

LiszkayGabriella\_31\_22

# ELŐRELÉPÉSEK MELANOMÁBAN

Liszkay Gabriella

MTA doktori értekezés tézisei



Magyar Tudományos Akadémia

Budapest

2022

LiskayGabriella\_31\_22

## 1 Bevezetés

- A melanoma a világ fehérbőrű népességének megbetegedése, évente több tízezer ember halálát okozza. Korai stádiumban felfedezve sebészi eltávolítással maradéktalanul meggyógyítható, azonban a vastagabb daganatok áttétképző potenciálja magas. Előfordulási gyakorisága a legtöbb országban növekszik, bár ez a tendencia országonként és földrajzi elhelyezkedés szerint különböző. A prevenció eredményességét jelzi, hogy míg az 1960-as években a diagnosztizált esetek 2/3-a halállal végződött, addig napjainkban ez az arány nem éri el a 15-20%-ot. A primer és szekunder prevenció akkor lehet eredményes melanomában, ha ismerjük és folyamatosan elemezzük az incidencia és mortalitás jellemzőit, valamint a prognózist meghatározó adatokat.
- Az egyik legfontosabb prognosztikus faktor a Breslow daganatvastagság mellett az 1990-es években Morton által kidolgozott őrszem, sentinel nyirokcsomó biopszia eredménye, amit az is mutat, hogy beépült az AJCC stádiumbeosztásba is. Az őrszem nyirokcsomó biopszia szerepe és terápiás konzekvenciája az elmúlt évtizedekben folyamatosan változott, de prognosztikai értéke nem csökkent.
- A melanoma molekuláris patológiájának feltérképezése nemcsak a terápia szempontjából alapvető jelentőségű, de a mutációs státusz a prognózis pontosabb meghatározásához is hozzájárulhat.
- 2011-ig nem állt rendelkezésre túlélést meghosszabbító terápia melanomában. Az előrehaladott betegségben az egyéves túlélés 25% volt. A betegség molekuláris hátterének és immunológiájának a megismerése azonban innovatív kezelési módok, target- és immunterápiák bevezetését eredményezte, amelyek alkalmazásával akár 6 év medián túlélés is elérhető. A gyógyszerek befogadását eredményes klinikai vizsgálatok előzték meg, a befogadást követően pedig a „real-life” adatok szolgáltatottak információkat a gyógyszerek klinikai értékének vonatkozásában.

Az értekezés a melanoma epidemiológiáját, prognosztikus és prediktív faktorait, az innovatív terápiák szerepét értékeli saját kutatások alapján.

## **2 Célkitűzések és módszerek**

### **2.1 Hazai epidemiológiai adatok elemzése melanómában**

Epidemiológiai tanulmányunkban a hazai valós incidencia és mortalitás, valamint az incidencia/mortalitás (MIR) adatainak elemzését tűztük ki célul nemzetközi kitekintésben a NEAK (Nemzeti Egészségbiztosítási Alapkezelő), a KSH (Központi Statisztikai Hivatal), a Nemzeti Rákregiszter valamint az Országos Onkológiai Intézet adatbázisai alapján.

#### **2.1.1 Átfogó incidencia és mortalitás vizsgálat melanómában 2011-2019, országos epidemiológiai tanulmány**

Vizsgálatunk a teljes magyar populáció 2011-2019 közötti incidencia és mortalitás adatainak elemzésén alapszik összehasonlításban a nemzetközi közlésekkel. Vizsgálatunkban a NEAK (Nemzeti Egészségbiztosítási Alapkezelő) és a KSH (Központi Statisztikai Hivatal) adatbázisait használtuk. Az adatokat 2009-2019 között elemeztük 20 évnél idősebb betegeknél C43 BNO kódoknál; legalább kétszer szereplő kódszámnál tekintettük az esetet melanómának (2009-2010 között az adatokat referenciaként használtuk fel).

A betegség-specifikus mortalitási arányt a KSH adatbázisa alapján állapítottuk meg. Standardizált incidencia és betegség-specifikus halálozási arányokat használtunk az incidencia és mortalitási trendek értékeléséhez. A teljes változásokat és az évekre lebontott változásokat 2011-2019, 2011-2015 és 2015-2019 között százalékosan adtuk meg. A jelenlegi és korábbi közlésekkel történő direkt összehasonlítás céljából az incidencia és mortalitási adatokat életkorhoz igazítva (age adjusted) adtuk meg az 1976-os és 2013-as ESP (Európai Standard Populáció) adatok felhasználásával standardizáció céljából.

A statisztikai analízisben regressziós modellt alkalmaztunk az éves trendek értékelésénél 95%-os konfidencia intervallummal [95% CI]. Az éves incidencia és mortalitás változásának megállapításához Poisson regressziót alkalmaztunk. A számítások 3.6.1. R verzió (05/07/2019) 1.3-20 módozat alapján történtek.

#### **2.1.2 A mortalitás és incidencia arány országos retrospektív vizsgálata Magyarországon**

A MIR korstandardizált incidencia és mortalitás értékek alapján került kiszámításra. Az éves MIR értékeket 2011 és 2018 között a teljes populációra mindkét nemre számítva adtuk meg. A 2012 és 2018 közötti adatokat az európai országok GLOBOCAN adataival hasonlítottuk össze. Vizsgáltuk továbbá az egy főre eső egészségügyi kiadások és a MIR kapcsolatát 2012 és 2018 között az Eurostat adatbázis alapján. A MIR éves változásait lineáris regresszióval elemeztük, a szignifikancia szintet 0,05-ben határoztuk meg, a 4.0.2 R verziót (2020-06-22) használtuk

számításainkhoz. A MIR és az egészségügyi kiadások kapcsolatát Spearman's rank korrelációs módszerrel elemeztük.

### **2.1.3 A melanoma incidencia, mortalitás és a MIR értékek a Nemzeti Rákregiszter elemzésében Magyarországon**

Célkitűzésünk a hazai melanoma epidemiológiai helyzet felmérése a Nemzeti Rákregiszter és a KSH adatai alapján. A melanoma esetszámok TAJ (Társadalombiztosítási Azonosító Jel) szám, a Betegségek Nemzetközi Osztályozásának (BNO) 10. kiadása szerinti C43-as (melanoma) kód leválogatásával kerültek meghatározásra. A 2001-2019 közötti időszakot elemeztük, nemek és korcsoportok szerint. A KSH mortalitási adatok megállapítása hasonlóan történt.

Az esetszámokat nyers adatok formájában, illetve a 2013-as ESP és a KSH évközepe populációs adatait felhasználva korstandardizáltan is megadtuk. Továbbá vizsgáltuk a MIR hányadost is. A trendek kiértékelésére Spearman-féle rangkorrelációt végeztünk. Túlélési vizsgálatainkban a 2001-2005, a 2011-2015 és a 2018-2019 közötti periódusokat elemeztük.

A Kaplan-Meier görbék szignifikanciájának megállapításához log-rank tesztet használtunk, Bonferroni-korrekcióval kiegészítve. A statisztikai elemzésekhez IBM SPSS Statistics v25.0.0 (Armonk, New York, USA), valamint PAST v1.86b szoftvert használtunk. A 0,05 alatti p értéket tekintettük szignifikánsnak.

### **2.1.4 Prognosztikus paraméterek változása az újonnan diagnosztizált melanomák esetében az Országos Onkológiai Intézet betegeinél**

Retrospektív vizsgálatunk célja, hogy az Országos Onkológiai Intézetben 1998-ban, illetve 10 évvel később, 2008-ban új melanomával diagnosztizált betegek prognosztikus paramétereit összevegyessük. Elemzésünkben a betegek korát, nemét, a tumor lokalizációját, szövettani típusát, az inváziós mélységet (Clark) és a primer tumorok milliméterben mért tumorvastagságát (Breslow) használtuk fel.

Folytonos változók esetén Mann-Whitney próbával döntöttünk az eloszlások szignifikanciájáról, kategorikus változóknál  $\chi^2$  próbát alkalmaztunk. A szignifikancia értékét  $p < 0,05$  értékben határoztuk meg.

## **2.2 Az őrszem nyirokcsomó státusz és a primer tumor BRAF/NRAS mutációjának jelentősége a melanoma prognózisában**

A sentinel nyirokcsomó státusz prediktív faktorait, illetve a melanoma prognosztikus tényezőit vizsgáltuk 850 betegnél, akik esetében SLNB történt; további 159 betegnél elemeztük a primer tumor BRAF és NRAS státuszának prediktív és prognosztikus értékét.

### **2.2.1 Az őrszem nyirokcsomó biopszia klinikai értéke betegeinknél**

Vizsgálatunkban 1997 és 2009 között az Országos Onkológiai Intézetben kivitelezett 850 őrszem nyirokcsomó biopszia eredményeit elemeztük, vizsgáltuk az SLN (sentinel lymph node – őrszem nyirokcsomó) státusz prediktív paramétereit, valamint a sentinel nyirokcsomó státusz és a túlélés kapcsolatát.

Az őrszem nyirokcsomót kettős jelöléses technikával (izotóp és a kék festék) kerestük fel a primer tumor intermedier daganatvastagságában. A szövettani feldolgozásban 250 mikrométeres intervallumban végeztük a nyirokcsomó sorozatmetszését, HE festést, S-100 és melan-A immunhisztokémiai vizsgálatot végeztünk.

A primer tumort a tanulási fázist követően – amikor egyidejűleg távolítottuk el megfelelő biztonsági sávval a primer tumort és az őrszem nyirokcsomót – első ülésben fél cm-es biztonsági sávval távolítottuk el, ezt követően 3-8 hét múlva reoperációt végeztünk a megfelelő biztonsági sáv elérésére, ezzel együtt távolítottuk el az őrszem nyirokcsomót, ahogy ezt korábban közöltük. Betegeinket 5,7 év (0-15 hónap) medián idővel követtük.

A statisztikai analízisben Cox regressziót és logisztikus regressziót alkalmaztunk, a túlélések elemzéséhez Kaplan-Meier görbéket és log-rank tesztet használtunk. A szignifikancia szintet  $p < 0,05$ -ben definiáltuk.

### **2.2.2 A primer tumor BRAF és NRAS mutációjának prognosztikai és prediktív értéke, a sentinel nyirokcsomó státusszal összefüggésben**

2011 októbere és 2015 júliusa között elvégzett sentinel nyirokcsomó biopsziában részesült 159 melanomás beteg prediktív és prognosztikus paramétereit elemeztük. Azokat a betegeket választottuk be, akiknél a primer tumor eltávolítása és az SLNB is Intézetünkben történt.

A paraméterek, amelyeket a sentinel nyirokcsomó státusszal, illetve a túléléssel vetettünk össze, a következők voltak: életkor, nem, a primer tumor lokalizációja, Breslow-daganatvastagság, exulceráció, szövettani típus, a primer daganat mitózis száma/mm<sup>2</sup>, limfovaszkuláris és

perineurális invázió, tumort infiltráló limfociták (TIL), regresziós jelek, BRAF és NRAS mutáció. A sentinel nyirokcsomó biopszia indikációja és az őrszem nyirokcsomó patológiai feldolgozása lényegében megegyezett az előző tanulmányunkban közöltekkel. Adjuváns terápiát, illetve disszeminált indikációban alkalmazott terápiát a betegek protokollnak megfelelően, meglehetősen heterogén minőségben kaptak, tekintettel arra, hogy a disszemináció időpontja az innovatív terápiák folyamatos és megújuló változása alatt történt.

*A mutáció analízist* cobas® BRAF V600 teszttel végeztük az Országos Onkológiai Intézet Molekuláris Patológiai Osztályán, primer tumorból. A mintákat a cobas® DNS minta előkészítő készletével dolgoztuk fel, majd izoláltuk a DNS-t formalinban fixált, paraffinba ágyazott szövettani mintákból. A vizsgált DNS, valamint a mutáció detektálása a cobas z 480 Analyzer PCR analízisével történt, a BRAF-NRAS Mutation Test (LSR) kit által biztosított reagens használatával.

