

**VIAS MOLECULARES PATOGÉNICAS COMO
ORIGEN DE DIANAS TERAPEUTICAS EN EL
MELANOMA EN FASE AVANZADA: REVISIÓN
BIBLIOGRÁFICA.**

**PATHOGENIC MOLECULAR PATHWAYS AS
TARGETED THERAPIES IN ADVANCED
MELANOMA: A LITERATURE REVIEW.**

Autor:

ALBERTO GARRIDO CALLÉN

Directores:

Dra. María Teresa Villegas Sordo

Dr. Francesc Felipo Berlanga

Departamento de Anatomía Patológica. Facultad de Medicina.

2015-2016



Universidad
Zaragoza

INDICE:

Abreviaturas.....	3
Resumen castellano e inglés. Palabras clave.....	4
Introducción.....	5
Objetivos.....	9
Material y métodos.....	10
Resultados y discusión.....	11
1. MUTACIONES LINEA GERMINAL	
1.1. Vía señalización molecular de CDKN2A.....	12
2. MUTACIONES SOMÁTICAS	
2.1. Vía señalización molecular de la MAP quinasa.....	13
2.1.1 Mutación de NRAS.....	14
2.1.2 Mutación de BRAF.....	14
2.1.3 Mutación de KIT.....	16
2.1.4 Mutación de ERK y MEK.....	17
2.2. Vía señalización PI3K/ AKT / MTOR.....	17
3. CORRELACIÓN CLÍNICA CON MUTACIONES AFECTADAS.....	18
4. TERAPIA DIRIGIDA	
4.1. Inhibidores del BRAF.....	19
4.2 Inhibidores del KIT.....	21
4.3 Inhibidores del MEK y ERK.....	22
4.3 Terapia mixta.....	23
Conclusiones.....	24
Anexos.....	25
Bibliografía.....	26

ABREVIATURAS:

MAPK: map quinasa

PCR: reacción en cadena de polimerasa

Melanoma CSD: melanoma con la piel crónicamente dañada por el sol

Melanoma no-CSD: melanoma sin piel crónicamente dañada por el sol

PD: progreso enfermedad

SD: enfermedad estable

PR: respuesta parcial

EC: ensayo clínico

UV: ultravioleta

RESUMEN:

El melanoma es una grave neoplasia de mal pronóstico que se ha constituido como el cáncer de piel más frecuente en la sociedad actual. Dado el interés terapéutico que se ha suscitado con el conocimiento de sus vías moleculares patogénicas, se han producido gran número de publicaciones científicas y ensayos clínicos que están cambiando no solo la forma de tratar a los pacientes, sino también el pronóstico de los casos que se encuentran en estadios avanzados.

Ante la variedad de modelos histopatogénicos propongo, a mi juicio, el mejor estructurado acompañado de los principales agentes terapéuticos vigentes y en estudio, tras una exhaustiva revisión bibliográfica de la literatura publicada al respecto.

Las mutaciones en el melanoma pueden ser de dos tipos: la germinal con CDKN2A como principal exponente y la somática con la vía MAPK y PI3K/ AKT / MTOR. Las mutaciones somáticas son las más importantes de cara a obtener tratamientos dirigidos contra factores determinantes en la patogénesis tumoral. Los inhibidores de BRAF y en el futuro su unión a los inhibidores de MEK1/2 constituyen la opción terapéutica más prometedora en el combate de esta patología.

ABSTRACT

Melanoma is a bad prognosis neoplasia which has been proclaimed as the most frequent skin cancer. The knowledge of its pathogenic molecular pathways has produced a lot of literature and it is changing the treatment and prognosis of advanced type melanoma patients.

There is been described a lot of hystopathogenic models. So I propose the most accurate one plus the main therapeutic agents involved on its study and treatment upon a deep literature review on this subject.

Melanoma mutations can be either germinal such as CDKN2A or somatic like MAPK way or PI3K/ AKT / MTOR. Somatic mutations are the most important ones in order to obtain targeted therapies against both pathogenical and tumoral factors. Therefore BRAF inhibitors and MEK inhibitors may become the most reliable therapeutic option not so long.

PALABRAS CLAVE/KEY WORDS:

Melanoma, pathogenesis, molecular targets, BRAF, NRAS, KIT, CDKN2A, ERK, MEK, Vemurafenib, Dabrafenib

INTRODUCCIÓN

Melanoma es el término que acuña a los tumores cutáneos melánicos siendo la variedad más grave de cáncer de piel. Los melanocitos son células neuroectodérmicas que derivan de la cresta neural desde la cual emigran a mucosas, úveas, leptomeninges, órganos internos y piel durante el desarrollo embrionario. La lesión melanocítica precursora más característica es el nevus que puede ser congénito o adquirido. Siendo el adquirido el más propenso a la degeneración maligna. Los signos de alarma típicos siguen la clásica regla del ABCDE: asimetría, bordes mal definidos, color cambiante, diámetro mayor 6 mm, elevación.

La incidencia del melanoma ha aumentado mucho desde la última mitad del siglo XX, situándolo actualmente con el 1,6% de todos los cánceres actuales. Se estima una incidencia anual de 27 casos en hombres y de 16 en mujeres por cada 100.000 personas en los países industrializados, siendo Australia el país con más incidencia del mundo siendo ésta de 2 casos en hombres y 40 en mujeres¹. La incidencia varía según la edad y sexo dando lugar a que en pacientes ancianos es donde se ha producido el mayor aumento de incidencia y demostrado así la no relación con factores hormonales de esta patología². En términos generales antes de los 40 años la incidencia es mayor en mujeres con melanomas superficiales en las piernas y después en hombres en cabeza y cuello. Además los últimos datos indican que está aumentando su incidencia en la población pediátrica.

En nuestro país, la incidencia del cáncer de piel en general es de 113.05 casos por cada 100.000 pacientes, mientras que el del melanoma es de 8.82 (95% CI, 7.59-10.04) casos cada 100.000 pacientes como se pudo observar en el metanálisis más reciente realizado por *Tejera-Vaquerizo et al. (Figura 1)*

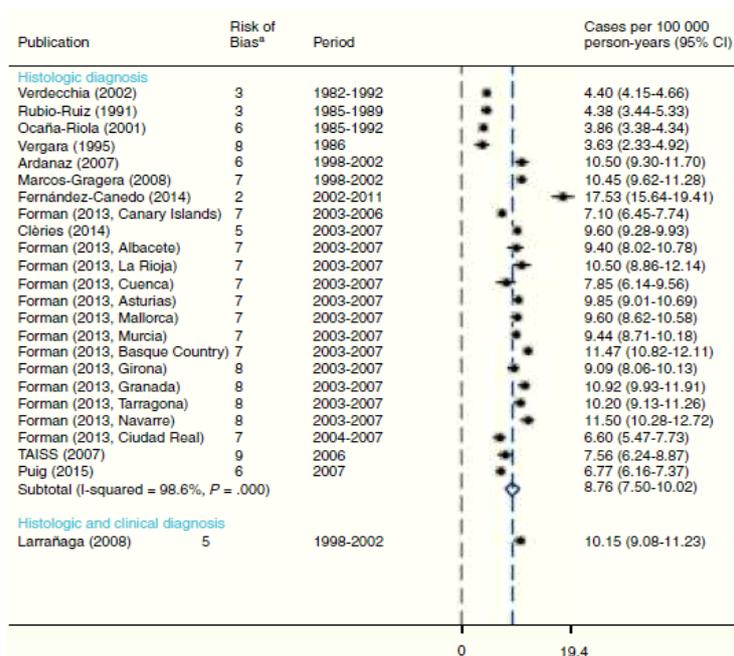


Figura 1. Incidencia melanoma en España todas las edades. Metanálisis³.

Se ha producido un aumento importante de la incidencia en los últimos años, pese a esto, la incidencia en España es mucho menor que en el resto de países europeos, donde los del norte poseen la mayor incidencia. La mortalidad del melanoma en España oscilaría entre el 2.17 y 1.82 casos por cada 10000 pacientes, tasa algo mayor que en Europa debido al envejecimiento de nuestra población y a los melanomas más agresivos característicos de estas edades avanzadas.³

Clásicamente han existido cuatro tipos clínicos de melanomas cutáneos según la clasificación de *Clark et al. and McGovern et al*, esta ha sido aumentado en los últimos años, quedando esta como sigue (Ver Figura 2):

MELANOMA EXTENSIÓN SUPERFICIAL	30-60%
LENTIGO MALIGNO	10-40%
MELANOMA NODULAR	15-30%
LENTIGINOSO ACRAL	5-10%
GRUPO MISCELÁNEO	-

Figura 2. Incidencia melanoma según clasificación clínica a nivel mundial⁹.

El Melanoma de extensión superficial es la variante más común en personas de piel clara y aparece normalmente en zonas donde la exposición solar es discontinua a lo largo del tiempo. Además suele asentarse sobre nevus displásicos previos en tronco en varones y en piernas en mujeres principalmente, teniendo una incidencia máxima de los 40-70 años.

El Lentigo maligno se da en zonas fotoexpuestas, sobre todo en mejilla y sien, siendo típico de ancianos con antecedentes de exposición solar crónica. Tienen una evolución lenta con una fase de crecimiento radial con aspecto de manchas irregulares de coloración no homogénea. Constituyen la entidad de mejor pronóstico.

El melanoma Lentiginoso acral es el más típico en negros y orientales, no está relacionado con la foto exposición y se sitúa en palmas, plantas, lechos ungueales y mucosas con incidencia máxima sobre los 60 años.

