

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE**

**„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI**

**ȘCOALA DOCTORALĂ, DOMENIUL MEDICINĂ**

**ROLUL MUTAȚIEI B-RAF ÎN DIAGNOSTICUL  
ȘI PROGNOSTICUL MELANOMULUI  
CUTANAT**

**REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducător de doctorat:**

**PROF. UNIV. DR. OPROIU ANA-MARIA**

**Student-doctorand:**

**DOGARU IOANA MIHAELA**

**ANUL 2023**

## CUPRINS

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Introducere.....</b>                            | <b>2</b>  |
| <b>I. Partea generală</b>                          |           |
| <b>1. Sistemul melanocitar.....</b>                | <b>4</b>  |
| 1.1. Sistemul melanocitar.....                     | 4         |
| 1.2. Epidemiologie. Factori de risc.....           | 5         |
| 1.3. Clasificarea leziunilor melanocitare.....     | 7         |
| <b>2. Melanomul .....</b>                          | <b>8</b>  |
| 2.1 Clasificarea melanomului.....                  | 8         |
| 2.2 Stadializarea melanomului.....                 | 10        |
| 2.3 Tratamentul melanomului.....                   | 11        |
| <b>II. Partea specială</b>                         |           |
| <b>1. Material și metodă.....</b>                  | <b>14</b> |
| <b>2. Analiza statistică a supraviețuirii.....</b> | <b>18</b> |
| <b>3. Concluzii.....</b>                           | <b>35</b> |
| 3.1. Rezultatele studiului.....                    | 35        |
| 3.2. Contribuții personale.....                    | 37        |
| 3.3. Limitări și perspective.....                  | 38        |
| <b>Bibliografie selectivă.....</b>                 | <b>40</b> |
| <b>Lista publicațiilor.....</b>                    | <b>43</b> |

## INTRODUCERE

Melanomul este cel mai agresiv tip de cancer de piele, reprezintă proliferarea neoplazică a melanocitelor, celulele ce produc pigmentul melanină. Apare predominant la nivel cutanat, dar poate să existe și la nivelul mucoaselor sau coroidei. Este o patologie oncologică deosebit de agresivă, cu potențial important de metastazare dacă nu este depistat precoce. Adesea, cauza inițială este reprezentată de o mutație genetică, dar procesul oncogenetic este de obicei complex, implicând atât factori externi, cât și intracelulari. Morbiditatea este de asemenea importantă și, cumulat, melanomul are un impact semnificativ asupra pacienților și sistemelor de sănătate.

Calitatea vieții pacienților cu melanom este semnificativ afectată, cancerul având un impact puternic atât din punct de vedere fizic, cât și psihologic. Intervenția sau intervențiile chirurgicale, în special în cazuri avansate local, pot duce la morbiditate importantă, pe lângă potențialele complicații locale. Leziunile în zone vizibile se pot solda cu cicatrici uneori inestetice, care pot afecta imaginea de sine. Boala avansată regional implică adesea excizii ganglionare, de asemenea însoțite de complicații locale. Tratamentele sistemice, chiar cele moderne, prezintă reacții adverse, uneori severe. Impactul emoțional al acestui diagnostic este semnificativ, susținerea pacientului atât de către familie, dar și de personal calificat fiind deosebit de importantă pentru recuperare, iar unele tratamente, precum imunoterapia pot amplifica sau induce afecțiuni psihologice precum depresia, care uneori necesită tratament specializat. Impactul financiar asupra pacientului și familiei acestuia poate fi de asemenea semnificativ și dificil de gestionat.

Tratamentul melanomului este predominant chirurgical, în stadii incipiente cu viziune curativă, însă în stadii avansate potențialul de recidivă este semnificativ și de asemenea rata de supraviețuire este mult redusă, fiind necesară asocierea unei terapii sistemice. Acest tratament sistemic a evoluat puternic recent, îmbunătățind semnificativ prognosticul pacienților cu boală generalizată sau extinsă regional. Descoperirea mutațiilor genetice care stau la baza apariției melanomului au avut de asemenea o contribuție importantă în evoluția tratamentului sistemic prin terapie țintită. Mutația cel mai frecvent întâlnită în melanom și pentru care au fost dezvoltate terapii țintite este mutația genei BRAF, prezentă în peste o treime din cazuri. Aceasta, (v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1), o genă ce codifică proteina B-raf, o protein-kinază cu rol important în reglarea proliferării

și diferențierii celulare. Pe lângă melanom, aceste mutații apar și în neoplasmelor colorectale și tiroidiene. Cea mai frecventă variantă o reprezintă V600E, adică substituția valinei cu acid glutamic în poziția 600, ceea ce duce la o activare permanentă a căii de semnalizare MAPK, controlată de B-raf, și având ca rezultat final creșterea și diviziunea necontrolată a celulei respective. Există și alte mutații cu rol în oncogeneză, între ele cea a C-KIT, pentru care au fost de asemenea dezvoltate terapii țintite, administrate de obicei concomitent cu cele pentru BRAF. La momentul actual, terapia țintită, pentru cazurile cu mutația prezentă, sau imunoterapia, pentru cazurile fără mutația BRAF, reprezintă prima linie de tratament sistemic al melanomului. Chimioterapia clasică este indicată doar în anumite cazuri, precum și radioterapia, rezervată de obicei determinărilor secundare vertebrale sau cerebrale. Prognosticul, deși rezervat pentru stadiile avansate, a fost îmbunătățit semnificativ de apariția noilor tratamente, care au influențat de asemenea și calitatea vieții și au prelungit supraviețuirea fără recidive și supraviețuirea globală.

Studiul de față își propune să investigheze dacă prezenta mutației BRAF, influențează evoluția și prognosticul melanoamelor maligne. Obiectivul secundar al studiului a fost de a determina influența altor caracteristici oncologice-clinice ale pacienților cu melanom malign asupra prognosticului / evoluției melanoamelor maligne, pe un lot de studiu cu caracteristici specifice pacienților întâlniți în practica medicală curentă din țara noastră.

## PARTEA GENERALĂ

### 1. Sistemul melanocitar. Apariția leziunilor melanocitare

#### 1.1 Sistemul melanocitar

Culoarea pielii este rezultatul luminii reflectate și absorbite în tegumente și reacția acesteia cu pigmentul prezent. Principalele molecule care contribuie la culoarea pielii sunt melanina, hemoglobina și carotenoizii, cu ponderea cea mai mare a melaninei la rezultatul final. La contactul cu pielea, lumina poate fi reflectată, dispersată sau absorbită în piele în așa-numitele molecule cromofore, precum melanina. Epidermul produce dispersia luminii, iar melanina o absoarbe, rezultatul fiind culoarea negru-maronie sau ușor roșiatică, în funcție de tipul melaninei existente. Astfel, pigmentarea este o trăsătură a epidermului, unde se localizează melanina produsă de melanocite. Aceasta poate fi de două feluri: constituțională sau dobândită. Pigmentarea constituțională este o trăsătură genetică moștenită dată de cantitatea, tipul și distribuția melaninei. Pigmentarea dobândită este rezultatul bazei genetice în interacțiune cu factorii de mediu.

În cursul dezvoltării intrauterine, melanocitele iau naștere din creștele neurale, structura specifică vertebratelor. Creștele neurale apar în tubul neural dorsal, între promordiiul sistemului nervos și ectoderm. Aceste celule migrează în cele din urmă în diferite structuri embrionare și produc, pe lângă melanocite, neuronii și celulele gliale ale sistemului nervos periferic, condrocite și osteocitele craniului și fetei, endocardul, celulele cromafine ale medulosuprarenalei și multe altele. Dezvoltarea și diferențierea celulelor din creștele neurale este un proces complex care depinde de numeroși factori de transcripție și care este reglat de rețele intracelulare complexe. La baza acestor mecanisme se află un ansamblu de gene care reglează, pe lângă specializarea celulelor derivate din creștele neurale și migrarea acestora de la nivelul tubului neural[1]. Acestea codifică proteine reglatoare de tipul beta-cateninilor care controlează expresia factorului de transcripție Mtif (microphthalmia-associated transcription factor). Prezența acestuia în este specifică melanoblaștilor imaturi și deoarece controlează direct mai multe gene cu rol în pigmentare, joacă un rol deosebit de important în dezvoltarea, specializarea și supraviețuirea melanocitelor[2].

Leziunile pigmentare, atât cele benigne cât și cele maligne apar în urma creșterii fie a numărului, fie a activității melanocitelor. Leziunile benigne – nevi pigmentari - pot fi

congenitali sau, mai frecvent, dobânditi de-a lungul vieții. Ei reprezintă o proliferare locală de melanocite care se dezvoltă în contact unele cu celelalte formând cuiburi și pot avea diverse localizări în raport cu straturile pielii și apariția lor este declanșată de mutații ale unor oncogene. Un număr mare de modificări este datorat radiațiilor UV [3]. Reglarea proliferării melanocitare se face prin câteva căi, una din cele mai importante fiind calea MAP(mitogen-activated protein)-kinazei. În celulele normale, aceasta are loc la legarea receptorilor pentru citokine sau tirozinkinaze, ceea ce activează proteine „switch” din familia RAS (rat sarcoma virus), care, prin activarea unei serii de serin-treonin-kinaze duce în cele din urmă la activarea MAPK. În cazul celulelor tumorale, calea MAPK este permanent activă[4]. BRAF (v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1) are rol exclusiv în această cale de semnalizare și mutația sa cea mai frecventă, V600E, substituția între valină și acid glutamic în exonul 5, codonul 600 duce la activarea permanentă a MAPK[5]. Teoria curentă a oncogenezei postulează că celulele maligne au la origine o celulă adultă normală, care, prin mutații repetate, dobândește funcții tipice celulelor tinere sau embrionare[6]. În cazul melanomului, această teorie explică agresivitatea și potențialul semnificativ de metastazare, celulele stem melanocitare fiind caracterizate tocmai prin această capacitate crescută de a migra în alte regiuni ale corpului fetal.

## **1.2. Epidemiologie. Factori de risc**

Incidența melanomului cutanat (conform statisticilor din Statele Unite) s-a triplat între anii 1975 și 2005, astfel încât o persoană din 55 este diagnosticată cu melanom la un moment dat în viață [7]. Factorii de risc pentru dezvoltarea melanomului pot fi clasificați în factori de risc ce tin de mediu și factori de risc ce tin de caracteristicile pacientului.

Între factorii ce tin de mediu sunt reprezentați în special de radiațiile ultraviolete, iar creșterea incidenței melanomului cutanat este cauzată în parte subțierii stratului de ozon din atmosferă, ceea ce duce la o creștere a cantității de radiații UV ce ajung la sol; și pe de altă parte de creșterea popularității solrelor, care emit o cantitate importantă de radiații UVB [8]. Istoricul personal de arsuri solare crește de asemenea riscul de a dezvolta atât leziuni cutanate benigne (nevi displazici) cât și melanom cutanat, iar riscul crește dacă arsurile s-au produs în copilărie. [9].

Folosirea solarelor crește de asemenea riscul dezvoltării melanomului. Folosind aceste dispozitive, pacienții sunt expuși la cantități de radiații UV de 10-15 ori mai mari

decat după expunerea directă la soare pentru aceeași perioadă de timp. Un studiu efectuat de Lazovich et al., publicat în 2010 efectuat în Statele Unite între 2004 și 2007, pe pacienți cu vârste între 25 și 59 ani, diagnosticați cu melanom invaziv, a demonstrat că utilizarea solarelor crește riscul dezvoltării unui melanom, iar acest risc crește cu cât folosirea acestor aparate este mai îndelungată și nu variază cu tipul aparatului sau cu vârsta la care s-a început folosirea[10].

În ceea ce privește factorii de risc ce țin de pacient, aceștia au fost stabiliți comparând grupuri de persoane ce au dezvoltat boala cu grupuri de control, rezultând astfel tabele de risc relativ [11]. Aici se observă o prevalență semnificativ mai mare la persoanele cu o cantitate mică de pigment melanic, la nivelul pielii, parului și ochilor. Prin comparație, populația cu pigmentare cutanată intensă are o prevalență scăzută a melanomului și în aceste cazuri, tumorile au predominant localizări atipice, precum palmo-plantară, subunghială sau pe mucoase.

Factori de risc ce sunt specifici pacientului pentru apariția melanomului sunt asociate atât fenotipului cutanat, cât și existenței nevilor pigmentari. Nevii congenitali giganti – peste 9cm în diametru- deși rari (frecvență estimată la aproximativ 1:20,000 de nou-născuți [11], prezintă un risc semnificativ mai mare de a dezvolta un melanom (risc relativ 5-15), iar tratamentul acestor pacienți este destul de problematic, având în vedere faptul că aceste melanoame apar în copilărie și au adesea localizări neobisnuite, cum ar fi sistemul nervos central[12]. Riscul apariției melanomului asociat prezentei de nevi mici congenitali este greu de estimat având în vedere dificultatea distingerii lor de nevi dobândiți, la adult. Imunosupresia de orice fel, inclusiv în cadrul infecției cu virusul imunodeficienței umane (HIV) a fost de asemenea corelată cu apariția mai frecventă a melanomului și cu agresivitatea crescută a tumorilor la acești pacienți [13].

