

Генетическая гетерогенность меланомы кожи: новые мишени для селективного воздействия

Цитирование: Мазуренко Н. Н. Генетическая гетерогенность меланомы кожи: новые мишени для селективного воздействия // Злокачественные опухоли. – 2015. – № 4, спецвыпуск 2. С. – 3-8.

DOI: 10.18027/2224-5057-2015-4s2-3-8

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Мазуренко Наталья Николаевна – д.б.н., профессор, зав. лаборатории онкогеномики ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н.Блохина», г. Москва

В последнее время достигнуты значительные успехи в понимании молекулярных механизмов возникновения и развитии меланомы и наметился реальный прогресс в лечении пациентов с метастатической меланомой. Улучшение результатов послеоперационного лечения стало возможно благодаря блокаде основных сигнальных путей, специфичных для меланомы, с использованием молекулярно-нацеленных, таргетных, препаратов, ингибирующих продукты онкогенов.

Развитие меланомы – сложный процесс, в который вовлечены различные факторы: внешние (ультрафиолетовое облучение, УФО), вызывающие хроническое повреждение кожи, и внутренние (наследственные генетические особенности) [4, 33]. Меланома кожи отличается повышенным уровнем соматических мутаций по сравнению с другими солидными опухолями, в основном за счет повышения частоты транзаций C>T в геноме, вызванных УФО [23, 36]. В 5–14% случаев меланома кожи является семейным заболеванием, обусловленным герминальными мутациями в генах CDKN2A, CDK4, MITF, либо однонуклеотидными полиморфизмами в гене *MC1R* (рецептора меланокортина 1) [20, 22].

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ И МИШЕНИ ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ МЕЛАНОМЫ

Меланома отличается клинической и молекулярной гетерогенностью [1, 4, 15]. Наиболее распространены различные варианты меланомы кожи (90%). Меланома слизистых оболочек различной локализации (синоназальный тракт, гениталии, аноректальная область) встречается у 1,5–3% пациентов, крайне редко меланома слизистых оболочек дыхательных путей или желудочно-кишечного тракта. Меланома глаза составляет 3,7–5% всех случаев меланомы, различают увеальную (93%) и конъюнктивальную меланому.

Основную роль в патогенезе меланомы играет МАРК (RAS-RAF-MEK-ERK) сигнальный путь, который гиперактивирован в 90% случаев меланомы (Рис.1). Мутантный белок BRAF вызывает не только гиперактивацию каскада МАРК и пролиферацию клеток меланомы, но и выживание опухоли, регулируя экспрессию и функционирование проапоптотических и антиапоптотических белков [4, 18]

В 40–60% меланомы кожи выявляют мутации в активирующем домене серин/треонин киназы BRAF, которые вызывают стабильную каскадную гиперактивацию митоген активированных протеинкиназ MEK1/2 и ERK1/2. Каталитические функции BRAF регулируются через димеризацию киназного домена, при этом активен только один из компонентов гомо или гетеродимера. В качестве партнера при димеризации могут быть белки CRAF(Raf-1), BRAF или RAF-родственные псевдокиназные репрессоры RAS [37].

В 90% мутантных BRAF белков встречается мутация T1799A в 15-м экзоне гена BRAF, что на белковом уровне соответствует замене V600E (валина на глутаминовую кислоту) [11], значительно реже встречаются замены V600K и V600/R/D/M. При редких мутациях D594V, L597R/S/Q, K601E – активность протеинкиназы BRAF со-