El Melanoma nodular es típico de varones y puede tener cualquier localización. Está configurado por nódulos negros-marronzcos y solo tiene crecimiento vertical pudiendo provocar metástasis precoces por lo que configura el subtipo de peor pronóstico.

Existe un quinto tipo llamado Melanoma desmoplásico que se acompaña de respuesta fibrótica con invasión nerviosa.⁴ El grupo misceláneo sería un cajón de

sastre para muchas entidades como el melanoma tipo nevus azul, el tipo spitz, o melanomas con mutaciones especiales.

Pese a que esta es la clasificación clínica vigente, los nuevos avances en biología molecular parecen indicar que el melanoma en si no sería una sola entidad sino un complejo crisol de características moleculares de distintos tipos de tumores. Según avanza el conocimiento de las vías de señalización molecular llegará un momento en el que se clasificará al melanoma en función a su perfil de mutación y su diana terapéutica como ya se está intentando hacer.

Para el estadiaje del melanoma si sigue el TNM propuesto por *Tsao et al*⁵ basados en la profundidad y ulceración de la lesión y la presencia o no de metástasis linfáticas o distantes. En esta revisión nos centramos en los estadios avanzado, dentro de los cuales: la presencia un solo ganglio linfático afectado nos daría como mínimo un estadio III y la presencia de metástasis un estadio IV. En función del estadio existente Bach et al⁶ hicieron un análisis de la supervivencia del melanoma (*Figura 3*). Como se puede observar, en el estadio IV la supervivencia bajaría hasta al 20%.

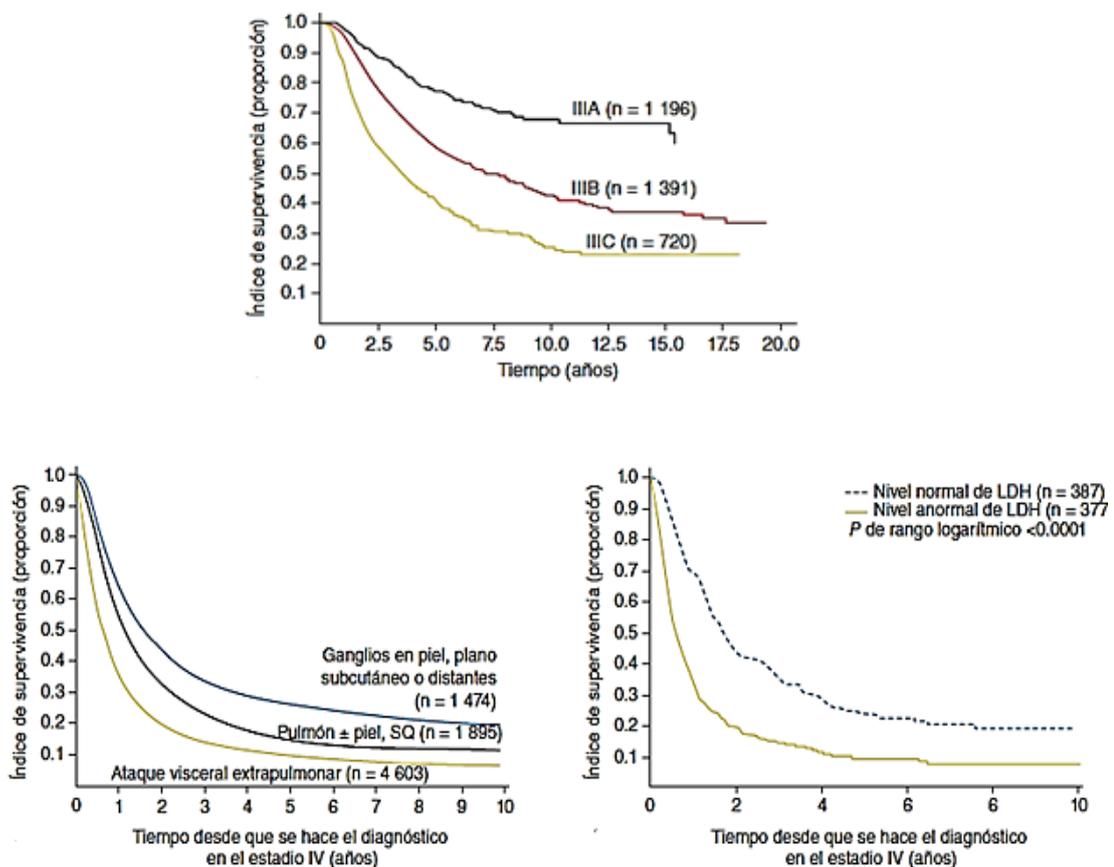


Figura 3. Curvas supervivencia melanoma según estadio^{4,6}.

El manejo en estadios tempranos es preferentemente quirúrgico, siendo lo más común la biopsia escisional pese a no haber consenso en el tamaño de los bordes de escisión. Por lo general se recomienda no sobrepasar el centímetro en melanomas in situ y menores de 1 mm. ya que no se ha demostrado mayor tasa de éxito superando ese margen. De 1-2 mm. y mayores se recomienda un margen escisional de máximo 2 cm. Si el Breslow es igual o sobrepasa 1 mm. y solo existe en un lugar anatómico debe realizarse técnica del ganglio centinela. Si este resulta positivo se debe realizar vaciamiento ganglionar quirúrgico, ya que estaríamos en un estadio III⁷.

Hasta hace unos años en estadios más avanzados la terapéutica se basaba en la quimioterapia, en el Interferón en el estadio III y la Dacarbazina en el estadio IV con la obtención de pobres resultados por norma general. En la actualidad el conocimiento de la patogénesis del melanoma ha permitido la introducción de nuevos tratamientos dirigidos a detener las vías de señalización que promueven la supervivencia de las células neoplásicas. El ejemplo más representativo de esto es el Vemurafenib, un inhibidor de la mutación V600 de Raf que se utiliza como tratamiento de primera línea ante los melanomas irreseccables o los metastásicos. Además de este existen tratamientos de segunda línea como el Ipilumab un anticuerpo anti CTLA 4⁸ o inhibidores del kit como el Imatinib en los melanomas con estas mutaciones.

El presente estudio se centrará en los melanomas en fase avanzada III y IV y sus principales dianas terapéuticas.

OBJETIVO

El melanoma y su patogenia es un tema de investigación científica actual. Por ello se propone una revisión bibliográfica de la patogénesis molecular del melanoma cotejando los estudios actuales y explicando las vías de señalización molecular correspondientes y su implicación en el tratamiento de pacientes con melanoma prestando especial atención a los inhibidores del BRAF que en la actualidad son el tratamiento de elección en pacientes con enfermedad avanzada y mutación de este gen. También reseñaremos brevemente otras dianas moleculares.

MATERIAL Y METODOS

Se ha revisado de forma crítica la bibliografía publicada en revistas científicas relevantes a partir de la búsqueda en la base de datos digital de Pubmed del 2003 hasta el 2016. Además hemos revisado distintos textos utilizados en dermatopatología que nos han aportado gran información acerca de la patogénesis de esta enfermedad. Con todo esto hemos realizado durante los meses de marzo a mayo dicha revisión, de la cual han obtenido los resultados que se presentan a continuación:

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El modelo actual teórico del desarrollo del melanoma⁹, consiste en una acumulación de mutaciones y eventos epigenéticos mediados por las radiaciones solares. La mutación del gen BRAF, el gen NRAS, el gen KIT y el gen GNAQ11 de los nevus serían las más tempranas dentro de la conocida vía de la MAPK. El nevus displásico sería el paso intermedio, pero los factores que favorecen esta transición serían desconocidos. Todo esto bajo la acción necesaria de los rayos UV.

Este modelo histopatogénico del melanoma sigue siendo aún controvertido. Algunos estudios han arrojado resultados en contra de las mutaciones de BRAF y NRAS como mutaciones predictoras de la transformación maligna¹⁰. Otros han llegado incluso a afirmar que la mutación del BRAF no sería ni factor significativo del desarrollo primario del tumor ni afectaría a la supervivencia^{11 12}.

El modelo propuesto por *Hunter et al*¹³ sería el siguiente (*Figura 4*): Todas las lesiones benignas comenzarían con una mutación del BRAF V600E. La siguiente mutación patogénica sería la de TERT apareciendo en lesiones intermedias y melanomas in situ. Estas mutaciones tempranas del TERT indicarían proliferación celular pese a la contrarespuesta citotóxica del sistema inmune o la muerte celular inducida como consecuencia del estrés replicativo. Además toda lesión precursora con mutación de NRAS u otra mutación de BRAF como la V600K implicaría asociación a futuras mutaciones oncogénicas configurando así, una nueva categoría llamada lesión intermedia. Abandonaríamos pues, en este modelo, el término de nevus displásico debido a la inmensa variabilidad histopatológica de las lesiones que abarca.