Riscul de a dezvolta melanom este determinat de combinarea factorilor de mediu cu cei genetici. Uzual, se utilizează termenii „sporadic” și „familiar” pentru a împărți aceste cazuri. Totuși, acești termeni pot avea semnificații diferite în funcție de regiunea geografică analizată. Astfel, în regiunile cu incidență crescută (ex, Australia) apariția unei tumori melanocitare la doi membri ai aceleiași familii este relativ frecventă și nu implică o transmitere „familială”, cum ar fi cazul într-o regiune cu incidență scăzută a melanomului. Implicarea factorilor genetici de risc este evidentă în cazurile adevărat familiale, unde se observă o incidență crescută a cazurilor la indivizi înrudiți genetic, care au în comun o

anume mutatie transmisa la descendenti. În practica, majoritatea cazurilor de melanom (>90%) apar sporadic[7].

### **1.3. Clasificarea leziunilor melanocitare**

Factorii ce contribuie la diferentierea diverselor subtipuri de leziuni melanocitare și care influențează aspectul clinic macro- și microscopic sunt originea epiteliala sau non-epiteliala a acestora dar și modificările genetice specifice, majoritatea studiilor efectuate indicand ca acestea din urma contribuie cel mai semnificativ la aspectul fenotipic al leziunii. Mutatiile tipice care induc proliferarea sunt în principal mutatii activatoare la nivelul caili MAP-kinazei (mitogen-activated protein kinase) sau translocatii ale receptorilor tirozin-kinazei (RTK)[4].

#### *Nevii dobanditi (simpli sau displazici)*

Prin definitie, nevil este o proliferare benigna de melanocite aranjate în cuiburi, un cub semnificând un grup de trei sau mai multe melanocite alăturate. Spre deosebire de melanom, nevii sunt organizati, net delimitati, relativ simetrici și de regulă melanocitele din structura lor se dispun în grupuri și nu în celule individuale.

Aparitia nevilor, similar cu majoritatea leziunilor pigmentare, depinde de factori genetici și de mediu. Singurul factor de mediu cunoscut este expunerea la radiații ultraviolete. Factorii genetici sunt multipli, însă cei mai importanți sunt fenotipul cutanat și tipul de receptor MCR1, împreună cu alte gene ce codifică pigmentarea pielii și părului și implicit capacitatea individului de a se proteja de efectul nociv al radiațiilor UV prin productia de melanina. Nevii dobanditi pot fi complet plani sau ușor reliefati. Majoritatea au dimensiuni mai mici de 6mm, forma simetrica și culoare uniforma. Dermatoscopic, sunt reticulari sau globulari, patternul reticular este dat de distributia melaninei și melanocitelor de-a lungul papilelor epidermice, iar cel globular este reprezentat de agomerarile melanocitelor în cuiburi distincte.

#### *Nevii congenitali*

Nevii melanocitari congenitali sunt prezenti la naștere sau apar în primul an de viața și sunt prezenti la aproximativ 1% din nou-nascuti. Se clasifica în mici (< 1.5cm), moderati (1.5-20cm), mari (>20cm) și uneori giganti (>40cm) [14]. Nevii mici sunt mai frecventi, iar cei mari au o incidenta de aproximativ 1:20,000 [15].



Majoritatea nevilor de dimensiuni mici și medii pot apărea oriunde pe corp, sunt formațiuni omogene, net delimitate, adesea papilomatoase și uneori acoperite de par. Mai semnificativ clinic sunt nevi mari sau giganti, în special cei cu distribuție cranială sau la nivelul proiecției coloanei vertebrale, întrucât în aceste cazuri, proliferarea se poate extinde la meninge sau structurile nervoase subdiacente, vorbind astfel despre melanocitoza leptomeningeală sau melanoza neurocutanată, entități ce pot evolua cu complicații precum hidrocefalia sau melanom meningeal. Riscul este deosebit de mare în cazul nevilor giganti cu distribuție axială și cu numeroase leziuni satelite [16], [17].

## **2. Melanomul**

### **2.1. Clasificarea melanomului**

Clasificarea curentă, propusă de Clark și colaboratorii săi împarte melanomul cutanat în patru entități distincte, în funcție de caracteristicile clinice și histologice și anume: melanomul extensiv în suprafață, nodular, acral și lentigo malign.

#### *Melanomul extensiv în suprafață*

Cel mai frecvent întâlnit subtip de melanom, reprezentând până la 60% din cazuri [7]. Sunt mai frecvente la nivelul toracelui posterior și al extremităților, deși pot să apară oriunde pe corp. În general, apar pe pielea expusă intermitent la soare, dar mai rar se pot dezvolta și în zonele expuse cronic la soare. Este subtipul asociat cel mai frecvent cu nevi melanocitari și se dezvoltă mai frecvent decât alte subtipuri din aceștia [18], [19]. Regula ABCDE este mai relevantă pentru acest subtip decât pentru altele. Histopatologic, leziunile sunt caracterizate printr-o fază de creștere orizontală, cu sau fără o fază de creștere verticală asociată. Leziunile sunt adesea asimetrice și slab delimitate periferic, microscopic observându-se la acest nivel o dispersie anarhică de melanocite unice.

#### *Melanomul nodular*

Acest subtip de melanom apare atât pe zonele expuse intermitent, cât și pe cele expuse constant la soare. Metoda ABCDE este mai puțin utilă în diagnosticul și urmărirea acestui subtip de melanom, întrucât leziunile sunt atipice în prezentarea clinică. Pot fi amelanotice, simetrice sau asimetrice, plane sau reliefate și uneori pot fi confundate cu carcinomul bazocelular sau scuamos. Dermatoscopic, se pot uneori vedea unele semne particulare, precum heterocromia, puncte vasculare polimorfe, un vâl alb sau striuri albe la nivelul tumorii [20].

### *Melanomul dezvoltat pe lentigo malign*

Aceasta forma apare specific pe pielea expusa cronic la soare, de regula la nivelul capului și gâtului și uneori la nivelul porțiunilor distale ale extremitatilor. Similar cu forma extensivă în suprafață, prezintă o fază de creștere orizontală, urmată de una verticală. Faza de creștere orizontală este îndelungată și mai puțin agresivă, înainte de trecerea la creșterea pe verticală. Leziunile precursoră (lentigo solar) sunt pete pigmentare heterocrome la nivelul unei zone de piele cu modificări cronice (poikilodermie, hipo- sau hiperpigmentare, teleangiectazii). Histologic, specific pentru acest subtip de melanom este dispoziția melanocitelor una câte una, cu grade variabile de atipii celulare, de-a lungul membranei bazale.

### *Melanomul acral*

Aceasta formă de melanom apare la nivelul palmelor, plantelor și subunghial și este similar histologic cu forma de lentigo malign, cu o perioadă îndelungată de evoluție orizontală și dispunere histologică sub forma de melanocite unice de-a lungul membranei bazale. Un aspect particular al acestor tumori este lipsa mutațiilor dobândite sub influența radiațiilor UV, astfel încât acest factor cauzator nu pare să aibă vreun rol în aceste leziuni.

### *Melanomul desmoplastic*

Cel mai rar subtip de melanom, acesta apare în mai puțin de 4% din cazuri. Prezintă caracteristici ce îl diferențiază de alte forme de melanom, în special agresivitatea locală. Apare la persoanele vârstnice, de regula bărbați, de regula în zonele expuse cronic la soare precum scalpul sau fata. Leziunile nu prezintă caracteristicile clinice ale melanomului, astfel încât diagnosticul pozitiv este greu de realizat și adesea este stabilit tardiv.

### *Caracteristici genetice ale formelor de melanom*

Cu toate că nu există o regulă generală a modificărilor genetice specifice fiecărui subtip de melanom, există unele tendințe. Leziunile aparute pe nevi, în zonele expuse intermitent la soare [21], la pacienți tineri (<55ani) [22], cu melanocite dispuse relativ organizat, în grupuri, cu pigmentare intensă și extindere epidermică, pledează pentru o mutație BRAF. Aceste caracteristici sunt de asemenea tipice pentru forma extensivă în suprafață, ceea ce pledează pentru o frecvență mai mare a mutației BRAF în cazul acesteia. Într-adevăr, aproximativ 52% din melanoamele extensive în suprafață prezintă mutația BRAF și 20% NRAS [21]. Întrucât mutațiile BRAF și NRAS apar de asemenea în nevii

benigni, se poate emite ipoteza ca nu sunt suficiente pentru a induce malignitatea. Acumularea de mutații în timp, în special sub acțiunea radiațiilor UV sunt cele care inclina balanța către procesul neoplazic [23]. În cazul melanomului acral, cel mai independent de radiațiile UV, aberațiile structurale ale genelor reglatoare ale ciclului celular și supresoare tumorale joacă rolul principal în oncogeneza.

## **2.2. Stadializarea melanomului**

Similar cu alte tumori solide, melanoamele sunt stadializate în funcție de tumora primară (T), ganglioni regionali (N) și metastaze la distanță (M).

### *T: Tumora primară*

Elementul definitoriu în general pentru a caracteriza tumora primară este dimensiunea. În cazul melanomului, se consideră în principal indicele Breslow, care măsoară grosimea tumorii, mai exact distanța de la suprafața pielii până la adâncimea maximă de invazie tumorală[24].

Prezența ulceratiei la nivelul tumorii primare este un factor de prognostic negativ separat și bine studiat în cazul melanomului cutanat. Este definit ca o zonă de defect cutanat toată grosimea, înconjurat de o zonă reactivă care prezintă modificări la nivelul epidermului [25].

Indicele mitotic reprezintă un alt criteriu care contribuie la încadrarea pacienților în grupe de risc. Este definit ca numărul de mitoze per mm<sup>2</sup> și prezintă interes în cazul stadiilor incipiente. Rata mitotică influențează prognosticul și supraviețuirea la distanță și unii autori o consideră mai importantă decât ulceratia în anumite cazuri [26].

### *N: Ganglionii limfatici regionali*

Acest criteriu stabilește prezența sau absența diseminării tumorale regionale la nivel ganglionar sau non-ganglionar (noduli sateliti, microsateliti sau în tranzit). Atât modalitățile de evaluare ale acestor stadii ganglionare cât și abordul chirurgical al acestora a fost adaptat de-a lungul timpului, în special recent, pentru a evalua și stratifica riscul și pentru a ajuta clinicianul în alegerea abordării terapeutice optime pentru fiecare pacient în parte. La realizarea bilanțului bolii, pacientul este examinat clinic și este notată prezența sau absența adenopatiilor regionale. În funcție de prezența sau absența invaziei ganglionare, se decide tratamentul ulterior.

*M: Metastazele la distanța*

În clasificarea internațională, categoria M se refera la determinarile secundare la distanța. M0 indica absentă, iar M1 prezenta. Subcategoriile indica localizarea precum și valorile lactatdehidrogenazei serice (LDH). În cazul pacienților cu metastaze multiple, se determina categoria M în funcție de cea mai nefavorabilă localizare.

## **2.3. Atitudinea terapeutică în melanomul cutanat**

### **2.3.1. Excizia tumorii primare**

În cazul melanoamelor, similar cu alte tumori cutanate, excizia chirurgicală a tumorii primare rămâne gestul de prima intenție, standardul de aur, cu intenție curativă și rezultate excelente în cazul stadiilor incipiente și care furnizează informații excelente pentru stabilirea prognosticului atât în cazurile incipiente cât și în cele avansate.

Scopul exciziei chirurgicale a tumorii primare este de a preveni recurențele și de a controla invazia locală și regională a bolii. Acest aspect este deosebit de important în cazul pacienților cu tumori mici și fără extindere regională. Prin excizia largă, se asigură atât îndepărtarea corespunzătoare a tumorii primare, cât și a eventualelor noduli sateliti din jurul acesteia. Astfel, marginea de siguranță oncologică trebuie selectată în funcție de fiecare caz în parte.

Grosimea tumorii, exprimată prin indicele Breslow este elementul definitoriu în cazul alegerii marginii de siguranță, ea reprezentând un factor de prognostic esențial pentru recidivă. Melanoamele subțiri, cu indice Breslow < 1mm, prezintă o rată a recidivelor de sub 6% pentru o margine de rezecție de siguranță de 1cm în jurul tumorii primare [27]. În ceea ce privește melanoamele cu indice Breslow între 1 și 2mm, numeroși clinicieni sunt reticenti în a practica excizii înguste pentru aceste tumori, fapt justificat de rata ușor crescută a recidivelor. Pentru tumorile cu un indice Breslow mai mare de 2mm se consideră ca o margine de excizie de 2cm este indicată.

