

CELUJĄC W CZERNIAKA

TARGETING THE MELANOMA

Małgorzata POKRYWKA, Anna LITYŃSKA

Zakład Biochemii Glikokoniugatów, Instytut Zoologii,
Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Streszczenie: Czerniak należy do najbardziej złośliwych nowotworów człowieka, a liczba zachorowań na ten typ nowotworu wzrasta na świecie w zastraszającym tempie. Komórki czerniaka charakteryzują się wyjątkową opornością na stosowane obecnie metody leczenia. Badania z ostatnich lat przyczyniły się do lepszego poznania i zrozumienia biologii nowotworu i otworzyły drogę nowym terapiom celowanym. Obecnie wiele czynników znajduje się we wczesnych fazach badań klinicznych, część z nich osiągnęła już III fazę, a w sierpniu 2011 roku FDA zaaprobowwała nowy lek do walki z czerniakiem - Wemurafenib (PLX4032). Artykuł stanowi przegląd najważniejszych białek, szlaków i sieci sygnalizacyjnych zaangażowanych w rozwój i progresję czerniaka, ze szczególnym uwzględnieniem elementów będących najbardziej obiecującymi celami dla terapii antynowotworowej.

Słowa kluczowe: czerniak, terapia celowana

Summary: Melanoma is one of the most aggressive human cancers. Its cells are inevitably resistant to conventional therapies. In recent years, better understanding of melanoma biology, has led to the development of a number of new potential therapeutic agents. Many of these compounds are being tested in early phase of clinical trials, some have already reach phase III. In August 2011 the FDA approved a new drug - Wemurafenib (PLX4032) to treatment unresectable and/or metastatic melanoma. The current article is an overview of the major proteins, signaling pathways and networks involved in the development and progression of melanoma, with particular emphasis on elements that are the most promising targets for anticancer therapy.

Key words: melanoma, targeted therapy

Wykaz stosowanych skrótów: **17-AAG** – 17-allylamino-17-demetoksygeldanamycyna, **Akt** – kinaza serynowo-treoninowa, zwana również kinazą białkową B, **Bax, Bak, Bok** – proapoptotyczne białka należące do rodziny białek Bcl-2, **Bcl-2** – (ang. *B cell lymphoma antigen-2*) – białko antyapoptotyczne, **Bcl-xL, Bcl-w, Mcl-1 i A1** – antyapoptotyczne białka należące do rodziny białek Bcl-2, **BRAF** – (ang. *BRAF – v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1*) – protoonkogenna kinaza serynowo-treoninowa, **CDK4** – (ang. *cyclin dependent kinase 4*) – cyklicznie zależna kinaza 4,

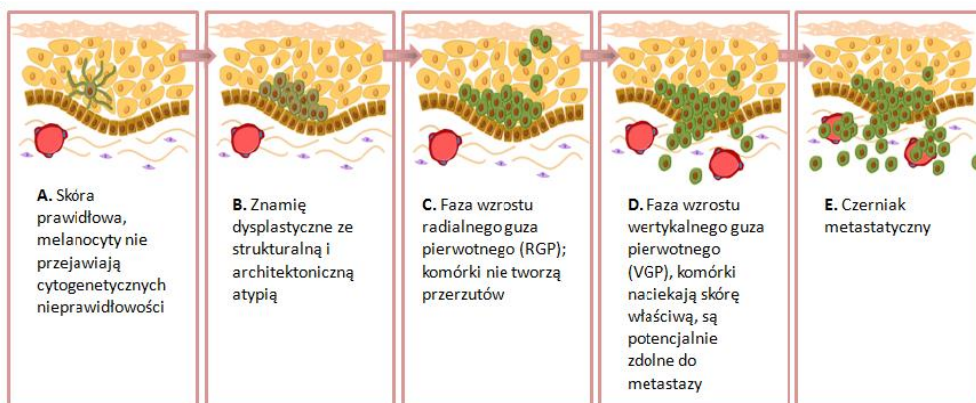
Cdk4 – (ang. *cyclin-dependent kinase 4*) – kinaza 4 zależna od cyklin, **c-KIT** – receptor o aktywności kinazy tyrozynowej, **CSD** – (ang. *chronic sun-induced damage melanoma*) – czerniak na skórze z chronicznymi uszkodzeniami wywołanymi przez promieniowanie słoneczne, **DTIC** – czynnik alkilujący, dakarbazyna (5-[3,3-dimetylo-1-triazenylo]imidazolo-4-karboksyamid), **ErbB** – rodzina receptorów epidermalnego czynnika wzrostu, **ERK** – (ang. *extracellular signal-regulated kinase*) – kinaza aktywowana przez czynniki pozakomórkowe, **FGFR** – receptor czynnika wzrostu fibroblastów (ang. *fibroblast growth factor receptor*), **GTPaza** – hydrolaza guanozyno-3-fosforanu, **HIF1 α** – (ang. *hypoxia-inducible factor 1-alpha*) – czynnik 1 α indukowany hipoksją, **Hsp90** – (ang. *heat shock protein 90*) – białko szoku cieplnego 90, **IFN- α** – interferon alfa, **IGF** – (ang. *insulin-like growth factor*) – insulinopodobny czynnik wzrostu, **IL-2** – interleukina 2, **JAK** – (ang. *Janus tyrosine kinase*) – kinaza tyrozynowa Janusa, **MAPK** – (ang. *mitogen-activated protein kinase*) – kinaza białkowa aktywowana przez mitogeny, **MEK** – kinaza kinaz MAP-Erk, **MITF** – (ang. *microphthalmia associated transcription factor*) – czynnik transkrypcyjny, **mLST8** – (ang. *mammalian lethal with SEC13 protein 8*) – białko wchodzące w skład kompleksów mTORC1 i mTORC2, **mTOR** – (ang. *mammalian target of rapamycin*) – kinaza serynowo-treoninowa zwana ssaczym celem rapamycyny, **mTORC1 i mTORC2** – dwa różne kompleksy białkowe w skład których wchodzi m.in. kinaza mTOR, **NF- κ B** – (ang. *nuclear factor kappa B*) – czynnik transkrypcyjny, **NGF** – (ang. *nerve growth factor*) – czynnik wzrostu nerwów, **NK** – (ang. *natural killer*) – komórki układu opornościowego, nazywane naturalnymi zabójcami, **NRAS** – (ang. *neuroblastoma RAS*) – onkogen, **PDGFR** – (ang. *platelet derived growth factor receptor*) – receptor płytkopochodnego czynnika wzrostu, **PI3K** – kinaza-3-fosfoinozytoli, **PKB α** – (ang. *protein kinase B alpha*) – kinaza białkowa B alfa, **PTEN** – (ang. *phosphatase and tensin homologue deleted*) – białko supresorowe, fosfataza kinazy PI3K, **Puma, Noxa, Bid, Bim, Bmf, Bad, Bik i Hrk** – proapoptotyczne białka, należące do rodziny białek Bcl-2, posiadające jedną domenę BH3, **RAF** – (ang. *Ras-activated factor*) – kinaza serynowo-treoninowa aktywowana białkiem RAS, **RAS** – (ang. *RAt sarcoma*) – białko należące do rodziny małych białek o aktywności GTPaz, **STAT** – (ang. *signal transducers and activator of transcription*) – czynnik transkrypcyjny, transduktor sygnału i aktywator transkrypcji, **TRAIL** – (ang. *tumor necrosis factor related apoptosis-inducing ligand*) – indukujący apoptozę ligand czynnika martwicy nowotworu, **VEGF** – (ang. *vascular endothelial growth factor*) – czynnik wzrostu śródbłonnka naczyń, **VEGFR** – (ang. *vascular endothelial growth factor receptor*) – receptor czynnika wzrostu śródbłonnka naczyń

WSTĘP

Czerniak (*melanoma*) to jeden z najgroźniejszych nowotworów skóry. Wywodzi się z melanocytów, wyspecjalizowanych komórek produkujących melaninę – barwnik nadający kolor skórze i włosom. Ponad 90% wszystkich czerniaków rozwija się na skórze, głównie w obszarze znamion barwnikowych ale mogą również umiejscawiać się wszędzie tam, gdzie występują melanocyty: wewnątrz gałki ocznej, w jamie ustnej, przełyku i krtani oraz na błonach śluzowych narządów płciowych, żołądka, jelit i odbytu (ryc. 1).

Największe ryzyko rozwoju czerniaka występuje u osób z rodzinną historią nowotworu (ok. 10% przypadków), posiadających łagodne lub atypowe znamiona. Również fenotyp charakteryzujący się jasną karnacją, rudymi lub blond włosami i licznymi piegami sprzyja rozwojowi nowotworu [61]. Immunosupresja, wrażliwość na promienie słoneczne oraz ekspozycja na promieniowanie UV są kolejnymi czynnikami ryzyka.[63, 86]. Z roku na rok wzrasta zachorowalność na czerniaka. Chociaż stanowi on jedynie 4% złośliwych nowotworów skóry, to

odpowiada za 79% zgonów przez nie spowodowanych [62]. Średnio rocznie na nowotwór ten zapada na świecie 4-12 osób na 100 tys. mieszkańców. Najwyższy współczynnik zachorowań stwierdzono w Australii, w Queensland 40-60 przypadków na 100 tys. osób rocznie. W krajach europejskich najczęściej zachorowań notuje się w Skandynawii (15 na 100 tys.), a najmniej w krajach śródziemnomorskich (5-7 na 100 tys.). Polska należy do krajów o niskim wskaźniku zachorowalności na czerniaka (2-5 na 100 tys.), jednak stosunek śmiertelności do zachorowalności jest wyższy niż w krajach Europy Zachodniej [110]. Prognozy dla pacjentów nie byłyby tak ponure, gdyby udało się ich zdiagnozować w stadiach, kiedy nowotwór nie daje jeszcze przerzutów. Chirurgiczna interwencja jest skuteczna w 95% przypadków nowotworu pierwotnego - w I i II stadium choroby, jednakże nierzadko pacjenci zgłaszają się do lekarza w IV stadium choroby, często z odległymi przerzutami np. do mózgu, płuc, wątroby lub kości, kiedy radykalna terapia nie jest już możliwa [4, 89]. W przeciągu ostatnich 30 lat zanotowano jedynie niewielki postęp w leczeniu przerzutuującego czerniaka [76]. Komórki tego nowotworu nie wykazują lub wykazują tylko w nieznacznym stopniu wrażliwość na działanie obecnie dostępnych chemoterapeutyków (szereg leków stosowanych z powodzeniem w walce z innymi nowotworami nie działa w przypadku czerniaka). Szacuje się, że 5 lat życia ma przed sobą mniej niż 10% pacjentów ze zdiagnozowanym czerniakiem przerzutuującym [58, 87, 102]. Jak dotąd profilaktyka i wczesne rozpoznanie stanowią najważniejszy element w walce z tym nowotworem [67].



