

Mutaciones de *KIT*, *NRAS* y *BRAF* en melanoma

KIT, *NRAS* and *BRAF* mutations in melanoma

Luz de María Díaz-Granados¹, Margarita María Velásquez²

1. Médica, residente de tercer año de Dermatología, Sección de Dermatología, Universidad de Antioquia: Grupo de Investigación Dermatológica, GRID, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.
2. Médica dermatóloga y doctora en Ciencias Básicas Biomédicas; profesora, Sección de Dermatología, Centro de Investigaciones Dermatológicas –CIDERM, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

RESUMEN

El melanoma, aunque es uno de los cánceres de piel menos frecuentes, corresponde a la principal causa de muerte por cáncer de piel debido a su capacidad de producir metástasis. Existen cinco subtipos clínicos principales, de los cuales el más frecuente en Colombia es el melanoma lentiginoso 'acral' (sic.). Durante las últimas décadas, se han detectado vías alteradas de señalización intracelular en la patogénesis del melanoma, con mutaciones que afectan principalmente a los genes *KIT*, *NRAS* y, con mayor frecuencia, *BRAF*, todos implicados en la activación de la vía de señalización MAPK; gracias a estos descubrimientos se han desarrollado medicamentos que inhiben selectivamente la transcripción de estos genes mutantes y que, en ensayos clínicos, han demostrado disminución del tamaño tumoral y aumento de la supervivencia de los pacientes con melanoma metastásico.

PALABRAS CLAVE: melanoma, mutaciones, alteraciones genéticas, *KIT*, *NRAS*, *BRAF*.

SUMMARY

Melanoma is one of the least common skin cancers, but given its ability to metastasize corresponds to the leading cause of death from skin cancer. There are five major clinical subtypes, of which the most common in Colombia is acral lentiginous melanoma. In the last decades altered intracellular signaling pathways in the pathogenesis of melanoma have been detected, with gene mutations that primarily affect *KIT*, *NRAS* and *BRAF* more often, all involved in the activation of the MAPK signaling pathway genes. Thanks to these discoveries that selectively inhibit the transcription of these genes drugs have been developed and mutants in phase II clinical trials have demonstrated a decrease in tumor size and increased survival of patients with metastatic melanoma.

KEY WORDS: Melanoma, mutations, genetic alterations, *KIT*, *NRAS*, *BRAF*.

INTRODUCCIÓN

El melanoma es un tumor maligno originado en los melanocitos; su incidencia es 10 veces menor que la de otros cánceres de piel, pero, debido a su capacidad para producir metástasis tempranamente y a su prevalencia en pacientes jóvenes, es el que representa mayor amenaza para la vida¹.

Correspondencia:

Margarita María Velásquez

Email:

mmvelasquez@yahoo.com

Recibido: 6 de mayo de 2015

Aceptado: 2 de julio de 2015

Conflictos de interés:

No se reportan conflictos de interés.

La gran mayoría de los melanomas se clasifican en cinco subtipos clínicos: el melanoma de extensión superficial, el melanoma nodular, el melanoma sobre lentigo maligno, el melanoma lentiginoso 'acral' (sic.) y el melanoma de mucosas.

El melanoma de extensión superficial, el más frecuente en el mundo, aparece como una mácula o una placa hiperpigmentada o con pigmentación irregular; es de crecimiento lento y se relaciona con la exposición intermitente al sol; es más frecuente en personas de 30 a 50 años y tiene el mejor pronóstico. El melanoma nodular, segundo en frecuencia en el mundo, no se relaciona con el daño por exposición solar; aparece como un nódulo pigmentado o amelanótico de rápido crecimiento, por lo cual tiene un pronóstico reservado. El melanoma sobre lentigo maligno aparece en ancianos en la piel con intenso daño por el sol, es de crecimiento muy lento y tiene el mejor pronóstico. El melanoma lentiginoso 'acral' (sic.) es poco frecuente en el mundo, pero es el más frecuente en Colombia; aparece en las palmas, las plantas y los lechos ungulares, y es de muy mal pronóstico por su difícil observación. El melanoma de mucosas se presenta en la cavidad oral, la cavidad nasal, la región genital y la perianal; es una variedad poco frecuente y, también, de muy mal pronóstico por su difícil observación².

La incidencia de melanoma ha tenido un notorio incremento en las últimas décadas en los países con alta proporción de población de piel clara. Los datos sobre su incidencia revelan que, en 1935, el riesgo de desarrollar melanoma durante toda la vida era de 1 en 1.500 y, en 1987, de 1 en 120¹. El incremento en la incidencia anual se ha estimado en varios estudios y varía de 2 a 7 %^{3,4}. En el 2010, más de 68.000 estadounidenses (38.870 hombres y 29.260 mujeres) presentaron melanoma⁵. En ese mismo año, se estimó como la quinta y la séptima causa de cáncer en hombres y mujeres, respectivamente⁵. En general, el riesgo de desarrollar la enfermedad durante toda la vida en hombres y mujeres es de 1,93 %⁶. Las tasas de supervivencia a cinco años han mejorado desde la década de 1970. De 1975 a 1977, la tasa de supervivencia a cinco años era de 78,1 % en los hombres y de 86,9 % en las mujeres y, de 1999 a 2006, aumentó de manera significativa a 91,1 % en los hombres y a 95,1 % en las mujeres ($p < 0,05$)⁶. La supervivencia fue mayor en las mujeres, en los menores de 45 años al momento del diagnóstico y en casos de melanoma localizado^{6,7}. En el Globocan del 2012, en los países en desarrollo, se reportó una incidencia de melanoma de 0,8 por 100.000 habitantes, con una mortalidad de 0,4 por 100.000⁸.

