



ACTAS Derma-Sifiliográficas

Full English text available at
www.elsevier.es/ad



REVISIÓN

Nuevas dianas terapéuticas en el melanoma[☆]

R.M. Martí^{a,*}, A. Sorolla^{b,c} y A. Yeramian^{b,c}

^a Servicio de Dermatología, Hospital Universitari Arnau de Vilanova, Universitat de Lleida, IRBLLEIDA, Lleida, España

^b Servicio de Anatomía Patológica y Genética Molecular, Hospital Universitari Arnau de Vilanova, Universitat de Lleida, IRBLLEIDA, Lleida, España

^c Laboratorio de Investigación, Hospital Universitari Arnau de Vilanova, Universitat de Lleida, IRBLLEIDA, Lleida, España

Recibido el 12 de abril de 2011; aceptado el 10 de agosto de 2011

Disponible en Internet el 20 de enero de 2012

PALABRAS CLAVE

Melanoma;
Dianas terapéuticas;
Dianas moleculares;
BRAF;
C-Kit;
Anti CTLA-4

KEYWORDS

Melanoma;
Therapeutic targets;
Molecular targets;
BRAF;
C-kit;
Anti CTLA-4

Resumen La investigación sobre dianas moleculares en el melanoma sobre las que se pueda actuar farmacológicamente está empezando a dar sus primeros frutos. De todos los fármacos ensayados hasta el momento en pacientes con melanoma diseminado, los que han conseguido mejores resultados son los inhibidores de la mutación V600E de BRAF en los melanomas portadores de la misma, los inhibidores de la actividad tirosin-cinasa de c-Kit en melanomas con mutaciones de este gen y los anticuerpos anti-CTLA-4, inhibidores de los mecanismos de inmunotolerancia. Sin embargo, aún quedan muchos problemas por resolver, como la rápida adquisición de resistencias frente a los dos primeros tipos de fármacos o la falta de biomarcadores predictivos de respuesta frente al último de ellos. En este artículo presentamos una revisión sobre los resultados de los tratamientos contra estas y otras dianas en el melanoma diseminado y lo que parece que podemos esperar del futuro.

© 2011 Elsevier España, S.L. y AEDV. Todos los derechos reservados.

New Therapeutic Targets in Melanoma

Abstract Research into molecular targets for drug development in melanoma is starting to bear fruit. Of the drugs tested to date in patients with metastatic melanoma, those that have yielded the best results are V600E BRAF inhibitors in melanomas carrying the V600E mutation; c-kit tyrosine kinase activity inhibitors in melanomas carrying c-kit mutations; and anti-cytotoxic T lymphocyte antigen 4 (CTLA-4) antibodies, which block the mechanisms involved in immune tolerance. Many problems have yet to be resolved in these areas, however, such as the rapid development of resistance to BRAF and c-kit inhibitors and the lack of biomarkers to predict treatment response in the case of CTLA-4 blockers. We review the results of targeted

[☆] Con posterioridad a la redacción de este manuscrito, en julio de 2011, la Agencia Europea del Medicamento (EMA) aprobó Ipilimumab (Yervoy®) para el tratamiento del melanoma avanzado (metastásico o irreseccable) resistente a, al menos, un tratamiento previo (ya aprobado por la FDA en marzo del 2011). En agosto del 2011, la FDA aprobó PLX4032 o Vemurafenib (Zelboraf®) como tratamiento de primera línea del melanoma metastásico y/o irreseccable quirúrgicamente.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: marti@medicina.udl.cat (R.M. Martí).

therapy with these and other drugs in metastatic melanoma and discuss what the future holds for this field.

© 2011 Elsevier España, S.L. and AEDV. All rights reserved.

Introducción. Concepto de dianas terapéuticas en el tratamiento del cáncer

El melanoma cutáneo, una vez diseminado, es una enfermedad altamente resistente a los tratamientos antineoplásicos convencionales. Actualmente la dacarbazina (DTIC) sigue siendo el tratamiento estándar para los enfermos con melanoma metastásico con una tasa de respuesta objetiva únicamente del 10-20% y de respuesta completa menor al 5%, de solo 6-8 meses de duración. Por ello, actualmente se están investigando intensamente nuevas estrategias terapéuticas^{1,2}. Hasta hace relativamente poco tiempo, parecía que todos los intentos de actuar sobre el melanoma diseminado con los nuevos tratamientos frente a dianas terapéuticas que tanto han revolucionado otras áreas de la oncología³ acababan en fracaso. Sin embargo, datos aparecidos muy recientemente en la literatura aportan una luz de esperanza a esta situación.

Los tratamientos frente a dianas terapéuticas actúan inhibiendo de forma selectiva a moléculas, generalmente proteínas, de cuya expresión o sobreexpresión depende de forma específica el crecimiento de la neoplasia problema. Así, una de las características principales del tratamiento

antineoplásico mediante fármacos contra dianas terapéuticas sería la especificidad, tanto en la relación fármaco-diana como diana-tumor. La especificidad ofrecería como ventaja el evitar la toxicidad de los tratamientos antineoplásicos convencionales que actúan de forma inespecífica tanto sobre células malignas como sobre células normales. Otra ventaja de la especificidad es la de discriminar entre grupos de pacientes aparentemente iguales. Un ejemplo, ya completamente incorporado a la práctica médica habitual, sería la indicación de trastuzumab para el tratamiento del adenocarcinoma de mama únicamente cuando éste sobreexpresa la proteína HER-2⁴. Aunque esta especificidad tan manifiesta no siempre se logra y, como dermatólogos, somos testimonio de muchos de los efectos secundarios de este nuevo grupo de sustancias⁵, lo cierto es que cada vez se dispone de terapias más selectivas para cada tipo y subtipo de neoplasia, constituyendo lo que se ha denominado tratamiento oncológico «a la carta».

El número de posibles dianas terapéuticas en el melanoma ha ido aumentando a medida que se ha ido conociendo mejor la biología de este tumor y que se han ido sintetizando diversos fármacos contra alguna de las moléculas implicadas en favorecer su crecimiento (tabla 1)⁶⁻⁸.

Tabla 1 Posibles fármacos frente a dianas terapéuticas en el melanoma

Frente a dianas localizadas en las propias células tumorales

Frente a moléculas responsables de estimular el crecimiento y/o impedir la muerte celular

- Fármacos frente a moléculas antiapoptóticas (oblimersen, ABT-737, ABT-263, YM155)
- Inhibidores de proteínas de la cascada de las MAP cinasas:
 - Inhibidores de la farnesil transferasa (actúan sobre RAS) (tipifarnib)
 - Inhibidores de RAF (sorafenib, PLX4032, GSK2118436, RAF-265, XL281)
 - Inhibidores de MEK (PD0325901, AZD6244, GSK1120212, E6201)
- Inhibidores de la vía PI3K/AKT:
 - Análogos de la rapamicina (actúan sobre mTOR) (temsirolimus/CCI-779)
 - Inhibidores duales de PI3K y mTOR (SF-1126, NVP-BEZ235, NVP-BGT226, XL765)
 - Inhibidores de PI3K (PX-866, XL147, NVP-BKM120, GDC-0941, CAL-101)
 - Inhibidores de AKT (MK-2206, GSK690693)
- Inhibidores de c-Kit (imatinib, sunitinib, dasatinib, nilotinib)
- Inhibidores de acción pleiotrópica:
 - Inhibidores del proteasoma (bortezomib e inhibidores de segunda generación)
 - Inhibidores de deacetilasas de histonas (vorinostat y otros)

Frente a moléculas responsables de facilitar la invasión y/o las metástasis

- Terapia anti-moléculas de adhesión:
 - Anticuerpos anti-integrina $\alpha v \beta 3$ (etaracizumab)
 - Inhibidores de la caderina N (ADH-1)
 - Anticuerpos anti- MCAM/MUC18 (ABX-MA1)

Frente a dianas localizadas en estructuras ajenas a las células neoplásicas

Fármacos antiangiogénicos

- Anticuerpos anti-VEGF (bevacizumab)
- Inhibidores de VEGFRs (sunitinib, sorafenib, semaxinib, axatinib)
- Antagonistas de las integrinas (cilengitide)
- Talidomida y derivados (lenalinomida)

Fármacos inhibidores de los mecanismos de inmunotolerancia

- Anticuerpos anti CTLA-4 (ipilimumab y tremelimumab)

Dianas terapéuticas localizadas en las propias células tumorales

Dianas terapéuticas encargadas de estimular la proliferación celular y/o inhibir la apoptosis. Clasificación molecular del melanoma

Muchas de las moléculas pertenecientes a este grupo son factores de crecimiento, receptores de los mismos o proteínas involucradas en las vías de señalización intracelular, con efecto proproliferativo o antiapoptótico, la mayoría producto de oncogenes⁶. Las células de melanoma tienen fuertemente activadas estas vías (fig. 1), ya sea a través de mutaciones de genes que codifican proteínas implicadas en las mismas, como a variaciones en los niveles de expresión proteica. Por ello, poseen gran capacidad proliferativa y una resistencia natural a los mecanismos extrínsecos y/o intrínsecos que inducen la muerte celular programada o apoptosis. Algunos de los mecanismos responsables de la alteración de dichas redes de señalización celular son los siguientes: 1) la activación constitutiva de receptores de factores de crecimiento (c-Kit, PDGFR- α , EGFR); 2) la activación de la vía de señalización de las MAP-quinasas (RAS/RAF/MEK/ERK); 3) la activación constitutiva de la vía AKT (PI3K/AKT), favorecida entre otros mecanismos por mutaciones, deleciones o silenciamientos del gen supresor tumoral PTEN; 4) las alteraciones de la red de control del ciclo celular (deleción, silenciamiento o mutación de CDKN2A, amplificación de CDK4 o de CCND1); 5) el deterioro de la actividad transcripcional de la proteína propapoptótica p53, y 6) la sobreexpresión de proteínas antiapoptóticas de la familia de Bcl-2, resultado de las aberraciones en varias de las vías de señalización intracelular mencionadas⁹⁻¹¹. Cualquiera de las proteínas situadas en puntos estratégicos de estas vías podría resultar *a priori* una buena diana molecular para el tratamiento del melanoma diseminado.