RYCINA 1. Fazy rozwoju czerniaka w oparciu o kliniczne i histopatologiczne zmiany
 FIGURE 1. Phases of melanoma development based on clinical and histopathological changes

KONWENCJONALNA TERAPIA CZERNIAKA

Pomimo tego, że nasza wiedza na temat biologii i rozwoju czerniaka sukcesywnie wzrasta, wciąż brakuje skutecznych leków. Pocieszający jest jednak

fakt, że wiele obiecujących metod terapeutycznych znajduje się już w fazie badań klinicznych. Terapia systemowa jest główną metodą stosowaną u pacjentów w IV stadium nowotworu. Do terapii systemowej zaliczamy: chemoterapię cytotoksyczną i immunoterapię lub ich kombinację, tzw. biochemoterapię. Czynniki alkilujące, dakarbazyna (5-[3,3-dimetylo-1-triazenylo]imidazolo-4-karboxamid, DTIC), jest obecnie głównym cytotoksycznym chemoterapeutycznym stosowanym w leczeniu czerniaka [61, 64]. Podawana jest dożylnie. Analiza 23 randomizowanych monoterapii z użyciem dakarbazyny pokazała, że obiektywną odpowiedź na stosowany terapeutyk wykazało 15,3 % spośród 1 390 pacjentów (w tym 11,2 % - częściową odpowiedź, 4,2 % - odpowiedź całkowitą) [6]. Intensywnie badanym pod kątem terapii czerniaka złośliwego był również, podawany doustnie, analog dakarbazyny - temozolomid. Temozolomid ma zdolność penetracji przez barierę krew-mózg, co wiąże się z większym prawdopodobieństwem oddziaływania tego leku na przerzuty czerniaka do centralnego układu nerwowego. Obecnie prowadzi się także randomizowane badania kliniczne nad szeregiem innych substancji mogących pomóc w walce z czerniakiem i to zarówno pod kątem monoterapii, jak i terapii kombinowanych [35]. Do takich czynników zaliczyć można: pochodne nitrozomocznika (karmustyna, lomustyna), taksany (taksol, docetaksel), alkaloidy barwinka (winkrystyna, winblastyna), jak również nieorganiczne związki chemiczne platyny (cisplatyna, karboplatyna) oraz inne standardowe leki, t.j. doksorubicyna i etopozyd. Próby stosowania schematów wielolekowych nie przyniosły, oprócz nieco wyższego odsetka odpowiedzi klinicznej na leczenie, poprawy w długości czasu przeżycia chorych na czerniaka, nasiliły natomiast toksyczność terapii [71, 78].

W leczeniu zaawansowanego stadium czerniaka stosuje się obecnie dwa zaaprobowane przez Organizację do Spraw Żywności i Leków (FDA – *ang. Food and Drug Administration*) immunoterapeutyki: IFN- α 2 β i IL-2. Zastosowanie wysokiej dawki IL-2 prowadzi do całkowitego wyleczenia jedynie niewielkiej liczby pacjentów, jest natomiast silnie toksyczne.

Termin biochemoterapia odnosi się do terapii kombinowanej z użyciem czynników cytotoksycznych z IFN- α i/lub IL-2. Wydaje się, że biochemoterapia może mieć wpływ na wzrost odpowiedzi nowotworu na leczenie w porównaniu z chemoterapią, ale wiąże się ze znacznym wzrostem toksyczności bez obiektywnych korzyści w przeżywalności pacjentów [105]. Nowym czynnikiem użytecznym w walce z zaawansowanym czerniakiem jest Ipilimumab. Ipilimumab to ludzkie monoklonalne przeciwciała anty CTLA-4 (*ang. cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4*). Przeciwciała te wiążąc antygen CTLA-4 na powierzchni cytotoksycznych limfocytów T zwiększają ich aktywność i tym samym zdolność do atakowania komórek nowotworowych. Uważa się, że Ipilimumab jest pierwszym lekiem, który prowadząc do wydłużenia czasu życia chorych, przyniósł długo oczekiwany przełom w leczeniu zaawansowanego czerniaka. W marcu 2011

roku został zatwierdzony przez FDA jako lek w terapii zaawansowanego czerniaka [1, 50,].

Poznanie sieci sygnalizacyjnej oraz identyfikacja szlaków zaangażowanych w rozwój i wzrost nowotworów otwierają drogę tzw. terapii celowanej. Wiele czynników, tj. przeciwciała monoklonalne, nukleotydy antysensowne i inhibitory kinaz tyrozynowych, jest dopuszczonych do badań klinicznych, a nad wieloma innymi trwają badania laboratoryjne (tab. 1).

TABELA 1. Czynniki terapeutyczne dla zaawansowanego czerniaka – testowane klinicznie.
TABLE 1. Therapeutic agents for advanced melanoma – clinically tested

Lek	Cel
	szlak sygnalizacyjny NRAS/BRAF/MEK/ERK
AZD6244	MEK
PLX4032 i...	RAF
R115777/Tibifarnib	RAS
RAF-265	RAF
Sorafenib	RAF, VEGFR, PDGFR
	szlak sygnalizacyjny PI3K/AKT
CCI-779/Temsirolimus	mTOR
GDC-0941	PI3K
GSK1059615	PI3K
NVP BEZ235, NVP	PI3K
BGT 226	
PX-866	PI3K
RAD001/Everolimus	mTOR
SF1126	PI3K
XL-147, XL-765.6	PI3K
ZSTK474	PI3K
	apoptoza
G4 AS ODN	XIAP
Oblimersen	Bcl-2
YM115	Surwiwina
	szlaki naprawy DNA
AG014699	PARP
Lomeguatrib	MGMT
	angiogeneza
AG013736/Axitinib	VEGFR
Bevacizumab	VEGFR (mAb)
EMD 121974	VEGFR
	szlak ubiquitytacji w proteasomach
Bortezomib/PS-341/Velcade	proteasom
	inne szlaki sygnalizacyjne
17AAG/Tanespimycyna	Hsp90
5-Aza-2'deoksy cytydyna	metylacja DNA
BMS-345541	IκB
CNT095	Podjednostka integrynowa α _v (mAb)
PD0332991	CDK4/6
Vitaxin/MEDI 522	Integryna α _v β ₃ (mAb)

GLÓWNE SZLAKI SYGNALIZACYJNE ZAANGAŻOWANE W ROZWÓJ CZERNIAKA I NAJWAŻNIEJSZE CELE TERAPII TEGO NOWOTWORU

Kaskada sygnalizacyjna RAS/RAF/MEK/ERK

Spośród wszystkich szlaków sygnalizacyjnych konstytutywnie aktywowanych w czerniaku największą uwagę skupiono obecnie na szlaku MAPK. Kaskada sygnalizacyjna białek RAS/RAF/MEK/ERK, która jest ważnym regulatorem wzrostu, przetrwania i ruchliwości komórek, ulega hiperaktywacji w 90 % przypadków ludzkich czerniaków [7, 37] (ryc. 2).

Najlepiej poznaną, w przypadku czerniaka, rolę sygnalizacji z udziałem MAPK jest regulacja podziału komórkowego, głównie w punkcie kontrolnym G₁. Przejście z fazy G₁ do S odbywa się z udziałem kinaz CDK4 i CDK6 oddziałujących z cykliną D1, jak również CDK2 oddziałującej z cyklinami A/E. Konstytutywna aktywacja szlaku MAPK prowadzi do wzmocnienia ekspresji cykliny D1 i ujemnej regulacji białka p27 w komórkach czerniaka. Aktywność kaskady MAPK wpływa również częściowo na proces programowanej śmierci komórkowej, prowadząc np. do supresji indukowanej przez TRAIL apoptozy [28, 40, 94].

W warunkach fizjologicznych do aktywacji szlaku MAPK dochodzi w wyniku związania zewnątrzkomórkowego liganda przez właściwy dla niego receptor o aktywności kinazy tyrozynowej (np. PDGFR, VEGFR, FGFR, c-KIT). Następnie, z udziałem białka RAS, dochodzi do transdukcji sygnału i uruchomienia białek efektorowych, m.in. białka RAF, co skutkuje sekwencyjną aktywacją kinaz MEK, a następnie ERK. Kinazy ERK wpływają na aktywność szeregu czynników cytoplazmatycznych lub migrują do jądra komórkowego, gdzie odpowiadają za transkrypcję wielu genów [15, 44, 88].

Pierwszym opisanym w 1984 r. onkogenem czerniaka było białko NRAS, aktywujące kaskadę MAPK. NRAS należy do rodziny małych (ok. 21 kDa) białek o aktywności GTPaz [47]. Pomimo tego, że w ludzkich nowotworach dochodzi najczęściej do mutacji w genie *KRAS*, mutacje w innych, niż *NRAS*, izoformach *RAS* są rzadkie w przypadku czerniaka. Obecnie zmiany w NRAS obserwuje się w 10-25 % wszystkich czerniaków i zazwyczaj są to mutacje prowadzące do substytucji leucyny glutaminą w pozycji 61 łańcucha białkowego (często obserwuje się również mutacje w kodonach 12 i 13) [41, 101, 102]. Pierwszymi zastosowanymi czynnikami działającymi na szlak MAPK były inhibitory transferazy farnezylowej RAS (m.in. Tipifarnib, Lonafarnib), blokujące potranslacyjną modyfikację białka RAS – farnezylację, które uniemożliwiały translokację białka do błony komórkowej i tym samym hamowały jego aktywność [52, 93, 95]. Jako monoterapeutyki, inhibitory te nie były efektywne zarówno w terapii czerniaka, jak i innych nowotworów, w których obserwuje się mutacje w genie *RAS*. Sugeruje się, że toksyczność limitująca dawkę tych terapeutyków

wiąże się z obecnością dużej grupy innych prawidłowych białek komórkowych, które ulegają farnetylacji, jako potranslacyjnej modyfikacji [53].

