



FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE DE  
COIMBRA

**FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA-TRABALHO FINAL

CATARINA ENCARNAÇÃO FERNANDES

**TRATAMENTO MELANOMA MALIGNO**

ARTIGO DE REVISÃO NARRATIVA

ÁREA CIENTÍFICA DE DERMATOLOGIA

**Trabalho realizado sob orientação de**

DRA LEONOR RAMOS

PROFESSOR DOUTOR RICARDO JOSÉ DAVID COSTA VIEIRA



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**TRATAMENTO DO MELANOMA**

CATARINA ENCARNAÇÃO FERNANDES<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

Aluna do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina

[encarnacaocatarina@gmail.com](mailto:encarnacaocatarina@gmail.com)

Trabalho supervisionado por:

DRA LEONOR RAMOS

Assistente de Dermatologia, Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

Serviço de Dermatologia, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

[leonoricr@gmail.com](mailto:leonoricr@gmail.com)

PROFESSOR DOUTOR RICARDO JOSÉ DAVID COSTA VIEIRA

Professor auxiliar com agregação, Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra,  
Portugal

[ricardo.jda.vieira@gmail.com](mailto:ricardo.jda.vieira@gmail.com)

## Índice

1	Abreviaturas .....	5
2	Resumo.....	7
3	Abstract.....	8
4	Introdução .....	9
5	Materiais e Métodos .....	11
6	Discussão .....	12
6.1	Fatores de risco .....	12
6.2	Patogénese.....	12
6.3	Melanoma maligno.....	13
6.3.1	Melanoma de extensão superficial .....	14
6.3.2	Melanoma Nodular.....	15
6.3.3	Lentigo maligno-melanoma .....	15
6.3.4	Melanoma Acral lentiginoso .....	16
6.4	Biologia do Melanoma.....	17
6.4.1	Via MAPK (proteína-cinase ativada por mitogéneo) que envolve a via Ras/Raf/MEK/ERK .....	18
6.4.2	Via PI3K/AKT (via fosfatidilinositol-3-cinase) que envolve a via PI3K/PTEN/Akt/mTOR .....	19
6.5	Diagnóstico .....	23
6.6	Estadiamento .....	23
6.7	Terapêutica .....	25
6.7.1	Imunoterapia .....	28
6.7.2	Terapia- alvo.....	34
6.7.3	Combinação Inibidores BRAF/MEK e inibidores de checkpoints (tripla combinação).....	40
6.7.4	Melanoma NRAS .....	41
6.7.5	Melanoma KIT.....	41
6.7.6	Tratamento Adjuvante.....	41
6.7.7	Terapia Neoadjuvante.....	43
6.8	Estratégias imunológicas após resistência.....	44
7	Conclusões .....	46
8	Agradecimentos .....	48
9	Referências.....	51

## **1 Abreviaturas**

AL - melanoma acral lentiginoso  
APCs – células apresentadoras de antigénio  
BGS – biópsia do gânglio sentinela  
CEC - carcinoma espinho-celular  
CPK – creatina fosfoquinase  
CTLA-4 - Antígeno-4 associado a Linfócitos T citotóxico  
DRm - duração de resposta média  
EA – efeitos adversos  
EADO - European Association of Dermato-Oncology  
EAI – Efeitos adversos imunomediados  
EMA - European Medicines Agency  
ESC – Exposição solar crónica  
ESI – Exposição solar intermitente  
FDA - US-Food and Drug Administration  
GGT – gama glutamil transferase  
iMEK - inibidores MEK  
IT- imunoterapia  
LIT- Linfócitos infiltrativos do tumor  
MAPK – proteína cinase ativada pelo mitogénio  
Mc - melanoma cutâneo  
MES - melanoma de extensão superficial  
MLM- lentigo maligno melanoma  
MN - melanoma nodular  
NCCN – National Comprehensive Cancer Network  
PD-1 - Proteína de morte celular programada 1  
PGE2 - prostaglandina E2  
PI3K – fosfoinosítido 3-cinase  
PIP2 - fosfatidilinositol (4,5) -bifosfato  
PIP3- fosfatidilinositol (3,4,5) -trifosfato  
R-UV- radiação ultravioleta  
SLPD - sobrevivência livre de progressão da doença  
SM - sobrevivência média  
TA – terapia-alvo  
TFG-B - Fator de transformação de crescimento beta  
TGP – transaminase glutâmico pirúvica  
TR – taxa de resposta

Vs. – Versus

WT – Wild-type

## 2 Resumo

**Introdução:** O melanoma é o cancro cutâneo com maior mortalidade e em estadios avançados apresenta mau prognóstico. Até 2011 as únicas terapêuticas aprovadas no tratamento do melanoma avançado eram a quimioterapia, IL-2 em alta dose e interferões, que não ofereciam grandes benefícios na sobrevivência e associavam-se a uma alta toxicidade. Novas terapias têm vindo a ser desenvolvidas para melhorar o prognóstico e diminuir a toxicidade, como a imunoterapia (que inibe checkpoints imunes e estimula a resposta imune contra o tumor), e a terapia-alvo, que inibe a via MAPK sobre-expressa no melanoma. Foi realizada uma revisão de literatura com o objetivo de estudar a eficácia de cada terapêutica, comparar as diferentes terapêuticas entre si, de modo a tentar perceber qual a melhor abordagem para cada paciente.

**Material e métodos:** A pesquisa bibliográfica para a elaboração desta revisão foi obtida com recurso à plataforma *Pubmed*. Foram selecionados artigos de revisão, artigos científicos e estudos clínicos, bem como as guidelines NCCN e da EADO e o website *UpToDate*. Os resultados dos estudos clínicos foram consultados através do *clinicaltrials.gov*.

**Resultados:** A imunoterapia tem sido a escolha de primeira-linha, apresentando a combinação ipilimumab-nivolumab os melhores resultados na sobrevivência, associando-se, no entanto, a efeitos adversos imunes não reversíveis. É recomendada em doentes sem comorbilidades e com tumores avançados e agressivos. A monoterapia com anti-PD-1 é também uma alternativa, já que oferece vantagens na sobrevivência e menor toxicidade. Em caso de melanoma com a mutação BRAF, presente em 40-60% dos doentes a terapia-alvo tem mostrado altas taxas de resposta e uma rápida indução de resposta, estando associados ao desenvolvimento de tumores cutâneos como o CEC. A terapia-alvo combinada é preferível a qualquer uma em monoterapia, sendo a combinação encorafenib-binimetinib a que apresenta menor toxicidade.

**Conclusão:** Apesar destes grandes avanços, alguns pacientes acabam por desenvolver resistência secundária a estes tratamentos. Novos alvos terapêuticos mais específicos e biomarcadores que possam prever a resposta estão a ser desenvolvidos.

### Palavras-chave

“Melanoma”, “Tratamento melanoma” “Imunoterapia”, “Terapia-alvo”, “mutação BRAF”, “estadio avançado”

### 3 Abstract

**Introduction:** Melanoma is the skin cancer with the highest mortality and poor prognosis in advanced stages. Until 2011, chemotherapy, high-dose IL-2, and interferons, were approved as single therapies for the treatment of advanced melanoma, did not offer great benefits in survival and were associated with high toxicity. New therapies are being developed to improve prognosis and toxicity, such as immunotherapy (that inhibits immune checkpoints and stimulates the immune response against the tumor), and targeted therapy that inhibits the MAPK pathway that is overexpressed in melanoma. A literature review was carried out in order to evaluate the effectiveness of each therapy, compare them in order to try to understand the best approach for each patient.

**Materials and methods:** The bibliographical research for the elaboration of this review was obtained using the Pubmed platform, review articles, scientific articles and clinical studies, in addition to the NCC and EADO guidelines and the *UpToDate website*. Clinical trial results were retrieved through clinicaltrials.gov.

**Results:** Immunotherapy has been the first-line choice; the ipilimumab-nivolumab combination presents the best results in survival. However, it is associated with non-reversible adverse immune effects. Therefore, it is recommended in patients without comorbidities and with advanced and aggressive tumors. Monotherapy with anti-PD-1 is also an alternative, as it offers survival advantages and less toxicity. For patients with melanoma BRAF mutations, present in 40-60% of patients, targeted therapy has shown high response rates and rapid response induction, although associated with the development of skin tumors such as SCC. Targeted combination therapy is preferable to monotherapy, with the encorafenib-binimetinib combination having the least toxicity. Despite these great advances, some patients end up developing secondary resistance to these treatments.

**Conclusion:** Despite these great advances, some patients end up developing secondary resistance to these treatments. New and more specific therapeutic targets and biomarkers that can predict the response under development.

#### Key-words

“Melanoma”, “Melanoma Treatment”, “Immunotherapy”, “Target therapy”, “BRAF mutation”, “Advanced stage”



## 4 Introdução

O melanoma maligno, apesar de não ser o mais frequente (3%), é o tumor cutâneo que apresenta maior mortalidade (65%). (1)

A sua incidência e morbidade tem vindo a aumentar em todo o mundo anualmente, a um ritmo mais rápido quando comparado com outras neoplasias. Entre os 25 e os 50 anos, a incidência aumenta linearmente, e a partir dos 50 anos diminui, principalmente no sexo feminino. O sexo feminino é mais afetado em idades mais jovens, enquanto o sexo masculino é mais prevalente acima dos 55 anos. (2)

O melanoma desenvolve-se a partir da transformação maligna dos melanócitos, células produtoras de melanina. Se esta transformação ocorrer nos melanócitos da camada basal da epiderme, denomina-se melanoma cutâneo (Mc). Por sua vez, se ocorrer nos melanócitos presentes no epitélio da coróide, mucosas do trato gastrointestinal, mucosa genital, mucosa do urinário ou meninges designa-se melanoma não cutâneo.(2,3)

A sua etiologia está relacionada com fatores genéticos e ambientais. (3). O principal fator ambiental é a exposição à radiação ultravioleta (R-UV), particularmente se esta exposição for intermitente e intensa. (2)

A maioria dos doentes é diagnosticado em estádios iniciais, e nestes casos, a excisão cirúrgica é o tratamento de eleição, com um bom prognóstico e possibilidade de ser curativa. (2,4) No entanto, mesmo melanomas superficiais podem ter capacidade de metastização e, nestes casos, o prognóstico do doente agrava drasticamente. É assim de extrema importância a sua deteção precoce.(4,5)

Desde 1975 que a única opção terapêutica para doentes com tumor metastizado era a quimioterapia, com uma sobrevida média de 5 a 11 meses em 27% dos casos. (4)

Nos últimos anos, têm vindo a ser desenvolvidos novos agentes-alvo e imunoterapia que têm melhorado o prognóstico dos doentes com melanoma avançado. A quimioterapia passou a ser uma terapêutica de segunda ou terceira linha. (4)

O problema major da terapia com agentes alvo e imunoterapia prende-se com o facto de alguns doentes desenvolverem resistência secundária a esta terapêutica, pelo que o objetivo atual é desenvolver novos agentes ou novas combinações de agentes que possam tornar o seu efeito mais duradouro. (4)

Com este artigo de revisão pretende rever-se as várias terapêuticas utilizadas no tratamento do melanoma maligno, tendo em especial atenção às terapêuticas mais atuais, analisar a sua eficácia e segurança e compará-las sempre que possível.

## **5 Materiais e Métodos**

A pesquisa bibliográfica para a elaboração desta revisão foi obtida por meio da plataforma Pubmed, com base nos termos: “cutaneous melanoma”, “malignant melanoma treatment”, “melanoma advanced treatment”, “melanoma immunotherapy”, “melanoma targeted therapy”, “neoadjuvant treatment melanoma”, “adjuvant treatment melanoma”.

Foram selecionados artigos de revisão, artigos científicos e estudos clínicos, além das guidelines do NCC e EADO, e o website *UpToDate*.

No que diz respeito à terapia, foram selecionados artigos com data de publicação posterior a 2018. No entanto a pesquisa foi alargada uma vez que estudos clínicos foram realizados antes desse ano. Os resultados dos ensaios clínicos foram obtidos através de *Clinicaltrials.gov*.

Após análise cuidada e crítica dos artigos selecionados, realizou-se esta revisão de literatura.

## **6 Discussão**

### **6.1 Fatores de risco**

Apesar da etiologia do melanoma não estar bem esclarecida, existem diversos fatores de risco (6)

A R-UV é o principal fator ambiental para o desenvolvimento de melanoma. (2) No que diz respeito ao padrão de exposição, a OMS declarou que uma exposição intensa e intermitente (típica de história de queimadura solar) principalmente se a partir da infância ou adolescência está associada a um risco acrescido de desenvolver Mc. Indivíduos com > 5 episódios de queimadura solar têm um aumento de duas vezes o risco. (2)

Os fotótipos I e II, indivíduos caracteristicamente de pele clara, cabelo loiro ou ruivo, efélides e olhos azuis têm uma menor resistência aos raios UV, o que lhes confere um maior risco de desenvolver Mc, comparativamente a outros fotótipos. (6).

