



**UNIwersYTET MEDYCZNY**  
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

**Lek. med. Natasza Kempa-Kamińska**

**Retrospektywna ocena wyników leczenia systemowego  
pacjentów z zaawansowanym czerniakiem w Dolnośląskim  
Centrum Onkologii, Pulmonologii i Hematologii  
w latach 2013-2018**

**ROZPRAWA DOKTORSKA**

**Promotor:**

**Prof. dr hab. n. med. Marek Bębenek**

Wrocław 2022

# Spis treści

Wykaz skrótów.....	7
<b>1. Wstęp.....</b>	<b>10</b>
1.1 Epidemiologia.....	10
1.2 Etiologia .....	11
1.3 Profilaktyka .....	13
1.4 Diagnostyka czerniaka.....	13
1.4.1 Diagnostyka dermatoskopowa .....	13
1.4.2 Diagnostyka histopatologiczna .....	14
1.4.3 Diagnostyka molekularna.....	15
1.4.4 Diagnostyka obrazowa .....	16
1.5 Ocena stopnia zaawansowania .....	17
1.6 Czynniki rokownicze w czerniaku .....	18
1.7 Leczenie chirurgiczne.....	20
1.8 Leczenie systemowe .....	22
1.8.1 Leczenie systemowe adjuwantowe .....	22
1.8.2 Leczenie systemowe zaawansowanego czerniaka w stadium uogólnienia.....	25
1.8.2.1 Chemioterapia .....	25
1.8.2.2 Leczenie ukierunkowane molekularnie .....	26
1.8.2.3 Immunoterapia .....	29
1.8.2.4 Leczenie skojarzone.....	33
1.8.2.5 Szczepionki.....	33
1.8.3 Sekwencja leczenia .....	34
1.9 Znaczenie rokownicze subpopulacji układu leukocytarnego .....	34
2.0 Podsumowanie.....	36
<b>2. Cel badań .....</b>	<b>37</b>
<b>3. Materiał i metody .....</b>	<b>38</b>
3.1 Materiał badawczy.....	38
3.2 Metody badawcze.....	39
3.2.1 Analiza statystyczna.....	39

<b>4. Wyniki badań .....</b>	<b>40</b>
4.1 Charakterystyka grupy badanej .....	40
4.2. Analiza danych uzyskanych z raportów histopatologicznych usunięcia zmiany pierwotnej .....	45
4.3. Analiza danych uzyskanych z raportów histopatologicznych z zabiegu biopsji węzła wartowniczego .....	47
4.4 Analiza parametrów układu leukocytnego .....	48
4.5 Analiza zastosowanych leków w pierwszej linii leczenia .....	49
4.6 Analiza zastosowanych leków w drugiej linii leczenia .....	50
4.7 Ocena porównawcza dwóch podgrup: pacjentów z dodatnim oraz ujemnym statusem mutacji <i>BRAF</i> .....	51
4.7.1 Ocena porównawcza charakterystyki grupy badanej w dwóch podgrupach: z dodatnim oraz ujemnym statusem mutacji <i>BRAF</i> .....	51
4.7.2 Ocena porównawcza wyników histopatologicznych z usuniętej zmiany pierwotnej w dwóch podgrupach: z dodatnim oraz ujemnym statusem mutacji <i>BRAF</i> .....	54
4.7.3 Ocena porównawcza wyników histopatologicznych z zabiegu biopsji węzła wartowniczego w dwóch podgrupach: z dodatnim oraz ujemnym statusem mutacji <i>BRAF</i> .....	56
4.7.4 Ocena porównawcza wartości układu leukocytnego oraz wskaźnika neutrofilowo-limfocytnego w dwóch podgrupach: z dodatnim oraz ujemnym statusem mutacji <i>BRAF</i> .....	57
4.7.5 Ocena porównawcza zastosowanych leków oraz uzyskanych efektów leczenia pierwszej linii w dwóch podgrupach: z dodatnim oraz ujemnym statusem mutacji <i>BRAF</i> .....	58
4.7.6 Ocena porównawcza zastosowanych leków oraz wyników leczenia w drugiej linii w dwóch podgrupach: z dodatnim oraz ujemnym statusem mutacji <i>BRAF</i> .....	60
4.8 Ocena wyników leczenia w całej grupie badanej: odsetek odpowiedzi na leczenie, czasu wolnego od progresji oraz czasu przeżycia całkowitego .....	62
4.9 Wpływ poszczególnych parametrów na przeżycie całkowite w grupie badanej - analiza Coxa .....	66
4.9.1 Wpływ czynników charakteryzujących grupę na czas przeżycia całkowitego ....	66
4.9.2 Wpływ czynników, określonych w badaniu histopatologicznym usunięcia zmiany pierwotnej, na czas przeżycia całkowitego .....	67

4.9.3 Wpływ czynników, określonych w badaniu histopatologicznym biopsji węzła wartowniczego, na czas przeżycia całkowitego .....	69
4.9.4 Ocena wpływu parametrów morfotycznych oraz odpowiedzi na pierwszą linię leczenia na czas przeżycia całkowitego .....	69
4.10 Wpływ poszczególnych parametrów na czas wolny od progresji w grupie badanej – analiza Coxa .....	71
4.10.1 Wpływ czynników charakteryzujących grupę na czas wolny od progresji .....	71
4.10.2 Wpływ czynników, określonych w badaniu histopatologicznym usunięcia zmiany pierwotnej, na czas wolny od progresji .....	72
4.10.3 Wpływ czynników, określonych w badaniu histopatologicznym biopsji węzła wartowniczego, na czas wolny od progresji .....	74
4.10.4 Wpływ parametrów morfotycznych oraz rodzaju zastosowanej pierwszej linii leczenia na czas wolny od progresji .....	74
4.11 Analiza czasu przeżycia całkowitego oraz czasu wolnego od progresji w zależności od wybranych parametrów .....	76
4.11.1 Analiza czasu przeżycia całkowitego w zależności od zastosowanego leku w pierwszej linii .....	76
4.11.2 Analiza czasu wolnego od progresji choroby w zależności od zastosowanego leku w pierwszej linii .....	77
4.11.3 Analiza parametrów układu leukocytarnego pod względem wystąpienia zgonu .....	79
4.11.4 Analiza parametrów układu leukocytarnego pod względem wystąpienia progresji .....	80
4.11.5 Porównanie prawdopodobieństwa przeżycia w zależności od statusu mutacji <i>BRAF</i> .....	81
4.11.6 Porównanie prawdopodobieństwa progresji w zależności od statusu mutacji <i>BRAF</i> .....	82
4.12 Analiza porównawcza odsetka obiektywnych odpowiedzi w zależności od wybranych parametrów .....	83
4.12.1 Analiza porównawcza odsetka obiektywnych odpowiedzi w zależności od rodzaju leczenia .....	83
4.12.2 Analiza porównawcza odsetka obiektywnych odpowiedzi w zależności od zastosowanego leku w pierwszej linii .....	84

4.12.3 Analiza porównawcza odsetka obiektywnych odpowiedzi w zależności od statusu mutacji <i>BRAF</i> .....	85
4.13 Analiza prawdopodobieństwa przeżycia oraz progresji w zależności od rodzaju zastosowanego leczenia w pierwszej linii .....	86
4.13.1 Analiza prawdopodobieństwa przeżycia w zależności od rodzaju zastosowanego leczenia w pierwszej linii .....	86
4.13.2 Analiza prawdopodobieństwa progresji w zależności od rodzaju zastosowanego leczenia w pierwszej linii .....	87
4.13.3 Analiza prawdopodobieństwa przeżycia w zależności od wartości NLR.....	88
4.14 Analiza wartości NLR w zależności od wybranych parametrów .....	94
4.14.1 Analiza wartości NLR w zależności od rodzaju prowadzonego leczenia.....	94
4.14.2 Analiza wartości NLR w zależności od wartości LDH .....	95
4.14.2.1 Analiza wartości NLR w zależności od wartości LDH – 1 kurs .....	95
4.14.2.2 Analiza wartości NLR w zależności od wartości LDH – 2 kurs .....	96
4.14.2.3 Analiza wartości NLR w zależności od wartości LDH – 3 kurs .....	97
4.14.2.4 Analiza wartości NLR w zależności od wartości LDH – po 3 miesiącach leczenia .....	98
4.15 Dodatkowa analiza przeżycia całkowitego w zależności od wybranych zmiennych .....	99
4.15.1 Analiza przeżycia całkowitego w zależności od obecności przerzutów do ośrodkowego układu nerwowego.....	99
4.15.2 Analiza przeżycia całkowitego w zależności od wartości LDH .....	100
4.15.3 Analiza przeżycia całkowitego w zależności od stopnia zaawansowania .....	102
4.15.4 Analiza przeżycia całkowitego w zależności od obecności owrzodzenia zmiany pierwotnej.....	103
4.16 Analiza własności predykcyjnych NLR dla wystąpienia zgonu od rozpoczęcia leczenia w grupie otrzymującej inhibitory punktów kontrolnych oraz terapię celowaną .....	104
4.16.1 Analiza własności predykcyjnych NLR dla wystąpienia zgonu od rozpoczęcia leczenia w grupie otrzymującej inhibitory punktów kontrolnych.....	104
4.16.2 Analiza własności predykcyjnych NLR dla wystąpienia zgonu od rozpoczęcia leczenia w grupie otrzymującej terapię celowaną.....	112

4.17 Analiza własności predykcyjnych bezwzględnej liczby neutrofilii oraz limfocytów dla wystąpienia progresji od rozpoczęcia leczenia w grupie otrzymującej inhibitory punktów kontrolnych oraz terapię celowaną.....	119
4.17.1 Analiza własności predykcyjnych bezwzględnej liczby neutrofilii oraz limfocytów dla wystąpienia progresji od rozpoczęcia leczenia w grupie otrzymującej inhibitory punktów kontrolnych.....	119
4.17.2 Analiza własności predykcyjnych bezwzględnej liczby neutrofilii oraz limfocytów dla wystąpienia progresji od rozpoczęcia leczenia w grupie otrzymującej terapię celowaną.....	123
4.18 Analiza prawdopodobieństwa przeżycia oraz progresji w zależności od zastosowanej sekwencji leczenia .....	127
4.18.1 Analiza prawdopodobieństwa przeżycia w zależności od zastosowanej sekwencji leczenia.....	127
4.18.2 Analiza prawdopodobieństwa progresji w zależności od zastosowanej sekwencji leczenia.....	129
<b>5. Dyskusja.....</b>	<b>131</b>
<b>6. Wnioski .....</b>	<b>157</b>
<b>7. Piśmiennictwo.....</b>	<b>158</b>
<b>8. Streszczenie w wersji polskiej.....</b>	<b>172</b>
<b>9. Streszczenie w wersji angielskiej.....</b>	<b>176</b>
<b>10. Wykaz tabel.....</b>	<b>180</b>
<b>11. Wykaz rycin.....</b>	<b>184</b>

## Wykaz skrótów

<b>ABC</b>	bezwzględna liczba bazofilii (ang. <i>absolute basophil counts</i> )
<b>AIDS</b>	zespół nabytego niedoboru odporności (ang. <i>acquired immune deficiency syndrome</i> )
<b>AJCC/UICC</b>	Raka/Międzynarodowa Unia Walki z Rakiem (ang. <i>American Joint Committee on Cancer/Union Internationale Contre le Cancer</i> )
<b>AEC</b>	bezwzględna liczba eozynofilii (ang. <i>absolute eosinophil counts</i> )
<b>ALC</b>	bezwzględna liczba limfocytów (ang. <i>absolute lymphocyte count</i> )
<b>AMC</b>	bezwzględna liczba monocytów (ang. <i>absolute monocyte counts</i> )
<b>ANC</b>	bezwzględna liczba neutrofilii (ang. <i>absolute neutrophil count</i> )
<b>BCDR</b>	wskaźniki krwi obwodowej oznaczone przed leczeniem (ang. <i>pre-therapeutic blood cell count-derived ratios</i> )
<b>BOR</b>	najlepsza obiektywna odpowiedź (ang. <i>best objective response</i> )
<b>CCS</b>	czas przeżycia swoisty dla choroby nowotworowej (ang. <i>cancer – specific survival</i> )
<b>CLP</b>	progenitorowa komórka limfopoezy (ang. <i>common lymphoid progenitor</i> )
<b>CR</b>	całkowita remisja (ang. <i>complete remission</i> )
<b>CTCAE</b>	klasyfikacja działań niepożądanych stosowanego leczenia (ang. <i>Common Terminology Criteria for Adverse Events</i> )
<b>ctDNA</b>	wolnokrążący DNA (ang. <i>circulating tumor DNA</i> )
<b>CTLA-4</b>	antygen 4 cytotoksycznych limfocytów (ang. <i>cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4</i> )
<b>DMFS</b>	czas przeżycia wolny od przerzutów (ang. <i>distant metastasis-free survival</i> )
<b>DNA</b>	kwasy deoksyrybonukleinowe (ang. <i>deoxyribonucleic acid</i> )
<b>ECOG</b>	skala określająca stan ogólny pacjenta oraz jakość życia (ang. <i>Eastern Cooperative Oncology Group Scale</i> )
<b>FAMS</b>	rodzinny zespół znamion atypowych (ang. <i>familial atypical mole syndrome</i> )
<b>FPI</b>	nieznane ognisko pierwotne (ang. <i>focus primarius ignotus</i> )
<b>HILP</b>	izolowana chemioterapia perfuzyjna kończynowa w hipertermii (ang. <i>hyperthermic isolated limb perfusion</i> )
<b>HPV</b>	wirus brodawczaka ludzkiego (ang. <i>human papilloma virus</i> )

<b>HR</b>	współczynnik hazardu (ang. <i>hazard ratio</i> )
<b>irAE</b>	immunologiczne działania niepożądane (ang. <i>immune – related adverse events</i> )
<b>LDH</b>	dehydrogenaza mleczanowa (ang. <i>lactate dehydrogenase</i> )
<b>LLR</b>	iloraz liczby leukocytów oraz bezwzględnej liczby limfocytów (ang. <i>leukocyte – lymphocyte ratio</i> )
<b>LMR</b>	iloraz liczby limfocytów oraz monocytów (ang. <i>lymphocyte – monocyte ratio</i> )
<b>NLR</b>	wskaźnik neutrofilowo – limfocytny (ang. <i>neutrophil – lymphocyte ratio</i> )
<b>ORR</b>	wskaźnik obiektywnej odpowiedzi (ang. <i>overall response rate</i> )
<b>OS</b>	przeżycie całkowite (ang. <i>overall survival</i> )
<b>p</b>	prawdopodobieństwo testowe (ang. <i>probability value</i> ); p-wartość (ang. <i>p-value</i> )
<b>PD</b>	progresja choroby (ang. <i>progressive disease</i> )
<b>PD-1</b>	receptor 1 programowanej śmierci komórki (ang. <i>programmed cell death receptor 1</i> )
<b>PDL-1</b>	ligand receptora 1 programowanej śmierci komórki (ang. <i>programmed cell death ligand 1</i> )
<b>PFS</b>	czas wolny od progresji choroby (ang. <i>progression free survival</i> )
<b>PET</b>	pozytonowa tomografia emisyjna (ang. <i>positron emission tomography</i> )
<b>PLR</b>	iloraz liczby płytek oraz limfocytów (ang. <i>platelet – lymphocyte ratio</i> )
<b>PR</b>	częściowa remisja (ang. <i>partial remission</i> )
<b>RBC</b>	względna liczba bazofilii (ang. <i>relative basophil count</i> )
<b>REC</b>	względna liczba eozynofilii (ang. <i>relative eosinophil count</i> )
<b>RLC</b>	względna liczba limfocytów (ang. <i>relative lymphocyte count</i> )
<b>RFS</b>	czas wolny od nawrotu (ang. <i>relapse free survival</i> )
<b>rwTTD</b>	rzeczywisty czas do zakończenia leczenia (ang. <i>real world time to treatment discontinuation</i> )
<b>SD</b>	stabilizacja choroby (ang. <i>stable disease</i> )
<b>SLNB</b>	biopsja węzła wartowniczego (ang. <i>sentinel lymph node biopsy</i> )
<b>T-VEC</b>	talimogen laherparepwek (ang. <i>talimogene laherparepvec</i> )
<b>TFI</b>	czas wolny od leczenia (ang. <i>treatment – free interval</i> )



<b>TMB</b>	stopień obciążenia mutacjami nowotworowymi (ang. <i>tumor borden mutation</i> )
<b>TNM</b>	guz, węzeł chłonny, przerzuty (ang. <i>tumor, node, metastasis</i> )
<b>TTNTD</b>	czas do kolejnej linii leczenia lub śmierci (ang. <i>time to next treatment or death</i> )
<b>UV</b>	promieniowanie ultrafioletowe (ang. <i>ultraviolet</i> )
<b>UVA</b>	promieniowanie ultrafioletowe A (ang. <i>ultraviolet A</i> )
<b>UVB</b>	promieniowanie ultrafioletowe B (ang. <i>ultraviolet B</i> )
<b>WBC</b>	całkowita liczba leukocytów (ang. <i>white blood cell count</i> )
<b>wt<i>BRAF</i></b>	typ dziki mutacji <i>BRAF</i> (ang. <i>wild type BRAF</i> )

# 1. Wstęp

## 1.1 Epidemiologia

Etymologia słowa czerniak (melanoma) pochodzi z greckiego (melas – ciemny, omaguz). Pierwsze wzmianki na temat czerniaka pojawiły się już w zapisach Hipokratesa z Kos w V wieku p.n.e. oraz w zapisach greckiego lekarza Rufusa z Efezu [1].