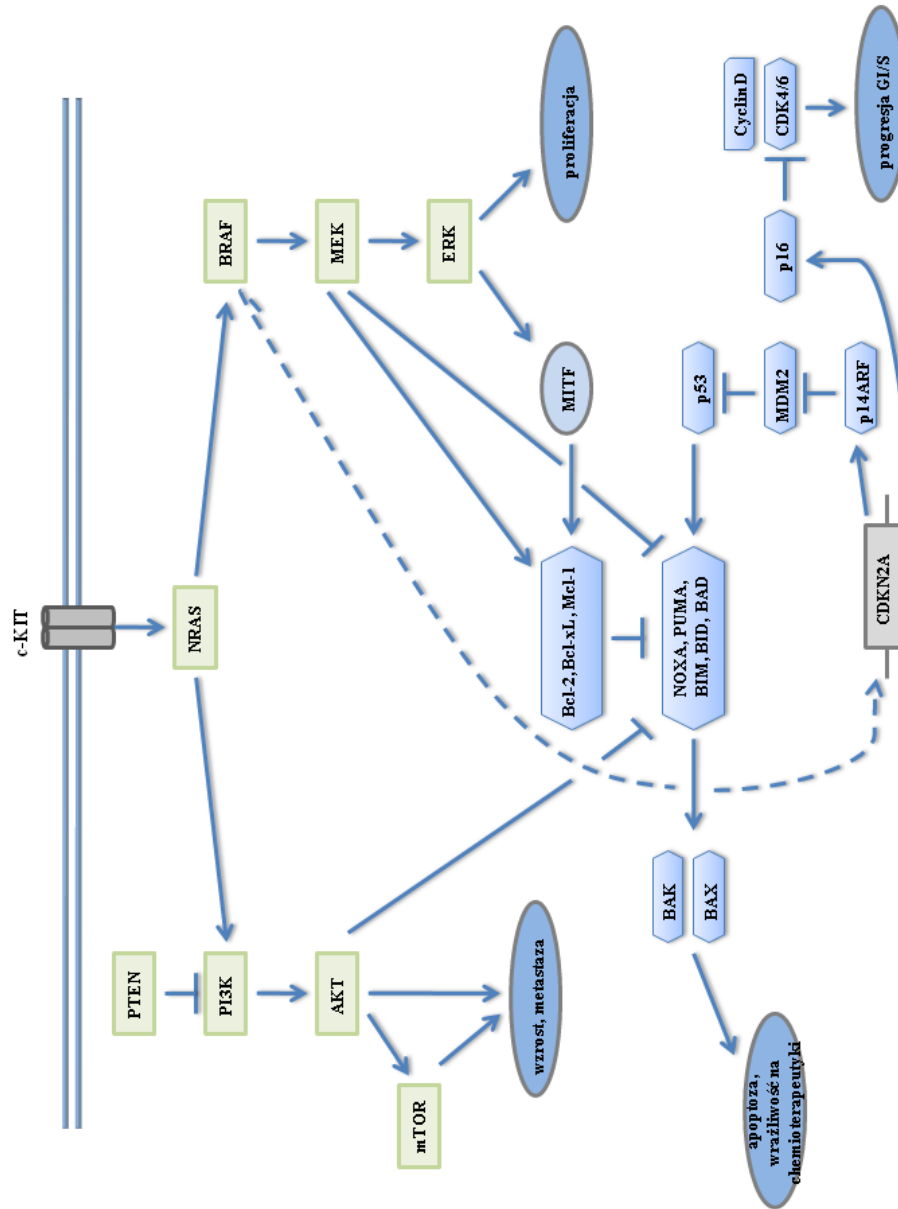
Najlepiej scharakteryzowanymi efektorami RAS są białka RAF i kinaza-3-fosfoinozytoli (PI3K) [41]. U ssaków zidentyfikowano trzy silnie konserwatywne geny *RAF*: *ARAF*, *BRAF*, *CRAF* (*Raf-1*). Pomimo że poszczególne izoformy ulegają zróżnicowanemu profilowi ekspresji, wszystkie białka RAF są zdolne do aktywacji szlaku MAPK [52]. Mutacje *ARAF* i *CRAF* są rzadko spotykane w ludzkich nowotworach, z kolei mutacje aktywujące *BRAF* wykazano m.in. w rakach jelita grubego, przewodów żółciowych i tarczycy, jak również w nowotworach jajników i płuc. W komórkach czerniaka białko to ulega zmianom w ok. 50 – 70% przypadków [28, 80]. Opisano ponad 100 możliwych mutacji w genie *BRAF*, ale najczęstszą, stanowiącą ok. 80% wszystkich jego mutacji w nowotworach, jest mutacja prowadząca do substytucji waliny kwasem glutaminowym w pozycji 600 (V600E) [19, 45, 91, 100]. Mutacja ^{V600E}*BRAF*, obecna w egzonie 15 kodującym domenę kinazową, aktywuje białko i indukuje w komórkach konstytutywną sygnalizację MEK-ERK [66]. Innymi częstymi mutacjami *BRAF* są tzw. warianty V600K i V600D/V600R stanowiące kolejno ok. 16% i 3% wszystkich zmian w białku [28]. Aktywacja *BRAF* prowadzi do indukcji ekspresji MITF (ang. *microphthalmia associated transcription factor*), który, jak wykazano, jest głównym regulatorem melanocytów. Dodatkowo ^{V600E}*BRAF* wpływa na sygnalizację regulującą przeżycie komórek czerniaka. Szereg badań wykazało, że wyciszenie *BRAF* z udziałem siRNA oraz małowcząsteczkowe inhibitory białka indukują apoptozę w komórkach z mutacją ^{V600E}*BRAF* poprzez regulację proapoptotycznych białek Bim, Bmf, Bad [28]. W obrębie pierwotnego skórniego czerniaka najwięcej onkogennych mutacji w obrębie *BRAF* obserwuje się w późniejszych stadiach nowotworu (głównie w fazie wzrostu wertykalnego), dlatego rola *BRAF* w aktywacji i patogenezie czerniaka wydaje się kontrowersyjna [20]. Obserwacje częstych mutacji *BRAF* zarówno w pierwotnych jak i dysplastycznych znamionach sugerują, że mutacje te nie są wystarczające do złośliwej transformacji melanocytów [68]. ^{V600E}*BRAF* ma również swój udział w neoangiogenezie, poprzez stymulację VEGF [81]. Wpływ *BRAF* na proces nowotworzenia przedstawiono między innymi na podstawie badań przeprowadzonych na transgenicznym *Danio přegowanym*. Ryby wykazujące ekspresję ludzkiego ^{V600E}*BRAF* charakteryzowały się wzrostem liczby znamion, w obrębie których komórki przechodziły w stadium zatrzymanego wzrostu. Dodatkowa utrata genu *p53* prowadziła do wykształcenia u transgenicznym *Danio* czerniaka zdolnego do przerzutowania [82]. Zwiększoną liczbę znamion zaobserwowano również u myszy z ekspresją ludzkiego ^{V600E}*BRAF*, a dodatkowa delecja genu *PTEN* podobnie jak utrata genu *p16*, prowadziła u tych zwierząt do rozwoju przerzutującego czerniaka. Jak pokazano, komórki znamion znajdują się w stadium zatrzymanego wzrostu i rzadko przekształcają się w komórki nowotworowe [17, 104]. Wprowadzenie ^{V600E}*BRAF* do melanocytów indukuje zatrzymanie cyklu komórkowego i wejście komórki w tzw. stadium starzenia (ang.

senescence). Badania na zwierzęcych modelach wykazały, że współistniejące mutacje w *p16* i ^{V600E}*BRAF* oraz koincydentalne delecje *PTEN* lub *p53* i mutacja ^{V600E}*BRAF*, wpływają na transformację komórek i rozwój zaawansowanego czerniaka. Obserwacje te prowadzą do wniosku, że pojedyncza mutacja ^{V600E}*BRAF* nie jest wystarczająca do złośliwej transformacji melanocytów [21, 39].

Jednym z najwcześniej zastosowanych klinicznie inhibitorów BRAF był Sorafenib (BAY 43-9006). Lek ten wpływa hamująco również na inne kinazy, t. j. CRAF, VEGFR, PDGFR, p38 α , c-KIT [90, 102]. W monoterapii Sorafenib wykazał nieznaczną aktywność przeciwko czerniakowi. Bardziej zachęcające rezultaty zanotowano w wyniku kombinacji leku z karboplatiną i paklitaksem lub temozolomidem [29, 52]. Porażka Sorafenibu jako monoterapeutyka nie jest w pełni zrozumiała, aczkolwiek w badaniach preklinicznych Sorafenib nie wykazywał selektywności w hamowaniu proliferacji lub indukcji apoptozy w przypadku komórek typu dzikiego i komórek z mutacją *BRAF* [26]. Szereg biopsji nowotworów od wyselekcjonowanych pacjentów z czerniakiem przerzutującym wykazały niekompletną inhibicję szlaku MAPK przy maksymalnej tolerowanej dawce Sorafenibu. Dodatkowo wykazano, że Sorafenib aktywuje w komórkach czerniaka 3-kinazę syntazy glikogenu. Aktywacja kinazy koreluje ze wzrostem ekspresji Bcl-2, Bcl-xL i surwiwiny, co osłabia antynowotworową aktywność Sorafenibu. W ostatnich latach w fazę badań klinicznych weszło wiele bardziej selektywnie oddziałujących z BRAF terapeutyków. Biorąc pod uwagę, że w komórkach czerniaka obserwuje się mutacje *BRAF* głównie w pozycji V600E, skupiono się na opracowaniu inhibitorów specyficznych dla tej zmiany. Obecnie trwają intensywne badania nad specyficznymi inhibitorami ^{V600E}*BRAF*, t.j.: PLX4032 (RG7204, Wemurafenib-Zelboraf, Plexxikon/Roche Pharmaceuticals), jego analogiem - PLX4720 (XL281-Exelixis Inc.) oraz GSK2118436 (GlaxoSmithKline). Niewielka cząsteczka - PLX4032, opracowana techniką krystalograficzną, uważana za najbardziej selektywny inhibitor ^{V600E}*BRAF* (wykazuje około 30 razy silniejszą aktywność w stosunku do ^{V600E}*BRAF* w porównaniu do niezmienionej kinazy [25, 32, 34]), w I fazie badań klinicznych odpowiadała za częściową lub całkowitą regresję nowotworu u 81% pacjentów z zaawansowanym czerniakiem, z mutacją ^{V600E}*BRAF* (zgodnie z kryteriami RECIST – *ang. response evaluation criteria in solid tumors*) [24, 30]. W II fazie badań klinicznych 2,3% pacjentów wykazało całkowitą, a 50% częściową odpowiedź na stosowany terapeutyk. Średni czas życia bez progresji nowotworu wyniósł 6,2 miesiąca. Obiecujące rezultaty badań nad zdolnościami terapeutycznymi PLX4032 zostały potwierdzone w III fazie badań klinicznych i przedstawione na spotkaniu Amerykańskiego Towarzystwa Onkologii Klinicznej 2011 [31, 108]. W dniu 17.08.2011 FDA zarejestrowała Wemurafenib (PLX4032) jako lek do stosowania w pierwszej linii leczenia u pacjentów z nieoperacyjnym lub przerzutującym czerniakiem z obecną mutacją ^{V600E}*BRAF*. Pomimo tego, że zdolność do blokowania zmienionego BRAF przez specyficzne inhibitory wiąże się z regresją złośliwego czerniaka i stanowi jedno z największych osiągnięć

