

# Adjuvantno liječenje melanoma

---

**Kelečić, Ana**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:001669>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-07**



*Repository / Repozitorij:*

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Ana Kelečić**

# **Adjuvantno liječenje melanoma**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2022.**

Ovaj diplomski rad izrađen je u Klinici za onkologiju i nuklearnu medicinu, KBC Sestre milosrdnice pod vodstvom doc. dr. sc. Jasmine Marić Brozić i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2021./2022.

## Popis i objašnjenje kratica korištenih u radu

UV - *ultraviolet*, ultraljubičasto zračenje

WHO - *World Health Organization*, Svjetska zdravstvena organizacija

AJCC 8 - *American Joint Committee on Cancer 8<sup>th</sup> edition*

OS - *overall survival*, ukupno preživljenje

ICI - *immune checkpoint inhibitors*, inhibitori imunoloških kontrolnih točaka

MHC - *major histocompatibility complex*, glavni kompleks histokompatibilnosti

TAP1 - *transporter associated with antigen processing 1*, transporter povezan s obradom antigena 1

NK-stanice - *natural killer cells*, prirodnoubilačke stanice

VEGF - *vascular endothelial growth factor*, vaskularni endotelni faktor rasta

HDI - *high-dose interferon  $\alpha$ -2b*, visoke doze interferona  $\alpha$ -2b

FDA - *U.S. Food and Drug Administration*, Američka agencija za hranu i lijekove

RFS - *recurrence-free survival*, preživljenje bez povrata bolesti

CLND - *complete lymph node dissection*, radikalna disekcija limfnih čvorova

SLNB - *sentinel lymph node biopsy*, biopsija sentinel limfnog čvora

MSLT2 - *Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial-II*

irAE - *immune-related adverse events*, imunološki posredovane nuspojave

CTLA-4 - *cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4*

PD-1 - *programmed cell death protein 1*

TCR - *T-cell receptor*, T-limfocitni receptor

APCs - *antigen-presenting cells*, antigen prezentirajuće stanice

Tregs - *regulatory T cells*, regulatorni T-limfociti

EMA - *European Medicines Agency*, Europska agencija za lijekove

MAPK - *mitogen-activated protein kinase*, mitogenom aktivirana protein-kinaza

TMB - *tumor mutational burden*, mutacijsko opterećenje tumor

# Sadržaj

SAŽETAK.....	
SUMMARY .....	
UVOD .....	1
EPIDEMIOLOGIJA .....	2
ETIOLOGIJA .....	3
KLASIFIKACIJA MELANOMA .....	4
ADJUVANTNO LIJEČENJE.....	5
1. Interferon $\alpha$ -2b .....	5
2. Radioterapija .....	6
3. Inhibitori imunoloških kontrolnih točaka, ICI.....	7
3.1. CTLA-4 inhibicija .....	8
3.2. PD-1 inhibicija.....	9
3.3. Kombinacija CTLA-4 i PD-1 inhibitora .....	12
4. Ciljana terapija .....	12
ODABIR LIJEČENJA .....	15
ZAKLJUČAK.....	16
ZAHVALE.....	17
LITERATURA .....	18
ŽIVOTOPIS.....	28

# SAŽETAK

Adjuvantno liječenje melanoma

Ana Kelečić

Incidencija melanoma povećava se brže od bilo koje druge maligne bolesti i predstavlja važan javnozdravstveni problem. Potpuno kirurško odstranjenje primarna je metoda liječenja melanoma u ranim stadijima bolesti. Nakon kompletnog kirurškog odstranjenja, rizik povrata bolesti ovisi o stadiju bolesti. Desetogodišnje preživljenje se kreće od 98% za stadij IA do 24% za stadij IIID. Cilj adjuvantne terapije je uništiti mikrometastaze i smanjiti stopu povrata bolesti. Interferon  $\alpha$ -2b je dvadeset godina bio jedina odobrena terapija za adjuvantno liječenje melanoma, usprkos upitnoj učinkovitosti i čestim nuspojavama. Uspjeh inhibitora imunoloških kontrolnih točaka i ciljane terapije u liječenju uznapredovalog melanoma otvorio je put kliničkim ispitivanjima u adjuvantnom liječenju melanoma. Rezultati provedenih kliničkih ispitivanja doveli su do odobrenja PD-1 inhibitora i BRAF/MEK inhibitora za adjuvantno liječenje visokorizičnog melanoma. Rezultati ispitivanja pokazali su učinak na produljenje preživljenja bez recidiva, no učinak na ukupno preživljenje do sada nije dosegnut. Zbog nepostojanja pouzdanih prediktivnih biomarkera poseban problem predstavljaju pitanja koga sve liječiti adjuvantnom terapijom i koju terapiju odabrati. PD-1 inhibitori i BRAF/MEK inhibitori razlikuju se u načinu primjene i profilu nuspojava. Trenutno je adjuvantno liječenje odobreno za stadije IIB, IIC, III i operirane stadije IV. Ovaj rad prezentira dosadašnje dosege u adjuvantnom liječenju melanoma, izdvajajući najznačajnija klinička ispitivanja.

Ključne riječi: melanom, adjuvantno liječenje, imunoterapija, ciljana terapija

# SUMMARY

Adjuvant treatment of melanoma

Ana Kelečić

The incidence of melanoma is increasing faster than of any other malignant disease and represents an important public health problem. Complete surgical removal is the primary method of treating melanoma in the early stages of the disease. After complete surgical removal, the risk of disease recurrence depends on the stage of the disease. Ten-year survival ranges from 98% for stage IA to 24% for stage IIID. The goal of adjuvant therapy is to destroy micrometastases and reduce the rate of disease recurrence. Interferon  $\alpha$ -2b had been the only approved therapy for the adjuvant treatment of melanoma for twenty years, despite its questionable efficacy and frequent side effects. The success of immune checkpoint inhibitors and targeted therapies in the treatment of advanced melanoma has paved the way for clinical trials in the adjuvant treatment of melanoma. The results of the conducted clinical trials led to the approval of PD-1 inhibitors and BRAF/MEK inhibitors for the adjuvant treatment of high-risk melanoma. The results of the trial showed an effect on prolonging survival without recurrence, but the effect on overall survival has not been reached so far. Due to the lack of reliable predictive biomarkers, the questions of whom to treat with adjuvant therapy and which therapy to choose, pose a particular problem. PD-1 inhibitors and BRAF/MEK inhibitors differ in their mode of administration and side effect profile. Currently, adjuvant treatment is approved for stages IIB, IIC, III, and operated stage IV. This paper presents the achievements so far in the adjuvant treatment of melanoma, highlighting the most important clinical trials.

Key words: melanoma, adjuvant treatment, immunotherapy, targeted therapy

## UVOD

Melanom nastaje zloćudnom pretvorbom melanocita. Najčešće se pojavljuje na koži i najsmrtonosniji je karcinom kože. Može nastati i na površni sluznice usne šupljine, sluznici gornjeg gastrointestinalnog trakta, genitalnoj sluznici, srednjoj očnoj ovojnici i mekim moždanim ovojnicama (1). Incidencija melanoma povećava se brže od bilo koje druge maligne bolesti i predstavlja važan javnozdravstveni problem (2). Incidencija melanoma najveća je u Australiji i Novom Zelandu, Sjevernoj Americi i Europi (3). Za osobe bijele rase cjeloživotni rizik za razvoj melanoma iznosi 2,6% (4). Razvoj melanoma je multifaktorijalan, uključuje genetsku predispoziciju i okolišne čimbenike (5). Najvažniji okolišni čimbenik za razvoj melanoma je UV zračenje (6). Nakon potpunog kirurškog odstranjenja melanoma, rizik povrata bolesti ovisi o stadiju. Zbog toga je važno dijagnosticirati bolest u što ranijem stadiju. Danas su dostupne imunoterapija i ciljana terapija dokazane učinkovitosti za adjuvantno liječenje visokorizičnog melanoma nakon potpune resekcije melanoma.



## EPIDEMIOLOGIJA

Incidencija melanoma povećava se brže od bilo koje druge maligne bolesti i predstavlja važan javnozdravstveni problem (2). Od 2006. do 2016. incidencija melanoma u svijetu se povećala za 39%, što se samo dijelom može pripisati poboljšanoj prijavi slučajeva (7). Mortalitet raste sporije od incidencije zahvaljujući ranijoj dijagnostici i uspješnijem liječenju. Podatci Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) govore da je 2020. godine u svijetu bilo 324 635 novodijagnosticiranih slučajeva melanoma i 57 043 smrtnih slučajeva (3). Najviše slučajeva melanoma pojavljuje se kod osoba starije životne dobi, ali melanom je i treći najčešći rak u dobnoj skupini od 15 do 39 godina (8). Incidencija i smrtnost od melanoma jako variraju ovisno o geografskoj lokaciji. Incidencija melanoma najveća je u Australiji i Novom Zelandu, Sjevernoj Americi i Europi (3). Ipak, stopa incidencije melanoma među mlađim osobama u Australiji se počela stabilizirati, pokazujući uspjeh kampanja koje se usredotočuju na važnost smanjenja izlaganja UV zračenju sunca (9). Norveška i Švedska imaju najveću stopu smrtnosti od melanoma na sjevernoj hemisferi. Muškarci imaju 1,5 puta veću vjerojatnost za razvoj melanoma nego žene i nepovoljniju prognozu (2).

Prema posljednje objavljenom Registru za rak u Hrvatskoj za 2018. godinu, melanom kože je osmi najčešći rak u oba spola. Incidencija melanoma kože je bila 22,7 na 100 000 stanovnika. Mortalitet je bio veći u muškaraca što se dijelom može objasniti dijagnozom bolesti u kasnijem stadiju (10).

