengidentifikasi seluruh spektrum perubahan genetik *BRAF* (Gambar 20).⁷



Gambar 20. Prosedur yang direkomendasikan untuk diagnosis dan pengobatan tumor dengan mutasi gen *BRAF*.⁷

Pada tahap awal, untuk fusi *BRAF*, metode utama yang direkomendasikan adalah NGS, karena cakupan pemeriksaannya dapat meliputi *single-nucleotide variants*, fusi, dan *rearrangement*. Analisis molekuler berbasis *sequencing* saat ini dianggap sebagai pendekatan utama untuk mendeteksi berbagai jenis kelainan genetik *BRAF*, termasuk fusi. Panel NGS berbasis DNA maupun RNA direkomendasikan karena mampu mendeteksi berbagai variasi genetik secara simultan, termasuk mutasi titik, insersi, delesi, serta fusi gen. Pemeriksaan DNA-based NGS sangat efektif untuk mendeteksi mutasi titik seperti V600E, V600K, dan V600R. Sedangkan pemeriksaan RNA-based NGS merupakan metode paling unggul untuk mendeteksi fusi gen *BRAF*, seperti *KIAA1549::BRAF* atau *AGK::BRAF*. RNA-based NGS dapat mendeteksi transkrip fusi yang terbentuk pada tingkat RNA, sehingga dapat mengidentifikasi pasangan fusi baru yang tidak terdeteksi oleh metode lain.²³ RNA-based NGS memiliki sensitivitas yang lebih tinggi untuk mendeteksi fusi gen karena dapat mengidentifikasi transkrip hasil penggabungan gen secara langsung, terutama pada kasus di mana analisis DNA tidak berhasil mendeteksi *rearrangement*. Pendekatan ini memungkinkan identifikasi berbagai pasangan gen fusi yang sangat beragam pada *BRAF*.⁷

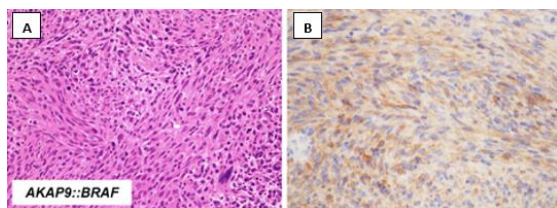
Apabila fasilitas NGS tidak tersedia, metode FISH dan RT-PCR dapat digunakan untuk mendeteksi *rearrangement* atau varian fusi *BRAF* tertentu, terutama bila pasangan gen fusi telah diketahui. FISH digunakan khusus untuk mendeteksi *rearrangement* gen menggunakan *break-apart probes* untuk melihat apakah lokus gen *BRAF* telah terpisah atau berpindah posisi. Pemeriksaan ini mempunyai kelebihan, yakni cepat dan dapat dilakukan pada jaringan *formalin-fixed paraffin-embedded* (FFPE). Sedangkan kekurangan pemeriksaan FISH yaitu tidak dapat memberikan informasi mengenai pasangan fusi spesifik atau mendeteksi mutasi titik seperti V600E.²⁹

Beberapa varian PCR digunakan tergantung pada targetnya. Pemeriksaan *real-time fluorescence quantitative* PCR (qPCR) merupakan metode cepat untuk mendeteksi mutasi titik yang sudah diketahui (seperti V600E), namun tidak bisa digunakan untuk mencari mutasi baru. Sedangkan pemeriksaan *reverse transcription-PCR* (RT-PCR) digunakan untuk mengonfirmasi keberadaan transkrip fusi gen jika pasangan fusinya sudah diketahui sebelumnya.³⁰ Metode ini menggunakan RNA yang dikonversi menjadi cDNA, lalu diampifikasi untuk mendeteksi transkrip fusi. RT-PCR memiliki keterbatasan karena tidak efektif untuk mendeteksi fusi baru atau

pasangan fusi yang belum diketahui. Oleh karena itu, pada kasus dengan hasil negatif tetapi kecurigaan klinis masih tinggi, pemeriksaan ulang menggunakan metode yang lebih komprehensif seperti NGS atau FISH dianjurkan untuk memastikan diagnosis.⁷