w walce z tym nowotworem, to najprawdopodobniej nie umożliwi całkowitego wyleczenia i może prowadzić do rozwoju wtórnej oporności na terapię. Prowadzone obecnie badania wskazują na istnienie różnych mechanizmów, w wyniku których, po okresie efektywnej terapii, komórki czerniaka stają się odporne na działanie inhibitorów zmienionej kinazy BRAF [54]. Po pierwsze, odporne komórki czerniaka mogą reaktywować sygnalizację MAPK z udziałem CRAF lub ARAF [109]. Komórki te mogą również aktywować receptory kinaz tyrozynowych, tj. PDFR czy IGF-1R, co umożliwi im przeżycie. U pacjentów leczonych PLX4032 znaleziono również wtórne mutacje w *NRAS* [79, 108]. Dodatkowo Johannessen i wsp. (2010) zidentyfikowali MAP3K8 (COT/Tpl2) jako aktywatora MEK prowadzącego do oporności komórek na inhibitory ^{V600E}BRAF w liniach czerniaka i w materiale pochodzącym od pacjentów. Co ważne, we wszystkich analizowanych przypadkach nie zaobserwowano wtórnych mutacji *BRAF*, co sugeruje, że sygnalizacja kompensacyjna z udziałem innych cząsteczek jest głównym powodem oporności [30, 33, 108]. Powyższe obserwacje z pewnością będą miały wpływ na przyszłe badania kliniczne. Identyfikacja specyficznego dla pacjenta mechanizmu prowadzącego do oporności komórek na terapię będzie niewątpliwie pomocna w opracowywaniu strategii walki z nowotworem. Ciągle nie wiadomo, czy terapeutyczna ucieczka jest skutkiem procesu ewolucyjnego komórek czerniaka, czy też wynika z selekcji istniejących już opornych komórek i ich klonalnego wzrostu [108]. Niezwykle istotne w planowaniu terapii są również wyniki badań świadczące o indukcji szlaku MAPK u pacjentów z prawidłowym BRAF lub zmienionym NRAS, poddanych działaniu inhibitorów ^{V600E}BRAF [43, 56, 84].

Pośrednio na aktywność BRAF wpływa również inhibicja białka szoku cieplnego Hsp90. Białko to odpowiada za prawidłową konformację, stabilność i aktywność wielu kluczowych białek sygnalizacyjnych, w tym kinaz: CRAF, AKT, ErbB i Cdk4, receptorów steroidowych - androgenowego i estrogenowego oraz czynników transkrypcyjnych, m.in. HIF1 α . Szereg naturalnych czynników tj. geldanamycyna i radiol, hamuje ATPazową aktywność Hsp90, a w konsekwencji prowadzi do degradacji białek zależnych od czaperonu w szlaku ubikwitynowym. Podczas gdy toksyczność geldanamycyny nie pozwala na zastosowanie terapeutyczne, jej pochodna 17-allylamino-17-demetoksygeldanamycyna (17-AAG), wykazująca aktywność przeciwnowotworową *in vitro*, znajduje się we wstępnych fazach badań klinicznych [10]. Do tej pory wykazano, że inhibicja Hsp90 nie wpływa na stabilność prawidłowego białka BRAF, prowadzi natomiast do degradacji zmutowanego ^{V600E}BRAF. Jednakże, jak zaobserwowano, odpowiedź komórek czerniaka posiadających i nieposiadających mutację ^{V600E}BRAF na 17-AAG, jest podobna. II faza badań klinicznych 17-AAG u pacjentów z przerzutującym czerniakiem nie wykazała obiektywnej antynowotworowej odpowiedzi na terapię. Przypuszcza się, że inhibitory Hsp90 o lepszych właściwościach farmakokinetycznych będą dawały lepsze rezultaty terapii [38, 73].



RYCINA 2. Główne szlaki sygnalizacyjne zaangażowane w rozwój i progresję czerniaka. Wyjaśnienie w tekście
 FIGURE 2. Main signaling pathways involved in the development and progression of melanoma. Details in the text

Badania funkcjonalne wykazały, że większość mutacji *BRAF* to mutacje aktywujące, wzmacniające zdolność białka do fosforylacji MEK. Zdarzają się jednak mutacje (np. D594G i G469E) prowadzące do obniżenia lub zahamowania aktywności kinazowej *BRAF*. Tak zmienione białko nie może bezpośrednio aktywować kinazy MEK, może natomiast uaktywnić białko CRAF na drodze niezależnej od RAS i z jego udziałem wpłynąć na dalszy przekaz informacji szlakiem MAPK [2, 45, 94, 98].

Pomimo tego, że w czerniaku nie obserwuje się mutacji w kinazie MEK - głównym mediatorze onkogennego *BRAF*, stanowi ona potencjalny cel terapii nowotworów posiadających mutacje w *BRAF* i *NRAS*. Komórki czerniaka z mutacjami w *BRAF* wydają się jednak bardziej wrażliwe na inhibicję MEK w porównaniu z komórkami, w których mutacji uległ gen *NRAS* (warto zwrócić uwagę, że w komórkach czerniaka z mutacją w genie kodującym RAS to CRAF, a nie *BRAF*, odpowiada za aktywację MEK [22, 93, 98, 99]).

Do inhibitorów MEK znajdujących się obecnie w fazie badań klinicznych należą m.in. AZD6244 i PD 0325901, które w doświadczeniach *in vitro* prowadziły do zahamowania proliferacji, tworzenia kolonii w ciekłym agarze i inwazji w matryzeli komórek ludzkiego czerniaka z mutacją ^{V600E}*BRAF*, również działały ujemnie na ksenografty czerniaka ^{V600E}*BRAF* [60, 77, 96].

Kaskada sygnalizacyjna PI3K/Akt

W komórkach czerniaka istotną rolę pełni również sygnalizacja z udziałem kinazy 3-fosfoinozytoli (PI3K) [27]. Uruchomienie kaskady sygnalnej PI3K/Akt w komórkach czerniaka zachodzi zarówno na drodze parakrynej, jak i autokrynej, z udziałem czynników wzrostu m.in. IGF. Aktywny RAS indukuje błonową translokację i aktywację PI3K (ryc. 2).

Kinaza ta fosforyluje z kolei bifosfoinozytyle do trifosfoinozytoli, a te prowadzą następnie do aktywacji białka Akt, zwanego również kinazą białkową B. Efektory Akt promują przetrwanie komórki, proliferację i inwazję. Mutacje w genie kodującym jednostkę katalityczną PI3K występują często w przypadku niektórych ludzkich nowotworów, prowadząc do konstytutywnej aktywacji Akt-3, jednakże w komórkach czerniaka częstotliwość ta jest niewielka i wynosi ok. 5%. Pomimo tego, że bezpośrednie mutacje aktywujące PI3K pojawiają się rzadko, w przypadku innych komponentów szlaku zmiany obserwowane są w 50-60% czerniaków [16].

Do rodziny kinaz białkowych serynowo treoninowych Akt należą trzy izoformy: Akt 1/PKB α , Akt 2/PKB β i Akt 3/PKB γ , o różnym wzorze ekspresji w zależności od typu komórki, wykazujące wysokie podobieństwo strukturalne. Ekspresja Akt 3 silnie koreluje z progresją czerniaka, a jej utrata indukuje apoptozę w komórkach czerniaka i redukuje wzrost ksenograftów. Wykazano, że do selektywnej aktywacji Akt 3 dochodzi w przypadku 43-60 % czerniaków. Istnieją dowody, że do nadekspresji Akt 3 może dojść w wyniku amplifikacji genu na

długim ramieniu chromosomu 1, bardzo rzadkiej mutacji aktywującej Akt 3 – E17K i/lub spadku aktywności białka PTEN [17, 72]. Sygnalizacja PI3K/Akt odgrywa również istotną rolę w inicjacji czerniaka. Akt 3 angażując sygnalizację z udziałem Nox, prowadzi do transformacji nowotworowej melanocytów w warunkach hipoksji.