## ETIOLOGIJA

Razvoj melanoma je multifaktorijalan, uključuje genetsku predispoziciju i okolišne čimbenike (5). Najvažniji okolišni čimbenik za razvoj melanoma je UV zračenje (6). Nastanak melanoma je najviše povezan sa povremenim izlaganjem jakom UV zračenju neaklimatizirane kože. Tako su predominantna mjesta za razvoj melanoma leđa u muškaraca i potkoljenice u žena (8). Povremeno izlaganje visokom intenzitetu UV zraka u djetinjstvu posebno povećava rizik za razvoj melanoma kasnije u životu, pogotovo ako su se razvile opekline od sunca (11). Smatra se da je melanom češći u osoba boljeg ekonomskog statusa zbog izlaganja suncu tijekom ljetovanja. Korištenje solarija također povećava rizik za razvoj melanoma, a rizik je veći što je osoba mlađa. Korištenje solarija prije 25 godine povećava rizik šest puta. Mlađe žene češće koriste solarij od muškaraca i to se smatra uzrokom povećane incidencije melanoma u žena do 40. godine (12). Rizik od razvoja melanoma varira ovisno o rasi. Cjeloživotni rizik se kreće od 0,1% za Afroamerikance do 2,6% za bijelce (4). Određene fenotipske karakteristike povezane su s povećanim rizikom za razvoj melanoma. To su svijetla put, plave i zelene oči, pjege, plava i crvena kosa, nemogućnost tamnjenja (2). Također, pozitivna obiteljska anamneza povećava rizik. 10% melanoma javlja se u obiteljima čiji članovi imaju naslijeđenu genetsku sklonost razvoju melanoma (2). Pacijenti s više od 50 madeža, oni s atipičnim madežom i pacijenti s divovskim kongenitalnim nevusom smatraju se rizičnim skupinama (11). Pacijenti koji su već imali melanom ili nemelanomski rak kože pod povećanim su rizikom. Također, dugotrajna imunosupresija predisponira za razvoj melanoma (8).

## KLASIFIKACIJA MELANOMA

WHO je 2018. revidirala klasifikaciju tumora kože. Napredak u otkrivanju genetskih promjena u melanocitnim tumorima doveo je do nove klasifikacije melanoma (13). Klasifikacija se temelji na teoriji da se svaki podtip melanoma razvija kroz za sebe karakteristični evolucijski put nastanka, različit od evolucijskih putova nastanka drugih podtipova melanoma. Evolucijski putovi nastanka pojedinih podtipova melanoma se razlikuju prema količini kumulativnog solarnog oštećenja i genetskim promjenama (14). Početni događaji u nastanku melanoma su mutacije koje dovode do nastanka onkogeno pokretača (BRAF, NRAS, GNAQ, GNA11). Mutacije koje dovode do gubitka funkcije tumor supresora (CDNK2A, TP53, PTEN, BAP1) se javljaju kasnije i obilježavaju progresiju od benignih melanocitnih tumora do specifičnih podtipova melanoma (14–16). Granične lezije imaju nekoliko genomskih promjena povezanih s progresijom, ali koje su nedostatne za maligno ponašanje lezije (14).

Klasifikacija melanocitnih tumora WHO iz 2018. prepoznaje devet podtipova melanoma i razvrstava ih u tri kategorije na temelju kumulativnog solarnog oštećenja (14). Stupanj kumulativnog solarnog oštećenja određen je s histopatološkim stupnjem dermalne solarne elastoze okolne kože.

U kategoriju niskog kumulativnog solarnog oštećenja spada podtip površinsko šireći melanom.

U kategoriju visokog kumulativnog solarnog oštećenja spadaju podtipovi *lentigo maligna* melanom i dezmoplastični melanom.

U kategoriju bez kumulativnog solarnog oštećenja spadaju podtipovi akralni melanom, Spitz melanom, melanom sluznice, melanom nastao u kongenitalnom nevasu, melanom nastao u blue nevasu i uvealni melanom.

Nodularni melanom je podtip koji može proizaći iz više evolucijskih puteva i uključen je u kategoriju visoke i niske kumulativne štete od sunca (14).

# ADJUVANTNO LIJEČENJE

Adjuvantno liječenje melanoma provodi se nakon kirurškog odstranjenja melanoma kako bi se smanjio rizik povrata bolesti. Cilj adjuvantnog liječenja je uništiti mikrometastatska žarišta bolesti. Stadiji melanoma definirani su prema trenutno važećem 8. izdanju *American Joint Committee on Cancer* klasifikacije (AJCC 8) (17). Prognoza kožnog melanoma povezana je s karakteristikama primarnog tumora (debljina tumora, prisutnost ulceracije i stupanj mitoze), metastazama u limfnim čvorovima (mikrometastaze i makrometastaze), mikrosatelitskim i intranizit metastazama i udaljenim metastazama (17). Primarni ulcerirani melanomom debljine preko 4mm (stadij IIC) i melanom s metastazama u regionalnim limfnim čvorovima (stadij III) klasificirani su kao visokorizični melanomi i povezani su s većim rizikom smrtnosti (18). Pacijenti sa stadijima IIB, IIC, IIIA, IIIB, IIIC i IIID imaju desetogodišnje preživljenje redom 82%, 75%, 88%, 77%, 60% i 24% (17). Vidljivo je da pacijenti sa stadijem IIC imaju lošiju prognozu od pacijenata sa stadijem IIIA i IIIB. Također, vidljiv je drastičan pad u preživljenju od stadija IIIA do stadija IIID. Stadij IV melanoma često je operabilan, ali stope recidiva su posebno visoke i petogodišnje preživljenje je loše ukoliko se ne primjeni adjuvantno liječenje (19,20). Dvadeset godina interferon  $\alpha$ -2b je bio jedina sustavna terapija odobrena za adjuvantno liječenje melanoma. Imao je upitan učinak na ukupno preživljenje (OS) uz česte nuspojave tako da ga mnogi nisu smatrali standardnim liječenjem (21). Nakon što su inhibitori imunoloških kontrolnih točaka (ICI) i BRAF/MEK inhibitori doveli do revolucije u liječenju metastatskog melanoma, njihova korist dokazana je i u adjuvantnom liječenju melanoma. Danas su ICI i BRAF/MEK inhibitori postali standard u adjuvantnom liječenju visokorizičnog melanoma (22). U nastavku slijedi opis terapija korištenih u adjuvantnom liječenju melanoma i kliničkih studija koje su definirale njihovu ulogu.

## 1. Interferon $\alpha$ -2b

Interferoni pripadaju skupini citokina, izlučuju ih različite stanice i smatraju se signalnim proteinima (23). Interferon  $\alpha$ -2b je 20 godina bio jedina terapija odobrena za adjuvantno liječenje melanoma visokog rizika.

Interferon  $\alpha$ -2b ostvaruje brojne neizravne imunomodulatorne učinke. Interferon  $\alpha$  pojačava imunogenost tumora i protutumorski imunološki odgovor (24). Studije su pokazale da potiče ekspresiju molekula glavnog kompleksa histokompatibilnosti (MHC) klase I (25). Također, povećava ekspresiju transportera povezanog s obradom antigena 1 (TAP1) kroz aktivaciju JAK/STAT puta (26). Snažan je stimulator aktivnosti prirodnoubilačkih stanica (NK-stanice) i citotoksičnih T-limfocita (27,28). Poboljšava klonsku ekspanziju i stvaranje memorijskih CD8+ T-limfocita, aktivnost i sazrijevanje dendritičkih stanica (29,30). Potiče pomak Th2 prema Th1

imunološkom odgovoru, pojačavajući citotoksičnost posredovanu stanicama (31). Smanjuje razinu vaskularnog endotelnog faktora rasta (VEGF) u staničnim linijama melanoma, smanjujući gustoću krvnih žila (32,33).

Visoke doze interferona  $\alpha$ -2b (HDI) bile su prva terapija odobrena za adjuvantno liječenje melanoma visokog rizika. Američka agencija za hranu i lijekove (FDA) ju je odobrila 1996. godine na temelju rezultata studije ECOG 1684 (34). U početku je pokazano poboljšanje preživljenja bez recidiva (RFS) i OS, ali se učinak na OS u duljem praćenju izgubio. (35). Zbog visoke toksičnosti HDI, u brojnim studijama ispitivane su niže doze. Za niže doze interferona rezultati u poboljšanju RFS i OS su bili nekonzistentni (36–41). Osim visoke toksičnosti, nedostatak HDI je bio što se primjenjivao tri do pet puta tjedno intravenski ili subkutano. Pegilirani IFN  $\alpha$ -2b je na temelju rezultata studije EORTC 18991 dobio odobrenje FDA 2011. godine za adjuvantno liječenje melanoma stadija III (34). Njegova prednost je duži poluvijek (vršne koncentracije lijeka u serumu dostižu se između 72 do i 96 sati nakon primjene), te ga je bilo dovoljno davati jednom tjedno. Rezultati studije su pokazali poboljšanje RFS, bez poboljšanja OS. Kao i u studiji ECOG 1684, zabilježena je visoka toksičnost u 37% pacijenata koji su zbog nuspojava prekinuli liječenje. Najčešće nuspojave su bile umor, anoreksija, depresija, poremećaj jetrene funkcije, glavobolja, mučnina i povišena tjelesna temperatura (42,43). Ulceracija melanoma bila je glavni prediktivni pokazatelj za učinkovitost terapije interferonom  $\alpha$ -2b (44). Zbog pojave ICI i BRAF/MEK inhibitora koji imaju veću učinkovitost i manje nuspojava danas se interferon  $\alpha$ -2b ne koristi u adjuvantnom liječenju melanoma.

## 2. Radioterapija

Mišljenje da je melanom radiorezistentan proizašlo je iz istraživanja na staničnim kulturama (45,46). Primijećen je neobično visok kapacitet popravka oštećenja i smatrano je da će odgovor biti bolji kod većih doza zračenja po frakciji (47). Multicentrično randomizirano ispitivanja faze III nije pokazalo bolje rezultate primjenom hipofraktioniranja kod metastatskog melanoma (4 frakcije od 8 Gy u tjednim intervalima naspram 20 frakcija od 2,5 Gy pet dana u tjednu) (48).