Cerca de 33% dos melanomas desenvolvem-se a partir de um nevo pré-existente. (3) A presença de múltiplos nevi pigmentados também se associa a um risco acrescido. (2)

Doentes com patologias imunossupressoras como HIV ou que realizam imunossupressão sistêmica são mais suscetíveis ao desenvolvimento do Mc.(3) A imunossupressão pode levar à inativação de genes supressores tumorais (p53 e PTCH) e à ativação de protooncogenes (HRAS, KRAS e NRAS)

O Mc desenvolve-se após mutações genéticas dos melanócitos, que propiciam a proliferação celular e cessam a apoptose em resposta ao DNA lesado. (3) As mutações mais frequentes ocorrem nos protooncogenes BRAF, NRAS e NF1. (3)

Cerca de 7 a 15% dos melanomas ocorrem em doentes com história familiar de melanoma. A mutação germinativa CDKN2A é a mais frequente nos melanomas hereditários. Mutações somáticas do TP53 também podem levar ao desenvolvimento do melanoma hereditário. (2)

### **6.2 Patogénese**

Os melanócitos são células que derivam da crista-neural e estão presentes na camada basal da epiderme e nos folículos pilosos, mas também nas superfícies mucosas, coróide e meninges. (2,7)

A exposição à R-UV danifica o DNA dos melanócitos e estimula a produção de melanina pelos melanócitos, que atua como escudo protetor contra a R-UV, para evitar mais danos do DNA. (2)

O processo de carcinogénese do melanoma baseia-se na conversão das propriedades antioxidantes da melanina em pró-oxidantes. (3) Esta propriedade pró-oxidante da melanina aumenta os níveis de radicais livres de oxigénio intracelular que, por sua vez, danificam o DNA do melanócito e desencadeiam mutações. As mutações resultam numa ativação excessiva das vias de sinalização celular com proliferação descontrolada, des-diferenciação e imortalização dos melanócitos. (3)

A transformação maligna dos melanócitos pode ocorrer por dois mecanismos. (2) A maioria dos Mc surge na ausência de um precursor benigno, ocorrendo por transformação direta de melanócitos normais em malignos através de mutações em genes supressores tumorais (TP53, NF1, PTEN).(7)

Apenas 25-30% se associam a um precursor benigno, sendo que a mutação BRAF ocorre em mais de 80% dos nevi benignos. (2) Esta resulta na proliferação limitada de melanócitos, que permanecem indolentes durante décadas, graças à resposta do sistema imunitário. (2) A presença da mutação BRAF não é, por si só, responsável pela transformação em melanoma. (2) Deste modo, a exposição a raios-UV determina mutações adicionais, como mutações TERT e perda de função de CDKN2A, que, adicionalmente à mutação BRAF, estão associadas à evolução de nevo para melanoma *in situ* (Mis). (2,7)

A transformação de nevo para Mis inclui aumento da carga mutacional e mutações TERT e perda de função de CDKN2A, enquanto a transformação de Mis para melanoma invasivo associa-se a mutações nas vias p53 e PTEN. (7)

### **6.3 Melanoma maligno**

O melanoma subdivide-se em 4 tipos clínico-histológicos: melanoma de extensão superficial (MES), melanoma nodular (MN), lentigo maligno-melanoma (LMM) e melanoma acral lentiginoso (AL). (6) Esta classificação baseia-se no seu local de origem (epitélio Vs. não derivado do epitélio), tipo de exposição à R-UV (crónica ou intermitente) e frequência das mutações BRAF, NRAS e outras mutações oncogénicas (8) A maioria dos melanomas são pigmentados, no entanto, 5-10% são amelanóticos o que atrasa o diagnóstico. (7) O

prognóstico é semelhante nos 4 subtipos, depois da normalização da profundidade de invasão (escala de Breslow) aquando do diagnóstico e tratamento.(7)

### 6.3.1 Melanoma de extensão superficial

O **melanoma de extensão superficial (MES)** é o subtipo mais frequente, representando 60-70% de todos os melanomas e associa-se a uma exposição solar intermitente (ESI). (7) Ocorre principalmente entre os 40 a 60 anos, em indivíduos de fototipo I-II (8,10) No homem, geralmente ocorre no tronco e na mulher nos membros inferiores, especialmente na face posterior da perna. (9) Apesar de estar associado ao número de nevi pré-existentes, estima-se que 50% das lesões deste subtipo de melanoma sejam *de novo*.(10)

Inicialmente o MES tem crescimento radial (durante meses a anos), com proliferação na epiderme. (7) O crescimento vertical surge com a capacidade de invasão da derme, originando uma pápula ou nódulo e agravando o prognóstico. (10)

Clinicamente aplica-se a regra ABCDE (assimetria, bordos irregulares, cor heterogénea, aumento do diâmetro e evolução. (6,9,10)

As mutações mais comuns no MES são mutações ativadoras do oncogene *BRAF V600E* e mutações *NRAS*. (9) Durante a progressão são frequentes mutações *TERT* e a inativação bialélica do gene *CDKN2A*, que marca a evolução para melanoma invasivo.(9) As mutações *PTEN* e *TP53* estão presentes em melanomas avançados primários (9)



**Figura 1:** Melanoma de extensão superficial, de 1.9 x 1.7 cm , com coloração variada entre rosa/preto/castanho. (Adaptado de (10))

### 6.3.2 Melanoma Nodular

O **melanoma nodular (MN)**, é o segundo subtipo mais comum, perfazendo 15-20 % de todos os melanomas. No entanto é responsável por mais de 40% de mortes por melanoma. (7) Localiza-se em áreas fotoexpostas como cabeça e pescoço, sendo mais frequente em indivíduos com fototipo baixo, com uma incidência maior no sexo masculino. (7,10)

Progride rapidamente em semanas a meses, habitualmente como uma lesão *de novo*, como um tumor infiltrante vertical (9,10) Habitualmente, associa-se a Breslow superior e podem já ser ulcerados ou hemorrágicos quando do seu diagnóstico. (10) São, portanto diagnosticados num estadio mais avançado, o que lhes confere um pior prognóstico (6,8)

Clinicamente, o MN apresenta-se como uma lesão elevada (pápula ou nódulo), de bordos regulares. (9,10) A sua pigmentação varia de azul a preto, apesar de poder ser amelanótico (em 2-8% dos casos) que se traduz numa coloração rósea (9,10)

No que diz respeito às mutações mais frequentes, observou-se que o melanoma nodular partilha as mesmas alterações genéticas de outros melanomas que surgem em condições semelhantes ou no mesmo local anatómico. (9)



**Figura 2:** Melanoma nodular de 4 cm com material purulento. (Adaptado de (10))

### 6.3.3 Lentigo maligno-melanoma

O **Lentigo-maligno melanoma (LMM)** representa 9% de todos os Mc e ocorre principalmente em pessoas idosas como uma lesão *de novo* em áreas fotoexpostas. (10) No homem, geralmente surge no pescoço, couro cabeludo e pavilhão auricular, na mulher no nariz e regiões malaras. (10) Associa-se a fotótipos baixos e, ao contrário do MES, não se relaciona com o número de nevi pré-existentes (10)

Tem habitualmente um crescimento lento, em áreas com exposição solar crónica (ESC) com crescimento progressivo e surge como uma mácula assimétrica, que pode evoluir para uma placa, de cor heterógena (castanho a preto) e com uma forma irregular (10). Os limites podem ser mal definidos, tanto clínica como histologicamente, podendo apresentar níveis subclínicos de crescimento radial, que podem culminar numa excisão incompleta e a uma maior taxa de recorrência. (9,10)).

Este subtipo associa-se a mutações NF1, BRAF V600E ou outras mutações-não-V600E, NRAS e menos frequentemente KIT. (10)



**Figura 3.** Lentigo maligno-melanoma (in situ), presente na face de uma doente idosa caucasiana. (Adaptado de (10))

#### **6.3.4 Melanoma Acral lentiginoso**

O melanoma Acral lentiginoso (MAL) ocorre nas zonas plantar, palmar ou subungueal, sendo mais frequente na zona plantar (10) É o subtipo menos frequente, perfazendo < 5 % de todos os Mc. É o subtipo mais frequente na raça negra porque os outros subtipos (MES, MN, LMM) são raros em fotótipos elevados (10). Representa 60-70% dos melanomas em indivíduos de raça negra, e 50% em asiáticos. (10) Por serem diagnosticados mais tardiamente, associam-se a um pior prognóstico. (9)

A sua etiologia pode eventualmente estar relacionada com traumatismos repetidos, já que é mais frequente em áreas de stress mecânico crónico como na zona plantar.

O MAL manifesta-se inicialmente como uma mácula assimétrica que cresce radialmente podendo formar uma placa à medida que envolve a derme. (10) No entanto, devido ao estrato córneo espesso, normalmente esta lesão permanece plana. (10) Apresenta uma cor heterogénea (várias tonalidades de castanho a preto) e bordos irregulares. (10). Quando se



inicia o crescimento vertical, a lesão pode ulcerar e surgir uma pápula ou nódulo sobrejacente (9).

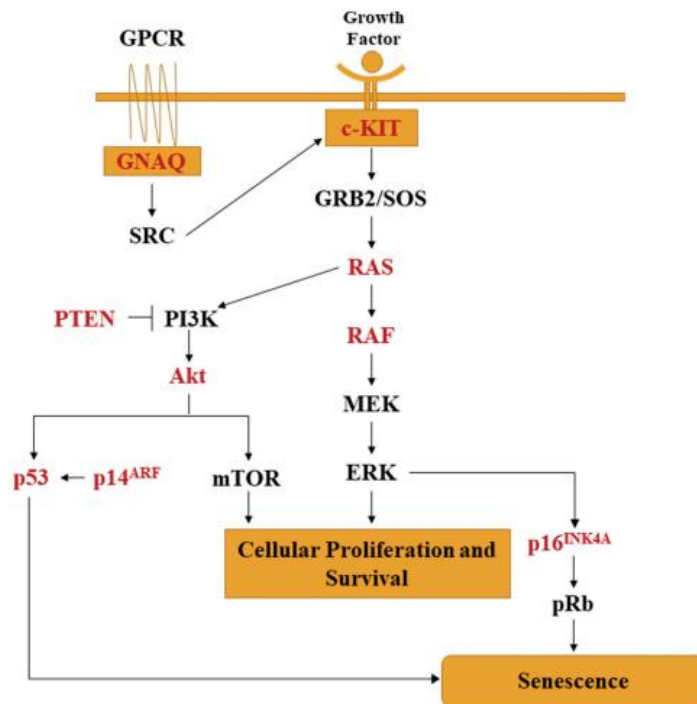
Quando há atingimento do leito ungueal pode observar-se o sinal de Hutchinson, que corresponde a uma melanoníquia longitudinal que se estende até ao hiponíquio ou além da prega ungueal lateral ou proximal. (10)

As mutações mais frequentes são as que ativam o gene KIT nos exões 11, 13 e 17 e o gene CCND1, tornando este tumor suscetível aos inibidores KIT, como o imatinib. (9) Foram observadas mutações TERT em 41% dos doentes e menos frequentemente mutações mutuamente exclusivas de BRAF, NRAS e KIT (9)

#### **6.4 Biologia do Melanoma**

O melanoma é um tumor que se associa a uma alta carga mutacional tumoral. (2) A grande maioria dos melanomas forma-se a partir de mutações somáticas adquiridas e tendem a ter padrões mutacionais diferentes dos melanomas hereditários. (4)

As mutações somáticas mais frequentes, tanto na exposição crónica como na intermitente, afetam genes que controlam o processo celular, como: BRAF, NRAS e NF1 (proliferação), PTEN e KIT (crescimento e metabolismo), TP53 (resistência à apoptose), CDKN2A (controlo do ciclo celular) e TERT (tempo de vida útil). (2) No melanoma hereditário, 5-12% dos casos, a mutação mais frequente ocorre no gene CDKN2A e associa-se a numerosos nevi atípicos e a história familiar de melanoma. (4) **(Figura 4)**



**Figura 4.** Vias oncogénicas ativadas no melanoma. Mutações BRAF, NRAS, c-KIT e GNAQ levam à ativação da via MAPK e consequente proliferação celular descontrolada. Mutações NRAS, PTEN, P53 levam à ativação da via PI3K. Mutações CDKN2A comuns em melanomas hereditários levam à perda de P16INK4A e/ou P14A, com consequente ativação da via respetiva. (Adaptado de (4))

A classificação genómica do melanoma divide-se em 4 subtipos: BRAF (50% dos melanomas), RAS (25% dos melanomas, sendo a NRAS o mais frequentemente mutado), NF1 (10-15% dos melanomas) e *wild type* (WT) (10% dos melanomas, que não apresentam mutação BRAF, NRAS ou NF1) (11,12)

Estas alterações genómicas geralmente levam à ativação aberrante de duas vias de sinalização principais: via MAPK e via P13K/AKT que têm mostrado um papel importante no desenvolvimento do melanoma. (2)

#### 6.4.1 Via MAPK (proteína-quinase ativada por mitogéneo) que envolve a via Ras/Raf/MEK/ERK

A via MAPK é a via mais frequentemente ativada, em mais de 70% dos melanomas (2,4) É responsável pela proliferação celular normal, diferenciação e sobrevivência. No melanoma, ocorre uma ativação aberrante, com desregulação do ciclo celular e inibição da apoptose, com consequente proliferação celular descontrolada (2,4)

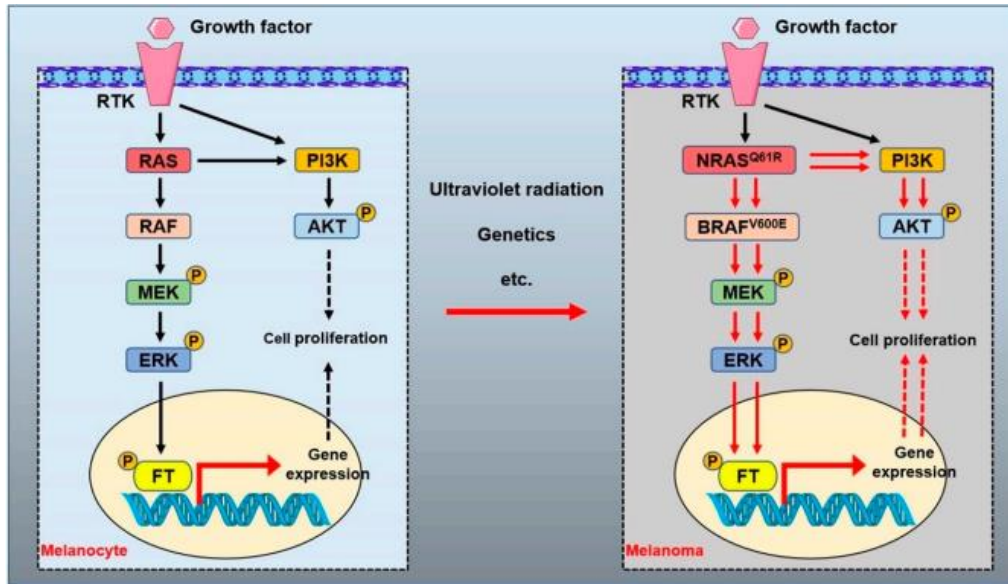
A ativação desta via ocorre quando os recetores de tirosina cinase são estimulados, pela ligação a fatores de crescimento que, por sua vez, ativam a família de proteínas RAS - NRAS. (13) Há ativação da cascata de serina/treonina cinase (BRAF), que subsequentemente ativa MEK1 e MEK2, que por sua vez ativa a via a jusante da cinase ERK (também conhecida como MAPK) com estimulação da transcrição de genes envolvidos no crescimento celular, proliferação e migração. (13)

A ativação aberrante desta via deve-se principalmente a mutações BRAF, mais comumente a BRAF V600E, e em segundo lugar a mutações NRAS. (2) Assim, a mutação BRAF tornou-se um alvo importante para a inativação desta via MAPK. (4) Além disso, na abordagem terapêutica, é um alvo fácil e que não está ativo em indivíduos saudáveis. (4) **(Figura 5 e 6)**

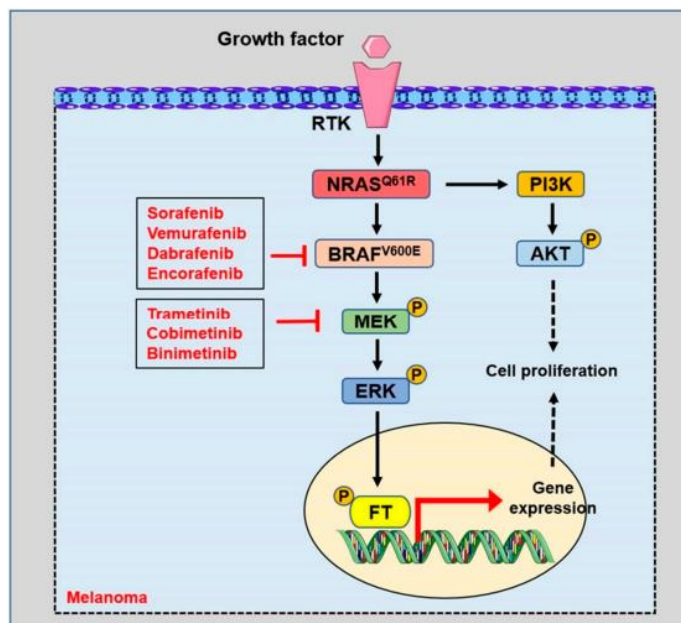
#### **6.4.2 Via PI3K/AKT (via fosfatidilinositol-3-cinase) que envolve a via PI3K/PTEN/Akt/mTOR**

A via PI3K é a segunda via mais frequentemente ativada no melanoma. Está envolvida na homeostase celular, pelo que a sua ativação aberrante resulta numa diminuição da apoptose e proliferação celular descontrolada. (2) A ativação desta via depende também da ligação de fatores de crescimento aos recetores de tirosina cinase, que por sua vez, estimulam a família RAS. (14) Estes sinais ativam a atividade catalítica de PI3K, que fosforila o PIP2 em PIP3, um segundo mensageiro secundário que leva à ativação da via a jusante de AKT. (14) Alguns substratos de AKT são importantes reguladores da proliferação celular e sobrevivência e angiogénese (14) AKT regula a sinalização de mTOR (que se divide em dois complexos mTORC1 e mTORC2): a ativação de mTORC1 leva à promoção da proliferação e sobrevivência celulares e tem sido identificado como um agente responsável pela resistência à terapia-alvo.