Odată obținut diagnosticul de melanom, este adesea necesară o recuperare largă a leziunii, pentru a asigura marginile de siguranță adecvate. În acest sens, orientarea corectă a primei incizii este esențială, întrucât reexcizia va prelungi cicatricea și posibil va crea un defect care trebuie acoperit. În rare cazuri, când extensia tumorii este incertă, este necesară grefarea cutanată sau lasarea deschisă a plăgii și acoperirea ei cu un mijloc de acoperire temporară, ca de exemplu un sistem de presiune negativă, până la obținerea unui diagnostic

de certitudine. Odată confirmată excizia completă a leziunii, defectul poate fi acoperit cu un lambou local, dacă nu este posibilă sutura directă.

### **2.3.2. Explorarea ganglionilor regionali**

Încă de la început, studiile au arătat ca melanoamele se extind inițial prin intermediul rețelei limfactice dermice, ajungând la ganglionii limfatici regionali și de acolo la distanță. Tehnica ganglionului santinela, urmată de evidarea ganglionară completă exclusiv la pacienții care prezintă invazie ganglionară a schimbat radical abordarea terapeutică a bolii. Numeroasele studii realizate de la acel moment au demonstrat cât de utilă este această tehnică pentru diagnosticul, stadializarea și elaborarea planului terapeutic pentru pacienții cu melanom. Diagnosticul pozitiv al ganglionului santinela indică extensia bolii la bazinul limfatic de drenaj primar. Rezultatele acestei investigații invazive sunt ulterior utilizate pentru a stadializa și estima prognosticul bolii cu maximă acuratețe. De asemenea, indică dacă evidarea ganglionară completă sau terapia adjuvantă ar fi în beneficiul pacientului. Această manevră este indicată tuturor pacienților cu melanoame cu indice Breslow mai mare de 1mm și pentru tumorile mai subțiri în cazul în care prezintă criterii de prognostic nefavorabil, precum ulceratie, mitoze frecvente, sau invazie în microcirculație. În ceea ce privește prognosticul, pacienții care nu prezintă celule tumorale în ganglionul santinela au o rată de supraviețuire la 3 ani de aproximativ 90%, rată ce coboară la 60% în cazul în care acestea sunt prezente[28]. Odată cu evoluția terapiei sistemice țintite, utilitatea evidării ganglionare scade pe de-o parte, iar pe de altă parte, rolul ganglionului santinela se modifică, de la cel de a selecta pacienții care au indicație chirurgicală la cel de a pune indicația unei terapii sistemice agresive.

### **2.3.3 Abordarea terapeutică a recidivelor locale**

Recidiva locală este definită ca reapariția tumorii fie pe locul cicatricei inițiale, fie între aceasta și bazinul limfatic regional, acestea din urmă fiind definite ca metastaze satelite sau în tranzit. Sunt considerate diseminări limfogene, prezența acestora determină includerea pacienților în stadiul III, ele reprezentând componente nodale (N) ale bolii[29]. Odată depistate recidivele, se poate decide opțiunea terapeutică optimă pentru pacient. Local se pot efectua excizii chirurgicale sau tratament topic, sau se poate opta pentru radioterapie sau terapii sistemice. Factorii care influențează decizia terapeutică sunt tratamentele oncologice anterioare, vârsta și comorbiditățile și nu în ultimul rând mărimea, numărul și localizarea determinărilor secundare identificate. Este importantă înțelegerea

tratamentului initial, atât chirurgical – precum tipul de excizie, sau dacă s-a efectuat sau nu o biopsie a ganglionului sentinela sau o evidare ganglionara; cât și nechirurgical – dacă s-a efectuat testarea pentru mutatia BRAF și/sau tratament specific. Toți acești factori determina abordarea terapeuțica ulterioara.

#### **2.3.4. Managementul melanomului metastatic**

Melanomul rămâne o patologie oncologica agresiva, și uneori boala este depistata în stadiul în care a produs deja metastaze. La ora actuala abordarea multidisciplinara este esentiala în managementul acestor pacienți.

Tratamentul chirurgical rămâne indicat în cazurile oligometastatice, cu mai puțin de 4 leziuni limitate de obicei la un anumit segment (creier, ficat, pulmon) și de obicei în cazurile de metastaze osoase sau cerebrale, este asociat sau înlocuit cu radioterapie, cu rezultate bune în controlul local al bolii [30]. Ca în cazul recidivelor locale, un rol important în terapia melanomului metastatic o au terapiile țintite și imunoterapia. În ultima vreme s-au dezvoltat numeroase alternative iar fiziopatologia metastazelor de melanom este mult mai bine inteleasa, astfel în viitor vor fi mai multe alternative de explorat. Fiecare terapie moderna, separat, ofera rezultate promițătoare, iar de interes este totodata și asocierea acestora, cum, de exemplu, combinarea radioterapiei cu imunoterapia prezinta rezultate promițătoare în cazul tumorilor cerebrale [30].

## PARTEA SPECIALĂ

### 1. Materiale și metode

Studiul efectuat în lucrare a fost unul retrospectiv, observational, longitudinal cu secțiune transversală, nerandomizat, pe un esanțion de 30 de pacienți diagnosticați cu melanom malign în diferite stadii oncologice, cu sau fără mutația BRAF prezentă, esanțion reprezentativ pentru o populație de pacienți diagnosticați cu melanom malign, cu mutația BRAF prezentă sau absentă, diagnosticați și tratați în centre specializate în tratamentul multidisciplinar al melanomului malign.

Esanționul populational a fost format după următorul algoritm : au fost identificați un număr de 15 pacienți cu melanom malign, la care a fost pusă în evidență prin teste de identificare mutația BRAF și la care au existat date oncologice complete și verificabile; la acești pacienți s-a adăugat un număr de 15 pacienți, din baza de date de pacienți la care testele de identificare nu au pus în evidență existența mutației BRAF.

Lotul de studiu a fost alcătuit din pacienți ai Institutului Oncologic București și ai Spitalului Universitar de Urgență București.

Criteriile de includere au fost:

- pacienți cu melanom cutanat confirmat histopatologic
- pacienți care au urmat schema de tratament chirurgical și oncologic de specialitate, inclusiv terapie țintită pentru pacienții BRAF+
- pacienți testați genetic pentru mutația BRAF, atât cei cu mutația prezentă cât și cei cu mutația absentă
- pacienți >18 ani

Criterii de excludere au fost:

- pacienți cu melanom acral, ocular sau de mucoase
- pacienți care au întrerupt schema de tratament
- pacienți cu comorbidități grave, care nu permit urmărirea tratamentului
- pacienți netestați genetic pentru mutația BRAF

Pacienții au fost internați în tratați complet, atât chirurgical – inclusiv biopsia ganglionului sentinelă în cazurile indicate - cât și oncologic. Pacienții la care, din cauza

efectelor adverse, a fost întrerupt tratamentul au fost excluși din studiu. Urmărirea pacienților pentru studiul actual s-a realizat până la data de 1 septembrie 2021.

Obiectivul principal al studiului a fost de a se investiga dacă prezenta mutației BRAF, influențează evoluția și prognosticul melanoamelor maligne. Obiectivul secundar al studiului a fost de a determina influența altor caracteristici oncologice-clinice ale pacienților cu melanom malign asupra prognosticului / evoluției melanoamelor maligne.

Endpointurile principale ale studiului au fost : OS (overall survival – supraviețuirea globală), definită ca perioada de timp de la diagnosticul / începutul terapiei unei tumori maligne până la apariția decesului, și PFS (progression free survival – supraviețuirea fără progresie a bolii) definită ca perioada de timp de la diagnosticul / începutul terapiei unei tumori maligne și până la apariția unuia din următoarele evenimente : apariția unei recidive locale, creșterea în dimensiuni demonstrată imagistic / clinic / in-vivo a unei tumori restante sau a unei metastaze preexistente, apariția unei metastaze (indiferent de locație), apariția unui nou neoplasm, indiferent de localizare sau tip (leucemiile / limfoamele sunt evenimente valide). Un endpoint secundar a fost supraviețuirea la 5 ani, dar acesta a avut valoare limitată deoarece perioada medie de urmărire a pacienților a fost de aproximativ 3 ani, fiind foarte mulți pacienți supraviețuitori care nu au atins o perioadă de supraviețuire de 5 ani.

A fost făcută o analiză statistică descriptivă clasică a variabilelor urmărite în studiu, pentru variabilele continue tendința centrală a fost estimată cu ajutorul mediei și mediane și tendința la variabilitate a fost estimată cu ajutorul deviației standard (SD), minimului, maximului și a range-ului distribuției (diferența dintre maxim și minim).

Analiza inferențială a folosit metode din categoria analizelor de tip “time to event” (timpul scurs până la apariția unui eveniment) – analiză de supraviețuire.

Metodele folosite s-au bazat pe următorii estimatori (statistici) :

- estimatorul de supraviețuire non-parametric Kaplan-Meier, fiind reprezentate grafic curbele de supraviețuire și calculate următoarele statistici : **mediana de supraviețuire** (perioada de timp la care 50% dintre pacienți au suferit evenimentul), o statistică importantă pentru determinarea evoluției și prognosticului pacienților, dar nu foarte utilă în studiul nostru, unde perioada de urmărire nu a fost foarte îndelungată și în care mulți pacienți nu au suferit evenimentul, fiind situații în care aceasta nu a putut fi calculată (valoare fiind în acest caz N/A), s-a încercat să se determine un interval de confidență



95% (95% CI) pentru aceasta, acest lucru nefiind fezabil in toate situatiile; **media restrictiva de supravietuire** (restricted mean survival time - RMST), o statistica care reprezinta “perioada medie de supravietuire, daca urmarim pacientii o anumita perioada limitata de timp”, si care este mult mai robusta pentru cazurile in care au fost un numar limitat de evenimente si perioada de urmarire limitata (asa cum se intampla in cazul medianei de supravietuire); a fost calculata **si media anilor pierduti de pacienti** (restricted mean time lost – RMTL), o statistica care reprezinta perioada medie de timp “pierduta” de pacienti, pe o perioada de urmarire limitata. In cadrul acestei metodologii au comparate curbele de supravietuire corespunzatoare predictorilor discreti (de exemplu sex) cu ajutorul a doua teste : testul log-rank Martel-Haenszel si un test Gehan-Wilcoxon cu modificarea Peto & Peto (ambele teste comparand numarul de evenimente observate pentru curbele de supravietuire, cu valorile teoretice luand in considerare  $H_0$  – ipoteza nula) in vreme ce valorile RMST au fost comparate folosind trei indicatori : diferenta intre RMST, raportul intre RMST si raportul intre RMTL (vezi <sup>7</sup> si <sup>8</sup>), analiza fiind insa limitata doar pentru covariantele categoricale cu valori in doua categorii, timpul pentru care s-a facut comparatia fiind cel mai mic dintre cele doua corespunzatoare categoriilor; pentru o analiza mai completa, RMST au fost comparate la mai multe momente ale curbelor de supravietuire (folosind quartilele distributiei perioadei de urmarire) : la 12 luni, la 24 de luni, si la 60 de luni (cand a fost posibil) ; in plus, avand in vedere marimea redusa a esantioanelor cu posibilitatea aparitiei erorilor de tip I la analizele inferentiale, in anumite cazuri a fost folosita si versiunea cu permutari a testelor pentru RMST (vezi de exemplu <sup>9</sup>)

- al doilea estimator a folosit a fost raportul ratelor de hazard dintre predictorii (hazard ratio – HR), fiind folosita o regresie Cox ,o metoda semiparametrica de estimare a HR, pornind de la premisa ca ratele de hazard sunt proportionale pe parcursul intregii evolutii. Aceasta metoda a putut fi aplicata si predictorilor care sunt variabile care au caracter continuu, spre deosebire de regresia Cox

Nivelul de semnificatie  $\alpha$  pentru analiza din studiu a fost de 0.05, astfel ca valorile p mai mici de 0.05 au fost considerate cu semnificatie statistica; avand in vedere marimea redusa a esantionului, au fost considerate si valorile p marginal nesemnificative (p intre 0.05 si 0.10). Trebuie mentionat ca in lucrarea de doctorat a fost folosita si o alta metodologie statistica pentru analiza de supravietuire, mai avansata, dar spatiul limitat nu ne permite sa o detaliem in acest rezumat.

In acest rezumat, vom prezenta rezultatele obtinute, doar pentru parametrii demografici, clinici si paraclinici care au avut o influenta cu semnificatie statistica (sau marginal nesemnificativa) pentru esantionul nostru populational si de asemenea, pentru influenta mutatiei BRAF in evolutia melanomului malign; Rezultatele se vor referi doar la analiza OS, nu si pentru analiza PFS.