FACTORES DE RIESGO

Los factores patogénicos para el desarrollo de melanoma, como la predisposición genética y los factores endógenos y ambientales, están bien documentados⁹. El riesgo aumenta con la edad y es mayor en hombres⁶. El aumento de la incidencia en todo el mundo es atribuido a los cambios en los hábitos para tomar el sol durante el últimas décadas¹⁰. Específicamente, se ha encontrado que la exposición solar intermitente y las quemaduras solares durante la infancia, son importantes factores de riesgo para el desarrollo de la enfermedad, en lo cual influyen el tipo de piel y la altitud geográfica: presentan un mayor impacto en personas de piel clara y en las regiones sobre la línea ecuatorial¹¹. La exposición a la luz ultravioleta artificial también se ha asociado con incremento del riesgo. Mediante un metaanálisis, la *International Agency for Research on Cancer* (IARC) ha ayudado a confirmar la asociación entre la cámara de bronceado y el melanoma, y la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha señalado a los aparatos de bronceado emisores de radiación UV como carcinógenos del grupo 1. Además, el inicio de la exposición al bronceado artificial antes de los 35 años de edad, se asoció con un riesgo relativo de melanoma de 1,75 (IC_{95%} 1,35-2,26)¹².

La asociación entre los antecedentes familiares y el riesgo de melanoma se ha descrito en numerosos estudios. Los pacientes con al menos un familiar en primer grado afectado, tenían aproximadamente dos veces más riesgo de desarrollar la enfermedad, en comparación con aquellos sin antecedentes familiares¹³. La mayor tasa estandarizada de incidencia, de 61,78 para melanoma *in situ* (IC_{95%} 5,82-227,19), se relaciona con tener un padre con múltiples melanomas¹⁴.

La historia personal de melanoma u otro cáncer de piel no melanoma, es también un factor de riesgo significativo para desarrollar la enfermedad¹⁵. El número de nevos se correlaciona positivamente con la exposición a la radiación ultravioleta y se utiliza como una medida del daño que provoca¹⁶. En varios estudios se ha demostrado que, aproximadamente, el 25 % de los casos de melanoma se asocia con la presencia de uno o más nevos atípicos, mientras que el 27 % se asocia con un elevado número (más de 50) de nevos comunes¹⁷.

Del mismo modo, el fenotipo pelirrojo, caracterizado por el color rojizo del pelo, la piel blanca, la incapacidad para broncearse y la propensión a tener pecas, también se asocia con aumento del riesgo de melanoma¹⁸. Ciertas condiciones médicas pueden aumentar el riesgo. Una de las más importantes es el xeroderma pigmentoso, un trastorno autosómico recesivo que se caracteriza por la hipersensibilidad a la luz solar y por la incapacidad

para reparar el daño del ADN inducido por la radiación ultravioleta. Las personas afectadas menores de 20 años, tienen un alto riesgo de cáncer de piel, melanoma y no melanoma. El riesgo de melanoma en casos de xeroderma pigmentoso, es de más de 1.000 veces¹⁹. Otra condición descrita es la endometriosis; en un estudio epidemiológico prospectivo se observó un aumento significativo de melanoma en mujeres con endometriosis (riesgo relativo, RR=1,6; IC_{95%} 1,15-2,29)²⁰. Asimismo, en pacientes con enfermedad de Parkinson se encontró un incremento significativo en la incidencia de melanoma, en comparación con la de la población general (*odds ratio*, OR=1,95; IC_{95%} 2,4-2,6)²¹. Otro factor importante implicado es la inmunosupresión de cualquier causa, bien sea por infección por el virus de la inmunodeficiencia humana o por el tratamiento con fármacos inmunosupresores²²; en los receptores de trasplantes de órganos sólidos, la incidencia es ocho veces mayor que en la población general²³.

MELANOGÉNESIS

Los melanocitos se originan de la cresta neural de células pluripotenciales y gradualmente se convierten en células de un linaje específico^{24,25}. Después de la inducción de la cresta neural, que en parte depende de la señalización normal de la *bone morphogenic protein* (BMP)²⁶, los citoblastos de la cresta neural sufren una transición de células epiteliales a mesenquimales (*epithelial to mesenchymal transition*, EMT), con pérdida de la adhesión a las células vecinas, luego de lo cual pueden migrar a otros tejidos.

En este proceso, se reprime la expresión de la E-cadherina y, después, las células se desprenden y migran²⁷. El proceso de los citoblastos pluripotenciales de la cresta neural para convertirse en melanoblastos y, finalmente, en melanocitos maduros, implica la señalización por Wnt (*wingless*) y el producto de un gen relacionado, denominado *int-1* en ratones, el cual cambia el destino de los melanocitos de estirpe glial hacia la melanogénesis mediante la expresión de la β -catenina²⁴.

Se han identificado varios genes, incluyendo el *MITF* (*Microphthalmia Transcription Factor*), un factor de transcripción asociado a microftalmía, y el *KIT*, que son importantes en el desarrollo de los melanocitos²⁸. El *MITF* es un gen específico del linaje de los melanocitos; su falta de función resulta en una pérdida casi completa de los melanocitos en los ratones. El mecanismo de la supervivencia celular implica la regulación positiva de la transcripción del gen anti-apoptótico *BCL2* por el *MITF*²⁹ y por la activación de genes productores de pigmento,

incluyendo la dopacromo-tautomerasa (dct) y la tirosinasa³⁰. El KIT o c-KIT es un receptor de tipo tirosinacinasasa III, del cual dependen el desarrollo, la función, la migración y la supervivencia del melanocito³¹. Una mutación en el *KIT* es responsable del piebaldismo^{32,33}.