Czerniak jest nowotworem złośliwym, który pochodzi z neuroektodermalnych komórek melanocytarnych. W Polsce czerniaki należą nadal do grupy nowotworów rzadkich. Według Krajowego Rejestru Nowotworów czerniak stanowi wśród mężczyzn 1,7% zachorowań, a wśród kobiet 1,9% [2]. Standaryzowany współczynnik zachorowalności dla czerniaka szacuje się na 6/100 tysięcy. W 2018 roku na czerniaka zachorowało 1962 kobiety oraz 1736 mężczyzn [3].

Uwagę zwraca duża dynamika wzrostu zachorowań na czerniaka. W latach 1980 – 2010 szacuje się około 3-krotny wzrost. Wśród młodych kobiet i mężczyzn do 44 roku życia zapadalność na czerniaka w latach 1980 – 2010 wzrosła dwukrotnie. U osób płci żeńskiej i męskiej w wieku średnim pomiędzy 45 a 64 rokiem życia trzykrotnie. U mężczyzn powyżej 65 roku życia odnotowano pięciokrotny wzrost zachorowań, natomiast u kobiet w tej samej grupie wiekowej ponad trzykrotny wzrost [2].

Czerniak jest przyczyną 1,4% zgonów wśród mężczyzn oraz 1,2% wśród kobiet. Na tle Europy umieralność w Polsce z powodu czerniaka jest wyższa o około 20% [2]. W 2018 roku, według danych z Krajowego Rejestru Nowotworów, odnotowano 665 zgonów kobiet z powodu czerniaka oraz 797 zgonów mężczyzn [3]. Ryzyko śmierci wzrasta od piątej dekady życia. Zależność ta dotyczy zarówno kobiet, jak i mężczyzn. Najwięcej zgonów mężczyzn z powodu czerniaka odnotowuje się w ósmej, a u kobiet w dziewiątej dekadzie życia [2]. Wysoki odsetek zgonów dotyczący osób w wieku starszym oraz sędziwym może być spowodowany zgonami również z powodów biologicznych wynikających z fizjologicznego starzenia się organizmu.

## 1.2 Etiologia

Najczęstszą lokalizacją czerniaka jest skóra i dotyczy około 90% przypadków. Pozostałe czerniaki związane są z występowaniem melanocytów w błonie śluzowej przewodu pokarmowego, dróg moczowych oraz układu oddechowego. Odrębną grupę czerniaków stanowią czerniaki błony naczyniowej oka oraz opon mózgowo-rdzeniowych [4].

Czynników predysponujących do powstania czerniaka jest wiele. Można je podzielić na czynniki zewnętrzne (środowiskowe) oraz genetyczne. Wśród czynników zewnętrznych największą rolę zwiększonego ryzyka zachorowania na czerniaka odgrywa intensywne działanie promieniowania ultrafioletowego naturalnego (promieniowanie słoneczne) oraz sztucznego (solaria) [5]. Okresowa intensywna ekspozycja na promieniowanie UV wydaje się być głównym czynnikiem ryzyka rozwoju czerniaka, co dowiedli już w 1987 roku Elwood i wsp. [6]. Długotrwała ekspozycja na słońce związana jest najczęściej z powstawaniem raka skóry oraz innych raków skóry niż czerniaki [6]. Oparzenie słoneczne w dzieciństwie jest największym czynnikiem ryzyka powstania czerniaka w wieku dorosłym. Duże znaczenie w rozwoju czerniaka ma również sztuczne promieniowanie słoneczne (solaria). W Polsce, na mocy ustawy z dnia 15 września 2017 o ochronie zdrowia przed następstwami solarium (Dz.U. z 2017 r. poz. 2111), wprowadzono całkowity zakaz udostępniania solarium małoletnim z towarzyszącym zakazem promocji oraz reklamy usług w zakresie udostępniania solarium. Dodatkowo istnieje obowiązek informowania o ryzyku związanym z korzystaniem z solarium.

Przewlekłe drażnienie skóry mechaniczne lub chemiczne prowadzi również do zwiększonego ryzyka powstania czerniaka [4]. U osób długotrwale stosujących herbicydy rozpoznawano częściej czerniaka typu akralnego dłoni lub stóp [5].

Wśród czynników genetycznych duże znaczenie ma fototyp skóry. Rozróżniamy sześć fototypów skóry według klasyfikacji Fitzpatricka [7] (tabela 1):

**Tabela 1.** Fototyp skóry wg Fitzpatricka.

Fototyp	Cechy ogólne	Reakcja na światło słoneczne
I	skóra blada, oczy niebieskie lub piwne, włosy rude lub blond, piegi występują często	zawsze oparzenie, brak opalenizny
II	skóra koloru jasnego, oczy piwne lub zielone, włosy brązowe, rude lub blond, piegi występują często	najczęściej występuje oparzenie, trudności w opalaniu
III	skóra kremowa, włosy brązowe lub ciemny blond, oczy brązowe lub szare, piegi występują rzadko	umiarkowane ryzyko oparzenia, opalenie przeciętne
IV	skóra oliwkowa lub jasnobrązowa, włosy brązowe, oczy brązowe, piegi nie występują	oparzenia występują rzadko, opalenizna występuje zawsze
V	skóra brązowa, włosy ciemne, oczy ciemnobrązowe	skóra naturalnie ciemna, sporadycznie ulega oparzeniu
VI	czarna skóra, włosy czarne, ciemnobrązowe oczy, piegi nie występują	nie ulega oparzeniom, mocna pigmentacja

Największe ryzyko wystąpienia czerniaka dotyczy osób z fototypem skóry typu I oraz II [5]. Większość czerniaków skóry powstaje *de novo*. U około 30% osób czerniak rozwija się w istniejących znamionach barwnikowych [5].

Choroby genetyczne predysponujące do powstania czerniaka to: rodzinny zespół znamion atypowych (ang. *familial atypical mole syndrome*, FAMS) oraz xeroderma pigmentosum, choroba dziedziczona w sposób autosomalny recesywny. Istotą choroby jest zaburzenie naturalnych mechanizmów naprawy DNA [8]. Dodatkowo około 2% czerniaków ma charakter dziedziczny. W przypadku wystąpienia czerniaka w pierwszym pokoleniu ryzyko zachorowania wzrasta 200-krotnie w kolejnych pokoleniach [8].

Występują również czynniki zwiększające ryzyko wystąpienia czerniaka. Dowiedziono, że w grupie chorych przyjmujących przewlekle leki immunosupresyjne z powodu transplantacji narządów, ryzyko powstania czerniaka wzrasta trzykrotnie [8]. Także osoby z rozpoznaniem AIDS (ang. *acquired immune deficiency syndrome*) mają zwiększone ryzyko powstania czerniaka [5].

### 1.3 Profilaktyka

Dowiedziano, że największy wpływ na powstanie czerniaka ma intensywne, krótkotrwałe oddziaływanie promieniowania UVA i UVB oraz oparzenia słoneczne w dzieciństwie. Promieniowanie UVB o długości fali 290-320 nm działa w sposób destrukcyjny na DNA komórek skóry [5]. Promieniowanie UVA o długości fali 320-400 nm doprowadza również do zniszczenia DNA komórek, ale w sposób pośredni poprzez wolne rodniki [8]. Najlepszym sposobem protekcji jest unikanie promieniowania słonecznego oraz niestosowanie łożek samoopalających. W przypadku ekspozycji na promieniowanie słoneczne bezwzględnie wymagane jest stosowanie kremów z filtrem.

### 1.4 Diagnostyka czerniaka

#### 1.4.1 Diagnostyka dermatoskopowa

Niepokój onkologiczny powinny wzbudzać zarówno zmiany powstałe de novo, jak i zmiany w występującym już znamieniu barwnikowym. W trakcie diagnostyki niezbędny jest wywiad lekarski, ocena dermatoskopowa skóry, biopsja wycinająca zmiany podejrzanej, ocena histopatologiczna, diagnostyka biochemiczna, molekularna oraz obrazowa [4].

Wywiad lekarski powinien zawierać informacje, od kiedy występuje zmiana, czy towarzyszą jej dodatkowe objawy takie, jak np. świąd, krwawienie, dolegliwości bólowe. Objawy kliniczne zostały zebrane w systemie amerykańskim ABCDE, który miał ułatwić rozpoznanie czerniaka [4] (tabela 2):

**Tabela 2.** System ABCDE.

<b>A (asymetry)</b>	asymetria
<b>B (borders)</b>	brzegi
<b>C (color)</b>	kolor
<b>D (diameter)</b>	średnica
<b>E (evolving)</b>	zmiana w czasie

Wg klasyfikacji ABCDE czerniak powinien charakteryzować się asymetrycznym kształtem, nierównymi brzegami, zróżnicowanymi kolorami, średnicą powyżej 5 mm lub dynamiką wzrostu oraz uwypukleniem się powyżej naskórka. Obecnie skala ta ma znaczenie jedynie dydaktyczne, gdyż pozwala wykryć tylko część zmian o charakterze czerniaka [4].

W trakcie wywiadu lekarskiego konieczne jest również zebranie informacji dotyczących uwarunkowań genetycznych, czynników środowiskowych oraz ocena fototypu skóry.

Każdy chory ze zmianami skórnymi powinien mieć wykonane badanie dermatoskopowe. Dermatoskopia jest badaniem nieinwazyjnym pozwalającym *in vivo* ocenić naskórek, granicę skórno-naskórkową oraz warstwę brodawkową skóry właściwej [9]. Do badania dermatoskopowego używany jest dermatoskop ze światłem spolaryzowanym lub niespolaryzowanym z imersją w powiększeniu 10-krotnym [4].

Podstawową zasadą stosowaną w trakcie badania przesiewowego dermatoskopowego jest 3-punktowa lista kontrolna opracowana przez G. Argenziano [9] (tabela 3):

**Tabela 3.** 3-punktowa skala dermatoskopowa wg Argenziano.

3-punktowa lista kontrolna	Definicja
1. asymetria	asymetryczny kolor oraz struktury dermatoskopowe
2. atypowa siatka barwnika	pogrubiałe linie, nieregularne oczka
3. niebiesko-białe struktury	różne odcienie koloru białego i niebieskiego

Obecność dwóch z trzech wymienionych punktów wiąże się z wysokim prawdopodobieństwem rozpoznania czerniaka. Metoda ta ma większą czułość niż specyficzność, co zmniejsza ryzyko nierozpoznania czerniaka. Zgodnie z zaleceniami, zmiany, które uzyskały 2 punkty wg wyżej wymienionej skali, powinny zostać usunięte [9]. W trakcie oceny dermatoskopowej zastosowanie mają również inne cztery algorytmy: analiza wzoru zmiany, reguła ABCDE, 11-punktowa lista kontrolna Menziesa oraz 7-punktowa lista kontrolna [9]. Wymienione algorytmy mają zbliżoną czułość do skali 3-punktowej wg Argenziano, ale większą swoistość [4].

#### 1.4.2 Diagnostyka histopatologiczna

Po zakwalifikowaniu zmiany do usunięcia w wyniku badania dermatoskopowego należy wykonać biopsję wycinającą. Wycięcie powinno być wykonane z marginesem 1-3 mm zdrowej skóry wzdłuż osi długiej. Jedynie w zakresie twarzy można kierować się liniami estetycznymi [4]. Nie jest wskazane wykonywanie szerszego wycięcia celem zachowania właściwego spływu chłonnego. Nie jest wskazane również wykonywanie biopsji cienkoigłowej, gruboigłowej, biopsji ścinającej, punktowej w przypadku podejrzenia

czerniaka. Jedynie w przypadku bardzo rozległych zmian można rozważać wykonanie diagnostyki cytologicznej za pomocą imprintu – odcisku guza [8].

Biopsja wycinająca pozwala ustalić rozpoznanie histopatologiczne oraz ocenić czynniki prognostyczne niezbędne do dalszego leczenia. Prawidłowy raport histopatologiczny musi zawierać opis makroskopowy oraz mikroskopowy usuniętej zmiany. Cechy mikroskopowe obowiązkowe w raporcie histopatologicznym to [4, 10]:

- rozpoznanie histopatologiczne,
- grubość nacieku wg Breslowa,
- obecność lub nieobecność owrzodzenia,
- ocena stopnia zaawansowania pT według pTNM AJCC/UICC,,
- obecność lub nieobecność mikrosatelitozy,
- marginesy,
- ilość figur podziału na 1mm<sup>2</sup>
- rodzaj fazy wzrostu (wertikalny, horyzontalny).

Cechy, które nie są obowiązkowe w raporcie histopatologicznym czerniaka to [4]:

- naciekanie lub brak nacieku naczyń chłonnych krwionośnych oraz pni nerwowych,
- obecność stopnia regresji,
- ocena wg skali Clarka,
- rodzaj komórki (wrzecionowata, epithelioidna, pleomorficzna),
- obecność i nasilenie nacieku limfocytarnego.

### 1.4.3 Diagnostyka molekularna

Kolejnym etapem diagnostyki czerniaka jest diagnostyka molekularna. Obowiązkowe jest oznaczenie mutacji w kodonie 600 genu *BRAF* w III i IV stopniu zaawansowania czerniaka [11]. *BRAF* należy do grupy kinaz białkowych serynowo-treoninowych, która aktywuje szlak sygnałowy kinazy MAPK/ERK [12]. Należy również rozważać oznaczenie wyżej wymienionej mutacji w stopniu IIC. W przypadku braku mutacji *BRAF* (ang. *wild type BRAF*, *wtBRAF*) można oznaczyć mutację *NRAS* oraz *KIT* celem poszukiwania nowych rozwiązań terapeutycznych [11]. Obecnie, w szczególnych sytuacjach, kiedy niedostępny jest materiał tkankowy lub ma niską jakość diagnostyczną, można użyć ctDNA (ang. *circulating tumor DNA* – wolnokrążący DNA) celem oznaczenia mutacji *BRAF* [4]. Wiadomo również, że dane podtypy czerniaków mają związek ze specyficznymi mutacjami [11] (tabela 4):

**Tabela 4.** Podtyp czerniaka w zależności od mutacji.

Rodzaj mutacji	Podtyp czerniaka
BRAF, CDKN2A, NRAS, TP53	czerniak skóry
BRAF, NRAS, NF1, KIT	czerniak akralny
SF3B1	czerniak błony śluzowej
GNAQ, GNA11	czerniaki narządu wzroku oraz wywodzące się ze znamienia błękitnego

Obecnie w Polsce nie oznacza się rutynowo ekspresji liganda programowanej śmierci komórki (ang. *programmed cell death ligand 1*, PDL-1). W badaniach klinicznych często oceniany jest stopień obciążenia mutacjami nowotworowymi (ang. *tumor borden mutation*, TMB). Jego kliniczne zastosowanie nie jest obecnie uzasadnione [11].

#### 1.4.4 Diagnostyka obrazowa

Każdy pacjent wymaga dokładnego badania fizykalnego z oceną skóry pod kątem przerzutów oraz oceną węzłów chłonnych. Chorzy z niskim zaawansowaniem czerniaka pT1a nie wymagają standardowo wykonywania badań obrazowych. W wyższych stopniach zaawansowania (pT1b - pT4b), przed planowanym poszerzeniem wycięcia blizny oraz przed biopsją węzła wartowniczego, należy wykonać badanie ultrasonograficzne regionalnych węzłów chłonnych. W przypadku obecności zmian podejrzanych onkologicznie w badaniu ultrasonograficznym należy wykonać biopsję celem weryfikacji histopatologicznej węzłów chłonnych. Rutynowo badanie tomografii komputerowej, rezonansu magnetycznego lub badanie pozytonowej tomografii emisyjnej (ang. *positron emission tomography*, PET) nie jest zalecane wśród pacjentów bez objawów choroby. Badania te należy rozważać u chorych z dużym ryzykiem rozsiewu, czyli wśród chorych pT3b i wyżej oraz u pacjentów z jawnymi klinicznie węzłami chłonnymi [11]. Osobną grupę chorych stanowią osoby z czerniakiem o nieznanym punkcie wyjścia (ang. *focus primarius ignotus*, FPI). Wśród tej grupy pacjentów wskazana jest pełna diagnostyka obrazowa za pomocą tomografii komputerowej lub badanie PET [4].

U chorych w IV stopniu zaawansowania wskazane jest wykonanie oznaczenia dehydrogenazy mleczanowej (ang. *lactate dehydrogenase*, LDH) w surowicy. Wartość LDH jest jednym z czynników rokowniczych [4].



## 1.5 Ocena stopnia zaawansowania

Obecnie obowiązuje ósma edycja systemu oceny stopnia zaawansowania czerniaka Amerykańskiego Wspólnego Komitetu ds. Raka (ang. *American Joint Committee of Cancer*, AJCC). Została ona wdrożona od 1 stycznia 2018 roku po wprowadzeniu w 2017 roku [13]. Wcześniej obowiązywała edycja VII wprowadzona w 2010 roku. Nowa klasyfikacja pozwala w lepszy sposób ocenić stopień zaawansowania i rokowania oraz stratyfikować chorych do odpowiedniej grupy ryzyka [13].