## 2. Rezultatele pentru endpointul OS (Overall Survival - Supraviețuirea):

Analiza pe întregul esantion :

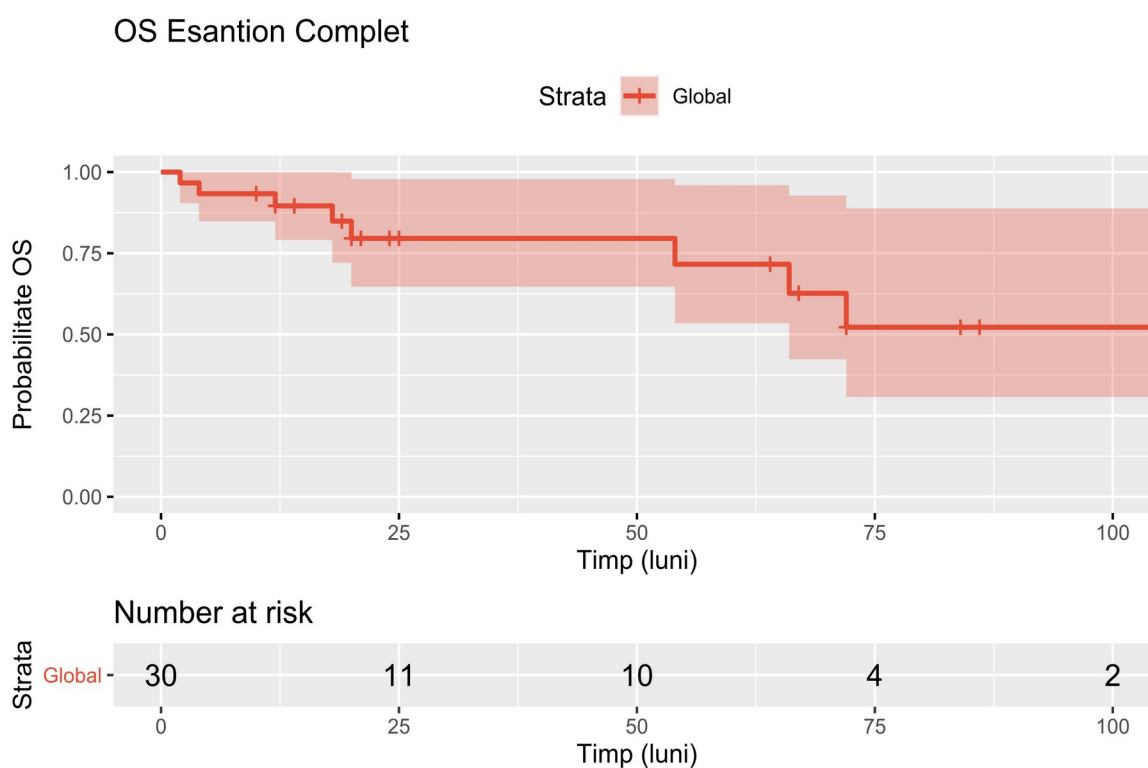
tabel 2.1

| Strata            | N Decese (%)    | RMST  | Mediana Supravietuire (95% CI) |
|-------------------|-----------------|-------|--------------------------------|
| <b>Lot Intreg</b> | 8 / 30 (26.66%) | 77.73 | N/A (66.00 la N/A)             |

Analiza supraviețuirii pe întregul eșantion

Supraviețuirea pe întregul lot a fost de 73.34%, RMST de aproape 78 de luni, doar limita inferioara a CI95% a putut fi determinata, aceasta fiind de 66 de luni (5 ani si jumatate).

Fig 2.1



Curba de supravietuire Kaplan-Meier

Analiza OS in functie de existenta mutatiei BRAF :

tabel 2.2

| Strata Mutatie BRAF | N Decese (%)   | Mediana Supravietuire (95% CI) |
|---------------------|----------------|--------------------------------|
| <b>Absenta</b>      | 2 / 15 (13.33) | 54.00 (54.00 la N/A)           |
| <b>Prezenta</b>     | 6 / 15 (40.00) | 72.00 (66.00 la N/A)           |

Overall Survival în funcție de prezența/absența mutației BRAF

Mortalitatea a fost mai mare la pacientii care au prezentat mutatia BRAF, dar mediana de supravietuire a fost cu 20 de luni mai mare la pacientii BRAF pozitivi , rezultatele testelor curbelor de supravietuire fiind redate in tabelele urmatoare :

tabel 2.3

| <b>BRAF</b>     | <b>N</b> | <b>Decese Observate</b> | <b>Decese sub H0</b> | <b>Statistica <math>\chi^2</math> (grade libertate)</b> | <b>valoare p</b> |
|-----------------|----------|-------------------------|----------------------|---|------------------|
| <b>Absenta</b>  | 15       | 2                       | 2.82                 | 0.40 (1)  | 0.500            |
| <b>Prezenta</b> | 15       | 6                       | 5.18                 | -   | -                |

Testul log-rank Martel-Haenszel pentru OS în funcție de prezența/absența BRAF

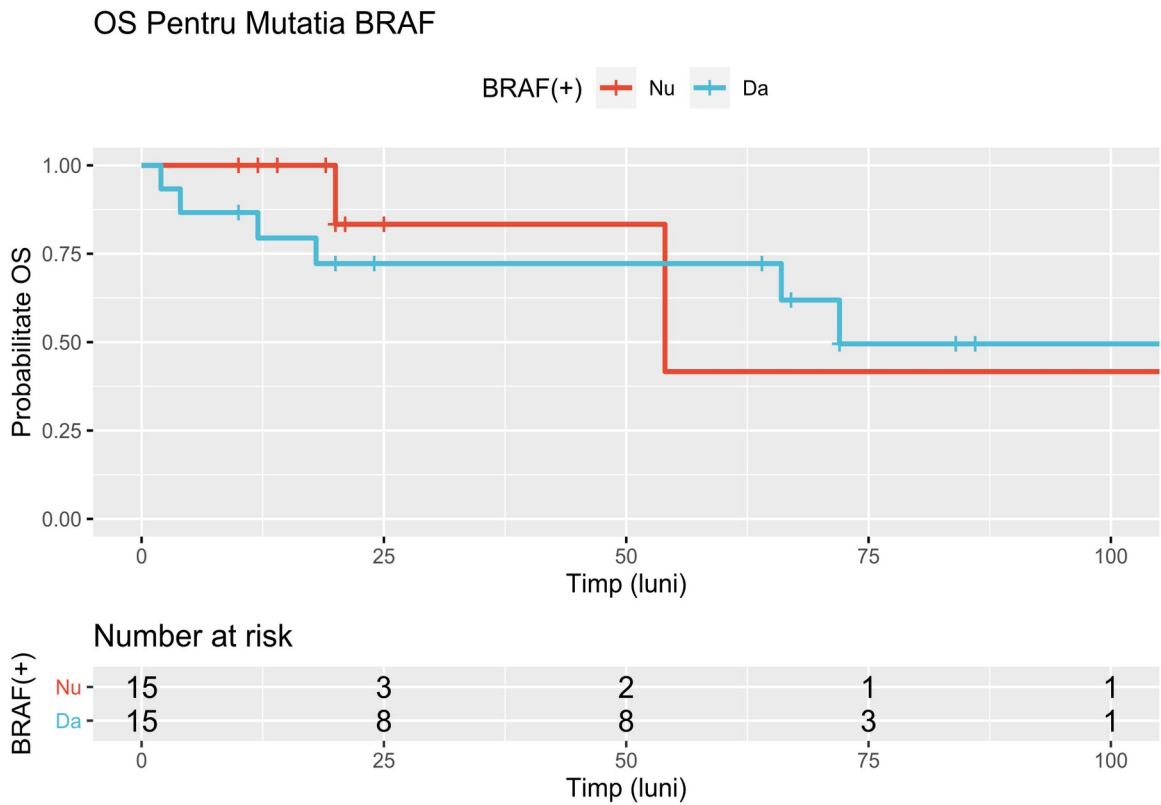
tabel 2.4

| <b>BRAF</b>     | <b>N</b> | <b>Decese Observate</b> | <b>Decese sub H0</b> | <b>Statistica <math>\chi^2</math> (grade libertate)</b> | <b>valoare p</b> |
|-----------------|----------|-------------------------|----------------------|---|------------------|
| <b>Absenta</b>  | 15       | 1.64                    | 2.53                 | 0.60 (1)  | 0.400            |
| <b>Prezenta</b> | 15       | 5.14                    | 4.25                 | -   | -                |

Testul Gehan-Wilcoxon pentru OS în funcție de prezența/absența BRAF

Ambele teste ne releva ca nu exista diferente semnificative statistic, in privinta curbelor de supravietuire.

Fig 2.2



Graficul Kaplan-Meier pentru OS în funcție de prezența/absența BRAF

tabel 2.5

| Statistica                | Estimat | 95% CI          |
|---------------------------|---------|-----------------|
| <b>RMST BRAF Prezenta</b> | 72.76   | 49.69 la 95.83  |
| <b>RMST BRAF Absenta</b>  | 71.66   | 34.41 la 108.91 |
| <b>RMTL BRAF Prezenta</b> | 37.23   | 14.16 la 60.30  |
| <b>RMTL BRAF Absenta</b>  | 38.33   | 1.08 la 75.58   |

RMST si RMTL pentru prezenta/absența mutatiei BRAF

Atat pentru RMST si RMTL, statisticile au avut valori apropiate.

Testele comparative :

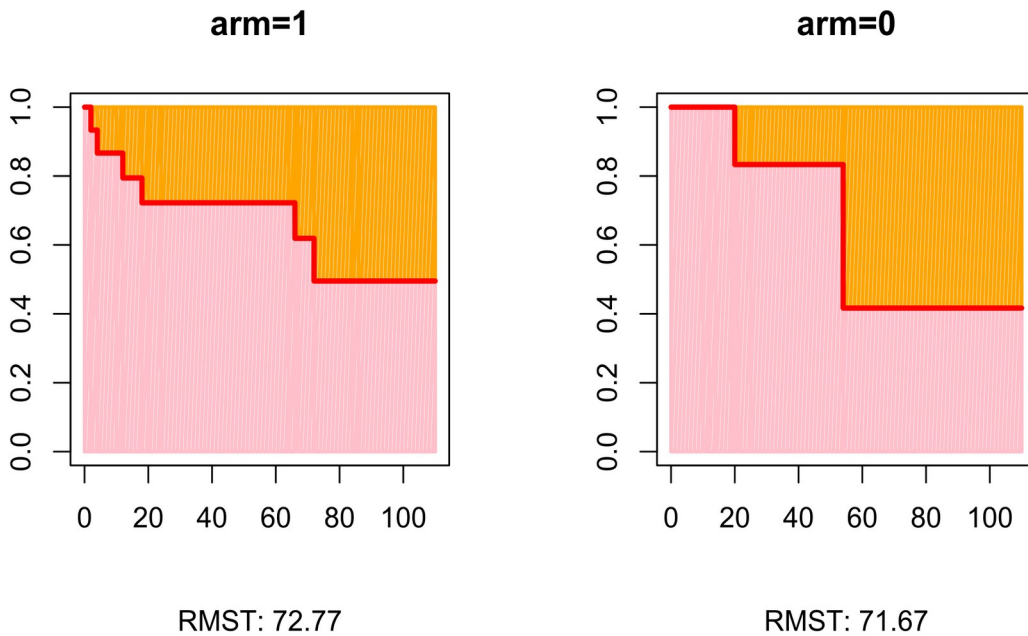
tabel 2.6

| Testul         | Estimat (95% CI)        | valoare p |
|----------------|-------------------------|-----------|
| Diferente RMST | -0.27 (-35.77 la 35.22) | 0.961     |
| Raport RMST    | 0.99 (0.63 la 1.57)     | 0.961     |
| Raport RMLT    | 1.00 (0.33 la 3.01)     | 0.961     |

Testele comparative pentru OS în funcție de prezența/absența BRAF

La niciun test nu au fost raportate diferențe cu semnificație statistică (vezi graficul arm 1 = BRAF pozitiv, arm 0 = BRAF negativ)

fig 2.3



Regresia Cox :

tabel 2.7

| Predictor    | Deces N | HR (95% CI) <sup>1</sup> | valoare p |
|--------------|---------|--------------------------|-----------|
| Mutatie BRAF |         |                          |           |
| Absenta      | 2       | —                        |           |
| Prezenta     | 6       | 1.72 (0.32 la 9.13)      | 0.523     |

<sup>1</sup> HR = Hazard Ratio

Regresia Cox pentru OS în funcție de prezența/absența BRAF

Desi HR a fost de 1.72 la pacientii BRAF(+), efectul este fara semnificatie statistica

Analiza OS pentru LDH crescut la momentul diagnosticului :

tabel 2.8

| Strata LDH     | N Decese (%)   | Mediana Supravietuire (95% CI) |
|----------------|----------------|--------------------------------|
| <b>Normal</b>  | 1 / 10 (10.00) | N/A (N/A la N/A)               |
| <b>Crescut</b> | 7 / 20 (35.00) | 72.00 (20.00 la N/A)           |