Un concepto importante que ha cambiado la estrategia con la que abordar el tratamiento del melanoma metastásico ha sido el comprobar que el melanoma es un tumor genéticamente heterogéneo, de modo que las alteraciones anteriormente mencionadas varían de unos subgrupos de melanoma a otros. Aunque datos anteriores ya apuntaban en esta dirección, los primeros trabajos extraordinariamente relevantes en este sentido fueron los publicados en 2005 y 2006 por Curtin et al.^{12,13}. Dichos autores dividieron a los melanomas cutáneos y mucosos en los siguientes 4 grupos relacionados con distintos patrones de exposición solar y diferente localización anatómica: 1) melanomas sobre piel sin daño solar crónico (o melanoma relacionado con la exposición solar intermitente); 2) melanomas sobre piel con daño solar crónico (que corresponderían fundamentalmente al melanoma sobre lentigo maligno); 3) melanomas acrales, y 4) melanomas de mucosas. Hallaron que, mientras el 81% de los melanomas en piel sin daño solar crónico tenía mutaciones de BRAF o de NRAS (que eran mutuamente excluyentes), la mayoría de los melanomas de los otros tres grupos, los tres con un patrón histológico lentiginoso, no presentaban mutaciones de estos genes, pero sí amplificaciones de los genes CDK4 y CCND1 (ciclina D1) y/o aberraciones genéticas de c-Kit que incluían mutaciones y amplificaciones.

Estos datos se han ido ampliando con posterioridad, tanto respecto a los tipos de mutaciones o alteraciones que con mayor frecuencia se detectan en los genes mencionados, como en la medida en que pueden combinarse entre sí o con otros trastornos moleculares (p. ej. pérdida de PTEN, amplificación de AKT, etc.) conformando distintos subgrupos de melanoma. De este modo, la terapia mediante fármacos frente a dianas selectivas en el melanoma debería tener en cuenta esta variabilidad y realizarse de forma personalizada, según el perfil genético y de expresión de cada subgrupo de tumores^{9,11,14,15}.

Terapia antisentido frente a Bcl-2. Otras moléculas implicadas en la apoptosis como posibles dianas terapéuticas en el melanoma

Esta es una de las primeras estrategias frente a dianas terapéuticas que se han ensayado para el tratamiento del melanoma metastásico. Bcl-2 es una proteína antiapoptótica que está sobreexpresada en muchas neoplasias, concretamente en el 80% de los melanomas, favoreciendo la supervivencia celular. Como terapia antisentido contra Bcl-2 se emplea un fármaco, denominado oblimersen. El primer ensayo clínico fase I-II en el que se combinó oblimersen y DTIC obtuvo unos resultados aceptables que animaron a diseñar un segundo ensayo fase III randomizado con un grupo de pacientes que solo recibía DTIC y un grupo que recibía DTIC más oblimersen. Se incluyeron 771 pacientes. En comparación al grupo que únicamente recibía DTIC, en el grupo que recibía DTIC más oblimersen se observó una mayor tasa de respuestas objetivas (13,5 vs 7,5%; $p=0,007$) y un aumento del tiempo libre de enfermedad (mediana: 2,6 meses vs 1,6 meses; $p<0,001$), pero solo una tendencia a un aumento de la supervivencia global (mediana: 9,0 meses vs 7,8 meses; $p=0,077$). Aunque un análisis retrospectivo indicó que en el subgrupo de pacientes sin elevación de la LDH sérica se obtuvo un beneficio respecto a la supervivencia global (mediana: 11,4 vs 9,7 meses; $p=0,02$)¹⁶, este dato no ha podido ser comprobado en ensayos posteriores. Se ha intentado combinar oblimersen con otros citostáticos, como paclitaxel y temozolamida, sin conseguir mejorar estos resultados, por lo que de momento se ha abandonado esta vía como posible tratamiento del melanoma^{8,17}. Actualmente se están ensayando tratamientos contra otras proteínas antiapoptóticas como ABT-737 y ABT-263 (miméticos de BH3) e YM155 (inhibidor de survivina)¹⁷.

Inhibidores de BRAF

RAF es una familia de proteínas (ARAF, BRAF y CRAF) que intervienen en la vía de señalización intracelular de las MAP-quinasas regulando la proliferación, la diferenciación y la supervivencia celular. BRAF está mutado en el 30-70% de los melanomas, especialmente, como ya se ha comentado, en aquellos sobre piel sin daño solar crónico^{12,13}, que constituyen el grupo más frecuente de melanoma. En más del 90% de los casos la mutación del gen BRAF es siempre la misma, una mutación puntual del exón 15 (cambio de timina por adenina), que causa la sustitución de ácido glutámico por valina en la posición 600 de la proteína BRAF (mutación V600E). Por otro lado, el 15-30% de los melanomas presenta mutaciones de NRAS, que al codificar una proteína situada al inicio de vía

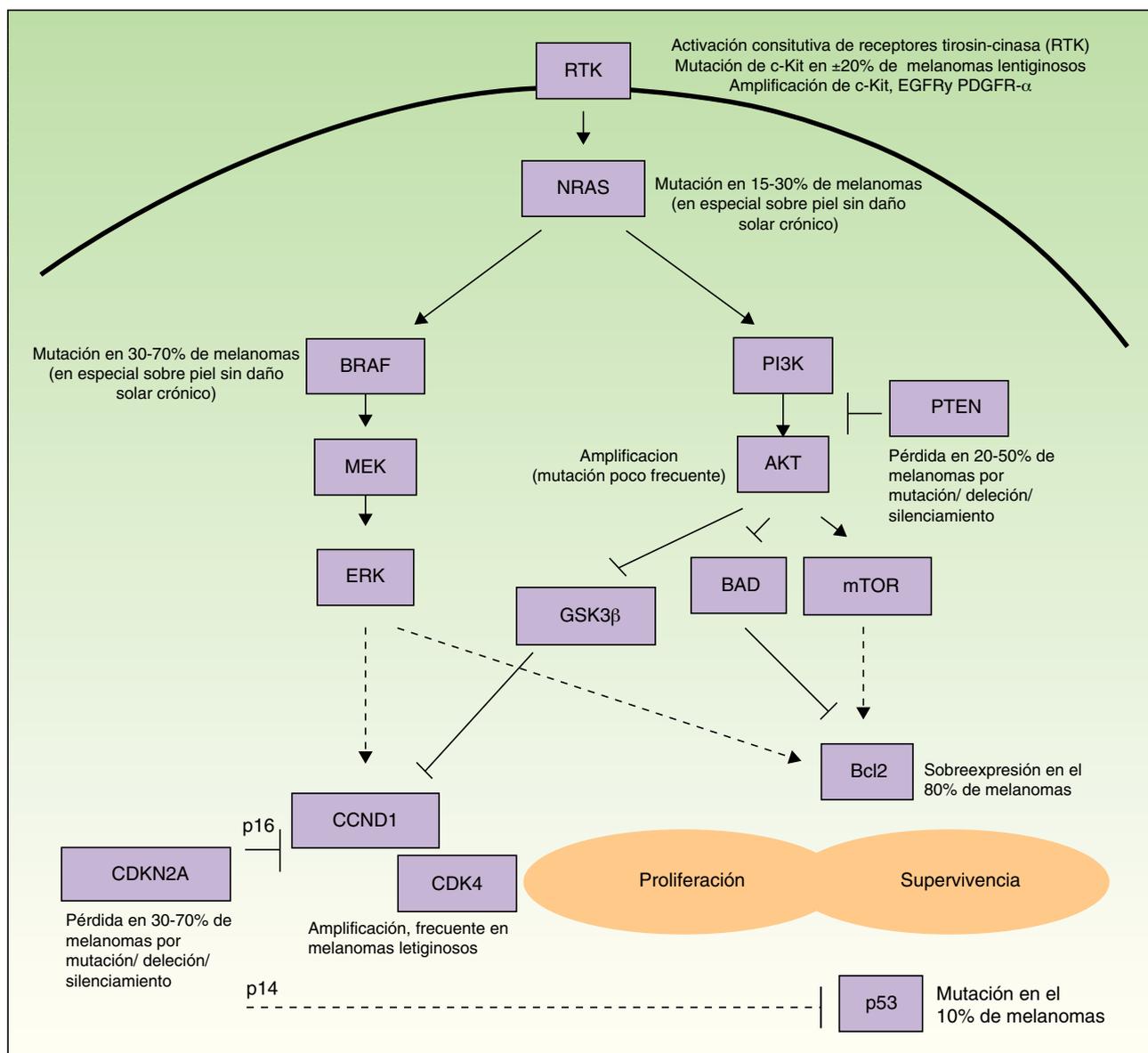


Figura 1 Esquema simplificado de algunas de las principales vías intracelulares implicadas en favorecer la proliferación (estimulación del ciclo celular) y la supervivencia (estimulación de los mecanismos antiapoptóticos y supresión de los mecanismos propapoptóticos) de las células de melanoma. Muchos melanomas poseen una activación constitutiva de receptores de factores de crecimiento con actividad tirosin-cinasa (RTK) (pe, c-Kit, PDGFR- α y/o EGFR), ya sea por amplificaciones o mutaciones de los genes que los codifican. Asimismo, presentan activación de la vía de señalización de las MAP-quinasas (proteín cinasas activadas por mitógenos) (RAS/RAF/MEK/ERK), debida fundamentalmente a mutaciones de NRAS o de BRAF. Con frecuencia, poseen además activada la vía de las fosfatidil-inositol 3 cinasas (PI3K) (PI3K/AKT), de forma secundaria a las mutaciones de NRAS, por amplificación de AKT y, especialmente favorecida por la pérdida del papel inhibitor de PTEN, resultado de mutaciones, deleciones o silenciamientos del gen supresor tumoral PTEN. Por otro lado, en la activación del ciclo celular, contribuyen las deleciones, silenciamientos y mutaciones de CDKN2A, que repercuten en defectos de las 2 proteínas codificadas por este gen (p16 y p14), así como las amplificaciones de CDK4 y CCND1 (ciclina D1). Todo ello influye en el deterioro de la actividad de la proteína propapoptótica p53 (que también puede estar mutada en algunos casos) y la sobreexpresión de proteínas antiapoptóticas de la familia de Bcl-2.

de las MAP-quinasas (fig. 1), actúan también como activadoras de BRAF. Curiosamente, se han detectado mutaciones de BRAF en el 20% y de NRAS el 80% de los nevos melanocíticos comunes adquiridos y congénitos, de significado biológico aún incierto¹⁰. Todo ello ha llevado a pensar que BRAF es una proteína muy importante para la proliferación de las células de origen melanocítico¹⁸⁻²⁰.