Ocena stopnia zaawansowania według TNM (ang. *tumor-node-metastases*) jest niezbędna do ustalenia prawidłowego postępowania terapeutycznego. Do kluczowych czynników rokowniczych czerniaka zaliczamy grubość nacieku ocenianą wg Breslowa oraz obecność lub nieobecność owrzodzenia. Dane te tworzą cechę T (ang. *tumor*) [13]. W najnowszej VIII edycji grubość guza powinna być mierzona z dokładnością do 0,1 mm, a nie do 0,01 mm. Modyfikacji uległa między innymi cecha T1. Odstąpiono od podziału w zależności od ilości mitoz na 1mm<sup>2</sup>. Podzielono cechę T1 na cechę T1a < 0,8 mm bez owrzodzenia oraz cechę T1b < 0,8 mm z owrzodzeniem lub 0,8-1,00 mm niezależnie od owrzodzenia [14]. Obecność przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych jest głównym czynnikiem określającym rokowanie wśród pacjentów. Dodatkowo obecność lub brak mikrosatelitozy pozwala na określenie cechy N (ang. *node*) [13]. Znaczenie rokownicze ma również fakt, czy przerzuty do węzłów chłonnych są jawne klinicznie. W takim przypadku rokowanie jest gorsze [4]. W VIII klasyfikacji jedną ze zmian było zastąpienie makroprzerzutów oraz mikroprzerzutów zmianami jawnymi lub niejawnymi klinicznie [14]. Ostatnim elementem klasyfikacji stopnia zaawansowania jest cecha M (ang. *metastases*) określająca obecność lub brak przerzutów do narządów odległych. W najnowszej VIII edycji dodatkowo oceniana jest wartość LDH. Każda lokalizacja przerzutów (M1a - przerzuty do skóry, mięśni, tkanki podskórnej lub odległych węzłów chłonnych, M1b - przerzuty do płuc +/- M1a, M1c – przerzuty do narządów trzewnych +/- M1a, M1b oraz M1d – przerzuty do ośrodkowego układu nerwowego) została dodatkowo podzielona na kategorię 0 – LDH w normie oraz kategorię 1 – LDH powyżej normy [14]. Wysoka wartość LDH oraz rozsiew do ośrodkowego układu nerwowego rokuje najgorzej [4].

LDH jest jednym z czynników rokowniczych przebiegu czerniaka. LDH jest ważnym enzymem w beztlenowym szlaku metabolicznym [15]. Jest to rodzaj enzymu cytoplazmatycznego, który odpowiedzialny jest za przekształcenie pirogronianu do mleczanu. Komórki nowotworowe charakteryzują się dużą dynamiką wzrostu. Bardzo

szybko, z powodu niedostatecznej podaży tlenu, zaczynają korzystać z mechanizmów beztlenowych do produkcji energii. Na tym etapie dochodzi do wzrostu stężenia dehydrogenazy mleczanowej w komórce, niedotlenienia oraz ostatecznie do martwicy komórki. Wówczas obserwuje się wzrost stężenia LDH we krwi [14]. Deichmann i wsp. wykazali, że LDH jest najbardziej swoistym (92%) markerem progresji czerniaka [16].

## 1.6 Czynniki rokownicze w czerniaku

Czynniki predykcyjne wskazują możliwość uzyskania odpowiedzi na prowadzone leczenie. Czynniki prognostyczne to czynniki, które mają związek z rokowaniem w przebiegu danej choroby [17]. Ocena czynników rokowniczych pozwala ocenić ryzyko nawrotu choroby oraz pomaga w ustaleniu właściwej terapii [4].

Głównym czynnikiem rokowniczym wśród pacjentów bez przerzutów jest grubość nacieku czerniaka wg Breslowa. Po raz pierwszy grubość nacieku czerniaka jako czynnik rokowniczy został przedstawiony w 1970 roku przez Alexandra Breslowa. Wraz ze wzrostem grubości czerniaka proporcjonalnie rośnie ryzyko zgonu oraz nawrotu choroby [18]. Wyróżniamy czerniaki cienkie, charakteryzujące się grubością nacieku  $< 1$  mm (przeżycia 5-letnie dotyczą nawet 90% pacjentów) oraz czerniaki grube z naciekiem  $> 4$  mm wg Breslowa (przeżycia 5-letnie dotyczą około 46% chorych) [18]. Kolejnym bardzo istotnym czynnikiem rokowniczym jest obecność owrzodzenia, które wiąże się z gorszym przeżyciem. Dwa wyżej wymienione czynniki korelują ze sobą. Wraz ze wzrostem grubości czerniaka rośnie częstość występowania owrzodzenia. W przypadku czerniaków  $< 1$  mm wg Breslowa ryzyko obecności owrzodzenia wynosi 6 – 12,5%, dla czerniaków grubych (naciek  $> 4$  mm wg Breslowa) ryzyko to wynosi 63% – 72,5% [19]. Obecność owrzodzenia wiąże się również z większą agresywnością czerniaka oraz zwiększonym ryzykiem powstawania przerzutów [18]. Następnym istotnym czynnikiem rokowniczym jest indeks mitotyczny (IM) oceniany na  $\text{mm}^2$ . Potwierdzono na podstawie wielu analiz związek pomiędzy ilością mitoz a czasem przeżycia. Im większa ilość mitoz na  $\text{mm}^2$ , tym gorsze wskaźniki przeżycia wśród chorych na czerniaka [20]. 10-letnie przeżycia dotyczą 93% pacjentów, u których stwierdzono  $\text{IM } 0/\text{mm}^2$ , w przypadku stwierdzenia  $\text{IM} > 20/\text{mm}^2$  wartości te spadają do 48% [20].

Rozsiew do węzłów chłonnych jest głównym czynnikiem rokowniczym wśród chorych z czerniakiem w III stopniu zaawansowania. Najważniejsze znaczenie ma ilość zajętych węzłów chłonnych, rodzaj przerzutu (mikroprzerzuty vs. makroprzerzuty) oraz

informacja, czy nowotwór nacieka poza torebkę węzła chłonny [4]. W klasyfikacji AJCC z 2017 roku utrzymano podział cechy N na 3 stopnie, w zależności od ilości zajętych węzłów chłonnych (N1 – 1 węzeł chłonny, lub przerzuty in-transit, ogniska satelitarne i/lub mikrosatelitarne bez zajęcia węzła chłonny; N2 – 2,3 węzły chłonne lub przerzuty in-transit, ogniska satelitarne i/lub mikrosatelitarne z zajęciem 1 węzła chłonny; N3 – 4 i więcej zajętych węzłów chłonnych lub przerzuty in-transit, ogniska satelitarne i/lub mikrosatelitarne z zajęciem 2 lub więcej węzłów chłonnych lub obecność pakietu węzłowego). Istotną kwestią jest rodzaj diagnostyki przerzutów do węzłów chłonnych. Mikroprzerzuty, rozpoznawane na podstawie badanie histopatologicznego, rokują lepiej w porównaniu do przerzutów w jawnych klinicznie węzłach chłonnych lub stwierdzanych na podstawie badań obrazowych. Podział ten został uwzględniony w aktualnej 8 klasyfikacji AJCC (cech N a – zmiany niejawne klinicznie oraz cecha N b – zmiany jawne klinicznie). W przypadku mikroprzerzutów w 2-3 węzłach chłonnych z obecnym owrzodzeniem odsetek 5-letnich przeżyć wynosi 53,9 miesiąca vs. 37,7 miesiąca, kiedy występują makroprzerzuty [18].

Istotną kwestią mającą związek z gorszym rokowaniem jest także obecność mikrosatelitozy lub guzków satelitarnych. Ich częstość wzrasta wraz ze wzrostem grubości nacieku czerniaka. Kolejne negatywne czynniki rokownicze to typ histopatologiczny czerniaka. Czerniak z plamy soczewicowatej oraz czerniak szerzący się powierzchownie charakteryzują się dobrym rokowaniem. Gorsze rokowanie dotyczy czerniaka guzowatego oraz postaci akralno-lentiginalnej. Złe rokowanie ma związek z rozpoznaniem czerniaka desmoplastycznego i amelanotycznego oraz regresją zmiany pierwotnej, co jest związane z nadmierną angiogenezą. Negatywne znaczenie rokownicze ma obecność nacieków czerniaka w naczyniach chłonnych oraz lokalizacja zmian (gorzej rokują zmiany zlokalizowane w górnej części tułowia, górnej części ramion, szyi oraz głowy). Lepszym rokowaniem charakteryzuje się płeć żeńska oraz obecność limfocytów naciekających guz [8].

W przypadku rozpoznania czerniaka w IV stopniu zaawansowania największe znaczenie rokownicze ma lokalizacja przerzutów odległych. Lepszym rokowaniem charakteryzują się chorzy z przerzutami do pozaregionalnych węzłów chłonnych, tkanki podskórnej i skóry (cecha M1a), cecha M1b (rozsiew do płuc) rokuje również lepiej w porównaniu do cechy M1c (inne narządy trzewne). Najgorzej rokuje rozsiew do

ośrodkowego układu nerwowego (cecha M1d) [8] [19]. Wysoka wartość LDH związana jest ze złym rokowaniem, co zostało ujęte w klasyfikacji AJCC z 2017 roku [4].

## 1.7 Leczenie chirurgiczne

Leczenie chirurgiczne jest głównym sposobem leczenia pacjentów we wczesnych stadiach zaawansowania czerniaka. Chirurgia znajduje również swoje zastosowanie w przypadku choroby zaawansowanej [4].

Po wykonaniu biopsji wycinającej i uzyskaniu wyniku histopatologicznego czerniaka kolejnym krokiem jest poszerzenie wycięcia blizny z biopsją węzła wartowniczego. W zależności od grubości nacieku czerniaka wg Breslowa wykonuje się odpowiednio szerokie wycięcie blizny (tabela 5) [10].

**Tabela 5.** Zalecany margines radykalnego wycięcia ogniska pierwotnego czerniaka.

Grubość czerniaka wg Breslowa	Zalecany margines
in situ	0,5 cm
≤ 2 mm	1 cm
> 2 mm	2 cm

Wykonanie wycięcia blizny z marginesem powyżej 2 cm związane jest z mniejszym odsetkiem wznów miejscowych, ale nie ma wpływu na przeżycia całkowite [4]. W przypadku lokalizacji czerniaka na przykład na twarzy marginesy z przyczyn anatomicznych mogą być mniejsze, ale zawsze należy dążyć do marginesu 1 cm [4].

Kolejnym etapem leczenia jest biopsja węzła wartowniczego (ang. *sentinel lymph node biopsy*, SLNB). Procedura wykonywana jest po biopsji wycinającej, jednocześnie z radykalnym wycięciem blizny z odpowiednim marginesem. Do biopsji węzła wartowniczego powinni być kwalifikowani pacjenci [21] :

- po biopsji wycinającej z potwierdzonym histopatologicznie rozpoznaniem czerniaka,
- z grubością nacieku według Breslowa  $\geq 0,8$  mm lub z owrzodzeniem na powierzchni,
- bez jawnych klinicznie przerzutów do węzłów chłonnych oraz innych narządów.

Wszystkie węzły chłonne wartownicze muszą zostać poddane dokładnej ocenie histopatologicznej. Raport histopatologiczny powinien zawierać informacje na temat [4]:

- ogólnej liczby znalezionych węzłów chłonnych,

- ilości węzłów z przerzutami czerniaka,
- wielkości największego ogniska przerzutu,
- obecności lub nieobecności zatorów z komórek nowotworowych w naczyniach,
- naciekania i przechodzenia nacieku przez torebkę węzła chłonnego.

Na podstawie wyników wieloośrodkowego badania selektywnej limfadenektomii (ang. *Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial-1*, MSLT-1) uzyskano informację na temat przydatności biopsji węzła wartowniczego do określenia prawidłowego stopnia zaawansowania, kontroli miejscowej nowotworu, oceny czynników ryzyka oraz możliwości włączenia chorych do odpowiednich badań klinicznych. Biopsja węzła wartowniczego nie ma natomiast wpływu na czas do progresji choroby oraz na czas całkowitego przeżycia. Różnicę zauważono w grupie chorych, u których stwierdzono rozsiew do węzła wartowniczego. Całkowite przeżycia 10-letnie były dłuższe wśród pacjentów, u których wykonano pilną limfadenektomię w stosunku do chorych, u których została ona wykonana w momencie jawnych klinicznych przerzutów [21]. W przypadku obecności przerzutu w węzle wartowniczym należy ustalić dalsze postępowanie: obserwację ze ścisłą kontrolą w badaniu ultrasonograficznym spływu chłonnego lub limfadenektomię. Ryzyko przerzutów czerniaka w węzłach nie wartowniczych wynosi około 20% i zwiększa się, jeśli przerzut wynosi  $> 1$  mm [4]. W piśmiennictwie dostępne są wyniki dwóch badań Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial (I) oraz De-COG-SLT (badanie nie uzyskało znamienności statystycznej) [22] [23]. Na podstawie wymienionych badań potwierdzono, że SLNB ma rolę prognostyczną. Udowodniono również w badaniu MSLT (I) brak poprawy przeżyć całkowitych wśród chorych poddawanych limfadenektomii [22]. Czas do wystąpienia przerzutów odległych nie był dłuższy wśród chorych poddawanych limfadenektomii [23]. W grupie tej uzyskano dłuższy czas do nawrotu choroby. Obecnie do zabiegu usunięcia węzłów chłonnych powinni być kwalifikowani tylko ci chorzy, którzy mają duże ryzyko rozsiewu (zajęcie dwóch i więcej węzłów chłonnych, nacieki na torebkę węzła chłonnego, duża wielkość przerzutu).

Kolejną grupą pacjentów są chorzy z jawnymi klinicznie przerzutami do węzłów chłonnych. Jest to grupa chorych, która rokuję gorzej. Należy wykonać biopsję cienkoigłową celem potwierdzenia patologicznego charakteru węzłów. W przypadku przerzutów czerniaka nie wskazane jest wykonanie limfadenektomii terapeutycznej. Istnieją dokładne wytyczne, które stacje węzłowe należy usunąć w przypadku spływu pachowego, pachwinowego oraz szyjnego [4]. W tej grupie chorych obowiązkowe są badania obrazowe

tomografii komputerowej lub PET-CT przed zabiegiem, celem wykluczenia rozsiewu odległego. W przypadku czerniaków o nieznanym punkcie wyjścia w rozsiewie do węzłów chłonnych postępowanie jest takie samo.

Chirurgia odgrywa również kluczową rolę w przypadku wznowy miejscowej. Możliwa jest wtedy triada objawów: satelitoza, przerzut in-transit, wznowa miejscowa.

Satelitoza to zmiany występujące w skórze lub tkance podskórnej do 2 cm od blizny, następnie choroba szerząc się dalej daje przerzuty do skóry i tkanki podskórnej powyżej 2 cm od blizny – przerzuty in-transit. Ostatecznie dalszy rozsiew miejscowy drogą naczyń chłonnych nazywamy wznową miejscową. Złotym standardem jest leczenie chirurgiczne. Należy dążyć do uzyskania marginesów bez nacieków nowotworowych [11]. W przypadku braku możliwości wycięcia zmian należy rozważyć inne metody leczenia miejscowego, takie jak: elektrochemioterapię, radioterapię, immunoterapię doguzową – talimogen laherparepvek (ang. *talimogene laherparepvec*, T-VEC), izolowaną chemioterapię perfuzyjną kończynową w hipertermii (ang. *hyperthermic isolated limb perfusion*, HILP). Radioterapia może być leczeniem z wyboru w przypadku lentigo maligna melanoma [24]. Przy braku możliwości zastosowania wyżej wymienionych terapii należy włączyć leczenie systemowe.

## **1.8 Leczenie systemowe**

### **1.8.1 Leczenie systemowe adjuwantowe**

Nazwa leczenie adjuwantowe pochodzi od łacińskiego słowa *adiuvare* - pomagać. Jest to rodzaj terapii, który ma na celu zmniejszenie ryzyka nawrotu miejscowego lub wystąpienia przerzutów odległych po radykalnym leczeniu chirurgicznym. Najczęstszym sposobem leczenia adjuwantowego jest chemioterapia. Do innych terapii należą: immunoterapia, terapia celowana, hormonoterapia lub obecnie rzadko radioterapia.

Leczenie uzupełniające zaawansowanego miejscowo czerniaka z przerzutami do regionalnych węzłów chłonnych jest aktualnie standardem postępowania, po radykalnym leczeniu chirurgicznym. Do leczenia uzupełniającego kwalifikowani są chorzy w stopniu zaawansowania IIIA z przerzutem w węzle wartowniczym >1mm, IIIB, IIIC. Pacjenci w IV stopniu zaawansowania po metastazektomii mogą otrzymać niwolumab w ramach terapii adjuwantowej. Wśród leków stosowanych w Polsce należy wymienić niwolumab, pembrolizumab oraz dabrafenib z trametynibem. Leczenie trwa rok. W Stanach Zjednoczonych oraz Unii Europejskiej zarejestrowany jest również interferon alfa-2b, który

nie jest obecnie stosowany w Polsce. W Stanach Zjednoczonych rejestrację uzyskał dodatkowo ipilimumab [4].

Badaniem rejestracyjnym dla interferonu alfa-2b (IFN alfa-2b) w dużych dawkach było badanie Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG-1684) [25]. Lek został zarejestrowany w Stanach Zjednoczonych oraz Unii Europejskiej dla czerniaków w stopniu zaawansowania IIB-III. INF alfa-2b powoduje zmniejszenie ryzyka nawrotu choroby o 17-18%. Dane dotyczące przeżyć całkowitych pochodzą z metaanaliz. Szacuje się poprawę 5-letniego przeżycia o około 3-5% [25]. Z uwagi na wyniki badań oraz istotne toksyczności terapii INF alfa - 2b lek należy stosować w wyselekcjonowanej grupie pacjentów: z czerniakiem z owrzodzeniem oraz obecnością mikroprzerzutów w węźle wartowniczym [26]. Wyżej wymieniona terapia nie jest stosowana w Polsce w leczeniu adjuwantowym.