Adjuvantna radioterapija nakon radikalne disekcije limfnih čvorova (CLND) dugo je bio uobičajeni način liječenja u slučaju zahvaćenosti limfnih čvorova (49,50). Taj način liječenja doveden je u pitanje nakon rezultata randomizirane studije TROG 02.01 (51). Randomizirana studija TROG 02.01 istraživala je utjecaj adjuvantne radioterapije regionalnog limfnog područja (48 Gy u 20 frakcija) naspram promatranja nakon provedene CLND. Pokazano je da adjuvantna radioterapija kod pacijenata s klinički očitom zahvaćenošću limfnih čvorova s visokorizičnim značajkama značajno smanjuje regionalni recidiv tijekom petogodišnjeg

praćenja (36% naspram 21%). Razlike u OS između skupina nije bilo. Adjuvantna radioterapija dobro se podnosila, osim kod bolesnika kod kojih je provedena radioterapija na područje ingvinuma. Najčešća nuspojava bila je pojava limfedema i najčešće se javljala nakon ingvinalne radioterapije (38%). Postotak pacijenata kod kojih je nakon primjene ingvinalne radioterapije došlo do pojave limfedema udvostručio se tijekom petogodišnjeg praćenja (s 8% na 15%). Radioterapija na ostala područja općenito se dobro podnosila (51).

Studije ukazuju da sustavna terapija ne može u potpunosti prevenirati lokalni recidiv (52,53). Znajući mogući morbiditet regionalnog recidiva bolesti i činjenicu da se adjuvantna radioterapija neingvinalnog područja općenito dobro podnosi potrebne su daljnje studije koje će utvrditi njezinu ulogu u kombinaciji sa sustavnim adjuvantnim liječenjem (54).

Pretklinički podaci pokazuju da limfni čvorovi koji dreniraju tumor imaju ključnu ulogu u antitumorskom imunološkom odgovoru, a radioterapija može ugroziti ovu njihovu funkciju (55–57). Način doziranja 48 Gy u 20 frakcija ima dobro utvrđenu sigurnost i učinkovitost (58). Međutim, pretklinički i rani klinički podatci sugeriraju da hipofrakcioniranje dovodi do smanjenja imunosupresije i do boljeg protutumorskog imunološkog odgovora (59). Zbog ovoga, hipofrakcionirani režimi kao što je 30 Gy u 5 frakcija mogu biti korisni (60,61).

Bolesnici s melanomom bez klinički vidljivog zahvaćanja limfnih čvorova koji imaju čimbenike rizika za zahvaćenost limfnih čvorova (najčešće više od 1 mm Breslow debljine) rutinski se podvrgavaju biopsiji sentinel limfnog čvora (SLNB) (54). Do objave publikacija DeCOG-SLT i Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial-II (MSLT2), pozitivan sentinel limfni čvor značio je da treba provesti CLND. Obje studije su pokazale poboljšanje regionalne kontrole bolesti kod provedene CLND, bez razlike u OS. (62,63). Nakon objave tih rezultata je provođenje CLND postalo rjeđe. U slučaju odustanka od CLND, adjuvantna radioterapija dolazi u obzir (54).

Adjuvantnu radioterapiju primarnog mjesta melanoma postoperativno treba razmotriti kod nedovoljno širokih kirurških rubova gdje daljnja ekscizija nije prihvatljiva, kod lokalno rekurentnog melanoma bilo kojeg podtipa, i kod dezmozoplastičnog i mukoznog melanoma zbog visokog rizika lokalnog recidiva (64,65).

### 3. Inhibitori imunoloških kontrolnih točaka, ICI

Proteini na površini stanica koji sudjeluju u kontroli početaka, trajanja i jačine imunološkog odgovora predstavljaju kontrolne točke imunološkog sustava. Oni sprječavaju oštećenje tkiva uslijed pretjeranog imunološkog odgovora i temeljne su komponente za održavanje imunološke tolerancije (66,67). Maligni tumori mogu oponašati ovaj imunološki regulacijski

mehanizam ekspresijom molekula kontrolnih točaka i akumulacijom imunoregulacijskih stanica koje pokazuju jaku ekspresiju molekula kontrolnih točaka (22).

ICI su monoklonska protutijela koja blokirajući imunološke kontrolne točke sprječavaju toleranciju i tumorski imunološki bijeg. Ključna razlika ICI terapije u odnosu na druge sustavne terapije kod raka je sposobnost induciranja trajne kontrola raka (68).

Osim svoje učinkovitosti, ICI mogu izazvati imunološki posredovane nuspojave (irAE) čija učestalost i težina ovise o vrsti lijeka i o tome je li primijenjen u monoterapiji ili kombinaciji (69).

U kliničkoj upotrebi za adjuvantno liječenje melanoma su ICI koji blokiraju CTLA-4 ili PD-1 molekule. Primjena PD-1 inhibitora danas je postala standard u adjuvantnom liječenju melanoma zbog veće efikasnosti i manje učestalosti nuspojava u odnosu na CTLA-4 inhibitore. Pokazuju učinkovitost neovisno o BRAF statusu. Ipak, kod dijela pacijenata terapija ICI ne djeluje (primarna rezistencija), kod dijela pacijenata koji su u početku reagirali na terapiju kasnije ona izgubi učinak (sekundarna rezistencija), a veliki dio pacijenata razvije irAE (70).

### 3.1. CTLA-4 inhibicija

CTLA-4 je receptor eksprimiran isključivo na T-limfocitima. Funkcija mu je smanjivanje aktivnosti T-limfocita. Pojačano se eksprimira nakon aktivacije T-limfocita (71–73). Kada naivni T-limfocit naiđe na antigen za njegovu aktivaciju potreban je uz stimulaciju T-limfocitnog receptora (TCR) i dodatan kostimulacijski signal. Do dodatnog kostimulacijskog signala dolazi interakcijom CD28 na T-limfocitima s B7-1/CD80 ili B7-2/CD86 na antigen prezentirajućim stanicama (APCs) (74–76). Nakon aktivacije TCR signalizacije u T-limfocitima, intracelularno pohranjene CTLA-4 molekule dolaze do površine T-limfocita. CTLA-4 molekule se natječu i vežu za iste ligande kao CD28, ali s većim afinitetom. Time se prigušuje kostimulacija T-limfocita putem CD28 (vanjski mehanizam prigušenja T-limfocita). (77,78). Dodatno, aktivacijom CTLA-4 signalizacije T-limfocit ulazi u stanje mirovanja (unutarnji mehanizam prigušenja T-limfocita). Osim povećane ekspresije na površini aktiviranih T-limfocita, CTLA-4 je također konstitutivno izražen na površini regulatornih T-limfocita (Tregs), koji igraju važnu ulogu u suzbijanju imunoloških odgovora. Studije su pokazale da CTLA-4 kontrolira funkciju i stvaranje Tregs (79–81). Anti-CTLA-4 protutijelo ipilimumab bio je prvi odobren ICI na temelju poboljšanja ukupnog preživljenja u bolesnika s metastatskim melanomom (82).

EORTC 18071 studija

EORTC 18071 studija ispitivala je učinkovitost ipilimumaba 10 mg/kg naspram placeba u adjuvantnom liječenju reseciranog melanoma stadija III. Pokazana je učinkovitost ipilimumaba (10 mg/kg svaka 3 tjedna 4 ciklusa, zatim svaka 3 mjeseca tijekom 3 godine) u odnosu na placebo. Petogodišnji RFS i OS su bili značajno poboljšani kod liječenja ipilimumabom u usporedbi s placebom (RFS 41% naspram 30% i OS 65% naspram 54%). Ipak, nuspojave stupnja 3 i 4 javile su se u 54% bolesnika. 1% ispitanika u skupini liječenoj ipilimumabom je preminulo od nuspojava liječenja, dvoje ispitanika od kolitisa, jedan od miokarditisa i jedan od Guillain-Barre sindroma. irAE su najčešće zahvaćale kožu (svrbež, osip), gastrointestinalni sustav (dijareja, kolitis), endokrini sustav (hipofizitis, hipotireoidizam) i jetru (porast aminotransferaza) (83). Nakon sedam godina, poboljšanja RFS i OS u skupini koja je primala ipilimumab bilo je trajno (84). Na temelju rezultata opisane studije FDA je 2015. odobrila ipilimumab 10mg/kg za adjuvantno liječenje melanoma stadija III (85).

#### E1609 studija

Studija E1609 istraživala je dvije različite doze ipilimumaba: 3 mg/kg i 10 mg/kg (svaka 3 tjedna ukupno 4 ciklusa, zatim svaka 3 mjeseca do 3 godine), svaku u usporedbi s HDI, u adjuvantnom liječenju bolesnika s reseciranim melanomom stadija III i IV. U usporedbi s HDI, ipilimumab 3 mg/kg doveo je do poboljšanja petogodišnjeg OS (72% naspram 67%) i sličnog RFS. Ipilimumab 10 mg/kg nije pokazao poboljšanje OS ili RFS u usporedbi HDI, vjerojatno zato što je više od 50% pacijenata prekinulo terapiju zbog nuspojava. Nuspojave stupnja 3 i 4 bile su značajno češće u skupini koja je primala ipilimumab 10 mg/kg u odnosu na 3 mg/kg (58% naspram 37%). Podaci iz E1609 studije su podržali korištenje ipilimumaba u dozi 3mg/kg naspram 10mg/kg (86).

Zbog visoke učestalosti nuspojava i pojave PD-1 protutijela kao učinkovitije adjuvantne terapije bolesnika s melanomom stadija III, iako odobren od FDA, Europska agencija za lijekove (EMA) nikada nije odobrila ipilimumab za adjuvantno liječenje melanoma (22).

### 3.2. PD-1 inhibicija

PD-1 receptor izražen je na površini većine aktiviranih imunoloških stanica, ali je najviše eksprimiran na iscrpljenim T-limfocitima (87,88). Ligandi su mu PD-L1 i PD-L2. Vežanje PD-1 sa PD-L1 i PD-L2 dovodi do supresije imunološkog odgovora T-limfocita. PD-L1 i PD-L2 su izraženi na brojnim stanicama, uključujući APCs i stanice raka (89,90). Vežanje PD-1 s njegovim ligandima uzrokuje potiskivanje aktivnosti nekoliko unutarstaničnih molekula



uključenih u prijenos signala nizvodno od TCR (91). Aktivacija PD-1 uzrokuje i inhibiciju Ras/MEK/ERK puta koji kontrolira proliferaciju, rast i preživljavanje stanica, smanjujući tako proliferaciju imunoloških stanica nakon aktivacije (92). Interakcija PD-1 sa PD-L1 potiče iscrpljivanje perifernih efektorskih T-limfocita i potiče pretvorbu efektorskih T-limfocita u Tregs. Također, izravno inhibira apoptozu tumorskih stanica (93,94).