Overall Survival în funcție de nivelul LDH

Mortalitatea a fost mai mare la pacientii care au avut LDH crescut la diagnostic , rezultatele testelor curbelor de supravietuire fiind redate in tabelele urmatoare :

tabel 2.9

| LDH            | N  | Decese Observate | Decese sub H0 | Statistica $\chi^2$ (grade libertate) | valoare p |
|----------------|----|------------------|---------------|---------------------------------------|-----------|
| <b>Normal</b>  | 10 | 1                | 3.95          | 4.80 (1)                              | 0.03      |
| <b>Crescut</b> | 20 | 7                | 4.05          | -                                     | -         |

Testul log-rank Martel-Haenszel pentru OS în funcție de nivelul LDH

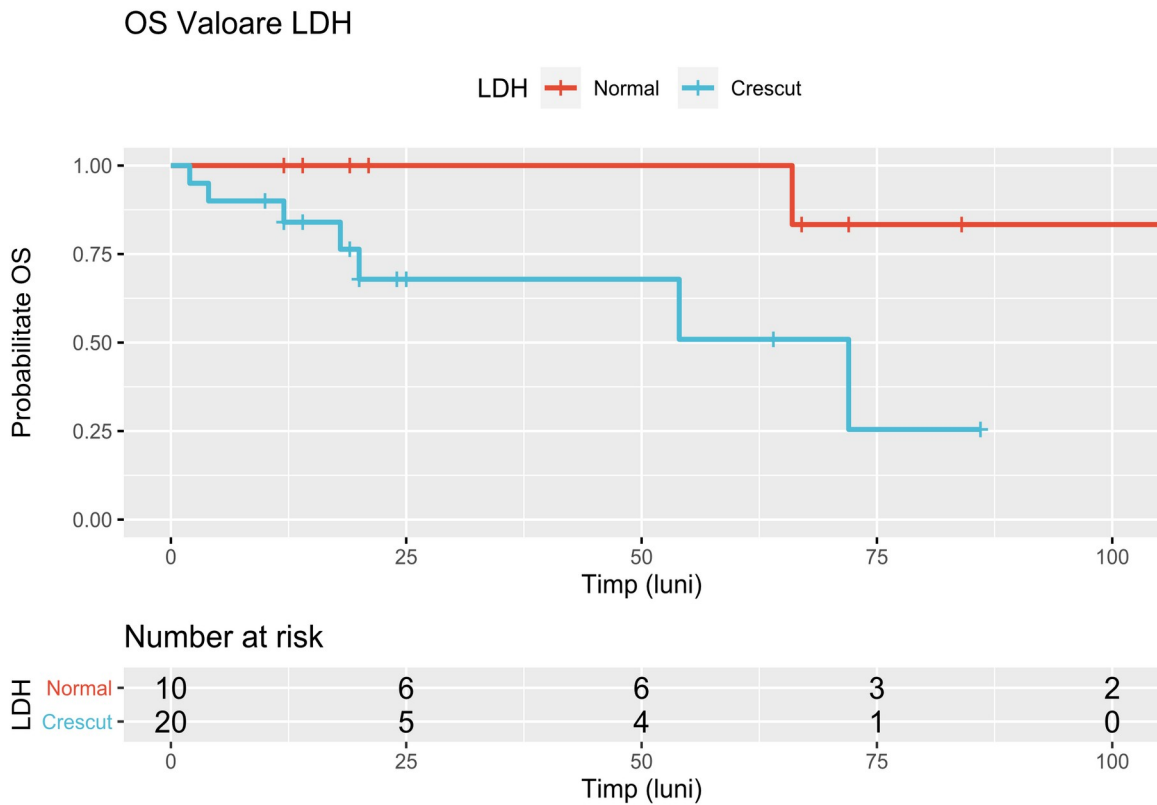
tabel 2.10

| LDH     | N  | Decese Observate | Decese sub H0 | Statistica $\chi^2$ (grade libertate) | valoare p |
|---------|----|------------------|---------------|---------------------------------------|-----------|
| Normal  | 10 | 0.71             | 3.22          | 4.60 (1)                              | 0.03      |
| Crescut | 20 | 6.06             | 3.56          | -                                     | -         |

Testul Gehan-Wilcoxon pentru OS în funcție de nivelul LDH

Ambele teste raporteaza valori p cu semnificatie statistica, mortalitatea pe perioada de urmarire a fost mai mare la pacientii care la momentul diagnosticului au avut valori crescute ale LDH.

Fig 2.4



Curbele de supravietuire Kaplan-Meier pentru OS în funcție de nivelul LDH



tabel 2.11

| <b>Statistica</b>       | <b>Estimat</b> | <b>95% CI</b>  |
|-------------------------|----------------|----------------|
| <b>RMST LDH Crescut</b> | 53.47          | 36.72 la 70.22 |
| <b>RMST LDH Normal</b>  | 82.66          | 76.70 la 88.63 |
| <b>RMTL LDH Crescut</b> | 32.52          | 15.77 la 49.27 |
| <b>RMTL LDH Normal</b>  | 3.33           | -2.63 la 9.29  |

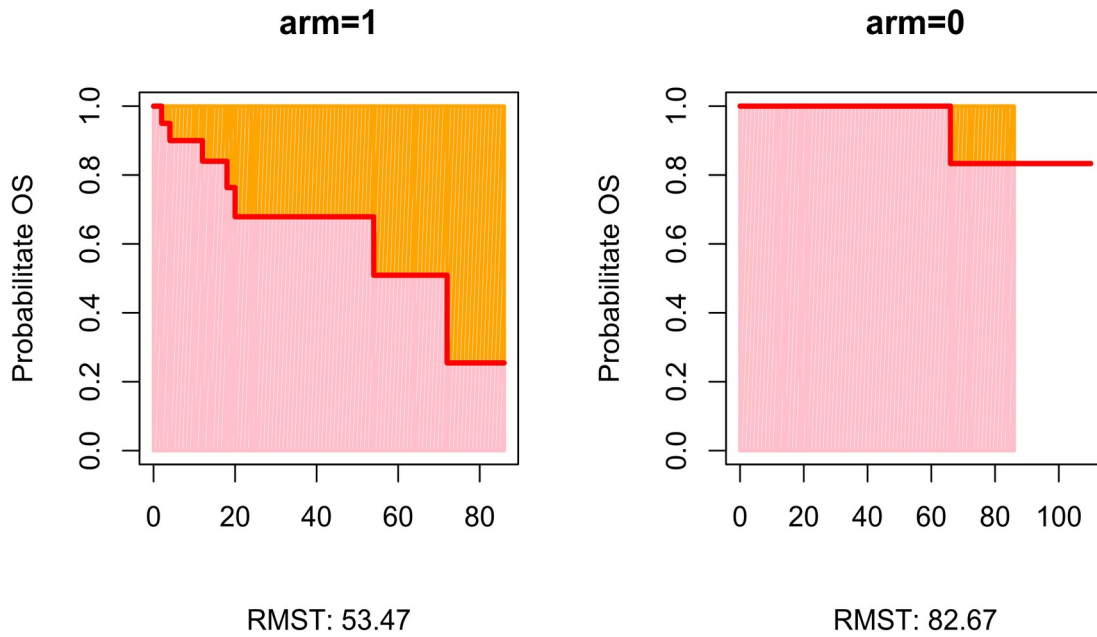
RMST si RMTL pentru valoarea LDH la inceputul diagnosticului  
 RMST a fost cu aproape 30 de luni mai mica la pacientii cu LDH crescut, in vreme ce  
 RMTL a fost cu aproximativ 30 de luni mai mare la pacientii cu LDH normal.

Tabel 2.12

| <b>Testul</b>         | <b>Estimat (95% CI)</b>   | <b>valoare p</b> |
|-----------------------|---------------------------|------------------|
| <b>Diferente RMST</b> | -29.19 (-46.97 la -11.43) | 0.001            |
| <b>Raport RMST</b>    | 0.64 (0.46 la 0.89)       | 0.008            |
| <b>Raport RMLT</b>    | 9.75 (1.51 la 62.79)      | 0.016            |

Testele comparative pentru valoarea LDH la inceputul diagnosticului  
 Toate testele au raportat diferente cu semnificatie statistica, pacientii cu LDH crescut la  
 momentul diagnosticului au o medie de supravietuire mai mica cu 30 de luni, si pierd in  
 medie cu 30 de luni mai mult din viata, fata de pacientii cu LDH cu valori normale (vezi  
 graficul arm 1 = LDH crescut, arm 0 = LDH normal).

Fig 2.5



Testele comparative pentru valoarea LDH la inceputul diagnosticului

Pentru o analiza mai aprofundata, au fost comparate RMST la 12, 24, si 60 de luni, folosind atat testul clasic cat si un test cu permutari folosind 100,000 de reesationari fara reintroducere din esantionul populational. In tabelul urmatoare sunt raportate RMST pe perioada analizata, diferenta dintre RMST LDH crescut vs LDH normal, si valorile p brut si la testul cu permutari.

Tabel 2.13

| <b>Perioada</b> | <b>RMST LDH<br/>Crescut</b> | <b>RMST LDH<br/>Normal</b> | <b>Diferenta<br/>RMST</b> | <b>valoare<br/>brut</b> | <b>p<br/>valoare<br/>permutari</b> |
|-----------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|-------------------------|------------------------------------|
| <b>12 luni</b>  | 10.87                       | 12.00                      | -1.12                     | 0.133                   | 0.209                              |
| <b>24 luni</b>  | 20.38                       | 24.00                      | -3.61                     | 0.019                   | 0.083                              |
| <b>60 luni</b>  | 43.80                       | 60.00                      | -16.19                    | 0.004                   | 0.039                              |

Analiza comparativă pentru valoarea LDH la inceputul diagnosticului

Din tabel se observa ca in primele 12 luni nu sunt diferente semnificative statistic intre RMST; la 24 de luni, exista o diferenta de 3.61 luni in favoarea pacientilor cu LDH normal, valoarea p la testul asimptotic fiind semnificativa statistic in timp ce valoarea p la testul cu permutari este marginal nesemnificativa (0.08). La 60 de luni diferenta este de 16.19 luni, valoarea p fiind cu semnificatie statistica atat la testul asimptotic cat si la testul cu permutari. Avand in vedere aceste rezultate, consideram ca sunt suficiente date care sa ne permita sa concluzionam ca , incepand de la 24 de luni de la momentul diagnosticului la pacientii cu LDH crescut evolutia este mai grava fata de pacientii la care la momentul diagnosticului LDH a avut valori normale.

Tabel 2.14

| <b>Predictor</b> | <b>Deces N</b> | <b>HR (95% CI)<sup>1</sup></b> | <b>valoare p</b> |
|------------------|----------------|--------------------------------|------------------|
| LDH Crescut      |                |                                |                  |
| Nu               | 1              | —                              |                  |
| Da               | 7              | 8.00 (0.93 la 68.5)            | 0.058            |

<sup>1</sup> HR = Hazard Ratio

Regresia Cox pentru valoarea LDH la inceputul diagnosticului

Cu o valoare p la limita semnificatiei statistice, pacientii cu LDH crescut la momentul diagnosticului au un risc de 8 ori mai mare de deces, fata de pacientii care la momentul diagnosticului au avut LDH normal.

Analiza stadiile tumorale T1&T2&T3 vs T4:

tabel 2.15

| <b>Strata T4 vs Restul Stadiilor</b> | <b>N Decese (%)</b> | <b>Mediana Supravietuire (95% CI)</b> |
|--------------------------------------|---------------------|---------------------------------------|
| <b>T1&amp;T2&amp;T3</b>              | 2 / 14 (14.28)      | N/A (72.00 la N/A)                    |
| <b>T4</b>                            | 6 / 16 (37.50)      | 54.00 (18.00 la N/A)                  |

Analiza OS în funcție de stadiile tumorale

Mortalitatea a fost mai mare la pacienții care au fost diagnosticați în stadiul T4 , rezultatele testelor curbelor de supravietuire fiind redată în tabelele următoare :

tabel 2.16

| <b>Stadiul T</b>        | <b>N</b> | <b>Decese Observate</b> | <b>Decese sub H0</b> | <b>Statistica <math>\chi^2</math> (grade libertate)</b> | <b>valoare p</b> |
|-------------------------|----------|-------------------------|----------------------|---|------------------|
| <b>T1&amp;T2&amp;T3</b> | 14       | 2                       | 4.67                 | 3.80 (1)  | 0.05             |
| <b>T4</b>               | 16       | 6                       | 3.33                 | -   | -                |