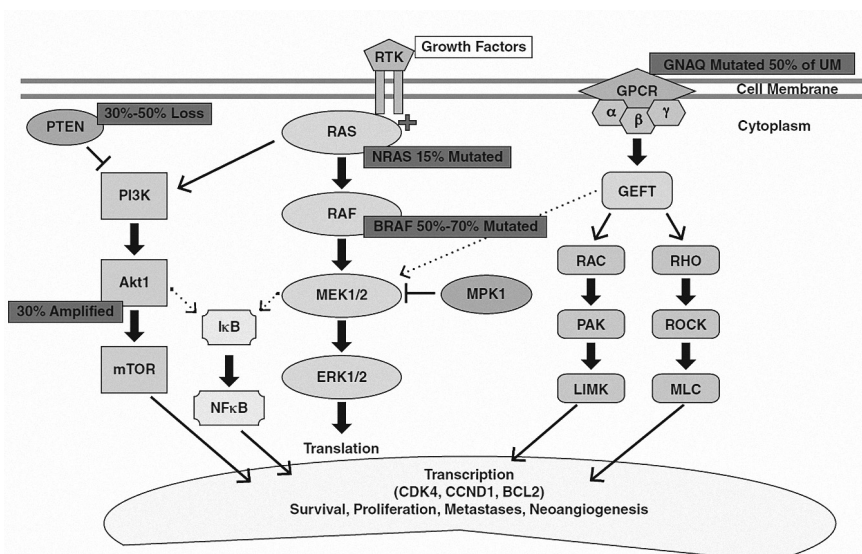


Рис. 1. Основные сигнальные пути в различных подтипах меланомы и частота мутаций онкогенов [4]

ставляет лишь 30% от активности фермента с мутацией V600E.

Ген BRAF может быть активирован также в результате хромосомных транслокаций с последующей трансляцией слитных белков: PAPSS1-BRAF, TRIM24-BRAF. Слитные химерные белки сохраняют киназный домен и киназную активность белка BRAF, они выявлены в 4–8% случаев меланомы с неизвестным “драйверным” геном (pan-negative) [24].

В 15–30% случаев меланомы кожи и слизистых выявляют мутации, вызывающие гиперактивацию ГТФ-азы NRAS, чаще это замены Q61L/K (80%), реже – в кодонах G12/G13 [15, 27]. NRAS активирует основные сигнальные пути, включая RAF-MEK-ERK, и, в отличие от BRAF, активирует PI3K-AKT-mTOR, PLC-PKC и Ral-GDS [15]. Мутации NRAS и BRAF(V600E) взаимоисключающие, хотя изредка встречаются меланомы с мутациями NRAS и редкими мутациями BRAF в различных кло-нах опухоли.

Биологические последствия мутаций BRAF и NRAS отличаются, поскольку при мутации RAS клетки чаще используют CRAF, а не BRAF для активации MEK-ERK [13]. Полноэкзомное секвенирование позволило установить, что опухоли с мутациями BRAF и NRAS отличаются по спектру активированных генов [47].

Клинико-патологические характеристики меланом с мутациями BRAF и NRAS различаются [15, 31]. Активирующие мутации BRAF характерны для меланомы кожи, не подверженной хроническому ультрафиолетовому облучению, тогда как мутации NRAS чаще встречаются в образцах меланомы на участках кожи с повреждениями, вызванными хронической инсоляцией. Частота мутантного NRAS выше в акральной меланоме и меланоме слизистых оболочек, а также во врожденных меланоцитарных невусах с повышенным риском трансформации в меланому [4, 8, 18]. Получены экспериментальные доказательства мутагенного эффекта УФО при образовании мутаций Q61L/K, но не G12/G13 NRAS и BRAF [35].

Две трети меланом кожи возникают при трансформации кожных меланоцитов, а остальные – из предсуществующих доброкачественных меланоцитарных невусов, часть из которых содержит мутантные BRAF или NRAS [42]. Невусы могут десятилетиями оставаться без изменений, для их малигнизации нужны дополнительные генетические нарушения, в частности, активация PI3K-AKT-mTOR пути [45], либо инактивация гена-супрессора *CDKN2A/p16^{INK4a}*.

Важнейшим генетическим событием в меланоме является активация сигнального пути PI3K-AKT-mTOR [12, 18]. В 40–60% случаев меланомы кожи инактивирована фосфатаза PTEN, негативно регулирующая PI3K-AKT сигналинг. Утрата экспрессии PTEN происходит в результате мутации, потери гетерозиготности, либо в результате эпигенетических нарушений транскрипции за счет метилирования ДНК или микро-РНК регуляции. Активация серин-треониновой киназы AKT3 отмечена в 60% случаев спорадической меланомы, причем в 35% случаев имеет место амплификация гена AKT3.

Рецепторная тирозинкиназа KIT активирует MAPK и PI3K-AKT-mTOR сигнальные пути в меланоме, их гиперактивация вследствие мутаций гена KIT происходит в 2–6% случаев меланомы на участках кожи, подверженных хроническому солнечному облучению и повреждению [4, 8, 18]. Мутации KIT не встречаются одновременно с мутациями NRAS или BRAF. Мутации KIT являются специфичными для акральной меланомы и меланомы слизистых оболочек, в частности выявлены в 1,7% меланомы кожи, 23% акральной меланомы и 15,6%

меланомы слизистых оболочек [3]. Мутации KIT встречаются в 11, 13 или 17 экзонах, наиболее распространены точечные замены W557, V559, L576, K642, D816. Для лечения меланомы с мутациями в 11 или 13 экзонах гена KIT применяют тирозинкиназные ингибиторы иматиниб, нилотиниб, деса-тиниб [6, 19].