ALTERACIONES GENÉTICAS ASOCIADAS A LA PATOGÉNESIS DEL MELANOMA

Durante las últimas décadas, en numerosos estudios se han relevado las vías de señalización clave alteradas genéticamente en la patogénesis del melanoma³⁴. La actividad de la vía de señalización de la proteína cinasa activada por mitógenos (*Mitogen Activated Protein Kinase*, MAPK) representa un factor crítico en el inicio y la progresión de la enfermedad³⁵. La vía de señalización de la MAPK es una cascada que transmite señales desde la superficie celular al núcleo, a través de una serie de proteínas citoplásmicas intermedias. La activación de la vía afecta la proliferación, la diferenciación, la senescencia y la apoptosis³⁶.

La cascada de señalización se inicia por un receptor tirosina-cinasa transmembrana (*Receptor Tyrosine Kinases*, RTK), que transmite la señal de la membrana celular al núcleo. Después de la unión del ligando, se produce dimerización del receptor y activación por autofosforilación de los residuos de tirosina en el dominio intracelular del receptor³⁷. Los residuos fosforilados de tirosina actúan como sitios de unión para las proteínas adaptadoras con dominios SH2, como GRB2; estas proteínas atraen al factor intercambiador de nucleótidos SOS y, cuando estos tres componentes están asociados, el SOS cambia a un estado activado que, a su vez, se une a una proteína RAS-GDP (H-RAS, N-RAS, K-RAS) y promueve el cambio a su forma activa RAS-GTP^{38,39}. En su forma activa, RAS actúa sobre diversas vías de señalización celular, siendo la más importante la MAPK (cascada RAF-MEK-ERK), de la cual la principal efectora es RAF, una serina-treonina cinasa que tiene tres isoformas (A-RAF, B-RAF, C-RAF). La isoforma B-RAF es la que actúa predominantemente en los melanocitos. La B-RAF fosforila y activa la cinasa MEK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*) y, finalmente, la MEK activa la cinasa ERK (*Extracellular signal-Regulated Kinase*).

La cinasa ERK es el último efector de la vía y actúa sobre moléculas citosólicas y nucleares, como factores de transcripción, proteínas de membrana y proteincinasas³⁸. ERK fosforilada se trasloca al núcleo y activa la ciclina D1 (CCND1) que, a su vez, une la cinasa depen-

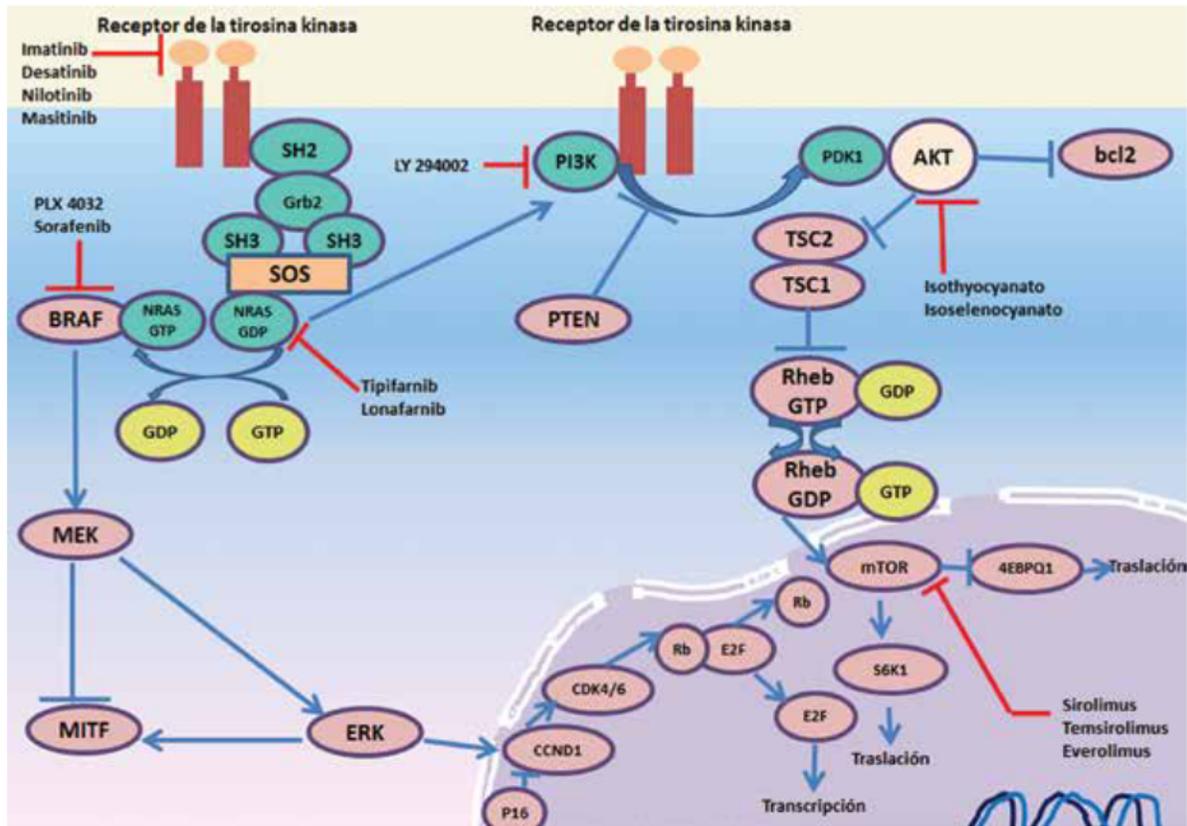


FIGURA 1. Vías de señalización de MAPK y PI3/AKT³⁸.

diente de ciclina 4/6 (CDK4/6). El complejo de la ciclina D1-CDK4/6 fosforila el complejo de la proteína del retinoblastoma (RB1). El RB1 en estado inactivo se encuentra unido al factor de transcripción E2F y lo inactiva. La fosforilación de RB1 conduce a la disociación del complejo de E2F. El E2F libre actúa como factor de transcripción para una serie de genes que, entre otras cosas, son responsables de la proliferación y el metabolismo de la célula (FIGURA 1)³⁸. ERK enlaza diversas cascadas de señalización y activa el factor de transcripción asociado con la microftalmía (MITF), el cual es importante para los melanocitos y para la activación de la vía de señalización de la PI3K (*Phosphatidylinositol 3-Kinase*)³⁷.