Pemeriksaan IHK dapat digunakan sebagai skrining awal, terutama untuk mendeteksi mutasi *BRAF* V600E, meskipun metode ini tidak secara langsung mendeteksi fusi *BRAF* dan lebih berfungsi untuk mengarahkan pemeriksaan molekuler lanjutan. Pemeriksaan IHK memiliki peran terbatas dalam mendeteksi fusi *BRAF*, karena hingga saat ini belum tersedia antibodi IHK yang secara spesifik mendeteksi protein hasil fusi *BRAF*. Berbeda dengan mutasi *BRAF* V600E, yang dapat dideteksi menggunakan antibodi spesifik seperti VE1, sebagian besar fusi *BRAF* tidak menghasilkan epitop yang dapat dikenali secara langsung oleh antibodi IHK.³¹

Pemeriksaan IHK dapat berperan untuk mengidentifikasi tumor yang mungkin mengandung *kinase gene fusion*, termasuk fusi *BRAF*. Tumor sel *spindle* fusi *BRAF* sering menunjukkan ko-ekspresi S100 dan CD34 secara bersamaan.²³ Penanda IHK lain yang dilaporkan adalah ekspresi CD30, yang ditemukan cukup sering pada tumor sel *spindle* dengan *kinase gene fusion* seperti *BRAF*, *RAF1*, atau *RET*. Berdasarkan penelitian Kojima *et al*³¹, menunjukkan bahwa ekspresi CD30 pada tumor dengan fusi kinase, termasuk tumor dengan fusi *BRAF*, dapat ditemukan pada 12 dari 16 kasus (75%), dalam 5% hingga 95% sel, dengan 9 tumor menunjukkan reaktivitas pada >50% sel. Pulasan CD30 yang positif menunjukkan pola pulasan sitoplasmik atau membran dengan intensitas yang bervariasi dan pola distribusi dapat fokal atau difus (Gambar 21). Pemeriksaan panel IHK yang melibatkan CD30, CD34 dan S100 pada tumor dengan fusi *BRAF* dilakukan untuk mengidentifikasi entitas diagnostik baru yang dikenal sebagai *kinase-rearranged spindle cell tumors*. Ekspresi marker ini juga dapat ditemukan pada beberapa tumor lain, sehingga tidak cukup spesifik untuk menegakkan diagnosis fusi *BRAF* secara definitif. Oleh karena itu, deteksi fusi *BRAF* umumnya memerlukan metode molekuler seperti NGS, terutama RNA-based *sequencing*.³¹



Gambar 21. Gambaran morfologi *spindle cell tumors* dengan fusi *BRAF*. (A) Tampilan H&E dari tumor dengan fusi *AKAP9::BRAF* dan (B) Intensitas IHC CD30 +2.³¹

Selain pemeriksaan berbasis jaringan, juga dapat mencakup *liquid biopsy* seperti analisis *circulating tumor DNA* (ctDNA) pada pasien yang sulit mendapatkan sampel jaringan tumor. Metode ini bersifat minimal invasif dan dapat memberikan informasi mengenai profil genomik tumor serta heterogenitas molekuler secara dinamis. Akan tetapi, sensitivitasnya dapat dipengaruhi oleh jumlah DNA tumor yang beredar di dalam darah sehingga hasilnya harus diinterpretasikan secara hati-hati dan, bila memungkinkan, dikonfirmasi dengan analisis jaringan tumor. Algoritma pemeriksaan fusi *BRAF* idealnya menggunakan pendekatan multimodal yang mengombinasikan evaluasi histopatologi, skrining IHC, dan konfirmasi dengan teknik molekuler beresolusi tinggi seperti NGS untuk mencapai diagnosis yang akurat.¹¹

TERAPI FUSI *BRAF*

Terapi pada tumor dengan fusi *BRAF* bersifat multimodal dan sangat bergantung pada stadium penyakit, lokasi tumor, serta kondisi klinis pasien. Pendekatan terapi bagi pasien dengan tumor yang disebabkan oleh fusi *BRAF* memerlukan pendekatan multidisiplin yang disesuaikan dengan profil molekuler dan progresivitas penyakit. Operasi pembedahan tetap menjadi lini pertama dalam tatalaksana tumor yang bersifat terlokalisir dimana reseksi total bertujuan kuratif. Tindakan ini diindikasikan bila tumor dapat diangkat secara lengkap dengan margin bebas, karena pada tahap awal, pengangkatan massa tumor masih memberikan kontrol penyakit terbaik. Pada kasus di mana tumor tidak dapat direseksi, rekuren, atau telah mengalami metastasis, peran kemoterapi sering kali memberikan hasil yang terbatas karena jalur MAPK yang terus aktif menyebabkan proliferasi sel tumor yang persisten sehingga memberikan sensitivitas yang rendah. Oleh karena itu, perkembangan terapi target menjadi pilar utama mengingat protein fusi *BRAF* membentuk homodimer yang aktif secara konstitutif.³⁰