FDA i EMA su odobrile PD-1 inhibitore nivolumab i pembrolizumab za adjuvantno liječenje melanoma temeljem rezultata dobivenih u kliničkim ispitivanjima CheckMate 238 i KEYNOTE-054/EORTC 1325.

## Nivolumab

### CheckMate 238 studija

U CheckMate 238 studiji, pacijenti s potpunom resekcijom melanomom stadija III i IV raspoređeni su u skupinu koje je primala nivolumab (3 mg/kg svaka dva tjedna tijekom jedne godine) ili ipilimumab (10 mg/kg svaki tri tjedna četiri doze, a zatim svakih 12 tjedana do jedne godine) (95,96). Nakon 12 mjeseci praćenja, terapija nivolumabom u usporedbi s ipilimumabom rezultirala je značajno poboljšanim RFS (70% naspram 60%), manjim brojem nuspojava stupnja 3 i 4 (14% naspram 46%) i manjim brojem prekida liječenja zbog nuspojava (10% naspram 42,6%) (96). Slično poboljšanje RFS uočeno je bez obzira na prisutnost ili odsutnost ulceracija, opseg zahvaćenosti limfnih čvorova, ekspresiju PD-L1 i BRAF status (95).

Rezultati ove studije okončali su primjenu ipilimumaba u adjuvantnom liječenju melanoma. U prosincu 2017. FDA je odobrila nivolumab za adjuvantno liječenje melanoma stadija III (85).

Četverogodišnje praćenje Checkmate 238 studije pokazalo je trajno poboljšanje RFS kod skupine liječene nivolumabom u usporedbi s ipilimumabom (RFS 52% naspram 41%) Međutim, OS je bilo sličan u obje skupine (76% naspram 72%). Budući da RFS trenutno služi kao primarna krajnja točka za procjenu učinkovitosti adjuvantnog liječenja, adjuvantna primjena nivolumaba može se smatrati učinkovitijom u usporedbi s ipilimumabom (97,98).

## Pembrolizumab

### KEYNOTE-054/EORTC 1325 studija

KEYNOTE-054/EORTC 1325 studija pokazala je učinkovitost pembrolizumaba u adjuvantnom liječenju melanoma (53). Pacijenti s potpuno reseciranim melanomom stadija III primali su

pembrolizumab (200 mg svaka tri tjedna 18 doza, jedna godina liječenja) ili placebo. Pembrolizumab je doveo do poboljšanja jednogodišnje stope RFS (75% naspram 61%). Rezultati trogodišnjeg praćenja pokazali su značajno poboljšanje RFS kod pacijenata liječenih pembrolizumabom u usporedbi s placebom (RFS 60% naspram 41%) (99). Analiza unaprijed određenih podskupina (dob, stadij tumora, PD-L1 ekspresija, status BRAF mutacije) nije pokazala značajne razlike u RFS (100). Nuspojave stupnja 3 do 5 bile su češće u skupini liječenoj pembrolizumabom (15% naspram 3%). Prekid liječenja zbog nuspojava bio je češći u skupini liječenih pembrolizumabom (13% prema 2%). irAE pojavile su se u 37% pacijenata liječenih pembrolizumabom. 23% pacijenata je razvilo endokrini poremećaj, najčešće hipotireozu i hipertireozu. 7% pacijenata razvilo je irAE stupnja 3 i 4 (kolitis, hipofizitis, dijabetes tipa 1) (53). Analiza ovog ispitivanja pokazala je da su irAE koje nisu dovele do upotrebe steroida povezane s poboljšanim RFS (101).

Na temelju ove studije, FDA je odobrila pembrolizumab za adjuvantno liječenje melanoma u veljači 2019. (21).

#### S1404 studija

S1404 studija je jedino istraživanje adjuvantnog liječenja melanoma PD-1 inhibitorom koje je uključilo OS među svoje primarne krajnje točke. Pacijenti s resekiranim melanomom stadija III i IV randomizirani su u skupinu koja je primala pembrolizumab (200 mg svaka 3 tjedna) i skupinu koja je primala HDI ili ipilimumab 10 mg/kg ovisno o odabiru ispitivača. Konačna analiza je pokazala značajno poboljšanje RFS (HR 0,77,  $p=0,002$ ), ali bez poboljšanja OS (HR 0,82,  $p=0,15$ ) (102). Za sada je ipilimumab jedini ICI koji je pokazao podoljšanje OS.

#### KEYNOTE-716 studija

KEYNOTE-716 studija ispitala je učinkovitost pembrolizumaba u adjuvantnom liječenju melanoma stadija IIB i IIC (AJCC 8) (103). Rezultati prve privremene analize nakon 14 mjeseci pokazali su da je pembrolizumab smanjio rizik od povrata bolesti usporedbi s placebom (11% naspram 17%) i bio je povezan sa značajnim poboljšanjem RFS.

Potaknuta rezultatima KEYNOTE-716 studije, FDA je 2021. odobrila pembrolizumab za adjuvantno liječenje melanoma stadija IIB i IIC (85).

Podaci ukazuju da se oba PD-1 inhibitora (nivolumab, pembrolizumab) mogu primijeniti u većim dozama i s dužim vremenskim intervalima između svakog ciklusa bez povećanja rizika

od nuspojava ili gubitka učinkovitosti (104). Ipak, potrebna su daljnja ispitivanja, koja uspoređuju režim s visokim dozama i trenutno uspostavljeni režimom s niskim dozama kako bi se utvrdila sigurnost i djelotvornost (22).

### 3.3. Kombinacija CTLA-4 i PD-1 inhibitora

Poznato je da PD-1 i CTLA-4 molekule imaju različite uloge u suzbijanju imunološkog odgovora i da se nadopunjuju u tome. CTLA-4 je izražen rano tijekom aktivacije T-limfocita, dok se PD-1 uglavnom eksprimira u kasnijim fazama aktivacije T-limfocita. Također, PD-1 ligandi su ekspimirani na različitim tipovima stanica, a CTLA-4 ligande uglavnom ekspimiraju APCs u sekundarnim limfoidnim organima. Tako se otvorilo pitanje o mogućem kombiniranju CTLA-4 i PD-1 inhibitora s ciljem pojačavanja protutumorskog imunološkog odgovora (70)

IMMUNOMED studija pokazala je da adjuvantno liječenje melanoma stadija IV kombinacijom ipilimumaba 3 mg/kg i nivolumaba 1 mg/kg u odnosu na monoterapiju nivolumabom 3 mg/kg poboljšava RFS (105).

CheckMate 915 studija također je istraživala kombinaciju nivolumaba i ipilimumaba naspram monoterapije nivolumabom u adjuvantnom liječenju melanoma stadija III i IV. Uključeni su pacijenti s resekiranim melanomom stadija III i IV (AJCC 8). Bilo je to prva studija koja je ispitala adjuvantno liječenje melanom gdje nije bila potrebno provesti CLND. Ispitanici su randomizirani u dvije skupine: (1) nivolumab 240 mg svaka 2 tjedna i ipilimumab 1 mg/kg svakih 6 tjedana i (2) nivolumab 480 mg svaka 4 tjedna. Kombinacija nivolumaba i ipilimumaba nije poboljšala RFS u odnosu na monoterapiju nivolumabom. Nuspojave stupnja 3 i 4 (33% naspram 13%) i odustajanje od liječenja (19% naspram 6%) su bili češći u skupini koja je primala kombinirano liječenje (106).

Rezultate IMMUNOMED i CheckMate 915 studija ne možemo uspoređivati zbog različitih doza, stadija bolesti i razlike u provođenju CLND. Ipak, zbog rezultata CheckMate 915 studije monoterapija PD-1 inhibitorom ostaje standard imunoterapije u adjuvantnom liječenju melanoma.

## 4. Ciljana terapija

BRAF gen kodira serin-treonin kinazu koja sudjeluje u signalnom putu mitogenom aktivirane protein kinaze (MAPK). MAPK put uključuje signalne proteinske kinaze RAS, RAF, MEK i ERK (107). Aktivacija MAPK puta dovodi do transkripcije gena koji su uključeni u rast i proliferaciju stanice. Normalno, izvanstanični čimbenici rasta se vežu i aktiviraju receptore tirozin kinaze što dovodi do aktiviranja signala MAPK. Onkogene mutacije BRAF gena uzrokuju stalnu

aktivnost MAPK puta, što rezultira nekontroliranim rastom i proliferacijom stanica i povećanom sposobnošću invazije. Otprilike 50% kožnih melanoma ima mutacije u BRAF genu. Učestalost BRAF mutacija varira ovisno o podtipu melanoma, anatomskoj lokaciji primarnog tumora i obrascu izlaganja suncu. Akralni, mukozni, uvealni i *lentigo maligna* podtipovi melanoma obično su divljeg BRAF tipa. Otprilike 90% onkogenih mutacija BRAF gena nastaje supstitucijom valina (V) glutaminskom kiselinom (E) na poziciji 600 BRAF proteina (BRAFF600E). Druge varijante ove točkaste mutacije uključuju lizin (V600K), asparaginsku kiselinu (V600D) i arginin (V600R) (108).

Monoterapija BRAF inhibitorom se više ne koristi zbog brzog razvoja rezistencije reaktivacijom MAPK puta, značajne kožne toksičnosti i posebno zbog pojave sekundarnih karcinoma kože povezanih s paradoksalnom aktivacijom MAPK signalnog puta (109,110). Dvostruka inhibicija MAPK puta kombinacijom BRAF i MEK inhibitora poboljšala je kliničke rezultate, odgodila razvoj rezistencije i smanjila toksičnost u usporedbi s monoterapijom BRAF inhibitorom.

BRIM8 studija istraživala je adjuvantnu monoterapiju vemurafenibom u usporedbi s placebom u bolesnika s reseciranim melanomom pozitivnim na BRAF V600 mutaciju, a dobiveni rezultat nije bio značajni (111).

Učinkovitost kombinacije dabrafeniba i trametiniba u adjuvantnom liječenju melanoma s BRAF V600 mutacijom dokazana je u COMBI-AD studiji.