Mutações NRAS, NF1 e a perda de função do supressor tumoral PTEN ativam esta via. (7) A atividade desta via é regulada negativamente pela PTEN, uma vez que desfosforila PIP3 em PIP2. A perda de função de PTEN ocorre em 30% dos melanomas e associa-se normalmente a melanomas BRAF V600E (7,14) **Figura 5 e 6**



**Figura 5.** Vias MAPK e PI3K/AKT reguladas pela sinalização de Ras. Mutações BRAF ativam a via MAPK, mutações NRAS ativam as vias MAPK e PI3K, que levam à proliferação celular descontrolada de melanócitos. RTK: recetor de tirosina cinase. ERK: cinase regulada por sinal extracelular. MEK: cinase ativada por mitogénio. AKT: proteína cinase B. PI3K: fosfatidilinositol-3-cinase. FT: fator de



**Figura 6.** Via MAPK e via P13K e respetivos alvos terapêuticos. A abordagem terapêutica do melanoma baseia-se no uso de inibidores BRAF e MEK que inibem as vias MAPK e PI3K. MEK: cinase ativada por mitogénio. AKT: proteína cinase B. PI3K: fosfatidilinositol-3-cinase. FT: fator de transcrição. P: fosforilado. (Adaptado de (12))

## **BRAF**

A mutação BRAF está presente em aproximadamente 50% dos Mc, sendo que aproximadamente 80-90% das mutações no gene BRAF são V600E (substituição do aminoácido valina por ácido glutâmico), 5-12% são V600K (substituição de valina por lisina) e < 5% são V600D (valina por ácido aspártico) ou V600R (valina por arginina). A mutação V600E associa-se mais frequentemente a uma ESI, ocorre em doentes mais jovens, no tronco, e está presente no MES. (6,7) A mutação V600K associa-se a uma ESC e ocorre está presente em melanomas de zonas expostas cronicamente como cabeça e pescoço (7)

Estas mutações aumentam a atividade da cinase BRAF e, assim, levam à ativação aberrante da via MAPK. (6) Assim, a terapia-alvo (TA) com inibidores BRAF e MEK são dois agentes terapêuticos promissores.

## **NRAS**

A mutação ativadora de NRAS ocorre em 20% dos melanomas e é a segunda mutação mais frequente (2,11). A maioria das mutações ocorre no codão 61, com uma representação de 90% e uma minoria ocorre no codão 12 (7,12).

A ativação da transdução de sinais da família Ras é efetuada através da via MAPK e da via PI3K. (11) NRAS é um membro da família de oncogenes RAS, pelo que mutações no gene NRAS levam à ativação das vias a jusante MAPK e PI3K (2) Efetivamente, a mutação BRAF apenas ativa a via MAPK, enquanto a mutação NRAS ativa simultaneamente as vias MAPK e PI3K. (13) fig.1

Apesar de o melanoma com mutação NRAS ser sensível aos inibidores MEK (iMEK), como binimetinib, estes em monoterapia têm eficácia limitada, pelo que há benefício em terapia combinada. (7) Os melanomas NRAS comparativamente aos melanoma BRAF, são mais agressivos e têm pior prognóstico, devido à agressividade de tumores RAS mutantes, à eficácia limitada da TA e ao desenvolvimento rápido de resistências. (7)

A coocorrência de mutações BRAF e NRAS é rara, já que, uma mutação num dos genes é suficiente para ativar a via MAPK (13)

## **NF1**

A mutação do supressor tumoral NF1 corresponde à 3ª mutação mais frequente no melanoma. (2,7) Ocorre mais frequentemente em idosos e associa-se a uma ESC (2)

A proteína NF1 regula negativamente a família RAS, convertendo RAS ativo em inativo. (2,7,11) A perda de função de NF1 ocorre em 10-15 % dos melanomas e determina a ativação aberrante da proteína RAS, com subsequente ativação das vias MAPK e P13K. (2,7) Estudos sugerem que tratamentos semelhantes aos do melanoma NRAS possam ser eficazes em melanomas com mutação NF1. (7) Mutações NF1 associam-se à coocorrência de mutações BRAF e NRAS. (2)

## **KIT**

O recetor tirosina cinase KIT está envolvido na proliferação e sobrevivência celular (2).

Mutações neste gene ocorrem em 2-8 % dos melanomas, com ativação das vias PI3K e MAPK. (2) Estão associados a melanoma acral e melanoma mucoso e associam-se a uma ESI (2,4) A maioria das mutações KIT ocorrem nos exões 11 e 13 e normalmente são mutuamente exclusivas.-(11)

## **CDKN2A**

CDKN2A bloqueia a estimulação de progressão do ciclo celular e previne a degradação de p53 (7)

A perda de função de CDKN2A ocorre nos estadios iniciais da progressão de Mis para melanoma invasivo.(7) A associação da mutação TERT a mutações heterozigotas CDKN2A têm sido detetados no Mis. (2) Para o desenvolvimento de melanoma invasivo é necessária a inativação bialélica de CDKN2A. (2)

## **PTEN**

O gene PTEN está envolvido no controlo da progressão do ciclo celular. A sua desregulação associa-se ao desenvolvimento de metástases e ao crescimento vertical do melanoma. (2)

A perda de função do supressor tumoral PTEN ocorre em 30% dos melanomas.e ativa a via PI3K. (7) Assim, a mutação BRAF associada à perda de função de PTEN, ativa em conjunto as duas vias MAPK e PI3K, equivalente à ativação de NRAS. (2)

## 6.5 Diagnóstico

Para a confirmação diagnóstica, além da clínica, é fundamental a biópsia para a sua caracterização histológica. (6) A biópsia excisional deve ter uma margem de 1-3 mm e é sempre preferível, e sempre que seja possível, realizar uma biópsia excisional. (15) No caso de lesões de grandes dimensões, ou lesões da face ou pescoço, genitais, ou lesões acrais, a biópsia incisional pode ser realizada. (15)

## 6.6 Estadiamento

Para o estadiamento é usado o sistema TNM do American Joint Committee on Cancer (AJCC) (6) O estadiamento AJCC 8ª edição baseia-se nos subtipos de melanoma de extensão superficial e nodular, pelo que há que ter em conta que para os outros subtipo menos comum pode ser necessário uma abordagem inicial diferente (8)

**Tabela 1.** Estadiamento TNM AJCC 8ª edição do melanoma

<b>Estadio 0</b>		<b>Tis</b> (Melanoma in situ, confinado à epiderme sem invasão da derme)  Sem disseminação para gânglios ( <b>N0</b> ) ou órgãos à distância ( <b>M0</b> )
<b>Estadio I</b>	IA	<b>T1a</b> (Melanoma $\leq 0.8$ mm de espessura, sem ulceração)  <b>N0 e M0</b>
	IB	<b>T1b</b> (Melanoma $\leq 0.8$ mm de espessura, com ulceração ou melanoma de 0.8-1.0 mm sem ulceração) ou <b>T2a</b> (Melanoma 1.01-2.0 mm de espessura, sem ulceração)  <b>N0 e M0</b>
<b>Estadio II</b>	IIA	<b>T2b</b> (Melanoma 1.01-2.0 mm de espessura, com ulceração) ou <b>T3a</b> (Melanoma 2.01 – 4.0 mm de espessura, sem ulceração)  <b>N0 e M0</b>

	IIB	<p><b>T3b</b> (Melanoma 2.01 – 4.0 mm de espessura, com ulceração) ou <b>T4a</b> (Melanoma com &gt; 4.0 mm de espessura, sem ulceração)</p> <p><b>N0 e M0</b></p>
	IIC	<p><b>T4b</b> (Melanoma com &gt; 4.0 mm de espessura, com ulceração)</p> <p><b>N0 e M0</b></p>
<b>Estadio III</b>	IIIA	<p><b>T1a, T1b</b> ou <b>T2a</b></p> <p><b>N1a</b> (Disseminação para 1 gânglio linfático clinicamente oculto) ou <b>N2a</b> (Disseminação para 2-3 gânglios linfáticos clinicamente ocultos)</p> <p><b>M0</b></p>
	IIIB	<p><b>T0</b> – Disseminação para 1 gânglio linfático clinicamente detetado (<b>N1b</b>) ou sem disseminação para gânglios e presença de metástases em trânsito, satélites ou microssatélites (<b>N1c</b>)</p> <p><b>T1a, T1b</b> ou <b>T2a</b> – <b>N1b, N1c</b> ou <b>N2b</b> (Disseminação para 2-3 gânglios linfáticos e pelo menos um clinicamente detetado)</p> <p><b>T2b</b> ou <b>T3a</b> – <b>N1a/b/c</b> ou <b>N2a/b</b></p> <p><b>M0</b></p>
	IIIC	<p><b>T0</b> – <b>N2b, N2c</b> (Disseminação para um gânglio linfático clinicamente detetado ou não e presença de metástases em trânsito, satélites ou microssatélites), <b>N3b</b> (Disseminação para <math>\geq 4</math> gânglios linfáticos um dos quais é clinicamente detetado) ou <b>N3c</b> (Disseminação para <math>\geq 2</math> gânglios linfáticos clinicamente detetados e presença de metástases em trânsito, satélites ou microssatélites)</p> <p><b>T1a/b, T2a/b</b> ou <b>T3a</b> – <b>N2c, N3a</b> (Disseminação para <math>\geq 4</math> gânglios linfáticos clinicamente ocultos) ou <b>Nb/c</b></p> <p><b>T3b</b> ou <b>T4a</b> – <b>N <math>\geq 1</math></b></p> <p><b>T4b</b> – <b>N1a/b/c</b> ou <b>N2a/b/c</b></p>



		<b>M0</b>
	IIID	<b>T4b</b> <b>N3a/b/c</b> <b>M0</b>
<b>Estadio IV</b>		Qualquer T Qualquer N <b>M1</b> (evidência de metástase à distância)

## 6.7 Terapêutica

### Abordagem melanoma primário

A maioria dos casos de melanoma diagnosticados encontram-se em estadios iniciais. (6) Tanto para estadios iniciais de melanoma, como para melanoma avançado, a resseção cirúrgica é o tratamento primário. (6,16) Em estadios I-II, a resseção cirúrgica tem uma taxa de sobrevivência ao fim de 5 anos de 99.4%. (6,16) Nos estadios III e IV a taxa de sobrevivência ao fim de 5 anos é de 68% e de 29.8% respectivamente. (16)

A resseção cirúrgica com margem de segurança nos tumores localizados pode ser curativa. (4) No entanto, em casos de disseminação após excisão cirúrgica, e em 10% dos casos em que o melanoma é diagnosticado num estadio avançado (irressecável ou metastizado), esta não é curativa, pelo que é necessário combiná-la com outras terapias sistêmicas adjuvantes (4).

### Resseção cirúrgica

A excisão cirúrgica deve ser realizada entre as 4 e 6 semanas após o diagnóstico inicial. (15) Relativamente à margem cirúrgica, é proposto que, para reduzir o risco de recorrência local, para Mis a margem seja de 5 mm, para melanomas com  $\leq 2$ mm de Breslow: 1 cm, para melanomas  $> 2$ mm de Breslow: 2cm. (15) Para melanomas de estadio II ainda há dúvidas se margens superiores a 1cm trazem benefícios significativos.(15)

Um estudo em 4579 pacientes mostrou que margens estreitas (1-2 cm) ou margens mais amplas (3-5 cm) não tiveram diferenças significativas no risco de recorrência, de metástases ou morte. (15,17) As margens amplas mostraram um aumento da necessidade de cirurgias reconstrutivas. (15,17) Assim, margens superiores a 2cm, mesmo em melanomas com Breslow superior, não são recomendadas. (15,17) Em melanomas invasivos, a profundidade de excisão deve incluir o tecido celular subcutâneo. (15) **Figura 7**

No caso do LMM, pobremente circunscritos, é recomendada uma margem ampla entre 5 e 10 mm e para o melanoma acral as margens devem ser superiores a 1 cm. A margem estreita é considerada em ambos os subtipos de Mc quando são de maiores dimensões e ocorrem em localizações anatómicas especiais como face ou pescoço, e deve ser realizada por cirurgia controlada por microscopia (Técnica de Mohs), para poupar tecido e assegurar resseção completa. (15)

**PRINCIPLES OF SURGICAL MARGINS FOR WIDE EXCISION OF PRIMARY MELANOMA**

<u>Tumor Thickness</u>	<u>Recommended Clinical Margins<sup>b,1-10</sup></u>
In situ <sup>a</sup>	0.5–1.0 cm
≤1.0 mm	1.0 cm (category 1)
>1.0–2 mm	1–2 cm (category 1)
>2.0–4 mm	2.0 cm (category 1)
>4 mm	2.0 cm (category 1)

**Figura 7.** Margem cirúrgica recomendada consoante Breslow. (Adaptado de (8))

A biópsia ao gânglio sentinela (BGS) permite avaliar o primeiro gânglio de drenagem linfática. É um procedimento de estadiamento indicado em doentes que não apresentam adenopatias palpáveis ou visíveis em exames de imagem, e evita a morbilidade cirúrgica da disseção linfática desnecessária. (15) Quando é positiva atribui um estadio superior a estes doentes e torna-os elegíveis para terapia sistémica adjuvante. (15) A BGS deve ser realizada nos casos em que o tumor apresenta Breslow  $\geq 1.0$  mm ou  $\geq 0.8$  mm com fatores de risco histológicos adicionais (ulceração,  $\geq 1$  mitose/mm<sup>2</sup>, microssatélites).(15)