Penggunaan terapi inhibitor *BRAF* tipe II atau *pan-RAF inhibitor* seperti tovorafenib,

lebih diunggulkan karena kemampuannya menghambat dimer protein fusi tanpa memicu aktivasi yang berlawanan. Sedangkan, terapi inhibitor *BRAF* tipe I seperti vemurafenib atau dabrafenib, sering kali dihindari karena hanya efektif pada bentuk monomer. Pada fusi *BRAF*, bagian kinase yang berdimer tetap aktif, obat dapat menghambat satu protomer tetapi justru mengaktifkan protomer lain atau mengaktifkan pasangan *CRAF/RAF* lain. Fenomena ini disebut aktivasi *paradoxical* MAPK, yang pada fusi gen justru meningkatkan proliferasi sel tumor. Gouda MA *et al*³² melaporkan, fusi *BRAF* paling sering ditemukan pada tumor seperti *low-grade glioma* (terutama *pilocytic astrocytoma*) pada anak, namun juga dapat dijumpai pada beberapa tumor dewasa seperti melanoma atau kanker ovarium, meskipun lebih jarang. Berdasarkan jalur aktivasinya, fusi *BRAF* termasuk dalam kelompok aktivasi *BRAF* kelas II yang tidak bergantung pada RAS tetapi memerlukan dimerisasi untuk aktivasinya, sehingga memengaruhi respons terhadap terapi target.³²

Inhibitor MEK seperti trametinib, cobimetinib bekerja dengan cara menargetkan protein *downstream* dari *BRAF* dalam jalur MAPK dan mampu menghambat sinyal proliferasi meskipun *BRAF* aktif dalam bentuk dimer. Obat ini dapat diberikan sebagai agen tunggal atau kombinasi, yang telah menunjukkan efektivitas secara klinis yang signifikan dalam meningkatkan efektivitas terapi.³³

Terapi ini telah disetujui baik untuk pasien anak-anak maupun dewasa, dengan efektivitas obat yang menunjukkan angka respons objektif yang signifikan serta durasi kontrol penyakit yang lebih lama dibandingkan kemoterapi konvensional, terutama pada kasus glioma derajat rendah yang rekuren atau refrakter. Pada anak, khususnya *low-grade glioma*, respons terhadap inhibitor MEK relatif lebih baik dan stabil, sedangkan pada dewasa responsnya lebih bervariasi.³³

Terapi target ini umumnya diberikan dalam bentuk oral, baik inhibitor MEK maupun inhibitor *BRAF* tipe II. Dosis obat disesuaikan dengan usia dan berat badan pada anak-anak. Obat trametinib diberikan 2 mg per oral sekali sehari pada dewasa, sedangkan obat tovorafenib diberikan 380 mg/m² per oral sekali seminggu, dengan dosis maksimum 600 mg sekali seminggu, sedangkan pada anak dosis disesuaikan dengan berat badan. Tovorafenib disetujui untuk pasien usia 6 bulan ke atas. Efek samping yang sering dijumpai pada terapi inhibitor MEK meliputi ruam kulit, diare, edema, serta efek kardi toksik seperti penurunan fraksi ejeksi jantung, sedangkan inhibitor *BRAF* tipe II dapat menyebabkan perubahan warna rambut,

peningkatan *creatine phosphokinase* (CPK), dan anemia. Kombinasi terapi dapat meningkatkan kejadian demam, hipertensi, penurunan LVEF, dan *pulmonary embolism*.³¹