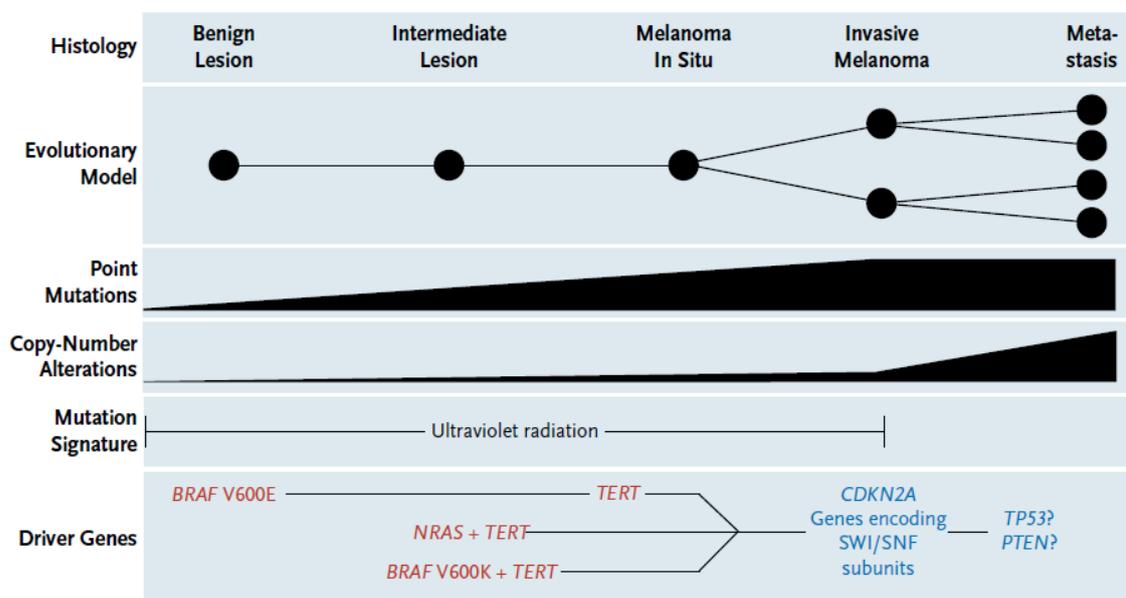


Figura 4. Modelo patogénico del melanoma¹³.

Las alteraciones mutacionales en las vías de señalización en la patogénesis del melanoma se dividen en mutaciones de la línea germinal y mutaciones somáticas. Las de la línea germinal se podrían centrar casi exclusivamente a día de hoy en la vía del CDKN2A, mientras que las somáticas engloban la inmensa mayoría de los defectos moleculares a la hora de la formación del melanoma.

1. MUTACIONES DE LA LINEA GERMINAL

1.1. VIAS SEÑALIZACIÓN MOLECULAR DEL CDKN2A

La vía correspondiente a la kinasa dependiente de la ciclina N2A, codifica dos proteínas supresoras tumorales: la **proteína p14 y p16** en el cromosoma 9p21, constituyendo el mayor factor de riesgo genético para desarrollar el melanoma. Estas dos proteínas son las encargadas de modular negativamente la vía del p53 y de la Rb1. (Ver Figura 5)

La **p16** inhibe a la kinasa dependiente de ciclina 4/6. Un defecto en la producción de esta p16 se traduciría en una proliferación celular incontrolada y en nuestro caso una melanogénesis incontrolada, puesto que la CDK4/6 fosforila Rb1 liberando factores de transcripción E2F que promueven la transición del ciclo celular del G1 a la fase de síntesis de ADN iniciando así el ciclo celular. Mutaciones en la CDK4 producirán el mismo resultado.

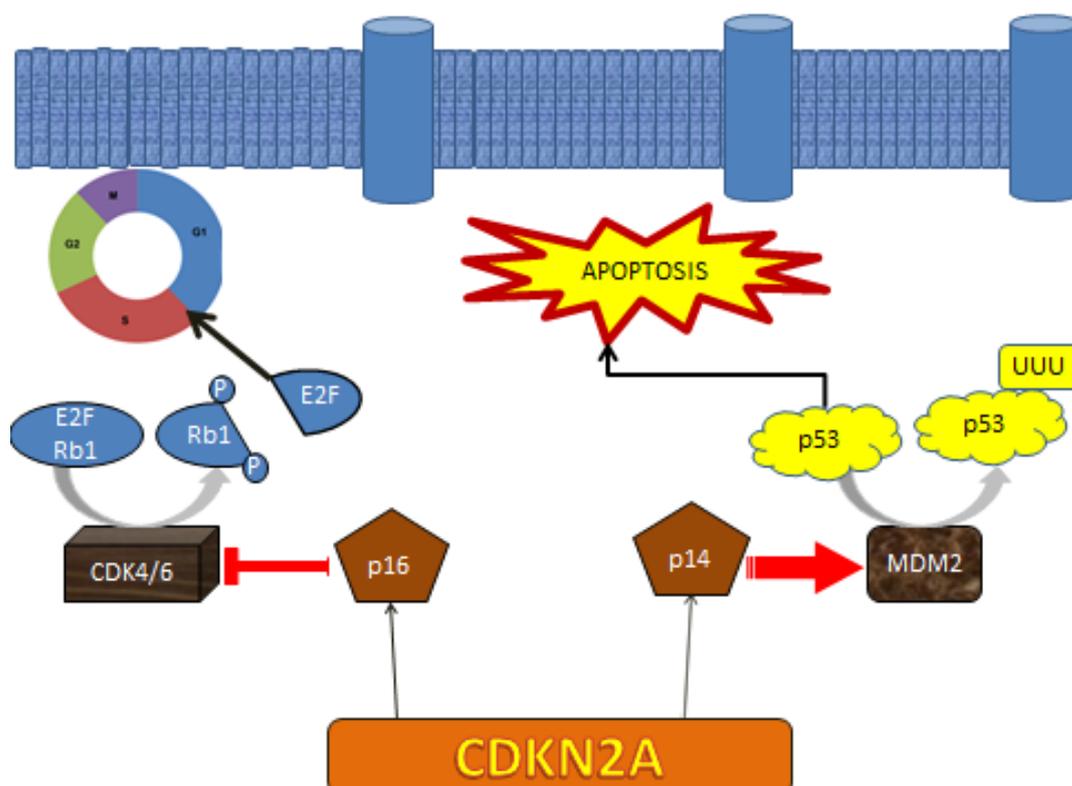


Figura 5. Vía CDKN2A.

La **p14** a su vez modula la actividad de la MDM2-mouse double minute 2. La función de la MDM2 es la ubiquitinación de la p53, degradándola, evitando así su papel en la apoptosis celular. La inhibición de ésta por la p14, habilitará la función supresora tumoral de la p53. Una ausencia o delección de esta p14 se traducirá en una apoptosis ineficaz.

2 MUTACIONES SOMÁTICAS

2.1. VÍA SEÑALIZACIÓN MOLECULAR DE MAP QUINASA

La vía de la proteína quinasa activada por mitógenos –MAPK- (*Figura 6*) se basa en la transducción de señales desde la superficie celular por receptores específicos hasta el núcleo regulando así la transcripción de proteínas y modulando la expresión de distintos genes implicados en la apoptosis y en el ciclo celular. Estos receptores específicos forman parte de las tirosin quinasas entre las que se encuentran: KIT, PDGR, MET, EGFR etc.

La familia RAS de gtp-asas constituida por NRAS, KRAS y HRAS se encuentran en la membrana plasmática y reciben señales desde los receptores tirosin quinasa. El siguiente paso será RAF que fosforilará MERK1/2 y ésta que fosforilará a su vez ERK1/2. La activación de esta cascada se traducirá en el crecimiento y proliferación celular.

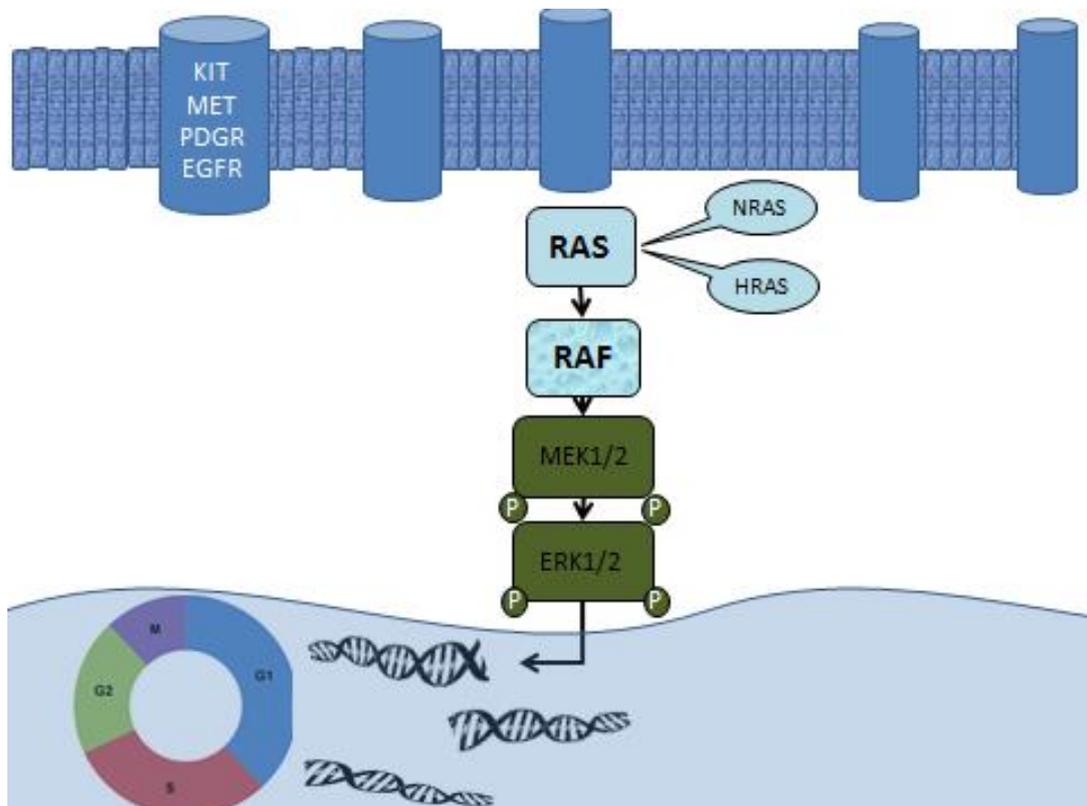


Figura 6. Vía MAP kinasa.