*Statisztikai elemzéshez* a Statistica 13.4 (TIBCO Software, Palo Alto, CA, USA) programot használtuk. A numerikus paraméterek összehasonlításához post hoc analízist végeztünk Mann-Whitney U-teszttel és Kruskal-Wallis teszttel. A kategorikus változók esetében  $\chi^2$  tesztet, vagy Fisher-egzakt tesztet alkalmaztunk. A túlélési periódusokat a SLNB időpontjától az utolsó megjelenés időpontjáig, a progresszió bekövetkeztéig, a melanoma specifikus és az attól függetlenül is bekövetkező halál időpontjáig, illetve távoli áttét megjelenéséig mértük. Ennek megfelelően a teljes túlélés (OS), betegség-specifikus túlélés (DSS), progressziómentes túlélés (PFS) és a távoli metasztázis mentes túlélés került meghatározásra (DMFS). A betegek túlélését Kaplan-Meier analízissel és log-rank teszttel értékeltük. A lehetséges prognosztikai faktorok és a túlélés közötti összefüggést Cox regressziós egyváltozós és többváltozós analízissel elemeztük. A SLN biopszia pozitivitásának valószínűségét a prognosztikus paraméterekkel összefüggésben bináris logisztikus regressziós modellel értékeltük. A statisztikai próbák eredményét  $p < 0,05$  érték alatt tekintettük szignifikánsnak.

## **2.3 A target terápia hatékonyságának és biztonságosságának vizsgálata OEP/NEAK (Országos Egészségbiztosítási Pénztár/Nemzeti Egészségbiztosítási Alapkezelő) finanszírozott betegeinknél**

**A vemurafenib (V) monoterápia, a vemurafenib+cobimetinib (V+C), valamint a dabrafenib+trametinib (D+T) kombinációs terápiák valós klinikai indikáció alapján alkalmazott eredményeit, a gyógyszerek hatékonyságát és biztonságosságát, a terápia prediktív faktorait elemeztük.**

### **2.3.1 Vemurafenib monoterápia**

Retrospektív vizsgálatunkban 43, a terápiában részesült betegünk adatait elemeztük, akik 2012 novembere és 2015 októbere között kapták a terápiát.

A következő prediktív faktorok kerültek elemzésre: életkor, nem, ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) státusz, daganatvastagság (Breslow-érték), a betegség stádiuma (az AJCC (American Joint Committee on Cancer 7. verziója), LDH-szint (szérum laktát-dehidrogenáz), megjelöltük, hogy hányadvonalon kapták a terápiát, valamint a BRAF mutáció típusát (BRAfV600E, BRAfV600K vagy egyéb). Jelöltük a cerebrális metasztázis tényét.

A betegek a kezelést az alkalmazási előiratnak megfelelő dózisban kapták, a betegség progressziójáig vagy tolerálhatatlan toxicitásig. Havonta laboratóriumi kontroll, EKG, fizikális vizsgálat történt, a mellékhatásokat CTCAE (Common Terminology Criteria for Advers Events) 4.03 verziója alapján értékeltük.

A terápiás választ RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors) 1.1 verzióinak [39] megfelelően értékeltük.

A *mutáció analízist* cobas® BRAF V600 teszttel végeztük az Országos Onkológiai Intézet Molekuláris Patológiai Osztályán, primer tumorból vagy metasztázisból.

*Statisztikai analízisben* Cox-regressziós, egyváltozós és többváltozós vizsgálatot végeztünk, a p értéket <0,05-ben definiáltuk szignifikánsnak. A statisztikai vizsgálatot R statisztikai szoftverrel (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria; version 3.0.3) végeztük.

### **2.3.2 BRAF+MEK gátló (vemurafenib+cobimetinib, dabrafenib+trametinib) kombinációs terápia**

2015 novembere és 2018 decembere között 118 BRAF pozitív betegnél alkalmaztuk a target terápiás kombinációt. BRAF pozitív ECOG 0-1-2 státuszú betegeknél multidiszciplináris onkoteam döntése alapján indikáltuk a terápiát, agyi metasztázis esetében dabrafenib+trametinib kezelést adtunk.

38 beteg kapott vemurafenib+cobimetinib, 80 pedig dabrafenib+trametinib kombinációt. Cerebrális metasztázis esetében ez utóbbi kombinációt alkalmaztuk klinikai vizsgálatok eredményeinek megfelelően. Ebben a betegcsoportban 49%-nak volt agyi áttéte.

Vizsgálatunkban a vemurafenib monoterápiában már leírt prediktív paramétereket vizsgáltuk.



Betegeink az alkalmazási előiratoknak megfelelően kapták a terápiát, a havonta történő kontrollok során szemészeti és kardiológiai vizsgálatok is történtek. A terápiás választ is a RECIST 1.1 verzióknak megfelelően értékeltük, a nemkívánatos eseményeket pedig a CTCAE 4.03 verziója alapján.

Túlélésnél a PFS és az OS értékek kerültek elemzésre. A statisztikai vizsgálatok és a molekuláris patológiai vizsgálatok is megegyeztek a vemurafenib terápia elemzésekor használt módszerekkel.

## **2.4 Az ipilimumab terápia klinikai vizsgálatai**

**Célunk volt az első túlélést meghosszabbító immunterápia, az anti-CTLA-4 ipilimumab hatékonyságának, mellékhatásainak, a túlélést meghatározó klinikai és szövettani markerek prediktív értékének meghatározása saját betegeinknél, valamint a 10 mg/tskg vs. 3 mg/tskg dózisú kezelés összehasonlítása nemzetközi multicentrikus vizsgálatban**

### **2.4.1 Az anti-CTLA 4 (ipilimumab) klinikai hatékonyságának és toxicitásának vizsgálata az OOI betegeinél**

Retrospektív vizsgálatunkban III-as vagy IV-es stádiumú betegeknél adtuk a kezelést, 47 beteg adatait értékeltük.

A stádiumba sorolás az AJCC 7. verziója szerint történt.

A terápiás választ az Immun-Related Response Criteria (irRC) irányelvei alapján határoztuk meg.

A betegek jellemzőit és a terápiás válasz értékeit leíró statisztikával (százalék, medián, terjedelem) adtuk meg. A túlélési paramétereket (PFS, OS) Kaplan-Meier módszerrel, a medián követési időt fordított Kaplan-Meier teszttel vizsgáltuk. Az elemzést a Statistica 12.5 Statsoft, Tulsa, Ok programmal végeztük, a p értéket 0,05-ben határoztuk meg statisztikailag szignifikánsnak.

A nemkívánatos eseményeket a CTCAE 4.0 verziója alapján kategorizáltuk.

### **2.4.2 A 10 mg/tskg ipilimumab terápia hatékonysági és biztonságossági vizsgálata a 3 mg/tskg ipilimumab terápiával összehasonlítva, randomizált kettős vak, hármas fázisú multicentrikus vizsgálat**

A multicentrikus vizsgálat a kétféle dózis összehasonlítását tűzte ki célul III-as fázisú tanulmányban.

A vizsgálat 87 centrumban, 21 országban zajlott, amelybe előzetesen nem kezelt III-as és IV-es stádiumú előrehaladott melanómában szenvedő betegeket választottunk be 18 év fölött, ECOG 0-1 státuszban, akiknek a WHO kritériumok alapján mérhető tumoruk volt az első dózist megelőző 28 napban.

A betegek 1:1 arányban kerültek randomizálásra 10 mg/tskg vagy 3 mg/tskg dózisokba.

Végpontok: A teljes túlélés volt az elsődleges végpont, ami minimum 12 hetente került felmérésre, utolsó kontroll dátumát tekintettük cenzoráltnak, amikor a páciens még dokumentáltan életben volt. A másodlagos végpont a progressziómentes túlélés volt, a terápiás válasz értékelése a módosított WHO kritériumok alapján történt. További másodlagos végpont mindkét terápiás karon az életminőség értékelése volt.

Az elsődleges végpont elemzésére 700 beteg analízise volt a cél, mert 540 esemény volt szükséges a 0,744 kockázati arány felmérésére. Interim analízis is tervezett volt, de a betegbeválasztás gyorsasága miatt, ami kevesebb volt, mint 5 hónap, módosítottuk a protokollt a végső túlélési adatelemzésre, ami minimum két év követésnél került elvégzésre. Az OS és a PFS tekintetében log-rank teszttel a randomizált csoportok összehasonlítása stratifikáció szerint, valamint Cox modellel is történt.

A statisztikai elemzések a SAS 9.3 és 9.4 verziója segítségével történtek. A tanulmány NCT01515189 számon került regisztrálásra a ClinicalTrials.gov honlapon.

A vizsgálati eredmények 5 éves követéssel aktualizáltak is megjelentek. Az elsődleges végpont az OS volt, másodlagos végpont az OS 5 évig évente történt megállapítása, illetve OS agyi metasztázis esetében, ORR, PFS és biztonságosság. A vizsgálatban a reindukciós kezelést kapott betegek gyógyszerhez köthető mellékhatásai kerültek értékelésre.

Az 5 éves követési eredmények statisztikai vizsgálata során rétegezett log-rank tesztet alkalmaztunk a randomizált csoportok OS értékeinek összehasonlítására. Kockázati arányok (HR) és kétoldalú 95%-os CI értékek rétegezett Cox modell segítségével kerültek becslésre a randomizált csoportokban, ahol ez volt az egyetlen kovariáns. Eseménymentes OS valószínűségeket Kaplan-Meier módszerrel kerültek megállapításra. A medián értékek és az ehhez kapcsolódó 95%-os konfidencia intervallumok Brookmeyer és Crowley módszer segítségével kerültek kiszámításra.

A statisztikai elemzések a SAS 9.3 és 9.4 verziója segítségével történtek.

## **2.4.3 Az ipilimumab terápia klinikai biomarkereinek elemzése**

A következő prediktív faktorokat elemeztük: kor, nem, ECOG-státusz, a primer tumor lokalizációja, a metasztatikus szervek száma, stádium, BRAF és NRAS mutáció, hányadik vonalban adtuk a kezelést, gyógyszerrel összefüggő nemkívánatos események, laboratóriumi paraméterek.

A minőségi vérképet automatikus sejtszámlálóval határoztuk meg. Az abszolút neutrofil számnál (ANC) 1,9-7 G/L, az abszolút limfocitaszámnál (ALC) 4-11 G/L, az abszolút eozinofil számnál (AEC) 0,04-0,4 G/L, az LDH-nél 226-451 U/L, a vérsejtsüllyedésnél (ESR) 2-20 mm/h értéket tekintettük normál tartománynak. Mértük a neutrofil/limfocita (NLR) és az eozinofil/limfocita (ELR) arányt is.

A mutáció analízist (BRAF, NRAS) a korábban leírtak szerint Cobas teszttel végeztük.

A paraméterek és a terápiás válasz közti összefüggést Mann-Whitney U-teszttel és Fisher-gzakt teszttel vizsgáltuk. A leukocita- és szérum markerek és a túlélés összefüggését ROC-analízissel, küszöbértéket használva határoztuk meg. A PFS és OS vonatkozásában log-rank tesztet használtunk. Az egyváltozós vizsgálatban szignifikáns értékeket Cox-regressziós analízisben elemeztük. A p értéket 0,05 alatt tekintettük szignifikánsnak. Statistica 12.5 (Statsoft, Tulsa, OK) programmal végeztük.

## **2.4.4 Az ipilimumab terápia potenciális szövettani – tumort-infiltráló limfociták – biomarkerei**

Vizsgálatunkban a tumort-infiltráló immunsejtek terápiás válasszal és túléléssel való összefüggését analizáltuk ipilimumab terápiánál.

2010 és 2014 között metasztatikus és irrezekábilis melanoma indikációban ipilimumab terápiában 4 centrumban részesült betegek archivált paraffinba ágyazott szövetmintáit használtuk fel azoknál a betegeknél, akiknél nem több, mint egy évvel a terápia megkezdése előtt történt a mintavétel. 30 beteg 86 mintáját vizsgáltuk: 52 nyirokcsomó metasztázist, 34 szubkután/kután metasztázist.

A formalinban fixált paraffinba ágyazott tumorminták három mikrométeres metszetekben kerültek felhasználásra immunhisztokémiai vizsgálat céljából CD8, CD20cy, CD45RO, CD68 (Dako, Glostrup, Denmark), CD16, CD137 (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX), CD134 (BD Biosciences Eastern Europe, Heidelberg, Germany), FOXP3 (236A/E7; eBioscience, San Diego, CA), NKp46 (R&D Systems, Abingdon, UK), CD4, and PD-1 (Cell Marque, Rocklin,

CA). Az antitestek kimutatására az SS<sup>TM</sup> One-Step Polymer-HRP IHC Detection System (BioGenex, Fremont, CA) alkalmazását követően, 3-amino-9-ethylcarbazzollal (AEC; Vector Laboratories, Inc., Burlingame, CA) tettük láthatóvá, valamint hematoxilinnel háttérfestés végeztünk.