Kolejnym lekiem stosowanym w leczeniu uzupełniającym w Stanach Zjednoczonych jest ipilimumab. Lek nie jest zarejestrowany w tym wskazaniu w Polsce [4]. Ipilimumab jest ludzkim przeciwciałem IgG1 anty-CTLA-4 (ang. *Cytotoxic T-Lymphocyte Antygen 4*) [27]. W badaniu rejestracyjnym 3 fazy (EORTC 18071) analizowano pacjentów z rozpoznaniem czerniakiem w stopniu zaawansowania wg AJCC 2009 IIIA z przerzutem w węźle wartowniczym > 1 mm, IIB, IIC. Chorych randomizowano do dwóch grup. W ramieniu pierwszym pacjenci otrzymywali ipilimumab w dawce 10mg/kg masy ciała. Lek był podawany w rytmie co 3 tygodnie, cztery razy a następnie co 3 miesiące do trzech lat lub do czasu progresji albo toksyczności terapii. W drugiej grupie pacjenci otrzymywali placebo. Pierwszorzędownym punktem końcowym był czas wolny do nawrotu choroby (ang. *relapse free survival*, RFS). Drugorzędowe punkty końcowe to: czas przeżycia wolny od przerzutów (ang. *distant metastasis free survival*, DMFS), czas przeżycia całkowitego (OS), profil działań niepożądanych oraz ocena jakości życia. Dla mediany czasu obserwacji 2,74 roku, pacjenci leczeni ipilimumabem osiągnęli mRFS 26,1 miesiąca (95% CI: 19,3-39,3) vs. 17,1 miesiąca (95% CI: 13,4-21,6) w grupie otrzymującej placebo. 3-letni RFS wynosił odpowiednio 46,5% (95% CI: 41,5-51,3) vs. 34,8% (95% CI: 30,1-39,5). Uwagę w badaniu zwraca ilość zdarzeń niepożądanych. W grupie 471 pacjentów otrzymujących ipilimumab 245 (52 %) osób przerwało terapię z powodu działań niepożądanych, z czego 230 osób (49%) prezentowało immunologiczne toksyczności [28]. W 2019 roku zostały opublikowane uaktualnione wyniki badania. Nadal utrzymuje się korzyść wynikająca z leczenia ipilimumabem. RFS (HR 0,75; 95% CI 0,63-0,88; p < 0,001), DMFS (HR 0,76; 95% CI 0,64-0,90; p = 0,002) oraz OS (HR 0,73; 95% CI 0,60-0,89; p = 0,002) [29]

Jednym z przeciwciał zarejestrowanych w Polsce w terapii adjuwantowej jest przeciwciało anty – PD-1, niwolumab. Lek ten uzyskał rejestrację zarówno w stopniu zaawansowania IIIB, IIIC, jak i w IV stopniu po metastazektomii na podstawie badania 3 fazy CheckMate-238. W badaniu wzięło udział 906 pacjentów. 453 chorych otrzymało niwolumab w dawce 3 mg/kg masy ciała co 2 tygodnie. Druga grupa otrzymała ipilimumab w dawce 10mg/kg masy ciała co 3 tygodnie podawany czterokrotnie a następnie co 12 tygodni. Leczenie w obu ramionach trwało rok lub do czasu progresji albo wystąpienia zdarzeń niepożądanych niepozwalających na kontynuację. Pierwszorzędownym punktem końcowym był czas przeżycia wolny od nawrotu. W grupie leczonej niwolumabem uzyskano 10% przewagę przeżyć wolnych od nawrotu choroby po 12 miesiącach w porównaniu do ipilimumabu (70,5% vs 60,8%). Również ilość zdarzeń niepożądanych w stopniu 3 oraz 4 była zdecydowanie niższa wśród chorych otrzymujących niwolumab (14,4% vs. 45,9%) [27]. Aktualizacja danych po 3 i 4 latach obserwacji potwierdziła dane uzyskane w trakcie rocznych obserwacji [30].

Badanie EORTC 1325 (Keynote-054) jest badaniem rejestracyjnym dla pembrolizumabu w leczeniu adjuwantowym [31]. Pacjenci z rozpoznaniem czerniakiem w stopniu IIIA z przerzutem w węzle wartowniczym powyżej 1 mm, IIIB oraz IIIC zostali przydzieleni do dwóch grup. W jednym ramieniu chorzy otrzymywali placebo (505 osób), a w drugim pembrolizumab (514 osób) podawany w dawce 200mg co trzy tygodnie. Leczenie trwało rok lub do czasu progresji bądź toksyczności uniemożliwiających kontynuację terapii [31]. Pierwszorzędownym punktem końcowym był czas przeżycia wolny od nawrotu. Po 15 miesiącach obserwacji odsetek RFS w populacji leczonej wynosił 75,4% vs. 61% wśród osób otrzymujących placebo. Działania niepożądane w stopniu trzecim lub wyższym występowały u 14,7% chorych otrzymujących pembrolizumab w stosunku do 3,4% w grupie otrzymującej placebo [31]. 3-letnia obserwacja potwierdziła pierwotne wyniki. Odsetek RFS po 3 latach w grupie leczonej nadal był wyższy i wynosił 63,7% vs. 44,1% w grupie placebo [32]. Pembrolizumab jest stosowany w Polsce w leczeniu adjuwantowym czerniaka z wysokim ryzykiem nawrotu przez rok.

Drugą grupą leków, która uzyskała rejestrację w leczeniu uzupełniającym jest terapia ukierunkowana molekularnie. Na podstawie badania COMBI-AD dabrafenib z trametynibem uzyskały rejestrację w leczeniu adjuwantowym [33]. Do badania zostali włączeni chorzy z obecnością mutacji *BRAF*. 438 osób otrzymało dabrafenib w dawce 150mg dwa razy na dobę oraz trametynib 2mg na dobę. U 432 chorych zostało zastosowane placebo. Terapia trwała rok. Zastosowanie leczenia molekularnego skutkowało



wydłużeniem przeżyć wolnych od nawrotu choroby (58% vs 39%) oraz czasu całkowitego przeżycia [33]. 4-letnie obserwacje również potwierdzają korzyść z zastosowania dabrafenibu z trametynibem [34]. Leki są stosowane w Polsce w leczeniu uzupełniającym czerniaka z wysokim ryzykiem wznowy oraz z obecną mutacją *BRAF*.

Obecnie trwa badanie kliniczne IMMUED oceniające skuteczność niwolumabu w połączeniu z ipilimumabem w leczeniu adjuwantowym wśród chorych z rozpoznaniem czerniakiem w IV stopniu zaawansowania po metastazektomii lub radioterapii zmian przerzutowych, bez aktywności choroby [35]. W badaniu chorych stratyfikowano do trzech grup otrzymujących niwolumab oraz ipilimumab lub niwolumab oraz placebo a także placebo. Punktem końcowym jest czas wolny od nawrotu choroby. 2-letni czas wolny od nawrotu w grupie leczonej niwolumabem oraz ipilimumabem dotyczył 72% osób, w grupie leczonej niwolumabem 40% a w grupie placebo 14%. Dodatkowo stwierdzono więcej działań niepożądanych w stosunku do chorych leczonych w badaniach klinicznych z powodu zaawansowanej choroby z obecnymi zmianami targetowymi [35].

## **1.8.2 Leczenie systemowe zaawansowanego czerniaka w stadium uogólnienia**

### **1.8.2.1 Chemioterapia**

Kilkanaście lat temu jedyną możliwością leczenia systemowego zaawansowanego czerniaka było stosowanie chemioterapii. Dakarbazyna (DTIC) jest cytostatykiem, który hamuje wzrost komórek nowotworowych niezależnie od cyklu oraz blokuje syntezę DNA. Dodatkowo jest to lek o działaniu alkilującym. Sama dakarbazyna nie wywołuje działania przeciwnowotworowego. W wyniku demetylacji mikrosomalnej dochodzi do przemiany do 5-amino-imidazolo4-karboksamidu i kationu metyloвого, który posiada działanie alkilujące [36]. Szacuje się, że mediana czasu trwania odpowiedzi wynosi 4 miesiące, natomiast obiektywna odpowiedź dotyczy 15% chorych [8]. W 2000 roku zostały opublikowane wyniki randomizowanego badania III fazy porównującego skuteczność temozolomidu i dakarbazyny [37]. W badaniu udział wzięło 305 chorych z zaawansowanym czerniakiem. Pacjenci zostali podzieleni na dwie kohorty otrzymujące temozolomid doustnie w dawce 200mg/m<sup>2</sup> przez 5 dni co 28 dni lub dakarbazynę dożylnie w dawce 250mg/m<sup>2</sup> przez 5 dni co 3 tygodnie. Osiągnięto dłuższą medianę przeżycia wśród pacjentów leczonych temozolomidem 7,7 miesiąca vs. 6,4 miesiąca dla chorych otrzymujących DTIC. mPFS również była dłuższa dla grupy otrzymującej temozolomid 1,9 miesiąca vs. 1,5 miesiąca (p=0,012). Kolejnym lekiem stosowanym w przeszłości w leczeniu czerniaka był

hydroksymocznik. Hydroksymocznik jest lekiem o działaniu antymitotycznym oraz cytotoksycznym. Działa w fazie S. Przyczynia się do zahamowania reduktazy rybonukleotydowej biorącej bezpośredni udział na etapie syntezy DNA. Dodatkowo powoduje uszkodzenie DNA wywołując zahamowanie wzrostu komórek [38]. Przedstawiony cytostatyk także nie spowodował znacznego wydłużenia czasu całkowitego przeżycia w grupie chorych z zaawansowanym czerniakiem [39]. Stosowanie chemioterapii wielolekowej w oparciu o dakarbazynę, alkaloidy barwinka, cisplatynę w kolejnych liniach leczenia nie przyniosły oczekiwanego efektu [4].

### 1.8.2.2 Leczenie ukierunkowane molekularnie

Wśród chorych z zaawansowanym czerniakiem, kiedy nie ma możliwości leczenia operacyjnego, jedną z opcji jest terapia ukierunkowana molekularnie, czyli leczenie celowane przy użyciu inhibitorów kinaz. Jest to terapia dedykowana tylko dla pacjentów z obecnością mutacji *BRAF*. Obecność mutacji *BRAF* jest charakterystyczna dla czerniaków, które powstają w skórze nienarażonej na przewlekłe promieniowanie słoneczne. Pacjenci z obecnością mutacji to najczęściej chorzy młodzi, z ogniskiem pierwotnym na skórze tułowia z bardziej agresywną postacią czerniaka [40]. Dodatni status mutacji *BRAF* dotyczy około 50% osób z rozpoznaniem czerniaka. Jednym z elementów szlaku sygnałowego RAS/RAF/MEK/ERK (MAPK) jest białko *BRAF*. Nieprzerwana aktywacja szlaku MAPK prowadzi do nadmiernego namnażania się komórek, inwazji, czego następstwem jest powstawanie przerzutów. Głównym rodzajem mutacji w genie kodującym *BRAF* jest mutacja *V600E* polegająca na substytucji waliny przez kwas glutaminowy. Dotyczy 74-90% przypadków. Drugą, co do częstości mutacją, jest mutacja *V600K* (19-26%) [41].

Pierwszym zarejestrowanym inhibitorem kinazy serynowo-treoninowej *BRAF* był wemurafenib na podstawie badania 3 fazy BRIM-3. Badanie dotyczyło chorych wcześniej nieleczonych z powodu zaawansowanego czerniaka z mutacją *BRAF*. Komparatorem była dakarbazyna. Osiągnięto wydłużenie czasu przeżycia wśród chorych otrzymujących wemurafenib 13,3 miesiąca vs. 9,7 miesiąca. Czas wolny do progresji choroby był także znamienne dłuższy w grupie leczonej wemurafenibem i wynosił 6,9 miesiąca vs. 1,6 miesiąca [42].

Kolejnym inhibitorem kinazy *BRAF* V600 był dabrafenib zarejestrowany na podstawie badanie BREAK-3. Dabrafenib został również porównany do dakarbazyny. W badaniu uwzględniono możliwość cross-over do grupy otrzymującej dabrafenib w przypadku progresji w trakcie leczenia dakarbazyną. Z tego powodu pierwszorzędownym

punktem końcowym był PFS (5,1 miesiąca vs 2,7 miesiąca). Mediana OS wyniosła 18,2 miesiąca dla chorych otrzymujących dabrafenib vs. 15,5 miesiąca [43]. Zarówno w trakcie stosowania wemurafenibu, jak i dabrafenibu zaobserwowano szybkie wytworzenie oporności związane z reaktywacją szlaku MAPK. Wynikiem tej nadmiernej reaktywacji były skutki uboczne w postaci wtórnych nowotworów skóry, w tym czerniaków. Po dołączeniu inhibitorów MEK (kobimetynib, trametynib) do inhibitorów *BRAF* uzyskano dalsze wydłużenie zarówno PFS jak i OS a także zmniejszenie ilości objawów ubocznych w postaci wtórnych nowotworów skóry [44].

Badanie coBRIM potwierdziło skuteczność wemurafenibu w połączeniu z kobimetynibem. W badaniu wzięło udział 495 osób, którzy w dwóch grupach otrzymali wemurafenib oraz kobimetynib vs. wemurafenib plus placebo. Uzyskano dłuższy o ponad 3 miesiące czas wolny od progresji w grupie otrzymującej kombinację leków 9,9 miesiąca vs. 6,2 miesiąca. Odsetek obiektywnych odpowiedzi był również wyższy w grupie otrzymującej dublet i wynosił 68% vs. 45%. Powikłania w stopniu 3 i 4 dotyczyły 65% osób leczonych wemurafenibem oraz kobimetynibem vs. 59% wśród chorych otrzymujących wemurafenib oraz placebo. Znacząco spadła ilość wtórnych nowotworów indukowanych terapią [45]. W Polsce wemurafenib z kobimetynibem stosowany jest w ramach programu lekowego. Wemurafenib stosuje się w dawce 960mg dwa razy na dobę, kobimetynib 60 mg raz na dobę przez 28 dni [46, 47].

W kolejnym badaniu dabrafenib podawany był razem z trametynibem. Leki były oceniane w dwóch badaniach COMBI-d oraz COMBI-v. Różnica dotyczyła komparatora. W badaniu COMBI-d dabrafenib oraz trametynib porównano do dabrafenibu, natomiast w badaniu COMBI-v do wemurafenibu. W badaniu COMBI-d czas całkowitego przeżycia dla kombinacji leków wynosi 25,1 miesiąca vs. 18,7 miesiąca dla dabrafenibu. Również czas wolny od progresji był wyższy w grupie otrzymującej dabrafenib z trametynibem i wynosił 11 miesięcy vs. 8,8 miesiąca [48]. W badaniu COMBI-v wyniki były zbliżone zarówno dla PFS 11,4 vs. 7,3 miesiąca oraz OS 25,6 miesiąca vs. 18 miesięcy [49]. W badaniu COMBI-v, jak i COMBI-d ilość zdarzeń niepożądanych była porównywalna w obu ramionach, jednak uwagę zwraca mniejsza ilość wtórnych nowotworów skóry w ramieniu z trametynibem, co jest związane z hamowaniem paradoksalnej aktywacji szlaku MAPK. Obecnie w Polsce dabrafenib z trametynibem jest stosowany w ramach programu lekowego w pierwszej lub kolejnej linii. Dabrafenib podawany jest w dawce 150 mg dwa razy na dobę w połączeniu z trametynibem w dawce 2 mg jeden raz na dobę, co 28 dni [50].

Na uwagę zasługuje kombinacja leków enkorafenib z binimetynibem, które zostały zarejestrowane jako ostatnie na podstawie badanie Columbus. Dublet ten wyróżnia się najdłuższym czasem całkowitego przeżycia wśród leków ukierunkowanych molekularnie stosowanych w zaawansowanym czerniaku, co wynika z odmiennej farmakokinetyki leków. W badaniu porównano enkorafenib z binimetynibem z enkorafenibem lub wemurafenibem. Odsetek obiektywnych odpowiedzi wynosił odpowiednio 64%, 52% oraz 41%. Czas całkowitego przeżycie w grupie otrzymującej enkorafenib oraz binimetynib wynosił 33,6 miesiąca a w grupie otrzymującej wemurafenib wyniósł 16,9 miesiąca. PFS dla dubletu leków wynosił 14,9 miesiąca dla wemurafenibu 7,3 miesiąca a dla enkorafenibu 9,6 miesiąca [51][52]. Enkorafenib z binimetynibem, podobnie, jak pozostałe leki, jest stosowany w Polsce w ramach programu lekowego w pierwszej i kolejnych liniach terapii. Enkorafenib stosowany jest w dawce 450 mg raz na dobę [53] wraz z binimetynibem w dawce 45 mg dwa razy na dobę przez 28 dni [54].

Obecnie istnieje możliwość ponownego zastosowania terapii celowanej tzw. „rechallenge”. Chorzy, którzy zakończyli terapię *iBRAF+/-iMEK* w wyniku np. progresji choroby, a następnie otrzymali kolejną linię leczenia, mogą powrócić do terapii celowanej. Skuteczność takiej opcji leczenia potwierdzono w badaniu 2 fazy przeprowadzonym w Belgii [55]. Do badania zrekrutowano chorych, którzy byli leczeni inhibitorami *BRAF* oraz *MEK* lub inhibitorami *BRAF* w monoterapii, a od czasu progresji minęło minimum 12 tygodni. Stwierdzono częściową odpowiedź u 8 osób co stanowiło 32% populacji badanej, stabilizacja dotyczyła 10 osób (40%). Działania niepożądane były zbliżone do tych odnotowywanych w poprzednich liniach leczenia [55]. Podobne dane opublikowano w 2017 roku. Przy ponownej terapii lekami anty-*BRAF* oraz anty-*MEK* po progresji całkowitą odpowiedź osiągnięto u 3% chorych, częściową odpowiedź u 39% pacjentów, stabilizacja choroby dotyczyła 24% osób, natomiast progresja 30% chorych. Łącznie odpowiedź na leczenie osiągnięto u 43% osób leczonych [56]. W Polsce obecnie istnieje możliwość powrotu do terapii celowanej.