2.1.1. Mutación de NRAS

En el caso del melanoma la mutación NRAS se observa en ciertos tipos del melanoma como el nodular y en aquellos relacionados con la exposición y quemaduras solares. Las mutaciones más comunes de NRAS son las G61, G12 y G13. Estas mutaciones evitarían la hidrólisis del gpt. La mutación de NRAS sería sinónimo de mayor agresividad celular y buena respuesta a IL-2, estando presente en el 10-20% de los melanomas y la de HRAS en el 1-2%¹⁴. Las mutaciones de HRAS estarían más en relación con melanoma tipo nevus Spitz. El único fármaco probado hasta la fecha contra esta diana terapéutica no tuvo efecto.¹⁵

2.1.2. Mutación de BRAF

La familia de protein quinasas específicas de treonina y serina RAF, contienen BRAF localizado en el cromosoma 7q34. Esta proteína que codifica es la más asociada a la expansión clonal y melanogénesis. Las moléculas de b-raf se encuentran en el citoplasma como dímeros o heterodímeros y dan continuación a la vía de MAK quinasa fosforilando a MEK y posteriormente a ERK. La mutación de este protooncogen en el residuo V600E se encuentra en la mitad de los melanomas¹⁶ y es objeto actual de estudio al igual que otras mutaciones como la V600K -20%, V600R, V600R, V600A, K01E. Se trataría de una mutación necesaria pero insuficiente por si misma solo para la patogénesis. Las mutaciones de este residuo parecen tener una asociación con la exposición a rayos UV pero su nivel de asociación exacta todavía no ha sido determinado.

El gen codificador de la protein quinasa b-raf (*v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1*) está mutada en aproximadamente en el 7% de los cánceres humanos. Como ya hemos comentado antes es estimulada por el RAS y estimula a su vez al MEK 1/2, codificando una seronina/treonina quinasa.

Como se demostró en el metanálisis más ambicioso hasta la fecha, la mutación BRAF tiene una incidencia del 40,3% en occidentales y un 19,5% en asiáticos. Está relacionada con las fases más avanzadas del melanoma y también durante su diseminación metastásica. Tiene tres fenotipos tipos: V600K, V600e, V600R y su mutación más frecuente es la sustitución de valina por ácido glutámico en la posición 600. Las prevalencias de estos fenotipos serán: V600K del 87,4%, V600e del 7,4% y V600R del 1,3%.¹⁷

En términos anatomopatológicos las mutaciones de BRAF se asocian con algunas características fenotípicas tales como el adelgazamiento de la epidermis, incremento de la formación de nidos de melanocitos intraepiteliales, demarcación brusca de la piel circundante, células tumorales más grandes redondas y pigmentadas, etc. En el

estudio realizado por *Viros et al*¹⁸ se describieron todas estas características morfológicas llegando incluso a aventurar un posible algoritmo de correlación entre características morfológicas y la probabilidad de mutación (Ver Figura 7). Pese a esto faltan por dilucidar más factores individuales genéticos que pudieran ser propiciantes de estos fenotipos.

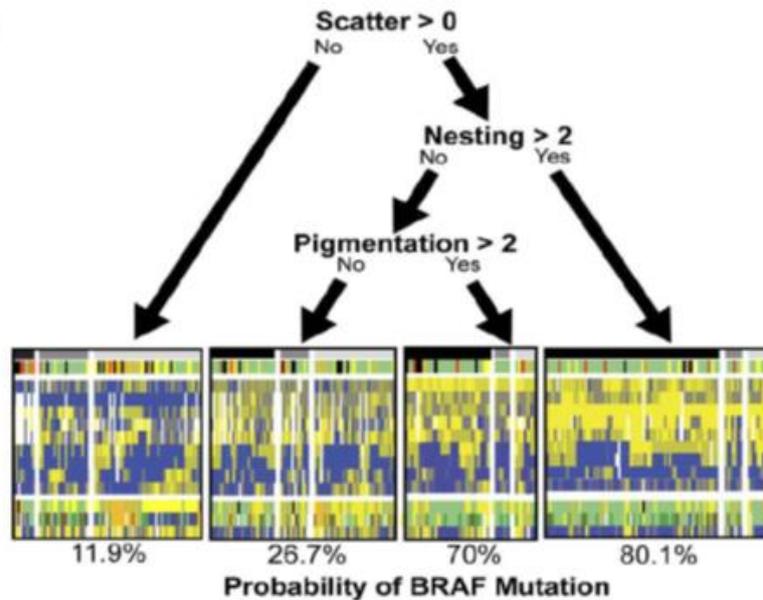


Figura 7. Algoritmo correlacional características histológicas y posibilidad de mutación BRAF¹⁸.

Respecto a las relaciones entre estas mutaciones y la exposición solar dependiente de la edad *Thomas et al*¹⁹ han propuesto el siguiente modelo en el cual se establece que la mayor asociación de esta mutación con edades jóvenes y con alta exposición a rayos UV. (Ver Figura 8)

Relationship of age at diagnosis, number of back nevi, and estimated early-life ambient erythemal UV irradiance to BRAF and NRAS mutational status among melanoma cases (N = 202)

Characteristic	BRAF+ vs wild-type, OR* (95% CI)	NRAS+ vs wild-type, OR* (95% CI)
Age at diagnosis (per 10 y)	0.8 (0.7-1.0)	1.4 (1.1-1.9)
No. nevi on the back		
0-4	1.0	1.0
5-14	2.8 (1.2-6.4)	1.1 (0.4-3.3)
>14	3.4 (1.5-7.8)	1.9 (0.6-5.5)
<i>P</i> _{trend}	0.004	0.27
Early-life ambient UV irradiance in kJ/m ² /y		
Low UV (≤770)	1.0	1.0
High UV (>770)	2.6 (1.2-5.6)	0.9 (0.4-2.2)

NOTE: Subjects were 202 participants for whom no data were missing for the factors in the model.

*OR values are adjusted for all factors in the model.

Figura 8. Comparación BRAF y NRAS según factores de riesgo¹⁹.

Acorde al estudio de *Long GV et al*²⁰ en pacientes australianos, la mutación del V600k se dio en un 20% y se demostró que la presencia de dicha mutación no tiene impacto en el intervalo de diagnóstico desde el primer melanoma a la primera metástasis. Pero aún así, podría modificar la supervivencia después (*Figura 9*). Presentaron durante el estudio los siguientes datos apoyando así la conclusión de la vital importancia de la diana terapéutica de esta mutación.

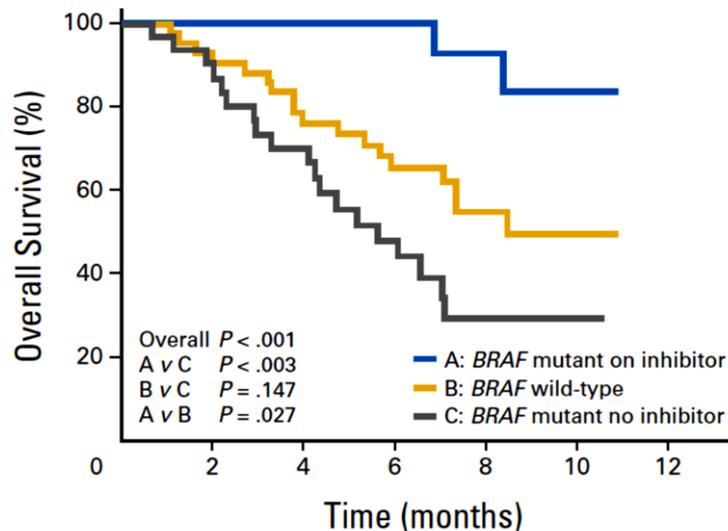


Figura 9. Supervivencia total desde el nuevo diagnóstico del melanoma según mutación BRAF²⁰.

Esta mutación facilitadora de los estímulos oncogénicos sucesivos tendría pues una prevalencia del 80% en los nevus melanocíticos y del 50% en los melanomas de crecimiento vertical.

2.1.3. Mutación de KIT

Las mutaciones selectivas en KIT, también conocido como CD117 ocurren en el 17% de los melanomas acrales²¹ y de mucosas, especialmente los de vulva, que los constituye como una de los mayores beneficiados de una terapia dirigida contra esta mutación en un futuro no tan lejano. Los dos métodos más utilizados para la determinación de las mutaciones de KIT son la secuenciación directa y la RT-qPCR. Kit se trata de receptor transmembrana con actividad tirosinacinasasa 50. La unión con su ligando, induce la dimerización y la autofosforilación del receptor, que da lugar a la activación de las vías de señalización de MAPK y PI3K que median la supervivencia y la proliferación celular. Actualmente los estudios difieren con lo que no se ha podido asociar esta mutación a un aumento o no de la supervivencia. Como se puede comprobar en los estudios de *Kong et al*²² y *Omholt et al*²³. Se considera su sobreexpresión en un 3% de los melanomas.