La vía de señalización de la PI3K regula la supervivencia, la proliferación y el crecimiento celulares. La PI3K se activa también por el receptor tirosina-quinasas y la proteína NRAS. La PI3K fosforila el fosfatidil-inositol convirtiéndolo en fosfatidil-inositol trifosfato que, después, activa la proteína quinasa B o Akt. La AKT fosforilada actúa como antiapoptótica mediante la fosforilación

de la molécula BAD, aumenta la supervivencia de la célula mediante la activación del factor de transcripción FOXO1 y de la transcripción de genes de supervivencia, activa el ciclo celular mediante la inhibición de la sintasa de glucógeno cinasa 3 (GSK-3), y acelera el crecimiento celular e inhibe la apoptosis mediante las cinasas mTOR y S6K, y el factor de transcripción NF-kB.

La cinasa Akt fosforilada inhibe el complejo de la esclerosis tuberosa (TSC1 y TSC2) y, por lo tanto, elimina su efecto inhibitorio sobre mTOR. La mTOR activada fosforila la S6K y la proteína 4E-BP1. La traducción es activada por la S6K e inhibida por la 4E-BP1. La S6K fosforilada y la 4E-BP1 desfosforilada llevan a un aumento en la traducción, la proliferación y el crecimiento de la célula³⁷. El desarrollo del melanoma puede ser el resultado de mutaciones somáticas en cualquiera de estas dos vías; la mayoría de las mutaciones se han identificado en la vía de la MAPK, donde se han identificado amplificaciones, mutaciones o ambas en los genes *KIT*, *NRAS* o, con mayor frecuencia, el *BRAF*^{34,37}, en los cuales se centra esta revisión.

KIT

El gen *KIT* (CD117) codifica un receptor tirosina-cinasa para el factor de células madre que estimula las vías de la proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK) y de la 3-fosfatidil-inositol cinasa, desempeñando un papel clave en el desarrollo de los melanocitos⁴⁰, lo cual se evidencia por la falta de migración y desaparición de los melanoblastos con deficiencia de *KIT*⁴¹. Desde hace más de 20 años se ha encontrado que las mutaciones en el dominio de la cinasa de *cKIT*, podían transformar melanocitos hacia un fenotipo maligno, lo cual sugiere que *c-KIT* podría tener un papel como objetivo terapéutico en esta enfermedad⁴². Se han encontrado mutaciones en el *KIT* en melanomas ‘acrales’ (sic.) y de mucosas, y en menor proporción, en melanomas en la piel dañada crónicamente por el sol. Los melanomas que aparecen en estas áreas anatómicas poco expuestas a luz ultravioleta, ‘acrales’ (sic.) y mucosas, donde no se piensa que la etiología esté relacionada con la exposición al sol, a menudo presentan mutaciones o amplificación del *KIT*^{40,43}.

En 2006, Curtin, *et al.*, examinaron 102 melanomas primarios usando reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y análisis de secuenciación de nucleótidos, y encontraron mutaciones, incremento o cambios en el número de copias de *KIT* en 39 % de los melanomas de mucosas, en 36 % de los melanomas ‘acrales’ (sic.) y en 28 % de los melanomas en piel dañada crónicamente por el sol, pero, no los encontraron en melanomas de piel

Tipo de melanoma	Porcentaje de mutación de <i>KIT</i>
Acral (sic.)	23 % (3 de 13)
De mucosas	15,6 % (7 de 45)
Conjuntival	7,7 % (1 de 13)
Cutáneo	1,7 % (1 de 58)
Coroidal	0 % (0 de 60)

TABLA 1. Frecuencia de mutaciones en el *KIT* en los subtipos de melanoma⁴⁵.

	% aumento en las copias de <i>KIT</i>	Con mutaciones en <i>KIT</i>	Sin mutaciones en <i>KIT</i>
Acral (sic.)	27,3 % (3/11)	1	2
De mucosas	26,3 % (10/38)	3	7
Cutáneo	6,7 % (3/45)	1	2
Conjuntival	7,1 % (1/14)	0	1
Coroidal	0 % (0/28)	0	0

TABLA 2. Aumento de copias de *KIT* en los subtipos de melanoma⁴⁵.

sin daño crónico por el sol⁴⁴. Posteriormente, en 2008, Beadling, *et al.*, estudiaron 189 muestras de diferentes tipos de melanomas y también encontraron mutaciones en *cKIT* (**TABLA 1**). Las mutaciones puntuales fueron lo más común y se observó aumento del número de copias de *KIT* en más de un cuarto de los melanomas ‘acrales’ (sic.) y de mucosas (**TABLA 2**)⁴⁵. Las mutaciones en *KIT* afectan más frecuentemente el dominio transmembrana del receptor, codificado por el exón 11, lo cual lleva a su dimerización y activación constitutiva en ausencia del factor de células madre. Aunque también se han hallado mutaciones en otros dominios, como en el exón 13 que, además, se han encontrado en tumores del estroma gastrointestinal (GIST)^{39,46}.