Testul log-rank Martel-Haenszel în funcție de stadiile tumorale

tabel 2.17

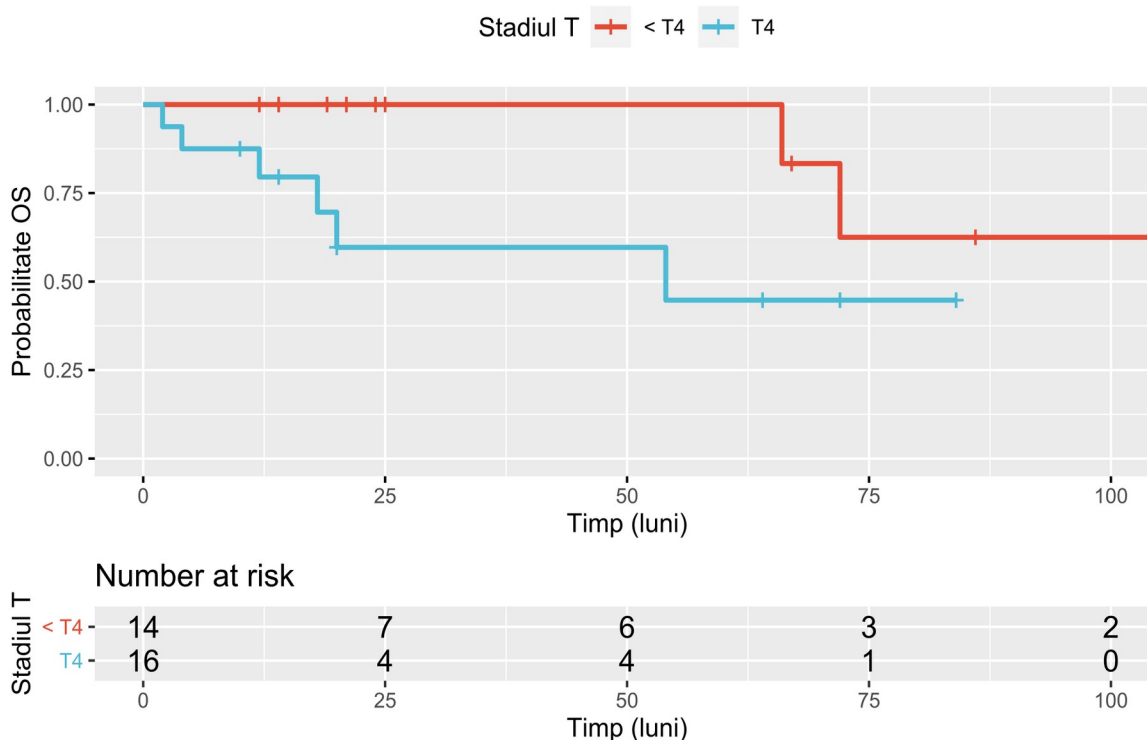
| <b>Stadiul T</b>        | <b>N</b> | <b>Decese Observate</b> | <b>Decese sub H0</b> | <b>Statistica <math>\chi^2</math> (grade libertate)</b> | <b>valoare p</b> |
|-------------------------|----------|-------------------------|----------------------|---|------------------|
| <b>T1&amp;T2&amp;T3</b> | 14       | 1.34                    | 3.88                 | 4.60 (1)  | 0.03             |
| <b>T4</b>               | 16       | 5.44                    | 2.90                 | -   | -                |

Testul Gehan-Wilcoxon în funcție de stadiile tumorale

Rezultatele testelor ne indica ca sunt date care sustin ipoteza ca mortalitatea este mai mare la pacientii in stadiul T4 fata de stadiile mai incipiente, valoarea p fiind la limita de cut-off pentru semnificatie statistica pentru un test, si respectiv semnificativa statistic la celalalt test.

Fig 2.6

OS Stadiile T1&T2&T3 vs Stadiul T4



Curbele de supravietuire Kaplan-Meier pentru stadiile tumorale  
tabel 2.18

| Statistica                          | Estimat | 95% CI         |
|-------------------------------------|---------|----------------|
| <b>RMST Stadiul T4</b>              | 50.74   | 31.25 la 70.23 |
| <b>RMST Stadii T1&amp;T2&amp;T3</b> | 78.50   | 72.33 la 84.66 |
| <b>RMTL Stadiul T4</b>              | 33.25   | 13.76 la 52.74 |
| <b>RMTL Stadii T1&amp;T2&amp;T3</b> | 5.50    | -0.66 la 11.66 |

RMST si RMTL pentru stadiile T1&T2&T3 vs stadiul T4

RMST a fost cu aproape 28 de luni mai mica la pacientii in stadiul T4, in vreme ce RMTL a fost cu aproximativ 28 de luni mai mare la pacientii cu stadii mai mici de T4.

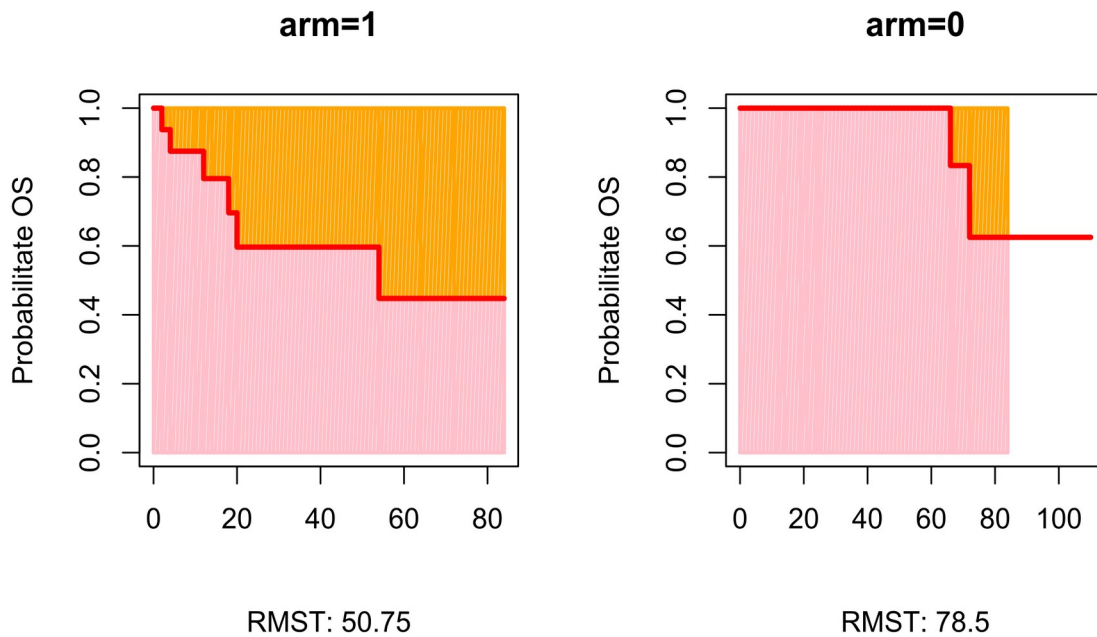
Tabel 2.19

| Testul                | Estimat (95% CI)         | valoare p |
|-----------------------|--------------------------|-----------|
| <b>Diferente RMST</b> | -27.75 (-48.19 la -7.31) | 0.008     |
| <b>Raport RMST</b>    | 0.64 (0.43 la 0.95)      | 0.029     |
| <b>Raport RMLT</b>    | 6.04 (1.70 la 21.42)     | 0.005     |

Testele comparative pentru de stadiile tumorale

Toate testele au raportat diferente cu semnificatie statistica, pacientii in stadiul T4 au o medie de supravietuire mai mica cu 28 de luni, si pierd in medie cu 28 de luni mai mult din viata, fata de pacientii cu stadii T mai incipiente (vezi graficul arm 1 = stadiul T4, arm 0 = stadii mai mici decat T4)

fig 2.7



Testele comparative pentru de stadiile tumorale

Pentru o analiza mai aprofundata, au fost comparate RMST la 12, 24, si 60 de luni, folosind atat testul clasic cat si un test cu permutari folosind 100,000 de reesantionari fara reintroducere din esantionul populational. In tabelul urmatore sunt raportate RMST pe perioada analizata, diferenta dintre RMST stadiul T4 vs stadiile T1/T2/T3, si valorile p brut si la testul cu permutari.

Tabel 2.20

| Perioada       | RMST<br>Stadiul T4 | RMST<br>< T4 | Diferenta<br>RMST | valoare p<br>brut | valoare<br>p<br>permutari |
|----------------|--------------------|--------------|-------------------|-------------------|---------------------------|
| <b>12 luni</b> | 10.87              | 12.00        | -1.12             | 0.133             | 0.209                     |
| <b>24 luni</b> | 19.42              | 24.00        | -4.57             | 0.014             | 0.017                     |
| <b>60 luni</b> | 40.00              | 60.00        | -20.00            | 0.002             | 0.009                     |

Analiza comparativă în funcție de stadiile tumorale

Din tabel se observa ca in primele 12 luni nu sunt diferente semnificative statistic intre RMST; la 24 de luni, exista o diferenta de 4 luni si jumatate in favoarea pacientilor in stadii mai mici de T4, valoarea p fiind cu semnificatie statistica atat la testul asimptotic cat si la cel cu permutari. La 60 de luni diferenta este de 20 luni, valoarea p fiind cu semnificatie statistica atat la testul asimptotic cat si la testul cu permutari. Avand in vedere aceste rezultate, consideram ca sunt suficiente date care sa ne permita sa concluzionam ca , incepand de la 24 de luni de la momentul diagnosticului la pacientii in stadiul T4, evolutia este mai grava fata de pacientii in stadiile T mai putin avansate.

Tabel 2.21

| <b>Predictor</b> | <b>Decese N</b> | <b>HR (95% CI)<sup>1</sup></b> | <b>valoare p</b> |
|------------------|-----------------|--------------------------------|------------------|
| Stadiul T4       |                 |                                |                  |
| Nu               | 2               | —                              |                  |
| Da               | 6               | 4.40 (0.87 la 22.3)            | 0.073            |

<sup>1</sup> HR = Hazard Ratio

Regresia Cox în funcție de stadiile tumorale

Cu o valoare p marginal nesemnificativa, pacientii in stadiul T4 au un risc de 4.40 ori mai mare de deces, fata de pacientii in stadii mai mici decat T4.

Analiza pentru grosimea tumorala la momentul diagnosticului; fiind vorba de o variabila continua, a fost folosit exclusiv modelul Cox.

Tabel 2.22

| <b>Predictor</b> | <b>Deces N</b> | <b>HR (95% CI)<sup>1</sup></b> | <b>valoare p</b> |
|------------------|----------------|--------------------------------|------------------|
| GrosimeTumora    | 8              | 1.13 (0.99 la 1.27)            | 0.064            |

<sup>1</sup> HR = Hazard Ratio,

Regresia Cox pentru OS în funcție de grosimea tumorii

Cu o valoare p marginal nesemnificativa, o crestere cu 1mm a grosimii tumorale este asociata cu o crestere cu 13% a probabilitatii de deces.

Analiza pentru existenta metastazelor viscerale (nu au fost considerate metastazele cutanate si ganglionare)

tabel 2.23

| <b>Strata Metastaze</b> | <b>N Decese (%)</b> | <b>Mediana Supravietuire (95% CI)</b> |
|-------------------------|---------------------|---------------------------------------|
| <b>Absente</b>          | 2 / 19 (10.52)      | N/A [66.00 la N/A]                    |
| <b>Prezente</b>         | 6 / 11 (54.55)      | 54.00 (12.00 la N/A)                  |

Analiza OS în funcție de prezența/absența metastazelor

Mortalitatea a fost de 5 ori mai mare la pacientii cu metastaze , rezultatele testelor curbelor de supravietuire fiind redate in tabelele urmatoare :

tabel 2.24

| <b>Metastaze</b> | <b>N</b> | <b>Decese Observate</b> | <b>Decese sub H0</b> | <b>Statistica <math>\chi^2</math> (grade libertate)</b> | <b>valoare p</b> |
|------------------|----------|-------------------------|----------------------|---|------------------|
| <b>Absente</b>   | 19       | 2                       | 4.97                 | 4.80 (1)  | 0.03             |
| <b>Prezente</b>  | 11       | 6                       | 3.03                 | -   | -                |

Testul log-rank Martel-Haenszel pentru OS în funcție de prezența/absența metastazelor

tabel 2.25

| <b>Metastaze</b> | <b>N</b> | <b>Decese Observate</b> | <b>Decese sub H0</b> | <b>Statistica <math>\chi^2</math> (grade libertate)</b> | <b>valoare p</b> |
|------------------|----------|-------------------------|----------------------|---|------------------|
| <b>Absente</b>   | 19       | 1.57                    | 4.26                 | 5.40 (1)  | 0.03             |
| <b>Prezente</b>  | 11       | 5.22                    | 2.53                 | -   | -                |