Statisztikai vizsgálatra Mann-Whitney U tesztet,  $\chi^2$  tesztet és Pearson tesztet használtunk a különböző sejttípusok denzitásának összehasonlítására, a túlélési vizsgálatokra Kaplan-Meier és Mantel-Cox tesztet alkalmaztunk. Egy- és többváltozós Cox regressziós analízist végeztünk. A p értéket <0,05 értékben definiáltuk. BMDP statisztikai szoftvercsomagot használtunk.

## **2.5 Az anti-PD1 terápia (pembrolizumab, nivolumab) a klinikai gyakorlatban**

**Az anti-PD-1 terápia klinikai értékének megállapítását céloztuk meg a prediktív paraméterek és a terápiás válasz, valamint a túlélési eredmények (PFS és OS) és a biztonságosság vizsgálatával saját betegeinknél**

Osztályunkon 2015 márciusa és 2020 decembere között 222 előrehaladott melanómában szenvedő betegnél alkalmaztunk NEAK finanszírozásban PD-1 gátló pembrolizumab vagy nivolumab monoterápiát első- vagy többedvonalban. Célunk volt a gyógyszer hatékonyságának vizsgálata (ORR, PFS, OS) a különböző prediktív paraméterekkel összefüggésben, valamint a klinikai gyakorlatban jelentkező mellékhatások felmérése és ezek összefüggése a hatékonysággal.

A terápia indikációjáról multidiszciplináris onkoteam döntött, előrehaladott melanómában szenvedő, legalább ECOG 2-es performance státuszú betegeket választottunk be első- vagy többedvonalban, illetve akiknek stabil cerebrális státuszuk volt agyi áttét esetén. A finanszírozási korlátozások miatt BRAF pozitív betegek csak másodvonalban részesültek a terápiában.

Szisztémás autoimmun betegség, 8 mg-ot meghaladó metilprednizolon terápia kizárási kritériumot képeztek.

A mellékhatásokat a CTCAE 4.03 verzió alapján soroltuk be. A terápiás választ az immun RECIST kritériumoknak megfelelően a 12., 16. héten mértük fel, ezt követően a betegeket háromhavonta kontrolláltuk.

## LiszkayGabriella\_31\_22

A vizsgált paraméterek a beteg ECOG státusza, M és N (irreszekábilis) stádiuma az AJCC 8. verziója alapján, a kezdeti LDH érték, a BRAF státusz, agyi metasztázis jelenléte, az autoimmun és az egyéb nemkívánatos események voltak.

A túléléseket Kaplan-Meier görbékkel elemeztük, szignifikanciájukat log-rank teszttel állapítottuk meg, többváltozós analízisben Cox-regressziós modellt alkalmaztunk, a szignifikancia szintjét  $<0,05$ -nél definiáltuk, az analízist a Statistica 13.5 (TIBCO Software, Palo Alto, CA) felhasználásával végeztük el.

## 3 Eredmények

### 3.1 Hazai epidemiológiai adatok elemzése melanomában

#### 3.1.1 Átfogó incidencia és mortalitás vizsgálat melanomában (2011-2019, országos epidemiológiai tanulmány)

##### *Incidencia*

A korstandardizált incidencia hányadosok (ESP 2013) férfiaknál magasabbak voltak, mint nőknél; 16,14%-os incidencia növekedési arányt találtunk 2011 és 2015 között férfiaknál (átlagos éves változás 3,81  $p=0,067$ ). Ezzel ellentétesen 12,77%-os csökkenést észleltünk a 2015-2019-es időszakban (átlagos éves változás, mínusz 3,36,  $p=0,062$ ).

A korstandardizált incidencia arány nőknél 18,82%-kal növekedett 2011-2015 között, ami szignifikánsnak bizonyult; 22,63-ról 26,72%-ra ( $p<0,001$ ) nőtt, ezt követően 11,35%-kal csökkent 2019-re.

A standardizált incidencia arányok a teljes melanoma populációban 3,76%-kos szignifikáns ( $p=0,009$ ) növekedést mutattak az első periódusban, szintén szignifikánsan 3%-os csökkenést mutattak ( $p=0,035$ ) a második szakaszban.

A két vizsgált időszakban a teljes populációban és a nőknél szignifikáns különbségeket találtunk (teljes populációban mínusz 6,15%,  $p=0,011$ ; nőknél mínusz 7,06%  $p=0,002$ ) és nem szignifikáns trendváltozást férfiaknál ( $p=0,063$ ).

##### *Mortalitás*

A melanoma korstandardizált betegség-specifikus mortalitási rátái 5,98% és 4,73% éves 100.000 lakosra vonatkoztatott változást mutattak férfiaknál, ugyanez 2,33-3,20 volt nőknél 2011-2018-ban. Nem volt szignifikáns a melanoma specifikus korstandardizált mortalitás férfiaknál 2011-2018 között, nőknél sem észleltünk szignifikáns változást.

Mindazonáltal 16,5%-os szignifikáns ( $p=0,013$ ) csökkenést találtunk 2011-2018 között a teljes melanoma populációnál. Nem találtunk szignifikáns különbséget a 2011-2015 és a 2015-2018 periódusban, sem a nemeket tekintve, sem pedig a teljes melanoma populációban.

##### *Az incidencia és mortalitás összehasonlítva más európai országokkal*

Jelenlegi vizsgálatunkban a korstandardizált melanoma incidencia 20,41% volt férfiaknál, a korstandardizált mortalitás pedig 3,01 2018-ban (ESP 1976). Eredményeink különböznek a Ferlay és munkatársai (GLOBOCAN) által becsült 14,0 incidencia és 2,9 mortalitási

arányoktól. Szintén jelentős különbséget találtunk a nőknél általunk 2018-ra megállapított 20,13%-os incidencia és 1,66%-os mortalitás vonatkozásában. Ugyanez a fenti szerzőnél 13,20 és 2,10 volt.

### **3.1.2 A mortalitás és incidencia arány országos retrospektív vizsgálata Magyarországon**

Éves magyar mortalitás/incidencia arányok

A melanoma incidencia 2015-ig növekedett, ezt követően fokozatosan csökkent vizsgálati adataink alapján, a melanoma mortalitás 2014-ben kezdett csökkenni. A MIR 0,145 és 0,166 között változott a teljes melanoma populációban 2011-2014 között, 2015 óta pedig 0,130-as értékben stabilizálódott.

A regressziós koefficiens -0,005 volt, ami megfelelt a teljes vizsgálati periódus -0,035-ös értékének a teljes vizsgált periódusban (95% CI: -0,056 – -0,013; p=0,0076).

A MIR alacsonyabb volt nőknél, mint férfiaknál vizsgált időszakunkban férfiaknál 0,156-tól 0,201-ig terjedt, nőknél 0,087-től 0,131-ig.

A nemeket figyelembe vevő MIR trendek kissé különböznek a teljes populációtól. Férfiaknál a MIR 2012-es csúcserőke után egy nagyobb csökkenés következett be, valamint egy kismértékű és folyamatos növekedés volt észlelhető 2016-ig. A MIR a nőbetegeknél 2011 és 2014 között növekedett, ezt követően pedig kifejezetten csökkent 0,087-re a 2015-ös évre, és lassan növekedett a vizsgálati periódus végéig. A MIR változása megegyezett a férfiakéval (-0,031; 95% CI: -0,059 – -0,003; p=0,0335) és a nőkével (-0,031; 95% CI: -0,066 – 0,003; p=0,0686). A MIR értékek az 1976-os Európai Standard Populációnak megfelelően hasonló tendenciákat mutattak, 2012-ben az érték 0,150 volt (férfiaknál 0,194, nőknél 0,107), 2018-ban 0,113 (férfiaknál 0,148, nőknél 0,082).

*A magyarországi MIR értékek összehasonlítása az európai országokéval*

A melanoma magyarországi korstandardizált előfordulása hasonló az európai országokéhoz, a mortalitás tekintetében azonban közelebb állnak egymáshoz, mint incidencia vonatkozásában.

Az átlagos európai MIR 2012-ben 0,245 volt férfiaknál és 0,163 nőknél; 2018-ra ez 0,202-re változott férfiaknál, 0,130-ra nőknél. A nyugat-európai (WE) és az észak-európai (NE) MIR értékek mind 2012-ben, mind 2018-ban a legalacsonyabbak voltak, a közép-kelet-európai adatok (CEE) pedig mindkét évben a legmagasabbak voltak. 2018-ban Magyarországon a régió legalacsonyabb MIR értékei kerültek kimutatásra mindkét nembben, ez összehasonlítható volt a nyugat- és észak-európai országok átlagával (férfiaknál 0,162 és 0,133, nőknél 0,095 és 0,076

2012-ben és 2018-ban). 2018-ban a MIR érték nyolcadik volt az európai országokat tekintve férfiaknál, hatodik volt nőknél.

Az egy főre eső egészségügyi kiadások (HE, Health expenditure) Görögország kivételével mindenütt emelkedtek (Máltán és Szlovéniában 2012-re vonatkozó adatok nem voltak, csak a 2018-as év állt rendelkezésre). Magyarország és Csehország mind 2012-ben, mind 2018-ban kevesebb kiadást fordított az egészségügyre, mint más országok Európában, hasonló MIR érték mellett. Ez elsősorban arra utal, hogy az onkológiai ellátás finanszírozása kiemelt fontosságú.

### **3.1.3 A melanoma incidencia, mortalitás és a MIR értékek a Nemzeti Rákregiszter elemzésében Magyarországon**

A Rákregiszter adatbázisa alapján 2019-ben az új esetszámokat tekintve a melanóma a 9. leggyakoribb rosszindulatú daganat volt Magyarországon, az utóbbi évek új esetszámai megközelítették a 3000-et. A gyakoriság nők körében kissé magasabbnak bizonyult, azonban, összhangban a nemzetközi trendekkel, az esetszám két évtized alatt mindkét nemnél mintegy megduplázódott ( $p < 0,001$ ;  $R > 0,9$ ).

A halálozást tekintve a hazai évi 300-400 közötti esetszám alapján a melanóma nincs a 10 legmagasabb mortalitású daganat között, és az esetszám két évtized alatt nem is változott számottevően. A mortalitásnál már a nyers esetszámoknál is férfi túlsúly tapasztalható, mely a standardizációt követően még kifejezettebb lesz. Mindazonáltal, akár a nyers, akár a standardizált esetszámokat vesszük, a vizsgált két évtizedes időszakban számottevő változás nem mutatkozott ( $p > 0,05$ ).

A MIR széles körben elfogadott mutató az onkológiai ellátás színvonalának felmérésére. A vizsgált időszakban a nyers esetszámokból számított mortalitás/incidencia hányad együttesen, illetve nem szerinti bontásban is szignifikáns csökkenést mutatott ( $p < 0,05$ ;  $R < -0,9$ ), vagyis a diagnosztizált betegek túlélése javult.

Mindazonáltal, a MIR-nél megbízhatóbb információt ad a túlélés közvetlen elemzése. Ehhez a 2001-2005, a 2011-2015, és a 2018-19 közötti eseteket vizsgáltuk, melyek az onkológiai terápia szempontjából alapvetően más időszaknak minősülnek: míg az első időszakban csak a hagyományos kezelési módszerek voltak elérhetőek, addig a második időszakban már széles körben használták a genetikai profil alapján célzott terápiás szereket, a harmadik időszakban pedig az immunterápia is teret nyert.



A Kaplan-Meier görbéken jól látható, hogy a melanóma az időben felfedezett esetek magasabb aránya miatt a viszonylag kedvezőbb túlélésű malignitások közé tartozik, ezen felül megállapítottuk, hogy a referenciaidőszakhoz (2001-2005) képest mind 2011 és 2015, mind 2018 és 2019 között egyre javult a kimenetel.

### **3.1.4 Prognosztikus paraméterek változása az újonnan diagnosztizált melanomák esetében az Országos Onkológiai Intézet betegeinél**

1998-ban 149, 2008-ban 377 kután melanomát regisztráltunk ambulanciánkon, ami 153%-os növekedést jelent. Az átlagéletkor 1998-ban 56,3 év, 2008-ban 57,2 év volt. 1998-ban a férfiak aránya 43%, 2008-ban 49% volt ( $p=0,229$ ).