Мутации гомологичного гена PDGFRA, кодирующего α -рецептор тромбоцитарного фактора роста, для меланомы не характерны, однако имеется сообщение о мутациях в гене PDGFRA в 4,6% случаев меланомы, в основном, в акральной и меланоме слизистых оболочек [10].

До 30% случаев меланомы не содержат мутации BRAF, NRAS и KIT (pan negative), однако в них активация MAPK может происходить вследствие других генетических нарушений.

Мутации серин/треонин киназ MEK1/2 идентифицированы в 6% меланомы кожи и могут встречаться одновременно с мутациями V600 BRAF. Некоторые мутации MEK1 гиперактивируют ERK и это определяет резистентность меланомы к ингибиторам BRAF и NRAS [18].

В 5,7% случаев меланомы с помощью полноэкзомного секвенирования обнаружены мутации в гене NF1, кодирующем белок NF1, опухолевый супрессор, который является негативным регулятором RAS ГТФ-азы [23]. Мутации NF1 активируют MAPK каскад и способствуют образованию меланомы, а также могут вызывать устойчивость к ингибиторам BRAF [18]. Мутации NF1 выявляют в 2% случаев меланомы с мутациями BRAF или NRAS и в 25% опухолей с диким типом BRAF или NRAS.

В 5–9% случаев меланомы также с помощью полноэкзомного секвенирования обнаружены мутации в гене RAC1, которые усиливают активацию MAPK пути, пролиферацию и миграцию клеток [23]. Нарушения в гене RAC1, кодирующем RAS-родственный белок Rho – суперсемейства ГТФ-аз, в отличие от BRAF, связаны с повреждающим действием УФО. Мутации RAC1 находят в меланомах с мутантным NRAS [47]. В 2–3% случаев меланомы кожи активация MEK и ERK имеет место в результате активирующих мутаций генов GNA_q или GNA₁₁, что наиболее характерно для увеальной меланомы (их находят в 90% меланомы хориоидеи) [17]. Эти гены кодируют альфа-субъединицы G_{aq} и G₁₁ гетеротримерных G-белков, связанных с рецептором эндотелина В, участвующим в дифференцировке меланоцитов. С помощью G-белка происходит передача сигнала на эффекторы системы вторичных посредников: аденилатциклазу и фосфолипазу С, что активирует MAPK-каскад и приводит к стимуляции клеточной пролиферации или активации транскрипции генов, контролирующих клеточный цикл.

В некоторых культурах клеток pan-negative меланомы активирован рецептор семейства ErbB (ErbB1, 2 или 3) и, наряду с активацией MAPK, может иметь место активация PI3K-AKT-mTOR пути. В pan-negative образцах меланомы кожи обнаружены мутации в гене ERBB4 [47]. В таких меланомах ErbB может быть мишенью для таргетной терапии [25] (рис.2).

В лаборатории онкогеномики НИИ канцерогенеза совместно с отделением биотерапии опухолей НИИ клинической онкологии ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» проведены исследования мутаций с целью определения чувствительности меланомы к препаратам таргетной терапии [2]. Всего исследованы опухоли от 224 пациентов: у 169 больных диагностирована меланомы кожи, у 31 – метастазы меланомы без выявленного первичного очага и у 24 – меланомы слизистых оболочек различной ло-

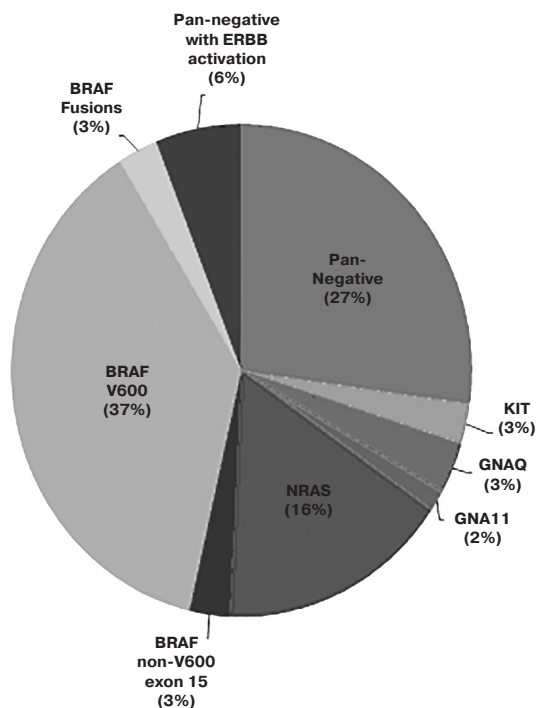


Рис. 2. Частота драйверных мутаций в меланоме по данным [25]