W sporadycznych przypadkach obserwowana jest obecność mutacji *KIT* u osób z czerniakiem. Dotyczy to głównie chorych z czerniakiem w okolicach akralnych. Podjęto próbę leczenia czerniaków analogicznie do nowotworów podścieliskowych przewodu pokarmowego (GIST, gastrointestinal stromal tumors) immatynibem. Przeprowadzono badanie 2 fazy wśród 43 chorych z potwierdzoną mutacją w genie c-*KIT*. W leczeniu zastosowano immatynib w dawce 400 mg raz na dobę, terapię prowadzono do czasu progresji lub nietolerancji leczenia. 15 osób po stwierdzeniu progresji otrzymało immatynib

w dawce 800 mg na dobę. Mediana czasu obserwacji wynosiła 12 miesięcy. Pacjenci uzyskali mPFS 3,5 miesiąca. Odsetek chorych, którzy przeżyli 1 rok, wynosił 51% [57]. W Polsce przedstawiona opcja terapii nie jest zarejestrowana.

### 1.8.2.3 Immunoterapia

Inną możliwością terapii o potwierdzonej skuteczności w rozsiałym czerniaku jest immunoterapia. Przełom nastąpił w 2011 roku. Wówczas zarejestrowano ipilimumab, przeciwciało anti-CTLA-4 na podstawie badania 3 fazy MDX010-20 [58]. Ipilimumab porównano z peptydową szczepionką gp100 wśród chorych leczonych wcześniej z powodu zaawansowanego czerniaka. Pierwszorzędownym punktem końcowym był czas całkowitego przeżycia. Mediana czasu całkowitego przeżycia wynosiła 10,1 miesiąca wśród chorych leczonych ipilimumabem. W grupie leczonej szczepionką gp100 6,4 miesiąca. Zdarzenia niepożądane stopnia 3 oraz 4 odnotowano u 15% osób leczonych przeciwciałem anti-CTLA-4 w stosunku do 3 % osób otrzymujących szczepionkę gp100 [58]. Nie stwierdzono poprawy czasu wolnego od progresji. Z uwagi na mechanizm działania odpowiedź na leczenie była obserwowana dopiero po 3 - 4 miesiącach od rozpoczęcia terapii, dlatego lek powinien być stosowany u chorych z powolną dynamiką choroby w dobrym stanie ogólnym. Odsetek obiektywnych odpowiedzi na leczenie jest niewielki (około 10%), natomiast zaobserwowano długotrwałe odpowiedzi, które dotyczą nawet 25% chorych [4]. Na uwagę zasługują powikłania immunologiczne (irAEs, *immune-related adverse events*). Do najczęstszych należą hepatotoksyczność, powikłania endokrynologiczne, biegunki [59]. W przypadku stwierdzenia irAEs konieczne jest postępowanie zgodnie z wytycznymi. Lekami z wyboru, w przypadku powikłań immunologicznych, są sterydy. Toksyczności ocenia się wg klasyfikacji zdarzeń niepożądanych (ang. *Common Terminology Criteria for Adverse Events*, CTCAE).

Kolejnym rodzajem przeciwciał zarejestrowanych w zaawansowanym czerniaku jest niwolumab oraz pembrolizumab. Leki te zaliczamy do inhibitorów punktów kontrolnych układu immunologicznego PD-1 (*checkpoint inhibitors*). Niwolumab uzyskał rejestrację na podstawie badania CheckMate-066 [60]. 418 chorych z przerzutowym czerniakiem, wcześniej nieleczonych, bez mutacji *BRAF* zostało zakwalifikowanych do badania. Chorzy otrzymali niwolumab w dawce 3 mg/kg masy ciała plus placebo podawany co 2 tygodnie lub dakarbazynę w dawce 1000 mg/kg masy ciała plus placebo. Pierwszorzędownym punktem końcowym był czas całkowitego przeżycia. Pierwszy rok przeżyło 72,9%

leczonych niwolumabem oraz 42,1% pacjentów otrzymujących dakarbazynę. Udokumentowano 58% ryzyko zmniejszenia zgonu wśród chorych otrzymujących niwolumab. Wydłużenie czasu całkowitego przeżycia dotyczyło chorych we wszystkich podgrupach rokowniczych. Drugorzędowym punktem końcowym był czas wolny od progresji (PFS), który również był dłuższy w grupie leczonej niwolumabem 5,1 miesiąca vs. 2,2 miesiąca. Obiektywne odpowiedzi (ORR) dotyczyły 40% osób w grupie leczonej niwolumabem vs. 13,9% [61]. Na uwagę zasługuje badanie CheckMate-037. Do badania zostali włączeni pacjenci, u których stwierdzono progresję w trakcie leczenia ipilimumabem lub chorzy z dodatnią mutacją *BRAF* u których stwierdzono progresję po leczeniu inhibitorami *BRAF*. Chorzy zostali przydzieleni do odpowiednich ramion. Otrzymywali niwolumab w dawce 3 mg/kg masy ciała lub dakarbazynę albo paklitaksel z karboplatiną [61]. Wyniki potwierdziły dane z badania CheckMate-066 o przewadze skuteczności niwolumabu względem chemioterapii. Odsetek ORR dotyczył 31,7 % wśród chorych otrzymujących niwolumab vs. 10,7% dla grupy leczonej chemioterapią. W literaturze dostępne są dane zebrane z 4 badań klinicznych dotyczące skuteczności oraz bezpieczeństwa podawania niwolumabu w zależności od statusu mutacji *BRAF*. Stwierdzono na podstawie retrospektywnych analiz ekstrapolowanych danych, że skuteczność niwolumabu jest porównywalna w grupie z dodatnią oraz ujemną mutacją *BRAF* [62]. W Polsce niwolumab stosowany jest w dwóch dawkowaniach - 240mg podawany raz na 2 tygodnie oraz 480mg podawany raz na 4 tygodnie w dożylnych wlewach.

Pembrolizumab jest drugim inhibitorem punktu kontrolnego układu immunologicznego PD-1. Na podstawie badania trzeciej fazy Keynote-006 lek uzyskał rejestrację w 2015 roku [63]. W badaniu wzięło udział 834 pacjentów, w dobrym stanie ogólnym 0-1 wg ECOG (ang. *Eastern Cooperative Oncology Group*) z zaawansowanym czerniakiem, którzy otrzymali maksymalnie jedną linię leczenia w przeszłości i nie otrzymywali ipilimumabu. Znany był status mutacji *BRAF*. Chorych podzielono na 3 grupy otrzymujące pembrolizumab w dawce 10 mg/kg co 2 tygodnie (n=279), pembrolizumab w tej samej dawce podawany co 3 tygodnie (n=277) oraz ipilimumab w dawce 3 mg/kg (n=278) podawany 4 razy co 3 tygodnie [63]. Przeżycie całkowite oraz przeżycie wolne od progresji były pierwszorzędnym punktem końcowym. Obecnie dostępne są już wyniki 5-letnich obserwacji [64]. W dwóch grupach połączonych pembrolizumabu mediana czasu całkowitego przeżycia wynosiła 32,7 miesiąca vs. 15,9 miesiąca dla grupy otrzymującej ipilimumab. Czas wolny od progresji (ang. *progression free survival*, PFS) był o 5 miesięcy dłuższy w grupie łączonej pembrolizumabu, 8,4 vs. 3,4 miesiąca. Do najczęstszych zdarzeń

niepożądanych należy zaliczyć: zapalenie jelita, biegunki, zmęczenie. W grupie leczonej pembrolizumabem zdarzenia w stopniu 3 oraz 4 wystąpiły u 55 osób na 555 pacjentów, natomiast wśród chorych leczonych ipilimumabem u 50 osób na 256 leczonych [64]. Na uwagę zasługuje również aspekt czasu trwania leczenia. Wg założeń badania chorzy leczeni pembrolizumabem otrzymywali lek do 24 miesięcy. Pacjenci, którzy uzyskali stabilizację lub odpowiedź na leczenie po 24 miesiącach oraz pacjenci, u których stwierdzono całkowitą odpowiedź na leczenie po 6 miesiącach terapii, mogli powrócić do leczenia pembrolizumabem w przypadku progresji i otrzymać dodatkowo 17 podań pembrolizumabu [64]. Wśród chorych, którzy przerwali leczenie po 6 miesiącach z powodu całkowitej remisji czerniaka aż u 86% pacjentów nie stwierdzono progresji choroby w ciągu 24 miesięcy od zakończenia leczenia. Wśród populacji, która otrzymała leczenie przez 24 miesiące, osiągając co najmniej stabilizację choroby, progresji nie obserwowano wśród 74,5% osób [64]. Reasumując na podstawie badania Keynote-006 stwierdzono wyższość zastosowania pembrolizumabu wobec ipilimumabu wśród chorych z zaawansowanym czerniakiem oraz długotrwałe odpowiedzi na leczenie utrzymujące się również po odstawieniu terapii. Pomocnym badaniem w trakcie terapii okazało się badanie pozytonowej tomografii emisyjnej (PET) z fluorodeoksyglukozą, która potwierdzała całkowitą odpowiedź metaboliczną [65]. Pembrolizumab jest stosowany w Polsce w ramach programu lekowego w dawce 200 mg co 3 tygodnie lub 400 mg co 6 tygodnie we wlewach dożylnych. Na podstawie analiz farmakokinetycznych 5 badań, gdzie pembrolizumab był podawany w różnych dawkach (Keynote-001, Keynote-002, Keynote-006, Kenote-010, Keynote-024) zatwierdzono dawkowanie 400 mg co 6 tygodni [66]. W dobie pandemii SARS-CoV2 jest to korzystna opcja leczenia [66].

Obecnie mamy również możliwość połączenia dwóch inhibitorów punktów kontrolnych anti-CTLA-4 oraz anti-PD-1, czyli ipilimumabu oraz niwolumabu w pierwszej linii leczenia zaawansowanego czerniaka. Badaniem rejestracyjnym jest badanie 3 fazy CheckMate-067 [67]. W badaniu wzięło udział 945 pacjentów, wcześniej nieleczonych z powodu zaawansowanego czerniaka, w stanie ogólnym 0-1 wg ECOG z określonym statusem mutacji *BRAF*. Chorych podzielono na 3 grupy. 314 osób otrzymało niwolumab 1 mg/kg masy ciała z ipilimumabem 3 mg/kg masy ciała co 3 tygodnie, 4 podania a następnie niwolumab w monoterapii w dawce 3 mg/kg masy ciała co 2 tygodnie. Kolejna grupa licząca 316 osób otrzymała niwolumab w dawce 3 mg/kg masy ciała co 2 tygodnie. 315 pacjentów zostało zrandomizowanych do ramienia otrzymującego ipilimumab w dawce 3 mg/kg masy ciała oraz placebo co 3 tygodnie, 4 podania a następnie placebo co 2 tygodnie.

Pierwszorządowe punkty końcowe to czas wolny od progresji choroby oraz czas całkowitego przeżycia [67]. Uzyskano wydłużenie PFS do 11,5 miesiąca dla grupy leczonej kombinacją leków niwolumab oraz ipilimumab względem 6,9 miesiąca dla grupy otrzymującej niwolumab oraz 2,9 miesiąca dla chorych leczonych ipilimumabem. W analizie po 3 latach nie osiągnięto OS dla chorych leczonych niwolumabem oraz ipilimumabem. OS dla pacjentów otrzymujących ipilimumab wynosił 19,9 miesiąca oraz 37,6 miesiąca dla pacjentów poddawanych terapii niwolumabem. Działania niepożądane w stopniu 3 oraz 4 występowały najczęściej w populacji leczonej niwolumabem z ipilimumabem i dotyczyły 59% pacjentów, w grupie otrzymującej niwolumab 21%, natomiast wśród chorych leczonych ipilimumabem dotyczyły 28% osób [68]. Obecnie dostępne są dane z analizy 6,5- letniej badania CheckMate-067. Czas całkowitego przeżycia w grupie otrzymującej niwolumab z ipilimumabem wynosi 72,1 miesiąca. OS dla grupy otrzymującej niwolumab w monoterapii wynosi 36,9 miesiąca, natomiast w grupie leczonej ipilimumabem 19,9 miesiąca. Dodatkowo potwierdzono wyższy odsetek osób, które przeżyły 6,5 roku w populacji z obecną mutacją *BRAF* w stosunku do populacji bez mutacji, odpowiednio: 57%, 43%, 25% vs 46%, 42%, 22%. Kolejnym wskaźnikiem, który został oznaczony to czas wolny od leczenia (TFI, treatment-free interval), który również był najwyższy w grupie leczonej kombinacją leków niwolumab z ipilimumabem i wynosił 27,6 miesiąca, dla niwolumabu 2,3 miesiąca oraz dla grupy otrzymującej ipilimumab 1,9 miesiąca. Dane dotyczące zdarzeń niepożądanych były porównywalne z wynikami uzyskanymi w trakcie analizy 3-letniej [69]. Od około roku niwolumab w połączeniu z ipilimumabem jest stosowany w Polsce w ramach programu lekowego. Kombinacja leków jest podawana w pierwszej linii leczenia chorych z zaawansowanym czerniakiem, niezależnie od statusu mutacji *BRAF* oraz ekspresji PDL-1. Niwolumab jest podawany w dawce 1 mg/kg masy ciała, ipilimumab 3 mg/kg masy ciała co 3 tygodnie 4 podania. Następnie stosowany jest niwolumab w monoterapii w dawce 240mg co 2 tygodnie lub 480mg co 4 tygodnie [70].

Stosunkowo nowym aspektem w leczeniu czerniaka jest uogólnienie choroby po leczeniu uzupełniającym. Zebrano dane z 21 ośrodków, gdzie stwierdzono progresję choroby wśród osób leczonych terapią celowaną (anty-*BRAF* oraz anty-*MEK*). Wśród 85 chorych 19 rozwinęło progresję w trakcie terapii adjuwantowej. W pierwszej linii nawrotu 58% chorych otrzymało terapię- anty-PD-1 lub terapię celowaną. 63% osób odpowiedziało na terapię anty-PD-1, 62% pacjentów uzyskało korzyść z terapii skojarzonej niwolumabu z ipilimumabem, odsetek odpowiedzi na ponowną terapię celowaną wynosił 25% a na



ipilimumab 10% [71]. Dostępne są również dane zebrane na podstawie analizy przebiegu choroby 137 pacjentów leczonych adjuwantowo. U 97 osób, co stanowi 71%, choroba nawróciła w trakcie terapii uzupełniającej opartej na przeciwciałach anti-PD-1. U 40 osób (23%) stwierdzono nawrót czerniaka po zakończonym leczeniu adjuwantowym. Wśród chorych, u których rozpoznano progresję w trakcie terapii anti-PD-1, nikt nie odpowiedział na ponowne włączenie terapii anti-PD-1 w monoterapii lub z cząsteczką badaną: anti-LAG3, inhibitor IDO, inhibitor MEK, agonista TLR9. Zaobserwowano odpowiedź u 33% pacjentów (9 osób), którzy z powodu nawrotu choroby otrzymali ipilimumab lub połączenie niwolumabu z ipilimumabem, 79% chorych odpowiedziało na terapię opartą na inhibitorach *BRAF* i *MEK*. Wśród pacjentów, u których stwierdzono progresję choroby po zakończeniu terapii adjuwantowej w oparciu o terapię anti-PD-1 przy ponownym włączeniu terapii anti-PD-1 ORR wynosił 40%, dla ipilimumabu w monoterapii lub w połączeniu z terapią anti-PD-1 ORR wynosił również 40%, natomiast ORR dla inhibitorów *BRAF* i *MEK* wynosił 88% [72].

#### **1.8.2.4 Leczenie skojarzone**

Podjęto próbę skojarzenia dwóch rodzajów terapii w badaniu IMspire150. W jednym ramieniu zastosowano atezolizumab (przeciwciało anti-PD-L1) oraz wemurafenib z kobimetynibem versus wemurafenib z kobimetynibem. Osiągnięto wydłużenie PFS w ramieniu skojarzonym 15,1 miesiąca vs. 10,6 miesiąca. Leczenie to nie jest obecnie zarejestrowane w Polsce [73].

#### **1.8.2.5 Szczepionki**

Temat szczepień w przebiegu czerniaka cały czas jest eksplorowany. Badaniom poddawane były genetycznie modyfikowane szczepionki z komórek nowotworowych, szczepionki posiadające swoiste antygeny lub związane z komórkami dendrytycznymi. Odpowiedź na zastosowane leczenie była mierna [74]. Na podstawie danych z literatury odsetek odpowiedzi przy zastosowaniu szczepionki w monoterapii wynosił 10%. Niski odsetek odpowiedzi może być związany np. z obecnością dysfunkcji limfocytów T w mikrośrodowisku guza [75].

Obecnie trwa badanie 2 fazy łączące szczepionkę mRNA z cemiplimabem. Do badania są kwalifikowani chorzy z anti-PD-1 opornym lub nawrotowym czerniakiem w nieresekcyjnym III lub IV stopniu zaawansowania [76].