Fosfataza białkowo-lipidowa PTEN – homolog tensyny jest jednym z najważniejszych regulatorów Akt. Do funkcji PTEN (*ang. phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10*) należą m.in.: zahamowanie sygnalizacji PI3K poprzez defosforylację trifosforanów inozytoli do difosforanów inozytoli, zatrzymanie cyklu komórkowego, pozytywna regulacja aktywności białek proapoptotycznych a negatywna białek antyapoptotycznych z rodziny Bcl-2 [69, 75]. Ekspresja PTEN jest obniżona lub całkowicie zahamowana w przypadku około 50% czerniaków, nawet kiedy nie występują bezpośrednie mutacje w genie ją kodującym [47]. Wydaje się, że w inaktywacji PTEN znaczną rolę odgrywają czynniki epigenetyczne. Badania wskazują na istotny udział PTEN w aktywacji szlaku PI3K/Akt w czerniaku nie posiadającym mutacji w *NRAS* [12]. Zaobserwowano, że mutacje w *NRAS* i *PTEN* nie występują razem, podobnie jak mutacje w *NRAS* i *BRAF*. Z kolei współwystępowanie mutacji w *BRAF* i *PTEN* obserwuje się w około 20% przypadków czerniaka. Aktywacja PI3K zachodzi z udziałem *NRAS* lub poprzez utratę funkcji PTEN [9].

Aktywne białko Akt posiada szereg różnych enzymatycznych substratów, m.in.: Mdm2, prokaspazę 9, mTOR (*ang. mammalian target of rapamycin*) i p27; wiele z nich wpływa na proliferację i przeżycie komórek nowotworowych. Obecne badania wskazują również na rolę Akt 3 w aktywacji ważnego plejotropowego czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, zaangażowanego w kontrolę proliferacji komórki i apoptozę. Akt wpływa na oporność komórek nowotworowych na indukcję apoptozy, promując m.in. ekspresję Bcl-2 i hamując ekspresję proapoptotycznego białka Bad [94].

Pomimo tego, że bezpośrednio celowanie w Akt niesie ze sobą teoretycznie terapeutyczne korzyści dla chorych z czerniakiem, to obecność w obrębie wszystkich trzech izoform Akt (Akt 1, 2, 3) silnie konserwatywnego regionu wiążącego ATP sprawia trudności w specyficznej inhibicji Akt 3 i skutkuje cytotoksycznością [10]. W związku z tym, skupiono się na bezpośrednim substracie Akt 3 – białku mTOR. Konserwatywna kinaza serynowo-treoninowa mTOR jest efekтором szlaku PI3K/Akt i głównym regulatorem przeżycia, wzrostu, proliferacji i ruchliwości komórki w odpowiedzi na mitogeny i poziom związków odżywczych w komórce. mTOR reguluje wzrost komórki poprzez kontrolę metabolizmu, translacji mRNA, biogenezę rybosomów i autofagię [8, 36, 66]. Kinaza ta formuje dwa różne kompleksy sygnalizacyjne: mTORC1 i mTORC2. W skład kompleksu mTORC1 oprócz kinazy mTOR, wchodzi również białka regulatorowe raptor, DEPTOR, mLST8 i PRAS40, natomiast kompleks mTORC2 tworzą białka: mTOR, mLST8, rictor i mSin-1. Kinaza mTOR może wpływać na aktywność Akt 3 na zasadzie bezpośredniej pętli zwrotnej, zarówno

pozytywnie, jak i negatywnie, w zależności od kompleksu sygnalizacyjnego, w skład którego wchodzi. Kompleks mTORC1 jest supresorem Akt 3, a mTORC2 stymulatorem [65, 70, 74, 83]. Obecnie testowanymi lekami hamującymi sygnalizację z udziałem szlaku PI3K są inhibitory mTOR: CCI-779 (Temsirolimus) i RAD001 (Everolimus) [37]. Obecność dowodów na kooperację pomiędzy mutacjami *BRAF* (stymulacja szlaku MAPK) i mutacjami *PTEN* (stymulacja szlaku PI3K) sugeruje, że równoczesna inhibicja białek obu kaskad sygnalizacyjnych może dać synergistyczny efekt. Trwają testy kliniczne z udziałem CCI-779 i Sorafenibu [57, 106].

Receptor KIT

W komórkach czerniaka, zróżnicowanej ekspresji, ulega szereg receptorów dla czynników wzrostu, między innymi: EGFR, PDGFR i KIT. KIT - receptor o aktywności kinazy tyrozynowej odgrywa istotną rolę we wzroście i przeżyciu melanocytów, komórek hematopoetycznych i komórek płciowych. Aktywacja błonowego c-KIT skutkuje stymulacją szlaków sygnalizacyjnych MAPK i PI3K-AKT, wpływając tym samym na proliferację i przeżycie komórek czerniaka. C-KIT ulega ekspresji w prawidłowych melanocytach, łagodnych i dysplastycznych znamionach, ale pierwotnie i zdolne do przerzutowania komórki czerniaka non CSD wykazują znikomą ekspresję tego receptora [109, 111]. Mutacje w *c-KIT* zaobserwowano w 17 % czerniaków CSD, 11% czerniaków akralnych, 21 % czerniaków błon śluzowych i mniej niż 1 % czerniaków non CSD. Występuje również wiele przypadków nowotworów, gdzie *c-KIT* ulega amplifikacji, ale nie w wyniku mutacji, a w konsekwencji zmian epigenetycznych. Tak więc całkowity odsetek zmian *c-KIT* (mutacje, amplifikacje) obserwuje się w 39% czerniaków błon śluzowych, 36% czerniaków akralnych i 28% czerniaków rozwijających się na skórze z chronicznymi słonecznymi uszkodzeniami. Komórki czerniaka non CSD (najczęściej diagnozowanego typu czerniaka) wykazują znikomą ekspresję c-KIT [13, 14] (tab. 2).

Badania immunohistochemiczne wykazały, że w 79% nowotworów z mutacjami i w 53% nowotworów z wieloma kopiami *cKIT* dochodzi do zwiększonej ekspresji białka [47]. Wykazanie różnic pod względem ekspresji c-KIT w populacjach czerniaka może tłumaczyć negatywne wyniki wstępnych badań klinicznych z użyciem inhibitora c-KIT – Imatynibu na grupie pacjentów nie poddanej selekcji ze względu na poziom ekspresji receptora [5]. Zasadność wykorzystania c-KIT jako terapeutycznego celu w leczeniu czerniaka wykazały dwa raporty z przypadków klinicznych, gdzie Imatynib prowadził do regresji nowotworu u pacjentów z aktywującą c-KIT mutacją. Nie jest obecnie jasne, czy to wysoki poziom białka, czy też mutacje aktywujące receptor wróżą efektywną odpowiedź komórek na Imatynib. Maksymalne korzyści z przyjmowania Imatynibu wydają się mieć pacjenci z czerniakami, u których c-KIT stanowi główny punkt węzłowy sygnalizacji zaangażowanej w przetrwanie i wzrost

komórki [3, 49]. Traktowanie komórek czerniaka posiadających mutacje aktywujące c-KIT Imatynibem prowadzi do symultanicznej inhibicji kaskad sygnalizacyjnych: MAPK, PI3K/Akt i JAK/STAT [55, 94]. Supresja wszystkich tych szlaków powoduje zatrzymanie cyklu komórkowego, apoptozę, związana jest również z obniżeniem ekspresji białka Bcl-2, surviviny i Mcl-1. Pomimo że komórki czerniaka c-KIT zależnego wciąż wymagają sygnalizacji z udziałem kinazy MEK to inhibicja MEK daje jedynie efekt cytostatyczny, natomiast blokada sygnalizacji z udziałem c-KIT w tych samych komórkach prowadzi do apoptozy [59, 97].

TABELA 2. System klasyfikacji czerniaka wg Borisa Bastiona – opiera się o różnice we wzorze chromosomalnych aberracji i mutacji onkogenów tj. *BRAF*, *NRAS* i *KIT* w komórkach, korelujące z miejscem rozwoju nowotworu pierwotnego i stopniem uszkodzeń otaczającej skóry, indukowanych ekspozycją na słońce

TABLE 2. Boris Bastion's melanoma classification – based on differences in the pattern of chromosomal aberrations and mutations of oncogenes such as *BRAF*, *NRAS*, and *KIT* in cells, correlating with the development of the primary tumor site and degree of skin damage, induced by exposure to the sun

I. Czerniak na skórze z chronicznymi uszkodzeniami

wywołanymi przez promieniowanie słoneczne

- czerniak CSD (*ang. chronic sun-induced damage*)

II. Czerniak na skórze nie uszkodzonej przez promieniowanie słoneczne

- czerniak non CSD

III. Czerniak na dłoniach, podszwach stóp i łożysku paznokci

- czerniak akralny (*ang. acral melanoma*)

IV. Czerniak błon śluzowych

(*ang. mucosal melanoma*)

Rodzina białek Bcl-2

Rodzinę białek Bcl-2 można podzielić na trzy funkcjonalne grupy: białka antyapoptotyczne: Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w, Mcl-1 i A1, białka proapoptotyczne: Bax, Bak i Bok, oraz białka proapoptotyczne z jedną domeną BH3: Puma, Noxa, Bid, Bim, Bmf, Bad, Bik i Hrk. Komórka kontroluje proces apoptozy utrzymując ekspresję pro i antyapoptotycznych białek na odpowiednim poziomie [11, 23, 42]. Z prowadzonych na szeroką skalę badań nad białkiem Bcl-2 w komórkach