кализации. В меланоме кожи выявлены мутации генов BRAF (59,1%), NRAS (15,4%) и KIT (1,2%), а в метастазах меланомы без выявленного первичного очага мутации BRAF обнаружены в 51,6%, а NRAS – в 9,8% случаев, следовательно, у большинства этих пациентов первичная опухоль представляла собой меланому кожи (рис.3).

Спектр мутаций различался в образцах меланомы в зависимости от локализации и подверженности хронической инсоляции. Мутации BRAF доминировали в меланоме на закрытых для хронического УФО поверхностях туловища и конечностей (68,9%) и значительно реже выявлялись в меланоме кожи головы и шеи (41,6%), а также в акральной меланоме (16,6%) и меланоме слизистых оболочек (17,4%). Среди мутаций BRAF доминировали замены V600E (92%) и V600K (4,5%), чувствительные к ингибиторам BRAF вемурафенибу или дабрафенибу и реже выявлены замены BRAF K601V(1%) и L597Q (2,5%), чувствительные к ингибиторам MEK.

В отличие от BRAF частота мутации NRAS (Q61R/H/L или G12C) была выше в образцах меланомы кожи головы и шеи (25%), чем меланомы туловища и конечностей (11,7%) и меланомы слизистых оболочек (13,0%). Мутации NRAS выявлены в 2 из 6 (33%) случаев акральной меланомы.

Мутации KIT выявлены в 0,7% случаев меланомы на закрытых для хронического УФО участках кожи в 8,3% меланомы кожи головы и шеи, а также в 8 из 24 (33%) случаев меланомы слизистых

оболочек. Следует отметить, что спектр мутаций в меланоме слизистых оболочек варьировал в зависимости от локализации опухоли: мутации KIT выявлены в 50% синоназальной меланомы и 50% меланомы вульвы, но отсутствовали в меланоме влагалища. В образцах меланомы влагалища и слизистой полости носа также выявлены мутации BRAF и NRAS, тогда как в трех случаях меланомы аноректальной области мутации BRAF, NRAS и KIT не обнаружены.

Таким образом, мутационный статус строго ассоциирован с анатомическим типом, локализацией меланомы и повреждением клеток ультрафиолетом. Определение мутаций онкогенов крайне важно для выбора тактики лечения больных и для определения мишеней таргетной терапии.

Варианты таргетной терапии метастатической меланомы
Первые попытки ингибирования MAPK сигнального пути у больных меланомой с помощью ингибитора протеинкиназы сорафениба не удалось, так как он оказался не эффективен у больных с активирующей мутацией V600E BRAF.

Прорыв в лечении диссеминированной меланомы кожи состоялся в 2011 г., когда были зарегистрированы два препарата: ипилимумаб (MDX-010, MDX-101, рекомбинантные человеческие моноклональные IgG1 антитела против CTLA-4 лимфоцитов) и вемурафениб (зелбораф), селективный ингибитор BRAF с мутацией V600E. Действие вемурафениба основано на аллостерическом ингибировании димеризации BRAF для фосфорилирования MEK1/2. В третьей фазе испытаний BRIM-3 общая выживаемость пациентов с метастатической меланомой составила 13,6 мес. (выживаемость в течение 6 мес. отмечена у 84%) и выживаемость без прогрессирования – 5,3 мес. [7].