#### COMBI-AD studija

COMBI-AD studija ispitala je učinkovitost kombinacije dabrafeniba i trametiniba u adjuvantnom liječenju melanoma s BRAF V600 mutacijom studija III. Ispitanici su raspoređeni u skupinu koja je primala kombinaciju dabrafeniba (150 mg dva puta dnevno) i trametiniba (2 mg jednom dnevno) ili placebo tijekom 12 mjeseci (112). Najčešće nuspojave u skupini koja je primala dabrafenib i trametinib su bile povišena tjelesna temperatura (63%), umor (47%) i mučnina (40%). 26% ispitanika je zbog nuspojava trajno prekinulo terapiju. Gotovo sve nuspojave bile su prolazne i nestale nakon prekida terapije. Nakon pet godina praćenja, kombinacija dabrafeniba i trametiniba u usporedbi s placebom poboljšala je petogodišnji RFS (52% naspram 36%). Učinak na ukupno preživljenje nije analiziran, jer potreban broj događaja nije postignut. Većina recidiva se javila unutar prve tri godine nakon operacije (113). Manjina bolesnika liječenih kombinacijom dabrafeniba i trametiniba je dobila povrat bolesti tijekom liječenja (22%), nakon prekida liječenja bilo je više recidiva (78%) (114). Analiza biomarkera COMBI-AD kliničkog ispitivanja pokazala je da najveću korist terapije kombinacijom dabrafeniba i trametiniba u odnosu na placebo imaju oni s niskim mutacijskim opterećenjem

tumora (TMB) i visokom ekspresijom gena za interferon gama. (115). Na temelju COMBI-AD studije, 2018. godine FDA je odobrila kombinaciju dabrafeniba i trametiniba za adjuvantno liječenje melanoma sa zahvaćenim limfnim čvorovima i mutacijom BRAF V600E ili V600K (108).

## ODABIR LIJEČENJA

Kod pacijenata s BRAF divljim tipom melanoma, PD-1 inhibitori su trenutno najbolja opcija adjuvantnog liječenja. Liječenje nivolumabom ili pembrolizumabom nije pokazalo značajne razlike u RFS (116). Kod pacijenata s BRAF mutiranim melanom u adjuvantnom liječenju u obzir dolazi terapija PD-1 inhibitorima ili BRAF/MEK inhibitorima. Izravna usporedba PD-1 inhibitora i BRAF/MEK inhibitora u adjuvantnom liječenju bolesnika s BRAF mutacijom nije provedena (22). Zbog različitih kriterija za uključivanje pacijenata u PD-1 studije i BRAF/MEK studije, treba izbjegavati unakrsne usporedbe primarnih krajnjih točaka (RFS) (52,53,117). Pridružene bolesti važan su čimbenik koji treba uzeti u obzir pri odabiru terapije. Dobro kontrolirana autoimuna bolest bez nedavnih egzacerbacija nije apsolutna kontraindikacija za terapiju PD-1 inhibitorima, ali može predisponirati za razvoj irAE. Pacijenti s već postojećom kardiološkom bolešću mogu biti pod većim rizikom za razvoj zatajenja srca tijekom terapije BRAF/MEK inhibitorima, iako je ono najčešće reverzibilno (85). BRAF/MEK inhibitori imaju visoku incidenciju nuspojava (stupnja 1 i 2) tijekom trajanja liječenja, no one su najčešće reverzibilne i prestaju prekidom terapije. PD-1 inhibitori uzrokuju irAR koje mogu biti trajne. Iskustva liječenja metastatskog neoperabilnog melanoma pokazala su da imunoterapije može imati duguročnu učinkovitost i nakon prekida liječenja, zbog čega joj neki daju prednost (85). Ipak, BRAF/MEK inhibitori dovode do viših stopa odgovora tijekom liječenja uznapredovale bolesti. 76% recidiva kod pacijenata liječenih PD-1 inhibitorima događa se tijekom trajanja liječenja, a 24% nakon prekida liječenja (118). Nasuprot tome, 22% recidiva kod pacijenata liječenih BRAF/MEK inhibitorima događa se tijekom trajanja liječenja, a 78% nakon prekida (114). Analiza biomarkera COMBI-AD kliničkog ispitivanja pokazala je da najveću korist terapije dabrafenibom/trametinibom u odnosu na placebo imaju oni s niskim TMB i visokom ekspresijom gena za interferon gama (115).

Intenzivno se ispituje neoadjuvantno liječenje melanoma imunoterapijom i ciljanom terapijom (119–123). Rani podaci su obećavajući. Neoadjuvantno liječenje trenutno nije u kliničkoj primjeni izvan kliničkih studija (21). Ono bi omogućilo procjenu individualne osjetljivosti na terapiju i pomoglo u odabiru adjuvantnog liječenja (22,124).

## ZAKLJUČAK

U adjuvantnom liječenju bolesnika s visokorizičnim melanomima (stadiji IIB-IV) nakon potpunog kirurškog odstranjenja danas imamo na raspolaganju sustavne terapije dokazane učinkovitosti. U adjuvantnom liječenju melanoma koriste se PD-1 inhibitori (nivolumab, pembrolizumab) i BRAF/MEK inhibitori (dabrafenib/trametinib). Pacijente s BRAF divljim tipom melanoma adjuvantno liječimo PD-1 inhibitorima. Kod pacijenata s BRAF mutiranim melanomom možemo birati između BRAF/MEK inhibitora i PD-1 inhibitora. PD-1 inhibitori i BRAF/MEK inhibitori imaju različit profil nuspojava i različit način primjene što uzimamo u obzir pri izboru terapije za pojedinog pacijenta. Preporučeno trajanje adjuvantnog liječenja PD-1 inhibitorima i BRAF/MEK inhibitorima je jedna godina ili do razvoja nuspojava koje zahtijevaju prekid terapije (85). Za PD-1 inhibitore i BRAF/MEK inhibitore je dokazano da poboljšavaju RFS, ali niti za jedne nije dokazano da poboljšavaju OS. Usprkos trenutnom manjku dokaza o poboljšanju OS, adjuvantno liječenje ima smisla provoditi zbog poboljšanja kvalitete života odgađanjem pojave recidiva (85). Također, pokazano je da učinkovitost liječenja uznapređovalog melanoma imunoterapijom korelira s veličinom tumora, što podupire primjenu adjuvantne imunoterapije (125). Trenutno ne postoje pouzdani prediktivni biomarkeri koji bi predvidjeli koji pacijenti će imati korist od adjuvantne terapije (22). Zbog toga liječimo i dio pacijenata koji i bez terapije nikada ne bi imali povrat bolesti. Unatoč dostupnim adjuvantnim terapijama, dio pacijenata još uvijek dobije povrat bolesti. To nam govori da su potrebna daljnja istraživanja, razvoj prediktivnih biomarkera i novih lijekova.

## ZAHVALE

Željela bih se zahvaliti obitelji i prijateljima na podršci koju su mi pružali tijekom studija. Posebno bih se htjela zahvaliti i svojoj mentorici doc. dr. sc. Jasmini Marić Brozić na pomoći prilikom pisanja ovog diplomskog rada.



## LITERATURA

1. Kibbi N, Kluger H, Choi JN. Melanoma: Clinical Presentations. *Cancer Treat Res.* 2016;167:107–29.
2. Dzwierzynski WW. Melanoma Risk Factors and Prevention. Vol. 48, *Clinics in Plastic Surgery.* W.B. Saunders; 2021. p. 543–50.
3. <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/16-Melanoma-of-skin-fact-sheet.pdf> (Accessed on June 10, 2022).
4. Carr S, Smith C, Wernberg J. Epidemiology and Risk Factors of Melanoma. *Surg Clin North Am.* 2020 Feb;100(1):1–12.
5. Rastrelli M, Tropea S, Rossi CR, Alaibac M. Melanoma: epidemiology, risk factors, pathogenesis, diagnosis and classification. *In Vivo.* 28(6):1005–11.
6. Evans RD, Kopf AW, Lew RA, Rigel DS, Bart RS, Friedman RJ, et al. Risk factors for the development of malignant melanoma--I: Review of case-control studies. *J Dermatol Surg Oncol.* 1988 Apr;14(4):393–408.
7. Global Burden of Disease Cancer Collaboration, Fitzmaurice C, Akinyemiju TF, al Lami FH, Alam T, Alizadeh-Navaei R, et al. Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-Years for 29 Cancer Groups, 1990 to 2016: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study. *JAMA Oncol.* 2018;4(11):1553–68.
8. Williams ML, Sagebiel RW. Melanoma risk factors and atypical moles. *West J Med.* 1994 Apr;160(4):343–50.
9. Aitken JF, Youlden DR, Baade PD, Soyer HP, Green AC, Smithers BM. Generational shift in melanoma incidence and mortality in Queensland, Australia, 1995-2014. *Int J Cancer.* 2018;142(8):1528–35.
10. [https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2020/12/Bilten\\_2018\\_final.pdf](https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2020/12/Bilten_2018_final.pdf) (Accessed on June 10, 2022).
11. Syed DN, Mukhtar H. Botanicals for the prevention and treatment of cutaneous melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2011 Aug;24(4):688–702.
12. Suppa M, Gandini S. Sunbeds and melanoma risk: time to close the debate. *Curr Opin Oncol.* 2019;31(2):65–71.
13. [https://www.uptodate.com/contents/melanoma-clinical-features-and-diagnosis?search=melanoma&source=search\\_result&selectedTitle=1~150&usage\\_type=default&display\\_rank=1](https://www.uptodate.com/contents/melanoma-clinical-features-and-diagnosis?search=melanoma&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1) (Accessed on June 10, 2022).
14. Elder DE, Bastian BC, Cree IA, Massi D, Scolyer RA. The 2018 World Health Organization Classification of Cutaneous, Mucosal, and Uveal Melanoma: Detailed Analysis of 9 Distinct Subtypes Defined by Their Evolutionary Pathway. *Arch Pathol Lab Med.* 2020;144(4):500–22.
15. Shain AH, Yeh I, Kovalyshyn I, Sriharan A, Talevich E, Gagnon A, et al. The Genetic Evolution of Melanoma from Precursor Lesions. *N Engl J Med.* 2015 Nov 12;373(20):1926–36.