A Breslow-értéket, vagyis a mm-ben mért tumorvastagságot megvizsgálva azt találtuk, hogy az 1 mm alatti daganatok aránya 45,3%-ról ( $n=67$ ) 59,2%-ra ( $n=223$ ) nőtt, az 1–2 mm közötti daganatok aránya 23%-ról ( $n=34$ ) 15,5%-ra ( $n=58$ ), a 2–4 mm közötti daganatok aránya 16,2%-ról ( $n=25$ ) 15,5%-ra ( $n=58$ ), a 4 mm-nél vastagabb daganatok aránya pedig 15,5%-ról ( $n=23$ ) 9,9%-ra ( $n=38$ ) csökkent. A Breslow értékek átlaga 1998-ban 2,2 mm, míg 2008-ban 1,6 mm volt ( $p=0,0002$ ), ami magasan szignifikáns csökkenést jelent.

Szintén kedvező változás, hogy férfiaknál az 1 mm-nél vékonyabb daganatok aránya növekedett 39,7%-ról 55,1%-ra. Csökkent a diagnosztizált 1-2 mm vastagságú daganatok aránya 25,4%-ról 14,1%-ra. A 2–4 mm közötti daganatvastagság 12,7%-ról 18,9%-ra növekedett, a 4 mm-nél vastagabb tumorok százalékos aránya csökkent 22,9%-ról 11,9%-ra.

Nőknél is azt tapasztaltuk, hogy az abszolút jó prognózisú 1 mm-nél vékonyabb daganatok aránya 49,4%-ról 63,2%-ra növekedett, a vastagabb daganat kategóriáknál valamennyi daganatvastagság csoportban csökkenést találtunk; az 1–2 mm közötti tumoroknál 21,2%-ról 16,8%-ra, a 2–4 mm között 18,8%-ról 12,1%-ra, a 4 mm-nél vastagabb daganatoknál pedig 10,6%-ról 7,9%-ra változott az arány.

A 20–40 év közötti betegeknél 10 év alatt férfiaknál az átlagos tumorvastagság 3,38 mm-ről 1,47 mm-re nőknél 1,38 mm-ről 1,18 mm-re csökkent.

A 40–60 éves korcsoportban férfiaknál 2,28 mm-ről 1,33 mm-re, nőknél 1,74 mm-ről 1,21 mm-re csökkent az átlagos tumorvastagság 10 év alatt.

A 60 évnél idősebb férfiaknál az átlagos tumorvastagság 2,43 mm-ről 2,04 mm-re; nőknél 2,49 mm-ről 1,47 mm-re csökkent egy évtized alatt.

A korrelációs együttható szignifikanciája nők esetében 1998-ban  $p=0,02$ ; 2008-ban  $p=0,04$ , férfiaknál 1998-ban  $p=0,89$ , 2008-ban  $p=0,47$  volt.

A Breslow érték 10 év távlatában igazolt szignifikáns csökkenése a sikeres szekunder prevenciót bizonyítja.

### **3.2 Az őrszem nyirokcsomó státusz és a primer tumor BRAF és NRAS mutációjának jelentősége a melanoma prognózisában**

#### **3.2.1 Az őrszem nyirokcsomó biopszia klinikai értéke betegeinknél**

Az Országos Onkológiai Intézetben 850 esetben, 453 (53%) nőbetegnél és 397 (47%) férfi betegnél végeztük el az őrszem nyirokcsomó biopsziát.

A medián követési idő 5,7 év (0-15 év) volt.

Eredményeink jól demonstrálják, hogy az őrszem nyirokcsomó pozitív betegek daganatvastagsága nagyobb volt (2,92 mm vs. 1,85 mm), 38 betegnél (40,9%) volt a primer tumor exulcerált az őrszem nyirokcsomó pozitív betegeknél, 111 (17,4%) betegnél a negatív csoportban. Míg az őrszem nyirokcsomó pozitív betegeknél 61,3%-ban jelentkezett progresszió, addig az őrszem nyirokcsomó negatív betegeknél csak 15%-ban. Halálozás a pozitív csoportban 46,3% volt, az őrszem nyirokcsomó negatív betegeknél ez csak 12,6% volt. Az ötéves túlélés az SLNB negatív betegeknél 90% fölött van, a pozitív betegeknél 60%.

A sentinel nyirokcsomó státusz független prediktorainak a Breslow daganatvastagság, a primer tumor exulcerációja erős szignifikanciával, az életkor pedig éppen szignifikáns értékkel bizonyult prediktívnek.

A túlélés független prediktorai Cox regressziós analízisben a sentinel nyirokcsomó státusz és a Breslow daganatvastagság voltak, mindkét érték magas szignifikanciával szerepelt.

850 betegünk retrospektív vizsgálata igazolta nagy tanulmányok eredményeit, betegeinknél a Breslow daganatvastagság mellett az őrszem nyirokcsomó státusz bizonyult a túlélés legfontosabb prediktorának.

#### **3.2.2 A primer tumor BRAF és NRAS mutációjának prognosztikai és prediktív értéke a sentinel nyirokcsomó státusszal összefüggésben**

Retrospektív vizsgálatunkban 159 betegnél, akinél a primer tumor eltávolítása és a sentinel nyirokcsomó műtét is Intézetünkben történt, vizsgáltuk a primer tumor BRAF és NRAS, valamint duplavad státuszának kapcsolatát – egyéb paraméterek mellett – az őrszem nyirokcsomó biopsziával összefüggésben, valamint a prognosztikus faktorok és a betegség

kimenetelének kapcsolatát, 61 hónap (1-96) medián követési idővel. Az őrszem nyirokcsomó biopszia valamennyi betegnél sikeres volt. 29 esetben találtunk metasztatikus sentinel nyirokcsomót (18,2%), 130 esetben (81,8%) a vizsgált nyirokcsomók negatívak voltak.

Egyváltozós vizsgálatban a SLN státusz pozitív korrelációt mutatott a Breslow tumorvastagsággal ( $p=0,008$ ), megerősítve 850 beteget magába foglaló tanulmányunk eredményét. A SLN negatív betegeknél a medián Breslow tumorvastagság 1,64 mm (0,51-20 mm), míg a pozitív betegeknél 2,45 mm (0,79-15 mm) volt. A sentinel nyirokcsomó státusz és a primer tumor exulcerációja szintén szignifikáns összefüggést mutatott ( $p=0,007$ ). 26,6%-ban észleltünk exulcerált primer tumort negatív SLN státusz esetén, míg 51,7%-ban SLN pozitív betegeinknél volt kifehélyesedett a primer tumor, ami hasonló volt előző tanulmányunk megállapításához. A primer tumor mitotikus aktivitása különbözött a SLN pozitív és negatív betegeket vizsgálva ( $p=0,009$ ), amely szintén szignifikánsnak bizonyult. SLN negatív betegeknél medián 3/mm<sup>2</sup> (0-31), míg SLN pozitív betegeknél 5/mm<sup>2</sup> (1-30) volt a medián mitóziusszám. A primer tumor limfovaszkuláris/perineuralis inváziója korrelációt mutatott a SLN státusszal ( $p=0,004$ ), SLN pozitív betegek primer tumorában 34,5%-ban volt jelen, míg negatív esetben csupán 12,3%-ban. BRAF mutációt vizsgálva kismértékben nagyobb arányban detektáltuk SLN pozitív betegeink primer tumorában, a negatív esetekhez képest (65,5%, 54,6%), de ez a különbség nem bizonyult szignifikánsnak. Kiemelendő, hogy a primer tumor csak 6,9%-ban hordozott NRAS mutációt SLN pozitív tumoroknál, míg 20,8%-ban azon primer daganatoknál, ahol az SLN biopszia negatív volt, azonban ez az eltérés sem mutatott statisztikailag szignifikanciát.

A vizsgált klinikopatológiai faktorok közül többváltozós analízissel egyedül a tumorvastagság növelte a SLN-pozitivitás kockázatát (OR:4,222, 95%CI:1,201-14,873;  $p=0,0025$ ), míg az egyéb klinikopatológiai paraméterek nem bizonyultak prediktív faktornak.

A BRAF, NRAS, valamint a dupla vad primer tumorokat összehasonlítva az életkor ( $p=0,001$ ) és a Breslow tumorvastagság ( $p=0,018$ ) mutatott szignifikáns különbséget egyváltozós vizsgálatban. A BRAF mutáns betegek fiatalabb életkorúak voltak, míg az NRAS pozitív primer tumorok Breslow tumorvastagsága szignifikánsan nagyobb volt, mint a BRAF pozitív, illetve a kettős vad csoportban. A törzsi lokalizáció kissé gyakrabban jelent meg NRAS mutációval társulva (58,6%), míg BRAF mutáció esetén (51,1%), kettős vad típusú tumoroknál (31,1%) a százalékos arány kisebb volt. Az NRAS mutáns tumorok 24,1%-a noduláris szövettani altípusba tartozott, míg BRAF mutáció esetén 16,7%-ban, kettős vad típusnál pedig 17,9 %-ban fordult elő nodularis primer melanoma.

## *A betegség kimenetele*

Egyváltozós Cox regressziós analízis azt mutatta, hogy a primer tumor Breslow daganatvastagsága, exulcerációja, mitózis száma és az invázió jelenléte szignifikáns összefüggést mutatott a PFS, a DMFS, a DSS valamint az OS kategóriákkal.

A betegek életkora összefüggést mutatott a DMFS és az OS értékekkel. A SLN státusz a PFS ( $p=0,001$ ) és a DMFS ( $p=0,006$ ) túlélési paraméterekkel is szignifikáns összefüggést mutatott. OS és DSS esetén nem észleltünk szignifikanciát, bár DSS esetén a szignifikancia szintet megközelítette az elemzés. Az NRAS státusz negatívan befolyásolta a túlélést: NRAS mutáció esetén szignifikánsan rövidebb PFS ( $p=0,048$ ) és OS ( $p=0,037$ ) értékeket mutattunk ki.

Egyváltozós modellben Kaplan-Meier görbék statisztikai analízisével mind a PFS, mind a DMFS esetén szignifikanciát észleltünk a sentinel negatív és pozitív betegcsoportok összehasonlításánál ( $p=0,001$ ,  $p=0,004$ ). A DSS szignifikancia határhoz közeli értéket mutatott ( $p=0,052$ ): az 5 éves DSS túlélési arány SLN negativitás esetén 92,7%, míg pozitív esetben 77,5% volt. A teljes túléléssel nem igazoltunk szignifikáns összefüggést a SLN pozitív és negatív csoportot elemezve. A túlélést a BRAF, NRAS, és kettős vad típusú mutációkkal kapcsolatban vizsgálva, az NRAS mutáció esetén a túlélés rosszabb volt, a kettős vad és BRAF pozitív esetek kedvezőbb prognózisú, hasonló túlélési mintázatot mutattak. Ha a BRAF mutáns és a vad típusú csoportot összevetve vetettük össze a betegek túlélését az NRAS pozitív csoporttal, statisztikailag szignifikáns negatív összefüggést észleltünk mind a PFS ( $p=0,047$ ), mind az OS ( $p=0,035$ ) esetén. A DMFS és DSS nem bizonyult szignifikánsnak az NRAS mutációval kapcsolatban. Az 5 éves túlélés az összevetett BRAF vad csoportban 82,9%, míg az NRAS pozitív csoportban 63,3% volt.

Az egyváltozós vizsgálat eredményeivel összehasonlítva az exulceráció, a mitózisszám és a limfovaszkuláris invázió gyengébb prediktív értékűnek bizonyult többváltozós vizsgálatlaltal.

A Breslow tumorvastagság többváltozós analízissel is a túlélés legerősebb prediktorának bizonyult. Az egyváltozós analízishez hasonlóan a sentinel nyirokcsomó státusz továbbra is prediktív tényező volt a PFS ( $p=0,005$ ) és a DMFS ( $p=0,034$ ) vonatkozásában.

Az NRAS mutáció a PFS szignifikáns negatív prediktora volt többváltozós analízissel is ( $p=0,047$ ) és közel szignifikánsnak találtuk a DMFS értékkel összefüggésben ( $p=0,06$ ). Többváltozós elemzésben a primer tumor BRAF mutációja és a betegség kimenete között nem találtunk statisztikailag igazolható összefüggést.

A betegek életkora független prediktor volt az OS és a DSS vonatkozásában mind egy-, mind többváltozós analízisben.

### **3.3 A target terápia hatékonyságának és biztonságosságának vizsgálata OEP/NEAK (Országos Egészségbiztosítási Pénztár/Nemzeti Egészségbiztosítási Alapkezelő) finanszírozott betegeinknél**

#### **3.3.1 Vemurafenib monoterápia**

43 metasztatikus melanómában szenvedő BRAF pozitív betegünk részesült vemurafenib monoterápiában. A medián követési idő 15,9 hónap volt.