В 2013 году был зарегистрирован препарат дабрафениб, действие которого основано на ингибировании АТФ-связывающего сайта киназы BRAF [21]. Дабрафениб отличается высокой специфичностью в отношении меланомы с заменами V600E/K белка BRAF и меньшей токсичностью по сравнению с вемурафенибом. При лечении дабрафенибом снижена частота осложнений в виде плоскоклеточного рака кожи и кератоакантомы (14%) по сравнению с вемурафенибом (26%) [30]. Появление этих новообразований связывают с актива-

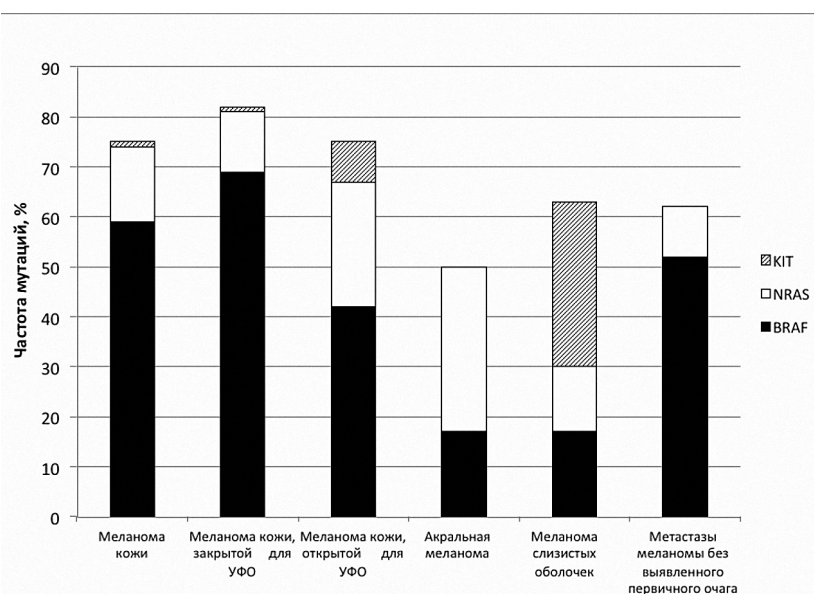


Рис. 3. Мутации генов BRAF, NRAS и KIT в образцах меланомы кожи и слизистых оболочек

цией MAPK пути при подавлении RAF через активирующие мутации RAS. Оба ингибитора BRAF были первыми препаратами, которые были эффективны у пациентов с метастазами в мозг [28]. В настоящее время проходит испытания новый селективный ингибитор BRAF с мутацией в кодоне V600 энкорафениб (LGX818).

К сожалению, у 15% пациентов с мутацией BRAF V600E наблюдается первичная резистентность к терапии ингибиторами BRAF, которая может быть вызвана мутацией гена RAC1, потерей функции гена NF1, потерей функции PTEN, активацией рецепторных тирозинкиназ [43]. Устойчивость к ингибиторам BRAF может быть вызвана гиперэкспрессией протеинкиназы COT (MAP3K8), которая является активатором MAPK, но не затрагивает BRAF сигналинг [26].

У некоторых пациентов наблюдается короткий ответ (менее 12 недель) и практически у всех пациентов, ответивших на вемурафениб через 6–7 мес. появляется вторичная резистентность, которая связана с развитием сложной компенсаторной активации многочисленных компонентов MAPK пути [6, 19, 41]. У некоторых пациентов при лечении возникают новые меланомы с диким типом BRAF, возможна амплификация BRAF и его усиленная экспрессия, альтернативный сплайсинг BRAF, образование мутантного гена BRAF с делецией 4–8 экзон, который кодирует белок, утративший RAS-связывающий домен.

Ингибиторы BRAF вызывают парадоксальную активацию MEK, появляются мутации NRAS и MEK1/2, нарушается регуляция рецепторных тирозинкиназ PDGFR- β и IGFR и проводится передача сигнала через CRAF, что усиливает фосфорилирование ERK1/2 [6, 43].

Вторичная резистентность также может быть вызвана активацией PI3K-АКТ-mTOR пути вследствие мутации AKT1/3, потери функции PTEN, мутации PI3K-регуляторных генов, активации рецепторных тирозинкиназ и др. [41].

В связи с этим большое внимание уделяется ингибированию MAPK сигнального пути на уровне протеинкиназ MEK и ERK. Созданы и одобрены к применению ингибиторы MEK траметиниб (2014) и селуметиниб (2015), проходят испытания биниметиниб (MEK162) и кобиметиниб. Оказалось, что монотерапия ингибиторами MEK не столь эффективна при меланоме с мутацией BRAF V600E/K, хотя к траметинибу чувствительны меланомы с мутациями BRAF L597R и K601E, нечувствительные к вемурафенибу [9]. Определенные надежды возлагались на ингибирование MEK киназ в меланомах с мутацией NRAS, однако они не оправдались.