Se ha intentado relacionar la presencia de mutaciones de BRAF y NRAS con diversas características clínicas e histopatológicas de los melanomas portadores de las mismas²¹⁻²³. Aunque aún se precisan más trabajos en este sentido, a modo de resumen, los melanomas con mutaciones de BRAF suelen ser lesiones más pigmentadas, localizadas en el tronco o las extremidades de adultos de edad media (< 50 años), con

historia de exposición solar en la infancia, escasas efélides y sin queratosis actínicas. Desde el punto de vista histológico, asientan sobre piel con poca elastosis actínica, se asocian con mayor frecuencia a la variante de melanoma de extensión superficial, las células neoplásicas tienden a invadir los estratos altos de la epidermis formando nidos intraepidérmicos (patrón de crecimiento pagetoide), la epidermis afecta suele estar engrosada y bien delimitada respecto a la piel circundante, las células suelen ser redondeadas, grandes y claramente pigmentadas, el Breslow suele ser menor y la tasa de mitosis más baja. En su comportamiento clínico, tienden a metastizar más en los ganglios linfáticos regionales y poseer mayor supervivencia.

Sorafenib. El primer fármaco empleado clínicamente para inhibir BRAF ha sido BAY43-9006, llamado también sorafenib. Sorafenib fue diseñado para inhibir la actividad tirosin-cinasa de CRAF, pero pronto se vio que también inhibía a BRAF, tanto a la proteína *wild-type* (normal o «salvaje») como a la proteína mutada (mutación V600E y otras). Posteriormente, se ha visto que sorafenib es en realidad un inhibidor multikinasa, capaz de inhibir a otras muchas moléculas como VEGFR2 y -3, PDGFR- β , p38 MAPK, FLT3, c-Kit y RET²⁴. En principio, esta cualidad de sorafenib no tendría porque ser un hecho negativo, ya que las células de melanoma poseen varios receptores tirosin-cinasa activados e, incluso, el efecto sobre VEGFR2 y -3 podría tener una acción antiangiogénica. Sin embargo, a pesar de que los experimentos preclínicos, tanto *in vitro* como en modelos animales, parecían ser alentadores, los resultados de los ensayos clínicos, que se comentan a continuación, no han confirmado la eficacia de sorafenib para el tratamiento del melanoma diseminado¹⁸⁻²⁰.

En el primer ensayo clínico fase II, que incluía 39 pacientes, utilizando únicamente sorafenib, se consiguieron una respuesta completa y 7 respuestas menores. En un segundo ensayo fase I/II, sobre 35 pacientes, al añadir carboplatino y paclitaxel, el número de respuestas parciales aumentó a 11, además de obtenerse 19 respuestas menores. Posteriormente se realizó un ensayo fase II con dos brazos (sorafenib + dacarbazina vs placebo + dacarbazina) en el que se observó un aumento del intervalo libre de enfermedad en el grupo que recibía sorafenib, pero sin mejora en la supervivencia global. Posteriormente se han diseñado otros ensayos fase III, combinando sorafenib con otros citostáticos (temozolamida, carboplatino, paclitaxel) sin conseguir mejorar los resultados. En los ensayos clínicos mencionados, la respuesta no se pudo correlacionar con la presencia de la mutación V600E de BRAF. Se piensa que quizá la diana clínica de sorafenib sea en realidad más VEGFR2 o PDGFR- β que BRAF y, de hecho, actualmente unas de sus principales indicaciones son el tratamiento del carcinoma de células renales y el del carcinoma hepatocelular inoperable donde la angiogénesis tiene un papel más relevante¹⁸⁻²⁰. Algunos estudios preclínicos sugieren que sorafenib sería más efectivo en un grupo pequeño de melanomas portadores de mutaciones de BRAF distintas a la V600E²⁵.

Inhibidores selectivos de BRAF: PLX4032 y otras moléculas.

Después del fracaso de sorafenib en el melanoma, se han sintetizado inhibidores más específicos de BRAF y, en concreto de la proteína con la mutación V600E. El primero de los inhibidores específicos de BRAF-V600E que ha llegado a ensayos

clínicos es PLX4032, un fármaco de bajo peso molecular, de administración oral.

En el primer ensayo clínico recientemente publicado²⁶ se incluyeron 87 pacientes. Este ensayo se desarrolló en dos fases. En una primera fase I, se reclutaron 55 pacientes, 49 pacientes con melanoma metastásico (con y sin mutaciones de BRAF) y 6 pacientes con otras neoplasias que suelen presentar mutaciones de BRAF (tres de ellos con carcinoma papilar de tiroides con la mutación BRAF/V600E). En una extensión fase II del ensayo, se reclutaron 32 pacientes, todos con melanomas portadores de la mutación V600E de BRAF que recibieron la dosis de PLX4032 establecida como idónea en la primera fase.

Entre los 55 pacientes de la primera fase que recibieron una dosis de PLX4032 \geq 240 mg/12 h, se encontraban 16 enfermos con melanoma metastásico con la mutación V600E de BRAF. En estos pacientes la tasa de respuesta global fue del 69%, incluyendo una respuesta completa. No se observaron respuestas en ninguno de los pacientes con melanoma metastásico sin mutación V600E de BRAF que, sin embargo, habían recibido una dosis de PLX4032 \geq 240 mg/12 h. En los tres pacientes con carcinoma papilar de tiroides se obtuvieron respuestas objetivas; uno de ellos mantuvo un intervalo libre de enfermedad de 12 meses y los otros dos, enfermedad estable durante 11 y 13 meses.

La totalidad de los 32 pacientes incluidos en la fase de extensión presentaban melanoma metastásico con mutación BRAF/V600E y recibieron una dosis de PLX4032 de 960 mg/12 h. Se observó respuesta objetiva en el 81% de los pacientes (26/32), con dos respuestas completas y 24 respuestas parciales. Tal como ya se había observado en la primera fase, se produjeron respuestas en pacientes con metástasis viscerales en localizaciones habitualmente resistentes al tratamiento (como hepáticas, intestinales y óseas), con concentración sérica de LDH elevada o que no habían respondido a otras terapias. La mediana de duración del período libre de enfermedad fue de 7 meses. De los efectos secundarios, el más llamativo, especialmente desde el punto de vista dermatológico, fue la aparición de carcinomas escamosos cutáneos bien diferenciados/queratoacantomas en el 32% de los pacientes.

En conjunto, nunca se han publicado resultados tan buenos en el tratamiento del melanoma metastásico. Sin embargo, dado que el tiempo de seguimiento no es suficiente, aún no se conoce el impacto que estas respuestas tan llamativas puedan tener en la supervivencia global. De hecho, a pesar de haber conseguido una buena respuesta, las recaídas aparecen precozmente, por lo general en un período de 8-12 meses después del tratamiento²⁷. Estos datos sugieren que la resistencia a PLX4032 se desarrolla con facilidad²⁸. Los primeros estudios sobre los mecanismos de resistencia a PLX4032 apuntan a que ésta se debe a la reactivación de la vía de las MAP cinasas, no por aparición de nuevas mutaciones de BRAF, sino por el desarrollo de mutaciones de NRAS, activación de PDGFR β o sobreexpresión de COT/TPL2^{27,29,30}. Para evitar la aparición de resistencias se ha propuesto utilizar PLX4032 en combinación con fármacos inhibidores de otras dianas, como otra molécula de la vía de las MAP cinasas, por ejemplo MEK, o la mencionada COT (ver apartado: Tratamientos combinados).

La posibilidad de inhibir de forma específica la mutación V600E de BRAF ha conducido además a ampliar nuestro

conocimiento sobre las interacciones entre BRAF, CRAF y la activación de la vía de las MAP cinasas. Se ha comprobado que en los melanomas que no poseen la mutación V600E de BRAF (por ejemplo, melanomas con mutación de NRAS, pero con BRAF normal o *wild-type*), la inhibición específica de BRAF induce la formación de dímeros BRAF/CRAF que, paradójicamente, acaban teniendo un efecto activador sobre la vía de las MAP cinasas, y, por tanto, sobre el crecimiento celular. Por ello, es muy importante seleccionar para el tratamiento con estos inhibidores específicos solo a aquellos pacientes con melanomas portadores de la mutación V600E³¹⁻³⁵. Por otro lado, este mecanismo podría explicar uno de los efectos secundarios del tratamiento con PLX4032, como es la aparición de carcinomas escamosos cutáneos/queratoacantomas al inducir la proliferación de células epiteliales cutáneas normales que, lógicamente, no poseen de mutaciones de BRAF³⁶.

Otros inhibidores específicos de BRAF, algunos de los cuales están ya siendo evaluados en ensayos clínicos, son GSK2118436 (que inhibe selectivamente la actividad tirosin-cinasa de las proteínas RAF, con mayor potencia respecto a BRAF que a CRAF), RAF-265 (que inhibe intensamente todas las isoformas de RAF, ARAF, BRAF y CRAF, incluyendo la mutación V600E de BRAF, además de VEGFR-2, c-Kit, y PDGFR β) y XL281 (que actúa también sobre las diferentes RAF cinasas)²⁸.