czerniaka wyciągnięto pewne sprzeczne wnioski. Ramsay i wsp. wykazali techniką immunohistochemiczną ekspresję Bcl-2 w 100 % melanocytów i pierwotnych znamion oraz zmniejszoną syntezę Bcl-2 w komórkach pierwotnych i przerzutujących czerniaków. Podobne wyniki opublikowali Saenz-Santamaria oraz Collins i Cerroni z współpracownikami. Tang i wsp. donieśli, że w komórkach czerniaka dochodzi do obniżenia ekspresji Bcl-2, natomiast do nadekspresji białek Bcl-xL i Mcl-1. Leitner i wsp. pokazali natomiast zwiększoną ilość Bcl-2 i Bcl-xL w komórkach zaawansowanego czerniaka [112]. Zakrojona na szeroką skalę III faza badań klinicznych nad Oblimersenem - antysensownym oligonukleotydem hamującym działanie Bcl-2, z udziałem 771 pacjentów z zaawansowanym czerniakiem nie potwierdziła wpływu badanego czynnika na zwiększenie wrażliwości czerniaka na działanie dakarbazyny oraz na długość życia pacjentów. Retrospektywna analiza danych wykazała jednak, że pewne korzyści z terapii – Oblimersen plus dakarbazyna mogą osiągnąć pacjenci z niskim poziomem dehydrogenazy mleczanowej w osoczu [51, 61, 106]. Prawdopodobnie niepowodzenia badań klinicznych nad inhibicją Bcl-2 z udziałem Oblimersenu wynikają z błędnego założenia, że we wszystkich czerniakach poziom Bcl-2 jest jednakowo wysoki [10]. Jednak niezaprzeczalnie białko Bcl-2 pełni w skórze fizjologicznie istotną rolę. W odpowiedzi na promieniowanie UV, keratynocyty uwalniają na zewnątrz komórki czynnik NGF, który wiąże się do receptorów na powierzchni melanocytów i prowadzi do zwiększenia poziomu ekspresji Bcl-2, a tym samym wzmacnia oporność komórek na apoptozę. Wysoki poziom białka Bcl-2 opisano zarówno w komórkach czerniaka jak i melanocytach, co wyjaśnia w pewnym stopniu zjawisko oporności tych komórek na fizjologiczne i terapeutyczne czynniki indukujące apoptozę. Pomimo ogólnie akceptowanej roli Bcl-2 w przeżyciu melanocytów, jego związek z chemoopornością przerzutujących czerniaków wydaje się niejasny, ponieważ ekspresja Bcl-2 nie jest prognostyczna dla pierwotnego czerniaka, a w komórkach zaawansowanego czerniaka obserwuje się znaczny spadek ekspresji tego białka, co sugeruje, że inni członkowie rodziny białek Bcl-2 przejmują jego funkcje w tych komórkach. W przerzutujących czerniakach obserwuje się wzrost ekspresji białek Bcl-xL i Mcl-1 [23]. Szereg badań wykazało, że za oporność komórek czerniaka na tradycyjną terapię oraz terapię celowaną jest odpowiedzialne głównie białko Mcl-1. Mcl-1 posiada pewne cechy umożliwiające wykorzystanie go jako atrakcyjnego celu w terapii czerniaka. Białko to ulega silnej ekspresji we wszystkich stadiach choroby, jest selektywnym inhibitorem proapoptotycznego białka Bak, dodatkowo wykazuje różnice strukturalne w stosunku do innych członków rodziny Bcl-2. W prawidłowych warunkach Mcl-1 ulega degradacji w proteasomach, jednakże w odpowiedzi na zastosowanie czynników będących inhibitorami proteasomów, tj. np. Bortezomib, wzrasta jego poziom w komórce. Wydaje się, że inhibicja Mcl-1 może wpłynąć na wzrost efektywności Bortezomibu w terapii czerniaka. Dotychczasowe badania pokazują, że inhibicja Mcl-1 prowadzi do wzrostu wrażliwości komórek nowotworowych na tradycyjną chemoterapię [76].

W komórkach czerniaka ulegają również ekspresji takie proapoptotyczne białka jak Bax, Bid, Bad, PUMA i Noxa, ale nie Bcl-xs i Bik. Aktywność niektórych z nich może wzrastać podczas chemoterapii (np. taurolidyna prowadzi do wzrostu ekspresji białka Bax, natomiast Bortezomib indukuje ekspresję Noxa). Ujemna regulacja proapoptotycznych białek Bax i Bak w pierwotnym czerniaku stanowi niesprzyjający pacjentom czynnik prognostyczny [112].

PODSUMOWANIE

Transformacja nowotworowa melanocytów polega na sekwencyjnej akumulacji szeregu genetycznych i molekularnych zmian. Poznanie procesów biologicznych i identyfikacja szlaków sygnalizacyjnych kluczowych w inicjacji i progresji czerniaka jest niezbędna dla rozwoju nowych terapii [48]. Wyniki prowadzonych obecnie badań sugerują, że celowanie tylko w jedną komponentę złożonej sieci sygnalizacyjnej czerniaka może nie wystarczyć do uzyskania oczekiwanych korzyści terapeutycznych. Wydaje się, że dopiero skoordynowana blokada kilku ścieżek sygnalizacyjnych na raz może prowadzić do uzyskania odpowiedzi czerniaka na leczenie. Terapia antynowotworowa niesie ze sobą szereg skutków ubocznych. Kojarzenie leków „celujących” w różne punkty sieci sygnalizacyjnej nowotworu, z pewnością, przyczyni się do gwałtownego wzrostu toksyczności terapii, co niewątpliwie, staje się kolejnym wyzwaniem w walce z czerniakiem. Obecnie, pod kątem terapii celowanej czerniaka, prowadzone są intensywnie badania. Szczególną uwagę skupiono na elementach szlaków sygnalizacyjnych RAS/RAF/MEK/ERK i PI3K/Akt. Wiele obiecujących czynników weszło już w fazę badań klinicznych, a jeden z nich Wemurafenib, został niedawno zaaprobowany przez FDA jako lek do walki z czerniakiem.

Staje się jasne, że czerniak to heterogenna grupa nowotworów różniących się wzorem onkogennych mutacji, dlatego w celu dobrania właściwej terapii, niezbędne stają się badania molekularne pacjentów pod kątem konkretnych mutacji. Dodatkowym wyzwaniem w walce z czerniakiem jest konieczność identyfikacji mechanizmów odpowiedzialnych za rozwój oporności komórek w trakcie leczenia oraz opracowania sposobów jej przełamania. Pomimo olbrzymich trudności w zdobywaniu oręża do walki z czerniakiem, nowe informacje na temat maszynerii genetyczno-białkowej nowotworu, będące podstawą rozwoju terapii celowanej pozwalają mieć nadzieję, że już niedługo będzie można skutecznie leczyć pacjentów z zaawansowanym czerniakiem.

LITERATURA

- [1] AGARWALA SS. Current systemic therapy for metastatic melanoma. *Expert Rev. Anticancer Ther* 2009; 9: 587–595.

- [2] ARKENAU HT, KEFFORD R, LONG GV. Targeting BRAF for patients with melanoma. *Br J Cancer* 2011; **104**: 392–398.
- [3] ASHIDA A, TAKATA M., MURATA H, KIDO K, SAIDA T. Pathological activation of KIT in metastatic tumors of acral and mucosal melanomas. *Int J Cancer* 2009; **124**: 862–868.
- [4] BALCH CM, GERSHENWALD JE, SOONG SJ, THOMPSON JF, ATKINS MB, BYRD DR. Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. *J Clin Oncol* 2009; **27**: 6199–6206.
- [5] BEADLING C, JACOBSON-DUNLOP E, HODI FS. KIT gene mutations and copy number in melanoma subtypes. *Clin Cancer Res* 2008; **14**: 6821–6828.
- [6] BHATIA S, TYKODI S, THOMPSON J. Treatment of metastatic melanoma: an overview. *Oncology* 2009; **23**.
- [7] BLOKX W AM, van DIJK M, RUITER DJ Molecular cytogenetics of cutaneous melanocytic lesions – diagnostic, prognostic and therapeutic aspects. *Histopathology* 2010; **56**: 121–132.
- [8] CARRACEDO A, MA L, TERUYA-FELDSTEIN J, ROJO F, SALAMENA L, ALIMONTI A. Inhibition of mTORC1 leads to MAPK pathway activation through a PI3K-dependent feed-back loop in human cancer. *J Clin Invest* 2008; **118**: 3065–3074.
- [9] CHEUNG M, SHARMA A, MADHUNAPANTULA SV, ROBERTSON GP. Akt3 and mutant V600E B-Raf cooperate to promote early melanoma development. *Cancer Res* 2008; **68**: 3429–3439.
- [10] CHIN L, GARRAWAY LA, FISHER DE. Malignant melanoma: genetics and therapeutics in the genomic era. *Genes Dev* 2006; **20**: 2149–2182.
- [11] CRAGG MS, JANSEN ES, COOK M, HARRIS C, STRASSER A, SCOTT CL. Treatment of B-RAF mutant human tumor cells with a MEK inhibitor requires Bim and is enhanced by a BH3 mimetic. *J Clin Invest* 2008; **118**: 3651–3659.
- [12] CULLY M, YOU H, LEVINE AJ. Beyond PTEN mutations: The PI3K pathway as an integrator of multiple inputs during tumorigenesis. *Nat Rev Cancer* 2006; **6**: 184–192.
- [13] CURTIN JA, BUSAM K, PINKEL D, BASTIAN BC. Somatic activation of KIT in distinct subtypes of melanoma. *J Clin Oncol* 2006; **24**: 4340–4346.
- [14] CURTIN JA, FRIDLAND J, KAGESHITA T. Distinct sets of genetic alterations in melanoma. *N Engl J Med* 2005; **353**: 2135–2147.
- [15] CZAJKOWSKI R, PLACEK W, TADROWSKI T, POKRYWCZYŃSKA M, ZEGARSKA B, DREWA T. Geny BRAF, NRAS, HRAS w liniach komórkowych czerniaka ludzkiego. *Przegl Dermatol* 2009; **96**: 265–270.
- [16] DAHL C, GULDBERG P. The genome and epigenome of malignant melanoma. *APMIS* 2007; **115**: 1161–1176.
- [17] DANKORT D, CURLEY DP, CARTLIDGE RA. BRAF (V600E) cooperates with PTEN loss to induce metastatic melanoma. *Nat Genet* 2009; **41**: 544–552.
- [18] DAVIES MA, STEMKE-HALE K, TELLE C, CALDERONE TL, DENG W, PRIETO VG. A novel AKT3 mutation in melanoma tumours and cell lines. *Br J Cancer* 2008; **99**: 1265–1268.
- [19] DEMIERREA MF, SONDAKB VK. Cutaneous melanoma: pathogenesis and rationale for chemoprevention. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 2005; **53**: 225–239.
- [20] DHOMEN N, MARAIS R. New insight into BRAF mutations in cancer. *Current Opinion in Genetics & Development* 2007; **17**: 31–39.
- [21] DHOMEN N, REIS-FILHO JS, DA ROCHA DIAS S. Oncogenic BRAF induces melanocytes senescence and melanoma in mice. *Cancer Cell* 2009; **15**: 294–303.
- [22] DUMAZ N, HAYWARD R, MARTIN J. In melanoma, RAS mutations are accompanied by switching signaling from BRAF to CRAF and disrupted cyclic AMP signaling. *Cancer Res* 2006; **66**: 9483–9491.
- [23] EBERLE J, KURBANOV BM, HOSSINI AM, TREFZER U, FECKER L. Overcoming apoptosis deficiency of melanoma. Hope for new therapeutic approaches. *Drug Res Updates* 2007; **10**: 218–234.
- [24] EGGERMONT AMM. Advances in systemic treatment of melanoma. *Annals of Oncology* 2010; **21**: 339–344.
- [25] FECHER LA, AMARAVADI R, SCHUCHTER LM. Effectively targeting BRAF in melanoma: a formidable challenge. *Pigment Cell Melanoma Res* 2008; **21**: 410–411.
- [26] FECHER LA, CUMMINGS SD, KEEFE MJ, ALANI RM. Toward molecular classification of melanoma. *J Clin Onc* 2007; **25**: 1606–1620.
- [27] FECHER LA, FLACHERTY KT. Where are we with adjuvant therapy of stage III and IV melanoma in 2009? *J Natl Compr Canc Netw* 2009; **7**: 295–304.