El imatinib es una pequeña molécula inhibidora del receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas α y β (PDGFR α y β), *cKIT* y Bcr-Abl. En los modelos de melanoma uveal, donde *cKIT* está sobreexpresado pero no mutado, el imatinib demostró alguna actividad preclínica. En un estudio llevado a cabo en Asia en pacientes con mutaciones o amplificación de *cKIT*, se observó una tasa de mejoría del 23 %, especialmente en aquellos con mutaciones en los exones 11 o 13. Ya se han realizado estudios en los cuales se observó disminución en el tamaño del tumor en subgrupos de pacientes con melanomas que albergan mutaciones de *cKIT*, con el uso de otros inhibidores de *cKIT*, como el dasatinib, así como con PDGFR y cinasas Src. El *cKIT* constituye hoy en día un objetivo terapéutico en un subconjunto de melanomas metastásicos, principalmente en pacientes con mutaciones en los exones 11 y 13. La expresión de la proteína *cKIT* no parece estar relacionada con la sensibilidad a los inhibidores de *cKIT*, mientras que la presencia de mutaciones activadoras de *cKIT* si se correlaciona^{42,47}.

NRAS

La familia de proteínas RAS incluye N-RAS, K-RAS y H-RAS, que unen trifosfato y difosfato de guanosina

	Mutaciones en NRAS	Mutaciones en BRAF
Melanoma lentiginoso acral (sic.)	10,1 % (9/89)	6,7 % (6/89)
Melanoma de extensión superficial	0 % (0/12)	58,3 % (7/12)
Melanoma nodular	13,3 % (2/15)	6,7 % (1/15)
Melanoma sobre lentigo maligno	33,3 % (1/3)	100 % (3/3)

TABLA 3. Porcentaje de mutaciones en BRAF y NRAS⁵³.

(GTP/GDP) y tienen actividad GTPasa⁴². La familia RAS tiene varios objetivos intermedios, incluidos RAF y PI3K, que finalmente llevan a la proliferación celular⁴¹. Desde hace más de 30 años, se han descrito mutaciones en RAS asociadas a cánceres humanos⁴⁸. Las mutaciones en HRAS y KRAS con frecuencia se encuentran en diversos tipos de cáncer, pero raramente en melanoma. De los genes RAS, NRAS es el que más comúnmente aparece mutado en melanoma⁴⁰. Se han reportado mutaciones de NRAS en los exones 2 y 3, y la mutación más común ocurre en el codón 61 del exón 3 (Q61K), la cual resulta en el reemplazo del residuo de glutamina por lisina o, en algunos casos, por arginina (Q61R); esta sustitución activa irreversiblemente la proteína NRAS, llevando a inhabilidad para hidrolizar GTP^{42,49}. Hay que destacar que las mutaciones en NRAS en el melanoma, provocan un cambio de señalización en la vía de la MAPK, iniciando con CRAF en lugar de BRAF, alterando las señales del cAMP, que permite a CRAF señalizar para la vía de la MEK. Las mutaciones en BRAF y NRAS casi siempre son mutuamente excluyentes, es decir que cuando una está presente la otra no lo está. Además, las mutaciones en NRAS por sí solas pueden activar la señalización mediante las vías de la MAPK, así como de las vías de la PI3K^{42,50}.

Desde 1984, Padua, *et al.*, encontraron mutaciones de NRAS en 15 a 20 % de los casos de melanoma cutáneo⁵¹. En 2002, Omholt, *et al.*, publicaron una investigación donde determinaron la mutación de NRAS en el codón 61, en 74 tumores primarios y 88 metástasis originadas de estos, y encontraron el alelo mutado en 28 % y 37,5 % de los casos, respectivamente⁵¹. El análisis de secuencia de nucleótidos del ADN, confirmó la presencia de mutaciones y reveló que todas ellas estaban localizadas en el codón 61 del gen NRAS⁵².

Históricamente, los tratamientos dirigidos a NRAS mutantes han sido un reto, en parte debido a la dinámica del ciclo de RAS que lleva a la sobreexpresión de vías heterogéneas, haciendo que el desarrollo de medicamentos sea más difícil⁴⁷. También, requeriría desplazamiento del

GTP de Ras, que tiene una fuerte afinidad por el GTP, en un ambiente rico en este, o la reconstitución de su actividad GTPasa⁴². Sheen, *et al.*, realizaron un estudio de 119 melanomas, incluyendo melanomas de diferentes subtipos, entre ellos melanoma lentiginoso acral (sic.), melanoma de extensión superficial, melanoma nodular y melanoma sobre lentigo maligno, a los cuales se les determinó la presencia de mutaciones en los exones 1 y 2 del gen NRAS; encontraron mutaciones en 12 de los 119 melanomas evaluados y, de estos, la mutación fue más frecuente en el melanoma sobre lentigo maligno, en el que se encontró la mutación de NRAS en uno de los tres casos con este subtipo clínico, lo que corresponde a 33 % de los casos evaluados (TABLA 3)⁵³.

Actualmente, no existe ningún tratamiento específico eficaz. La focalización en RAS ha demostrado ser muy difícil en el melanoma y otros tipos de tumores, y los inhibidores de BRAF y MEK son ineficaces. Se cree que esto se debe a la dependencia de una señalización mediante CRAF (sin pasar por BRAF) y una señalización a través de la vía PI3K-AKT activada por RAS (sin pasar por MEK)⁵⁴. De hecho, el vemurafenib y el dabrafenib realmente incrementan la activación de los genes de MEK y ERK en el grupo con mutaciones de NRAS⁴⁷. Están en curso ensayos en los que se evalúa la terapia de combinación con inhibidores de MEK e inhibidores de PI3-AKT⁵⁴.