No caso de a BGS apresentar micrometástases há indicação para terapia sistémica adjuvante e a linfadenectomia total não deve ser realizada. (15) Se houver macrometástases detetadas clinicamente ou por imagem, deve ser realizada linfadenectomia total, se não

houver metástases em trânsito ou à distância. (15) Caso a BGS seja negativa não está indicada linfadenectomia. (15)

### **Abordagem do melanoma avançado**

Até a terapia-alvo.(TA) e a imunoterapia (IT) estarem disponíveis, a quimioterapia com dacarbazina (DTIC), a IL-2 em alta dose e os interferões eram os únicos agentes aprovados pela FDA no tratamento adjuvante do melanoma avançado. (18,19) Associavam-se a uma alta toxicidade e não apresentavam grandes vantagens no que diz respeito à sobrevivência.(18,19) Atualmente, a primeira linha de terapêutica sistêmica para o tratamento de melanoma em estadio III-IV é a IT e a TA. (15)

Atualmente, a DTIC deve ser considerada uma estratégia de 3ª ou última linha em doentes em estadio IV com um bom performance status, e que desenvolveram resistência a inibidores de checkpoints ou a TA, em melanomas WT BRAF que desenvolveram toxicidade à IT ou em casos em que a participação em ensaios clínicos não é possível. (15)

A DTIC tem uma taxa de resposta (TR) de 5 a 12%, podendo levar à regressão tumoral e a uma diminuição de sintomas relacionados com o tumor. (15) No entanto, nenhum regime em monoterapia ou em combinação mostrou um aumento da sobrevivência. (15)

A radioterapia (RT) do tumor primário raramente está indicada, uma vez que o melanoma é um tumor radiorresistente. (9) Contudo, o seu uso pode estar indicado em algumas situações: não elegibilidade para cirurgia, cirurgia excessivamente mutiladora, tratamento paliativo ou RT no local de linfadenectomia. (18) A RT não apresenta impacto na sobrevivência média (SM), prevenindo apenas a recorrência. (18) Acompanha-se de um aumento significativo de toxicidade (22%). (15,18)

O tratamento para melanoma metastizado tem vindo a revolucionar-se desde 2011, com a aprovação de agentes terapêuticos, nomeadamente TA com inibição da via MAPK (inibidores BRAF e MEK), inibidores de checkpoints imunes com alvo nos recetores PD-1 e CTLA4 (anticorpos anti-PD-1 e anti-CTLA4). (19)

Desde 2011, foram aprovados 4 tratamentos de IT sistêmica para o tratamento do melanoma metastizado/irresecável: ipilimumab, nivolumab, pembrolizumab, e a combinação ipilimumab-nivolumab; inibidores BRAF em monoterapia (vemurafenib, dabrafenib), combinação de inibidores BRAF-MEK (dabrafenib-trametinib, vemurafenib-cobimetinib,

encorafenib-binimetinib), sendo que alguns destes foram aprovados como terapêuticas adjuvantes. (19)

No que diz respeito à estratégia terapêutica, existem elementos importantes que devem ser tidos em consideração: as características do doente (comorbilidades, preferências pessoais do doente) e biomarcadores (LDH e S100B), dado que a sua elevação se associa a um mau prognóstico e a risco de recorrência.(20)

Atualmente, a pesquisa da mutação BRAF V600E é avaliada rotineiramente, preferencialmente em doentes em estadio superior a IIIB, uma vez que a presença de mutações BRAF prevê possível resposta a inibidores BRAF, o que se torna essencial para orientar a estratégia terapêutica. (13) No entanto, a identificação de outras mutações, como NRAS, NF1, CKIT, CDKN2A e PTEN, pode identificar doentes que possam beneficiar de tratamentos off-label. (6)

### **Tratamento para tumor irresecável (Estadio III) ou metastático (Estadio IV)**

#### **6.7.1 Imunoterapia**

O melanoma é um tumor altamente imunogénico, isto é, rapidamente desenvolve mecanismos que escapam à resposta imunitária.(4) Alguns desses mecanismos incluem a produção de inibidores de moléculas imunes como TFG-B, PGE2 e citocinas imunossupressoras. (4) Outro mecanismo de fuga ao sistema imunitário é a manipulação de checkpoints imunes. (4)–O mecanismo de ação da IT baseia-se na ativação de linfócitos infiltrativos do tumor (LIT) e consequentemente ativação da resposta imune, impedindo a progressão do melanoma. (12,21)

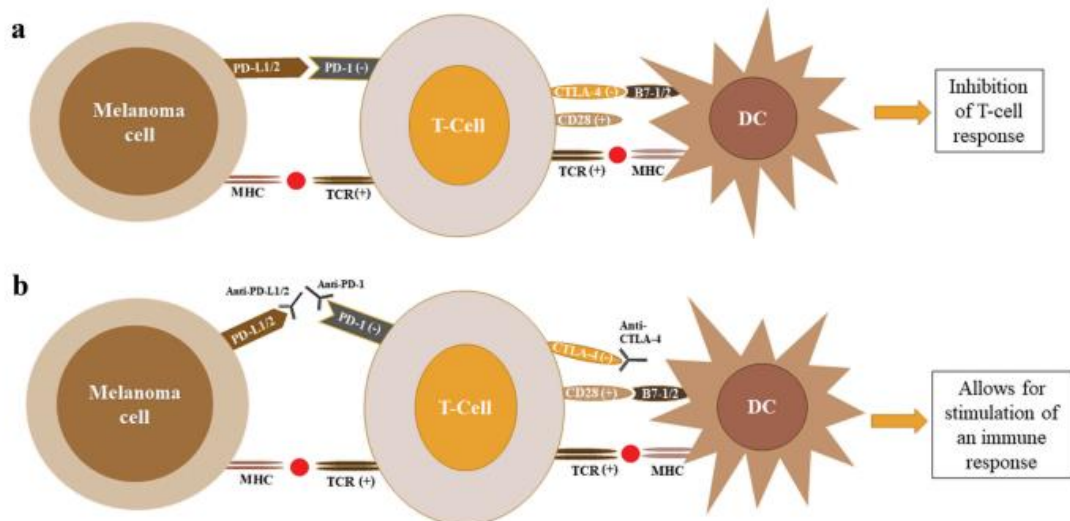
Os recetores PD-1 e CTLA-4 expressos à superfície de linfócitos são inibidores de checkpoints imunes que promovem autotolerância e limitam a resposta inflamatória tecidual. (19) Nas células tumorais do melanoma, os ligandos de PD-1 e CTLA-4, PD-L1/2 e B7 respetivamente, estão sobreexpressos e limitam a função dos linfócitos permitindo a manutenção das células tumorais.(19) Bloqueando os respetivos ligandos, através de anticorpos anti-PD1, anti-PD-L1/2 e anti-CTLA-4 manipulam-se os checkpoints imunes e estimula-se a resposta imunológica. (4) **Figura 8(a)(b)**

O checkpoint PD-1 regula negativamente o sistema imune através de dois mecanismos: promove a apoptose de linfócitos T maduros que reconhecem autoantígenos nos gânglios linfáticos, e previne a apoptose de linfócitos T reguladores (células que reprimem a resposta imune a *self-cells*) regulando assim o sistema imune. (4) Este mecanismo protege os tecidos

do dano imunológico. (4) O ligando PD-L1/2 é sobreexpresso nas células malignas do melanoma, permitindo às células tumorais inibirem a resposta imune e evitar a sua destruição (4) **Figura 8 (a)(b)**

Outro checkpoint relevante é o CTLA-4, que atua de forma semelhante ao PD-1. (4) O CTLA-4 é expresso nos linfócitos T e reconhece o recetor B7 nas APCs. (4) O CTLA-4 compete com o CD28 dos linfócitos T para se ligar ao recetor B7, quando o CTLA-4 se liga ao recetor B7, há inibição da resposta imune (4,16) **Figura 8 (a)(b)**

Existem 4 inibidores de checkpoints aprovados para o tratamento de melanoma metastizado: um anticorpo anti-CTLA-4 (Ac anti-CTLA-4) - ipilimumab - dois anticorpos anti-PD-1 (Ac anti-PD-1) - nivolumab e pembrolizumab, e a combinação de anticorpos anti-CTLA-4-anti-PD-1: ipilimumab-nivolumab (I-N). (4). Os anticorpos anti-PD L1/2 ainda estão em estudo, mas não estão aprovados para o tratamento do melanoma (4).



**Figura 8. (a)** A ativação de células-T requer sinalização dos complexos CD28 e MHC. A ligação de CTLA-4 a B7-1/2 suprime a ativação de células-T e conseqüentemente inibe a resposta imune. A ligação do complexo MHC à célula tumoral leva à ativação de células-T. Depois de ativação persistente, há sobreexpressão de PD-1 pelas células T. PD-1 liga-se ao seu ligando PD-L1/2 nas células tumorais resultando na inibição da resposta imune. **(b)** Anticorpos anti-CTLA-4, PD1 e PD-L1/2 inibem a ligação aos respectivos ligandos, com conseqüente ativação de células-T e estimulação da resposta imune. Abreviaturas: DC: células dendríticas; TCR recetor células-T, MHC, complexo major de histocompatibilidade; PD-L1, ligando 1 de PD1 ; PD-L2, ligando 2 de PD1. (Adaptado de (4))

## Inibidores de checkpoints - Anticorpos monoclonais

### 6.7.1.1 Anticorpos anti-CTLA4

#### **Ipilimumab**

O ipilimumab é um anticorpo recombinante monoclonal humano que estimula a resposta imune bloqueando a interação CTLA-4 com B7, desencadeando ativação de linfócitos T, proliferação e infiltração de linfócitos tumorais e consequente morte de células tumorais.(4) Esta inibição é não específica e pode levar a toxicidade imunomediada. (15)

É administrado como 4 infusões endovenosas numa dose de 3mg/kg/infusão a cada 3 semanas.(15) Foi o primeiro Ac anti-CTLA-4 a ser aprovado pela FDA em 2011 e está indicado no tratamento de melanoma metastático/irresecável e como tratamento adjuvante em melanoma em estadio III. (19)

O **estudo MDX010** (NCT00324155) de fase III comparou a eficácia do uso de ipilimumab (10mg/kg) em combinação com DTIC (850 mg/m<sup>2</sup>) (ipi-DTIC) com DTIC-placebo, mostrando SM significativamente mais longa com ipi-DTIC (11.2 meses Vs. 9.1 meses) e aumento da SM ao fim de 1 ano com ipi-DTIC (47.3% Vs. 36.3%).(22) A duração média de resposta (DRm) foi significativamente maior no grupo ipi-DTIC (19.3 meses Vs. 8.1 meses). (16,22) Foi o primeiro estudo a mostrar aumento significativo na SM, apesar do impacto na SLPD não ser significativo. (22,23)

Ipi-DTIC associou-se a toxicidade elevada em comparação com DTIC, com uma incidência de efeitos adversos de grau 3-4 (EA) (56.3% Vs. 27.5%), sendo a maioria classificada como efeitos adversos imunomediados (EAI), observados em 77.7% dos doentes tratados com ipi-DTIC. (15,22) Os EAI mais frequentes foram: elevação das transaminases, hepatite (31.6% Vs. 2.4%) e enterocolite (4.9 Vs. 0).(15,22) A maioria dos EAI hepáticos foram reversíveis com a instituição de corticóides sistémicos. (15,22)

Mais recentemente, o **estudo EORTC 18071** (NCT00636168) de fase III, estudou a eficácia de ipilimumab como tratamento adjuvante durante 3 anos em melanoma de estadio IIIA (>1mm) /B/C. (24) Comparou-se o tratamento com ipilimumab (10mg/kg) ou placebo em 4 infusões a cada 3 semanas e posteriormente a cada 3 meses durante 3 anos. (24) O grupo ipilimumab mostrou impacto significativo na SLPD mesmo em tumores com elevada carga tumoral Vs. grupo placebo (26.1 meses Vs. 17.1 meses). (15,24)

Os EAI ocorreram em 94% dos doentes, dos quais 52% descontinuaram o tratamento, sendo 40% no final da fase inicial do tratamento, antes da fase de manutenção. (24) Os EAI mais frequentes foram gastrointestinais, hepáticos e endócrinos, sendo que a maioria resolveu em 4-6 semanas, exceto as endocrinopatias que resolveram ao fim de 31 semanas. (24)

No entanto, devido à elevada percentagem de doentes com EAI, o uso de ipilimumab em alta dose (10mg/kg) tem sido limitado. (24) É necessária uma estratégia interdisciplinar e monitorização contínua para intervenção precoce com esta terapêutica. (15,24)

O **estudo E1609** de fase III mostrou que a dose standard de ipilimumab (3mg/kg) apresentou benefícios na sobrevivência em relação à alta dose de ipilimumab (10mg/kg), com aumento na SM e na SLPD e menor incidência de EA (37% Vs. 58%). (25) No entanto a amostra deste estudo possui um menor risco de recorrência, já que excluiu doentes com melanoma em estadio IV. (25) O tratamento adjuvante com ipilimumab em alta dose apresentou maior toxicidade e não foi superior na eficácia (25)

#### **6.7.1.2 Anticorpos anti-PD-1**

Os anticorpos nivolumab e pembrolizumab foram aprovados pela FDA em 2014 e 2015 respetivamente, com base em estudos que mostraram uma TR maior, comparativamente a ipilimumab e DTIC. (26)

- **Nivolumab**

Está aprovado pela FDA no tratamento de melanoma metastático/irresecável WT BRAF e como tratamento adjuvante em melanoma de estadio III.(19)

O **estudo CheckMate 066** (NCT01721772) de fase III, avaliou o uso de nivolumab (3mg/kg) a cada 2 semanas em comparação com DTIC (1000mg/m<sup>2</sup>), em doentes com melanoma metastático WT BRAF. (27)

Nos resultados de CheckMate 066, a TR foi superior com nivolumab em comparação com DTIC (40% Vs. 13.9%). (27) Houve aumento significativo na SM (37.2 meses Vs. 11.2 meses) e na SLPD (5.1 meses Vs. 2.2 meses) e associou-se a menor incidência de EA de grau 3-4 (11.7% Vs. 17.6%) em comparação com DTIC. (16,27,28) Os EA mais comuns do nivolumab incluíram astenia, prurido e náuseas. (27) Os EAI foram infrequentes e incluíram diarreia e elevação de TGP, que resolveram rapidamente com o uso de corticóide. (27)

O **estudo CheckMate 238** (NCT02388906) de fase III, comparou nivolumab (3mg/kg) a cada 2 semanas durante um ano Vs. ipilimumab (10mg/kg) baseando-se nos resultados do estudo EORTC 18071, como tratamento adjuvante em doentes com melanoma em estadio IIIB/C-IV. (15,29)

Demonstrou-se maior eficácia do nivolumab em comparação ao ipilimumab, com aumento na SLPD, com uma taxa de SLPD ao fim de 1 ano de 70.5% Vs. 60.8% e uma melhoria significativa na toxicidade, com menor incidência de EA de grau 3-4 (14.4 Vs. 45.9%). (29) Apenas 9.7 % descontinuam o tratamento com nivolumab em comparação a 42.6% do ipilimumab. (29)