A terápia hatékonyságát vizsgálva, 22 (51,1%) betegnél objektív tumorválaszt észleltünk a vemurafenib terápia mellett, ebből 5 beteg (11,6%) komplett remisszióba került, 17 beteg parciális remisszióba (39,5%). Stabil betegséget 27,9%-ban mutattunk ki. A betegségkontroll arány (DCR) 88,4% volt. 5 beteg esetén progresszív betegséget, primer rezisztenciát tapasztaltunk (11,6%).

A medián progressziómentes túlélés 6,48 hónapnak (95% CI: 4,8-15,0), a medián teljes túlélés 11,47 hónapnak bizonyult (95% CI:8,08-NA).

Kiemeljük, hogy betegpopulációnkban a betegek 72%-a másod-harmad-negyed vonalban kapta a kezelést, tekintettel arra, hogy disszeminációjuk kezdetekor a BRAF inhibitor terápia még nem volt elérhető.

A cerebrális metasztázisú alcsoport túlélési adatait vizsgálva (6 beteg) 50%-os remissziós rátát igazoltunk (3 beteg), ezen belül 1 betegünk komplett, 2 beteg parciális remisszióba került. 3 betegnél (50%) progresszív betegséget észleltünk. A medián PFS cerebrális metasztázis esetén 4,5 hónap volt, a medián OS 6,8 hónap.

Cox regressziós modellben vizsgálva, egyváltozós analízissel a teljes túlélést szignifikánsan meghatározó tényezőnek a terápia kezdetekor mért LDH szint bizonyult (HR: 4.89, CI: 1,97-12,13, p=0,000613). Az egyéb vizsgált változók tekintetében nem találtunk szignifikanciát. Az LDH szint többváltozós elemzéssel is szignifikáns összefüggésben maradt a teljes túléléssel, így a túlélés legerősebb prediktív faktorának bizonyult ebben a vizsgálatunkban (HR:4,65, CI: 1,32-16,38, p=0,0168).

A leggyakrabban jelentkező gyógyszerrel összefüggő mellékhatások (AEs) a follicularis hyperkeratosis, fotoszenzitivitás, maculopapulosus rash, arthralgia voltak. A mellékhatások 52%-a a bőrrel összefüggő mellékhatás volt, Grade 3 mellékhatást (maculopapulosus rash,

laphám cc. kialakulása, arthralgia, QTcB emelkedés) 7 esetben észleltünk (16,3%). Grade 4 mellékhatás nem fordult elő, szekunder melanoma nem jelent meg a vizsgált betegpopulációban.

A vizsgált betegeinknél nem kényszerültünk a terápia végleges abbahagyására egy esetben sem. 13 (30,2%) betegnél a kialakult terápiával összefüggést mutató mellékhatások miatt dózisredukció történt, 8 betegnél 1-es szintű (75%-os dózis), 5 betegnél 2-es szintű dózismodifikációt végeztünk (50%-os dózis). A terápia felfüggesztése leggyakrabban arthralgia és maculo-papulosus kiütés miatt történt.

### **3.3.2 BRAF+MEK gátló (vemurafenib+cobimetinib, dabrafenib+trametinib) kombinációs terápia**

Második target terápias vizsgálatunkban 118 BRAF pozitív, metasztatikus melanomában szenvedő, OEP/NEAK finanszírozás keretein belül BRAF-MEK gátló kezelésben részesült betegeinkkel szerzett klinikai tapasztalatainkat összegeztük. Célunk a terápia hatékonyságának megállapítása, valamint a mellékhatások feltérképezése volt. 2015 novembere és 2018 decembere között 118 betegünkönél (100,0%) alkalmaztunk kombinációs kezelést. 80 (67,8%) beteg kapott dabrafenib+trametinib kezelést, 38 (32,2%) beteg vemurafenib+cobimetinib terápiát.

A medián követési idő a dabrafenib+trametinib terápiában részesülő csoportban 12 hónap (3-43), a vemurafenib+cobimetinib terápiában részesülő csoportban 18 hónap volt (3-43). A terápia eredményességét vizsgálva objektív választ dabrafenib+trametinib terápia esetén a betegek 82%-ában (7% komplett remisszió, 75% parciális remisszió), értünk el. 8%-ban stabil betegséget, 10%-ban progresszív betegséget észleltünk. A medián PFS 8,5 hónapnak, a medián OS 12 hónapnak bizonyult.

A dabrafenib+trametinib terápiában részesülő betegeket 2 csoportra osztottuk túlélési mutatóik elemzése céljából, a cerebrális metasztázisú és az agyi áttétől mentes csoportra. A szelektált, terápia kezdetekor agyi metasztázisú alcsoportot vizsgálva szignifikáns összefüggést észleltünk a medián PFS ( $p \leq 0,0002$ ), valamint a medián OS ( $p \leq 0,0001$ ) vonatkozásában a két alcsoport között. A cerebrális metasztázisú alcsoportban 11 hónapos medián OS (3-26), valamint 7 hónapos (1-26) medián PFS értékeket értünk el. A dabrafenib+trametinib terápiában részesülő cerebrális metasztázisban nem szenvedő betegeknél jelentősen jobb mutatókat detektáltunk: medián OS 18,5 hónap (5-43), medián PFS 14 hónap (3-43).

Vemurafenib+cobimetinib terápia esetén a betegek 76%-ában találtunk objektív választ (15% komplett remisszió, 61% parciális remisszió). A betegek 14%-ánál stabil betegséget értünk el, 10%-nál progressziót észleltünk. A medián PFS 8 hónapnak, a medián OS 18 hónapnak bizonyult, ebben a kombinációban a terápia megkezdésekor cerebrális disszemináció nem volt.

Mindkét kombinációs terápiával 90%-os betegségkontroll rátát értünk el. Komplet remissziót 6-6 beteg esetében (15% vemurafenib+cobimetinib kombinációval, 7% dabrafenib+trametinib kombinációval) mutattunk ki. A terápia kezdetekor mért LDH szint és a progresszió-mentes túlélés között a vemurafenib+cobimetinib csoportban ( $p=0,0184$ ), valamint a dabrafenib+trametinib csoportban ( $p=0,0042$ ) is szignifikanciát mutattunk ki, a teljes túléléssel az LDH szint csupán a dabrafenib+trametinib csoportban mutatott szignifikáns összefüggést ( $p=0,0056$ ).

A terápia a klinikai vizsgálatoknak megfelelően jól tolerálhatóak voltak. A mellékhatásokat CTCAE 4.03 terminológia alapján osztályoztuk.

A dabrafenib+trametinib csoportban leggyakrabban emelkedett CPK enzim értéket (24%), májenzim értékeket (13%), lázat (13%), hasmenést (8%), papulo-pustulosus kiütéseket (9%) és leukocytopeniát (6%) észleltünk. A betegek 2%-ában a trametinib mellékhatásaként szerózus retinopátia jelentkezett. Grade 3-4 fokozatú mellékhatást az esetek csupán 10%-ában detektáltunk. Dózismodifikációra 20%-ban volt szükség, viszont egy betegnél sem kellett dabrafenib+trametinib kombinációval a terápiát véglegesen abbahagynunk. A mellékhatások nagy hányada a terápia első 2 hónapjában jelentkezett. Terápia felfüggesztés dabrafenib okozta mellékhatás miatt 24%-ban történt, trametinib okozta mellékhatás miatt 19%-ban. 11 betegnél (14%) 1-es szintű (75%-os dózis) dózismodifikáció történt a dabrafenib terápiában, illetve 3-3%-ban 1-es és 2-es szintű dóziscsökkentés trametinib terápiában.

Vemurafenib+cobimetinib terápiával leggyakrabban emelkedett májenzim értékeket (50%), maculopapulózus, illetve papulo-pustulózus kiütés jelenlétét (34%), hasmenést (39%), emelkedett CPK szintet (32%), fényérzékenységet (29%) észleltünk. A betegek 13%-ában cobimetinib mellékhatásaként szerózus retinopátia jelentkezett. Grade 3-4 fokozatú mellékhatást 49,5%-ban detektáltunk. Ez kevesebb volt, mint a coBRIM study-ban, amelyben nagy betegszámmal vettünk részt, ezért a mellékhatások megelőzésében és felismerésében már gyakorlottak voltunk. Dózismodifikációra 11 betegnél volt szükség, 9 betegnél (24%) 1-es szintű dózismodifikáció történt vemurafenibbel, valamint cobimetinibbel (75%), 2 betegnél 2-es szintű vemurafenib (50%) dózismodifikációra kényszerültünk.

Terápia időleges felfüggesztése 42%-ban történt, 16 betegnél vemurafenib okozta mellékhatás miatt és 14 betegnél, 37%-ban cobimetinib okozta mellékhatás miatt.

6 betegnél a cobimetinib terápia (16%), 2 betegnél a vemurafenib (5%) terápia végleges abbahagyására kényszerültünk.

A mellékhatások nagy hányada a terápia első 2 hónapjában jelentkezett betegeinknél mindkét kombinációs terápia esetén.

## **3.4 Az ipilimumab terápia klinikai vizsgálatai**

### **3.4.1 Az anti-CTLA-4 (ipilimumab) klinikai hatékonyságának és toxicitásának vizsgálata az OOI betegeinél**

2010 decembere és 2015 júliusa között előrehaladott melanomában szenvedő 47 betegnél alkalmaztuk a kezelést. A betegek átlagéletkora 57 (26-83) év volt, 57% férfi, 43% nő részesült a terápiában. Valamennyi beteg ECOG 0-1 státuszban volt.

44 (94%) kután melanoma miatt indikáltuk a kezelést, 25 betegnél (53%) a primer tumor T3-4 kategóriába tartozott, TIL 19 (40%) betegnél volt jelen. BRAF mutáció 18 betegnél (38%), NRAS mutáció pedig 13 esetben (28%) került kimutatásra.

A terápia megkezdésekor 25 beteg (53%) volt M1c stádiumban, 10 (21%) M1b, 6 (13%) M1a, szintén 6 beteg (13%) volt III-as irrezekábilis stádiumban. Három vagy annál több metasztatikus szerv volt 13 betegnél (28%), a fennmaradó 34 (72%) betegnél háromnál kevesebb volt az áttétes szervek száma. 6 betegnél (13%) a terápia megkezdésekor agyi metasztázis is kimutatott volt. Az LDH érték 35 betegnél (75%) a normál tartomány felső határának másfélszerese alatt volt. 28 beteg (60%) erősen előkezelt volt, legalább két különböző összetételű kemoterápiában részesült.

A terápiás válasz értékelésére 10 (1-61) hónap medián követési idővel 42 (89%) betegnél került sor, 5 esetben feltételezett progresszió miatt 12 héten belüli exitus következett be. A legjobb terápiás válasz (irBORR) 17% volt, 5 (12%) komplett, 2 (5%) parciális remisszió alakult ki. 10 betegnél (24%) stabil betegség, 25 esetben (60%) progresszió következett be. A betegségkontroll ráta (DCR) a 24. héten 40% volt. Mindhárom reindukcióban részesült betegnél PD következett be.

A medián PFS kezelt betegeinknél 2,7 hónap volt (95% CI: 0,1-5,4).



A medián teljes túlélés a terápia megkezdésétől 9,8 hónap (95% CI: 4,7-14,9), az egyéves túlélés 40%, a kétéves 28% volt. A követési idő során 47-ből 40 beteg meghalt (85%), 39 beteg a daganat progressziója, egy pedig (2%) Grade 5-ös gyógyszer mellékhatás miatt.

A 47 betegből 19-nél (40%) lépett fel autoimmun mellékhatás, 6 (13%) Gr3-as vagy annál magasabb fokozatú volt. Leggyakrabban bőrtünetek jelentkeztek, 17 betegnél (36%) diagnosztizáltunk bőrgyulladást, maculo-papulosus exanthemát. 6 esetben (13%) gasztrointesztinális mellékhatások, colitis jelentkezett, a Grade 5-ös nem kívánatos esemény perforációt okozó colitis miatt következett be. 2 betegnél Grade 3-4 fokozatú nephritis lépett fel, szintén 2 betegnél mellékvesekéreg elégtelenség és hypophysitis alakult ki. Egy betegnél igen ritka mellékhatásként Grade 3-as panophtalmitis alakult ki.

Az autoimmun mellékhatásokat magas dózisú kortikosteroid terápiával (2-3 mg metilprednizolon/tskg), dózisetolással kezeltük, egyéb immunszuppresszív kezelésre (influximab, micofenolát mofetil) nem került sor.