Inhibidores de c-Kit. Imatinib (STI-571) y otros inhibidores de la actividad tirosin-cinasa de c-Kit

La posibilidad de que c-Kit fuera una diana terapéutica en el melanoma ya hace tiempo que se baraja. De hecho, c-Kit es una proteína que actúa como un receptor de factor de crecimiento fundamental de los melanocitos epidérmicos y posee un papel primordial en la diferenciación y migración de las células melanocíticas durante el desarrollo embrionario³⁷. En concordancia, muchos melanomas expresan c-Kit. Sin embargo, algunos datos clínicos y experimentales apuntaban en contra de esta hipótesis hasta hace pocos años. Por un lado, se había demostrado que la expresión de c-Kit disminuía con la progresión tumoral de muchos melanomas^{38,39} y que, en algunas líneas celulares, la pérdida de este factor de crecimiento se relacionaba paradójicamente con un aumento de la capacidad metastatizante^{40,41}. Por otro lado, los primeros ensayos clínicos realizados en pacientes con melanoma metastásico, empleando fármacos inhibidores de c-Kit, como imatinib (STI571), obtuvieron resultados muy desalentadores^{42,43}.

A pesar de que existían evidencias experimentales y clínicas previas de respuestas aisladas a imatinib y de mutaciones muy ocasionales en el exón 11 de c-Kit en algunas células de melanoma⁴⁴⁻⁴⁸, no fue hasta el trabajo publicado por Curtin et al. en 2006¹³ cuando se estableció que un 39, 36 y 28% de determinados tipos de melanoma, de por sí poco frecuentes (melanoma de mucosas, melanoma acral y melanoma sobre piel con daño actínico crónico, respectivamente), se encontraban aberraciones genéticas de c-Kit que convertían a la proteína codificada por este gen en una posible diana para su tratamiento¹³. Dichas alteraciones no se han hallado en el melanoma uveal. La baja representación de estos tipos de melanoma en las series de melanoma metastásico, explicarían la falta de respuesta observada en los ensayos clínicos

anteriormente referidos⁴⁹. En un ensayo clínico, diseñado antes de conocer estos datos, pero publicado en el 2008, el único paciente que había respondido a imatinib era portador de un melanoma lentiginoso acral⁵⁰.

Las alteraciones genéticas de c-Kit incluyen mutaciones y amplificaciones de este gen. Este dato es importante porque no necesariamente los dos tipos de alteraciones tienen por qué tener el mismo significado biológico. Del 39-28% global de aberraciones genéticas de c-Kit, solo un 15-38%, un 8-23% y un 0-17% (de los melanomas mucosos, acrales y sobre piel con daño actínico crónico, respectivamente) corresponden a mutaciones. La mayoría de las mutaciones, tal como ocurre en los GIST (*Gastrointestinal Stromal Tumors*), neoplasias en las que son típicas las mutaciones de c-Kit, están localizadas en el exón 11. Sin embargo, existe una proporción mayor que en los GIST de mutaciones localizadas en los exones 13, 17 y 18, que precisamente corresponden a mutaciones asociadas a resistencia a imatinib. Por otro lado, en el melanoma se ha descrito la coexistencia de mutaciones y amplificaciones de c-Kit, algo no habitual en los GIST. Los estudios realizados hasta el momento parecen indicar que no siempre existe una relación entre la positividad o negatividad inmunohistoquímica para c-Kit y la presencia o ausencia de aberraciones genéticas. Por tanto, los estudios moleculares parecen imprescindibles para establecer la existencia de alteraciones de este gen^{14,51-54}.

Además de imatinib, existen ya en el mercado distintos fármacos capaces de inhibir la actividad tirosin-cinasa de c-Kit como sunitinib, dasatinib y nilotinib³. La capacidad de estos fármacos para inducir la regresión de melanomas portadores de mutaciones activadoras de c-Kit se ha demostrado en varios casos clínicos publicados de forma aislada^{2,55-58} y en series cortas⁵¹. Actualmente se están llevando a cabo varios ensayos fase II con distintos fármacos capaces de inhibir c-Kit en pacientes afectados de melanoma diseminado portador de aberraciones del gen. Estos ensayos permitirán evaluar entre otros los aspectos siguientes: 1) si la distinta sensibilidad o resistencia de las diferentes mutaciones de c-Kit frente a los distintos fármacos inhibidores de c-Kit tiene una traducción clínica relevante, de forma que se tenga que adaptar el fármaco a emplear al tipo de mutación que se halle en cada caso; 2) qué inhibidores actúan de forma eficaz sobre las metástasis del sistema nervioso central; 3) si existen variaciones en la respuesta clínica dependiendo de que el melanoma posea una mutación activadora de c-Kit, únicamente amplificaciones, o la combinación de mutación activadora junto a amplificación (a este respecto, en un estudio realizado con imatinib, se obtuvo una tasa de respuesta del 50% en los pacientes con melanomas con mutaciones de c-Kit, pero ninguna en los portadores únicamente de amplificación del gen⁵⁹) y 4) cuáles son los mecanismos de desarrollo de resistencias a los inhibidores de c-Kit. Sabemos que en los GIST esto ocurre habitualmente por la aparición de mutaciones adicionales de c-Kit, pero aún no se conoce que es lo que se puede esperar del melanoma^{8,52,53}.

Inhibidores de RAS

Las isoformas del oncogén RAS comprenden KRAS, HRAS y NRAS. Un 15-30% de los melanomas poseen mutaciones de

NRAS. Las mutaciones activadores de RAS estimulan la vía de las MAP cinasas, pero también la vía de PI3K/AKT (fig. 1) y otras. Los primeros fármacos utilizados para intentar inhibir la vía de las MAP cinasas fueron los inhibidores de la farnesil transferasa de RAS (tipifarnib o R115777). Se realizó un solo ensayo fase II de un único brazo que se cerró por falta de respuesta. Sin embargo, ninguno de los pacientes fue seleccionado en función de la presencia de mutaciones de NRAS. Hay alguna evidencia de que los antagonistas de RAS podrían aumentar el efecto de la quimioterapia, pero este enfoque no se ha intentado clínicamente en el melanoma. Se debería trabajar más en la síntesis de nuevos fármacos capaces de inhibir RAS de forma más efectiva⁸. Otra alternativa sería inhibir de forma combinada las dos vías principales que se activan como consecuencia de la activación de RAS, como son la vía de las MAP cinasas y la vía PI3K/AKT^{14,60} (ver apartado: Tratamientos combinados).

Inhibidores de MEK

MEK es un proteína de la vía de las MAP cinasas, situada de forma descendente después de BRAF. Se han sintetizado diversos inhibidores de MEK (PD0325901, AZD6244, GSK1120212, E6201). Con los resultados obtenidos en los primeros ensayos fase I o fase II, no parece que estos agentes farmacológicos puedan ser efectivos como fármacos únicos en el tratamiento del melanoma. Sin embargo, existen muchos estudios preclínicos que sugieren que serían una buena alternativa para los tratamientos combinados, tanto para evitar resistencias en el uso de fármacos dirigidos contra la mutación BRAF/V600E, como para el tratamiento de mutaciones de BRAF distintas a la V600E o mutaciones de NRAS, especialmente si se asocian a inhibidores de la vía de la PI3K/AKT^{8,14,54,61} (ver apartado: Tratamientos combinados).

Inhibidores de la vía PI3K/AKT

La vía PI3K/AKT también se estimula de forma descendente a partir de la activación de RAS. En el melanoma suele estar intensamente activada, tanto por mutaciones del oncogen NRAS (15-30% de los casos), como por mutaciones (10-20% de los melanomas) o silenciamientos del gen supresor tumoral PTEN, que impiden el efecto fisiológico regulador de PTEN sobre la vía, o amplificaciones de AKT. Recientemente se ha identificado una mutación puntual poco frecuente de AKT3 E17K, activadora de AKT (fig. 1)^{8,10,14,54,61}. Como agentes inhibidores de la vía PI3K/AKT se han utilizado diferentes derivados de la rapamicina (CCI-779 o temsirolimus). Estas moléculas actúan sobre mTOR, molécula situada en la vía de forma descendente después de AKT/PKB (fig. 1). Existen también inhibidores duales de PI3K y mTOR, de PI3K y de AKT⁶². Aunque los resultados clínicos de estos fármacos en ensayos fase II no han sido buenos, existen diversos autores que proponen su utilidad en tratamientos combinados, especialmente con fármacos inhibidores de la vía de las MAP cinasas^{8,10,14,54,61} o, incluso, inhibiendo simultáneamente dos puntos de la vía PI3K/AKT⁶³ (ver apartado: Tratamiento combinado). Sin embargo, existe un trabajo, desarrollado en un modelo murino de melanoma, en el que se sugiere que la inhibición de la vía PI3K/AKT podría inducir una inmunosupresión del huésped que acabaría favoreciendo el crecimiento del tumor⁶⁴.

La inhibición mediante fármacos de otras moléculas implicadas en otras vías relacionadas con la proliferación/supervivencia, como CDK4 o ciclina D1, frecuentemente amplificadas en el melanoma, aún no se ha podido conseguir de forma adecuada⁶⁰.

Inhibidores de moléculas de acción pleiotrópica

Denominamos así a las moléculas que actúan sobre múltiples funciones celulares distintas. De todos ellos, comentaremos los inhibidores del proteasoma y los inhibidores de deacetilasas de histonas. Estos inhibidores afectan a funciones importantes para el desarrollo y progreso de las neoplasias favoreciendo la parada del ciclo celular, la apoptosis, la disminución de las capacidades de invasión y migración celulares, la generación de especies reactivas de oxígeno, la inhibición de la angiogénesis y la autofagia.