16. Bastian BC. The molecular pathology of melanoma: an integrated taxonomy of melanocytic neoplasia. *Annu Rev Pathol.* 2014;9:239–71.
17. Gershenwald JE, Scolyer RA, Hess KR, Sondak VK, Long G v, Ross MI, et al. Melanoma staging: Evidence-based changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA Cancer J Clin.* 2017 Nov;67(6):472–92.
18. Amin MB, Greene FL, Edge SB, Compton CC, Gershenwald JE, Brookland RK, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more “personalized” approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin.* 2017 Mar;67(2):93–9.
19. Faries MB, Mozzillo N, Kashani-Sabet M, Thompson JF, Kelley MC, DeConti RC, et al. Long-Term Survival after Complete Surgical Resection and Adjuvant Immunotherapy for Distant Melanoma Metastases. *Ann Surg Oncol.* 2017 Dec;24(13):3991–4000.
20. Sosman JA, Moon J, Tuthill RJ, Warneke JA, Vetto JT, Redman BG, et al. A phase 2 trial of complete resection for stage IV melanoma: results of Southwest Oncology Group Clinical Trial S9430. *Cancer.* 2011 Oct 15;117(20):4740–06.
21. Dimitriou F, Long G v., Menzies AM. Novel adjuvant options for cutaneous melanoma. Vol. 32, *Annals of Oncology.* Elsevier Ltd; 2021. p. 854–65.
22. Stege H, Haist M, Nikfarjam U, Schultheis M, Heinz J, Pemler S, et al. The Status of Adjuvant and Neoadjuvant Melanoma Therapy, New Developments and Upcoming Challenges. Vol. 16, *Targeted Oncology.* Adis; 2021. p. 537–52.
23. ISAACS A, LINDENMANN J. Virus interference. I. The interferon. *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 1957 Sep 12;147(927):258–67.
24. Rafique I, Kirkwood JM, Tarhini AA. Immune checkpoint blockade and interferon- $\alpha$  in melanoma. *Semin Oncol.* 2015 Jun;42(3):436–47.
25. Giacomini P, Fraioli R, Calabrò AM, di Filippo F, Natali PG. Class I major histocompatibility complex enhancement by recombinant leukocyte interferon in the peripheral blood mononuclear cells and plasma of melanoma patients. *Cancer Res.* 1991 Jan 15;51(2):652–6.
26. Heise R, Amann PM, Ensslen S, Marquardt Y, Czaja K, Jousen S, et al. Interferon Alpha Signalling and Its Relevance for the Upregulatory Effect of Transporter Proteins Associated with Antigen Processing (TAP) in Patients with Malignant Melanoma. *PLoS One.* 2016;11(1):e0146325.
27. Palmer KJ, Harries M, Gore ME, Collins MK. Interferon-alpha (IFN-alpha) stimulates anti-melanoma cytotoxic T lymphocyte (CTL) generation in mixed lymphocyte tumour cultures (MLTC). *Clin Exp Immunol.* 2000 Mar;119(3):412–8.
28. Lesinski GB, Anghelina M, Zimmerer J, Bakalakos T, Badgwell B, Parihar R, et al. The antitumor effects of IFN-alpha are abrogated in a STAT1-deficient mouse. *J Clin Invest.* 2003 Jul;112(2):170–80.
29. Kirkwood JM, Richards T, Zarour HM, Sosman J, Ernstoff M, Whiteside TL, et al. Immunomodulatory effects of high-dose and low-dose interferon alpha2b in patients with high-risk resected melanoma: the E2690 laboratory corollary of intergroup adjuvant trial E1690. *Cancer.* 2002 Sep 1;95(5):1101–12.

30. Kolumam GA, Thomas S, Thompson LJ, Sprent J, Murali-Krishna K. Type I interferons act directly on CD8 T cells to allow clonal expansion and memory formation in response to viral infection. *J Exp Med*. 2005 Sep 5;202(5):637–50.
31. Wenner CA, Güler ML, Macatonia SE, O’Garra A, Murphy KM. Roles of IFN-gamma and IFN-alpha in IL-12-induced T helper cell-1 development. *J Immunol*. 1996 Feb 15;156(4):1442–7.
32. Roh MR, Zheng Z, Kim HS, Jeung HC, Rha SY, Chung KY. Difference of interferon- $\alpha$  and interferon- $\beta$  on melanoma growth and lymph node metastasis in mice. *Melanoma Res*. 2013 Apr;23(2):114–24.
33. Raig ET, Jones NB, Varker KA, Benniger K, Go MR, Biber JL, et al. VEGF secretion is inhibited by interferon-alpha in several melanoma cell lines. *J Interferon Cytokine Res*. 2008 Sep;28(9):553–61.
34. di Trolio R, Simeone E, di Lorenzo G, Grimaldi AM, Romano A, Ayala F, et al. Update on PEG-interferon  $\alpha$ -2b as adjuvant therapy in melanoma. *Anticancer Res*. 2012 Sep;32(9):3901–9.
35. Kirkwood JM, Strawderman MH, Ernstoff MS, Smith TJ, Borden EC, Blum RH. Interferon alfa-2b adjuvant therapy of high-risk resected cutaneous melanoma: the Eastern Cooperative Oncology Group Trial EST 1684. *J Clin Oncol*. 1996 Jan;14(1):7–17.
36. Eggermont AMM, Suci S, MacKie R, Ruka W, Testori A, Kruit W, et al. Post-surgery adjuvant therapy with intermediate doses of interferon alfa 2b versus observation in patients with stage IIb/III melanoma (EORTC 18952): randomised controlled trial. *Lancet*. 2005 Oct 1;366(9492):1189–96.
37. Hauschild A, Weichenthal M, Rass K, Linse R, Berking C, Böttjer J, et al. Efficacy of low-dose interferon  $\alpha$ 2a 18 versus 60 months of treatment in patients with primary melanoma of  $\geq 1.5$  mm tumor thickness: results of a randomized phase III DeCOG trial. *J Clin Oncol*. 2010 Feb 10;28(5):841–6.
38. Garbe C, Radny P, Linse R, Dummer R, Gutzmer R, Ulrich J, et al. Adjuvant low-dose interferon  $\alpha$ 2a with or without dacarbazine compared with surgery alone: a prospective-randomized phase III DeCOG trial in melanoma patients with regional lymph node metastasis. *Ann Oncol*. 2008 Jun;19(6):1195–201.
39. Grob JJ, Dreno B, de la Salmonière P, Delaunay M, Cupissol D, Guillot B, et al. Randomised trial of interferon alpha-2a as adjuvant therapy in resected primary melanoma thicker than 1.5 mm without clinically detectable node metastases. French Cooperative Group on Melanoma. *Lancet*. 1998 Jun 27;351(9120):1905–10.
40. Pehamberger H, Soyer HP, Steiner A, Kofler R, Binder M, Mischer P, et al. Adjuvant interferon alfa-2a treatment in resected primary stage II cutaneous melanoma. Austrian Malignant Melanoma Cooperative Group. *J Clin Oncol*. 1998 Apr;16(4):1425–9.
41. Hancock BW, Wheatley K, Harris S, Ives N, Harrison G, Horsman JM, et al. Adjuvant interferon in high-risk melanoma: the AIM HIGH Study--United Kingdom Coordinating Committee on Cancer Research randomized study of adjuvant low-dose extended-duration interferon Alfa-2a in high-risk resected malignant melanoma. *J Clin Oncol*. 2004 Jan 1;22(1):53–61.
42. Eggermont AM, Suci S, Santinami M, Testori A, Kruit WH, Marsden J, et al. Adjuvant therapy with pegylated interferon alfa-2b versus observation alone in resected stage III melanoma:

- final results of EORTC 18991, a randomised phase III trial. *Lancet*. 2008 Jul 12;372(9633):117–26.
43. Eggermont AMM, Suci S, Testori A, Santinami M, Kruit WHJ, Marsden J, et al. Long-term results of the randomized phase III trial EORTC 18991 of adjuvant therapy with pegylated interferon alfa-2b versus observation in resected stage III melanoma. *J Clin Oncol*. 2012 Nov 1;30(31):3810–8.
  44. Eggermont AMM, Suci S, Rutkowski P, Kruit WH, Punt CJ, Dummer R, et al. Long term follow up of the EORTC 18952 trial of adjuvant therapy in resected stage IIB-III cutaneous melanoma patients comparing intermediate doses of interferon-alpha-2b (IFN) with observation: Ulceration of primary is key determinant for IFN-sensitivity. *Eur J Cancer*. 2016 Mar;55:111–21.
  45. Dewey DL. The radiosensitivity of melanoma cells in culture. *Br J Radiol*. 1971 Oct;44(526):816–7.
  46. Doss LL, Memula N. The radioresponsiveness of melanoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1982 Jul;8(7):1131–4.
  47. Rofstad EK. Radiation biology of malignant melanoma. *Acta Radiol Oncol*. 25(1):1–10.
  48. Sause WT, Cooper JS, Rush S, Ago CT, Cosmatos D, Coughlin CT, et al. Fraction size in external beam radiation therapy in the treatment of melanoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1991 Mar;20(3):429–32.
  49. Faries MB, Thompson JF, Cochran AJ, Andtbacka RH, Mozzillo N, Zager JS, et al. Completion Dissection or Observation for Sentinel-Node Metastasis in Melanoma. *N Engl J Med*. 2017;376(23):2211–22.
  50. Karakousis CP, Balch CM, Urist MM, Ross MM, Smith TJ, Bartolucci AA. Local recurrence in malignant melanoma: long-term results of the multiinstitutional randomized surgical trial. *Ann Surg Oncol*. 1996 Sep;3(5):446–52.
  51. Henderson MA, Burmeister BH, Ainslie J, Fisher R, di Iulio J, Smithers BM, et al. Adjuvant lymph-node field radiotherapy versus observation only in patients with melanoma at high risk of further lymph-node field relapse after lymphadenectomy (ANZMTG 01.02/TROG 02.01): 6-year follow-up of a phase 3, randomised controlled trial. *Lancet Oncol*. 2015 Sep;16(9):1049–60.
  52. Weber J, Mandala M, Del Vecchio M, et al. Adjuvant Nivolumab versus Ipilimumab in Resected Stage III or IV Melanoma. *N Engl J Med* 2017; 377:1824.
  53. Eggermont AMM, Blank CU, Mandala M, Long G v., Atkinson V, Dalle S, et al. Adjuvant Pembrolizumab versus Placebo in Resected Stage III Melanoma. *New England Journal of Medicine*. 2018 May 10;378(19):1789–801.
  54. Mitra D, Bishop A, Guadagnolo BA. Adjuvant Nodal Radiation Therapy for Melanoma in the Era of Immunotherapy. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*. 2020 Sep 1;108(1):164–9.
  55. Marciscano AE, Ghasemzadeh A, Nirschl TR, Theodros D, Kochel CM, Francica BJ, et al. Elective Nodal Irradiation Attenuates the Combinatorial Efficacy of Stereotactic Radiation Therapy and Immunotherapy. *Clin Cancer Res*. 2018;24(20):5058–71.