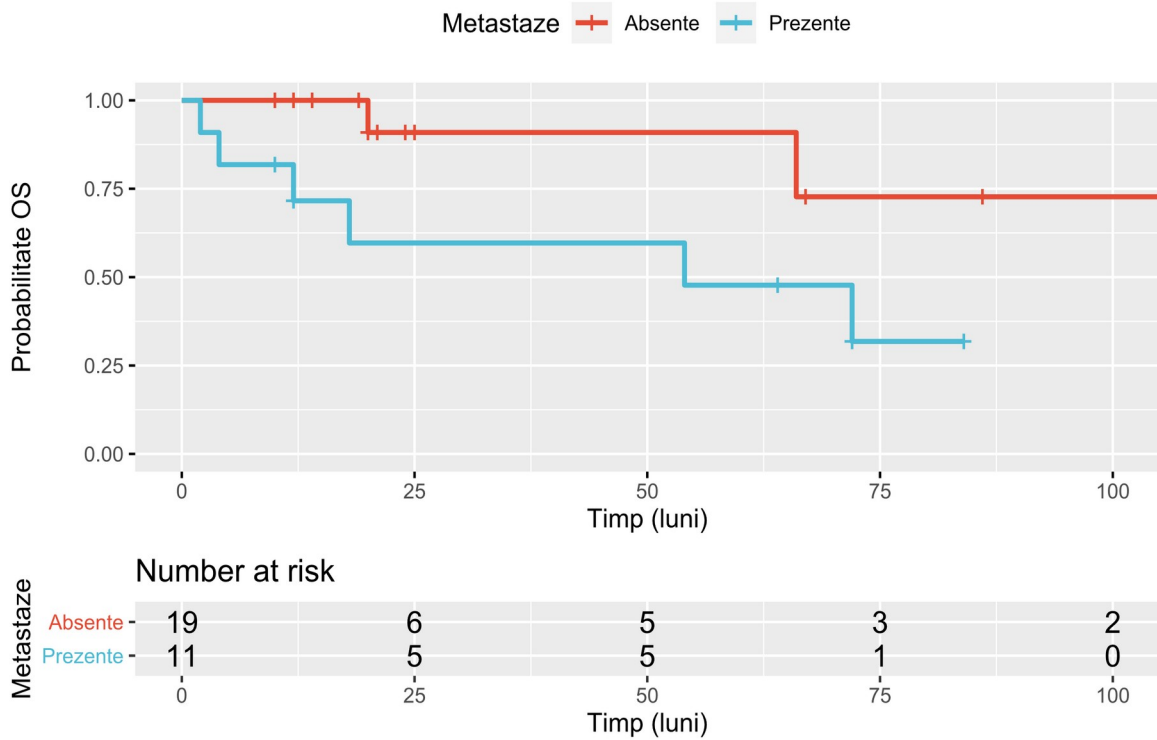
Testul Gehan-Wilcoxon pentru OS în funcție de prezența/absența metastazelor

Rezultatele testelor ne indica ca mortalitatea de aproximativ 5 ori mai mare la pacientii cu metastaze este cu semnificatie statistica, valoarea p fiind mai mica de 0.05 la ambele teste efectuate.



Fig 2.8

OS Prezenta Metastaze Viscerale



Curbele de supravietuire Kaplan-Meier pentru OS în funcție de prezența/absența metastazelor

RMST si RMTL pentru prezenta/absenta metastazelor:

tabel 2.26

| Statistica                     | Estimat | 95% CI         |
|--------------------------------|---------|----------------|
| <b>RMST Metastaze Prezente</b> | 48.54   | 27.40 la 69.68 |
| <b>RMST Metastaze Absente</b>  | 74.90   | 63.15 la 86.66 |
| <b>RMTL Metastaze Prezente</b> | 35.45   | 14.31 la 56.59 |
| <b>RMTL Metastaze Absente</b>  | 9.09    | -2.66 la 20.84 |

RMST si RMTL pentru prezenta/absenta metastazelor

RMST a fost cu aproximativ 26 de luni mai mica la pacientii cu metastaze prezente, in vreme ce RMTL a fost cu aproximativ 26 de luni mai mare la pacientii fara metastaze viscerale prezente.

Testele comparative :

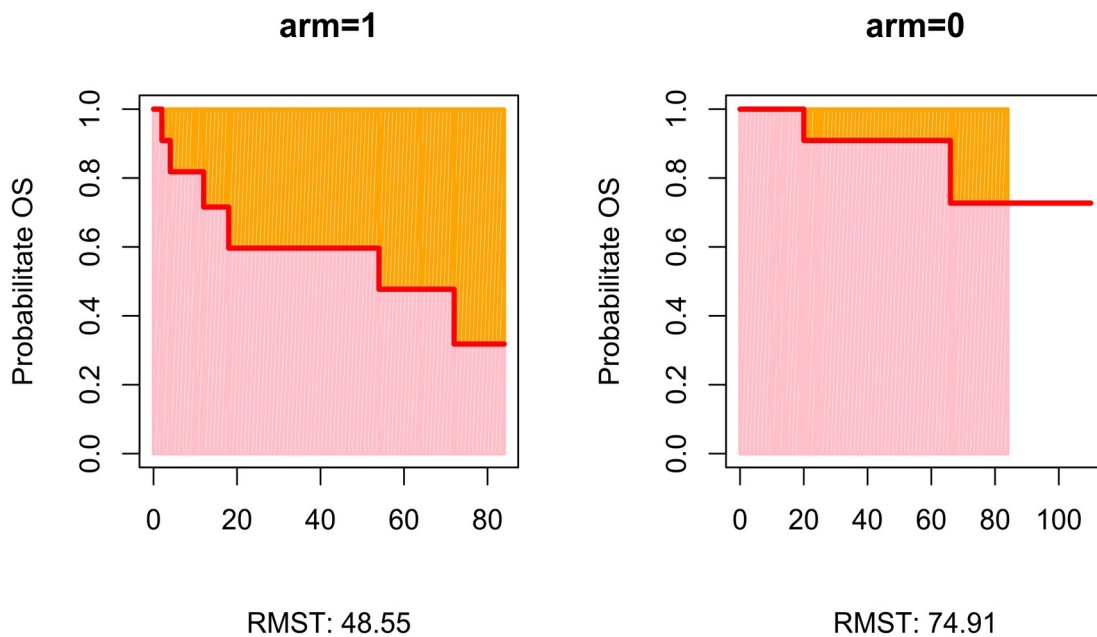
tabel 2.27

| Testul         | Estimat (95% CI)         | valoare p |
|----------------|--------------------------|-----------|
| Diferente RMST | -26.36 (-50.55 la -2.17) | 0.033     |
| Raport RMST    | 0.64 (0.40 la 1.03)      | 0.066     |
| Raport RMLT    | 3.90 (0.93 la 16.20)     | 0.061     |

Testele comparative pentru OS în funcție de prezența/absența metastazelor

Un test a raportat o valoare p cu semnificatie statistica, in vreme ce la celalalte doua teste valoarea p a fost marginal nesemnificativa, supravietuirea medie este mai mare la pacientii fara metastaze viscerale (vezi graficul arm 1 = metastaze prezente, arm 0 = metastaze absente)

fig 2.9



Testele comparative pentru OS în funcție de prezența/absența metastazelor

tabel 2.28

| Predictor           | Event N | HR (95% CI) <sup>1</sup> | valoare p |
|---------------------|---------|--------------------------|-----------|
| Metastaze Viscerale |         |                          |           |
| Nu                  | 2       | —                        |           |
| Da                  | 6       | 5.07 (1.01 to 25.4)      | 0.048     |

<sup>1</sup> HR = Hazard Ratio,

Regresia Cox pentru OS în funcție de prezența/absența metastazelor

Hazardul de deces a fost de 5 ori mai mare la pacienții cu metastaze, efectul fiind cu semnificație statistică.

În secțiunea de discuții a fost abordată similitudinea dintre datele obținute în studiul nostru, și literatura actuală legată de melanomul malign. Am observat o variabilitate mare a rezultatelor din literatura, variabilitate explicată prin sistemele medicale diferite din care provin autorii studiului, caracteristicilor diferite ale esanțioanelor populationale, design-urilor diferite ale studiilor (prospective, retrospective, triale controlate), protocoalelor diferite de diagnostic și tratament. Deși au existat diferențe între rezultatele noastre și cele din literatura, marea majoritate a acestora a fost în limita erorilor inerente studiilor clinice exprimate prin raportarea unui interval de confidență (95% CI), interval de confidență care reflectă eroarea standard a statisticilor calculate de noi (RMST, mediana de supraviețuire, HR..etc)

### 3. Concluzii

#### 3.1. Rezultatele obținute

În urma analizei statistice a lotului de pacienți din studiu s-au obținut următoarele rezultate:

- *Caracteristicile lotului de studiu:*

- Varsta medie a pacienților diagnosticați cu melanom malign a fost de 57 de ani
- Nu au existat diferențe cu semnificație demografică în ceea ce privește sexul pacienților diagnosticați cu melanom.
- Mutația BRAF a fost întâlnită la jumătate din numărul pacienților din studiu. La nivel populațional, proporția de mutații BRAF identificate variază mult, nu se poate estima cu acuratețe la momentul actual proporția de melanoame BRAF pozitive din numărul total de melanoame.
- La 1/3 dintre pacienți tumora primară a fost localizată periferic, la restul de 2/3 localizarea fiind axială.
- 2/3 dintre pacienți au avut la momentul admiterii în studiu un nivel crescut de LDH.
- La aproape 75% dintre pacienți au fost observate ulcerări la nivelul tumorii primare.
- Mai mult de jumătate dintre pacienți au fost diagnosticați în stadiul tumoral T4
- La momentul diagnosticului, la 70% dintre pacienți boala depășise stadiul local de evoluție.
- 1/3 dintre pacienți au avut la momentul diagnosticului determinări secundare la distanță.
- La 70% dintre pacienții care au beneficiat de tratament chirurgical, procedeul folosit a fost cel de rezecție extinsă a tumorii (excizie largă și biopsia ganglionului sentinelă).
- Aproximativ jumătate dintre pacienți au beneficiat de chimioterapie adjuvantă.
- La aproximativ 15% dintre pacienți s-a practicat radioterapie.
- Aproximativ 1/2 dintre pacienți au beneficiat de imunoterapie.

- *Pentru rolul mutației BRAF*

- La pacienții din eșantion, mutația BRAF nu a avut rol prognostic, atât supraviețuirea globală cât și supraviețuirea fără progresie nefiind influențate de acest parametru; având însă în vedere faptul că la toți pacienții cu mutația BRAF a fost aplicat tratament țintit, se poate susține ipoteza că pacienții cu mutația BRAF la care a fost folosită terapia țintită au practic același prognostic ca pacienții fără mutația BRAF.

*- Pentru obiectivul – supraviețuirea pacienților:*

- Supraviețuirea medie a pacienților din studiu a fost de aproape 78 de luni, o valoare subevaluată deoarece a fost estimată cu ajutorul RMST, studiul având pacienți cenzurați.
- Nu am putut estima o mediană de supraviețuire pentru pacienții din studiu, dar am calculat o limită inferioară a acesteia de 66 de luni.
- Mortalitatea în studiul nostru a fost de 26.66%; supraviețuirea la 5 ani a fost de 60%, dar aceasta a fost estimată pe un eșantion de pacienți mai mic decât cel inițial.
- Supraviețuirea la 5 ani în lotul nostru a fost mai mică decât în studii similare efectuate în alte țări. La pacienții studiați de noi diagnosticul de melanom a fost pus în principal în stadii mai avansate ale bolii, situație ce poate explica evoluția mai gravă.
- A fost observată o influență a vârstei asupra evoluției bolii pentru eșantionul studiat. Pacienții vârstnici au prezentat o scădere a perioadei medii de supraviețuire.

*- Pentru obiectivul – supraviețuirea fără progresie:*

- Pacienții cu un nivel crescut de LDH la momentul diagnosticului au un prognostic mai prost decât pacienții cu LDH normal, atât din punct de vedere al supraviețuirii cât și din punct de vedere al progresiei bolii; o posibilă explicație a acestui efect este că nivelul crescut de LDH este asociat cu prezența metastazelor și/sau a unei boli mai avansate din punct de vedere evolutiv.
- Pacienții cu melanoame T4 au un prognostic mai sever în raport cu pacienții cu melanom în stadii T mai mici, atât din punct de vedere al progresiei cât și al supraviețuirii.
- La pacienții cu metastaze de organ prognosticul este mai grav față de pacienții fără metastaze de organ, atât din punct de vedere al supraviețuirii cât și al progresiei.
- Pacienții cu boala extinsă la nivel loco-regional au un prognostic mai sever față de pacienții cu boala limitată, dar doar în ceea ce privește progresia bolii, studiul nostru nearătând diferențe în ceea ce privește supraviețuirea între pacienții cu boală limitată și cei cu boală loco-regională.
- Tratamentul chirurgical nu a influențat prognosticul, în studiul nostru procedeul chirurgical folosit fiind selectat în funcție de stadiul melanomului, cel mai adesea radical, având în vedere stadiul avansat în care a fost depistată tumora primară la majoritatea pacienților.

- La pacienții din studiul nostru, chimioterapia nu a influențat evoluția bolii; ea fiind rezervată pacienților cu o evoluție deja nefavorabilă, când s-au epuizat restul resurselor terapeutice.
- Nu putem emite o concluzie legată de rolul radioterapiei la pacienții din eșantionul analizat, doar 4 pacienți au avut indicație pentru aceasta modalitate terapeutică rezervată anumitor categorii de metastaze.
- Imunoterapia a influențat prognosticul pacienților din eșantion, prin creșterea perioadei medii de supraviețuire, însă nu au existat diferențe în ceea ce privește mortalitatea la pacienții la care a fost folosită față de cei la care nu a fost folosită.