- **Pembrolizumab**

Aprovado pela FDA para o tratamento de melanoma metastático/irresecável independentemente do status BRAF, e como tratamento adjuvante em melanoma de estadio III.(19)

O **estudo KEYNOTE-006** de fase III, comparou a eficácia de dois grupos de doentes tratados com pembrolizumab (10mg/kg), com administração a cada 2 ou 3 semanas Vs. 4 doses de ipilimumab (3mg/kg) a cada 3 semanas, em doentes com melanoma avançado.(30) A taxa de SLPD aos 6 meses foi significativamente superior nos grupos pembrolizumab Vs. Ipilimumab (47.3%, 46.4% Vs. 26.5%). (30) A taxa de SM aos 2 anos foi superior nos 2 grupos de pembrolizumab (74.1%, 68.4% Vs. 58.2) e não houve diferença significativa na eficácia entre os dois grupos de pembrolizumab. (30)

Os EA de grau 3-5 foram inferiores nos 2 grupos de pembrolizumab (2 e 3 semanas) (13.3% e 10.1%) comparativamente ao ipilimumab (19.9%).(28,30) Nos doentes tratados com pembrolizumab, os EA mais frequentes foram astenia, diarreia, rash e prurido. (30) Os EAI foram hipotireoidismo e hipertireoidismo, sendo que nos doentes tratados com ipilimumab o EAI mais frequente foi a colite. (30)

### **6.7.1.3 Combinação ipilimumab–nivolumab**

O uso de inibidores de checkpoint em monoterapia mostra benefícios significativos, apesar de apenas alguns pacientes atingirem respostas terapêuticas duradouras.(23) Os recetores CTLA-4 e PD-1 regulam negativamente diferentes pontos da ativação dos linfócitos T, pelo que foi estudada a combinação dupla de inibidores de checkpoints com o objetivo de aumentar a TR. (26) A combinação associa-se a uma maior incidência de EAI secundários à disrupção da autotolerância. (19)



A combinação ipilimumab-nivolumab (I-N) foi aprovada pela FDA para o tratamento de melanoma metastático/irresecável independentemente do status BRAF. (15)

O **estudo CheckMate 067** (NCT01844505) estudou a eficácia da combinação de nivolumab (1mg/kg) e ipilimumab (3mg/kg) (NIVO1-IPI3), em comparação com nivolumab (NIVO) ou ipilimumab (IPI) em monoterapia, em melanoma de estadios III-IV com mutação BRAF e WT.(31)

Demonstrou-se SLPD significativamente maior com a combinação NIVO1+IPI3 comparativamente a NIVO e IPI respectivamente (11.5 meses Vs. 6.9 meses Vs. 2.9 meses).(16,31) A TR também foi significativamente maior, na combinação e na monoterapia NIVO Vs. IPI respectivamente (57.6% Vs 43.7% Vs. 19%).(26,31) No subgrupo com positividade para o marcador PD-L1, houve uma TR superior e um aumento na SLPD com NIVO1+IPI3 e NIVO, relativamente a IPI.(31) Em tumores PD-L1 negativos a combinação foi superior a qualquer uma das monoterapias. (31)

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nos doentes com mutação BRAF ou WT BRAF, o que sugere que a combinação é eficaz em ambos os subtipos. (31)

A combinação associou-se a maior incidência de EA quando comparado com terapêuticas em monoterapia. (31) Mais de 50% dos doentes tiveram toxicidade significativa (grau 3-4) com interrupção do tratamento em 36.4% (15,19,31). Os EAI de grau 3-4 mais frequentes foram diarreia (9.3% com NIVO1+IPI3, 2.2% com NIVO e 6.1% com IPI), colite (7.7%, 0.6% e 8.7% respectivamente) e aumento das transaminases (8.3%, 1.3% e 1.6 % respectivamente). Em 85% houve resolução com o uso de agentes imunomoduladores; já para os eventos endócrinos o tratamento instituído não foi eficaz. (31)

O **follow-up após 6.5 anos do estudo CheckMate 067** mostrou uma resposta duradoura e obteve a maior taxa SM reportada até ao momento em mais de metade dos doentes (57%) com uma SM de 72.1 meses com a combinação, o que pode ser um potencial benefício para a cura. (15,32)

Com o objetivo de diminuir a toxicidade associada à combinação I-N, o **estudo CheckMate 511** comparou dois regimes diferentes: o regime standard NIVO1+IPI3 (**CheckMate 067**) e Nivolumab 3mg/kg e ipilimumab 1mg/kg (NIVO3+IPI1). (28,33) Não houve diferenças significativas na eficácia e mostrou-se uma incidência de EA de grau 3-4 significativamente inferior no regime NIVO3+IPI1, comparativamente a NIVO1+IPI3 (33.9% Vs.47.8%), sendo que 16.7% e 27.5% respectivamente, descontinuaram o tratamento. (28,33)

A menor toxicidade de NIVO3+IPI1 em relação ao regime NIVO1+IPI3, relaciona-se com incidências menores de eventos hepáticos (7.2% Vs. 16.3%), gastrointestinais (6.1% Vs. 10.7%) e endócrinos (2.8% Vs. 7.3%), respetivamente. (28,33) A maioria dos EAI resolveu com agentes imunomoduladores. (28,33) Já para os eventos endócrinos, apenas 30% e 40% resolveram no regime NIVO3+IPI1 e NIVO1+IPI3 respetivamente, apesar de ser possível controlá-los com terapia de substituição hormonal. (28,33)

Pensa-se que a alta toxicidade associada à combinação I-N se poderá minimizar com a redução da dose de ipilimumab (1mg/kg). (8,28) No entanto, é necessário um follow-up mais longo para determinar a equivalência na eficácia de ambos as doses. (8,28)

Com base nestes resultados, o regime NIVO1/IPI3 foi aprovado pela FDA, já o regime NIVO3/IPI1 (segundo as guidelines NCCN), poderá estar indicado no melanoma de estadio III-IV. (8)

### **Conclusões sobre a imunoterapia**

Com o aumento da eficácia e tolerância com os ac anti-PD-1 (nivolumab e o pembrolizumab), relativamente ao ipilimumab e DTIC, estes tornaram-se a primeira linha no tratamento de melanoma metastático WT BRAF. (34)

No entanto, existem doentes que não respondem a esta modalidade de tratamento, e os respondedores podem desenvolver resistência. (19) O motivo pelo qual apenas alguns doentes respondem ainda está em estudo, com ênfase em biomarcadores que possam prever a resposta à IT. (4) Alguns marcadores incluem a presença de LITs pré-existentes, expressão de PD-L1 e a carga mutacional do tumor. (4) No entanto, nenhum destes marcadores mostrou ser robusto o suficiente para poder orientar a terapêutica.(19)

Dado a falta de robustez de biomarcadores preditores de resposta, a administração de IT é apoiada pelas características do doente (idade, comorbilidades) e estadio do melanoma. (19)

### **6.7.2 Terapia- alvo**

O desenvolvimento de agentes que têm como alvo componentes da via MAPK, nomeadamente RAF e MEK, mostrou oferecer benefícios aos doentes com melanoma avançado ou metastizado com mutação BRAF e reduzir a toxicidade comparativamente a

outros tratamentos.(16,18) A mutação BRAF V600 está presente em cerca de 45% dos Mc, sendo a mais frequente a mutação BRAF V600E. (15)

Em melanomas com mutação BRAF V600E, os agentes vemurafenib e dabrafenib (inibidores BRAF) mostraram uma TR rápida em 50% dos doentes e um aumento na SLPD e SM em comparação com a DTIC (15,35). Em 2011 foi aprovado pela FDA o uso de vemurafenib e em 2013 o uso de dabrafenib, para o tratamento de melanoma avançado com mutação BRAF. (26)

Atualmente existem 3 combinações de inibidores BRAF/MEK aprovadas pela FDA, para o tratamento de melanoma com mutação BRAF: dabrafenib-trametinib, vemurafenib-cobimetinib e encorafenib-binimetinib.(26)

### **6.7.2.1 Inibidores BRAF**

- **Vemurafenib**

Vemurafenib foi o primeiro iBRAF aprovado pela FDA em 2011 ( 960 mg, 2id, po) para o tratamento do melanoma metastático com mutação BRAF. (16)

O **estudo BRIM-3** (NCT01006980) de fase III comparou o uso de vemurafenib (960mg, 2id, po) com DTIC (1000mg/m<sup>2</sup> a cada 3 semanas), em doentes com melanoma BRAF em estadio IIIC-IV não tratados. (35) Mostrou benefícios na sobrevivência e eficácia com vemurafenib relativamente à DTIC, com um aumento na SM (13.6 meses Vs.9.7 meses), e na SLPD (5.3 meses Vs. 1.6 meses). (16,35) O vemurafenib mostrou uma TR significativamente superior (48% Vs. 5%) com toxicidade tolerável, quando comparado com DTIC. (18,35)

Os EA de grau 2-3 mais comuns com o uso de vemurafenib incluíram artralguas (21%), rash (18%), astenia (13%) e alopecia (8%), já os EA de grau 3-4 foram pouco frequentes. (35) Em 38% dos doentes foi necessária modificação da dose ou interrupção do tratamento.(35) O uso de vemurafenib levou ao desenvolvimento de carcinoma espinho-celular (CEC) e queratoacantomas em 18% dos doentes, apesar de todas as lesões terem sido submetidas a excisão cirúrgica. (35) Pensa-se que o desenvolvimento de CEC possa estar associado à ativação paradoxal da via MAPK. (35)

- **Dabrafenib**

Foi o segundo iBRAF aprovado pela FDA em 2013 para o tratamento de melanoma irresecável/metastático com mutação BRAF.(16)

O **estudo BREAK-3** (NCT01227889) de fase III, comparou o uso de dabrafenib (150mg, 2 id, po) com DTIC (1000mg/m<sup>2</sup> a cada 3 semanas) em doentes com melanoma irresecável/metastático BRAF V600E não tratados. (36) Houve uma TR de 59% com dabrafenib, com uma SM e SLPD de 5.1 meses Vs. 2.7 meses (16,36). A DRm foi de 5.5 meses, o que sugere o desenvolvimento de resistência secundária.(36)

Os EA de grau 3-4 foram incomuns em ambos os grupos, sendo os EA de grau 2-3 os mais frequentes com eventos cutâneos [(hiperqueratose (13%) e papiloma (8%)] , febre (11%), astenia (6%), artralguas (6%) e cefaleias (5%). (36) Foi necessária modificação da dose ou interrupção do tratamento em 31% dos doentes.(36) O CEC e queratoacantomas ocorreram em menos de 6%, comparativamente a 18% com vemurafenib, e não foi necessária a modificação da dose ou interrupção do tratamento.(36)

- **Encorafenib**

Aprovado pela FDA em combinação com binimetinib para o tratamento de melanoma irresecável/metastático com mutação BRAF. (16)

O **estudo COLUMBUS** (NCT01909453) de fase III comparou encorafenib (450mg,1id, per os) em combinação com binimetinib (45mg, 2id, per os), com encorafenib (300mg,1id) e vemurafenib (960 mg, 2id) em monoterapia, no tratamento de melanoma BRAF. (37) Houve um aumento na SLPD de 14.9 meses com a combinação, em comparação com qualquer uma das monoterapia. (37) O encorafenib em monoterapia mostrou uma SLPD superior ao vemurafenib (9.2 meses Vs. 7.3 meses) e apresentou uma taxa de SM de 60%. (16,37).

A maioria dos EA foram moderados (grau 2-3) e incluíram artralguas, cefaleias, febre e astenia, sem necessidade de interrupção do tratamento. (16,35) Os EA de grau 3-4 ocorreram maioritariamente com a combinação e incluíram elevação dos níveis de GGT (9%), elevação de CPK (7%) e hipertensão (6%). (37) A monoterapia com encorafenib associou-se a eritrodisestesia palmo-plantar (14%), mialgia (10%) e artralgia (9%).(37)

No entanto, 14-26% dos doentes em monoterapia com iBRAF desenvolveram CEC e queratoacantomas, resultado da inibição de BRAF que causa ativação paradoxal da restante cascata MAPK.(16)

### **6.7.2.2 Inibidores MEK**

A cinase BRAF ativa MEK que por sua vez ativa ERK. (16) Assim, MEK torna-se um alvo importante para o tratamento do melanoma já que está a jusante de BRAF. (16) Os inibidores MEK suprimem tanto a função de células tumorais como de células normais. (16)

Os EA específicos de iMEK incluem diminuição da fração de ejeção/disfunção ventricular e retinopatia. (16)

- **Trametinib**

Aprovado pela FDA em 2013 na dose de 2mg, oral, id, para o tratamento de melanoma metastático com mutação BRAF. (16,38) O **estudo METRIC** de fase III avaliou a eficácia e a segurança de trametinib em comparação com a DTIC, e mostrou aumento da sobrevida com trametinib. (16,38) Outro estudo mostrou diferenças genóticas, com TR superiores em melanomas BRAF Vs. melanomas WT BRAF, (33% Vs. 10%) respetivamente. (18,39).