56. Sharabi AB, Nirschl CJ, Kochel CM, Nirschl TR, Francica BJ, Velarde E, et al. Stereotactic Radiation Therapy Augments Antigen-Specific PD-1-Mediated Antitumor Immune Responses via Cross-Presentation of Tumor Antigen. *Cancer Immunol Res.* 2015 Apr;3(4):345–55.
57. Marciscano AE, Ghasemzadeh A, Nirschl TR, Theodros D, Kochel CM, Francica BJ, et al. Elective Nodal Irradiation Attenuates the Combinatorial Efficacy of Stereotactic Radiation Therapy and Immunotherapy. *Clin Cancer Res.* 2018;24(20):5058–71.
58. Burmeister BH, Henderson MA, Ainslie J, Fisher R, di Iulio J, Smithers BM, et al. Adjuvant radiotherapy versus observation alone for patients at risk of lymph-node field relapse after therapeutic lymphadenectomy for melanoma: a randomised trial. *Lancet Oncol.* 2012 Jun;13(6):589–97.
59. Ko EC, Benjamin KT, Formenti SC. Generating antitumor immunity by targeted radiation therapy: Role of dose and fractionation. *Adv Radiat Oncol.* 3(4):486–93.
60. Guadagnolo BA, Zagars GK. Adjuvant radiation therapy for high-risk nodal metastases from cutaneous melanoma. *Lancet Oncol.* 2009 Apr;10(4):409–16.
61. Agrawal S, Kane JM, Guadagnolo BA, Kraybill WG, Ballo MT. The benefits of adjuvant radiation therapy after therapeutic lymphadenectomy for clinically advanced, high-risk, lymph node-metastatic melanoma. *Cancer.* 2009 Dec 15;115(24):5836–44.
62. Leiter U, Stadler R, Mauch C, Hohenberger W, Brockmeyer N, Berking C, et al. Complete lymph node dissection versus no dissection in patients with sentinel lymph node biopsy positive melanoma (DeCOG-SLT): a multicentre, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2016 Jun;17(6):757–67.
63. Faries MB, Thompson JF, Cochran AJ, Andtbacka RH, Mozzillo N, Zager JS, et al. Completion Dissection or Observation for Sentinel-Node Metastasis in Melanoma. *N Engl J Med.* 2017;376(23):2211–22.
64. Rao NG, Yu HHM, Trotti A, Sondak VK. The Role of Radiation Therapy in the Management of Cutaneous Melanoma. *Surgical Oncology Clinics of North America.* 2011 Jan;20(1):115–31.
65. Mendenhall WM, Shaw C, Amdur RJ, Kirwan J, Morris CG, Werning JW. Surgery and adjuvant radiotherapy for cutaneous melanoma considered high-risk for local–regional recurrence. *American Journal of Otolaryngology.* 2013 Jul;34(4):320–2.
66. Dyck L, Mills KHG. Immune checkpoints and their inhibition in cancer and infectious diseases. *Eur J Immunol.* 2017;47(5):765–79.
67. Zhang Y, Zheng J. Functions of Immune Checkpoint Molecules Beyond Immune Evasion. *Adv Exp Med Biol.* 2020;1248:201–26.
68. Carlino MS, Larkin J, Long G v. Immune checkpoint inhibitors in melanoma. Vol. 398, *The Lancet.* Elsevier B.V.; 2021. p. 1002–14.
69. Curran MA, Montalvo W, Yagita H, Allison JP. PD-1 and CTLA-4 combination blockade expands infiltrating T cells and reduces regulatory T and myeloid cells within B16 melanoma tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2010 Mar 2;107(9):4275–80.

70. Bagchi S, Yuan R, Engleman EG. Immune Checkpoint Inhibitors for the Treatment of Cancer: Clinical Impact and Mechanisms of Response and Resistance. 2021; Available from: <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-042020-042741>
71. Krummel MF, Allison JP. CD28 and CTLA-4 have opposing effects on the response of T cells to stimulation. *Journal of Experimental Medicine*. 1995 Aug 1;182(2):459–65.
72. Walunas TL, Lenschow DJ, Bakker CY, Linsley PS, Freeman GJ, Green JM, et al. CTLA-4 can function as a negative regulator of T cell activation. *Immunity*. 1994 Aug;1(5):405–13.
73. Valk E, Rudd CE, Schneider H. CTLA-4 trafficking and surface expression. *Trends in Immunology*. 2008 Jun;29(6):272–9.
74. Azuma M, Ito D, Yagita H, Okumura K, Phillips JH, Lanier LL, et al. B70 antigen is a second ligand for CTLA-4 and CD28. *Nature*. 1993 Nov;366(6450):76–9.
75. Linsley PS, Brady W, Grosmaire L, Aruffo A, Damle NK, Ledbetter JA. Binding of the B cell activation antigen B7 to CD28 costimulates T cell proliferation and interleukin 2 mRNA accumulation. *Journal of Experimental Medicine*. 1991 Mar 1;173(3):721–30.
76. Linsley PS, Clark EA, Ledbetter JA. T-cell antigen CD28 mediates adhesion with B cells by interacting with activation antigen B7/BB-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1990 Jul;87(13):5031–5.
77. Valk E, Leung R, Kang H, Kaneko K, Rudd CE, Schneider H. T Cell Receptor-Interacting Molecule Acts as a Chaperone to Modulate Surface Expression of the CTLA-4 Coreceptor. *Immunity*. 2006 Nov;25(5):807–21.
78. Linsley PS, Brady W, Urnes M, Grosmaire LS, Damle NK, Ledbetter JA. CTLA-4 is a second receptor for the B cell activation antigen B7. *Journal of Experimental Medicine*. 1991 Sep 1;174(3):561–9.
79. Friedline RH, Brown DS, Nguyen H, Kornfeld H, Lee J, Zhang Y, et al. CD4+ regulatory T cells require CTLA-4 for the maintenance of systemic tolerance. *J Exp Med*. 2009 Feb 16;206(2):421–34.
80. Wing K, Onishi Y, Prieto-Martin P, Yamaguchi T, Miyara M, Fehervari Z, et al. CTLA-4 control over Foxp3+ regulatory T cell function. *Science*. 2008 Oct 10;322(5899):271–5.
81. Read S, Greenwald R, Izcue A, Robinson N, Mandelbrot D, Francisco L, et al. Blockade of CTLA-4 on CD4+CD25+ regulatory T cells abrogates their function in vivo. *J Immunol*. 2006 Oct 1;177(7):4376–83.
82. Schadendorf D, Hodi FS, Robert C, Weber JS, Margolin K, Hamid O, et al. Pooled Analysis of Long-Term Survival Data From Phase II and Phase III Trials of Ipilimumab in Unresectable or Metastatic Melanoma. *J Clin Oncol*. 2015 Jun 10;33(17):1889–94.
83. Eggermont AMM, Chiarion-Sileni V, Grob JJ, Dummer R, Wolchok JD, Schmidt H, et al. Adjuvant ipilimumab versus placebo after complete resection of high-risk stage III melanoma (EORTC 18071): A randomised, double-blind, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*. 2015;16(5):522–30.
84. Eggermont AMM, Chiarion-Sileni V, Grob JJ, Dummer R, Wolchok JD, Schmidt H, et al. Adjuvant ipilimumab versus placebo after complete resection of stage III melanoma: long-term follow-

- up results of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer 18071 double-blind phase 3 randomised trial. *European Journal of Cancer*. 2019 Sep 1;119:1–10.
85. Truong TG, Kennedy LB, Patel SP. 25 Years of Adjuvant Therapy in Melanoma: A Perspective on Current Approvals and Insights into Future Directions. Vol. 24, *Current Oncology Reports*. Springer; 2022. p. 533–42.
  86. Warner AB, Postow MA. Another victory for immune checkpoint blockade in melanoma: Adjuvant ipilimumab over interferon. Vol. 38, *Journal of Clinical Oncology*. American Society of Clinical Oncology; 2020. p. 529–31.
  87. Ahmadzadeh M, Johnson LA, Heemskerk B, Wunderlich JR, Dudley ME, White DE, et al. Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired. *Blood*. 2009 Aug 20;114(8):1537–44.
  88. Salmaninejad A, Valilou SF, Shabgah AG, Aslani S, Alimardani M, Pasdar A, et al. PD-1/PD-L1 pathway: Basic biology and role in cancer immunotherapy. *J Cell Physiol*. 2019;234(10):16824–37.
  89. Latchman Y, Wood CR, Chernova T, Chaudhary D, Borde M, Chernova I, et al. PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nat Immunol*. 2001 Mar;2(3):261–8.
  90. Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, Bourque K, Chernova T, Nishimura H, et al. Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J Exp Med*. 2000 Oct 2;192(7):1027–34.
  91. Okazaki T, Maeda A, Nishimura H, Kurosaki T, Honjo T. PD-1 immunoreceptor inhibits B cell receptor-mediated signaling by recruiting src homology 2-domain-containing tyrosine phosphatase 2 to phosphotyrosine. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 Nov 20;98(24):13866–71.
  92. Patsoukis N, Brown J, Petkova V, Liu F, Li L, Boussiotis VA. Selective effects of PD-1 on Akt and Ras pathways regulate molecular components of the cell cycle and inhibit T cell proliferation. *Sci Signal*. 2012 Jun 26;5(230):ra46.
  93. Amarnath S, Mangus CW, Wang JCM, Wei F, He A, Kapoor V, et al. The PDL1-PD1 axis converts human TH1 cells into regulatory T cells. *Sci Transl Med*. 2011 Nov 30;3(111):111ra120.
  94. Francisco LM, Salinas VH, Brown KE, Vanguri VK, Freeman GJ, Kuchroo VK, et al. PD-L1 regulates the development, maintenance, and function of induced regulatory T cells. *Journal of Experimental Medicine*. 2009 Dec 21;206(13):3015–29.
  95. Ascierto PA, del Vecchio M, Mandalá M, Gogas H, Arance AM, Dalle S, et al. Adjuvant nivolumab versus ipilimumab in resected stage IIIB–C and stage IV melanoma (CheckMate 238): 4-year results from a multicentre, double-blind, randomised, controlled, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*. 2020 Nov 1;21(11):1465–77.
  96. Weber J, Mandala M, del Vecchio M, Gogas HJ, Arance AM, Cowey CL, et al. Adjuvant Nivolumab versus Ipilimumab in Resected Stage III or IV Melanoma. *New England Journal of Medicine*. 2017 Nov 9;377(19):1824–35.
  97. Ascierto PA, Borgognoni L, Botti G, Guida M, Marchetti P, Mocellin S, et al. New paradigm for stage III melanoma: From surgery to adjuvant treatment. Vol. 17, *Journal of Translational Medicine*. BioMed Central Ltd.; 2019.