A toxicitás és a terápia hatékonysága között nem találtunk összefüggést.

### **3.4.2 A 10 mg/tskg ipilimumab terápia hatékonyságának és biztonságosságának vizsgálata 3 mg/tskg ipilimumab terápiával összehasonlítva, randomizált kettős vak hármas fázisú multicentrikus vizsgálat**

2012. február 29. és július 9. között 831 beteg került besorolásra, 727 betegnél történt randomizáció. 365 beteg került a 10 mg/tskg csoportba, 362 beteg pedig az alacsonyabb dózisú 3 mg/tskg ipilimumab csoportba. Az adatbázis 2016. március 18-án a tanulmány befejeztekor lezárásra került. 43 hónap minimum követési idővel az ipilimumab medián dózisszáma 4,0 volt a magasabb dózisú csoportban, 212 beteg (58%) a 4 dózist komplettálta, a 3 mg/tskg csoportban 241 (67%) kapta meg a négy dózist. Az adatbázis zárásakor a terápia megismétlésére a magasabb dózisú csoportban 23 betegnél (6%) és 32 betegnél (9%) a 3 mg/tskg csoportban került sor.

A gyógyszeradás felfüggesztése progresszió miatt a 10 mg/tskg csoportban 109 betegnél (30%), ugyanez magasabb arányban, 155 betegnél (43%) történt az alacsonyabb dózisonál. Ezzel szemben fordított volt az arány a nemkívánatos események miatt felfüggesztett terápiánál, 24% vs. 10%.

Az OS tekintetében a medián követési idő 14,5 hónap volt a 10 mg/tskg csoportban, ill. 11,2 hónap az alacsonyabb dózisú kategóriában. A kezelni szándékozott populációban 541 beteg halt meg a vizsgálat során, 262 (72%) a magasabb dózisonál, 279 (77%) az alacsonyabb dózisú

ipilimumab terápiánál. A medián OS 15,7 hónap volt a 10 mg/tskg csoportban, míg 11,5 hónap az alacsonyabb dózisznál (HR:0,84, 95%CI 0,70-099; p=0,04). Az egyéves OS 54,3%, illetve 47,6% volt; a kétéves OS 38,5%, illetve 31,0%, a 3 éves OS 31,2% vs. 23,2% volt. Tünetekkel nem járó agyi metasztázisa 65 betegnek volt a 10 mg/tskg csoportban, 62 betegnek a 3 mg/tskg csoportban. A medián OS 7,0 hónap, illetve 5,7 hónap volt cerebrális metasztázis esetén.

A medián PFS mindkét terápiás csoportban 2,8 hónap volt. Szintén hasonló volt a két csoportnál az objektív terápiás válasz és a betegségkontroll arány, mint ahogy a medián terápiás válasz időtartama is. A stabil betegség medián időtartama a magasabb dózisznál 5,6 hónap, az alacsonyabbnál 3,0 hónap volt.

286 (79%) betegnél fordult elő terápiához köthető adverse esemény a 10 mg/tskg csoportban, míg 228 (63%) a 3 mg/tskg-os csoportban.

Az immunrendszerhez köthető adverse események, amelyeket a vizsgáló a terápiával összefüggőnek talált 269 betegnél (74%) fordultak elő a magasabb dózisznál, amelyeknek mintegy harmada volt 3-4-es fokozatú, 197 (54%) volt autoimmun mellékhatás az alacsonyabb dózisznál, 14%-ban 3-4-es fokozatban. A leggyakoribb autoimmun mellékhatások a diarrhoea (37% vs. 23%), a bőrkiütés (26% vs. 14%) és a bőrviszketés (23% vs. 22%) voltak.

A biztonságossági vizsgálat betegcsoportjában 239 (66%) halt meg magasabb dózisznál a betegség progressziójának következtében, míg 257 (71%) a 3 mg/tskg-os csoportban. 6 beteg halt meg a terápiával összefüggő adverse esemény következtében, 4 beteg a 10 mg-os csoportban, amit teljes állapotromlást okozó diarrhoea, fulmináns colitis, valamennyi szervre kiterjedő működési zavar és bélperforáció okozott, míg 2 az alacsonyabb dózisznál, ami multifokális vastagbél perforáció következtében, valamint diarrhoea és colitis és miocardialis infarktus következtében lépett fel.

Az EORTC-QLQ C30 kérdőív mindkét csoportban klinikailag szignifikáns rosszabbodást mutatott ki a terápia kezdetétől annak befejezéséig, ezzel ellentétben az EQ-5D index (European Quality of Life-5 Dimensions Questionnaire) csökkenése csak a 10 mg/tskg-os csoportban mutatott ki statisztikailag igazolható romlást. A terápia életminőségre gyakorolt hosszútávú hatásai nem kerültek megállapításra, mivel a terápia befejezte után életminőségi vizsgálatok nem történtek.

Az 5 éves követés adatzárása 2017. szeptemberében volt, a betegek medián 4 (1-16) és szintén 4 (1-11) ipilimumab dózist kaptak a 10 mg/tskg, illetve a 3 mg/tskg csoportokban. Az

ipilimumab kezelést követően 38%-ban és 39%-ban kaptak egyéb terápiát, amiből immunterápia 18% és 15%, célzott 10% és 13% volt. Az adatzáráskor a betegek adatai 61 hónapos minimális követéssel kerültek elemzésre, 14,5 hónapos (0,6-64,0) és 11,2 hónapos (0,1-64,2) medián követéssel. A kezdeti vizsgálattal azonosan az OS szignifikánsan hosszabb volt a 10 mg/tskg-os csoportban, mint a 3 mg/tskg dózisonál (HR 0,84, 95%CI 0,71-0,99;  $p=0,04$ ). A medián OS 15,7 és 11,5 hónap volt. Az 5 éves túlélés magasabb dózisonál 25%, alacsonyabbnál pedig 19% volt. Alcsoport vizsgálatokban leíró OS analízis történt. Tünetekkel nem járó, a terápia kezdetekor kimutatott agyi metasztázis esetében a medián OS 7,0 hónap volt a 10 mg/tskg-os csoportban és 5,7 hónap a 3 mg/tskg dózisonál; az öt éves OS 13%, illetve 6% volt. A BRAF-vad típusú tumoroknál magasabb dózisonál a medián OS 13,8 hónap volt, az alacsonyabbnál pedig 11,2 hónap. Ezzel szemben BRAF mutáció esetében a medián OS 33,2 hónap, illetve 19,7 hónap volt. Az 5 éves OS 35% volt 10 mg/tskg-nál, az alacsonyabb dózisonál nem került meghatározásra tekintettel arra, hogy hiányosak voltak a betegek adatai, de a 4 éves OS 23% volt. Normál tartományon belüli LDH értékeknél a magasabb dózisonál 28%, alacsonyabb dózisonál pedig 23% volt az 5 éves OS. Emelkedett LDH-nál 20%, illetve 9% volt az 5 éves túlélés a magasabb és az alacsonyabb dózisonál. Egyéb alcsoportokban (életkor, M stádium, ECOG-státusz, előzetes terápia) is a magasabb dózisonál voltak kedvezőbbek a túlélési eredmények.

Az aktualizált biztonságossági vizsgálat a reindukciós kezeléseket elemezte, az eredmények megfeleltek a korábbi adatoknak. Itt is a nagyobb dózisonál jelentkeztek gyakrabban a mellékhatások, a leggyakoribb 3-4-es fokozatú, terápiához köthető mellékhatások a nagyobb dózisonál a diarrhoea (11%), colitis (6%), májenzim emelkedés (4%), a kisebb dózisonál pedig diarrhoea (6%), colitis (3%) és hypophysitis (2%) voltak. Terápia felfüggesztésére 34%-ban, illetve 19%-ban került sor nemkívánatos esemény miatt, ezek közül Gr 3-4-es mellékhatások miatt 26%, illetve 12%-ban.

Ebben az 5 éves követési tanulmányban terápia mellékhatásához köthető halálesetek nem fordultak elő.

### **3.4.3 Az ipilimumab terápia klinikai biomarkereinek elemzése**

A terápiás válasz és a vizsgált klinikopatológiai biomarkerek analízisének a kiindulási abszolút eozinofil sejtszám és az eozinofil/limfocita arány szignifikánsan magasabb volt PD esetében a 12. és 16. héten. Szintén százalékos különbséget találtunk a progrediáló és nem progrediáló

betegeknél a 12. és 16. héten a terápia megkezdésekor mért vérszűnyedés vonatkozásában, ami a 24. hétre szignifikánsnak bizonyult.

Nem találtunk összefüggést a primer tumor BRAF és NRAS mutációja, illetve az egyéb vizsgált paraméterek és a terápia válasz között. Az LDH érték a progrediáló betegeknél a terápia kezdetekor, a 12., 16. és 24. héten is százalékosan magasabb volt.

A PFS és a klinikai markerek összefüggésének vizsgálatánál egyváltozós analízissel azt találtuk, hogy a normál tartomány másfélszeresét meghaladó kiindulási LDH és ESR, valamint a 0,1 G/L AEC szignifikáns negatív összefüggést mutatott a progressziómentes túléléssel. ( $p=0,0323$ ;  $p=0,0340$ ;  $p=0,023$ ).

Többváltozós vizsgálatnál azonban a paraméterek közül egyik sem bizonyult a PFS független prediktorának.

Az OS és a paraméterek összefüggését egyváltozósan analizálva negatív kapcsolatot találtunk a kiinduláskori magas LDH érték, vérszűnyedés, a 4 vagy annál nagyobb neutrofil/limfocita arány, a magasabb eozinofil sejttség, a 0,1 értéket meghaladó eozinofil/limfocita arány, az ECOG státusz, és a metasztázissal érintett szervek száma között.

Többváltozós vizsgálatnál azonban egyedül a normál tartomány felső határának másfélszeresét meghaladó kiindulási LDH érték volt a teljes túlélés negatív prediktora.

Míg a medián teljes túlélés 17 hónap volt a normál vagy enyhén emelkedett LDH szintű betegeknél, addig 4 hónapnak bizonyult emelkedett LDH-nál. A halál rizikója 3,5x nagyobb volt magasabb LDH-nál, mint az alacsonyabb LDH-jú csoportban. Sokatmondó adat, hogy a normál tartomány másfélszeresét meghaladó LDH érték esetén az egy- és két éves túlélés 0% volt, alacsonyabb LDH-nál pedig 54% és 42%.

### **3.4.4 Az ipilimumab terápia potenciális szövettani – tumort infiltráló limfociták – biomarkerei**

Az intratumorális immunsejt denzitást a CD4, CD8, CD45RO, CD20, CD134, CD137, FOXP3, PD-1, NKp46, CD16, és CD68 markerek kimutatásával 52 nyirokcsomó és 34 kután/szubkután metasztázis esetében vizsgáltuk.

A kétféle lokalizációjú metasztázis esetében az immunsejtek denzitása nagymértékben különbözött, ezért a továbbiakban a két csoportot külön-külön vizsgáltuk. A denzitás értékelését az ipilimumab terápia hatékonyságával és a betegség kimenetelével összefüggésben vizsgáltuk.

A kezelést komplett vagy parciális válasz, illetve legalább 6 hónapig tartó stabil betegség esetében tartottuk hatékonynak (responder/non responder).

### *Terápiás válasz*

Nyirokcsomóknál a CD4+, CD8+, FOXP3+, CD-134+ limfociták átlagos denzitása a CD20+ B-sejtek és a NKp46+ NK-sejtek szignifikánsan magasabb volt a terápiára reagáló csoportban összehasonlítva azokkal a betegekkel, akiknél nem jelentkezett kedvező terápiás eredmény.

Kután és szubkután metasztázisoknál a CD68+ makrofágok és a CD16+ sejtek vonatkozásában találtunk különbséget.

A nyirokcsomó és kután metasztázisok együttes vizsgálatakor az NK-sejtek denzitása volt összefüggésben a terápiás válasszal ( $p=0,0182$ ). Összefüggést találtunk a terápiás válasszal azon betegek arányánál, akiknél a CD68+ makrofágok ( $p=0,0344$ ), a FOXP3 regulátor T-sejtek ( $p=0,0371$ ) és az NKp46+ NK-sejtek ( $p=0,0232$ ) a küszöbérték felett voltak a daganatban.

A vizsgált immunsejt típusok denzitás értékei szorosan korreláltak egymással; 7 responder közül 6 (86%) nyirokcsomó metasztázisaiban 11 marker közül 7 mutatott magas expressziót, a non-respondereknél ez három esetben (25%) fordult elő ( $p=0,0106$ ).