BRAF

El gen BRAF codifica una cinasa citoplásmica, serina/treonina, la cual es un efector clave de la vía de las proteínas MAPK. Las mutaciones en BRAF se producen en su mayoría en el exón 15, que codifica el dominio catalítico de la proteína⁵⁵. Las sustituciones de valina en la posición 600 (V600), representan el 95 % de las mutaciones puntuales reportadas en el melanoma; la más común es la sustitución de valina por ácido glutámico, V600E (75 %), seguida por la sustitución por lisina, V600K (20 %)^{54,56}. Estas mutaciones resultan

en una cinasa BRAF constitutivamente activada, que incrementa su actividad de 130 a más de 700 veces y sobrestimula la vía de la MAPK^{43,55}. Esta mutación promueve el crecimiento tumoral mediante la proliferación celular y el aumento de la angiogénesis, por un aumento del factor de crecimiento del endotelio vascular y citocinas inhibitorias de macrófagos. También, regula al alza la interleucina 8 (IL-8), la cual promueve la adhesión de melanocitos al endotelio y, así, facilita la aparición de metástasis⁴¹.

En diferentes estudios se ha estimado que la tasa global de mutaciones de BRAF en los pacientes con melanoma, varía de 50 a 70 %^{36,40,41}. Aunque este porcentaje se encuentra en los melanomas cutáneos comunes de áreas con exposición intermitente al sol, la tasa de mutaciones de BRAF es menor en los acrales (sic.) y de mucosas con menor daño por el sol y están esencialmente ausentes en los uveales⁵⁵.

En su estudio de 119 melanomas, Shenn, *et al.*, también evaluaron el porcentaje de mutaciones en los exones 11 y 15 del gen BRAF; encontraron mutaciones en 17 de los 119, las cuales fueron más frecuentes en los melanomas de extensión superficial y en los melanomas sobre lentigo maligno (TABLA 3)⁵³. En contraste con lo anterior, también se observan mutaciones de BRAF en nevos melanocíticos típicos y atípicos⁴⁹. En los nevos, las mutaciones de BRAF inicialmente desencadenan el crecimiento de las lesiones, el cual se detendrá con el tiempo y permanecerá benigno^{41,57}, lo que teóricamente ocurre en 82 % de los nevos melanocíticos que tienen mutaciones de BRAF⁴¹.

Esto sugiere que las mutaciones de BRAF son un evento temprano en el desarrollo del melanoma y se requieren defectos moleculares adicionales para la transformación maligna³⁹, como una segunda mutación que cause la pérdida de un gen supresor de tumores o la ganancia de una segunda mutación^{41,49,57}. Se ha encontrado que los nevos muestran altos niveles del producto del gen supresor de tumores *p16INK4a*, el cual puede proteger de la progresión hacia el melanoma mediante detención del ciclo celular y senescencia impulsada por p16. Sin embargo, los melanocitos senescentes exhiben un patrón de tinción en mosaico para el p16, lo que sugiere que p16 puede no ser el único factor que juegue un papel en este proceso.

Desde hace más de diez años se han identificado mutaciones en el BRAF en alrededor de la mitad de los melanomas cutáneos, por lo que se han hecho intensos esfuerzos para desarrollar agentes farmacológicos que inhiban dicho gen para tratar el melanoma metastásico. El primero de estos inhibidores fue el sorafenib, pero este medicamento mostró poca eficacia en el grupo con mutaciones de BRAF^{42, 47}. Ahora se piensa que probablemente

la actividad vista en pacientes con melanoma es independiente de su efecto sobre el BRAF y podría reflejar su efecto inhibitorio sobre otras cinasas como las del KIT o el receptor del factor de crecimiento del endotelio vascular (*Vascular Endothelial Growth Factor Receptor*, VEGFR)^{58,59}. En pacientes con mutaciones del BRAF, los resultados más promisorios de ensayos clínicos se han obtenido con fármacos específicamente diseñados hacia la forma mutada de este gen; dos de estos inhibidores son el vemurafenib y el dabrafenib, los cuales han demostrado ser útiles en estudios fase I y II⁴².

CONCLUSIONES

En los últimos años se han logrado grandes descubrimientos en los aspectos moleculares y genéticos implicados en el inicio y la progresión del melanoma. Se han identificado numerosas mutaciones en las vías de señalización citoplásmica y nuclear de los melanocitos, de las cuales las más frecuentes en la actualidad son las que afectan los genes *KIT*, *NRAS* y, especialmente, *BRAF*; los tres están implicados en la activación de la vía MAPK, la cual promueve el crecimiento, la proliferación y la migración de los melanocitos, y de esta manera, favorece el inicio y la progresión del melanoma.

Gracias a la identificación de estas mutaciones, se han hecho muchos esfuerzos para desarrollar fármacos dirigidos contra estos objetivos moleculares, algunos de los cuales han demostrado tener efectos beneficiosos en ensayos clínicos de fase I y II, como disminución en el tamaño tumoral y aumento en la supervivencia de los pacientes con melanomas metastásicos que albergan estas mutaciones y ya se encuentran en estudios fase III, con la esperanza de obtener resultados alentadores. Sin embargo, no se ha logrado diseñar agentes efectivos dirigidos a la población con mutaciones de *NRAS* (15 a 20 % de los melanomas metastásicos), dado que las vías de señalización peculiares que desencadenan este tipo de mutación, hacen difícil el desarrollo de fármacos específicos; por esto, se encuentran en estudio estrategias que bloqueen de forma combinada las vías mediadas por PI3K y MEK, para poder ofrecer una opción terapéutica a este grupo de pacientes.

REFERENCIAS

1. Erickson C, Driscoll MS. Melanoma epidemic: Facts and controversies. *Clin Dermatol*. 2010;28:281-6.
2. Acosta Á, Fierro E, Velásquez V, Rueda X. Melanoma: patología, clínica e histopatología. *Rev Asoc Col Dermatol*. 2009;17:87-108.