Os EA associados a trametinib incluem rash, diarreia, edema periférico e astenia (16,38). Em 38% dos doentes foi necessária a interrupção do tratamento e em 27% uma redução da dose. (16,38)

### **6.7.2.3 Combinação inibidores BRAF/MEK**

A resistência secundária a iBRAF ocorre ao fim de 6 a 7 meses, pelo que foi colocada a hipótese de combinar inibidores BRAF/MEK (que bloqueiam diferentes alvos na via MAPK) e consequentemente diminuir o risco de desenvolver resistência. (16)

- **Vemurafenib-Cobimetinib**

O cobimetinib é um iMEK aprovado pela FDA em 2015, em combinação com vemurafenib, no tratamento do melanoma metastático/irresecável com mutação BRAF. (19)

O **estudo coBRIM** (NCT01689519), comparou a combinação vemurafenib (960mg, 2id) e cobimetinib (60mg, id durante 21 dias seguido de um intervalo de 7 dias) (Vem-Cob) com vemurafenib em monoterapia. (40) Houve um aumento na SLPD (12.3 Vs. 7.2 meses), na SM (22.3 Vs. 17.4 meses) e uma TR de 70% Vs. 50%.(40) Demonstrou-se também uma DRm maior com a combinação Vem-Cob ( 13.0 Vs. 9.2 meses ). (40)

Doentes com valores LDH dentro da normalidade, baixa carga mutacional e que atingiram resposta completa, apresentaram uma SLPD e SM superior.(15,16) Não foram encontradas diferenças significativas para a mutação BRAF V600E ou V600K. (40)

A maioria dos EA foram toleráveis, apesar de a combinação se ter associado a incidência superior de EA grau 3-4 comparativamente a vemurafenib. (40) Destacam-se elevação da GGT (15% Vs. 10%), CPK (12% Vs. <1%) e dos níveis de TGP (11% Vs. 6%). (40) A

fotossensibilidade foi mais frequente com VEM-COB (34% vs. 20%)(40). EA graves ocorreram em 37% dos doentes submetidos à combinação e em 28% com vemurafenib, sendo os mais frequentes pirexia (2%) e desidratação (2%). (40)

Tendo em conta os EA associados ao uso de vemurafenib, houve uma incidência menor de ocorrência de CEC e queratoacantomas com a combinação (6% Vs. 22%). (40) Por outro lado, os EA específicos de iMEK ocorreram com maior incidência com a combinação e incluíram retinopatia grave (27% Vs. 4%) diminuição da fração de ejeção ventricular esquerda (11% vs. 5%), e elevação dos níveis de CPK (2% vs. <1%), sendo a maioria de baixo grau. (40)

- **Dabrafenib-trametinib**

A combinação de trametinib (iMEK) e dabrafenib (iBRAF) foi aprovada no tratamento de melanoma metastático/irresecável BRAF e como tratamento adjuvante de melanoma ressecável no estadio III BRAF. (19)

O **estudo COMBI-v** (NCT01597908) de fase III em doentes com melanoma metastático com mutação BRAF, avaliou a eficácia e segurança da combinação dabrafenib (150 mg, 2id po) + trametinib (2mg,1id po) (dab-tram) com a monoterapia de vemurafenib (960mg, 2id po). (41) Verificou-se aumento da eficácia com dab-tram, com uma SM ao fim de 1 ano de 72% vs. 65%. (16,41) O **estudo COMBI-d** (NCT01072175) avaliou a eficácia e segurança da combinação dabrafenib (150 mg 2id) + trametinib (1 ou 2 mg, 1id) e dabrafenib em monoterapia, no tratamento de melanoma metastático com mutação BRAF. (42) Mostrou-se uma eficácia superior com a combinação comparativamente a dabrafenib com SLPD (9.4 Vs.5.8 meses) e TR 76% Vs. 54%. (42)

O uso desta combinação também reduziu o risco de desenvolver CEC em 7%, comparativamente a 19% com dabrafenib em monoterapia, apesar de ter aumentado o número de pacientes com temperaturas febris, (71% Vs. 26%). (16,41) Este EA pode ser reduzido com a interrupção do tratamento no início da pirexia, se suspeita de síndrome de pirexia recorrente, ou na presença de sintomas (febre > 38°C, tremores, suores noturnos, sintomas tipo vírus-influenza), sem afetar a eficácia da terapia. (15)

- **Encorafenib-binimetinib**

Aprovado pela FDA no melanoma metastático/irresecável com mutação BRAF.(19)

O **estudo COLUMBUS** (NCT01909453) (fase III), teve como objetivo avaliar a eficácia e segurança da combinação encorafenib (450 mg,1id oral) e binimetinib (45mg, 2id oral) (enc-

bin) em comparação com encorafenib (300mg, 1id oral) e vemurafenib (960mg,2id oral) em monoterapia, no tratamento de melanoma de estadio IIIB/C-IV com mutação BRAF. (37)

A combinação foi superior comparativamente à monoterapia com encorafenib e vemurafenib respetivamente, com benefício na SLPD (14.8 Vs 9.2 Vs .7.3 meses), na DRm (16.6 Vs. 14.9 Vs 12.3 meses), com aumento na TR (63% Vs. 51% Vs. 40%). (16,37) Os EA mais frequentes associados à combinação incluíram efeitos gastrointestinais (diarreia, obstipação e dor abdominal), hipertensão e aumento dos níveis de GGT e CPK. (16,37).

Apenas 18% experienciaram febre e 9% fotossensibilidade com enc-bin, comparativamente a > 50% dos doentes que apresentaram pirexia com dab-tram no estudo Combi-d e a 34% de doentes que experienciam fotossensibilidade na combinação vem-cob no estudo coBRIM. (37) A combinação enc-bin mostrou também uma incidência menor de CEC relativamente a encorafenib e vemurafenib, respetivamente (3% Vs. 8% Vs. 17%). (37)

### **Conclusões terapia-alvo**

A grande limitação da monoterapia com iBRAF prende-se com o facto de 15% dos doentes não apresentarem resposta (resistência inata) e aproximadamente 50% dos doentes desenvolverem resistência secundária ao fim de 6 a 8 meses. (12,16) O mecanismo responsável pela resistência a iBRAF está associado a mediadores seletivos do microambiente tumoral, perda de função de supressores tumorais, e ativação da via MAPK independente de BRAF. (16)

Além da monoterapia iBRAF ter mostrado uma DRm limitada de 6 a 7 meses, por desenvolvimento de resistência secundária, também se associou ao desenvolvimento de tumores secundários causados por RAS, como CEC. (26) Já a combinação de inibidores BRAF/MEK mostrou ser superior à monoterapia de iBRAF e aumentou a TR, SLPD e SM e atrasou o desenvolvimento de resistência secundária, com uma DRm superior. (7)

Com a combinação BRAF/MEK também acaba por ocorrer resistência e conseqüentemente progressão da doença, no entanto, o tempo necessário até se desenvolver resistência é de 11 a 15 meses.(18)

Foi demonstrado que qualquer combinação BRAF/MEK tem uma incidência de CEC significativamente menor à monoterapia (3% Vs. 12.5%, respetivamente). (16). No entanto, alguns EA como náuseas, vômitos, astenia, cefaleias e artralguas são comuns. (16).

Assim, a combinação BRAF/MEK é considerada 1ª linha no tratamento de melanoma irresecável/metastático com mutação BRAF. (16)

### **6.7.3 Combinação Inibidores BRAF/MEK e inibidores de checkpoints (tripla combinação)**

Em doentes com melanoma metastático com mutação BRAF, a escolha do tratamento de 1ª linha torna-se um desafio, uma vez que são elegíveis para imunoterapia e terapia-alvo. (8) Dado as elevadas TR da terapia-alvo (TR 65-70%) e a resposta duradoura da imunoterapia (meses a anos), considerou-se que a combinação tripla (inibidores BRAF/MEK e Ac anti-PD-1) poderia ser promissora no tratamento de melanomas com mutação BRAF. (8)

Vários estudos clínicos que combinam estas duas terapias têm sido realizados, com o objetivo de atingir TR e DRm elevadas, com menor incidência de EA.(8,34)

Foi estudada a combinação de Ac anti-CTLA-4 e iBRAF (vemurafenib + dabrafenib + trametinib), com elevada toxicidade gástrica e hepática.(34)

Os estudos seguintes focaram-se na combinação de inibidores BRAF/MEK com Ac anti-PD-1 (pembrolizumab, spartalizumab) ou anti-PD-L1 (atezolizumab) (34)

No estudo **KEYNOTE-022** avaliou-se a eficácia e segurança de pembrolizumab associada à combinação dab-tram. Houve uma DRm significativamente maior na combinação tripla, comparativamente à combinação dupla dab-tram (25.1 meses Vs.12.1 meses) e um aumento na SLPD. (8,43) A incidência de EA de grau 3-5 foi superior com a combinação tripla.(8,43)

No estudo **IMspire150** foi estudada a adição de atezolizumab à combinação vem-cob ou placebo. (44,45) Este estudo mostrou um aumento na SLPD com a terapia tripla (15.1 meses Vs. 10.6 meses), mas não mostrou diferenças significativas na SM e na TR. (8,45) Ao contrário do estudo KEYNOTE-022, a incidência de EA de grau 3-4 foi semelhante na combinação tripla vs. dupla (79% Vs. 73%), o que sugere que a adição de atezolizumab foi tolerável.(28,45) No entanto, a incidência de EAI foi superior na combinação tripla (63% Vs. 51%). Em 2020, a FDA aprovou o uso da combinação atezolizumab-cobimetinib-vemurafenib no tratamento de melanoma metastático/irresecável com mutação BRAF. (34)



Demonstrou-se que a terapia tripla não traz vantagens na TR comparativamente à combinação de BRAF/MEK, apesar de a DRm ser significativamente mais longa. Assim, a combinação tripla pode ser uma potencial terapêutica após o desenvolvimento de resistência. (8)

#### **6.7.4 Melanoma NRAS**

A mutação NRAS está presente em 15-20% dos Mc, particularmente em melanoma nodular. (28) No entanto, ainda não existem terapêuticas de inibição de NRAS. (28)

A IT tem mostrado eficácia limitada, pelo microambiente imunossupressor deste tipo de melanoma.(12) Têm sido estudadas outras opções como iMEK e T-VEC. (12) A T-VEC é uma terapêutica oncolítica viral aprovada para o tratamento local de melanoma irresecável metastático. (15) Consiste na administração de um vírus herpes simplex modificado do tipo 1 que leva à expressão de GM-CSF no tumor com recrutamento de APC e consequente morte de células tumorais. (26) A combinação de Ac anti-PD-1 e T-VEC tem mostrado resultados positivos. (12)

#### **6.7.5 Melanoma KIT**

A mutação KIT está presente com maior incidência no melanoma das mucosas (20-30%) e acral. (10-15%) Estudos prospectivos têm estudado a eficácia de inibidores KIT (iKIT) como imatinib, e outros inibidores de tirosina cinase (dasatinib e nilotinib) no tratamento de melanoma com mutação KIT. (26) A maioria das respostas ocorrem nos melanomas com mutação na exão 11 ou 13 do gene KIT, com uma TR de 15-30%. (26)

#### **6.7.6 Tratamento Adjuvante**

O tratamento adjuvante é oferecido a doentes de alto risco após resseção cirúrgica, para diminuir o risco de recorrência após cirurgia.(19) A escolha da terapia adjuvante depende: estadio tumoral, risco de recorrência associado, status de mutação BRAF, características do doente como comorbilidades, e perfil de EA.(19,20)

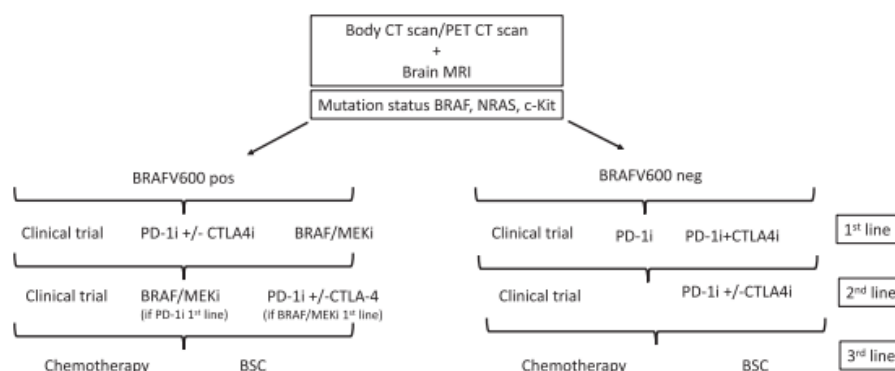
Atualmente, o tratamento adjuvante de 1ª linha é IT e TA.(20) No que diz respeito à IT, o ipilimumab apresenta benefícios na sobrevivência, apesar da alta toxicidade, pelo que é preferível o uso de Ac anti-PD-1 (nivolumab e pembrolizumab), já que possuem vantagens na eficácia e na segurança, relativamente ao ipilimumab.(20)

Em estadios IIB-C, considerados de alto risco e com elevado risco de recorrência, foi aprovado pela FDA o uso de pembrolizumab (200mg) durante 1 ano com base no estudo **KEYNOTE-716**.(20,46) Em estadios III-IV foi aprovado o uso de Ac anti-PD-1 e a combinação I-N. (20,47) O estudo **CheckMate 915** avaliou a eficácia e segurança do uso da combinação I-N, comparativamente a nivolumab em monoterapia em doentes em estadio IIIB-D-IV. (20,47) Depois de um follow-up de 2 anos, verificou-se que a combinação I-N não teve benefícios significativos na SLPD e se associou a toxicidade superior. (20,47) Por isso, o nivolumab em monoterapia pode ser uma opção em doentes em estadio III-IV. (20,47)

Em melanomas WT BRAF, a imunoterapia continua a ser o tratamento adjuvante mais promissor. (48) A combinação I-N é preferível em estadios mais avançados ou se existirem fatores que indicam agressividade, uma vez que a combinação apresenta uma SLPD superior.(49) Os fatores que indicam agressividade incluem: elevação dos níveis de LDH, presença metástases cerebrais ou outras metástases sintomáticas e melanoma acral primário.(49) Caso estes marcadores não estejam presentes, é preferível Ac anti-PD-1 em monoterapia, sendo que nivolumab e pembrolizumab não apresentam diferenças estatisticamente significativas. (48,49)

Em doentes com melanoma BRAF ainda não está definida qual a melhor terapêutica, uma vez que são elegíveis para IT e TA. (48) Têm sido estudados biomarcadores que possam prever a resposta a iBRAF/MEK em melanoma de estadio IV como: níveis normais de LDH, baixa carga tumoral, ou existência de poucas metástases cerebrais. (48)

Torna-se importante perceber qual a melhor sequência terapêutica, dado que a mutação BRAF está presente em 40-60%.(20,48) O estudo DREAMseq avaliou como primeira linha a IT (combinação I-N), seguida de TA (dab-tram) e vice-versa.(15,50) A sequência de IT combinada até haver progressão da doença, seguida de TA mostrou um aumento na SM, comparativamente a doentes que receberam dabrafenib-trametinib como primeira linha (72% Vs. 52%). (20,50)



**Figura 9.** Proposta de algoritmo no tratamento de melanoma em estadio IV. (Adaptado de (15))

### 6.7.7 Terapia Neoadjuvante

A terapia neoadjuvante parece ser uma opção promissora em doentes com melanoma avançado, principalmente em estadio III (macrometástases linfáticas e/ou metástases cutâneas). (15) O objetivo desta passa por diminuir a agressividade cirúrgica e controlar locorregionalmente as metástases, dado que tem demonstrado redução da carga tumoral. (48) Além disso, poderá eventualmente haver personalização da terapia adjuvante, com base na resposta ao tratamento neoadjuvante, e prever possíveis mecanismos de resistência. (48)

O estudo **OpACIN** (NCT02437279) de fase Ib avaliou a imunoterapia (IPI3-NIVO1, 2 doses antes e após a ressecção cirúrgica) como tratamento neoadjuvante e tratamento adjuvante (IPI3-NIVO1, 4 doses após a ressecção) em melanomas de estadio III. (20,51) Houve uma TR de 78% no grupo neoadjuvante, apesar do aumento da incidência de EA de grau 3-4 que obrigou à descontinuação do tratamento após o 2º ou 3º ciclo. (20,51)

Com o intuito de diminuir esta toxicidade, foram estudadas outras alternativas. (20) O estudo **neo-OpACIN** (NCT02977052), de fase II, comparou 3 tratamentos neoadjuvantes com diferentes doses de I-N (grupo A: 2 ciclos de IPI3-NIVO1, grupo B: 2 ciclos IPI1-NIVO3, grupo C: 2 ciclos de IPI3-NIVO3). (52) Os resultados mostraram maior eficácia para o regime do grupo A (TR de 80%). No entanto, o regime do grupo B com a dose mais baixa de ipilimumab, não demonstrou diferenças significativas na eficácia (TR de 77%) e apresentou a menor incidência de EA grau 3-4 (20%). (52) Assim, colocou-se a hipótese se doentes com resposta inicial à terapia neoadjuvante necessitariam de linfadenectomia.