Inhibidores del proteasoma. El proteasoma es un complejo enzimático encargado de la degradación de las proteínas de origen intracelular, que incluyen a proteínas implicadas en diversas funciones fundamentales de la célula. Se ha comprobado que la inhibición del proteasoma provoca apoptosis celular, tanto en células normales como en células malignas, pero de modo más intenso en estas últimas. Además, la inhibición del proteasoma sensibiliza indirectamente a la muerte celular inducida por otros mecanismos proapoptóticos como la quimioterapia o la radioterapia⁶⁵. Los inhibidores del proteasoma, concretamente el denominado bortezomib (PS-341) se utilizan en el tratamiento del mieloma múltiple y de otras neoplasias hematológicas. Sin embargo, no parecen ser tan efectivos en tumores sólidos. Se ha demostrado la capacidad de los inhibidores del proteasoma para inducir apoptosis e inhibir el crecimiento celular en modelos experimentales *in vitro* o *in vivo* de melanoma⁶⁶⁻⁶⁸. No obstante, el primer ensayo clínico en melanoma diseminado en el que se empleó bortezomib en monoterapia no dio resultados satisfactorios⁶⁹. Tampoco parecen muy esperanzadores los resultados de un ensayo clínico fase I que combina bortezomib con temozolamida⁷⁰. A pesar de ello, se sigue trabajando en las posibilidades de tratamientos combinados con otras terapias⁷¹⁻⁷⁹ y en los inhibidores del proteasoma de nueva generación⁸⁰.

Inhibidores de deacetilasas de histonas. Una de las características de las células neoplásicas es la alteración de la regulación de la expresión génica que se modula mediante mecanismos epigenéticos. Los mecanismos epigenéticos son mecanismos heredables que permiten ampliar la variabilidad de expresión del genoma de un individuo al regular la expresión de sus genes sin necesidad de modificar la secuencia de ADN de los mismos. Unos de los mecanismos epigenéticos mejor conocidos es el silenciamiento de genes mediante la metilación del promotor. La acetilación de histonas es otro de estos mecanismos. Las deacetilasas de histonas son un grupo de enzimas que inducen el silenciamiento de genes mediante la eliminación de grupos acetilo de las histonas. Al actuar sobre genes clave para la célula, su inhibición conduce a múltiples alteraciones celulares. El inhibidor de deacetilasas de histonas denominado vorinostat (SAHA) ya ha sido aprobado para el tratamiento de los linfomas cutáneos de células T^{81,82}. En el melanoma se han obtenido resultados

esperanzadores mediante el uso de distintos inhibidores de deacetilasas de histonas *in vitro* o en modelos animales⁸³⁻⁸⁷, especialmente en combinación con otros tratamientos como citostáticos, radioterapia, retinoides, inmunoterapia u otros fármacos frente a dianas terapéuticas⁸⁸⁻⁹². No obstante, los resultados de los primeros ensayos clínicos fase I o II, ya sea en monoterapia o mediante terapia combinatoria, son discretos⁹³⁻⁹⁶.

Dianas moleculares que vehiculizan los mecanismos de invasión y metástasis: terapia antimoléculas de adhesión

La gran capacidad de invasión y migración de las células de melanoma se debe, entre otros motivos, a la expresión de un patrón anómalo de moléculas de adhesión que las diferencia de los melanocitos normales. Ello les facilita, por ejemplo, desprenderse de los queratinocitos epidérmicos (pérdida de caderina E), adherirse a los fibroblastos y al endotelio vascular (sobreexpresión de caderina N), pasar de la fase de crecimiento radial a crecimiento vertical y metastatizar (sobreexpresión de MCAM/MUC18) o adherirse a las proteínas de la matriz extracelular y secretar metaloproteinasas para degradarlas (sobreexpresión de la integrina $\alpha\text{v}\beta\text{3}$)^{97,98}. Además, la inhibición de algunos tipos de moléculas de adhesión, como las integrinas, puede también inhibir la proliferación e inducir la apoptosis de las células neoplásicas y ejercer un efecto antiangiogénico^{99,100}.

Una de las principales dianas contra la que se ha actuado ha sido la integrina $\alpha\text{v}\beta\text{3}$ frente a la que se han producido anticuerpos monoclonales como etaracizumab (MEDI-522). En estudios preclínicos se había demostrado su actividad antitumoral como tratamiento único o en combinación con inhibidores de MCAM o de caderina N¹⁰¹. Sin embargo, su utilización en ensayos clínicos fase I y II, en monoterapia o en combinación con citostáticos, no ha ofrecido resultados esperanzadores¹⁰². Tampoco ha resultado convincente el tratamiento mediante inhibidores de la caderina N (ADH-1)¹⁰³. En conjunto, la terapia dirigida a inhibir moléculas de adhesión no parece ser, por ahora, muy prometedora para el tratamiento del melanoma metastásico^{97,98}.

Dianas terapéuticas localizadas en estructuras ajenas a las células neoplásicas

Dianas terapéuticas localizadas en el entorno tumoral: fármacos antiangiogénicos

El melanoma es un tumor asociado a una intensa angiogénesis que permite y mantiene el crecimiento tumoral y facilita su actividad metastatizante. Estos hechos sugieren que la terapia antiangiogénica es probablemente otra de las estrategias terapéuticas que puede ser útil en el melanoma¹⁰⁴. Uno de los fármacos antiangiogénicos que más se ha ensayado clínicamente es bevacizumab, un anticuerpo monoclonal contra VEGF. Se ha empleado en el melanoma como único fármaco, sin mucho éxito, o asociado a citostáticos (carboplatino + paclitaxel o temozolamida) o a interferón-alfa. En uno de los últimos ensayos fase

II presentado en el congreso ECCO-ESMO de 2009 sobre 214 pacientes¹⁰⁵, en los que un grupo recibió carboplatino, paclitaxel y bevacizumab y otro grupo únicamente carboplatino, paclitaxel y placebo, se observó un mayor porcentaje de respuestas, de supervivencia global y de supervivencia a un año en el grupo que recibió bevacizumab, pero ninguna de estas diferencias era estadísticamente significativa^{8,17,61,100}.

Otros de los fármacos antiangiogénicos propuestos, aunque de momento sin efectos clínicos claramente remarcables, son inhibidores multicinasa de los diferentes receptores de VEGF (VEGFR-1, 2 y -3) (sunitinib, sorafenib, semaxinib, axatinib etc.), derivados de la talidomida o fármacos antimoléculas de adhesión^{8,17,61,100,104,106}.

Dianas terapéuticas facilitadoras de los mecanismos de escape tumoral: anticuerpos anti CTLA-4 y otras formas de inmunoterapia frente a dianas moleculares

El melanoma es un tumor enormemente inmunogénico que desencadena con facilidad una respuesta del sistema inmune contra las células tumorales. Sin embargo, las células neoplásicas utilizan una serie de estrategias para burlar esta respuesta. Una de las formas de luchar contra estos mecanismos es inhibir un receptor de los linfocitos T, denominado CTLA-4, inductor de inmunotolerancia. CTLA-4 compite con la molécula CD28 linfocitaria en su unión con la molécula B7 de las células presentadoras de antígeno. La unión CTLA-4/B7, en lugar de estimular la respuesta inmune citotóxica, induce anergia. Por ello, la inhibición de CTLA-4 puede romper la inmunotolerancia frente al melanoma. Se han utilizado dos tipos de anticuerpos monoclonales anti CTLA-4 en pacientes con melanoma metastásico, ipilimumab y tremelimumab¹⁰⁷. Ipilimumab es el que se ha desarrollado de una forma más rápida y con un mayor éxito clínico¹⁰⁷⁻¹⁰⁹, de forma que el tratamiento del melanoma metastásico mediante ipilimumab ha sido aprobado recientemente por la FDA (USA Food and Drug Administration).

La valoración inicial de las respuestas clínicas frente a este tipo de fármacos ha resultado problemática. Los ensayos con sustancias inmunomoduladoras, como los anticuerpos anti CTLA-4, plantean un problema referente a la evaluación de la respuesta al tratamiento ya que pueden inducir una respuesta bifásica caracterizada por un empeoramiento inicial, pero un beneficio posterior y duradero. Este tipo de respuesta no puede evaluarse de forma adecuada con los sistemas actuales empleados en oncología (criterios de la OMS o criterios RECIST). Por ello, se han redefinido unos nuevos criterios dirigidos a evaluar específicamente este tipo de respuesta, en los que tiene más valor la supervivencia global y la estabilización de la enfermedad que la tasa de respuesta inicial valorada con los métodos clásicos^{107,108}.

El último ensayo fase III publicado¹⁰⁹ incluyó 676 pacientes que se randomizaron en tres brazos. Un brazo (403 pacientes) recibió ipilimumab junto a la vacuna peptídica gp100, otro brazo (177 pacientes) solo ipilimumab y otro (136 pacientes), únicamente la vacuna. No se observaron diferencias significativas entre los dos brazos que recibieron ipilimumab. Sin embargo, la mediana de supervivencia

global del brazo que recibió ipilimumab y la vacuna gp100 fue significativamente superior que la del brazo que recibió únicamente la vacuna (10 meses vs 6,4 meses; $p < 0,001$). En conjunto, los resultados de los ensayos clínicos publicados, indican que, tal como ocurría con los inhibidores específicos de BRAF, una de las ventajas de ipilimumab es que induce respuestas en enfermos con metástasis de mal pronóstico, incluyendo metástasis del sistema nervioso central, y/o con concentraciones elevadas de LDH sérica. Otra de las ventajas, ésta inherente a este tipo de tratamiento, es que una vez alcanzada la respuesta (10% completa o parcial, 10-20% estabilización, 10% progresión inicial y respuesta clínica posterior), ésta tiende a mantenerse en el tiempo con seguimientos ya de hasta más de 5 años en algunos casos. Existe además la posibilidad de volver a tratar con un 50% de éxito a los enfermos en el caso de que recaigan meses o años después de haber suspendido el tratamiento¹⁰⁷. Los principales efectos secundarios de los cuales un 10-15% son de grado 3 o superior, están relacionados con la inmunidad y consisten en dermatitis, colitis, hipofisitis, tiroiditis y hepatitis. Puede producirse perforación del colon, por lo que los pacientes con diarrea deben controlarse de forma estricta. Se han desarrollado algoritmos específicos que permiten manejar de modo más seguro la toxicidad peculiar de los anticuerpos anti CTLA-4. Uno de los aspectos en el que se está trabajando es el hallar marcadores predictivos que permitan seleccionar a aquellos enfermos que pueden beneficiarse del tratamiento. Ello es importante, tanto para insistir con el tratamiento en casos que presenten progresión inicial, como para evitar la toxicidad, nada despreciable, en pacientes potencialmente no respondedores^{107,110}.