В настоящее время получены положительные результаты при испытании комбинаций ингибиторов BRAF и MEK. Ингибиторы MEK траметиниб и селуметиниб улучшают общее выживание пациентов с мутациями V600E/K в комбинации с ингибиторами BRAF [16]. Так медиана безрецидивной выживаемости увеличилась с 5,8 мес. при монотерапии дабрафенибом до 9,4 мес. при применении дабрафениба и траметиниба. При этом получен не только более длительный ответ у большего числа пациентов, но и уменьшается частота вторичных карцином кожи и снижается токсичность, т.е. улучшается переносимость лечения. Частота общего ответа была 51% при монотерапии дабрафенибом или вемурафенибом и 67% при сочетании дабрафениба и траметиниба [32, 40].

При использовании сочетания ингибиторов вемурафениба и кобиметиниба для лечения меланомы с мутацией в BRAF

V600 в исследовании BRIM7 частота общего ответа у пациентов не получавших лечения достигла 87%, а безрецидивная выживаемость – 13,7 мес., тогда как у пациентов, получавших ингибиторы BRAF была на 2.8 мес. ниже [39]. При сходной токсичности, в результате использования двух ингибиторов вместо одного, снизилась частота образования плоскоклеточного рака кожи и кератоакантом. В большом мультицентровом рандомизированном исследовании III стадии CoBRIM при комбинации вемурафениба и кобиметиниба медиана безрецидивной выживаемости достигла 9,9 мес. по сравнению с монотерапией вемурафенибом – 6,2 мес., частота общего ответа была 68% и 45%, соответственно [30].

Для пациентов с мутациями в генах GNAQ и GNA11 получены положительные результаты при терапии ингибитором MEK селуметинибом, который эффективен при сравнении со стандартной химиотерапией (темозоломид) при увеальной меланоме с мутациями в генах GNAQ и GNA11 [5].

На основании предварительных результатов 1 фазы лечения больных меланомой с мутацией BRAF в кодоне V600 комбинацией энкорафениба и биниметиниба, проводятся сравнительные испытания трех вариантов лечения: комбинации энкорафениба и биниметиниба, монотерапии энкорафенибом и вемурафенибом.

Комбинаторная стратегия предполагает использование в качестве мишеней таргетной терапии CDK4/6, FGFR, PI3K, c-MET с одновременным ингибированием BRAF и/или MEK [41]. Проводятся испытания комбинаций ингибитора BRAF вемурафениба с различными ингибиторами PI3K и ингибитора MEK селуметиниба с ингибиторами АКТ (GSK2141795). Проводится также оценка эффективности энкорафениба и биниметиниба в сочетании с препаратом LEE011, мишенью которого является CDK4/6 зависимая регуляция клеточного деления, LEE011 подавляет фосфорилирование белка ретинобластомы Rb и ингибирует переход клеток из G1 в S фазу [19].

Проводятся испытания тройной комбинации препаратов: сочетания ингибиторов BRAF и MEK с антителами к ErbB3. При действии ингибиторов BRAF или MEK в культурах клеточных линий меланомы с мутацией BRAF рецепторная тирозинкиназа ErbB3 подвергается быстрому гиперфосфорилированию и активирует АКТ и поэтому ее активация может быть подавлена моноклональными антителами, например, афатинибом. У 4% пациентов с меланомой был получен ответ при действии гефитиниба [34].

Особый интерес вызывают исследования и испытания препаратов таргетной терапии в сочетании с иммунотерапией [44]. Комбинация вемурафениба и ипилимумаба оказалась токсичной [38], тогда как более перспективными представляются комбинации ингибиторов BRAF или BRAF+MEK с антителами к PD-1 (пембролизумаб или ниволумаб) или антителами к PDL-1 (BMS-936559, MPDL3280A, MDX-1105) [46].

Несомненно, что дальнейшие молекулярно-генетические исследования позволят выявить новые мишени для селективного воздействия, что приведет к созданию более эффективных комбинаций препаратов для лечения различных вариантов меланомы.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (№ 14–35–00107).