PROGNOSIS

Prognosis pasien dengan fusi *BRAF* sangat bervariasi dan sangat bergantung pada jenis tumor spesifik, usia pasien, stadium penyakit, serta respons terhadap terapi, terutama terapi target. Namun, secara umum kehadiran fusi ini sering kali dikaitkan dengan perilaku biologis yang lebih menguntungkan dibandingkan dengan mutasi titik *BRAF* (V600E). Berdasarkan penelitian Penning *et al*¹⁷ dilakukan *follow-up* klinis terhadap 12 pasien, 6 pasien (50%) bebas penyakit, 4 pasien (33,3%) hidup dengan penyakit, dan 2 pasien (16,7%) meninggal. Penyebab kematian pada satu kasus *intrauterine fetal demise* pada usia gestasi 29 minggu dan satu kasus laki-laki dewasa 32 tahun yang meninggal karena penyakit.¹⁷ Pada IFS secara umum, meskipun agresif secara lokal, metastasis jarang terjadi (8–15%), dan *survival rate* 10 tahun adalah 90% dengan pembedahan dan kemoterapi. Rekurensi lokal terjadi pada 25–40% kasus terkait dengan margin reseksi yang terlibat atau tidak bersih.¹⁹ Pada kasus IFS-like dengan fusi gen *KIAA1549::BRAF* yang dilaporkan Fujikawa *et al*³⁴, pasien mengalami kekambuhan pada tumor intratorakal setelah reseksi awal 8 bulan sebelumnya, lalu tumor mengecil dengan kemoterapi. Pasien masih hidup dengan penyakit pada *follow-up* 8 bulan.³⁴

Pada tumor tertentu seperti *low-grade* glioma pada pediatrik dengan fusi *KIAA1549::BRAF* justru dikaitkan dengan prognosis yang lebih baik, ditandai dengan pertumbuhan tumor yang lambat, angka *survival* tinggi, dan respons yang cukup baik terhadap terapi lokal seperti operasi atau observasi. Pada kelompok ini, fusi *BRAF* bahkan dianggap sebagai marker prognostik yang lebih baik, berbeda dengan mutasi *BRAF* V600E yang justru sering berkorelasi dengan perjalanan penyakit lebih agresif dan risiko progresi lebih tinggi.³⁵

Sebaliknya, pada tumor solid dewasa seperti kanker paru atau kanker kolorektal, data tentang fusi *BRAF* masih relatif terbatas karena prevalensinya rendah. Namun, bukti terbaru menunjukkan bahwa pasien dengan fusi *BRAF* cenderung memiliki prognosis yang lebih baik, terutama bila dibandingkan dengan kelompok V600E yang dikenal memiliki *survival* lebih rendah.¹

Prognosis pasien dengan fusi *BRAF* juga sangat dipengaruhi oleh respons terhadap terapi target. Meskipun fusi *BRAF* pada awalnya belum dianggap penting, bukti terbaru

menunjukkan bahwa pada sarkoma stadium lanjut atau tumor yang telah mengalami dediferensiasi, fusi ini dapat memicu progresivitas penyakit yang lebih cepat jika tidak diintervensi dengan terapi target yang tepat. Tantangan prognostik utamanya terletak pada aksesibilitas terhadap inhibitor MEK atau inhibitor *BRAF* generasi terbaru yang mampu mengatasi aktivasi paradoksikal pada jalur MAPK.¹² Berbeda dengan mutasi V600E yang responsif terhadap inhibitor *BRAF* monoterapi, fusi *BRAF* seringkali kurang responsif terhadap inhibitor *BRAF* saja karena mekanisme aktivasi berbasis dimer. Oleh karena itu, pendekatan yang lebih efektif adalah penggunaan inhibitor MEK atau kombinasi terapi inhibitor *BRAF* dan inhibitor MEK atau terapi inhibitor ERK. Dengan pendekatan ini, beberapa studi dalam 5 tahun terakhir menunjukkan adanya peningkatan *disease control* dan *progression-free survival*, sehingga memperbaiki prognosis secara keseluruhan.³⁶