### *Túlélés*

Nyirokcsomó áttéteknél a teljes túlélés és az immunsejtek denzitása és a klinikai paraméterek kapcsolatát elemezve egyváltozós vizsgálattal számos szignifikáns összefüggést találtunk nyirokcsomó áttéteknél, amely paraméterek összefüggtek az OS értékkel (CD4+ sejtek, CD8+, CD45RO+, FOXP3+, CD16+, ECOG státusz, LDH érték). Többváltozós vizsgálattal azonban csak az ECOG státusz ( $p=0,001$ ) és a FOXP3+ ( $p=0,004$ ) immunsejtek denzitása bizonyult a teljes túlélés független prediktorának.

Szubkután/kután áttéteknél egyváltozós vizsgálatban a CD16+ és a CD68+ immunsejtek sűrűsége és a hosszabb OS között volt szignifikáns kapcsolat. Többváltozós analízissel a kiinduláskori LDH érték bizonyult a túlélés független prediktorának ( $p=0,002$ ).

### **3.5 Az anti-PD1 terápia (pembrolizumab, nivolumab) a klinikai gyakorlatban**

222 előrehaladott melanómában szenvedő betegnél alkalmaztunk anti-PD1 monoterápiát (pembrolizumab, nivolumab) multidiszciplináris onkoteam döntése alapján 2015 márciusa és 2020 decembere között.

Pembrolizumab terápiában 173 beteg (77,9%), nivolumab kezelésben 49 beteg (22,1%) részesült.

A terápiát első vonalban 150 (67,6%), másod- vagy többedvonalban 72 beteg (32,4%) beteg kapta.

Irreszekábilis III-as stádiumban 15 (6,8%), M1a stádiumban 21 (9,5%), M1b stádiumban 62 (27,9%), M1c stádiumban 89 (40,0%) beteg, M1d stádiumban 35 (15,8%) beteg volt.

Agyi metasztázis 30 betegnél (13,5%) volt jelen a terápia kezdetekor.

Az LDH szint normál tartományban 144 (64,9%), a normál tartomány feletti kategóriában 78 (35,1%) esetben volt.

BRAF mutáció 50 betegnél (22,5%) mutattunk ki.

A medián követési idő 16 hónap (0-64), a terápia medián időtartama 7 hónap (0-60) volt. A hatékonyságot és biztonságosságot 2021. májusi adatzárással értékeltük, ebben az időpontban 106 (47,7%) beteg volt életben, 116 (52,3%) meghalt.

96 betegnél (43,3%) jelentkezett terápiás válasz, amiből 25 esetben (11,3%) volt CR és 71 (32,0%) PR. 37 betegnél (16,7%) stabil betegség, a DCR 133 (59,9%) volt. PD 73 betegnél (32,9%) jelentkezett, 16 betegnél (7,2%) a terápiás válasz nem volt értékelhető.

A teljes betegpopulációban a medián PFS 10 hónap, a medián OS pedig 23 hónap volt.

Gyógyszerrel összefüggő mellékhatás 124 (55,9%) betegnél lépett fel. Autoimmun mellékhatás 79 betegnél (35,6%) fordult elő 88 esetben.

Leggyakrabban hypothyreosis 22 (9,91%), vitiligo 18 (8,12%), bőrtünetek 13 (5,86%), valamint pneumonitis 9 (4,05%) fordult elő.

Grade 1-es fokozatú 25 (11,26%), 2-es 37 (16,67%), 3-as 14 (6,31%) esetben fordult elő. 11 (beavatkozást nem igénylő) mellékhatás nem került besorolásra, 1 beteg (0,45%) pedig fulmináns pneumonitis következtében meghalt.

19 betegnél (8,56%) (autoimmun mellékhatás miatt) a terápiát véglegesen felfüggesztettük.

Egyéb mellékhatás 45 esetben (20,3%) volt, leggyakrabban GOT, GPT és lipáz emelkedés fordult elő.

## *Progressziómentes túlélés*

A betegeknek 10 hónapos medián PFS-t találtunk.

A betegek életkora, neme, ECOG státusza és az, hogy melyik anti-PD1 terápiát alkalmaztuk nem mutatott szignifikáns összefüggést a PFS értékkel, ahogy a betegség stádiuma sem. Nem találtunk statisztikailag igazolható összefüggést agyi metasztázis és PFS vonatkozásában sem, ami a beválasztási kritériumokkal (stabil cerebrális metasztázis) magyarázható. A BRAF mutáció és a progressziómentes túlélés között sem mutattunk ki összefüggést.

Az, hogy első- vagy többedvonalban alkalmaztuk a terápiát közel szignifikáns összefüggést mutatott a PFS értékkel. Az első vonalban alkalmazott terápiánál a medián túlélés 17 hónap, többedvonalban pedig 7 hónap volt.

A kiinduláskori LDH érték és a PFS magasan szignifikáns összefüggését találtuk. A normál tartomány feletti LDH érték esetében a medián PFS 4 hónap, a normál tartományon belüli LDH értékeknél pedig 20 hónap volt.

Az autoimmun mellékhatások és a progressziómentes túlélés között szintén igen magasan szignifikáns összefüggést mutattunk ki, autoimmun mellékhatás fellépte, annak fokozatától függetlenül kedvezően befolyásolta a betegek progressziómentes túlélését. Azoknál a betegeknek, akiknél nem lépett fel autoimmun mellékhatás, a medián túlélés 5 hónap volt, autoimmun mellékhatások esetében pedig 59 hónap.

Többváltozós vizsgálatban elemezve a paramétereket a Kaplan-Meier analízishez hasonlóan a kiindulási LDH érték ( $p=0,003$ ), RR 0,553 95%CI (0,377-0,813) és az autoimmun mellékhatások ( $p<0,000001$ ) RR 4,269 95%CI (2,685-6,788) bizonyultak a progressziómentes túlélés független prediktorainak.

## *Teljes túlélés*

A betegpopulációban a medián OS 23 hónapnak bizonyult.

Hasonlóképpen a progressziómentes túléléshez, itt is statisztikailag igazolható összefüggést mutattunk ki a kiinduláskori LDH-érték és az OS között ( $p=0,00008$ ). A normál értékű LDH-

nál 28 hónap volt, a normál értékeket meghaladónál pedig ennek fele, 14 hónap volt a teljes túlélés.

Ugyancsak magasan szignifikáns volt a túlélési különbség az autoimmun mellékhatások melletti csoport javára az ettől mentessel szemben. ( $p < 0,000001$ ). A kedvezőbb csoportban a medián értéket nem értük el, a másik kategóriában a medián túlélés 15 hónap volt.

A teljes túlélés vonatkozásában az ECOG státusz szignifikáns összefüggést mutatott, az ECOG 0 csoportban 24 hónap, az ECOG 1-ben 12 hónap, míg az ECOG 2-es csoportban mindössze 2 hónap volt a medián túlélés ( $p = 0,001$ ).

A betegek kora, neme, a terápia fajtája, a betegség stádiuma, agyi metasztázis jelenléte és a BRAF mutáció, valamint a túlélés között Kaplan-Meier analízissel nem találtunk összefüggést.

Az OS-sel kapcsolatban lévő független paraméterek az autoimmun mellékhatások  $p < 0,000001$  RR (3547 95%CI (2,183-5,762)); az LDH érték  $p = 0,005$  RR 0,55 95%CI (0,362-0,836); valamint ECOG 0:  $p = 0,013$  RR 0.327 95%CI (0,127-0,843); és a nem  $p = 0,024$  RR 0,633 CI95% (0,425-0,942) voltak.



#### 4 Főbb megállapítások

- Epidemiológiai vizsgálatunkban az incidencia tekintetében 2001 és 2019 között mindkét nemben folyamatos növekedést mutattunk ki a Rákregiszterben, ami az időszak végére megduplázódott; kismértékű férfi túlsúly volt kimutatható a Rákregiszter korstandardizált adatai alapján. Összehasonlítva a 2011-2015 és a 2015-2019 közötti időintervallumokat, az utóbbi periódusban incidencia csökkenés jelentkezett a NEAK adatbázisban. Az innovatív terápiák birtokában a túlélés szignifikáns javulását mutattuk ki. A mortalitás a 2001-2019 közötti időszakban 300-400 eset/év értékben maradt, de 2011-2015 között szignifikáns mortalitás csökkenést mutattunk ki NEAK adatokon alapuló tanulmányunkban. Az általunk talált incidencia/mortalitás adatok különböznek a GLOBOCAN által megadott becsült értékektől, a MIR értékek 2018-ban Magyarországon a nyugat-európai adatokkal korreláltak, a közép-kelet-európai régióban a legalacsonyabb MIR értéket találtuk, ami az onkológiai ellátás magas színvonalát jelzi melanomában.

Az Országos Onkológiai Intézetben az új betegek átlagos daganatvastagsága az 1998-as év értékéről 2008-ra szignifikánsan csökkent, ez az eredmény magyarázatul szolgálhat arra, hogy Magyarországon a mortalitás még ebben az időszakban sem követte az incidencia növekedését, holott ekkor még nem álltak rendelkezésre túlélést meghosszabbító terápiák. A talált kedvező daganatvastagság csökkenésből a sikeres szekunder prevencióra következtethetünk akár országos szinten is.

- A sentinel nyirokcsomó státusz és a primer tumor BRAF és NRAS mutációja között nem találtunk összefüggést, az őrszem nyirokcsomó státusz egyértelműen összefügg a primer tumor vastagságával a hazai populációban is. Az NRAS mutáció jelenléte ellentétben a BRAF pozitivitással független prediktornak bizonyult a progressziómentes túlélésben, az NRAS mutáció pozitív primer tumorok egyéb tényezőket vizsgálva is rosszabb prognózisú csoportba sorolhatók. Eredményeink megerősítik, hogy a primer tumor Breslow szerinti vastagsága a túlélés legerősebb prediktora, a sentinel nyirokcsomók állapota pedig meghatározza a progressziómentes túlélést és a távoli metasztázis kialakulásának esélyét.
- A BRAF gátló monoterápiával elért terápiás eredmények megfelelnek a BRIM-3 törzskönyvezési vizsgálatban talált hatékonyságnak. A kezelt csoportban kimutattuk, hogy a túlélést meghatározó paraméterek között a terápia kezdetekor mért LDH-érték szignifikáns tényező. Bár jelenleg BRAF pozitív melanomában a BRAF-MEK gátló kombinált terápia az ajánlás, a monoterápiával elért eredmények, elsősorban a

mellékhatásprofil ismerete is hozzájárulhat a kombinált target terápia hatékonyságának és mellékhatásainak pontosabb megértéséhez és eredményesebb kezeléséhez.

- A kombinált BRAF+MEK gátló terápiák sikeressége D+T terápiánál elmarad a szer törzskönyvezéshez vezető klinikai vizsgálataihoz képest, ennek oka, hogy a kezelt betegek körében magas volt a cerebrális metasztázis miatt kezelésbe vettek aránya. Cerebrális metasztázistól mentes betegeknél eredményeink hasonlóak a nagy klinikai tanulmányokban leírt eredményekhez, a kiinduláskori emelkedett LDH értéket itt is a túlélés negatív prediktorának találtuk. A kétféle kombináció mellékhatás profilja különbözött. A kombinált BRAF+MEK terápia mellékhatásait csökkenteni lehet megelőzéssel, korai felismeréssel, személyre szabott terápiaválasztással, ezáltal növelve a hatékonyságot is.

- Az ipilimumab terápia eredményessége, a terápiás válasz, túlélés korrelált a klinikai vizsgálatokban talált adatokkal, annak ellenére, hogy a betegeknél a beválasztási kritériumok kevésbé voltak szigorúak, mint a klinikai vizsgálatokban. A mellékhatások aránya és súlyossága szintén megfelelt a korábbi tanulmányokban tapasztalt és leírt mellékhatásoknak.

Az autoimmun mellékhatások nem mutattak összefüggést a terápia eredményességével. Az emelkedett kiindulási LDH érték a túlélés egyetlen független prediktorának bizonyult.