3. Linos E, Swetter SM, Cockburn MG, Colditz GA, Clarke CA. Increasing burden of melanoma in the United States. *J Invest Dermatol.* 2009;129:1666-74.
4. Garbe C, Leiter U. Melanoma epidemiology and trends. *Clin Dermatol.* 2009;27:3-9.
5. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin.* 2010;60:277-300.
6. Tuong W, Cheng LS, Armstrong AW. Melanoma: Epidemiology, diagnosis, treatment, and outcomes. *Dermatol Clin.* 2012;30:113-24.
7. Geller AC, Annas GD. Epidemiology of melanoma and nonmelanoma skin cancer. *Semin Oncol Nurs.* 2003;19:2-11.
8. Globocan. Cancer incidence and mortality worldwide in 2008 [Internet] France [updated October, 2012. Fecha de consulta: octubre 3 de 2015. Disponible en: [http:// globocan.iarc.fr/factsheet.asp](http://globocan.iarc.fr/factsheet.asp).
9. Volkovova K, Bilanicova D, Bartonova A, Letasiova S, Dusinska M. Associations between environmental factors and incidence of cutaneous melanoma. Review. *Environ Health.* 2012;11(Suppl.1):S12.
10. Erdmann F, Lortet-Tieulent J, Schuz J, Zeeb H, Greinert R, Breitbart EW, *et al.* International trends in the incidence of malignant melanoma 1953-2008--are recent generations at higher or lower risk? *Int J Cancer.* 2013;132:385-400.
11. Whiteman DC, Whiteman CA, Green AC. Childhood sun exposure as a risk factor for melanoma: A systematic review of epidemiologic studies. *Cancer Causes Control.* 2001;12:69-82.
12. Green A, Autier P, Boniol M, Boyle P, Dor J-F, Gandini S, *et al.* The association of use of sunbeds with cutaneous malignant melanoma and other skin cancers: A systematic review. *Int J Cancer.* 2007;120:1116-22.
13. Cho E, Rosner BA, Feskanich D, Colditz GA. Risk factors and individual probabilities of melanoma for whites. *J Clin Oncol.* 2005;23:2669-75.
14. Hemminki K, Zhang H, Czene K. Familial and attributable risks in cutaneous melanoma: Effects of proband and age. *J Invest Dermatol.* 2003;120:217-23.
15. Ferrone CR, Ben Porat L, Panageas KS, Berwick M, Halpern AC, Patel A, *et al.* Clinicopathological features of and risk factors for multiple primary melanomas. *JAMA.* 2005;294:1647-54.
16. MacKie RM, Hauschild A, Eggermont AM. Epidemiology of invasive cutaneous melanoma. *Ann Oncol.* 2009;20(Suppl.6):vi-7.
17. Olsen CM, Carroll HJ, Whiteman DC. Estimating the attributable fraction for cancer: A meta-analysis of nevi and melanoma. *Cancer Prev Res (Phila).* 2010;3:233-45.
18. Lin JY, Fisher DE. Melanocyte biology and skin pigmentation. *Nature.* 2007;445:843-50.
19. Kraemer KH, DiGiovanna JJ. Xeroderma pigmentosum. In: Pagon RA, Adam MP, Bird TD, Dolan CR, Fong CT, Stephens K, editors. *Gene Reviews.* Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993.
20. Kvaskoff M, Mesrine S, Fournier A, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F. Personal history of endometriosis and risk of cutaneous melanoma in a large prospective cohort of French women. *Arch Intern Med.* 2007;167:2061-5.
21. Olsen JH, Friis S, Frederiksen K, McLaughlin JK, Mellekjær L, Møller H. Atypical cancer pattern in patients with Parkinson's disease. *Br J Cancer.* 2005;92:201-5.
22. Restrepo C, Velásquez M. Mecanismos de patogénesis del melanoma maligno. *Rev Asoc Colomb Dermatol.* 2012;20:161-72.
23. Zwald FO, Christenson LJ, Billingsley EM, Zeitouni NC, Ratner D, Bordeaux J, *et al.* Melanoma in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant.* 2010;10:1297-304.
24. Dorsky RI, Moon RT, Raible DW. Control of neural crest cell fate by the Wnt signalling pathway. *Nature.* 1998;396:370-3.
25. Erickson CA, Reedy MV. Neural crest development: The interplay between morphogenesis and cell differentiation. *Curr Top Dev Biol.* 1998;40:177-209.
26. Kanzler B, Foreman RK, Labosky PA, Mallo M. BMP signaling is essential for development of skeletogenic and neurogenic cranial neural crest. *Development.* 2000;127:1095-104.
27. Cano A, Pérez-Moreno MA, Rodrigo I, Locascio A, Blanco MJ, del Barrio MG, *et al.* The transcription factor snail controls epithelial-mesenchymal transitions by repressing E-cadherin expression. *Nat Cell Biol.* 2000;2:76-83.
28. Bandarchi B, Jabbari CA, Vedadi A, Navab R. Molecular biology of normal melanocytes and melanoma cells. *J Clin Pathol.* 2013;66:644-8.
29. Uong A, Zon LI. Melanocytes in development and cancer. *J Cell Physiol.* 2010;222:38-41.
30. Yasumoto K, Yokoyama K, Shibata K, Tomita Y, Shibahara S. Microphthalmia-associated transcription factor as a regulator for melanocyte-specific transcription of the human tyrosinase gene. *Mol Cell Biol.* 1994;14:8058-70.
31. Wehrle-Haller B, Weston JA. Soluble and cell-bound forms of steel factor activity play distinct roles in melanocyte precursor dispersal and survival on the lateral neural crest migration pathway. *Development.* 1995;121:731-42.
32. Giebel LB, Spritz RA. Mutation of the *KIT* (mast/stem cell growth factor receptor) protooncogene in human piebaldism. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991;88:8696-9.
33. Kilsby AJ, Cruwys M, Kukendrajah C, Russell-Eggitt I, Raglan E, Rajput K, *et al.* Homozygosity for piebaldism with a proven *KIT* mutation resulting in depigmentation of the skin and hair, deafness, developmental delay and autism spectrum disorder. *Clin Dysmorphol.* 2013;22:64-7.
34. van den Hurk K, Niessen HE, Veeck J, van den Oord JJ, van Steensel MA, Zur Hausen A, *et al.* Genetics and epigenetics of cutaneous malignant melanoma: A concert out of tune. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1826:89-102.
35. Govindarajan B, Bai X, Cohen C, Zhong H, Kilroy S, Louis G, *et al.* Malignant transformation of melanocytes to melanoma by constitutive activation of mitogen-activated protein kinase (MAPKK) signaling. *J Biol Chem.* 2003;278:9790-5.
36. Da Forno PD, Saldanha GS. Molecular aspects of melanoma. *Clin Lab Med.* 2011;31:331-43.
37. Held L, Eigentler TK, Meier F, Held M, Rocken M, Garbe C, *et al.* Oncogenetics of melanoma: Basis for molecular diagnostics and therapy. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2011;9:510-6.
38. Fernández M, Della-Giovanna P. Genodermatosis relacionadas con la vía RAS/MAPK. *Arch Argent Dermatol.* 2011;61:185-90.
39. Solus JF, Kraft S. Ras, Raf, and MAP kinase in melanoma. *Adv Anat Pathol.* 2013;20:217-26.
40. Kong Y, Kumar SM, Xu X. Molecular pathogenesis of sporadic melanoma and melanoma-initiating cells. *Arch Pathol Lab Med.* 2010;134:1740-9.
41. Swick JM, Maize JC, Sr. Molecular biology of melanoma. *J Am Acad Dermatol.* 2012;67:1049-54.