### 1.8.3 Sekwencja leczenia

Do chwili obecnej nie ustalono jednej optymalnej sekwencji leczenia. Zarówno terapia celowana jak i immunoterapia wykazują skuteczność w pierwszej oraz drugiej linii leczenia. Ustalając sekwencję terapii należy zwrócić uwagę na dynamikę choroby oraz obecność kryzy narządowej. Z uwagi na uzyskanie szybkiej odpowiedzi przy zastosowaniu leków anty-*BRAF* oraz anty-*MEK* terapię tę należy rozważać w pierwszej linii leczenia u chorych z dużą dynamiką czerniaka oraz masywnym zajęciem narządów [4]. Dysponujemy obecnie również wynikami badania drugiej fazy SECOMBIT. W badaniu wzięło udział 251 chorych z zaawansowanym czerniakiem z obecną mutacją *BRAF*. Pacjentów przydzielono do trzech grup. W ramieniu A pacjenci otrzymywali w pierwszej linii enkorafenib oraz binimetynib do czasu progresji. Następnie niwolumab oraz ipilimumab. W ramieniu B pacjenci otrzymali w pierwszej linii ipilimumab oraz niwolumab a po progresji enkorafenib w połączeniu z binimetynibem. W ramieniu C chorzy otrzymali enkorafenib oraz binimetynib przez 8 tygodni a następnie ipilimumab z niwolumabem. W przypadku progresji chorzy otrzymywali ponownie enkorafenib oraz binimetynib. Czas całkowitego przeżycia był pierwszorzędownym punktem końcowym. Oceniano również PFS. Obecnie dostępne są już 3-letnie obserwacje. Odsetek 3-letnich przeżyć dotyczył 54% osób w ramieniu A, 62% w ramieniu B oraz 60% w ramieniu C. Stwierdzono również o około połowę niższe odpowiedzi przy zastosowaniu immunoterapii w drugiej linii (45% vs 25%). W przypadku terapii celowanej odsetek odpowiedzi w drugiej linii wyniósł 61% w stosunku do 87% w pierwszej linii [77].

## 1.9 Znaczenie rokownicze subpopulacji układu leukocyтарnego

Już w 1863 roku Rudolf Virchow zasugerował, że proces nowotworzenia może mieć związek z przewlekłym stanem zapalnym [78]. W kolejnych badaniach potwierdzono nierozłączny związek stanu zapalnego z procesem nowotworowym. Stan zapalny bierze udział w powstawaniu niestabilności genetycznej, modyfikacji epigenetycznej oraz proliferacji komórek nowotworowych. Następnie prowadzi do pobudzania angiogenezy i ostatecznie do nowotworzenia i rozprzestrzeniania się nowotworu [79]. Dostępne dane wskazują, że około 25% nowotworów ma związek z przewlekłą reakcją zapalną [80]. Przykładem może być rozwój nowotworów szyjki macicy w przebiegu infekcji wirusem brodawczaka ludzkiego (ang. *human papilloma virus*, HPV) lub długotrwałe zakażenie *Helicobacter pylori* i zwiększone ryzyko raka żołądka [79].

Jednym z założeń pracy jest ocena, czy liczba neutrofilów oraz limfocytów krwi obwodowej mają znaczenie rokownicze w przebiegu czerniaka oraz, czy wskaźnik neutrofilowo-limfocytarny (ang. *neutrophile lymphocyte ratio*, NLR) może być wskaźnikiem zarówno rokowniczym, jak i predykcyjnym w trakcie leczenia czerniaka.

Neutrofile, czyli granulocyty obojętnochłonne, stanowią około 60% leukocytów. Wywodzą się one z komórek macierzystych szpiku. Odgrywają jedną z głównych ról w odpowiedzi immunologicznej nieswoistej. Neutrofile, jako jedne z pierwszych migrują do miejsca zakażenia. Niszczą drobnoustroje poprzez fagocytozę, degranulację ziarnistości wewnątrzkomórkowych oraz tworzenie zewnątrzkomórkowych sieci neutrofilowych (ang. *neutrophil extracellular traps*, NET) [81]. Wśród neutrofilów poza neutrofilami krążącymi rozróżniamy neutrofile związane z guzem (ang. *tumor-associated neutrophils*, TAN). Dowiedziono ich udział w powstawaniu oraz progresji nowotworu. Mogą wspomagać rozwój nowotworu poprzez angiogenezę oraz immunosupresję [82]. Dodatkowo neutrofile wytwarzają substancje, które biorą udział w uszkodzeniu DNA, prowadząc do niestabilności DNA [83]. Neutrofile biorą również czynny udział w tworzeniu przerzutów. Granulocyty obojętnochłonne kierują komórki nowotworowe do śródbłonka, co ułatwia ich przedostawanie się do krwioobiegu. Dodatkowo wytwarzają czynnik MMP-9 (*matrix metalloproteinase-9*), który promuje angiogenezę, przez co ułatwia przerzutowanie nowotworu [83].

Limfocyty stanowią około 30% populacji leukocytów i związane są ze swoistą odpowiedzią immunologiczną. Rozróżniamy limfocyty B oraz limfocyty T. Limfocyty B powstają w szpiku kostnym i odpowiedzialne są za identyfikację antygenów oraz powstawanie przeciwciał. Limfocyty T rozwijają się z progenitorowej komórki limfopoety (ang. *Common Lymphoid Progenitor*, CLP) natomiast dojrzewają w grasicy [84]. Odpowiedzialne są za odpowiedź komórkową. Limfocyty pobudzają proces apoptozy oraz hamują migrację komórek.

Wskaźnik neutrofilowo-limfocytarny (NLR) jest dobrze znanym wskaźnikiem prognostycznym w onkologii. Na podstawie wielu metaanaliz dowiedziono, że wysoka wartość wskaźnika NLR wiąże się ze złym rokowaniem [85]. Ma to związek ze wzrostem liczby neutrofilów i spadkiem ilości limfocytów.

## 2.0 Podsumowanie

Od czasu odkrycia mutacji *BRAF* w 2002 roku nastąpił ogromny przełom w leczeniu czerniaka zarówno w stadium zaawansowanym, jak i miejscowym [86]. W 2011 roku nastąpiła pierwsza rejestracja ipilimumabu na świecie w drugiej linii leczenia, niedługo później rejestrację uzyskał wemurafenib, jako pierwszy lek celowany. W wyniku kolejnych badań wprowadzono do terapii następane leki zarówno z grupy inhibitorów punktów kontrolnych, jak i leków celowanych. Ostatnia rejestracja dotyczyła enkorafenibu oraz binimetynibu w 2018 roku. Obecnie w Polsce w ramach programu lekowego istnieje możliwość stosowania szerokiego wachlarza leków zarówno w ramach terapii adjuwantowej, jak i paliatywnej.

Dobrze poznane są czynniki rokownicze czerniaka, na podstawie których chory kwalifikowany jest do odpowiedniego stopnia zaawansowania wg klasyfikacji AJCC z 2017 roku. Pomimo znacznego dokonanego postępu nadal nie posiadamy jednoznacznych czynników predykcyjnych dla leczenia immunologicznego [87]. W przypadku pacjentów z brakiem mutacji *BRAF* immunoterapia pozostaje leczeniem z wyboru. Pacjenci, którzy nie odniosą zysku z zastosowanej terapii, mogą również manifestować objawy uboczne, co wiąże się z obniżeniem jakości życia oraz jest kosztochłonne. Wyodrębnienie czynników predykcyjnych odpowiedzi na leczenie wydaje się obecnie głównym celem w onkologii. Pozwoli precyzyjnie dobierać pacjentów do wybranej terapii.

## 2. Cel badań

1. Ocena wyników leczenia chorych z zaawansowanym czerniakiem w Dolnośląskim Centrum Onkologii, Pulmonologii i Hematologii w latach 2013-2018: odsetek odpowiedzi, czas wolny od progresji, czas przeżycia całkowitego.
2. Analiza czynników rokowniczych.
3. Ocena efektów leczenia w dwóch podgrupach z dodatnim oraz ujemnym statusem mutacji *BRAF*. Porównanie wyników leczenia.
4. Porównanie wyników leczenia chorych z zaawansowanym czerniakiem leczonych w Dolnośląskim Centrum Onkologii, Pulmonologii i Hematologii w latach 2013-2018 z danymi z literatury.
5. Ocena własności rokowniczych oraz predykcyjnych parametrów układu leukocytarnego oraz wskaźnika neutrofilowo-limfocytarnego u chorych z zaawansowanym czerniakiem.

### 3. Materiał i metody

#### 3.1 Materiał badawczy

Grupę badaną stanowiły 173 osoby leczone z powodu nieresekcyjnego czerniaka w III stopniu zaawansowania lub w IV stopniu zaawansowania w Dolnośląskim Centrum Onkologii, Pulmonologii i Hematologii (DCOPiH, nazwa placówki uległa zmianie od 31 grudnia 2021 roku z Dolnośląskiego Centrum Onkologii na Dolnośląskie Centrum Onkologii, Pulmonologii i Hematologii) w okresie od 1 marca 2013 roku do 31 grudnia 2018 roku. Wszyscy analizowani pacjenci otrzymali leczenie w ramach obowiązującego programu lekowego Ministerstwa Zdrowia. Obserwacja badanej grupy została zakończona 1 grudnia 2021 roku.

Dane dotyczące wyników histopatologicznych oraz informacji klinicznych uzyskano z dokumentacji medycznej DCOPiH oraz za pomocą systemów teleinformatycznych. Informacje dotyczące daty zgonów uzyskano z Dolnośląskiego Rejestru Nowotworów oraz systemu monitorowania programów lekowych (SMPT).

Kontrolne badania obrazowe pacjentów wykonywane były zgodnie z obowiązującymi zapisami programów lekowych Ministerstwa Zdrowia, jednak nie rzadziej niż co 12 tygodni. Ocena badań obrazowych dokonywana była za pomocą obowiązującej skali RECIST.

Wyniki badań laboratoryjnych (morfologia krwi obwodowej, wartość dehydrogenazy mleczanowej w surowicy krwi) uzyskane zostały z dokumentacji medycznej DCOPiH.

Przeanalizowano wpływ czynników kliniczno-histopatologicznych oraz wyników morfologii krwi obwodowej na czas całkowitego przeżycia oraz czas wolny od progresji. Parametry, które zostały poddane analizie statystycznej to: płeć, wiek, stan sprawności (ECOG), obecność mutacji *BRAF*, wartość LDH, lokalizacja przerzutów, stopień zaawansowania nowotworu, czynniki rokownicze pochodzące z wyniku histopatologicznego usunięcia zmiany pierwotnej oraz biopsji węzła wartowniczego, rodzaj zastosowanych leków w pierwszej linii, wartość bezwzględnej liczby neutrofilii oraz limfocytów, wartość współczynnika neutrofilowo-limfocytarnego. Dokonano podziału pacjentów na dwie podgrupy w zależności od statusu mutacji *BRAF*. Następnie porównano te podgrupy celem oceny przebiegu leczenia w zależności od obecności mutacji w genie *BRAF*. Obliczono czasu całkowitego przeżycia, czasu wolnego od progresji oraz odsetek obiektywnych odpowiedzi dla zastosowanych leków w pierwszej linii zaawansowanego

czerniaka. Dane zostały zestawione z wynikami badań rejestracyjnych. Analizie poddano wartość wskaźnika neutrofilowo – limfocytarnego, wartość bezwzględnej liczby limfocytów oraz neutrofilii pod względem znaczenia predykcyjnego.

## 3.2 Metody badawcze

### 3.2.1 Analiza statystyczna

Analizę statystyczną wykonano za pomocą programu Statistica 13 (TIBCO Inc., USA). Dla zmiennych mierzalnych obliczono średnie arytmetyczne, mediany, odchylenia standardowe, kwartyle, zakres zmienności (wartości ekstremalne). Dla zmiennych jakościowych obliczono częstości ich występowania (procent). Wszystkie badane zmienne typu ilościowego sprawdzono testem Shapiro-Wilka dla ustalenia typu rozkładu. Ustalenie różnic pomiędzy grupami dokonano za pomocą parametrycznego testu t dla prób niezależnych lub nieparametrycznego testu U Manna-Whitneya w zależności od spełnienia założeń testów. W przypadku większej liczby podgrup niż 2 zastosowano test ANOVA lub Kruskala-Wallisa w zależności od spełnienia założeń testu. Porównanie zmiennych jakościowych pomiędzy grupami dokonano przy wykorzystaniu testu chi-kwadrat ( $\chi^2$ ).

Do przeanalizowania i porównania przeżycia (OS) oraz czasu wolnego od progresji (PFS) zastosowano procedurę estymacji funkcji przeżycia/progresji metodą Kaplana-Meiera na podstawie ciągłych czasów przeżycia lub czasów do progresji. Porównanie przeżyć pomiędzy grupami przeprowadzono z użyciem testu log-rank. Do oceny wpływu zmiennych ilościowych porządkowych lub ciągłych użyto modelu proporcjonalnego hazardu Coxa, w którym wyznaczono wskaźniki ryzyka (ang. *hazard ratio*, HR) wraz z 95% przedziałami ufności. Proces budowania modelu przeprowadzono metodą krokową i do oceny modelu zastosowano zestaw standardowych miar dobroci dopasowania (AIC, BIC R2).

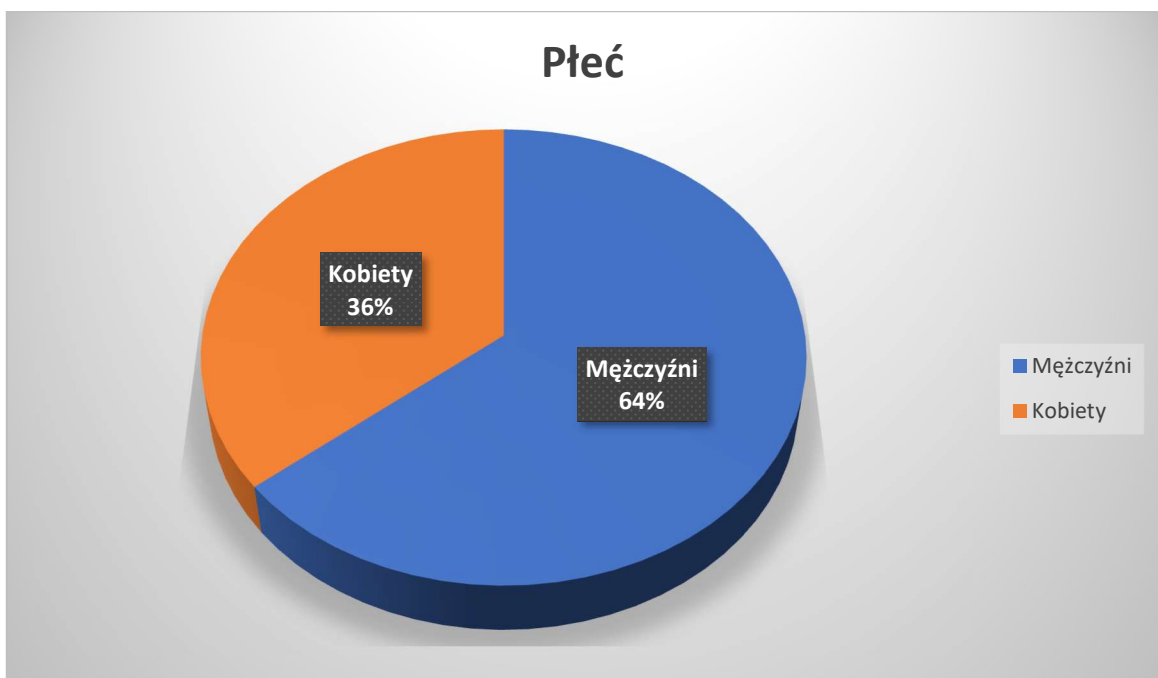
W celu oceny zdolności predykcyjnej wybranych zmiennych ciągłych (NLR, bezwzględna liczba neutrofilii oraz limfocytów) przeprowadzono analizę ROC (ang. *receiver operating characteristic*). W ramach tej analizy dla każdej analizowanej zmiennej skonstruowano krzywą ROC, wyznaczono AUC (ang. *area under curve*) wraz z 95% przedziałem ufności oraz wartość indeksu Youdena, która posłużyła do wskazania optymalnego punktu odcięcia dla danej zmiennej. Jakość przewidywania za pomocą zmiennych dychotomicznych (z punktem podziału wybranym według maksymalnej wartości indeksu Youdena) oceniono dodatkowo poprzez wyznaczenie takich miar, jak czułość, specyficzność i dokładność. Do wszystkich porównań przyjęto poziom  $\alpha = 0,05$ .

## 4. Wyniki badań

### 4.1 Charakterystyka grupy badanej

Analiza dotyczyła 173 pacjentów leczonych w latach 2013 -2018 w Dolnośląskim Centrum Onkologii, Pulmonologii i Hematologii z powodu czerniaka w stopniu zaawansowania III z obecnością nieresekcyjnych węzłów chłonnych w regionalnym splotywie chłonny oraz czerniaka z rozpoznanymi przerzutami odległymi. Średnia wieku pacjentów wynosiła 60,4 lata (min-max: 23,0-90,0 lat). 43 osoby to pacjenci do 50 roku życia co stanowiło 25% grupy. W przedziale wiekowym 51-75 lat mieściło się 107 (62%) chorych, natomiast w wieku powyżej 75 lat odnotowano 23 (13%) osoby. W badanej grupie 111 osób (64%) stanowili mężczyźni, a 62 osoby to kobiety (36%) (rycina 1, tabela 6).