- [28] FEDORENKO IV, PARAISO KHT, SMALLEY KSM. Acquired and intrinsic BRAF inhibitor resistance in BRAF V600E mutant melanoma. *Biochem Pharmacol* 2011; **82**: 201–209.
- [29] FLAHERTY KT. Chemotherapy and targeted therapy combinations in advanced melanoma. *Clin Cancer Res* 2006; **12**: 2366–2370.
- [30] FLAHERTY KT. Narrative Review: BRAF Opens the Door for Therapeutic Advances in Melanoma. *Ann Intern Med* 2010; **153**: 587–591.
- [31] FLAHERTY KT, FISHER DE. New Strategies in Metastatic Melanoma: Oncogene-Defined Taxonomy Leads to Therapeutic Advances. *Clin Cancer Res* 2011; **17**: 4922–4928.
- [32] FLAHERTY KT, McARTHUR G. BRAF, a Target in Melanoma. Implications for Solid Tumor Drug Development. *Cancer* 2010; 4902–4913.
- [33] FLAHERTY KT, PUZANOW I, KIM KB, RIBAS A, McARTHUR GA, SOSMAN JA. Inhibition of mutated, activated BRAF in metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2010; **363**: 809–819.
- [34] FRIEDLANDER P, HODI FS. Advances in Targeted Therapy for Melanoma. *Clinical Advances in Hematology & Oncology* 2010; **8**: 619–627.
- [35] GOGAS HJ, KIRKWOOD JM, SONDAK VK. Chemotherapy for Metastatic Melanoma. Time for a Change? *Cancer* 2007; **109**(3): 455–464.
- [36] GRANVILLE CA, MEMMOTT RM, GILLS JJ. Handicapping the race to develop inhibitors of the phosphoinositide 3-kinase/Akt/mammalian target of rapamycin pathway. *Clin Cancer Res* 2006; **12**: 679–689.
- [37] GRAY-SCHOPFER V, WELLBROCK C, MARIAS R. Melanoma biology and new targeted therapy. *Nature* 2007; **445**: 851–857.
- [38] GRBOVIC OM, BASSO AD, SAWAI A, YE Q, FRIEDLANDER P, SOLIT D, ROSEN N. V600E B-Raf requires the Hsp90 chaperone for stability and is degraded in response to Hsp90 inhibitors. *PNAS* 2006; **103**: 57–62.
- [39] HA L, MERLINO G, SVIDERSKAYA EV. Melanomagenesis: Overcoming the Barrier of Melanocyte Senescence. *Cell Cycle* 2008; **7**: 1944–1948.
- [40] HAASS NK, SMALLEY KSM. Melanoma Biomarkers Current Status and Utility in Diagnosis, Prognosis, and Response to Therapy. *Mol Diagn Ther* 2009; **13**(5): 283–296.
- [41] HALUSKA FG, TSAO H, WU H. Genetic alterations in signaling pathways in melanoma. *Clin Cancer Res* 2006; **12**: 2301–2307.
- [42] HASSAN M, ALAOUI A, FEYEN O. The BH3-only member Noxa causes apoptosis in melanoma cells by multiple pathways. *Oncogene* 2008; **27**: 4557–4568.
- [43] HATZIVASSILIOU G, SONG K, YEN I, BRANDHUBER BJ, ANDERSON DJ, ALVARADO R. RAF inhibitors prime wild-type RAF to activate the MAPK pathway and enhance growth. *Nature* 2010; **464**: 431–435.
- [44] HEATH EML, KAUFMAN KL, CHRISTOPHERSON RI. B-RAF: A contributor to the melanoma phenotype. *Int J Biochem Cell Biol* 2011; **43**: 29–32.
- [45] HEIDORN SJ, MILAGRE C, WHITTAKER S, NOURRY A, NICULESCU-DUVAS I, DHOMEN N, HUSSAIN J, REIS-FILHO JS, SPRINGER CJ, PRITCHARD C, MARIAS R. Kinase-Dead BRAF and Oncogenic RAS Cooperate to Drive Tumor Progression through CRAF. *Cell* 2010; **140**: 209–221.
- [46] HOCKER T, TSAO H. Ultraviolet radiation and melanoma: a systematic review and analysis of reported sequence variants. *Hum Mutat* 2007; **28**: 578–588.
- [47] HOCKER TL, SINGH MK, TSAO H. Melanoma Genetics and Therapeutic Approaches in the 21st Century: Moving from the Benchside to the Bedside. *Journal of Investigative Dermatology* 2008; **128**: 2575–2595.
- [48] HODI FS. Well-Defined Melanoma Antigens as Progression Markers for Melanoma: Insights into Differential Expression and Host Response Based on Stage. *Clin Cancer Res* 2006; **12**: 673–678.
- [49] HODI FS, FRIEDLANDER P, CORLESS CL, HEINRICH MC, MAC RAE S, KRUSE A. Major response to imatinib mesylate in KIT-mutated melanoma. *J Clin Oncol* 2008; **26**: 2046–2051.
- [50] HOOS A, IBRACHIM R, KORMAN A, ABDALLAH K, BERMAN D, SHAHABI V, CHIN K, CANETTA R, HUMPHREYD R. Development of Ipilimumab: Contribution to a New Paradigm for Cancer Immunotherapy. *Semin Oncol* 2010; **37**: 533–546.
- [51] HUSSEIN TAWBI H, NIMMAGADDA N. Targeted therapy in melanoma. *Biologics: Targets & Therapy* 2009; **3**: 475–484.

- [52] INAMDAR GS, MADHUNAPANTULA SV, ROBERTSON GP. Targeting the MAPK pathway in melanoma: Why some approaches succeed and other fail. *Biochemical Pharmacology* 2010; **80**: 624–637.
- [53] JI Z, FLAHERTY KT, TSAO H. Molecular therapeutic approaches to melanoma. *Mol Aspects of Medicine* 2010; **31**: 194–204.
- [54] JIANG C, LAI F, THORNE F. MEK-Independent Survival of B-RAF^{V600E} Melanoma Cells Selected for Resistance to Apoptosis Induced by the RAF Inhibitor PLX4720. *Clin Cancer Res* 2011; **17**: 721–730.
- [55] JIANG X, ZHOU J, YUEN NK, CORLESS CL, HEINRICH MC, FLETCHER JA. Imatinib targeting of KIT-mutant oncoprotein in melanoma. *Clin Cancer Res* 2008; **14**: 7726–7732.
- [56] KAPLAN FM, SHAO Y, MAYBERRY MM, APLIN AE. Hyperactivation of MEK-ERK1/2 signaling and resistance to apoptosis induced by the oncogenic B-RAF inhibitor, PLX4720, in mutant N-RAS melanoma cells. *Oncogene* 2011; **30**: 366–371.
- [57] KARBOWNICZEK M, SPITTLE CS, MORRISON T, WU H, HENSKE EP. mTOR is activated in the majority of malignant melanomas. *J Invest Dermatol* 2008; **128**: 980–987.
- [58] KASPER B, D'HONDT V, VERECKEN P, AWADA A. Novel treatment strategies for malignant melanoma: A new beginning? *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 2007; **62**: 16–22
- [59] KO J.M, FISHER DE. A new era: melanoma genetics and therapeutics. *J of Pathology* 2011; **223**: 241–250.
- [60] KOHNO M, POUYSSEGUR J. Targeting the ERK signaling pathway in cancer therapy. *Ann Med* 2006; **38**: 200–211.
- [61] KUDCHADKAR R. Novel Targeted Therapies for the Treatment of Metastatic Melanoma. *The Ochsner Journal* 2010; **10**: 117–124.
- [62] KWINTA Ł. Rola sekwencji niekodujących w kancerogenezie czerniaka. *Współczesna Onkologia* 2008; **12**: 99–106.
- [63] KYCLER W, TERESIAK M. Czerniak skóry: aktualne możliwości leczenia w Polsce na podstawie analizy leczonych pacjentów i przeglądu literatury. *Współczesna Onkologia* 2006; **10**: 437–448.
- [64] LA PORTA CAM. Drug Resistance in Melanoma: New Perspectives. *Current Medicinal Chemistry* 2007; **14**: 387–391.
- [65] LASITHIOTAKIS KG, Sinnberg TW, SCHITTEK B, FLAHERTY KT, KULMS D, MACZEY E. Combined inhibition of MAPK and mTOR signaling inhibits growth, induces cell death, and abrogates invasive growth of melanoma cells. *J Invest Dermatol* 2008; **128**: 2013–2023.
- [66] LEONG S, GERSHENWALD J, SENG-JAW SOONG, SCHADENDORF D, TARHINI A, AGARWALA S, HAUSCHILD A, SOON Ch, DAUD A, KASHANI-SABET M. Cutaneous Melanoma: A Model to Study Cancer Metastasis. *J Surgical Onc* 2011; **103**: 538–549.
- [67] LESIAK K, SZTILLER-SIKORSKA M, CZYŻ M. Czynniki transkrypcyjne w powstawaniu i progresji czerniaka. *Postępy Hig Med Dośw* 2007; **61**: 576–595.
- [68] LESLIE A, FECHER SD, CUMMINGS MJ, ALANI K, ALANI RM. Toward a Molecular Classification of Melanoma. *J Clin Onc* 2007; **25**: 1606–1620.
- [69] LIN WM, BAKER AC, BEROUKHIM R, WINCLER W, FENG W, MARMION JM. Modeling genomic diversity and tumor dependency in malignant melanoma. *Cancer Res* 2008; **68**: 664–673.
- [70] LOPEZ-BERGAMI P. The long arm of BRAF^{V600E} gets to mTORC1. *Pigment Cell Melanoma Res* 2010; **22**: 244–245.
- [71] MACKIEWICZ J, KWINTA Ł. Nowe terapie celowane stosowane u chorych na czerniaka uogólnionego. *Współczesna Onkologia* 2010; **14**: 15–22.
- [72] MADHUNAPANTULA SRV, ROBERTSON GP. The PTEN–AKT3 signaling cascade as a therapeutic target in melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res* 2009; **22**: 400–419.
- [73] METHA P, KUNG P, YAMAZAKI S, WALLS M, SHEN A, NGUYEN L, GEHRING M.R, LOS G, SMEAL T, YIN MJ. A novel class of specific Hsp90 small molecule inhibitors demonstrate in vitro and in vivo anti-tumor activity in human melanoma cells. *Cancer Letters* 2011; **300**: 30–39.
- [74] MEIER F, BUSCH S, LASITHIOTAKIS K, KULMS D, GARBE C, MACZEY E. Combined targeting of MAPK and AKT signalling pathways is a promising strategy for melanoma treatment. *Br J Dermatol* 2007; **156**: 1204–1213.
- [75] MILLER AJ, MIHM MC. Melanoma. Mechanisms of disease. *N Engl J Med* 2006; **355**: 51–65.