- Tudomásunk szerint klinikai vizsgálaton kívül elsőként vizsgáltuk az ipilimumab kezelésben részesülő betegek tumort övező immunsejt denzitásának kapcsolatát a terápiás válasszal. Eredményeink alapján feltételezhető, hogy a tumort infiltráló T-sejtek és az immunterápia hatásossága között összefüggés van, azonban különbség van a kután/szubkután és a nyirokcsomó metasztázisok immunsejt infiltrációja között, ezért ezek együttes vizsgálata nem optimális.
- A 10 mg/tskg vs. 3 mg/tskg ipilimumab terápia túlélési előnyét mutattuk ki a nagyobb dózis javára, azonban az adverse események aránya is magasabb volt. Az eredményeket 61 hónapos minimális követési idővel végzett elemzés is megerősítette, a nagyobb dózis mégsem került törzskönyvezésre, feltételezhetően azért, mert időközben hatékonyabb és kevesebb mellékhatással járó immunterápiák jelentek meg.
- Anti-PD1 terápiával elért eredményeink korreláltak a klinikai vizsgálatokban kimutatott eredményekkel. A túlélés szignifikáns negatív prediktora, hasonlóan az egyéb terápiákhoz, a kiindulási magas LDH érték volt. Autoimmun mellékhatások kialakulása

## LiszkayGabriella\_31\_22

és a betegség kimenetele között magasan szignifikáns pozitív összefüggést mutattunk ki, szemben az ipilimumab terápiával, ahol nem találtunk kapcsolatot a hatékonyság és az autoimmun nemkívánatos események között. Az agyi metasztázisban szenvedő betegek túlélése nem volt rosszabb tanulmányunkban, ez azzal magyarázható, hogy stabil agyi metasztázisban kerültek a betegek beválasztásra. A két különböző terápia (pembrolizumab és nivolumab) hatékonysága megegyezett.

## 5 A dolgozatban összefoglalt tudományos közlemények

1. **Liszkay G**, Kiss Z, Gyulai R, Oláh J, Holló P, Emri G, Csejtei A, Kenessey I, Benedek A, Polányi Z, Nagy-Erdei Z, Daniel A, Knollmajer K, Várnai M, Vokó Z, Nagy B, Rokszin G, Fábián I, Barcza Z, Polgár C. Changing Trends in Melanoma Incidence and Decreasing Melanoma Mortality in Hungary Between 2011 and 2019: A Nationwide Epidemiological Study. *Front Oncol.* 2021 Feb 12;10:612459. *IF: 5,738 Nyilvános idéző összesen: 8 (Független: 5)*
2. Várnai M, Kiss Z, Gyulai R, Oláh J, Holló P, Emri G, Csejtei A, Kenessey I, Benedek A, Polányi Z, Nagy-Erdei Z, Dániel A, Knollmajer K, Rokszin G, Fábián I, Barcza Z, Polgár C, Nagy B, **Liszkay G\***, **Vokó Z\***. Improving Quality Indicator of Melanoma Management - Change of Melanoma Mortality-to-Incidence Rate Ratio Based on a Hungarian Nationwide Retrospective Study. *Front Oncol.* 2021 Oct 19;11:745550. *\*(These authors have contributed equally to this work and share last authorship.) IF: 5,738 Nyilvános idéző összesen 1 (Független: 0)*
3. Parrag P, Wéber A, **Liszkay G**, Nagy P, Kásler M, Polgár C, Kenessey I. A melanóma hazai morbiditási és mortalitási helyzete a XXI. század első két évtizedében. *Magy Onkol.* 2022 Jun 20;66(2):94-99.
4. Balatoni T, **Liszkay G**, Miklós Z, Kásler M. A melanoma malignum epidemiológiája (Klinikai tapasztalatok az Országos Onkológiai Intézetben). *Orv Hetil.* 2011 Jun 19;152(25):1000-6. *Nyilvános idéző összesen: 8 (Független: 5)*
5. Czirbesz K, Gorka E, Kovács F, Pörnczy E, Melegh K, Hetesi K, Antal P, **Liszkay G.**: Clinical report of Sentinel-Node Biopsy in 850 Melanoma Patient: A 5-Year Follow-up study. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2014, 27: 1183-1183. (Abstract)
6. **Liszkay G**, Mátrai Z, Czirbesz K, Jani N, Bencze E, Kenessey I. Predictive and Prognostic Value of BRAF and NRAS Mutation of 159 Sentinel Lymph Node Cases in Melanoma-A Retrospective Single-Institute Study. *Cancers (Basel).* 2021 Jun 30;13(13):3302. *IF: 6,575 Nyilvános idéző: 1 (Független: 1)*
7. Czirbesz K, Gorka E, Balatoni T, Pánczél G, Melegh K, Kovács P, Gézsi A, **Liszkay G.** Efficacy of Vemurafenib Treatment in 43 Metastatic Melanoma Patients with BRAF Mutation. Single-Institute Retrospective Analysis, Early Real-Life Survival Data. *Pathol Oncol Res.* 2019 Jan;25(1):45-50. *IF: 2,826 Nyilvános idéző: 7 (Független: 7)*

8. Czirbesz K, Pánczél G, Baranyai F, Kispál M, Tóth E, Böcs K, Balatoni T, Fröhlich G, **Liszkay G**. BRAF-MEK gátló terápiával elért eredményeink 118, metasztatikus melanómában szenvedő betegnél az Országos Onkológiai Intézetben. *Magy Onkol.* 2022 Jun 20;66(2):110-117.
9. Balatoni T, Ladányi A, Fröhlich G, Czirbesz K, Kovács P, Pánczél G, Bence E, Plótár V, **Liszkay G**. Biomarkers Associated with Clinical Outcome of Advanced Melanoma Patients Treated with Ipilimumab. *Pathol Oncol Res.* 2020 Jan;26(1):317-325. *IF: 3,201 Nyilvános idéző összesen: 20 (Független: 15)*
10. Ascierto PA, Del Vecchio M, Mackiewicz A, Robert C, Chiarion-Sileni V, Arance A, Lebbé C, Svane IM, McNeil C, Rutkowski P, Loquai C, Mortier L, Hamid O, Bastholt L, Dreno B, Schadendorf D, Garbe C, Nyakas M, Grob JJ, Thomas L, **Liszkay G**, Smylie M, Hoeller C, Ferraresi V, Grange F, Gutzmer R, Pikiel J, Hosein F, Simsek B, Maio M. Overall survival at 5 years of follow-up in a phase III trial comparing ipilimumab 10 mg/kg with 3 mg/kg in patients with advanced melanoma. *J Immunother Cancer.* 2020 Jun;8(1):e000391. doi: 10.1136/jitc-2019-000391. Erratum in: *J Immunother Cancer.* 2020 Jul;8(2): PMID: 32503946; PMCID: PMC7279645. *IF: 13,751 Nyilvános idéző összesen: 356 (Független: 307)*
11. Ascierto PA, Del Vecchio M, Robert C, Mackiewicz A, Chiarion-Sileni V, Arance A, Lebbé C, Bastholt L, Hamid O, Rutkowski P, McNeil C, Garbe C, Loquai C, Dreno B, Thomas L, Grob JJ, **Liszkay G**, Nyakas M, Gutzmer R, Pikiel J, Grange F, Hoeller C, Ferraresi V, Smylie M, Schadendorf D, Mortier L, Svane IM, Hennicken D, Qureshi A, Maio M. Ipilimumab 10 mg/kg versus ipilimumab 3 mg/kg in patients with unresectable or metastatic melanoma: a randomised, double-blind, multicentre, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2017 May;18(5):611-622. *IF: 36,418*
12. Balatoni T, Mohos A, Papp E, Sebestyén T, **Liszkay G**, Oláh J, Varga A, Lengyel Z, Emri G, Gaudi I, Ladányi A. Tumor-infiltrating immune cells as potential biomarkers predicting response to treatment and survival in patients with metastatic melanoma receiving ipilimumab therapy. *Cancer Immunol Immunother.* 2018 Jan;67(1):141-151. *IF: 4,900 Nyilvános idéző összesen: 56 (Független: 49)*
13. Eikenes G.: The clinical value of anti-PD1 therapy in melanoma, diplomamunka, 2022, témavezetők: **Dr. Liszkay Gabriella**, Dr. Polgár Csaba

Összesített IF: 79,147

Összes idéző: 479

Összes független idéző: 407

## 6 Tudománymetriai adatok

Liszky Gabriella tudományos és oktatási közleményeinek összefoglalása MTA V. Orvostudományi Osztály (2022.09.29)				
Tudományos és oktatási közlemények	Száma		Hivatkozások <sup>1</sup>	
	Összesen	Részletezve	Független	Összesen
<b>I. Folyóiratcikk</b> <sup>2</sup>	<u>84</u>	---	---	---
szacikk, nemzetközi folyóiratban, idegen nyelvű	---	<u>42</u>	<u>3357</u>	<u>3891</u>
szacikk, hazai idegen nyelvű	---	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>
szacikk, magyar nyelvű	---	<u>34</u>	<u>24</u>	<u>38</u>
szacikk, sokszerzős, érdemi szerzőként <sup>3</sup>	---	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>
összefoglaló közlemény	---	<u>6</u>	<u>3</u>	<u>3</u>
rövid közlemény	---	<u>2</u>	<u>5</u>	<u>9</u>
<b>II. Könyv</b>	<u>1</u>	---	---	---
<b>a) Szakkönyv, kézikönyv, tankönyv szerzőként</b>	<u>1</u>	---	---	---
idegen nyelvű	---	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>
magyar nyelvű	---	<u>1</u>	<u>0</u>	<u>0</u>
aa) Felsőoktatási tankönyv	---	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>
<b>b) Szakkönyv, kézikönyv, konferenciakötet, tankönyv szerkesztőként</b>	<u>0</u>	---	---	---
idegen nyelvű	---	<u>0</u>	---	---
magyar nyelvű	---	<u>0</u>	---	---
bb) Felsőoktatási tankönyv	---	<u>0</u>	---	---
<b>III. Könyvrészlet</b>	<u>15</u>	---	---	---
idegen nyelvű	---	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>
magyar nyelvű	---	<u>10</u>	<u>0</u>	<u>0</u>
cc) Felsőoktatási tankönyvfejezet	---	<u>5</u>	<u>0</u>	<u>0</u>
<b>IV. Konferenciaközlemény</b> <sup>4</sup>	<u>0</u>	---	<u>0</u>	<u>0</u>
<b>Oktatási közlemények összesen (II.aa,bb-III.cc)</b>	---	<u>5</u>	<u>0</u>	<u>0</u>
<b>Tudományos közlemények összesen (I-IV)</b>	---	<u>95</u>	<u>3389</u>	<u>3941</u>
<b>Tudományos és oktatási közlemények összesen (I-IV.)</b>	<u>100</u>	---	<u>3389</u>	<u>3941</u>

<b>V. További tudományos művek</b>	<u>39</u>	---	---	---
További tudományos művek, ide értve a nem teljes folyóiratcikket és a nem ismert lektorált ságú folyóiratokban megjelent teljes folyóiratcikket is	---	<u>34</u>	<u>0</u>	<u>2</u>
Szerkesztőségi levelezés, hozzászólások, válaszok	---	<u>5</u>	<u>0</u>	<u>0</u>
Oltalmak (szabadalmak)	---	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>

<b>VI. Hivatkozott absztraktok</b> <sup>5</sup>	<u>8</u>	---	<u>41</u>	<u>52</u>
<b>Összes hivatkozás</b> <sup>1</sup>	---	---	<u>3430</u>	<u>3995</u>
<b>Hirsch index</b> <sup>6</sup>	<u>19</u>	---	---	---
<b>g index</b> <sup>6</sup>	<u>63</u>	---	---	---

Speciális tudománymetriai adatok	Száma	Összes hivatkozás
Első szerzős teljes folyóiratcikkek száma <sup>2</sup>	<u>19</u>	<u>53</u>
Utolsó szerzős teljes folyóiratcikkek száma <sup>2</sup>	<u>18</u>	<u>40</u>
A tudományos fokozat (PhD) elnyerése utáni (2007) teljes tudományos folyóiratcikkek száma	<u>69</u>	<u>3788</u>
Az utolsó 10 év (2012 - 2022) tudományos, teljes, lektorált tudományos folyóiratcikkeinek száma	<u>60</u>	<u>3602</u>
A legmagasabb hivatkozottságú közlemény hivatkozásainak száma (az összes hivatkozás százalékában)	<u>1345</u>	33,67%
Hivatkozások száma, amelyek nem szerepelnek a WoS/Scopus rendszerben	---	<u>869</u>
Jelentés, guideline	<u>0</u>	<u>0</u>
Csoportos (multicentrikus) közleményben kollaborációs közreműködő <sup>7</sup>	<u>1</u>	<u>1159</u>

LiskayGabriella\_31\_22