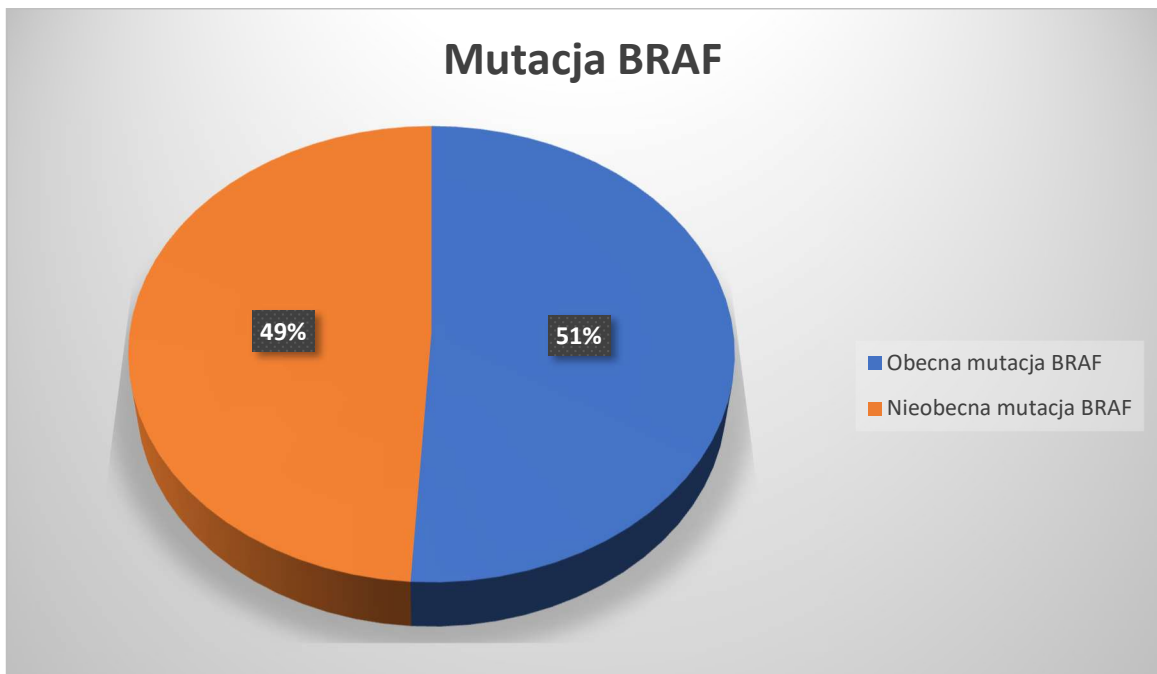
**Rycina 1.** Charakterystyka grupy badanej – podział ze względu na płeć.





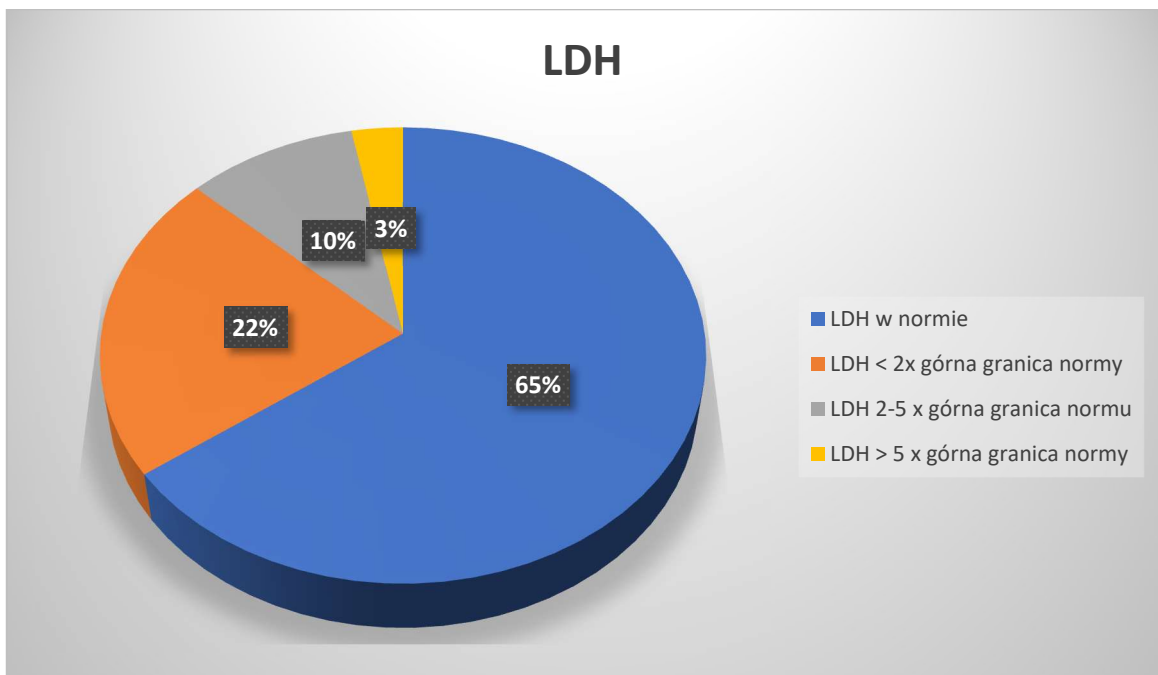
Zdecydowaną większość badanych stanowiły osoby, które w momencie kwalifikacji były w stanie ogólnym dobrym ECOG 1 (n=155; 90%). U 18 osób (10%) ocena stanu sprawności ECOG równa była 2. Z uwagi na stopień zaawansowania choroby a przede wszystkim lokalizację czynnych zmian nowotworowych uznano, że stan sprawności ECOG 2 wynika z wyżej wymienionej sytuacji, a nie z wydolności pacjenta. Dlatego nie odbierając możliwości leczenia z powodu przedstawionego komentarza pacjenci zostali włączeni do leczenia. Wszyscy badani zostali poddani ocenie molekularnej genu *BRAF*. Obecność mutacji stwierdzono u 89 osób (51%) a jej brak wśród 84 chorych (49%) (rycina 2, tabela 6).

**Rycina 2.** Charakterystyka grupy badanej – podział ze względu na obecność mutacji BRAF.



Każdy pacjent został poddany ocenie wartości dehydrogenazy mleczanowej (LDH) w surowicy krwi przy rozpoczęciu leczenia lub maksymalnie 5 dni przed rozpoczęciem terapii. 113 badanych (65%) posiadało wartość dehydrogenazy mleczanowej w normie, u 38 osób (22%) stwierdzono wzrost wartości do dwukrotność górnej granicy normy, 17 osób (10%) charakteryzowało się przekroczeniem wartości LDH od 2 do 5 razy powyżej górnej granicy normy, a wzrost powyżej 5 razy górnej granicy normy odnotowano u 5 osób (3%) (rycina 3, tabela 6).

**Rycina 3.** Charakterystyka grupy badanej – rozkład wartości LDH.



Ognisko pierwotne czerniaka w skórze dotyczyło 164 osób (95%), w przypadku 5 pacjentów (3%) zmiana pierwotna była zlokalizowana w błonie śluzowej. 4 osoby (2%) posiadały rozpoznanie czerniaka o nieznanym punkcie wyjścia (ang. *focus primarius ignotus*, FPI) (rycina 4).

**Rycina 4.** Charakterystyka grupy badanej – lokalizacja zmiany pierwotnej.



Średnia ilość lokalizacji przerzutów wyniosła 2,9 (min-max: 1,0-7,0; SD=1,3). Wśród największej liczby badanych przerzuty dotyczyły węzłów chłonnych pozaregionalnych (n=112; 65%) oraz płuc (n=107; 62%). Przerzuty do ośrodkowego układu nerwowego (OUN) dotyczyły 32,4% chorych (n=56), wątroby 31% (n=54), tkanki podskórnej 31% (n=54) oraz skóry 29% (n=50). Inne lokalizacje zmian przerzutowych wystąpiły u 61 osób (35%). U 2 pacjentów (1%) rozpoznano chorobę w stadium zaawansowania III z obecnością nieresekcyjnych węzłów chłonnych w regionalnym splotie chłonnym, 26 osób (15%) to chorzy w stadium IVA, 46 osób (27%) IVB, 43 osoby (25%) IVC. Pozostali pacjenci to 56 osób (32%) w stadium IVD. Stopień zaawansowania dotyczył momentu rozpoczęcia terapii (tabela 6).

**Tabela 6.** Charakterystyka grupy badanej.

Zmienna		$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD
Wiek [lata]		60,4	61,0	23,0	90,0	51,0	70,0	13,6
Ilość lokalizacji przerzutów		2,9	3,0	1,0	7,0	2,0	4,0	1,3
Zmienna	Kategoria zmiennej	n		%				
Wiek	do 50 lat	43		24,9				
	51-75 lat	107		61,8				
	powyżej 75 lat	23		13,3				
Płeć	mężczyzna	111		64,2				
	kobieta	62		35,8				
Stan sprawności ECOG	1	155		89,6				
	2	18		10,4				
Mutacja <i>BRAF</i>	obecna	89		51,4				
	nieobecna	84		48,6				
LDH ratio grupy (iloraz poziomu LDH oraz górnej granicy normy)	w normie	113		65,3				
	do 2xGGN	38		22,0				
	2-5xGGN	17		9,8				
	>5xGGN	5		2,9				
Lokalizacja zmiany pierwotnej	skóra	164		94,8				
	błony śluzowe	5		2,9				
	FPI	4		2,3				
Przerzuty do skóry	nie	123		71,1				
	tak	50		28,9				
Przerzuty do tkanki podskórnej	nie	119		68,8				
	Tak	54		31,2				
Przerzuty do węzłów chłonnych	nie	61		35,3				
	tak	112		64,7				
Przerzuty do płuc	nie	66		38,2				
	tak	107		61,8				
Przerzuty do wątroby	nie	119		68,8				
	tak	54		31,2				
Przerzuty do ośrodkowego układu nerwowego	nie	117		67,6				
	tak	56		32,4				
Przerzuty do innych lokalizacji	nie	112		64,7				
	tak	61		35,3				
Stadium zaawansowania	III nieresekcyjny	2		1,2				
	IVA	26		15,0				
	IVB	46		26,6				
	IVC	43		24,8				
	IVD	56		32,4				

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; Q1 – kwartył pierwszy; Q3 – kwartył trzeci; Min – wartość minimalna; Max – wartość maksymalna; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób; % – procent osób

## 4.2. Analiza danych uzyskanych z raportów histopatologicznych usunięcia zmiany pierwotnej

Zabieg usunięcia zmiany pierwotnej najczęściej wykonywano w szpitalach rejonowych (n=157; 90,8%). W DCOPIH procedura została wykonana u 16 osób (9,2%). W analizowanych wynikach histopatologicznych dominowała horyzontalna faza wzrostu i dotyczyła 94 pacjentów (53%). Fazę wertykalną stwierdzono u 79 chorych (46%). Średnia grubość nacieku czerniaka według Breslowa wyniosła 4,4 mm (min-max: 0,5-20,0 mm; SD=2,9 mm). Naciek grubości do 1 mm wystąpił u 12 osób (7%), grubość nacieku w przedziale 1 - 2 mm odnotowano u 27 pacjentów (16%), w przedziale 2 - 4 mm u 63 osób (36%), a powyżej 4 mm u 71 badanych (41%). Średnia ilość mitoz na 1 mm<sup>2</sup> w analizowanej grupie wyniosła 4,6 (min-max: 1,0-40,0; SD= 4,2). Obecność owrzodzenia zmiany pierwotnej zaraportowano wśród 129 osób (75%). 75% pacjentów (n=129) nie posiadała ognisk satelitarnych. Cecha ta nie została oznaczona u 21 pacjentów (Tabela 2).

Obecność nacieku limfocytarnego to kolejna analizowana zmienna. 88 zmian pierwotnych czerniaka (51%) charakteryzowało się naciekiem średnioobfitym – non-brisk TILs, 10 zmian (6%) prezentowało naciek obfity – brisk TILs. 22 zmiany (13%) nie posiadały nacieku limfocytarnego - absent TILs. 53 preparaty histopatologiczne (31%) nie zostały poddane takiej ocenie. Inwazję naczyń chłonnych wykazano w 34 preparatach (20%), naciekanie naczyń krwionośnych w 35 (20%), a neuroinwazja dotyczyła 18 wyników (10%). Zarówno oceny zajęcia naczyń chłonnych oraz krwionośnych nie wykonano u 29 osób (16,8 %). Oceny naciekania pni nerwowych nie dokonano u 27 chorych (15,6 %). Średni najmniejszy margines obwodowy wynosił 2,8 mm (min-max: 0,0-65,0 mm; SD=5,3 mm) (tabela 7).

**Tabela 7.** Dane z raportów histopatologicznych usunięcia zmiany pierwotnej.

Zmienna	$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD
<b>Grubość nacieku według Breslowa [mm]</b>	4,4	4,0	0,5	20,0	3,0	5,0	2,9
<b>Liczba figur podziału na 1 mm<sup>2</sup></b>	4,6	3,0	1,0	40,0	2,0	6,0	4,2
<b>Najmniejszy margines obwodowy [mm]</b>	2,8	2,0	0,0	65,0	1,0	3,0	5,3
Zmienna	Kategoria zmiennej	n	%				
<b>Wynik histopatologiczny zmiany pierwotnej</b>	DCOPiH	16	9,2				
	szpital rejonowy	157	90,8				
<b>Faza wzrostu</b>	horyzontalna	94	54,3				
	wertykalna	79	45,7				
<b>Ogniska satelitarne</b>	tak	22	12,7				
	nie	129	74,6				
	brak oceny	22	12,7				
<b>Obecność owrzodzenia zmiany pierwotnej</b>	obecne	129	74,6				
	nieobecne	44	25,4				
<b>Grubość nacieku według Breslowa</b>	do 1 mm	12	6,9				
	1-2 mm	27	15,7				
	2-4 mm	63	36,4				
	powyżej 4 mm	71	41,0				
<b>Obecność i nasilenie nacieku limfocytarnego</b>	nieobecne	22	12,7				
	średnioobfite TILs non brisk	88	50,9				
	obfite TILs brisk	10	5,8				
	brak oceny	53	30,6				
<b>Naciekanie naczyń chłonnych</b>	tak	34	19,7				
	nie	110	63,6				
	brak oceny	29	16,8				
<b>Naciekanie naczyń krwionośnych</b>	tak	35	20,2				
	nie	109	63,0				
	brak oceny	29	16,8				
<b>Naciekanie pni nerwowych</b>	obecne	18	10,4				
	nieobecne	128	74,0				
	brak oceny	27	15,6				

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; Q1 – kwartył pierwszy; Q3 – kwartył trzeci; Min – wartość minimalna; Max – wartość maksymalna; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób; % – procent osób

**DCOPiH – Dolnośląskie Centrum Onkologii, Pulmonologii i Hematologii**

### 4.3. Analiza danych uzyskanych z raportów histopatologicznych z zabiegu biopsji węzła wartowniczego

Analizie poddano dane pochodzące z dokumentacji medycznej dotyczącej biopsji węzła wartowniczego (SLNB). 100 osób (57,8%) zostało poddanych biopsji węzła wartowniczego. W tabeli 3 przedstawiono informacje dotyczące wyników uzyskanych z biopsji węzła wartowniczego. Średnia ilość zajętych węzłów chłonnych wartowniczych wyniosła 0,7 (min-max: 0,0-3,0; SD=0,8). U 51 osób (51%) nie stwierdzono nacieków w węźle wartowniczym, zajęcie pojedynczego węzła dotyczyło 35 osób (35%), natomiast zmiany przerzutowe w 2 lub 3 węzłach stwierdzono wśród 14 (14%) osób. Średnia grubość nacieku w węźle chłonnym wartowniczym wynosiła 3,5 mm (min-max: 0,0-25,0 mm; SD=4,2 mm). Naciekanie torebki węzła wartowniczego stwierdzono u 5 osób. W pozostałych przypadkach takiej oceny nie wykonano lub nie stwierdzono nacieku (tabela 8).

**Tabela 8.** Wyniki biopsji węzła wartowniczego (SLNB).

Zmienna	$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD
Ilość zajętych węzłów wartowniczych	0,7	0,0	0,0	3,0	0,0	1,0	0,8
Grubość nacieku węzła wartowniczego [mm]	3,5	2,0	0,0	25,0	2,0	3,0	4,2
Zmienna	Kategoria zmiennej		n	%			
SLNB	tak		100	57,8			
	nie		73	42,2			
Ilość zajętych węzłów wartowniczych	0 węzłów		51	51,0			
	1 węzeł		35	35,0			
	2-3 węzły		14	14,0			
Nacieki na torebkę węzła wartowniczego?	tak		5	10,2			
	nie/brak oceny		44	89,8			

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; Q1 – kwartył pierwszy; Q3 – kwartył trzeci; Min – wartość minimalna; Max – wartość maksymalna; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób; % – procent osób

#### 4.4 Analiza parametrów układu leukocytarnego

Wśród badanych przeprowadzono analizę układu leukocytarnego krwi obwodowej. Ocenie poddano wynik morfologii, który został oznaczony maksymalnie 5 dni przed rozpoczęciem leczenia. Oceniono wyjściową wartość neutrofilii oraz limfocytów. Dodatkowo u każdego pacjenta obliczono wskaźnik neutrofilowo-limfocytarny (NLR) przy rozpoczęciu terapii, po drugim, po trzecim kursie, po 3 miesiącach leczenia, przy progresji choroby.

Średnia wartość bezwzględnej liczby neutrofilii (ang. *absolute neutrophil count*, ANC) wyniosła  $6,0 \times 10^3/\mu\text{l}$  (min-max: 1,9-37,2  $10^3/\mu\text{l}$ ; SD= 4,0  $10^3/\mu\text{l}$ ), średnia bezwzględna liczba limfocytów (ALC, *absolute lymphocyte count*) wyniosła  $1,7 \times 10^3/\mu\text{l}$  (min-max: 0,5-3,9  $10^3/\mu\text{l}$ ; SD=0,7  $10^3/\mu\text{l}$ ) (tabela 9).

Obliczono wskaźnik neutrofilowo – limfocytarny na wysokości pierwszego kursu terapii, średnia wartość wyniosła 4,1 (min-max: 1,1-26,7; SD=3,7). Dla drugiego kursu średnia wartość NLR wyniosła 3,5 (min-max: 0,6-30,6; SD=3,2), dla trzeciego kursu 3,2 (min-max: 0,3-13,0; SD=2,1) (tabela 9). Zaobserwowano istotne statystycznie zmniejszenie wartości NLR w trakcie kolejnych kursów ( $p=0,0123$ ) (rycina 5). Średnia wartość wskaźnika NLR po trzech miesiącach wyniosła 3,2 (min-max: 0,1-10,1; SD=2,0), a przy progresji 5,0 (min-max: 1,1-31,0; SD=4,2) (tabela 9).