RINGKASAN

Tumor mesenkimal dengan fusi gen *BRAF* merupakan kelompok neoplasma yang jarang, tetapi memiliki makna diagnostik, prognostik, dan terapeutik yang penting. Fusi *BRAF* terjadi akibat *rearrangement* kromosom yang menggabungkan domain kinase *BRAF* dengan gen pasangan lain, sehingga menghasilkan protein fusi yang aktif secara konstitutif dan menyebabkan aktivasi jalur MAPK secara terus-menerus. Aktivasi ini berperan sebagai *oncogenic driver* yang mendorong proliferasi sel, menghambat apoptosis, dan berkontribusi terhadap transformasi neoplastik. Pada tumor mesenkimal, fusi *BRAF* dapat ditemukan pada berbagai entitas, terutama tumor IFS-like, *spindle cell mesenchymal neoplasm resembling* MPNST, serta LPF-NT. Gambaran morfologi tumor ini umumnya menunjukkan proliferasi sel *spindle* monoton dengan stroma kolagen atau miksoid, tetapi gambaran tersebut tidak spesifik sehingga tidak cukup untuk menegakkan diagnosis tanpa pemeriksaan molekuler.

Deteksi fusi *BRAF* memiliki peran penting dalam praktik patologi anatomi karena dapat membantu membedakan tumor mesenkimal dengan gambaran histologi yang tumpang tindih. Pemeriksaan IHC tidak memiliki spesifisitas yang memadai untuk memastikan adanya fusi *BRAF*. Oleh karena itu, pemeriksaan molekuler seperti FISH, RT-PCR, dan terutama NGS berbasis RNA menjadi pendekatan yang lebih akurat untuk mengidentifikasi fusi gen, termasuk pasangan fusi yang jarang atau belum dikenal. Identifikasi fusi ini tidak hanya bernilai diagnostik, tetapi juga penting

dalam menentukan strategi terapi karena fusi *BRAF* memiliki mekanisme aktivasi berbasis dimer yang berbeda dari mutasi *BRAF* V600E.

Tumor dengan fusi *BRAF* memerlukan pendekatan yang disesuaikan dengan karakteristik molekuler tumor. Pembedahan tetap menjadi terapi utama pada tumor yang terlokalisasi dan dapat direseksi lengkap, sedangkan kemoterapi dapat dipertimbangkan pada kasus tertentu. Namun, pada penyakit yang tidak dapat direseksi, rekuren, metastatik, atau progresif, terapi target menjadi pilihan penting. Inhibitor *BRAF* tipe I kurang efektif pada fusi *BRAF* karena dapat memicu aktivasi paradoksikal jalur MAPK. Sebaliknya, inhibitor *BRAF* tipe II atau pan-RAF inhibitor serta inhibitor MEK, atau kombinasi terapi keduanya menunjukkan potensi yang lebih baik dalam mengendalikan penyakit. Pemeriksaan molekuler sejak awal sangat penting agar pasien dapat memperoleh terapi yang lebih tepat berdasarkan profil genomik tumor.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih saya ucapkan kepada kedua pembimbing saya, dr. Evelina, Sp.PA, Subsp. Ms. dan Dr. Dra. Puspita Eka Wuyung, MS. atas bimbingan dan arahannya dalam menyusun tinjauan pustaka ini. Saya juga mengucapkan terima kasih kepada teman sejawat saya di Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Anatomi FKUI atas dukungan dan saran yang diberikan selama proses pembuatan tinjauan pustaka. Semoga tinjauan pustaka ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