2.1.4. Mutación de los genes de MEK1/2 y ERK1/2

MEK 1/2 y ERK 1/2 son dos tirosin treonina kinasas codificada la primera por el MAP2K1 y MAP2K2, y la segunda por MAPK1 y MAPK3. ERK es el único sustrato conocido por el momento de MEK. Una vez fosforilado se activaría la transcripción de diversos factores que aumentarían el crecimiento celular dentro del núcleo. Las mutaciones del MAPK1 y MAPK3 no son situaciones comunes mientras que las del MEK1/2 si la serían²⁴

2.2. VIA SEÑALIZACIÓN MOLECULAR PI3K/ Akt / mTOR

Esta cascada enzimática, muy similar a la MAPK comienza con la clásica unión de ligando a su receptor en la superficie celular tirosin quinasa dependiente y promoviendo la activación del fosfatidilinositol 3,4 bifosfonato 3 quinasa -PI3K-. Este también es activado por RAS e inhibido por PTEN. El siguiente paso será Akt y después mTOR que se encargará a su vez de controlar la síntesis de proteínas e inhibir la autofagia. La familia de proteínas G, GNAQ/GNA11 se encargará de mediar la trasducción de señales entre las tirosinquinasa y la vía MAPK y la PI3K. Mutaciones en esta familia de proteínas se darán en los melanomas extracutáneos²⁵ como el uveal. (Ver Figura 10).

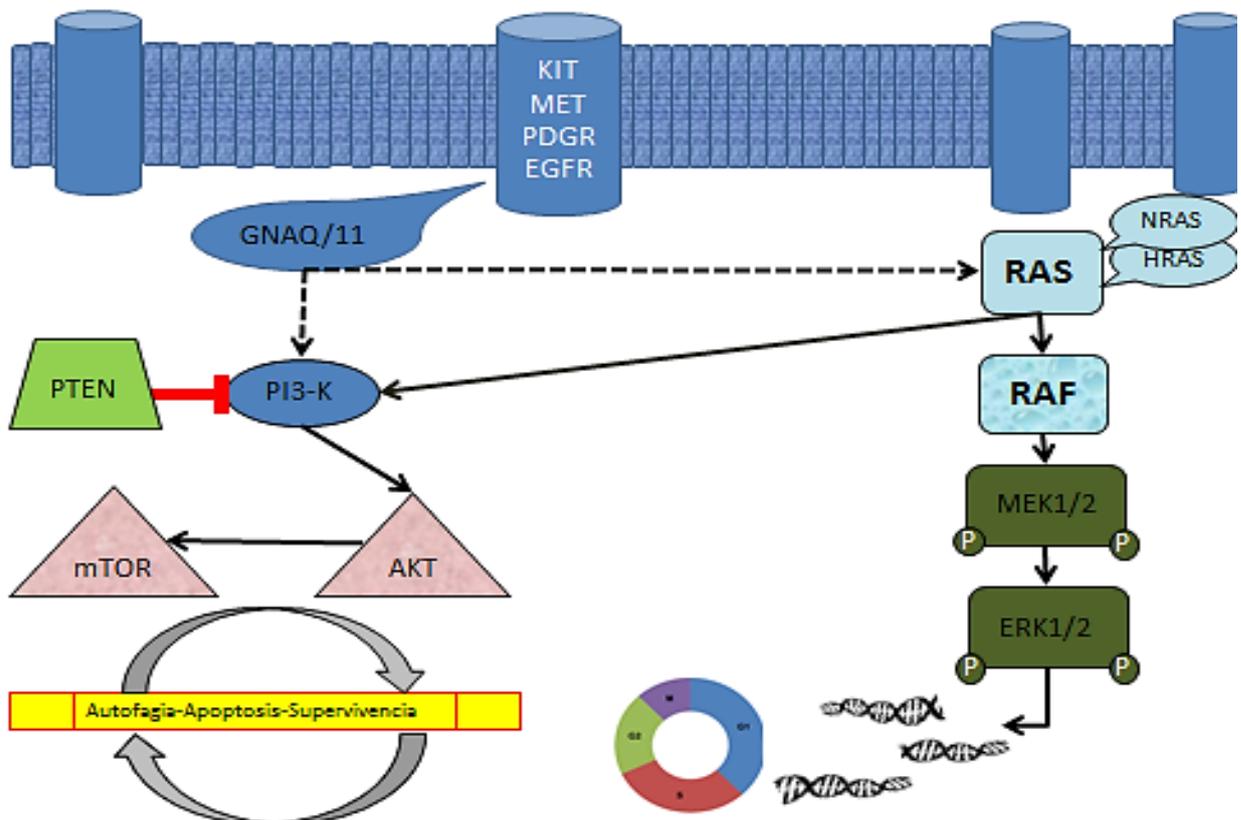


Figura 10. Vía MAP kinasa y PI3K/ Akt / mTOR

Como ya hemos dicho **PTEN** será un gen supresor tumoral que inhibirá la división celular y promoverá la apoptosis. Las mutaciones en este provocarán la NO inhibición de esta cascada y se dará en el 10-30% de los melanomas²⁶, traduciéndose en un aumento de la AKT. Esta posible diana terapéutica sigue en estudio²⁷

Las alteraciones en la **GNAQ/11** son típicas en los melanomas uveales y sus metástasis, frecuentemente hepáticas. Como podemos recordar esta GTPasa es un regulador de la vía de señalización de la cinasas. Por el momento no hay asociación con el pronóstico de la enfermedad con lo que configuran una posible diana terapéutica en el futuro²⁸

3. CORRELACIÓN CLÍNICA CON MUTACIONES AFECTADAS

Los melanomas no-CSD tendrían mutación del BRAF en el 70% de los casos, y del RAS en el 15%. En los CSD, NRAS en el 15% y el KIT en el 10%. Los melanomas acrales presentarían características similares a éste, sumado a la prevalencia de BRAF en el 15%. KIT y NRAS se verían en un 15% por igual en los melanomas mucosos y en los uveales la mutación GNAQ sería el factor más importante. En los desmoplásicos el NF1 en el 25% de los casos.

Las ampliaciones de TERT se encontrarían en todos los anteriores menos en los uveales. La radiación ultravioleta estaría altamente relacionada con los CSD los no-CSD y los desmoplásicos.

Este sería el espectro de mutaciones compatible con cada fase anatomopatológica del melanoma. (Figura 11)

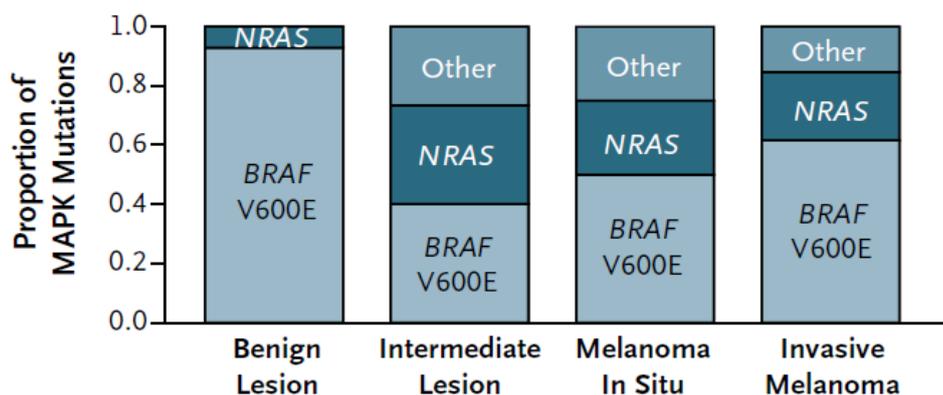


Figura 11. Mutaciones vía MAP kinasa según lesión melánica maligna¹³.

Como se puede ver la mutación del BRAF sería la más prevalente y a día de hoy la mayor diana terapéutica con lo que la trataremos en un apartado aparte dada su gran relevancia clínica. (Se recomienda revisar el ANEXO para ver la correlación de las distintas mutaciones con los subtipos clínicos de melanomas)

4.TERAPIA DIRIGIDA

4.1-INHIBIDORES DEL BRAF

Al encontrarse en la mitad de los melanomas; esta mutación es una diana terapéutica muy importante de fármacos inhibidores de ésta. El mecanismo de acción es una inhibición competitiva de su ATP, estando indicado realizar la determinación del BRAF en la práctica clínica. La determinación de esta mutación se hace por PCR e inmunohistoquímica. En el 90% de pacientes tratados con ellos se produce una reducción del tamaño tumoral y un aumento de la supervivencia en comparación con las anteriores terapias.

El primer fármaco probado, el **VEMURAFENIB** -PLX4032, ha demostrado en pacientes con melanoma metastásicos, es decir estadio IV o IIIC, un 63% de reducción relativa del riesgo de muerte en comparación con la dacarbazina con una $p < 0,0001$. Este es un EC en fase III realizado en 675 pacientes²⁹. (Ver Figura 12 y 13)

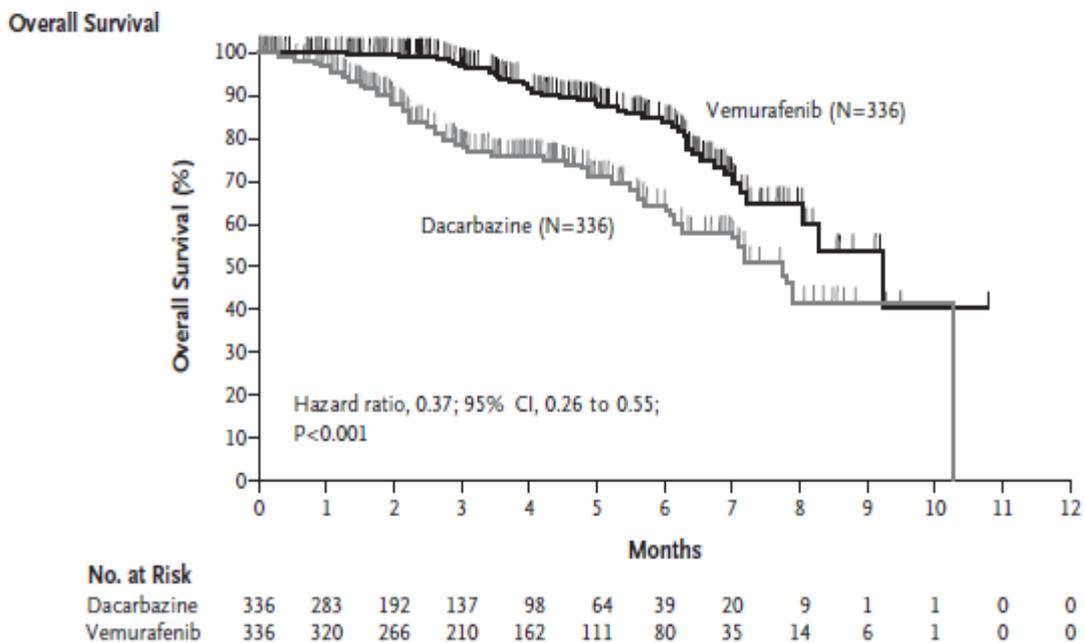


Figura 12. Supervivencia total melanoma fases avanzadas Vemurafenib frente a dacarbazina²⁹.