O estudo **PRADO** (Personalized Response-driven Adjuvant Combination of IPI and Nivo in Stage IIIB/C melanoma) [NCT02977052], avaliou esta hipótese baseando a decisão de proceder a linfadenectomia na TR à terapia neoadjuvante. (20,53) Assim, em doentes sem resposta clínica (> 50% células tumorais) foi realizada linfadenectomia e 12 semanas de terapia adjuvante. Em doentes com resposta parcial ou completa (<10% de células tumorais) a linfadenectomia não foi realizada, o que reduziu em 60% os doentes que necessitaram de linfadenectomia. (20,53)

O tratamento neoadjuvante com TA em melanoma BRAF também mostrou resultados promissores. O estudo **NeoCombi** (NCT01972347) de fase II avaliou a eficácia da combinação dabrafenib (300mg) e trametinib (2 mg) como tratamento neoadjuvante em melanoma BRAF em estadio IIIB-C ressecável, seguido de linfadenectomia radical e 40 semanas de terapia adjuvante. Houve uma TR de 86% após o tratamento neoadjuvante; no

entanto a resposta ao tratamento adjuvante com TA não foi tão favorável após o tratamento neoadjuvante. (20,54)

Uma análise do **Internacional Neoadjuvant Melanoma Consortium (INMC)** avaliou 6 estudos que compararam o tratamento neoadjuvante com IT (Ac anti-PD-1 em monoterapia ou combinação I-N) e inibidores BRAF/MEK. (15,56)

Nesta análise, 40% dos doentes apresentaram resposta completa, 47% deles aos iBRAF/MEK e 33% à IT. (15) Tanto a taxa de SLPD (96% Vs. 79%) como a SM (95% Vs. 91%) a 2 anos, foram significativamente superiores com a IT Vs. TA. (15) Demonstrou-se que a imunoterapia é mais eficaz do que a terapia-alvo, apesar da imunoterapia apresentar TR inferiores. Qualquer tipo de resposta parcial ou completa pode ser suficiente para oferecer uma melhoria significativa na SLPD e SM, e ainda se associar a recorrência baixa. (15,55). No que diz respeito à melhor opção, a combinação I-N mostrou ser superior à monoterapia com anti-PD-1, com uma TR 43% Vs. 20%. (15)

O tratamento neoadjuvante ainda não é uma prática comum, uma vez que até à data não existem estudos de fase III estatisticamente significativos que comparem as abordagens neoadjuvante Vs. adjuvante. (15)

## **6.8 Estratégias imunológicas após resistência**

O desenvolvimento de resistência secundária ao tratamento com inibidores de checkpoints levou à tentativa de identificação de novos alvos terapêuticos. (26)

Doentes com melanoma BRAF WT que não respondem à IT, principalmente à combinação I-N, possuem poucas opções terapêuticas e, por isso, têm sido estudadas terapias de segunda linha. (15) Caso haja progressão da doença com a combinação I-N deve ser proposta a inclusão em ensaios clínicos e, se não forem elegíveis, é oferecida quimioterapia ou IL-2 em alta dose. (56)

Os **estudos KEYNOTE-066** e **CheckMate 067** mostraram que doentes com resistência secundária à monoterapia anti-PD-1, podem beneficiar de um segundo ciclo de anti-PD-1. (15) Outras opções válidas incluem ipilimumab em monoterapia ou a combinação I-N, sendo a combinação I-N preferível, uma vez que se associa a aumento da SLPD, SM e TR e menor toxicidade comparativamente à monoterapia com ipilimumab.(15) Assim, a doentes com resistência à monoterapia anti-PD-1, deve ser oferecido preferencialmente combinação I-N.(15)

Outra potencial terapêutica que está a ser desenvolvida para resistência à IT é a transferência de células-T adaptativas (TTA) de linfócitos infiltrativos do tumor (LIT). (15) Os LIT são expandidos ex-vivo e, juntamente com altas doses de IL-2, são administrados em doentes com melanoma linfodepletado. (15) Este tratamento tem mostrado resultados promissores, com uma TR alta e SM a longo prazo. (15) No entanto, ainda não existe nenhum regime TTA-LIT aprovado, dado que a IL-2 se associa uma elevada toxicidade(15)

Para melanomas BRAF com progressão da doença, a escolha da melhor opção terapêutica depende da performance status do doente e da terapia realizada inicialmente. (57)

Assim, em doentes com melanoma BRAF em progressão deve ponderar-se alternância entre imunoterapia e terapia-alvo combinada, já que é superior à monoterapia.(15) Casos em que há progressão após monoterapia de anti-PD-1, pode ser preferível a combinação I-N como 2ª linha, uma vez que oferece a maior SM e SLPD. (57)

## 7 Conclusões

O tratamento do melanoma avançado tem vindo a ter grandes avanços nos últimos 10 anos, com o desenvolvimento de novos agentes como a imunoterapia com inibidores de checkpoints imunes e a terapia-alvo BRAF e MEK. Anteriormente a abordagem terapêutica passava pelo uso de DTIC, altas doses de IL-2 ou uso de interferão, que não ofereciam grandes benefícios na sobrevivência e apresentavam uma toxicidade elevada.

Em todos os estadios, a resseção cirúrgica é o tratamento de primeira linha, podendo ser realizada com margens estreitas ou alargadas, com BGSN e linfadenectomia. A maioria dos melanomas são diagnosticados em estadios iniciais (I e II) e a resseção cirúrgica é habitualmente curativa. No entanto, estadios III e IV possuem um pior prognóstico, pelo que doentes em estadio III-IV ou mesmo IIB-C com alto risco de recorrência, é recomendado o uso de IT ou TA combinada como tratamento adjuvante.

A TA com iBRAF em monoterapia apresentou inicialmente TR elevadas. No entanto, a DRm é limitada a 6-7 meses. A TA combinada torna-se a opção preferível, já que ultrapassou estas limitações e mostrou um aumento da TR, SLPD e SM, apesar de apresentar uma incidência superior de EA. A TA em combinação está associada a uma menor ocorrência de CEC, comparativamente à monoterapia iBRAF. Alguns EA são frequentes nas combinações e incluem vômitos, astenia, cefaleias, artralgia.

A IT, no que diz respeito à duração de resposta, continua a oferecer melhores resultados que a TA. O ipilimumab foi o primeiro a demonstrar um benefício relativamente à DTIC, apesar da alta toxicidade. Os Ac anti-PD-1, nivolumab e pembrolizumab, mostraram ser superiores ao ipilimumab. Apesar deste benefício, apenas alguns doentes atingiram respostas clínicas duradouras com a monoterapia anti-PD-1. A combinação ipilimumab-nivolumab mostrou maiores benefícios na SM, apesar da maior toxicidade comparativamente à monoterapia anti-PD-1.

Assim, a escolha do melhor agente de IT em doentes elegíveis para IT e TA baseia-se no status da mutação BRAF, estadio do melanoma, risco de recorrência e características dos doentes (comorbilidades, status de EA).

Em doentes de estadio IIB-C e alto risco de recorrência, o tratamento de escolha é o de pembrolizumab. Em estadios III/IV, a abordagem terapêutica preferencial é o tratamento adjuvante com IT com Ac anti-PD-1 ou TA combinada. Nos estadios IV (metástases à distância), o tratamento de primeira-linha passa por IT com inibidores PD-1 em monoterapia ou em combinação com inibidores CTLA-4. No entanto, para melanomas BRAF a TA é

oferecida como uma terapêutica alternativa à imunoterapia, dado que tem uma rápida indução de resposta.

Em melanomas WT BRAF, o tratamento adjuvante com imunoterapia anti-PD-1 é a abordagem de 1ª linha, uma vez que se associa a uma menor toxicidade. Caso seja um tumor mais agressivo então é preferível a IT combinada.

Em melanomas BRAF, o tratamento 1ª linha passa pela IT combinada, uma vez que esta apresenta TR elevadas e aumento da sobrevivência a longo prazo. Em doentes elegíveis para imunoterapia prefere-se a TA combinada.

No que diz respeito à TA combinada, a combinação vemurafenib-cobimetinib é a que se associa a uma maior toxicidade. A combinação encorafenib-binimetinib, mostrou uma taxa menor de pirexia e fotossensibilidade relativamente às outras combinações, por isso é preferível quando existem comorbilidades associadas. No entanto, qualquer tratamento está associado a EA, sendo o desenvolvimento de CEC a principal preocupação associada ao uso de TA.

A terapia neoadjuvante com IT ou TA também tem mostrado resultados promissores em estudos recentes. Esta permite a identificação de mecanismos de resistência e, assim, ajudar a melhorar a estratégia subsequente. No entanto, ainda não existem estudos que mostrem o benefício no aumento da SLPD da terapia neoadjuvante, comparativamente à adjuvante.

A imunoterapia e a terapia-alvo revolucionaram o tratamento do melanoma avançado. No entanto, a eficácia destes é limitada pelo desenvolvimento de resistência secundária e recorrência do tumor. Além disso, apenas uma percentagem de pacientes responde e atinge remissão a longo prazo.

Apesar destas lacunas, a combinação tripla tem mostrado novas possibilidades com o aumento da DRm pelo que poderá ser uma potencial terapêutica após resistência secundária.

Ainda é necessária investigação para melhorar a eficácia e reduzir a toxicidade e a resistência à terapêutica atual. O desenvolvimento de biomarcadores talvez possa prever a resposta e o prognóstico do doente, permitindo individualizar e personalizar a abordagem terapêutica. Assim, como avançar da compreensão do desenvolvimento da biologia do melanoma, pretendem identificar-se novos alvos terapêuticos, mais específicos, eficazes e que possam reduzir a toxicidade.

## **8 Agradecimentos**

À Dra Leonor Ramos pela sua disponibilidade, ajuda na orientação deste trabalho e pela correção científica.

A minha família por todo o apoio incondicional ao longo de todo o meu percurso académico.

Aos meus amigos, que comigo partilharam estes 6 anos de curso.



	Fase	Doentes	Follow-up médio (meses)	Grupos (experimental e controlo)	TR	DRm	SLPD (meses)	SM (meses)	EA grau 3-4 (%)	Referência
<b>Anti-CTLA-4</b>										
<b>MDX010 NCT00324155</b>	III	Melanoma irrecetável não tratado Estadio III-IV	54 meses	Ipi(10mg/kg) + dacarbazina, q3w x 1 dose por 22 w (n=250)	15.2%	19.3	2.76	11.2	56.3%	22
				Dacarbazina + placebo, q3w x1 dose por 24w(n=252)	10.3%	8.1	2.60	9.1	27.5%	
<b>EORTC18071 NCT00636168</b>	III	Melanoma ressecado IIIA(>1mm)/B/C	2.7 anos	Ipi (10mg/kg) iv, q3w x 4 doses (n=475)	-	-	26.1	NA	54.5%	24
				Placebo q3w x 4 doses (n=476)			17.1		27%	
<b>Anti-PD-1</b>										
<b>CheckMate 066 NCT01721772</b>	III	MM WT BRAF não tratado	38	Nivo 3mg/kg q2w (n=210)	43%	NA	5.1	37.5	15	27
				DTIC (n=208)	14 %		2.2	11.2	18	
<b>CheckMate 238 NCT02388906</b>	III	Melanoma ressecado IIIB/C-IV	18 meses	Nivo 3mg/kg q2w por 1 ano (n=452)	-	-	-	NA	14.4%	29
				Ipi 10mg/kg q3w x 4 doses (n=453)			-	NA	45.9 %	
<b>KEYNOTE 066 NCT01866319</b>	III	MM	57.7	Pembro 10 mg/kg q2wk (n=279)	37%	53.5 (para os dois grupos pembro)	8.4	32.7	17%	30
				Pembro 10 mg/kg q3wk (n=277)	36%				17%	
				Ipi 3 mg/kg q3wk x 4 doses (n=278)	13%					
<b>Anti-CTLA-4/Anti-PD-1</b>										
<b>CheckMate 067 NCT01844505</b>	III	MM não tratado	54.6	Nivo 1 mg/kg + ipi 3 mg/kg, ambos q3wk x 4 doses; depois nivo 3 mg/kg q2wk (n=5314)	58%	50.1	11.5	NR	59%	31
				Nivo 3 mg/kg q2wk (n=316)	45%	NR (>50)	6.9	36.9A	23%	
				Ipi 3 mg/kg q3wk x 4 doses (n=315)	19%	14.4	2.9	19.9	28%	
<b>CheckMate 511 NCT02714218</b>	IIIb/IV	MM não tratado	18.8	Nivo 3 mg/kg + 1 ipi 1 mg/kg, q3wk x 4 doses; depois nivo 480 mg q4wk (n=180)	46%	NA	9.9	NA	33%	33
				Nivo 1 mg/kg 1 ipi 3 mg/kg, q3wk x 4 doses; depois nivo 480 mg q4wk (n=180)	51%	NA	8.9	NA	48%	
<b>Inibidores BRAF/MEK</b>										
<b>CoBRIM NCT01689519</b>	III	MM não tratado BRAF V600E/K	14.2	Vem + cobi (n=247)	70%	13.0	12.3	22.3	75%	40
				Vem + pbo (n=248)	P,.0001	9.2	7.2	17.4	61%	
					50%					
<b>COMBI-v NCT01909453</b>	III	MM não tratado	11	Dab + tram (n=352)	64%	13.8	11.4	NA	52%	41

		BRAF V600E/K	10	Vem (n=352)	51%	7.5	7.3	17.2	63%	
<b>COLUMBUS NCT01909453</b>	III	MM não tratado BRAF V600E/K	48.8	Encor + bini (n=192)	64%	18.6	14.9	33.6	68%	37
				Encor (n=194)	52%	15.2	9.6	23.5	68%	
				Vem (n=191)	41%	12.3	7.3	16.9	66%	
<b>Combinação tripla</b>										
<b>IMSpire150 NCT02908672</b>	III	MM não tratado BRAF V600		Ate 840 d1,15 + Vem 720 2id + Cob 60 id d1-21	66%		15.1	-		44
				Placebo + Vem 960 2id + Cob 60 id d1-21 (Todos: q4w)	65%		10			

## Anexo I

**Tabela 2**– Estudos clínicos Imunoterapia e terapia-alvo, e combinações. Abreviações: Ate, atezolizumab; Bin, binimetinib; Cob, cobimetinib; Dab, dabrafenib; Enc, encorafenib; Ipi, ipilimumab; TR (Taxa de resposta), DRm (Duração média de resposta) MM: melanoma metastático; - : Não reportado; NA: Não atingido  
 2id: duas vezes ao dia : id: 1 vez ao dia; ; q2w/q3w/q4w, todos duas/três/quatro se