42. Mehnert JM, Kluger HM. Driver mutations in melanoma: Lessons learned from bench-to-bedside studies. *Curr Oncol Rep.* 2012;14:449-57.
 43. Flaherty KT, Fisher DE. New strategies in metastatic melanoma: Oncogene-defined taxonomy leads to therapeutic advances. *Clin Cancer Res.* 2011;17:4922-8.
 44. Curtin JA, Busam K, Pinkel D, Bastian BC. Somatic activation of *KIT* in distinct subtypes of melanoma. *J Clin Oncol.* 2006;24:4340-6.
 45. Beadling C, Jacobson-Dunlop E, Hodi FS, Le C, Warrick A, Patterson J, *et al.* *KIT* gene mutations and copy number in melanoma subtypes. *Clin Cancer Res.* 2008;14:6821-8.
 46. Rivera RS, Nagatsuka H, Gunduz M, Cengiz B, Gunduz E, Siar CH, *et al.* C-kit protein expression correlated with activating mutations in *KIT* gene in oral mucosal melanoma. *Virchows Arch.* 2008;452:27-32.
 47. Kudchadkar RR, Smalley KS, Glass LF, Trimble JS, Sondak VK. Targeted therapy in melanoma. *Clin Dermatol.* 2013;31:200-8.
 48. Malumbres M, Barbacid M. RAS oncogenes: The first 30 years. *Nat Rev Cancer.* 2003;3:459-65.
 49. Takata M, Saida T. Genetic alterations in melanocytic tumors. *J Dermatol Sci.* 2006;43:1-10.
 50. Dumaz N, Hayward R, Martin J, Ogilvie L, Hedley D, Curtin JA, *et al.* In melanoma, RAS mutations are accompanied by switching signaling from BRAF to CRAF and disrupted cyclic AMP signaling. *Cancer Res.* 2006;66:9483-91.
 51. Padua RA, Barrass N, Currie GA. A novel transforming gene in a human malignant melanoma cell line. *Nature.* 1984;311:671-3.
 52. Omholt K, Karsberg S, Platz A, Kanter L, Ringborg U, Hansson J. Screening of N-ras codon 61 mutations in paired primary and metastatic cutaneous melanomas: Mutations occur early and persist throughout tumor progression. *Clin Cancer Res.* 2002;8:3468-74.
 53. Sheen YS, Liao YH, Liao JY, Lin MH, Hsieh YC, Jee SH, *et al.* Prevalence of *BRAF* and *NRAS* mutations in cutaneous melanoma patients in Taiwan. *J Formos Med Assoc.* 2015;¿volume?:¿pages?
 54. Johnson DB, Sosman JA. Update on the targeted therapy of melanoma. *Curr Treat Options Oncol.* 2013;14:280-92.
 55. Woodman SE, Lazar AJ, Aldape KD, Davies MA. New strategies in melanoma: Molecular testing in advanced disease. *Clin Cancer Res.* 2012;18:1195-200.
 56. Long GV, Menzies AM, Nagrial AM, Haydu LE, Hamilton AL, Mann GJ, *et al.* Prognostic and clinicopathologic associations of oncogenic *BRAF* in metastatic melanoma. *J Clin Oncol.* 2011;29:1239-46.
 57. Michaloglou C, Vredeveld LC, Soengas MS, Denoyelle C, Kuilman T, van der Horst CM, *et al.* BRAF^{E600}-associated senescence-like cell cycle arrest of human naevi. *Nature.* 2005;436:720-4.
 58. Sharma A, Trivedi NR, Zimmerman MA, Tuveson DA, Smith CD, Robertson GP. Mutant V599EB-Raf regulates growth and vascular development of malignant melanoma tumors. *Cancer Res.* 2005;65:2412-21.
 59. 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.
-