Por otro lado, se está ensayando la terapia combinatoria junto a citostáticos, a fármacos frente a otras dianas y evaluando su papel como terapia adyuvante del melanoma de alto riesgo^{107,110}. Otras moléculas que podrían inhibirse con una estrategia similar y en las que ya se está trabajando son CD137, OX40 y PD1^{2,110}.

Tratamientos combinados

Por los resultados clínicos obtenidos hasta el momento, parece difícil que enfocando el tratamiento del melanoma metastásico hacia una única diana seamos capaces de conseguir una remisión estable de la enfermedad. Una explicación de la aparición de resistencias a los tratamientos empleados es que las células de melanoma desarrollen respuestas compensatorias o que existan ya previamente vías de señalización redundantes que se activen cuando algunas de las vías se interrumpan. Por lo tanto, una estrategia para evitar o combatir estos fenómenos consistiría en utilizar simultáneamente fármacos frente a más de una diana. Dos de las combinaciones más avaladas son la inhibición simultánea de dos moléculas de la vía de las MAP cinasas (especialmente BRAF y MEK, lo que constituiría una «inhibición vertical» de la vía de las MAP cinasas) o de una molécula de la vía de las MAP cinasas y de una molécula de la vía PI3K/AKT. También se ha propuesto recientemente la «inhibición vertical» de la vía PI3K/AKT actuando simultáneamente sobre PI3K y mTOR⁶³. Sin embargo, existen muchas otras posibilidades que incluyen desde combinación con citostáticos convencionales,

moléculas de acción pleiotrópica, distintas formas de inmunoterapia o cualquiera de los tratamientos frente a las dianas que hemos mencionado^{8,54,60,97,110,112}.

Además de las comentadas, la lista de posibles dianas que se están investigando para el tratamiento del melanoma es muy larga (Hsp90, ERBB4, GNaQ, SSTRs, CDK2, iNOS, FGFR-1, APP, etc.)^{14,54,97,111} y seguramente seguirá aumentando. En conjunto, de todos los fármacos ensayados hasta el momento, los que parecen poseer mayor futuro son los inhibidores específicos de BRAF, en los melanomas con la mutación V600E de BRAF, los inhibidores de c-Kit, en aquellos melanomas lentiginosos de piel y mucosas con mutaciones de c-Kit y el anticuerpo monoclonal anti-CTLA4 capaz de romper la inmunotolerancia del sistema inmune frente al melanoma. Estas opciones significan un gran cambio respecto a lo que teníamos hasta hace pocos años, pero, no obstante, aún quedan muchos problemas por resolver. En primer lugar, es importante diseñar estrategias para evitar o para saber cómo combatir la aparición de resistencias frente a los inhibidores de BRAF y c-Kit. Por otro lado, también es indispensable identificar biomarcadores que permitan una selección de los pacientes potencialmente susceptibles a terapias del tipo de ipilimumab. Se deberían encontrar dianas contra las que se pudiera luchar de forma efectiva en aquellos pacientes con mutaciones distintas a BRAF/V600E o a c-Kit. Y se deberían estudiar las posibilidades reales de la terapia combinada. Todo esto pasa por aprovechar toda la información que se pueda extraer de los ensayos clínicos, que, obviamente deben estar diseñados con este fin (introducción de pacientes correctamente tipificados, recolección de muestras durante el ensayo para diversos estudios moleculares, etc.), y por seguir trabajando en estudios preclínicos. Por primera vez da la sensación de que se ha abierto un nuevo horizonte sobre las posibilidades de tratamiento del melanoma diseminado. Sin embargo solo se han dado los primeros pasos; el cambio real no ha hecho más que empezarse^{20,60}.

Financiación

Este trabajo ha sido subvencionado por las ayudas FIS-PI060832, 2009SGR794 y RD06/0020/1034, una beca predoctoral de la AECC, Catalunya contra el Càncer, Lleida para A.S. y un contrato postdoctoral Juan de la Cierva para A.Y.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Ibrahim N, Haluska FG. Molecular pathogenesis of cutaneous melanocytic neoplasms. *Annu Rev Pathol*. 2009;4:551-79.
2. Lutzky J. New therapeutic options in the medical management of advanced melanoma. *Semin Cutan Med Surg*. 2010;29:249-57.
3. Stegmeier F, Warmuth M, Sellers WR, Dorsch M. Targeted cancer therapies in the twenty-first century: lessons from imatinib. *Clin Pharmacol Ther*. 2010;87:543-52.
4. Spector NL, Blackwell KL. Understanding the mechanisms behind trastuzumab therapy for human epidermal growth

- factor receptor 2-positive breast cancer. *J Clin Oncol*. 2009;27:5838–47.
5. Myskowski PL, Halpern AC. Skin reactions to the new biologic anticancer drugs. *Curr Opin Support Palliat Care*. 2009;3:294–9.
 6. Flaherty KT. New molecular targets in melanoma. *Curr Opin Oncol*. 2004;16:150–4.
 7. Julia F, Thomas L, Dumontet C, Dalle S. Targeted therapies in metastatic melanoma: toward a clinical breakthrough. *Anti-cancer Agents Med Chem*. 2010;10:661–5.
 8. Ko JM, Fisher DE. A new era: melanoma genetics and therapeutics. *J Pathol*. 2011;223:241–50.
 9. Fecher LA, Cummings SD, Keefe MJ, Alani RM. Toward a molecular classification of melanoma. *J Clin Oncol*. 2007;25:1606–20.
 10. Rother J, Jones D. Molecular markers of tumor progression in melanoma. *Current Genomics*. 2009;10:231–9.
 11. Nathanson KL. Using genetics and genomics strategies to personalize therapy for cancer: focus on melanoma. *Biochem Pharmacol*. 2010;80:755–61.
 12. Curtin JA, Fridlyand J, Kageshita T, Patel HN, Busam KJ, Kutzner H, et al. Distinct sets of genetic alterations in melanoma. *N Engl J Med*. 2005;353:2135–47.
 13. Curtin JA, Busam K, Pinkel D, Bastian BC. Somatic activation of KIT in distinct subtypes of melanoma. *J Clin Oncol*. 2006;24:4340–6.
 14. Davies MA, Samuels Y. Analysis of the genome to personalize therapy for melanoma. *Oncogene*. 2010;29:5545–55.
 15. Botella-Estrada R, Sanmartín Jiménez O. Diferentes alteraciones genéticas causan diferentes melanomas y nuevas posibilidades terapéuticas. *Actas Dermosifiliogr*. 2010;101:394–400.
 16. Bedikian AY, Millward M, Pehamberger H, Conry R, Gore M, Trefzer U, et al. Oblimersen Melanoma Study Group. Bcl-2 antisense (oblimersen sodium) plus dacarbazine in patients with advanced melanoma: the Oblimersen Melanoma Study Group. *J Clin Oncol*. 2006;24:4738–45.
 17. Sullivan RJ, Atkins MB. Molecular targeted therapy for patients with melanoma: the promise of MAPK pathway inhibition and beyond. *Expert Opin Investig Drugs*. 2010;19:1205–16.
 18. Wellbrock C, Hurlstone A. BRAF as therapeutic target in melanoma. *Biochem Pharmacol*. 2010;80:561–7.
 19. Inamdar GS, Madhunapantula SV, Robertson GP. Targeting the MAPK pathway in melanoma: why some approaches succeed and other fail. *Biochem Pharmacol*. 2010;80:624–37.
 20. Shepherd C, Puzanov I, Sosman JA. B-RAF inhibitors: an evolving role in the therapy of malignant melanoma. *Curr Oncol Rep*. 2010;12:146–52.
 21. Liu W, Kelly JW, Trivett M, Murray WK, Dowling JP, Wolfe R, et al. Distinct clinical and pathological features are associated with the BRAF (T1799A[V600E]) mutation in primary melanoma. *J Invest Dermatol*. 2007;127:900–5.
 22. Viros A, Fridlyand J, Bauer J, Lasithiotakis K, Garbe C, Pinkel D, et al. Improving melanoma classification by integrating genetic and morphologic features. *PLoS Med*. 2008;5:e120.
 23. Devitt B, Liu W, Salemi R, Wolfe R, Kelly J, Tzen CY, et al. Clinical outcome and pathological features associated with NRAS mutation in cutaneous melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2011;24:666–72.
 24. Wilhelm S, Carter C, Lynch M, Lowinger T, Dumas J, Smith RA, et al. Discovery and development of sorafenib: a multikinase inhibitor for treating cancer. *Nat Rev Drug Discov*. 2006;5:835–44.
 25. Smalley KS, Xiao M, Villanueva J, Nguyen TK, Flaherty KT, Letrero R, et al. CRAF inhibition induces apoptosis in melanoma cells with non-V600E BRAF mutations. *Oncogene*. 2009;28:85–94.
 26. Flaherty KT, Puzanov I, Kim KB, Ribas A, McArthur GA, Sosman JA, et al. Inhibition of mutated, activated BRAF in metastatic melanoma. *N Engl J Med*. 2010;363:809–19.
 27. Solit D, Sawyers CL. Drug discovery: how melanomas bypass new therapy. *Nature*. 2010;468:902–3.
 28. Puzanov I, Flaherty KT. Targeted molecular therapy in melanoma. *Semin Cutan Med Surg*. 2010;29:196–201.
 29. Nazarian R, Shi H, Wang Q, Kong X, Koya RC, Lee H, et al. Melanomas acquire resistance to B-RAF (V600E) inhibition by RTK or N-RAS upregulation. *Nature*. 2010;468:973–7.
 30. Johannessen CM, Boehm JS, Kim SY, Thomas SR, Wardwell L, Johnson LA, et al. COT drives resistance to RAF inhibition through MAP kinase pathway reactivation. *Nature*. 2010;468:968–72.
 31. Heidorn SJ, Milagre C, Whittaker S, Nourry A, Niculescu-Duvas I, Dhomen N, et al. Kinase-dead BRAF and oncogenic RAS cooperate to drive tumor progression through CRAF. *Cell*. 2010;140:209–21.
 32. Kwong LN, Chin L. The brothers RAF. *Cell*. 2010;140:180–2.
 33. Poulidakos PI, Zhang C, Bollag G, Shokat KM, Rosen N. RAF inhibitors transactivate RAF dimers and ERK signalling in cells with wild-type BRAF. *Nature*. 2010;464:427–30.
 34. Hatzivassiliou G, Song K, Yen I, Brandhuber BJ, Anderson DJ, Alvarado R, et al. RAF inhibitors prime wild-type RAF to activate the MAPK pathway and enhance growth. *Nature*. 2010;464:431–5.
 35. Cichowski K, Jänne PA. Drug discovery: inhibitors that activate. *Nature*. 2010;464:358–9.
 36. Robert C, Arnault JP, Mateus C. RAF inhibition and induction of cutaneous squamous cell carcinoma. *Curr Opin Oncol*. 2011;23:177–82.
 37. Yoshida H, Kunisada T, Grimm T, Nishimura EK, Nishioka E, Nishikawa SI. Review: melanocyte migration and survival controlled by SCF/c-kit expression. *J Investig Dermatol Symp Proc*. 2001;6:1–5.
 38. Natali PG, Nicotra MR, Winkler AB, Cavaliere R, Bigotti A, Ullrich A. Progression of human cutaneous melanoma is associated with loss of expression of c-Kit proto-oncogene receptor. *Int J Cancer*. 1992;52:197–201.
 39. Shen SS, Zhang PS, Eton O, Prieto VG. Analysis of protein tyrosine kinase expression in melanocytic lesions by tissue array. *J Cutan Pathol*. 2003;30:539–47.
 40. Zakut R, Perlis R, Eliyahu S, Yarden Y, Givol D, Lyman SD, et al. KIT ligand (mast cell growth factor) inhibits the growth of KIT-expressing melanoma cells. *Oncogene*. 1993;8:2221–9.
 41. Huang S, Luca M, Gutman M, McConkey DJ, Langley KE, Lyman SD, et al. AQ9 Enforced c-Kit expression renders highly metastatic human melanoma cells susceptible to stem cell factor-induced apoptosis and inhibits their tumorigenic and metastatic potential. *Oncogene*. 1996;13:2339–47.
 42. Ugurel S, Hildenbrand R, Zimpfer A, La Rosée P, Paschka P, Sucker A, et al. Lack of clinical efficacy of imatinib in metastatic melanoma. *Br J Cancer*. 2005;92:1398–405.
 43. Wyman K, Atkins MB, Prieto V, Eton O, McDermott DF, Hubbard F, et al. Multicenter phase II trial of high-dose imatinib mesylate in metastatic melanoma: significant toxicity with no clinical efficacy. *Cancer*. 2006;106:2005–11.
 44. Mayorga ME, Sanchís D, Pérez de Santos AM, Velasco A, Dolcet X, Casanova JM, et al. Antiproliferative effect of STI571 on cultured human cutaneous melanoma-derived cell lines. *Melanoma Res*. 2006;16:127–35.
 45. Lefevre G, Glotin AL, Calipel A, Mouriaux F, Tran T, Kherrouche Z, et al. Roles of stem cell factor/c-kit and effects of Glivec/STI571 in human uveal melanoma cell tumorigenesis. *J Biol Chem*. 2004;279:31769–79.