DAFTAR PUSTAKA

1. Chen MF, Yang SR, Tao JJ, Desilets A, Diamond EL, Wilhelm C, et al. Tumor-agnostic genomic and clinical analysis of *BRAF* fusions identifies actionable targets. *Clin Cancer Res*. 2024 Sep 3;30(17):3812-23.
2. Wachtel M, Surdez D, Grünwald TGP, Schäfer BW. Functional classification of fusion proteins in sarcoma. *Cancers (Basel)*. 2024 Mar 29;16(7):1355.
3. Sbaraglia M, Bellan E, Dei Tos AP. The 2020 WHO classification of soft tissue tumours: news and perspectives. *Pathologica*. 2021 Apr;113(2):70-84.
4. Antonescu CR. Emerging soft tissue tumors with kinase fusions: an overview of the recent literature with an emphasis on diagnostic criteria. *Genes Chromosomes Cancer*. 2020 Aug;59(8):437-44.
5. Perfetto C, Aprile M, Cataldi S, Giovannetti E, Costa V. Unraveling *BRAF* alterations: molecular insights to circumvent therapeutic resistance across cancer types. *Cancer Drug Resist*. 2025 Mar 24;8:14.
6. Kobayashi H, Zhang L, Okajima K, Ishibashi Y, Hirai T, Tsuda Y, et al. *BRAF* mutations and concurrent alterations in patients with soft tissue sarcoma. *Genes Chromosomes Cancer*. 2023 Nov;62(11):648-54.
7. Wang W, Lian B, Xu C, Wang Q, Li Z, Zheng N, et al. Expert consensus on the diagnosis and treatment of solid tumors with *BRAF* mutations. *Innovation (Camb)*. 2024 Oct 18;5(6):100661.
8. Stacchiotti S, Frezza AM, Blay JY, Baldini EH, Bonvalot S, Bovée JVMG, et al. Ultra-rare sarcomas: a consensus paper from the Connective Tissue Oncology Society community of experts on the incidence threshold and the list of entities. *Cancer*. 2021 Aug 15;127(16):2934-42.
9. Zhou J, Xu S, Long Y, He R, Cai J, Ding N, et al. Global burden of soft tissue sarcomas in 204 countries and territories from 1990 to 2021: data from the global burden of disease study 2021. *BMC Public Health*. 2025 Apr 24;25(1):1519.
10. Śmiech M, Leszczyński P, Kono H, Wardell C, Taniguchi H. Emerging *BRAF* mutations in cancer progression and their possible effects on transcriptional networks. *Genes (Basel)*. 2020 Nov 12;11(11):1342.
11. Roa P, Bremer NV, Foglizzo V, Cocco E. Mutations in the serine/threonine kinase *BRAF*: oncogenic drivers in solid tumors. *Cancers (Basel)*. 2024 Mar 20;16(6):1215.
12. Mechahougui H, Gutmans J, Gouasmi R, Smekens L, Friedlaender A. *BRAF* targeting across solid tumors: molecular aspects and clinical applications. *Int J Mol Sci*. 2025 Apr 16;26(8):3757.
13. Shan KS, Rehman TU, Ivanov S, Domingo G, Raez LE. Molecular targeting of the *BRAF* proto-oncogene/mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway across cancers. *Int J Mol Sci*. 2024 Jan 3;25(1):624.
14. Gibney GT, Messina JL, Fedorenko IV, Sondak VK, Smalley KS. Paradoxical oncogenesis--the long-term effects of *BRAF* inhibition in melanoma. *Nat Rev Clin Oncol*. 2013 Jul;10(7):390-9.
15. Zaman A, Wu W, Bivona TG. Targeting oncogenic *BRAF*: past, present, and future. *Cancers (Basel)*. 2019 Aug 16;11(8):1197.
16. Liu SV, Nagasaka M, Atz J, Solca F, Müllauer L. Oncogenic gene fusions in cancer: from biology to therapy. *Signal*