ЛИТЕРАТУРА

1. Мазуренко Н. Н. Генетические особенности и маркеры меланомы кожи. Усп. мол. онкологии. 2014; 1(2): 27–36.
2. Мазуренко Н. Н., И. В. Цыганова, А. А. Лушникова и др. Спектр мутаций онкогенов различается в субтипах меланомы кожи. Мол. биол. 2015; 49(6).
3. Beadling C., Jacobson-Dunlop E., Hodi F. S., et al. KIT gene mutations and copy number in melanoma subtypes. Clin. Cancer Res. 2008; 14(21): 6821–6828.
4. Bello D. M., Ariyan C. E., Carvajal R. D. Melanoma mutagenesis and aberrant cell signaling. Cancer Control. 2013; 20(4): 261–281.
5. Carvajal R. D., Sosman J. A., Quevedo J. F., et al. Effect of selumetinib vs chemotherapy on progression-free survival in uveal melanoma: a randomized clinical trial. JAMA. 2014. 311(23). 2397–2405.
6. Chakraborty R., Wieland C. N., Comfere N. I. Molecular targeted therapies in metastatic melanoma. Pharmacogen and Pers. Med. 2013; 6: 49–56.
7. Chapman P. B., Hauschild A., Robert C., et al. BRIM-3 Study Group. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. N. Engl. J. Med. 2011; 364(26): 2507–2516.
8. Curtin J. A., Fridlyand J., Kageshita T., et al. Distinct sets of genetic alterations in melanoma. N. Engl. J. Med. 2005; 353: 2135–2147.
9. Dahlman K. B., Xia J., Hutchinson K., et al. BRAF (L597) mutations in melanoma are associated with sensitivity to MEK inhibitors. Cancer Discov. 2012; 2(9): 791–797.
10. Dai J., Kong Y., Si L., et al. Large-scale analysis of PDGFRA mutations in melanomas and evaluation of their sensitivity to tyrosine kinase inhibitors imatinib and crenolanib. Clin. Cancer Res. 2013; 19: 6935–6942.
11. Davies H., Bignell G. R., Cox C., et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. Nature. 2002; 417(6892): 949–954.
12. Davies M. A. The role of the PI3K-AKT pathway in melanoma. Cancer J. 2012; 18:142–147.
13. Dumaz N. Mechanism of RAF isoform switching induced by oncogenic RAS in melanoma. Small GTPases. 2011; 2(5): 289–292.
14. Fecher L. A., Cummings S. D., Keefe M. J., Alani R. M. Towards a molecular classification of melanoma. J. Clin. Oncol. 2007; 25: 1606–1620.
15. Fedorenko I. V., Gibney G. T., Keiran S. M. NRAS mutant melanoma: biological behavior and future strategies for therapeutic management. Oncogene. 2013; 32: 3009–3018.
16. Flaherty K. T., Infante J. R., Daud A., et al. Combined BRAF and MEK inhibition in melanoma with BRAF V600 mutations. N. Engl. J. Med. 2012. 367(18). 1694–1703.
17. Gaudi S., Messina J. L. Molecular Bases of Cutaneous and Uveal Melanomas. Pathol. Res. Int. 2011; Article ID159421, 1–8 pages.
18. Glitza IC, Davies MA. Genotyping of cutaneous melanoma. Chin. Clin. Oncol.. 2014p; 3(3): 27.
19. Grimaldi AM, Simeone E, Festino L, et al. Novel mechanisms and therapeutic approaches in melanoma: targeting the MAPK pathway. Discov Med. 2015;19(107):455–61.
20. Hansson J. Familial cutaneous melanoma. Adv. Exp. Med. Biol. 2010; 685: 134–145.
21. Hauschild A., Grob J. J., Demidov L. V., et al. Dabrafenib in BRAF-mutated metastatic melanoma: a multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. Lancet. 2012; 380(9839): 358–365.
22. Hayward N. K. Genetics of melanoma predisposition. Oncogene. 2003; 22(20): 3053–3062.
23. Hodis E., Watson I. R., Kryukov G. V., et al. A landscape of driver mutations in melanoma. Cell. 2012; 150(2): 251–263.
24. Hutchinson K. E., Lipson D., Stephens P. J., et al. BRAF fusions define a distinct molecular subset of melanomas with potential sensitivity to MEK inhibition. Clin. Cancer Res. 2013. 19(24). 6696–6702.
25. Hutchinson K. E. Johnson DB, Johnson AS, et al., ERBB activation modulates sensitivity to MEK1/2 inhibition in a subset of driver-negative melanoma. Oncotarget. 2015; 6(26): 22348–22360.
26. Johannessen CM, Boehm JS, Kim SY, et al. COT drives resistance to RAF inhibition through MAP kinase pathway reactivation. Nature. 2010; 468(7326): 968–972.
27. Kelleher F. C., McArthur G. A. Targeting NRAS in melanoma. Cancer J. 2012; 18: 132–136.
28. Kirkwood J. M., Long G. V., Trefzer U., et al. Dabrafenib in patients with Val600Glu or Val600Lys BRAF-mutant melanoma metastatic to the brain (BREAK-MB): a multicentre, open-label, phase 2 trial. Lancet Oncol. 2012; 13(11): 1087–1095.
29. Larkin J., Del Vecchio M, Ascierto PA, et al. Vemurafenib in patients with BRAF (V600) mutated metastatic melanoma: an open-label, multicentre, safety study Lancet Oncol. 2014; 15(4): 436–44.
30. Larkin J, Ascierto PA, Dreno B., et al. Combined vemurafenib and combimetinib in BRAF –mutated melanoma. N Engl J Med. 2014; 371(20):1867–76.
31. Long G. V., Menzies A. M., Nagrial A. M., et al. Prognostic and clinicopathologic associations of oncogenic BRAF in metastatic melanoma. J. Clin. Oncol. 2011; 29(10):1239–4621.
32. Long GV, Stroyakovskiy D, Gogas H, et al. Combined BRAF and MEK inhibition versus BRAF inhibition alone in melanoma. N Engl J Med. 2014; 371(20):1877–88.
33. MacKie R.M., Hauschild A., Eggermont A. M. Epidemiology of invasive cutaneous melanoma. Ann. Oncol. 2009; 20, Suppl. 6. 1–7.
34. Patel SP, Kim KB, Papadopoulos NE, et al. A phase II study of gefitinib in patients with metastatic melanoma. Melanoma Res. 2011; 21(4):357–363.
35. Platz A., Egyhazi S., Ringborg U., Hansson J. Human cutaneous melanoma; a review of NRAS and BRAF mutation frequencies in