46. Eton O, Billings L, Kim K, Frazier ML, McConkey DJ, Diwan AH, et al. Bedikian phase II trial of imatinib mesylate (STI-571) in metastatic melanoma (MM). *J Clin Oncol*. 2004;22(14S):S7528.
47. Went PT, Dirnhofer S, Bundi M, Mirlacher M, Schraml P, Mangialaio S, et al. Prevalence of KIT expression in human tumors. *J Clin Oncol*. 2004;22:4514–20.
48. Willmore-Payne C, Holden JA, Tripp S, Layfield LJ. Human malignant melanoma: detection of BRAF and KIT activating mutations by high-resolution amplicon melting analysis. *Hum Pathol*. 2005;36:486–93.
49. Becker JC, Bröcker EB, Schadendorf D, Ugurel S. Imatinib in melanoma: a selective treatment option based on KIT mutation status? *J Clin Oncol*. 2007;25:e9.
50. Kim KB, Eton O, Davis DW, Frazier ML, McConkey DJ, Diwan AH, et al. Phase II trial of imatinib mesylate in patients with metastatic melanoma. *Br J Cancer*. 2008;99:734–40.
51. Handolias D, Hamilton AL, Salemi R, Tan A, Moodie K, Kerr L, et al. Clinical responses observed with imatinib or sorafenib in melanoma patients expressing mutations in KIT. *Br J Cancer*. 2010;102:1219–23.
52. Garrido MC, Bastian BC. KIT as a therapeutic target in melanoma. *J Invest Dermatol*. 2010;130:20–7.
53. Woodman SE, Davies MA. Targeting KIT in melanoma: a paradigm of molecular medicine and targeted therapeutics. *Biochem Pharmacol*. 2010;80:568–74.
54. Friedlander P, Hodi FS. Advances in targeted therapy for melanoma. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2010;8:619–35.
55. Hodi FS, Friedlander P, Corless CL, Heinrich MC, Mac Rae S, Kruse A, et al. Major response to imatinib mesylate in KIT-mutated melanoma. *J Clin Oncol*. 2008;26:2046–51.
56. Lutzky J, Bauer J, Bastian BC. Dose-dependent, complete response to imatinib of a metastatic mucosal melanoma with a K642E KIT mutation. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2008;21:492–3.
57. Quintás-Cardama A, Lazar AJ, Woodman SE, Kim K, Ross M, Hwu P. Complete response of stage IV anal mucosal melanoma expressing KIT Val560Asp to the multikinase inhibitor sorafenib. *Nat Clin Pract Oncol*. 2008;5:737–40.
58. Woodman SE, Trent JC, Stemke-Hale K, Lazar AJ, Pricl S, Pavan GM, et al. Activity of dasatinib against L576P KIT mutant melanoma: molecular, cellular, and clinical correlates. *Mol Cancer Ther*. 2009;8:2079–85.
59. Fisher DE, Barnhill R, Hodi FS, Herlyn M, Merlino G, Medrano E, et al. Melanoma from bench to bedside: meeting report from the 6th international melanoma congress. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2010;23:14–26.
60. Flaherty KT, Hodi FS, Bastian BC. Mutation-driven drug development in melanoma. *Curr Opin Oncol*. 2010;22:178–83.
61. Tawbi H, Nimmagadda N. Targeted therapy in melanoma. *Biologics*. 2009;3:475–84.
62. Courtney KD, Corcoran RB, Engelman JA. The PI3K pathway as drug target in human cancer. *J Clin Oncol*. 2010;28:1075–83.
63. Werzowa J, Koehler S, Strommer S, Cejka D, Fuehrer T, Zebedin E, et al. Vertical inhibition of the mTORC1/mTORC2/PI3K pathway shows synergistic effects against melanoma in vitro and in vivo. *J Invest Dermatol*. 2011;131:495–503.
64. López-Fauqued M, Gil R, Grueso J, Hernández-Losa J, Pujol A, Moliné T, et al. The dual PI3K/mTOR inhibitor PI-103 promotes immunosuppression, in vivo tumor growth and increases survival of sorafenib-treated melanoma cells. *Int J Cancer*. 2010;126:1549–61.
65. Ludwig H, Khayat D, Giaccone G, Facon T. Proteasome inhibition and its clinical prospects in the treatment of hematologic and solid malignancies. *Cancer*. 2005;104:1794–807.
66. Fernández Y, Verhaegen M, Miller TP, Rush JL, Steiner P, Opipari Jr AW, et al. Differential regulation of noxa in normal melanocytes and melanoma cells by proteasome inhibition: therapeutic implications. *Cancer Res*. 2005;65:6294–304.
67. Qin JZ, Ziffra J, Stennett L, Bodner B, Bonish BK, Chaturvedi V, et al. Proteasome inhibitors trigger NOXA-mediated apoptosis in melanoma and myeloma cells. *Cancer Res*. 2005;65:6282–93.
68. Sorolla A, Yeramian A, Dolcet X, Pérez de Santos AM, Llobet D, Schoenenberger JA, et al. Effect of proteasome inhibitors on proliferation and apoptosis of human cutaneous melanoma-derived cell lines. *Br J Dermatol*. 2008;158:496–504.
69. Markowicz SN, Geyer SM, Dawkins F, Sharfman W, Albertini M, Maples W, et al. A phase II study of bortezomib in the treatment of metastatic malignant melanoma. *Cancer*. 2005;103:2584–9.
70. Su Y, Amiri KI, Horton LW, Yu Y, Ayers GD, Koehler E, et al. A phase I trial of bortezomib with temozolomide in patients with advanced melanoma: toxicities, antitumor effects, and modulation of therapeutic targets. *Clin Cancer Res*. 2010;16:348–57.
71. Munshi A, Kurland JF, Nishikawa T, Chiao PJ, Andreeff M, Meyn RE. Inhibition of constitutively activated nuclear factor-kappa B radiosensitizes human melanoma cells. *Mol Cancer Ther*. 2004;3:985–92.
72. Mlynarczuk-Bialy I, Roeckmann H, Kuckelkorn U, Schmidt B, Umbreen S, Golab J, et al. Combined effect of proteasome and calpain inhibition on cisplatin-resistant human melanoma cells. *Cancer Res*. 2006;66:7598–605.
73. Schumacher LY, Vo DD, Garban HJ, Comin-Anduix B, Owens SK, Dissette VB, et al. Immunosenescence of tumour cells to dendritic cell-activated immune responses with the proteasome inhibitor bortezomib (PS-341, Velcade). *J Immunol*. 2006;176:4757–65.
74. Freudlsperger C, Thies A, Pfüller U, Schumacher U. The proteasome inhibitor bortezomib augments anti-proliferative effects of mistletoe lectin-I and the PPAR-gamma agonist rosiglitazone in human melanoma cells. *Anticancer Res*. 2007;27:207–13.
75. Lesinski GB, Benninger K, Kreiner M, Quimper M, Young G, Carson WE3rd. Bortezomib pre-treatment prolongs interferon-alpha-induced STAT1 phosphorylation in melanoma cells. *Cancer Immunol Immunother*. 2009;58:2031–7.
76. Amschler K, Schön MP, Pletz N, Wallbrecht K, Erpenbeck L, Schön M. NF-kappaB inhibition through proteasome inhibition or IKKbeta blockade increases the susceptibility of melanoma cells to cytostatic treatment through distinct pathways. *J Invest Dermatol*. 2010;30:1073–86.
77. Seeger JM, Schmidt P, Brinkmann K, Hombach AA, Coutelle O, Zigrino P, et al. The proteasome inhibitor bortezomib sensitizes melanoma cells toward adoptive CTL attack. *Cancer Res*. 2010;70:1825–34.
78. Wang C, Li S, Wang MW. Evodiamine-induced human melanoma A375-S2 cell death was mediated by PI3K/Akt/caspase and Fas-L/NF-kappaB signaling pathways and augmented by ubiquitin-proteasome inhibition. *Toxicol In Vitro*. 2010;24:898–904.
79. Yeramian A, Sorolla A, Velasco A, Santacana M, Dolcet X, Valls J, et al. Inhibition of activated receptor tyrosine kinases by Sunitinib induces growth arrest and sensitises melanoma cells to Bortezomib by blocking Akt pathway. *Int J Cancer*. 2011, doi:10.1002/ijc.26096. Epub ahead of print.
80. Dick LR, Fleming PE. Building on bortezomib: second-generation proteasome inhibitors as anti-cancer therapy. *Drug Discov Today*. 2010;15:243–9.
81. Lane AA, Chabner BA. Histone deacetylase inhibitors in cancer therapy. *J Clin Oncol*. 2009;27:5459–68.
82. Jazirehi AR. Regulation of apoptosis-associated genes by histone deacetylase inhibitors: implications in cancer therapy. *Anticancer Drugs*. 2010;21:805–13.