- Transduct Target Ther. 2025 Apr 14;10(1):111.
17. Penning AJ, Al-Ibraheemi A, Michal M, Larsen BT, Cho SJ, Lockwood CM, et al. Novel *BRAF* gene fusions and activating point mutations in spindle cell sarcomas with histologic overlap with infantile fibrosarcoma. *Mod Pathol*. 2021 Aug;34(8):1530-40.
 18. Kao YC, Fletcher CDM, Alaggio R, Wexler L, Zhang L, Sung YS, et al. Recurrent *BRAF* gene fusions in a subset of pediatric spindle cell sarcomas: expanding the genetic spectrum of tumors with overlapping features with infantile fibrosarcoma. *Am J Surg Pathol*. 2018 Jan;42(1):28-38.
 19. González-López J, Rubio-Martínez LA, Atarés M, Amaya JV, Huart MC, Mayordomo-Aranda E, et al. Novel *EVI5::BRAF* gene fusion in infantile fibrosarcoma: a case report and review of literature. *Int J Mol Sci*. 2025 Jan 29;26(3):1182.
 20. Abualola RA, Al-Zaid T. KIAA1549-*BRAF* gene fusion spindle cell sarcoma with infantile fibrosarcoma-like pattern in a pediatric patient: a case report. *Cureus*. 2024 Jan 9;16(1):e51981.
 21. Ulschmid CM, Singam V, Segura A, Gourlay DM, Chiu YE. Lipofibromatosis-like neural tumors: report of a case and review of 73 reported cases. *Pediatr Dermatol*. 2023 Jul-Aug;40(4):664-8.
 22. Paton DJW, Wong D, Amanuel B, Cheah K, Ardakani NM. S100/CD34-positive spindle cell mesenchymal neoplasm harboring KIAA1549-*BRAF* fusion. *Am J Dermatopathol*. 2021 Mar 1;43(3):217-20.
 23. Sun K, Ru GQ, Zhao M. *BRAF*-rearranged spindle cell mesenchymal neoplasm with a predominant lipofibromatosis-like neural tumor pattern and co-expression of CD34, S100 protein, and markers associated with perineurial differentiation: a rare case with potential diagnostic pitfall. *J Cutan Pathol*. 2022 Mar;49(3):278-83.
 24. Suurmeijer AJH, Dickson BC, Swanson D, Zhang L, Sung YS, Cotzia P, et al. A novel group of spindle cell tumors defined by S100 and CD34 co-expression shows recurrent fusions involving *RAF1*, *BRAF*, and *NTRK1/2* genes. *Genes Chromosomes Cancer*. 2018 Dec;57(12):611-21.
 25. Chu YH, Wirth LJ, Farahani AA, Nosé V, Faquin WC, Dias-Santagata D, et al. Clinicopathologic features of kinase fusion-related thyroid carcinomas: an integrative analysis with molecular characterization. *Mod Pathol*. 2020 Dec;33(12):2458-72.
 26. Ross JS, Wang K, Chmielecki J, Gay L, Johnson A, Chudnovsky J, et al. The distribution of *BRAF* gene fusions in solid tumors and response to targeted therapy. *Int J Cancer*. 2016 Feb 15;138(4):881-90.
 27. Ma F, Zhao Y, Wang C, Han T, Ding R, Deng W, et al. The analysis of *BRAF* fusions characteristics in Chinese solid tumor patients. *J Clin Oncol*. 2023 May;41(16_suppl):e15073.
 28. Pizzimenti C, Fiorentino V, Germanò A, Martini M, Ieni A, Tuccari G. Pilocytic astrocytoma: the paradigmatic entity in low-grade gliomas (review). *Oncol Lett*. 2024 Feb 8;27(4):146.
 29. McConnell L, Houghton O, Stewart P, Gazdova J, Srivastava S, Kim C, et al. A novel next generation sequencing approach to improve sarcoma diagnosis. *Mod Pathol*. 2020 Jul;33(7):1350-9.
 30. Hanrahan AJ, Chen Z, Rosen N, Solit DB. *BRAF* - a tumour-agnostic drug target with lineage-specific dependencies. *Nat Rev Clin Oncol*. 2024 Mar;21(3):224-47.
 31. Kojima N, Mori T, Motoi T, Kobayashi E, Yoshida M, Yatabe Y, et al. Frequent CD30 expression in an emerging group of mesenchymal tumors with *NTRK*, *BRAF*, *RAF1*, or *RET* fusions. *Mod Pathol*. 2023 Apr;36(4):100083.
 32. Gouda MA, Subbiah V. Precision oncology for *BRAF*-mutant cancers with *BRAF* and *MEK* inhibitors: from melanoma to tissue-agnostic therapy. *ESMO Open*. 2023 Apr;8(2):100788.
 33. Mitchell C, Malalasekera V, Gill AJ, Vissers JHA, Luen SJ, Grimmond SM, et al. Primary pancreatic spindle cell sarcoma with a *TMEM106B::BRAF* gene fusion treated with *MEK* inhibition. *Pathology*. 2023 Feb;55(1):127-9.
 34. Fujikawa T, Uemura S, Yoshida M, Hyodo S, Kozaki A, Saito A, et al. Spindle cell sarcoma with *KIAA1549-BRAF* resembling infantile fibrosarcoma morphologically: a case report and literature review. *Oncol Lett*. 2022 Nov 1;24(6):452.
 35. Schreck KC, Langat P, Bhave VM, Li T, Woodward E, Pratilas CA, et al. Integrated molecular and clinical analysis of *BRAF*-mutant glioma in adults. *NPJ Precis Oncol*. 2023 Feb 28;7(1):23.
 36. Suh JK, Koh KN. Current perspectives on pediatric low-grade gliomas: focus on *BRAF* and *MEK* inhibition. *Brain Tumor Res Treat*. 2026 Jan;14(1):1-11.