Otros ensayos clínicos dan una supervivencia media de 16 meses con este nuevo fármaco. Siendo la progresión libre de enfermedad de 5.3 meses con este inhibidor del V600K.

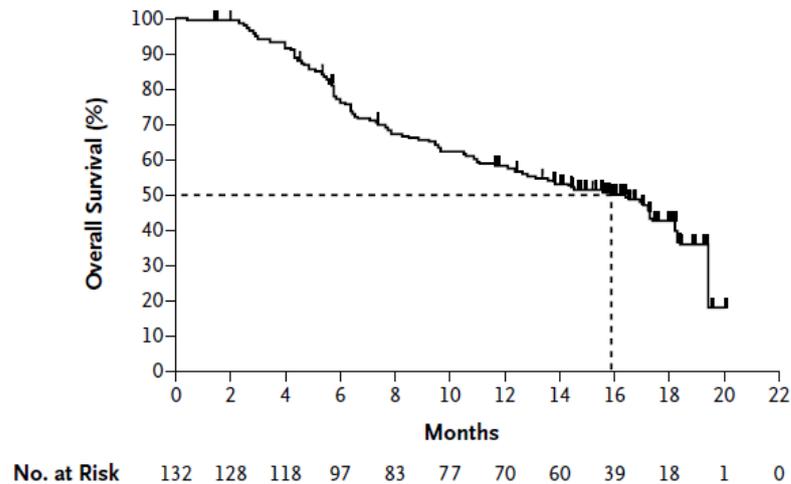


Figura 13. Supervivencia total pacientes tratados con Vemurafenib²⁹.

Entre los mayores efectos secundarios del VEMURAFENIB se encuentran, las artralgias, el rash cutáneo, reacciones fotosensibles, fatiga, alopecia, y tumores cutáneos en este orden de prevalencia.³⁰ Éste constituye, en definitiva un fármaco muy reciente cuya farmacocinética y farmacodinamia están todavía en estudio pese a sus avances tan recientes³¹

Otro fármaco probado ha sido el **DABRAFENIB**, que también mostró una mejoría en la supervivencia significativa en comparación con la dacarbazina en ensayo clínico fase III con 733 pacientes, demostrando un HR de 0.61 en la supervivencia total. Éste es un inhibidor mixto de V600k y V600r con efectos adversos similares a los del Vemurafenib, pero con menos incidencia de efectos adversos cutáneos que éste³². (Figura 14)

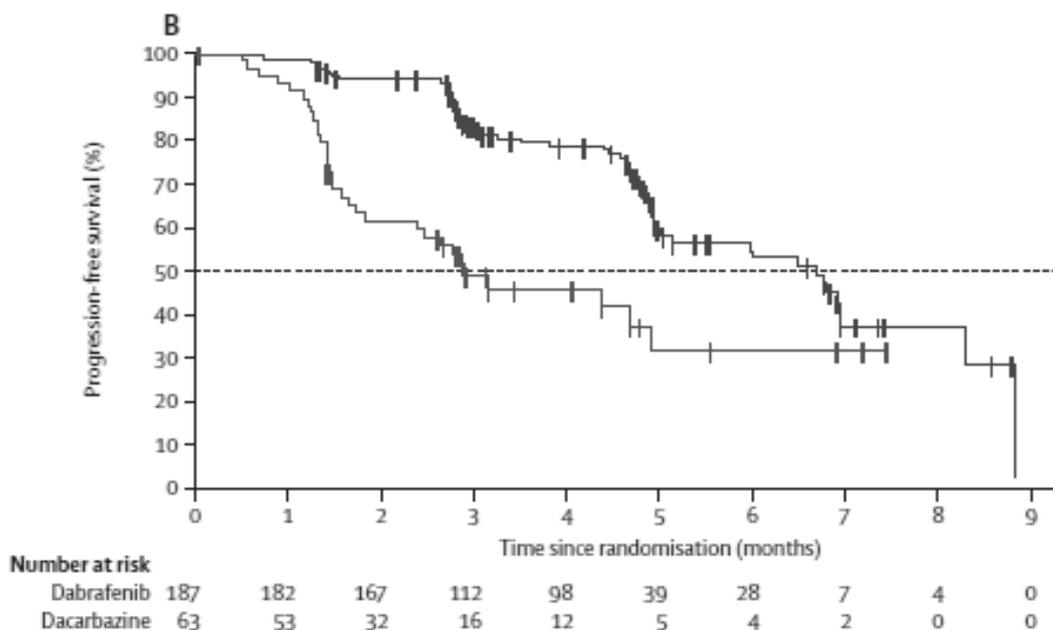


Figura 14. Supervivencia total melanoma fases avanzadas Dabrafenib frente a dacarbazina³².

La resistencia a medicamentos supone una problemática muy importante. En el caso de los inhibidores de BRAF y de las kinasas en general, desde su introducción en los regímenes terapéuticos se ha constatado la aparición de diferentes resistencias por la aparición de mutaciones en los genes diana.

En nuestro caso el cambio entre las isoformas del RAF produciría resistencia a estos inhibidores en tratamientos crónicos. En estos la vía IGF-1R/PI3K se verá potenciada, es decir se producirá una re-señalización hacia otra vía con el objetivo de la proliferación celular descontrolada compensatoria. En estos casos estará indicado el tratamiento combinado con inhibidores del MEK y de IGF-1R/PI3K.³³

4.2-INHIBIDORES DEL KIT

Al igual que en el GIST y en la leucemia mieloide crónica, estudios actuales avalan que pacientes con mutación del gen KIT mutado pueden responder a inhibidores de KIT como el **IMATINIB**³⁴ como se ha demostrado en diversos estudios. (Figura 15)

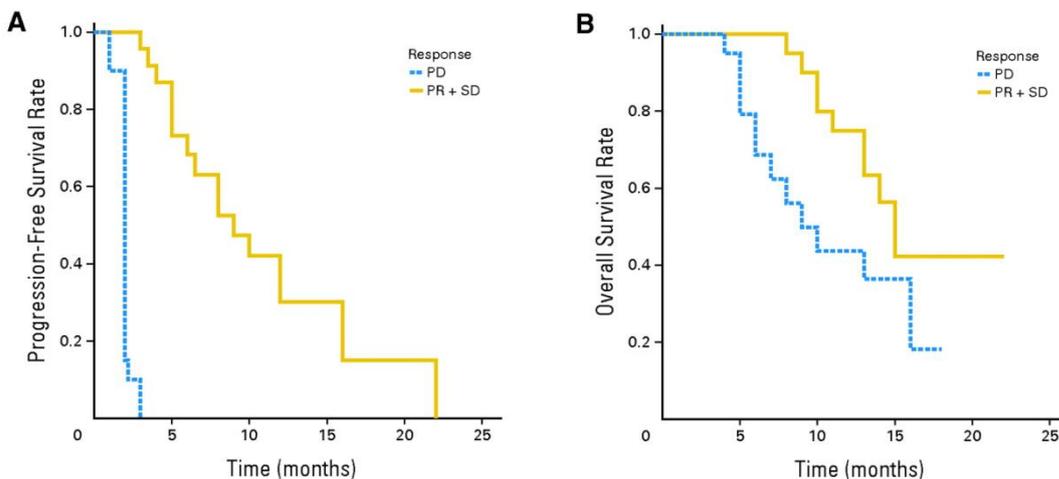


Figura 15. Supervivencia total melanoma fases avanzadas Imatinib. PD: progreso enfermedad SD: enfermedad estable. PR: respuesta parcial³⁴.

Dicha respuesta dependerá además de los exones del gen afectados por dicha mutación³⁵. (Ver Figura 16)

<i>c-Kit</i> status	No. of Patients	PR		SD		PR + SD	
		No.	%	No.	%	No.	%
<i>c-Kit</i> amplification	3	1	33.3	0		1	33.3
<i>c-Kit</i> mutation							
Exon 9	3	0		2	66.7	2	66.7
Exon 11	17	6	35.3	5	29.4	11	64.7
Exon 13	9	3	33.3	1	11.1	4	44.4
Exon 17	5	0		2	40.0	2	40.0
Exon 18	6	0		3	50.0	3	50.0
Multiple aberrations*	5	3	60.0	2	40.0	4	100.0

Abbreviations: PR, partial response; SD, stable disease.

Figura 16. Correlación respuesta según *c-kit* afectado. PD: progreso enfermedad SD: enfermedad estable. PR: respuesta parcial³⁵.