- relation to histogenetic subclass and body site. *Mol Oncol*. 2008; 1(4): 395–405.
36. Pleasance E. D., Cheetham R. K., Stephens P. J., et al. A comprehensive catalogue of somatic mutations from a human cancer genome. *Nature*. 2010. 463(7278). 191–196.
 37. Rajakulendran T., Sahmi M., Lefrançois M., et al. A dimerization-dependent mechanism drives RAF catalytic activation. *Nature*. 2009; 461(7263): 542–545.
 38. Ribas A, Hodi FS, Callahan M, et al. Hepatotoxicity with combination of vemurafenib and ipilimumab. *N Engl J Med*. 2013; 368(14):1365–1366.
 39. Ribas A., Gonzalez R., Pavlick A., et al. Combination of vemurafenib and cobimetinib in patients with advanced BRAF(V600)-mutated melanoma: a phase 1b study. *Lancet Oncol* 2014; 15(9):954–965.
 40. Robert C, Karaszewska B, Schachter J, et al. Improved overall survival in melanoma with combined dabrafenib and trametinib. *N Engl J Med*. 2015; 372(1): 30–39.
 41. Spagnolo F., Ghiorzo P, Orgiano L, et al., BRAF-mutant melanoma: treatment approaches, resistance mechanisms, and diagnostic strategies. *Onco Targets Ther*. 2015; 8: 157–168.
 42. Tschandl P., Berghoff A. S., Preusser M., et al. NRAS and BRAF mutations in melanoma-associated nevi and uninvolved nevi. *PLoS One*. 2013; 8(7): e69639.
 43. Van Allen EM, Wagle N, Sucker A, et al. The genetic landscape of clinical resistance to RAF inhibition in metastatic melanoma. *Cancer Discov*. 2014; 4(1): 94–109.
 44. Voskoboinik M., Arkenau H. T. Combination Therapies for the Treatment of Advanced Melanoma: A Review of Current Evidence. *Biochem. Res. Intern*. 2014. Vol. 2014, Article ID307059, 9 pages.
 45. Vredevelde L. C., Possik P. A., Smit M. A., et al. Abrogation of BRAF V600E-induced senescence by PI3K pathway activation contributes to melanomagenesis. *Genes Dev*. 2012; 6: 1055–1069.
 46. Wolchok J. D., Kluger H., Callahan M. K., et al. Nivolumab plus ipilimumab in advanced melanoma. *N. Engl. J. Med*. 2013; 369(2): 122–133.
 47. Xia J, Jia P., Hutchinson K. E., et al. A meta-analysis of somatic mutations from next generation sequencing of 241 melanomas: a road map for the study of genes with potential clinical relevance. *Mol. Cancer Ther*. 2014; 13(7): 1918–1928.