- [76] MILLER LA, GOLDSTEIN NB, JOHANNES WU. BH3 mimetic ABT-737 and a proteasome inhibitor synergistically kill melanomas through noxa-dependent apoptosis. *J Invest Dermatol* 2009; **129**: 964–971
- [77] MONTAGUT C, SHARMA SV, SHIODA T, McDERMOTT U, UILMANN M, ULKUS LE. Elevated CRAF as a potential mechanism of acquired resistance to BRAF inhibition in melanoma. *Cancer Res* 2008; **68**: 4853–4861.
- [78] MOUAWAD R, SEBERT M, MICHELS J, BLOCH J, SPANO JP, KHAYAT D. Treatment for metastatic malignant melanoma: Old drugs and new strategies. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 2010; **74**: 27–39.
- [79] NAZARIAN R, SHI H, WANG Q, KONG X, KOYA RC, LEE H. Melanomas acquire resistance to B-Raf(V600E) inhibition by RTK or N-RAS upregulation. *Nature* 2010; **468**: 973–977.
- [80] PALMIERI G, CAPONE M, ASCIERTO M, GENTILCORE G, STRONECK D, CASULA M, SINI M, PALLA M, MOZZILLO N, ASCIERTO P. Main roads to melanoma. *J Trans Med* 2009; **7**:
- [81] PANKA DJ, ATKINS MB, MIER J.W. Targeting the mitogen-activated protein kinase pathway in the treatment of malignant melanoma. *Clin Cancer Res* 2006; **12**: 2371–2375.
- [82] PATTON EE, WIDLUND HR, KUTOK JL. BRAF mutations are sufficient to promote nevi formation and cooperate with p53 in the genesis of melanoma. *Curr Biol* 2005; **15**: 249–254.
- [83] POPULO H, SOARES P, FAUSTINO A, ROCHA AS, SILVA P, AZEVEDO F., LOPES J.M. mTOR pathway activation in cutaneous melanoma is associated with poorer prognosis characteristics. *Pigment Cell Melanoma Res* 2010; **24**: 254–257.
- [84] POULIKAKOS 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**: 427–430.
- [85] QUEIROLO P, ACQUATI M. Targeted therapies in melanoma. *Cancer Treatment Reviews* 2006; **32**: 524–531.
- [86] RIKER AI, ZEA N, TRINH T. The Epidemiology, Prevention, and Detection of Melanoma. *The Ochsner Journal* 2010; **10**: 56–65.
- [87] RUKA W, KRZAKOWSKI M, PLACEK W. Czerniak skóry – zasady postępowania diagnostyczno-terapeutycznego. *Onkol Prakt Klin* 2009; **5**: 20–32.
- [88] RUSSO A, TORRISI E, BEYELACQUA Y, PERROTTA R, LIBRA M, McCUBREY J, SPANDIDOS D., STIVALA F., MALAPONTE G. Melanoma: Molecular pathogenesis and emerging target therapies. *Int J Onc* 2009; **34**: 1481–1489.
- [89] SCHATTON T, FRANK MH. Cancer stem cells and human malignant melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res* 2007; **21**: 39–55.
- [90] SEETHARAMU N, OTT P, PAYLICK A. Novel therapeutics for melanoma. *Expert Rev. Anticancer Ther* 2009; **9(6)**: 839–849.
- [91] SENSI M, NICOLINI G, PETTI C. Mutually exclusive NRASQ61R and BRAFV600E mutations at the single-cell level in the same human melanoma. *Oncogene* 2006; **25**: 3357–3364.
- [92] SHADA AL, MOLHOEK KR, SLINGLUFF CL. Interface of Signal Transduction Inhibition and Immunotherapy in Melanoma. *The Cancer Journal* 2010; **16(4)**: 360–366.
- [93] SINGH M, LIN J, HOCKER TL, TSAO H. Genetics of melanoma tumorigenesis. *British Journal of Dermatology* 2008; **158**: 15–21.
- [94] SMALLEY KSM. Understanding Melanoma Signaling Networks as the Basis for Molecular Targeted Therapy. *Journal of Investigative Dermatology* 2010; **130**: 28–37.
- [95] SMALLEY KSM, FLAHERTY KT. Integrating BRAF/MEK inhibitors into combination therapy for melanoma. *Br J Cancer* 2009; **100**: 431–435.
- [96] SMALLEY KSM, HAASS NK, BRAFFORD PA, LLIONI M, FLAHERTY KT, HERLYN M. Multiple signaling pathways must be targeted to overcome drug resistance in cell lines derived from melanoma metastases. *Mol Cancer Ther* 2006; **5**: 1136–1144.
- [97] SMALLEY KSM, NATHANSON KL, FLAHERTY K. Genetic Subgrouping of Melanoma Reveals New Opportunities for Targeted Therapy. *Cancer Res* 2009; **69**: 3241–3244.
- [98] SMALLEY KSM, XIAO M, VILLANUEVA J. CRAF inhibition induces apoptosis in melanoma cells with non-V600E BRAF mutations. *Oncogene* 2009; **28**: 85–94.
- [99] SOLIT DB, GARRAWAY LA, PRATILAS CA. BRAF mutation predicts sensitivity to MEK inhibition. *Nature* 2006; **439**: 358–362.

- [100]SOON CWM, ALGAZI AP, CHA EN, DAUD AI. New Horizons in Melanoma Treatment: Targeting Molecular Pathways. *The Ochsner Journal* 2010; **10**: 93–98
- [101]SOSMAN JA. Translating BRAF Mutations into Effective Therapy for Patients with Melanoma
- [102]SULLIVAN RJ, ATKINS MB. Molecular-targeted therapy in malignant melanoma. *Expert Rev. Anticancer Ther* 2009; **9(5)**: 567–581 .
- [103]TAKATA M, MURRATA H, SAIDA T. Molecular pathogenesis of malignant melanoma: a different perspective from the studies of melanocytic nevus and acral melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res* 2009; **23**: 64–71.
- [104]TAKATA M, SAIDA T. Genetic alterations in melanocytic tumors. *Journal of Dermatological Science* 2006; **43**: 1–10.
- [105]TARHINI A, AGARWALA S. Cutaneous melanoma: available therapy for metastatic disease. *Dermatol Ther* 2006; **19**: 19-25.
- [106]TAWBI HA, BUCH SC. Chemotherapy Resistance Abrogation in Metastatic Melanoma. *Clinical Advances in Hematology & Oncology* 2010; **8(4)**: 259-266.
- [107]VILLANUEVA J, VULTUR A, LEE JT, SOMASUNDARAM R, FUKUNAGA-KALABIS M, CIPOLLA AK. Acquired resistance to BRAF inhibitors mediated by a RAF kinase switch in melanoma can be overcome by cotargeting MEK and IGF-1R/PI3K. *Cancer Cell* 2010; **18**: 683–695.
- [108]VULTUR A, VILLANUEVA J, HERLYN M. Targeting BRAF in Advanced Melanoma: A First Step toward Manageable Disease. *Clin Cancer Res* 2011; **17**: 1658-1663.
- [109]WILLMORE-PAYNE C, HOLDEN JA, HIRSCHOWITZ S. BRAF and c-kit gene copy number in mutation-positive malignant melanoma. *Hum Pathol* 2006; **37**: 520-527.
- [110]WOLNICKA-GLUBISZ A, PŁONKA PM. Rola promieniowania UV w etiopatogenezie czerniaka skóry. *Współczesna Onkologia* 2007; **11**: 419–429.
- [111]WOODMAN SE, DAVIES MA. Targeting KIT in melanoma: A paradigm of molecular medicine and targeted therapeutics. *Biochemical Pharmacology* 2010; **80**: 568–574.
- [112]ZHUANG L, SCOLYER RA, McCARTHY SW, ZHANG XD, THOMPSON JF, HERSEY P. Mcl-1, Bcl-XL and Stat3 expression are associated with progression of melanoma whereas Bcl-2, AP-2 and MITF levels decrease during progression of melanoma. *Modern Pathology* 2007; **20**: 416-426.

Redaktor prowadzący – Michał Nowicki

Otrzymano: 20.09.2011

Przyjęto: 06.12.2011

Małgorzata Pokrywka

Zakład Biochemii Glikokoniugatów

Instytut Zoologii, Uniwersytet Jagielloński

ul. Gronostajowa 9, 30-387 Kraków

tel.: 12 664 64 68

e-mail: malgorzata.pokrywka@uj.edu.pl