83. Facchetti F, Previdi S, Ballarini M, Minucci S, Perego P, La Porta CA. Modulation of pro- and anti-apoptotic factors in human melanoma cells exposed to histone deacetylase inhibitors. *Apoptosis*. 2004;9:573–82.
84. Hwang JJ, Kim YS, Kim MJ, Jang S, Lee JH, Choi J, et al. A novel histone deacetylase inhibitor, CG0006, induces cell death through both extrinsic and intrinsic apoptotic pathways. *Anticancer Drugs*. 2009;20:815–21.
85. Kang SN, Lee E, Lee MK, Lim SJ. Preparation and evaluation of tributyrin emulsion as a potent anti-cancer agent against melanoma. *Drug Deliv*. 2011;18:143–9.
86. Noh JH, Song JH, Eun JW, Kim JK, Jung KH, Bae HJ, et al. Systemic cell-cycle suppression by apicidin, a histone deacetylase inhibitor, in MDA-MB-435 cells. *Int J Mol Med*. 2009;24:205–26.
87. Papi A, Ferreri AM, Rocchi P, Guerra F, Orlandi M. Epigenetic modifiers as anticancer drugs: effectiveness of valproic acid in neural crest-derived tumor cells. *Anticancer Res*. 2010;30:535–40.
88. Munshi A, Tanaka T, Hobbs ML, Tucker SL, Richon VM, Meyn RE. Vorinostat, a histone deacetylase inhibitor, enhances the response of human tumor cells to ionizing radiation through prolongation of gamma-H2AX foci. *Mol Cancer Ther*. 2006;5:1967–74.
89. Lillehammer T, Engesaeter BO, Prasmickaite L, Maelandsmo GM, Fodstad O, Engebraaten O. Combined treatment with Ad-hTRAIL and DTIC or SAHA is associated with increased mitochondrial-mediated apoptosis in human melanoma cell lines. *J Gene Med*. 2007;9:440–51.
90. Kato Y, Salumbides BC, Wang XF, Qian DZ, Williams S, Wei Y, et al. Antitumor effect of the histone deacetylase inhibitor LAQ824 in combination with 13-cis-retinoic acid in human malignant melanoma. *Mol Cancer Ther*. 2007;6:70–81.
91. Vo DD, Prins RM, Begley JL, Donahue TR, Morris LF, Bruhn KW, et al. Enhanced antitumor activity induced by adoptive T-cell transfer and adjunctive use of the histone deacetylase inhibitor LAQ824. *Cancer Res*. 2009;69:8693–9.
92. Nihal M, Roelke CT, Wood GS. Anti-melanoma effects of vorinostat in combination with polyphenolic antioxidant (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG). *Pharm Res*. 2010;27:1103–4.
93. Hauschild A, Trefzer U, Garbe C, Kaehler KC, Ugurel S, Kiecker F, et al. Multicenter phase II trial of the histone deacetylase inhibitor pyridylmethyl-N-{4-[(2-aminophenyl)-carbamoyl]-benzyl}-carbamate in pretreated metastatic melanoma. *Melanoma Res*. 2008;18:274–8.
94. Daud AI, Dawson J, DeConti RC, Bicaku E, Marchion D, Bastien S, et al. Potentiation of a topoisomerase I inhibitor, karenitecin, by the histone deacetylase inhibitor valproic acid in melanoma: translational and phase I/II clinical trial. *Clin Cancer Res*. 2009;15:2479–87.
95. Munster PN, Marchion D, Thomas S, Egorin M, Minton S, Springett G, et al. Phase I trial of vorinostat and doxorubicin in solid tumours: histone deacetylase 2 expression as a predictive marker. *Br J Cancer*. 2009;101:1044–50.
96. Rocca A, Minucci S, Tosti G, Croci D, Contegno F, Ballarini M, et al. A phase I-II study of the histone deacetylase inhibitor valproic acid plus chemioimmunotherapy in patients with advanced melanoma. *Br J Cancer*. 2009;100:28–36.
97. Abdullah C, Xiaolei Wang X, Becker D. Molecular therapy for melanoma. Useful and not useful targets. *Cancer Biology & Therapy*. 2010;10:113–8.
98. Braeuer RR, Zigler M, Villares GJ, Dobroff AS, Bar-Eli M. Transcriptional control of melanoma metastasis: the importance of the tumor microenvironment. *Semin Cancer Biol*. 2011;21:83–8.
99. Kuphal S, Bauer R, Bosserhoff A-K. Integrin signaling in malignant melanoma. *Cancer Metastasis Rev*. 2005;24:195–222.
100. Ria R, Reale A, Castrovilli A, Mangialardi G, Dammacco F, Ribatti D, et al. Angiogenesis and progression in human melanoma. *Dermatol Res Pract*. 2010;2010:185687.
101. Watson-Hurst K, Becker D. The role of N-cadherin, MCAM and beta3 integrin in melanoma progression, proliferation, migration and invasion. *Cancer Biol Ther*. 2006;5:1375–82.
102. Hersey P, Sosman J, O'Day S, Richards J, Bedikian A, González R, et al. A randomized phase 2 study of etaracizumab, a monoclonal antibody against integrin alpha(v)beta(3), +- dacarbazine in patients with stage IV metastatic melanoma. *Cancer*. 2010;116:1526–34.
103. Beasley GM, Riboh JC, Augustine CK, Zager JS, Hochwald SN, Grobmyer SR, et al. Prospective multicenter phase II trial of systemic ADH-1 in combination with melphalan via isolated limb infusion in patients with advanced extremity melanoma. *J Clin Oncol*. 2011;29:1210–5.
104. Basu B, Biswas S, Wrigley J, Sirohi B, Corrie P. Angiogenesis in cutaneous malignant melanoma and potential therapeutic strategies. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2009;9:1583–98.
105. O'Day SJ, Kim KB, Sosman JA, Peterson AC, Feng S, Minor DR, et al. BEAM: a randomized phase II study evaluating the activity of bevacizumab in combination with carboplatin plus paclitaxel in patients with previously untreated advanced melanoma. *Eur J Cancer Suppl*. 2009;7:13.
106. Kelly RJ, Rixe O. Axitinib (AG-013736). *Recent Results Cancer Res*. 2010;184:33–44.
107. Boasberg P, Hamid O, O'Day S. Ipilimumab: unleashing the power of the immune system through CTLA-4 blockade. *Semin Oncol*. 2010;37:440–9.
108. Wolchok JD, Hoos A, O'Day S, Weber JS, Hamid O, Lebbé C, et al. Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: immune-related response criteria. *Clin Cancer Res*. 2009;15:7412–20.
109. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, Weber RW, Sosman JA, Haanen JB, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med*. 2010;363:711–23.
110. Halama N, Zoernig I, Jaeger D. Advanced malignant melanoma: immunologic and multimodal therapeutic strategies. *J Oncol*. 2010;2010:1–8.
111. Martínez-Alonso M, Llecha N, Mayorga ME, Sorolla A, Dolcet X, Sanmartín V, et al. Expression of somatostatin receptors in human melanoma cell lines: effect of two different somatostatin analogues, octreotide and SOM230, on cell proliferation. *J Int Med Res*. 2009;37:1813–22.
112. Hocker TL, Singh MK, Tsao H. Melanoma genetics and therapeutic approaches in the 21st century: moving from the bedside to the bedside. *J Invest Dermatol*. 2008;128:2575–95.