Otro inhibidor del KIT en estudio actual con prometedores resultados sería el **NILOTINIB**³⁶. De acuerdo a esto sería recomendable determinar las mutaciones en KIT solo en pacientes con tumores primarios de localización acral, mucosas o piel crónicamente expuesta a los rayos UV en estadiaje avanzado.

4.3-INHIBIDORES DEL MEK 1/2 y ERK1/2

Se han estudiado inhibidores del MEK1/2 y ERK1/2 como SELUMETINIB que no han demostrado diferencias significativas en el progreso libre de enfermedad en EC fase II con 200 pacientes frente a temozolamida³⁷ (Figura 17).

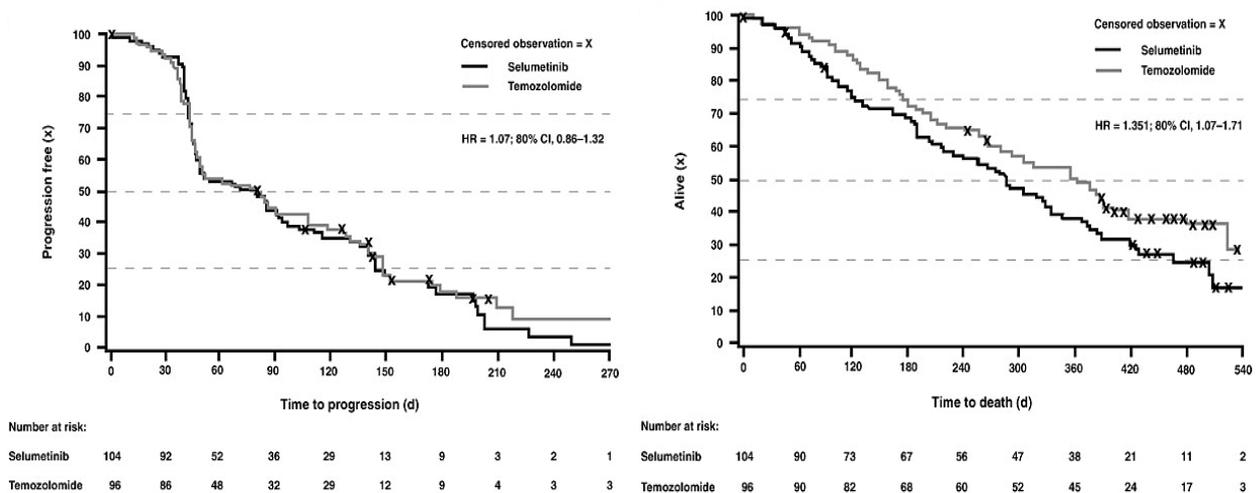


Figura 17. Selumetinib frente a temozolamida. Izquierda: progresión libre enfermedad. Derecha: supervivencia total³⁷.

Este fármaco todavía sigue en estudio y es susceptible de posibles avances en el futuro³⁸.

Otros inhibidores de esta diana estudiados han sido el TRAMATENIB³⁹, PIMASERTIB, RAFAMETINIB, etc. *Akinleye et al* realizaron un revisión pormenorizando en qué punto se encuentra la investigación con los distintos inhibidores del MEK.⁴⁰ (Figura 18)

Table MEK inhibitors in clinical trials

MEK Inhibitors	Target	Clinical trial	Tumors
Trametinib (GSK1120212)	MEK1/2	III	Melanoma, colorectal cancer
Pimasertib (AST03026)	MEK1/2	I	Colorectal, multiple myeloma
Selumetinib (AZD6244)	MEK1	II	Melanoma, NSCLC
PD-0325901	MEK1/2	I	Melanoma, NSCLC
Refametinib (RDEA119)	MEK1/2	II	Hepatocellular cancer, melanoma, colorectal cancer
TAK733	MEK1/2	I	Melanoma, NSCLC, colorectal, breast cancer
MEK162	MEK1/2	I/II	N-Ras melanoma, NSCLC, pancreatic cancer
RO5126766	Raf/MEK1/2	I	Melanoma
WX-554	MEK1/2	II	Advanced solid tumors
RO4987655	MEK1	I	Melanoma
GDC-0973	MEK1	I	Melanoma, Pancreatic cancer, endometrial cancer
AZD8330	MEK1/2	I	Advanced solid tumors

Figura 18. Inhibidores de MEK en ensayo clínica y usos en distintos tumores⁴⁰.

4.4-INHIBICIÓN MIXTA

Otra terapia muy interesante y prometedora es el tratamiento mixto con inhibidores del BRAF y del MEK, ya que se evitarían las resistencias comentadas anteriormente. Hay muchos estudios preclínicos como los mencionados por Singh et al⁴¹. El uso de esta terapia combinada aumentaría la supervivencia libre de progresión⁴². (Ver Figura 19)

Study	Trial Design	Agents Studied	N	RR (%)	Median PFS (Months)	OS (%)
<i>Dabrafenib + trametinib studies</i>						
Robert <i>et al.</i>	Randomized, phase III	Dabrafenib + trametinib	352	64	11.4	72 (12 months)
		Vemurafenib	352	51	7.3	65 (12 months)
Long <i>et al.</i>	Randomized, phase III	Dabrafenib + trametinib	211	67	11	93 (9 months)
		Dabrafenib + placebo	212	51	8.8	85 (9 months)
Daud <i>et al.</i> Flaherty <i>et al.</i>	Randomized, phase I–II	Dabrafenib + trametinib (150/2)	54	76	9.4	51 (24 months)
		Dabrafenib + trametinib (150/1)	54	50	NR ^a	NR
		Dabrafenib (150)	54	54	5.8	44 (24 months)
<i>Vemurafenib + cobimetinib studies</i>						
Larkin <i>et al.</i>	Randomized, phase III	Vemurafenib + cobimetinib (960/60)	247	70	12.3	81 (9 months)
		Vemurafenib (960) + placebo	248	50	7.2	73 (9 months)
<i>Encorafenib + binimetinib studies</i>						
Sullivan <i>et al.</i>	Randomized, phase II	Encorafenib + binimetinib (600/45)	38	72	11.3 (all doses combined)	NR
		Encorafenib + binimetinib (400/45)	4	78		NR

^a NR: not reported.

Figura 19. Estudios clínicos y resultados hasta el momento con inhibidores mixtos de BRAF y MEK⁴². PFS: progresión libre de enfermedad. OS: supervivencia total

Los efectos adversos serían los de clase de cada fármaco, salvo la presencia de más reacciones febriles y fotosensibilidad. En resumen en mutaciones del BRAF v600 estaría indicada estas terapias que siguen en estudio.

CONCLUSIONES

1. El conocimiento de las vías patogénicas en el desarrollo del melanoma ha permitido determinar alteraciones recurrentes de los genes bien establecidos, que condicionan la aparición de lesiones melánicas y su transformación agresiva, siempre bajo los efectos de las radiaciones ultravioleta.
2. Se ha podido establecer una correlación entre las diferentes alteraciones genéticas y los diferentes tipos de melanoma.
3. En la patogénesis del melanoma se han descrito mutaciones de línea germinal: (CDK2NA) y de línea somática: (MAPK y PI3K/ Akt / mTOR).
4. La mutación de BRAF, es un evento precoz en la patogénesis de las lesiones melánicas, lo que la convierte en la principal diana terapéutica en el tratamiento del melanoma en fase avanzada.
5. El tratamiento con inhibidores de BRAF ha permitido aumentar la supervivencia global con respecto a los tratamientos clásicos con quimio e inmunoterapia.
6. La combinación terapéutica con inhibidores del BRAF e inhibidores del MEK1/2 constituye a día de hoy la apuesta más prometedora en un futuro inmediato para los pacientes con melanomas en estadios avanzados.

ANEXO 1: TIPOS DE MELANOMA Y SUS CARACTERÍSTICAS. *BASTIAN ET AL 2015*⁴³.

Tipo de melanoma	Edad	CSD	Acral	Mucosas	Uveal	Desmoplásico	Spitzoide	Tipo nevus congénito	Tipo Azul
	30-60 años	Más 70 años	Más 60 años	Más 60 años	60 años	Más 70 años	Niños	Niños	Todos
Localización	Lugares intermitentemente expuestos a luz solar: troncos extremidades y conjuntiva	Lugares expuestos crónicamente al sol: cabeza, cuello, parte trasera brazos y pantorrillas	Palmas, uñas	Cualquier membrana mucosa menos algunos casos	Úvea posterior y coroides anterior. Cuerpo ciliar e iris	Cabeza y nuca sobretodo pero también tronco y extremidades	Cabeza, cuello, pantorrillas principalmente	Sobre todo piel	Cuero cabelludo y tronco
Alteraciones oncogénicas primarias	BRAF (70%), NRAS (15%)	NRAS (15%), KIT (10%)	KIT (15%), BRAF (15%), NRAS (15%)	KIT 15%, NRAS (15%)	GNAQ y GNA11 (90%)	NF1 (25%)	HRAS, fusiones de ROS1, NTRK1, ALK, RET, BRAF, NTRK3	NRAS (85%), fusiones de BRAF	GNAQ y GNA11
Alteraciones genéticas secundarias	Mutaciones TERT, mutaciones y deleciones de CDKN2A, PTEN,	Mutaciones TERT, TP53	Amplificación TERT	Amplificación TERT	BAP1	?	CDKN2A	?	?
Lesión benigna precursora	Adquisición nevus común	?	?	?	Nevus uveal	-	Nevus Spitz	Nevus congénito	Nevus azul
Aberraciones cromosómicas	Pérdida de 9, 10, 6q, 8p. Ganancia de 6p, 7, 8q, 1q, 20q, 17q	Pérdida de 9, 6q, 8p. Ganancia de 6p, 11q13, 8q, 1q, 20q, 17q	-	-	Pérdida de 1p, 3, 6q, 8, y 9p. Ganancia de 1q, 6p, and 8q	-	-	?	?
Mecanismo mutación	Rayos UV	Rayos UV	Amplificaciones	Amplificaciones	?	Radiaciones UV	Reordenamientos	?	?