## 9 Referências

1. Pavri SN, Clune J, Ariyan S, Narayan D. Malignant melanoma: Beyond the basics. *Plast Reconstr Surg*. 2016 Aug 1;138(2):330e–40e.
2. Leonardi GC, Falzone L, Salemi R, Zanghì A, Spandidos DA, Mccubrey JA, et al. Cutaneous melanoma: From pathogenesis to therapy (Review). Vol. 52, *International Journal of Oncology*. Spandidos Publications; 2018. p. 1071–80.
3. Strashilov S, Yordanov A. Aetiology and pathogenesis of cutaneous melanoma: Current concepts and advances. *Int J Mol Sci*. 2021 Jun 2;22(12).
4. Davis LE, Shalin SC, Tackett AJ. Current state of melanoma diagnosis and treatment. Vol. 20, *Cancer Biology and Therapy*. Taylor and Francis Inc.; 2019. p. 1366–79.
5. Abbas O, Miller DD, Bhawan J. Cutaneous Malignant Melanoma: Update on Diagnostic and Prognostic Biomarkers [Internet]. 2014. Available from: [www.amjdermatopathology.com](http://www.amjdermatopathology.com)
6. Kozovska Z, Gabrisova V, Kucerova L. Malignant melanoma: Diagnosis, treatment and cancer stem cells. Vol. 63, *Neoplasma*. Cancer Research Institute Slovak Acad. of Sciences; 2016. p. 510–7.
7. Ostrowski SM, Fisher DE. Biology of Melanoma. Vol. 35, *Hematology/Oncology Clinics of North America*. W.B. Saunders; 2021. p. 29–56.
8. Swetter SM, Thompson JA, Albertini MR, Barker CA, Baumgartner J, Boland G, et al. Melanoma: Cutaneous, Version 2.2021 Featured Updates to the NCCN Guidelines. Vol. 19, *JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. Harborside Press; 2021. p. 364–76.
9. 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. Vol. 144, *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*. College of American Pathologists; 2020. p. 500–22.
10. Kibbi N, Kluger H, Choi JN. Melanoma: Clinical presentations. In: *Cancer Treatment and Research*. Kluwer Academic Publishers; 2016. p. 107–29.
11. Zob DL, Augustin I, Caba L, Panzaru MC, Popa S, Popa AD, et al. Genomics and Epigenomics in the Molecular Biology of Melanoma—A Prerequisite for Biomarkers Studies. Vol. 24, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI; 2023.
12. Li C, Kuai L, Cui R, Miao X. Melanogenesis and the Targeted Therapy of Melanoma. Vol. 12, *Biomolecules*. NLM (Medline); 2022.
13. Strashilov S, Yordanov A. Aetiology and pathogenesis of cutaneous melanoma: Current concepts and advances. *Int J Mol Sci*. 2021 Jun 2;22(12).
14. Davies MA. The Role of the PI3K-AKT Pathway in Melanoma [Internet]. 2012. Available from: [www.journalppo.com](http://www.journalppo.com)
15. Garbe C, Amaral T, Peris K, Hauschild A, Arenberger P, Basset-Seguín N, et al. European consensus-based interdisciplinary guideline for melanoma. Part 1:

- Diagnostics: Update 2022. Vol. 170, European Journal of Cancer. Elsevier Ltd; 2022. p. 236–55.
16. Lazaroff J, Bolotin D. Targeted Therapy and Immunotherapy in Melanoma. *Dermatologic Clinics*. W.B. Saunders; 2022.
  17. Hanna S, Lo SN, Saw RP. Surgical excision margins in primary cutaneous melanoma: A systematic review and meta-analysis. Vol. 47, *European Journal of Surgical Oncology*. W.B. Saunders Ltd; 2021. p. 1558–74.
  18. Eddy K, Chen S. Overcoming immune evasion in melanoma. Vol. 21, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2020. p. 1–48.
  19. Jenkins RW, Fisher DE. Treatment of Advanced Melanoma in 2020 and Beyond. Vol. 141, *Journal of Investigative Dermatology*. Elsevier B.V.; 2021. p. 23–31.
  20. Kobeissi I, Tarhini AA. Systemic adjuvant therapy for high-risk cutaneous melanoma. Vol. 14, *Therapeutic Advances in Medical Oncology*. SAGE Publications Inc.; 2022.
  21. Ralli M, Botticelli A, Visconti IC, Angeletti D, Fiore M, Marchetti P, et al. Immunotherapy in the Treatment of Metastatic Melanoma: Current Knowledge and Future Directions. Vol. 2020, *Journal of Immunology Research*. Hindawi Limited; 2020.
  22. Robert C, Thomas L, Bondarenko I, O'Day S, Weber J, Garbe C, et al. Ipilimumab plus Dacarbazine for Previously Untreated Metastatic Melanoma. *New England Journal of Medicine*. 2011 Jun 30;364(26):2517–26.
  23. Ralli M, Botticelli A, Visconti IC, Angeletti D, Fiore M, Marchetti P, et al. Immunotherapy in the Treatment of Metastatic Melanoma: Current Knowledge and Future Directions. Vol. 2020, *Journal of Immunology Research*. Hindawi Limited; 2020.
  24. 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. *Lancet Oncol*. 2015;16(5):522–30.
  25. 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.
  26. Ambrosi L, Khan S, Carvajal RD, Yang J. Novel Targets for the Treatment of Melanoma. Vol. 21, *Current Oncology Reports*. Current Medicine Group LLC 1; 2019.
  27. Robert C, Long G v., Brady B, Dutriaux C, Maio M, Mortier L, et al. Nivolumab in Previously Untreated Melanoma without BRAF Mutation . *New England Journal of Medicine*. 2015 Jan 22;372(4):320–30.
  28. Teixido C, Castillo P, Martinez-Vila C, Arance A, Alos L. Molecular markers and targets in melanoma. Vol. 10, *Cells*. MDPI; 2021.
  29. 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.
  30. Robert C, Schachter J, Long G v., Arance A, Grob JJ, Mortier L, et al. Pembrolizumab versus Ipilimumab in Advanced Melanoma. *New England Journal of Medicine*. 2015 Jun 25;372(26):2521–32.

31. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob JJ, Cowey CL, Lao CD, et al. Combined Nivolumab and Ipilimumab or Monotherapy in Untreated Melanoma. *New England Journal of Medicine*. 2015 Jul 2;373(1):23–34.
32. Wolchok JD, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob JJ, Rutkowski P, Christopher ;, et al. Long-Term Outcomes With Nivolumab Plus Ipilimumab or Nivolumab Alone Versus Ipilimumab in Patients With Advanced Melanoma. *J Clin Oncol* [Internet]. 2021;40:127–37. Available from: <https://doi>.
33. Lebbé C, Lebbé L, Meyer N, Mortier ; Laurent, Ivan Marquez-Rodas ;, Robert C, et al. Evaluation of Two Dosing Regimens for Nivolumab in Combination With Ipilimumab in Patients With Advanced Melanoma: Results From the Phase IIIb/IV CheckMate 511 Trial [Internet]. Vol. 37, *J Clin Oncol*. 2019. Available from: <https://doi.org/10>.
34. Guo W, Wang H, Li C. Signal pathways of melanoma and targeted therapy. Vol. 6, *Signal Transduction and Targeted Therapy*. Springer Nature; 2021.
35. Chapman PB, Hauschild A, Robert C, Haanen JB, Ascierto P, Larkin J, et al. Improved Survival with Vemurafenib in Melanoma with BRAF V600E Mutation. *New England Journal of Medicine*. 2011 Jun 30;364(26):2507–16.
36. 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. *The Lancet*. 2012;380(9839):358–65.
37. Dummer R, Ascierto PA, Gogas HJ, Arance A, Mandala M, Liskay G, et al. Encorafenib plus binimetinib versus vemurafenib or encorafenib in patients with BRAF-mutant melanoma (COLUMBUS): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2018 May 1;19(5):603–15.
38. Robert C, Flaherty K, Nathan P, Hersey P, Garbe C, Milhem M, et al. Five-year outcomes from a phase 3 METRIC study in patients with BRAF V600 E/K–mutant advanced or metastatic melanoma. *Eur J Cancer*. 2019 Mar 1;109:61–9.
39. Falchook GS, Lewis KD, Infante JR, Gordon MS, Vogelzang NJ, DeMarini DJ, et al. Activity of the oral MEK inhibitor trametinib in patients with advanced melanoma: A phase 1 dose-escalation trial. *Lancet Oncol*. 2012 Aug;13(8):782–9.
40. Ascierto PA, McArthur GA, Dréno B, Larkin J, Liskay G, Maio M, et al. coBRIM: a phase 3, double-blind, placebo-controlled study of vemurafenib versus vemurafenib + cobimetinib in previously untreated BRAFV600 mutation–positive patients with unresectable locally advanced or metastatic melanoma (NCT01689519). *J Transl Med*. 2015;13(Suppl 1):O4.
41. Amonkar MM, Sun P, Legos JJ, Opatt McDowell D, Veneto Istituto Di Ricovero Cura Carattere Scientifico O, Jacques Grob J, et al. Comparison of dabrafenib and trametinib combination therapy with vemurafenib monotherapy on health-related quality of life in patients with unresectable or metastatic cutaneous BRAF Val600-mutation-positive melanoma (COMBI-v): results of a phase 3, open-label, randomised trial [Internet]. Vol. 16, *Lancet Oncol*. 2015. Available from: [www.thelancet.com/oncology](http://www.thelancet.com/oncology)
42. Flaherty KT, Infante JR, Daud A, Gonzalez R, Kefford RF, Sosman J, et al. Combined BRAF and MEK Inhibition in Melanoma with BRAF V600 Mutations. *New England Journal of Medicine*. 2012 Nov;367(18):1694–703.

43. Ferrucci PF, di Giacomo AM, del Vecchio M, Atkinson V, Schmidt H, Schachter J, et al. KEYNOTE-022 part 3: A randomized, double-blind, phase 2 study of pembrolizumab, dabrafenib, and trametinib in BRAF-mutant melanoma. *J Immunother Cancer*. 2020 Dec 24;8(2).
44. Gutzmer R, Stroyakovskiy D, Gogas H, Robert C, Lewis K, Protsenko S, et al. Atezolizumab, vemurafenib, and cobimetinib as first-line treatment for unresectable advanced BRAF V600 mutation-positive melanoma (IMspire150): primary analysis of the randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial [Internet]. Vol. 395, [www.thelancet.com](http://www.thelancet.com). 2020. Available from: [www.thelancet.com](http://www.thelancet.com)
45. Gutzmer R, Stroyakovskiy D, Gogas H, Robert C, Lewis K, Protsenko S, et al. Atezolizumab, vemurafenib, and cobimetinib as first-line treatment for unresectable advanced BRAF V600 mutation-positive melanoma (IMspire150): primary analysis of the randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. Vol. 395, [www.thelancet.com](http://www.thelancet.com). 2020.
46. Luke JJ, Ascierto PA, Carlino MS, Gershenwald JE, Grob JJ, Hauschild A, et al. KEYNOTE-716: Phase III study of adjuvant pembrolizumab versus placebo in resected high-risk stage II melanoma. Vol. 16, *Future Oncology*. Future Medicine Ltd.; 2019. p. 4429–38.
47. Weber JS, Schadendorf D, Vecchio M del, Larkin J, Atkinson V, Schenker M, et al. Adjuvant Therapy of Nivolumab Combined With Ipilimumab Versus Nivolumab Alone in Patients With Resected Stage IIIB-D or Stage IV Melanoma (CheckMate 915). *J Clin Oncol* [Internet]. 2022;41:517–27. Available from: <https://doi>.
48. 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.
49. Systemic treatment of metastatic melanoma lacking a BRAF mutation - Uptodate Free [Internet]. [cited 2023 Feb 3]. Available from: <https://pro.uptodatefree.ir/show/15863>
50. Atkins MB, Lee SJ, Chmielowski B, Tarhini AA, Cohen GI, Truong TG, et al. Combination Dabrafenib and Trametinib Versus Combination Nivolumab and Ipilimumab for Patients With Advanced BRAF-Mutant Melanoma: The DREAMseq Trial-ECOG-ACRIN EA6134. *J Clin Oncol* [Internet]. 2022;41:186–97. Available from: <https://doi>.
51. Blank CU REFL. Neoadjuvant versus adjuvant ipilimumab plus nivolumab in macroscopic stage III melanoma. *Nat Med* . 2018;1655–61.
52. 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 Jul 1;20(7):948–60.
53. Blank CU, Reijers ILM PT. First safety and efficacy results of PRADO: a phase II study of personalized response-driven surgery and adjuvant therapy after neoadjuvant ipilimumab (IPI) and nivolumab (NIVO) in resectable stage III melanoma. *J Clin Oncol* . 2020;38–10002.

54. Long GV, 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 Jul 1;20(7):961–71.
55. Menzies AM, Amaria RN, Rozeman EA, Huang AC, Tetzlaff MT, van de Wiel BA, et al. Pathological response and survival with neoadjuvant therapy in melanoma: a pooled analysis from the International Neoadjuvant Melanoma Consortium (INMC). *Nat Med*. 2021 Feb 1;27(2):301–9.
56. Systemic treatment of metastatic melanoma lacking a BRAF mutation - Uptodate Free [Internet]. [cited 2023 Jan 29]. Available from: <https://pro.uptodatefree.ir/show/15863>
57. Systemic treatment of metastatic melanoma with BRAF and other molecular alterations - Uptodate Free [Internet]. [cited 2023 Feb 5]. Available from: <https://pro.uptodatefree.ir/show/15408>
58. Chesney J, Puzanov I, Collichio F, Milhem MM, Hauschild A, Chen L, et al. Patterns of response with talimogene laherparepvec in combination with ipilimumab or ipilimumab alone in metastatic unresectable melanoma. *Br J Cancer*. 2019 Aug 29;121(5):417–20.
59. Chesney J, Puzanov I, Collichio F, Singh P, Milhem MM, Glaspy J, et al. Randomized, Open-Label Phase II Study Evaluating the Efficacy and Safety of Talimogene Laherparepvec in Combination With Ipilimumab Versus Ipilimumab Alone in Patients With Advanced, Unresectable Melanoma. *Journal of Clinical Oncology*. 2018 Jun 10;36(17):1658–67.
60. Puzanov I, Milhem MM, Minor D, Hamid O, Li A, Chen L, et al. Talimogene Laherparepvec in Combination With Ipilimumab in Previously Untreated, Unresectable Stage IIIB-IV Melanoma. *Journal of Clinical Oncology*. 2016 Aug 1;34(22):2619–26.
61. Hodi FS, Lee S, McDermott DF, Rao UN, Butterfield LH, Tarhini AA, et al. Ipilimumab Plus Sargramostim vs Ipilimumab Alone for Treatment of Metastatic Melanoma. *JAMA*. 2014 Nov 5;312(17):1744.