### **3.2. Contribuții personale**

Melanomul este o patologie malignă studiată cu deosebit interes în ultimele decenii, fapt ce a dus la o mai bună înțelegere a mecanismelor fiziopatologice implicate în apariția ei și implicit la descoperirea și implementarea numeroaselor metode noi de tratament. Acestea au transformat melanomul dintr-o patologie cu un prognostic deosebit de nefavorabil în ciuda oricărui tratament adjuvant într-o boală controlabilă pentru mai mulți ani cu tratamentul corect. Terapia țintită, împreună cu imunoterapia au schimbat complet modul de abordare al acestei patologii.

Studiul de față își propune să contribuie la înțelegerea mai bună a melanomului așa cum se prezintă în centrele unde a fost efectuat, analizând supraviețuirea, evoluția și prognosticul pacienților cu melanom. Spre deosebire de studii efectuate în alte centre sau țări, rezultatele sunt specifice profilului pacienților tratați de clinicieni din centre specializate în practica curentă, aceștia prezentând, printre alte caracteristici, o grosime mare a tumorii la prezentare, o rată crescută a ulcerărilor, și un stadiu T avansat la momentul diagnosticului, după cum se observă în capitolul 5.1 – *Rezultate obținute*.

De asemenea, studiul identifică pacienții la risc pentru forme agresive ale bolii, pentru recurențe și metastaze locale, ganglionare sau la distanță, cum ar fi pacienții care prezintă tumori primare cu ulcerății, care au LDH crescut la momentul luării în evidență, sau pacienți vârstnici, informații ce pot să ghideze decizia clinicienilor în ceea ce privește atitudinea terapeutică cea mai potrivită, informații ilustrate de asemenea în capitolele 3 – *Supraviețuirea fără progresie* și 5.1 – *Rezultate obținute*.

Totodată, este evaluată evoluția pacienților sub tratamentele actuale. Terapia oncologică este implementată după studii de lungă durată, cu numeroase probleme de etică medicală, luând în considerare atât aspectele economice și disponibilitatea cât și selecția atentă a pacienților. Studiile pe pacienți oncologici iau în considerare riscul întotdeauna crescut de progresie a bolii sub placebo, sau de efecte adverse ale tratamentului testat. Studiul nostru, deși retrospectiv, își propune să furnizeze informații utile fără a expune pacienții la riscuri suplimentare.

Tratamentul chirurgical este esențial în tratamentul melanomului. Reprezintă singura opțiune terapeutică cu viză curativă pentru stadiile incipiente, după cum se observă și în studiul nostru. Pacienții tratați chirurgical corect și complet prezintă atât o supraviețuire globală cât și o supraviețuire fără progresie mai bună. Tratamentul chirurgical cu margini de siguranță previne progresia regională a bolii și este esențial pentru stadializarea corectă. În cazul pacienților din studiu, tratamentul chirurgical corect și complet a fost practicat de fiecare dată și, în funcție de stadiul histologic, a fost completat cu biopsia ganglionului sentinelă. Analiza evoluției sub acest tratament contribuie la înțelegerea modului în care această patologie evoluează în condiții de tratament chirurgical conform standardelor actuale.

### **3.3. Limitări și perspective**

Fiind un studiu retrospectiv, lucrarea de față prezintă anumite limitări, cum ar fi dependența de acuratețea cu care au fost redate datele în foile de observație analizate, capacitatea limitată de a ajusta variabilele studiului, și limitarea posibilității de a adăuga variabile noi la studiu. Totodată, modul de stocare și sistemul de furnizare a informațiilor medicale pentru scopuri de cercetare pot fi semnificativ îmbunătățite.

În acest context, existența unei baze de date naționale pentru pacienții oncologici, inclusiv pentru melanom, ar fi deosebit de utilă pentru tratamentul unitar, coerent și coeziv al acestor pacienți. În primul rând, un protocol de tratament și o bază de date/ registru național asigură ca fiecare pacient să beneficieze de tratament standardizat indiferent de centrul unde se efectuează tratamentul. Asta înseamnă acces la resurse și tratamente conform ghidurilor de actualitate, creșterea calității îngrijirii și scăderea riscului de complicații. În consecință, supraviețuirea și calitatea vieții se pot îmbunătăți semnificativ, iar riscul recidivelor și al progresiei bolii pot scădea. De asemenea, o abordare coezivă a

pacienților va scădea diferențele în abordarea terapeutică, ceea ce va duce la rezultate mai bune și la reducerea costurilor legate de intervenții inutile.

O bază de date a pacienților, evident, cu protejarea confidențialității acestora facilitează studiile și cercetarea prin crearea unei infrastructuri adecvate colectării datelor și o coerență terapeutică. Astfel, rezultatele statistice pot fi îmbunătățite și extinse pe loturi de studiu mai mari și rezultatele pot fi aplicate pentru a dezvolta o strategie națională de abordare terapeutică a melanomului și a altor patologii oncologice. În același context, comunicarea interdisciplinară și între centre poate fi semnificativ îmbunătățită, ceea ce ar duce la o urmărire mai bună a pacienților, o scădere a presiunii exercitate pe centrele mari și specializate, ar ușura accesul pacienților la serviciile medicale și ar duce implicit la o complianță crescută.

În concluzie, studiul nostru își propune și furnizează date relevante în ceea ce privește evoluția și supraviețuirea pacienților cu melanom BRAF+ și poate fi util în sine sau asociat altor studii în evaluarea abordării terapeutice a acestor pacienți.



## Bibliografie selectivă

- [1] Baggiolini A, Varum S, Mateos JM, et al. Premigratory and migratory neural crest cells are multipotent in vivo. *Cell Stem Cell* 2015, 16:314-322
- [2] Mort RL, Jackson IJ, Patton EE. The melanocyte lineage in development and disease. *Development* 2015, 142:1387
- [3] Hirobe T (2011) How are proliferation and differentiation of melanocytes regulated? *Pigment Cell Melanoma Res* 2011, 24(3):462-478
- [4] Chong H, Guan K-L. Regulation of Raf through phosphorylation and N terminus-C terminus interaction. *J Biol Chem.* 2003;278:36269-76.
- [5] Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature.* 2002 Jun 27;417(6892):949-54.
- [6] Van Keymeulen A, Lee MY, Ousset M, Brohee S, Rorive S, Girardi RR, Wuidart A, Bouvencourt G, Dubois C, Salmon I, Sotiriou C, Phillips WA, Blanpain C. Reactivation of multipotency by oncogenic PIK3CA induces breast tumour heterogeneity. *Nature* 2015, 525:119–123
- [7] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin* 2008;58:71–96.
- [8] Gallagher R, Spinelli J, Lee T. Tanning beds, sunlamps, and risk of cutaneous malignant melanoma. *Cancer epidemiology, Biomarkers & Prevention* 2005;14:562–6.
- [9] Elwood J, Jopson J. Melanoma and sun exposure: an overview of published studies. *Int J Cancer* 1997;73:198–203.
- [10] The International Agency for Research on Cancer Working Group on Artificial Ultraviolet I SC The association of use of sunbeds with cutaneous malignant melanoma and other skin cancers: a systematic review. *Int. J. Cancer.* 2006;120(5):1116–1122.
- [11] Kopf A.W., Bart R.S., Hennessey P. Congenital nevocytic nevi and malignant melanomas. *J Am Acad Dermatol* 1990; 1:123-130
- [12] Kadonaga J.N., Frieden I.J. Neurocutaneous melanosis: Definition and review of literature. *J Am Acad Dermatol* 1991; 24:747-755
- [13] Greene M.H., Young J., Clark W.H. Jr. Malignant melanoma in renal-transplant recipients. *Lancet* 1981; 1:1196-1199

- [14] Alikhan A, Ibrahimi OA, Eisen DB. Congenital melanocytic nevi: where are we now? Part I. Clinical presentation, epidemiology, pathogenesis, histology, malignant transformation, and neurocutaneous melanosis. *J Am Acad Dermatol* 2012; 67(4):495-511
- [15] Castilla EE, da Graca Dutra M, Orioli-Parreiras IM. Epidemiology of congenital pigmented naevi: I. Incidence rates and relative frequencies. *Br J Dermatol* 1981; 104(3):307-315
- [16] Kinsler VA, Chong WK, Aylett SE, Atherton DJ. Complications of congenital melanocytic naevi in children: analysis of 16 years' experience and clinical practice. *Br J Dermatol* 2008; 159(4):907-914
- [17] Marghoob AA, Dusza S, Oliveria S, Halpern AC. Number of satellite nevi as a correlate for neurocutaneous melanocytosis in patients with large congenital melanocytic nevi. *Arch Dermatol* 2004; 140(2):171-175
- [18] Tsao H, Goel V, Wu H, Yang G, Haluska FG. Genetic interaction between NRAS and BRAF mutations and PTEN/MMAC1 inactivation in melanoma. *J Invest Dermatol* 2003; 122(2):337-341
- [19] Maldonado JL, Fridlyand J, Patel H, Jain AN, Busam K, Kageshita T, Ono T, Albertson DG, Pinkel D, Bastian BC (2003) Determinants of BRAF mutations in primary melanomas. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95(24):1878-1890
- [20] Verzi AE, Quan VL, Walton KE, Martini MC, Marghoob AA, Garfield EM, Kong BY, Isales MC, VandenBoom T, Zhang B, West DP, Gerami P. The diagnostic value and histologic correlate of distinct patterns of shiny white streaks for the diagnosis of melanoma: A retrospective, case-control study. *J Am Acad Dermatol* 2018; 78(5):913-919.
- [21] Broekaert SM, Roy R, Okamoto I, van den Oord J, Bauer J, Garbe C, Barnhill RL, Busam KJ, Cochran AJ, Cook MG, Elder DE, McCarthy SW, Mihm MC, Schadendorf D, Scolyer RA, Spatz A, Bastian BC. Genetic and morphologic features for melanoma classification. *Pigment Cell Melanoma Res* 2010; 23(6):763-770.
- [22] Viros A, Fridlyand J, Bauer J, Lasithiotakis K, Garbe C, Pinkel D, Bastian BC. Improving melanoma classification by integrating genetic and morphologic features. *PLoS Med* 2008; 5(6):e120
- [23] Shain AH, Yeh I, Kovalyshyn I, Sriharan A, Talevich E, Gagnon A, Dummer R, North J, Pincus L, Ruben B, Rickaby W, D'Arrigo C, Robson A, Bastian BC. The genetic evolution of melanoma from precursor lesions. *N Engl J Med* 2015; 373(20):1926-1936

- [24] Gershenwald, J. E., Scolyer, R. A., Hess, K. R., Sondak, V. K., Long, G. V., Ross, M. I. Melanoma staging: Evidence-based changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 2017, 67(6), 472–492.
- [25] Smoller, B. R. Histologic criteria for diagnosing primary cutaneous malignant melanoma. *Modern Pathology* 2006, 19(S2), S34–S40.
- [26] Azzola MF, Shaw HM, Thompson JF et al (2003) Tumor mitotic rate is a more powerful prognostic indicator than ulceration in patients with primary cutaneous melanoma: an analysis of 3661 patients from a single center. *Cancer* 2003 97(6):1488-1498
- [27] MacKenzie Ross AD, Haydu LE, Quinn MJ, Saw RP, Shannon KF, Spillane AJ, Stretch JR, Scolyer RA, Thompson JF (2016) The association between excision margins and local recurrence in 11,290 thin (T1) primary cutaneous melanomas: a case-control study. *Ann Surg Oncol* 2016, 23(4):1082-1089
- [28] Gershenwald JE, Thompson W, Mansfield PF, Lee JE, Colome MI, Tseng CH, Lee JJ, Balch CM, Reintgen DS, Ross MI. Multi-institutional melanoma lymphatic mapping experience: the prognostic value of sentinel lymph node status in 612 stage I or II melanoma patients. *J Clin Oncol* 1999, 17(3):976-983
- [29] Speicher PJ, Meriwether CH, Tyler DS. Regional therapies for in-transit disease. *Surg Oncol Clin N Am* 2015, 24(2):309-322
- [30] Ajithkumar T, Parkinson C, Fife K, Corrie P, Jefferies S. Evolving treatment options for melanoma brain metastases. *Lancet Oncol* 2015, 16(13):e486-497

## **Lista articolelor publicate în timpul studiilor doctorale:**

- Dogaru IM, Dumitrescu N, Oproiu AM, Jecan CR, Costache M, Pătrașcu OM, Florescu IP. Cutaneous melanoma arising on pre-existing nevi - case reports. Rom J Morphol Embryol. 2019;60(3):1025-1030.

PMID: 31912119.

- Dogaru IM, Bahaa-Eddin W, Oproiu AM, Melanoma: A Historical Walk-through from Palliative Treatment to Modern-day Practice. 2023, Romanian Journal of Military Medicine 2023, No. 3/2023.

<https://doi.org/10.55453/rjmm.2023.126.3.5>