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ National Cancer Institute. Surveillance, epidemiology, and end results program2013. [Acceso 3 marzo del 2016] Disponible en: <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/melan.html>
- ² Gandini S, Iodice S, Koomen E, et al. Hormonal and reproductive factors in relation to melanoma in women: Current review and eta-analysis. *Eur J Cancer* 2011;47: 2607–2617
- ³ Tejera-Vaquerizo A, Descalzo-Gallego MA, Otero-Rivas MM, et al. Skin Cancer Incidence and Mortality in Spain: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Actas Dermosifiliogr.* 2016 May;107(4):318-328
- ⁴ Rozman. Farreras-Rozman medicina interna. 17ª edición 2012. ISBN: 9788480868969.
- ⁵ Tsao H, Atkins MB, Sober AJ. Management of cutaneous melanoma. *N Engl J Med.* 2004 Sep 2;351(10):998-1012. Review. Erratum in: *N Engl J Med.* 2004 Dec 2;351(23):2461
- ⁶ Balch CM, Soong SJ, Gershenwald JE, et al. Age as a prognostic factor in patients with localized melanoma and regional metastases. *Ann SurgOncol.* 2013 Nov;20(12)
- ⁷ Wong SL, Balch CM, Hurley P, et al. Sentinel lymph node biopsy for melanoma: American Society of Clinical Oncology and Society of Surgical Oncology joint clinical practice guideline. *J Clin Oncol* 2012;30:2912–2918.
- ⁸ Robert C, Thomas L, Bondarenko I, et al. Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2011;364:2517–2526
- ⁹ J Patterson. *Weedon's Skin Pathology*, 4th Edition 2015. ISBN: 978-0-7020-5183-8
- ¹⁰ Tschandl P, Berghoff AS, Preusser M, et al. NRAS and BRAF mutations in melanoma-associated nevi and uninvolved nevi. *PLoS One.* 2013 Jul 8;8(7)
- ¹¹ Shinozaki M, Fujimoto A, Morton DL, et al. Incidence of BRAF oncogenemutation and clinical relevance for primary cutaneous melanomas. *Clin Cancer Res.*2004 Mar 1;10(5):1753-7
- ¹² Akslen LA, Angelini S, Straume O, et al. BRAF and NRAS mutations are frequent in nodular melanoma but are not associated with tumor cell proliferation or patient survival. *J Invest Dermatol.* 2005 Aug;125(2):312-7

-
- ¹³ Shain AH, Yeh I, Kovalyshyn I, et al. The genetic evolution of melanoma from precursor lesions. *N Engl J Med* 2015;373:1926-1936
- ¹⁴ Swick JM, Maize Sr JC. Molecular biology of melanoma. *J Am Acad Dermatol.* 2012;67:1049-54
- ¹⁵ Ascierto PA, Schadendorf D, Berking C, et al. MEK162 for patients with advanced melanoma harbouring NRAS or Val600 BRAF mutations: A non-randomised, open-label phase 2 study. *Lancet Oncol.*2013;14:249-56
- ¹⁶ Dhomen N, Marais R. BRAF signaling and targeted therapies in melanoma. *Hematol Oncol Clin North Am* 2009;23:529–545, ix.
- ¹⁷ Kim SY, Kim SN, Hahn HJ, et al. Metaanalysis of BRAF mutations and clinicopathologic characteristics in primary melanoma. *J Am Acad Dermatol.* 2015 Jun;72(6):1036-46.e2. doi: 10.1016/j.jaad.2015.02.1113. Epub 2015 Mar 25. Review
- ¹⁸ Viros A, Fridlyand J, Bauer J, et al. Improving melanoma classification by integrating genetic and morphologic features. *PLoS Med.* 2008 Jun 3;5(6):e120
- ¹⁹ Thomas NE, Edmiston SN, Alexander A, et al. Number of nevi and early-life ambient UV exposure are associated with BRAF-mutant melanoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007;16:991-7.
- ²⁰ Long GV, Menzies AM, Nagrial AM, et al. Prognostic and clinicopathologic associations of oncogenic BRAF in metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 2011; 29:1239-46
- ²¹ Curtin JA, Busam K, Pinkel D, Bastian BC. Somatic activation of KIT in distinct subtypes of melanoma. *J Clin Oncol.* 2006;24:4340-6.
- ²² Kong Y, Si L, Zhu Y, et al. Large scale analysis of KIT aberrations in Chinese patients with melanoma. *Clin Cancer Res.* 2011;17:1684-91.
- ²³ Omholt K, Grafstrom E, Kanter-Lewensohn L, et al. KIT pathway alterations in mucosal melanomas of the vulva and other sites. *Clin Cancer Res.*2011;17:393-42
- ²⁴ Nikolaev SI, Rimoldi D, Iseli C, et al. Exome sequencing identifies recurrent somatic MAP2K1 and MAP2K2 mutations in melanoma. *Nat Genet* 2012;44:133–139.
- ²⁵ Van Raamsdonk CD, Griewank KG, Crosby MB, et al. Mutations in GNA11 in uveal melanoma. *N Engl J Med* 2010;363:2191–2199.

-
- ²⁶ Wu H, Goel V, Haluska FG. PTEN signaling pathways in melanoma. *Oncogene* 2003;22:3113–3122.
- ²⁷ Lasithiotakis KG, Sinnberg TW, Schittek B, et al. Combined inhibition of MAPK and mTOR signaling inhibits growth, induces cell death, and abrogates invasive growth of melanoma cells. *J Invest Dermatol.* 2008;128:2013-23
- ²⁸ Sisley K, Doherty R, Cross NA. What hope for the future? GNAQ and uveal melanoma. *Br J Ophthalmol.* 2011;95:62-3.
- ²⁹ Chapman PB, Hauschild A, Robert C, et al. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *N Engl J Med.* 2011;364:2507-16
- ³⁰ Sosman JA, Kim KB, Schuchter L, et al. Survival in BRAF V600-mutant advanced melanoma treated with vemurafenib. *N Engl J Med* 2012;366:707-714
- ³¹ Kramkimel N, Thomas-Schoemann A, Sakji L, et al. Vemurafenib pharmacokinetics and its correlation with efficacy and safety in outpatients with advanced BRAF-mutated melanoma. *Target Oncol.* 2016 Feb;11(1)
- ³² Hauschild A, Grob JJ, Demidov LV, et al. Dabrafenib in BRAF-mutated metastatic melanoma: A multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet.* 2012;380:358-6
- ³³ Villanueva J, Vultur A, Lee JT, et al. Acquired resistance to BRAF inhibitors mediated by a RAF kinase switch in melanoma can be overcome by cotargeting MEK and IGF-1R/PI3K. *Cancer Cell.* 2010;18:683–95.
- ³⁴ Carvajal RD, Antonescu CR, Wolchok JD, et al. KIT as a therapeutic target in metastatic melanoma. *JAMA.* 2011;305:2327-34.
- ³⁵ Guo, J.; Si, L.; Kong, Y.; et al. Phase II, open-label, single arm trial of imatinib mesylate in patients with metastatic melanoma harboring c-Kit mutation or amplification. *J. Clin. Oncol.* 2011, 29, 2904–2909.
- ³⁶ Carvajal, R.; Lawrence, D.; Weber, J. et al. Phase II Study of Nilotinib in Melanoma Harboring KIT Alterations Following Progression to Prior KIT Inhibition. *Clin. Cancer Res.* 2015, 21, 2289–2296
- ³⁷ Kirkwood JM, Bastholt L, Robert C, et al. Phase II, open-label, randomized trial of the MEK1/2 inhibitor selumetinib as monotherapy versus temozolomide in patients with advanced melanoma. *Clin Cancer Res* 2012;18:555–567.

-
- ³⁸ Patel SP, Lazar AJ, Papadopoulos NE, et al. Clinical responses to selumetinib(AZD6244; ARRY-142886)-based combination therapy stratified by gene mutations in patients with metastatic melanoma. *Cancer*. 2013 Feb 15;119(4)
- ³⁹ Kim KB, Kefford R, Pavlick AC, et al. Phase II study of the MEK1/MEK2 inhibitor Trametinib in patients with metastatic BRAF-mutant cutaneous melanoma previously treated with or without a BRAF inhibitor. *J Clin Oncol*. 2013 Feb 1;31(4)
- ⁴⁰ Akinleye A, Furqan M, Mukhi N, et al. MEK and the inhibitors: from bench to bedside. *J Hematol Oncol*. 2013 Apr 12;6:27. doi: 10.1186/1756-8722-6-27. Review
- ⁴¹ Singh BP, Salama AK. Updates in Therapy for Advanced Melanoma. *Cancers (Basel)*. 2016 Jan 15;8(1)
- ⁴² Goldinger SM, Murer C, Stieger P, et al. Targeted therapy in melanoma - the role of BRAF, RAS and KIT mutations. *EJC Suppl*. 2013 Sep;11(2):92-6
- ⁴³ Bastian BC. The molecular pathology of melanoma: an integrated taxonomy of melanocytic neoplasia. *Annu Rev Pathol*. 2014;9:239-71.