98. Cohen J v., Buchbinder EI. The Evolution of Adjuvant Therapy for Melanoma. Vol. 21, Current Oncology Reports. Springer; 2019.
99. Eggermont AMM, Blank CU, Mandalà M, Long G v., Atkinson VG, Dalle S, et al. Adjuvant pembrolizumab versus placebo in resected stage III melanoma (EORTC 1325-MG/KEYNOTE-054): distant metastasis-free survival results from a double-blind, randomised, controlled, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*. 2021 May 1;22(5):643–54.
100. Eggermont AMM, Blank CU, Mandala M, Long G v, Atkinson VG, Dalle S, et al. Longer Follow-Up Confirms Recurrence-Free Survival Benefit of Adjuvant Pembrolizumab in High-Risk Stage III Melanoma: Updated Results From the EORTC 1325-MG/KEYNOTE-054 Trial. *J Clin Oncol*. 2020;38(33):3925–36.
101. Eggermont AMM, Kicinski M, Blank CU, Mandala M, Long G v., Atkinson V, et al. Association between Immune-Related Adverse Events and Recurrence-Free Survival among Patients with Stage III Melanoma Randomized to Receive Pembrolizumab or Placebo: A Secondary Analysis of a Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncology*. 2020 Apr 1;6(4):519–27.
102. Grossmann KF, Othus M, Patel SP, Tarhini AA, Sondak VK, Knopp M v., et al. Adjuvant Pembrolizumab versus IFN $\alpha$ 2b or Ipilimumab in Resected High-Risk Melanoma. *Cancer Discovery*. 2022 Mar 1;12(3):644–53.
103. Luke JJ, Rutkowski P, Queirolo P, del Vecchio M, Mackiewicz J, Chiarion-Sileni V, et al. Pembrolizumab versus placebo as adjuvant therapy in completely resected stage IIB or IIC melanoma (KEYNOTE-716): a randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet*. 2022;399(10336):1718–29.
104. Assessment of nivolumab exposure and clinical safety of 480 mg every 4 weeks flat-dosing schedule in patients with cancer. 2018; Available from: <https://academic.oup.com/annonc/advance-article-abstract/doi/10.1093/annonc/mdy408/5095691>
105. Zimmer L, Livingstone E, Hassel JC, Fluck M, Eigentler T, Loquai C, et al. Adjuvant nivolumab plus ipilimumab or nivolumab monotherapy versus placebo in patients with resected stage IV melanoma with no evidence of disease (IMMUNED): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *The Lancet*. 2020 May 16;395(10236):1558–68.
106. <https://www.abstractsonline.com/pp8/#!/9325/presentation/5135> (Accessed on June 10, 2022).
107. Burotto M, Chiou VL, Lee JM, Kohn EC. The MAPK pathway across different malignancies: a new perspective. *Cancer*. 2014 Nov 15;120(22):3446–56.
108. Tétu P, Baroudjian B, Lebbe C. Targeting BRAF and MEK inhibitors in melanoma in the metastatic, neoadjuvant and adjuvant setting. Vol. 32, Current Opinion in Oncology. Lippincott Williams and Wilkins; 2020. p. 85–90.
109. Chapman PB, Robert C, Larkin J, Haanen JB, Ribas A, Hogg D, et al. Vemurafenib in patients with BRAFV600 mutation-positive metastatic melanoma: final overall survival results of the randomized BRIM-3 study. *Ann Oncol*. 2017 Oct 1;28(10):2581–7.



110. Hauschild A, Grob JJ, Demidov L v, Jouary T, Gutzmer R, Millward M, et al. Dabrafenib in BRAF-mutated metastatic melanoma: a multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet*. 2012 Jul 28;380(9839):358–65.
111. Maio M, Lewis K, Demidov L, Mandalà M, Bondarenko I, Ascierto PA, et al. Adjuvant vemurafenib in resected, BRAFV600 mutation-positive melanoma (BRIM8): a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*. 2018 Apr 1;19(4):510–20.
112. Long G v., Hauschild A, Santinami M, Atkinson V, Mandalà M, Chiarion-Sileni V, et al. Adjuvant Dabrafenib plus Trametinib in Stage III BRAF -Mutated Melanoma . *New England Journal of Medicine*. 2017 Nov 9;377(19):1813–23.
113. Dummer R, Hauschild A, Santinami M, Atkinson V, Mandalà M, Kirkwood JM, et al. Five-Year Analysis of Adjuvant Dabrafenib plus Trametinib in Stage III Melanoma. *New England Journal of Medicine*. 2020 Sep 17;383(12):1139–48.
114. Bhave P, Pallan L, Long G v, Menzies AM, Atkinson V, Cohen J v, et al. Melanoma recurrence patterns and management after adjuvant targeted therapy: a multicentre analysis. *Br J Cancer*. 2021;124(3):574–80.
115. Dummer R, Brase JC, Garrett J, Campbell CD, Gasal E, Squires M, et al. Adjuvant dabrafenib plus trametinib versus placebo in patients with resected, BRAFV600-mutant, stage III melanoma (COMBI-AD): exploratory biomarker analyses from a randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2020;21(3):358–72.
116. Eggermont AMM, Blank CU, Mandala M, Long G v, Atkinson VG, Dalle S, et al. Longer Follow-Up Confirms Recurrence-Free Survival Benefit of Adjuvant Pembrolizumab in High-Risk Stage III Melanoma: Updated Results From the EORTC 1325-MG/KEYNOTE-054 Trial. *J Clin Oncol*. 2020;38(33):3925–36.
117. Long G v., Hauschild A, Santinami M, Atkinson V, Mandalà M, Chiarion-Sileni V, et al. Adjuvant Dabrafenib plus Trametinib in Stage III BRAF -Mutated Melanoma . *New England Journal of Medicine*. 2017 Nov 9;377(19):1813–23.
118. Owen CN, Shoushtari AN, Chauhan D, Palmieri DJ, Lee B, Rohaan MW, et al. Management of early melanoma recurrence despite adjuvant anti-PD-1 antibody therapy☆. *Ann Oncol*. 2020;31(8):1075–82.
119. Amaria RN, Reddy SM, Tawbi HA, Davies MA, Ross MI, Glitza IC, et al. Neoadjuvant immune checkpoint blockade in high-risk resectable melanoma. *Nat Med*. 2018;24(11):1649–54.
120. Rozeman EA, Menzies AM, van Akkooi ACJ, Adhikari C, Bierman C, van de Wiel BA, et al. Identification of the optimal combination dosing schedule of neoadjuvant ipilimumab plus nivolumab in macroscopic stage III melanoma (OpACIN-neo): a multicentre, phase 2, randomised, controlled trial. *Lancet Oncol*. 2019;20(7):948–60.
121. Huang AC, Orlowski RJ, Xu X, Mick R, George SM, Yan PK, et al. A single dose of neoadjuvant PD-1 blockade predicts clinical outcomes in resectable melanoma. *Nat Med*. 2019;25(3):454–61.

122. Blank CU, Rozeman EA, Fanchi LF, Sikorska K, van de Wiel B, Kvistborg P, et al. Neoadjuvant versus adjuvant ipilimumab plus nivolumab in macroscopic stage III melanoma. *Nat Med.* 2018;24(11):1655–61.
123. Long G v, Saw RPM, Lo S, Nieweg OE, Shannon KF, Gonzalez M, et al. Neoadjuvant dabrafenib combined with trametinib for resectable, stage IIIB-C, BRAFV600 mutation-positive melanoma (NeoCombi): a single-arm, open-label, single-centre, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2019;20(7):961–71.
124. Amaria RN, Menzies AM, Burton EM, Scolyer RA, Tetzlaff MT, Antdbacka R, et al. Neoadjuvant systemic therapy in melanoma: recommendations of the International Neoadjuvant Melanoma Consortium. *Lancet Oncol.* 2019;20(7):e378–89.
125. Joseph RW, Elassaiss-Schaap J, Kefford R, Hwu WJ, Wolchok JD, Joshua AM, et al. Baseline Tumor Size Is an Independent Prognostic Factor for Overall Survival in Patients with Melanoma Treated with Pembrolizumab. *Clin Cancer Res.* 2018;24(20):4960–7.

## ŽIVOTOPIS

Rođena sam 18.5.1997. u Zagrebu. Završila sam Osnovnu školu Vrbani i 15. gimnaziju u Zagrebu. 2016. godine upisala sam Medicinski fakultet u Zagrebu. Dobila sam Dekanovu nagradu za uspjeh u akademskoj godini 2018./2019. Aktivno se služim engleskim i njemačkim jezikom.