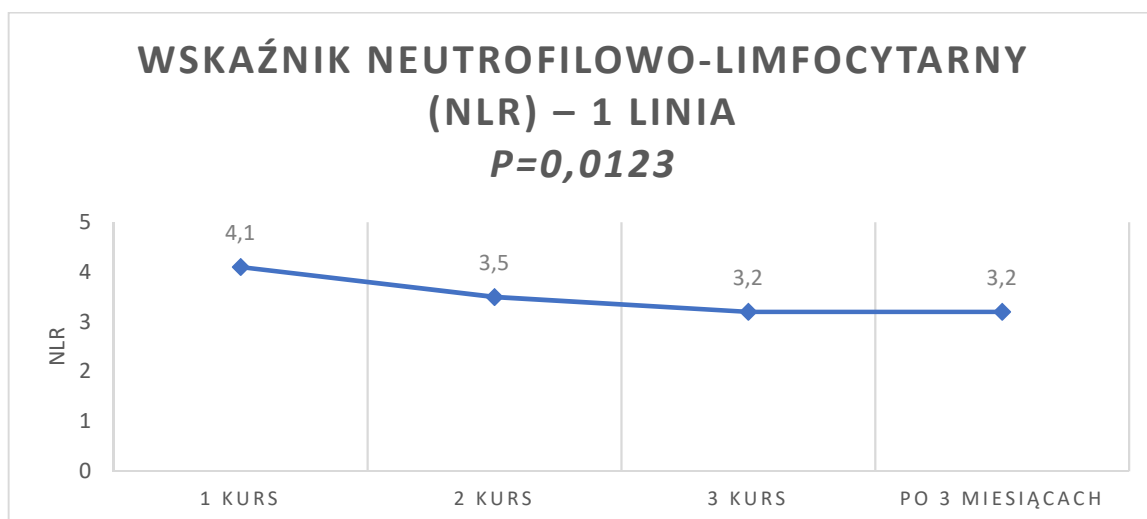
**Tabela 9.** Charakterystyka analizowanych parametrów układu leukocytarnego.

Zmienna	$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD
Bezwzględna liczba neutrofilii ANC ( $10^3/\mu\text{l}$ )	6,0	4,8	1,9	37,2	3,5	7,1	4,0
Bezwzględna liczba limfocytów ALC ( $10^3/\mu\text{l}$ )	1,7	1,6	0,5	3,9	1,3	2,1	0,7
NLR – 1 kurs	4,1	2,9	1,1	26,7	2,0	4,6	3,7
NLR – 2 kurs	3,5	2,7	0,6	30,6	1,9	4,0	3,2
NLR – 3 kurs	3,2	2,6	0,3	13,0	1,9	4,1	2,1
NLR po 3 miesiącach	3,2	2,6	0,1	10,1	1,7	4,0	2,0
NLR przy progresji	5,0	4,1	1,1	31,0	2,6	6,0	4,2

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; Q1 – kwartył pierwszy; Q3 – kwartył trzeci; Min – wartość minimalna; Max – wartość maksymalna; SD – odchylenie standardowe; NLR – wskaźnik neutrofilowo-limfocytarny



**Rycina 5.** Wartości NLR w trakcie leczenia.



#### 4.5 Analiza zastosowanych leków w pierwszej linii leczenia

W tabeli 10 zaprezentowano informacje dotyczące pierwszej linii leczenia pacjentów. Immunoterapię w pierwszej linii leczenia zastosowano u 92 osób (53,2%). Terapię ukierunkowaną molekularnie w pierwszej linii otrzymało 81 osób (46,8%). Wśród 89 pacjentów z dodatnim statusem mutacji *BRAF* 8 osób rozpoczęło leczenie od inhibitorów punktów kontrolnych co stanowiło 9% wszystkich pacjentów z potwierdzoną mutacją *BRAF*. Precyzując, w pierwszej linii leczenie pembrolizumabem otrzymało 50 pacjentów (29%), niwolumabem 42 chorych (24%), 30 osób (17%) otrzymało terapię inhibitorami *BRAF*, 51 osób (29%) inhibitorami *BRAF* oraz inhibitorami *MEK*. Najczęściej stosowanym dubletem w leczeniu celowanym był dabrafenib z trametynibem (n=29, 16,8%) (tabela 10).

Łącznie, wśród analizowanej populacji, 75 badanych (43%) nie uzyskało odpowiedzi na zastosowane leczenie w pierwszej linii z następującą szybką progresją (PD, progressive disease), częściowa remisja (PR- partial remission) dotyczyła 74 badanych (43%), całkowita remisja (CR, complete remission) 18 osób (10%), a stabilizacja (ang. stable disease, SD) 6 osób (4%). Zmarło 8 osób (4,6%) w trakcie pierwszej linii leczenia (tabela 10).

Średni czas trwania 1 linii leczenia wynosił 219,0 dni (min-max: 6,0-1231,0 dni; SD=227,5 dnia), a średnia ilość cykli to 12,0 (min-max: 1,0-76,0; SD=14,2) (tabela 10).

**Tabela 10.** Charakterystyka pierwszej linii leczenia.

Zmienna		$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD
Czas trwania 1 linii [dni]		219,0	133,0	6,0	1231,0	84,0	273,0	227,5
Ilość cykli w 1 linii		12,0	6,0	1,0	76,0	4,0	15,0	14,2
Zmienna	Kategoria zmiennej	n		%				
Grupa leków	iBRAf	30		17,3				
	iBRAf+iMEK	51		29,5				
	anty-PD-1	92		53,2				
Rodzaj terapii	immunoterapia	92		53,2				
	leczenie celowane	81		46,8				
Leki	niwolumab	42		24,3				
	pembrolizumab	50		28,9				
	wemurafenib	21		12,1				
	wemurafenib+kobimetynib	22		12,7				
	dabrafenib	9		5,2				
	dabrafenib+trametytib	29		16,8				
BOR	CR	18		10,4				
	PR	74		42,7				
	SD	6		3,5				
	PD	75		43,4				
PD na 1 linię	tak	144		83,3				
	nie	29		16,7				
Zgon	tak	8		4,6				
	nie	165		95,4				

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; Q1 – kwartył pierwszy; Q3 – kwartył trzeci; Min – wartość minimalna; Max – wartość maksymalna; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób; % – procent osób; CR – całkowita remisja, PR – częściowa remisja; SD – stabilizacja; PD – progresja; BOR – *best objective response*, najlepsza osiągnięta odpowiedź

#### 4.6 Analiza zastosowanych leków w drugiej linii leczenia

Drugą linię leczenia otrzymało 66 osób. 22 chorych (14,3%) zostało poddanych terapii anty-PD-1, 33 badanych (21,4%) otrzymało terapię anty-CTLA-4, natomiast 11 osób (7,2%) chemioterapię. W drugiej linii leczenia najczęściej stosowano ipilimumab (n=33; 50%), w pozostałych przypadkach odpowiednio u 11 osób (17%) zastosowano pembrolizumab, niwolumab lub dakarbazynę (tabela 11).

46 pacjentów (70%) nie osiągnęło odpowiedzi na zastosowane leczenie z następującą szybką progresją choroby (PD), częściowa remisja (PR) dotyczyła 12 badanych (18%), całkowitą remisję (CR) stwierdzono u 1 osoby (2%), a stabilizację (SD) u 7 osób (11%) (tabela 11).

**Tabela 11.** Charakterystyka 2 linii leczenia.

Zmienna		$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD
Czas trwania 2 linii [dni]		93,5	64,0	7,0	519,0	28,0	106,0	98,0
Ilość cykli w 2 linii		6,3	4,0	1,0	45,0	2,0	4,0	8,9
Zmienna	Kategoria zmiennej	n		%				
Grupa leków	anty-PDL-1	22		14,3				
	anty-CTLA-4	33		21,4				
	chemioterapia	11		7,2				
	brak	99		57,2				
Leki	pembrolizumab	11		16,7				
	niwolumab	11		16,7				
	ipilimumab	33		49,9				
	DTIC	11		16,7				
BOR	CR	1		1,5				
	PR	12		18,2				
	SD	7		10,6				
	PD	46		69,7				

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; Q1 – kwartył pierwszy; Q3 – kwartył trzeci; Min – wartość minimalna; Max – wartość maksymalna; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób; % – procent osób; CR – całkowita remisja, PR – częściowa remisja; SD – stabilizacja; PD – progresja; BOR – *best objective response*, najlepsza osiągnięta odpowiedź; DTIC – dakarbazyna

## 4.7 Ocena porównawcza dwóch podgrup: pacjentów z dodatnim oraz ujemnym statusem mutacji *BRAF*

### 4.7.1 Ocena porównawcza charakterystyki grupy badanej w dwóch podgrupach: z dodatnim oraz ujemnym statusem mutacji *BRAF*

Porównanie charakterystyki grupy badanej względem statusu mutacji *BRAF* przedstawiono w tabeli 8. Średnia wieku pacjentów ze stwierdzoną mutacją *BRAF* wynosiła 57,0 lat (min-max: 23,0-85,0 lat; SD=13,5 lat) i była istotnie statystycznie ( $p<0,05$ ) niższa, w porównaniu do grupy bez potwierdzonej mutacji *BRAF* ( $\bar{x}$ =64,0 lat; min-max: 24,0-90,0 lat; SD=12,8 lat).

Wartości dehydrogenazy mleczanowej w surowicy były niższe w grupie z ujemnym statusem mutacji *BRAF*. 65 osób (77%) wild-type *BRAF* posiadało prawidłowy poziom LDH w stosunku do 48 osób (54%) z wykrytą mutacją *BRAF*. Badanych ze stwierdzonym podwójnym przekroczeniem górnej granicy normy LDH było mniej wśród osób bez mutacji *BRAF* (n=11; 13% vs. n=27; 30%). Stwierdzono statystycznie istotne różnice ( $p<0,05$ ) (tabela 12).

Lokalizacja zmiany pierwotnej różniła się istotnie statystycznie w zależności od wykrytej mutacji *BRAF*. Wśród pacjentów z ujemnym statusem mutacji *BRAF* 92,8% zmian

pierwotnych czerniaka wywodziło się ze skóry, 6% z błon śluzowych, 1,2 % to czerniaki o nieznanym ognisku pierwotnym. W podgrupie z potwierdzonym statusem mutacji *BRAF* 96,6% ognisk pierwotnych wywodziło się ze skóry a 3,4 % to czerniaki o nieznanym ognisku pierwotnym (tabela 12). Wszystkie czerniaki wywodzące się z błon śluzowych charakteryzowały się brakiem mutacji *BRAF*.

Stwierdzono różnice w lokalizacji przerzutów. 73% (n=61) chorych wild-type *BRAF* manifestowało przerzuty do płuc w porównaniu do 52% (n=46) chorych z dodatnim statusem mutacji. Rozsiew do wątroby (n=34, 38%) oraz ośrodkowego układu nerwowego (n=35, 38%) dominował wśród chorych z potwierdzoną mutacją *BRAF*. Wykazane różnice osiągnęły istotność statystyczną (p<0,05) (tabela 12). W pozostałych przypadkach wyniki nie różniły się istotnie statystycznie (p>0,05) (tabela 12).

**Tabela 12.** Charakterystyka podgrup w zależności od statusu mutacji *BRAF*.

Zmienna	Mutacja <i>BRAF</i>														Wartość p
	$\bar{x}$	Nieobecna						Obecna							
		M	M	M	Q	Q	S	$\bar{x}$	M	M	M	Q	Q	S	
		e	in	ax	1	3	D		e	in	ax	1	3	D	
Wiek [lata]	64,0	65,5	24,0	90,0	58,0	71,0	12,8	57,0	57,0	23,0	85,0	48,0	65,0	13,5	<0,001*
Ilość lokalizacji przerzutów	2,9	3,0	1,0	7,0	2,0	3,5	1,4	3,0	3,0	1,0	6,0	2,0	4,0	1,2	0,558**
Zmiana	Kategoria zmiennej	n				%		n					%		Wartość p***
Płeć	Mężczyzna	57				67,9		54					60,7		0,325
	Kobieta	27				32,1		35					39,3		
Stan sprawności ECOG	1	77				91,7		78					87,6		0,386
	2	7				8,3		11					12,4		
LDH ratio grupy (iloraz poziomu LDH oraz górnej granicy normy)	W normie	65				77,4		48					53,9		0,009
	Do 2xGGN	11				13,1		27					30,3		
	2-5xGGN	7				8,3		10					11,2		
	>5xGGN	1				1,2		4					4,5		
	tak	24				28,6		26					29,2		

**Tabela 12 (c.d.).** Charakterystyka podgrup w zależności od statusu mutacji BRAF.

Zmienna	Kategoria zmiennej	Mutacja BRAF				Wartość p***
		Nieobecna		Obecna		
		n	%	n	%	
Lokalizacja zmiany pierwotnej	Skóra	78	92,8	86	96,6	<b>0,044</b>
	błony śluzowe	5	6,0	0	0,0	
Przerzuty do skóry	FPI	1	1,2	3	3,4	0,926
	nie	60	71,4	63	70,8	
Przerzuty do tkanki podskórnej	tak	24	28,6	26	29,2	0,798
	nie	57	67,9	62	69,7	
Przerzuty do węzłów chłonnych	tak	27	32,1	27	30,3	0,606
	nie	28	33,3	33	37,1	
Przerzuty do płuc	tak	56	66,7	56	62,9	<b>0,005</b>
	nie	23	27,4	43	48,3	
Przerzuty do wątroby	tak	61	72,6	46	51,7	<b>0,041</b>
	nie	64	76,2	55	61,8	
Przerzuty do OUN	tak	20	23,8	34	38,2	<b>0,029</b>
	nie	64	76,2	54	60,7	
Przerzuty do innych lokalizacji	tak	20	23,8	35	39,3	0,249
	nie	58	69,0	54	60,7	
Stadium zaawansowania	III nierese-kcyjny	0	0,0	2	2,2	0,055
	IVA	13	15,5	13	14,6	
	IVB	30	35,7	16	18,0	
	IVC	19	22,6	24	27,0	
	IVD	22	26,2	34	38,2	

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; Q1 – kwartył pierwszy; Q3 – kwartył trzeci; Min – wartość minimalna; Max – wartość maksymalna; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób; % – procent osób;  
\*Test t Studenta dla prób niezależnych; \*\* test U Manna-Whitneya \*\*\* test chi-kwadrat

#### 4.7.2 Ocena porównawcza wyników histopatologicznych z usuniętej zmiany pierwotnej w dwóch podgrupach: z dodatnim oraz ujemnym statusem mutacji *BRAF*

Wykonano ocenę porównawczą danych pochodzących z raportów histopatologicznych z usuniętej zmiany pierwotnej w zależności od statusu mutacji *BRAF*. Nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie ( $p > 0,05$ ) (tabela 13).

W podgrupie z rozpoznaną mutacją *BRAF* oraz *BRAF* wild-type dominowała horyzontalna faza wzrostu, brak ognisk satelitarnych. Obecność owrzodzenia zmiany pierwotnej dotyczyła 76% chorych z ujemnym statusem mutacji *BRAF* oraz 73% pacjentów z potwierdzoną mutacją. W obu podgrupach przeważało średnioobfite nasilenie nacieków limfocytarnych, brak cech angioinwazji oraz neuroinwazji (tabela 13).

**Tabela 13.** Porównanie raportów histopatologicznych z usuniętej zmiany pierwotnej w podgrupie z dodatnim oraz ujemnym statusem mutacji *BRAF*.

Zmienna	Mutacja <i>BRAF</i>														Wartość $p^*$	
	Nieobecna							Obecna								
	$\bar{x}$	M e	Mi n	M ax	Q 1	Q 3	S D	$\bar{x}$	M e	Mi n	M ax	Q 1	Q 3	S D		
Grubość nacieku według Breslowa [mm]	4,5	4,0	0,6	20,0	3,0	5,0	2,8	4,4	4,0	0,5	15,0	2,0	5,0	3,0	0,534	
Liczba figur podziału na 1 mm <sup>2</sup>	5,0	4,0	1,0	40,0	2,0	6,0	5,2	4,2	3,0	1,0	17,0	2,0	5,0	3,0	0,430	
Najmniejszy margines obwodowy [mm]	2,9	2,0	0,0	65,0	1,0	3,0	7,0	2,6	2,0	0,0	18,0	1,0	3,0	2,9	0,578	
Zmienna	Kategori a zmienn e j	n						%	n						%	Wartość $p^{**}$
Wynik histopatologiczny zmiany pierwotnej	DCOPi H szpitalny	5						6,0	11						12,5	0,146
	rejonowy	78						94,0	77						87,5	
Faza wzrostu	horyzontalna	46						54,8	48						53,9	0,913
	wertykalna	38						45,2	41						46,1	
Ogniska satelitarne	tak	12						14,3	10						11,4	0,564
	nie	60						71,4	69						78,4	
Obecność owrzodzenia zmiany pierwotnej	brak oceny	12						14,3	9						10,2	0,634
	obecne	64						76,2	65						73,0	
	nieobecne	20						23,8	24						27,0	

**Tabela 13 (c.d.).** Porównanie raportów histopatologicznych z usuniętej zmiany pierwotnej w podgrupie z dodatnim oraz ujemnym statusem mutacji BRAF.

Zmienna	Kategoria zmiennej	Mutacja <i>BRAF</i>				Wartość p**
		Nieobecna		Obecna		
		n	%	n	%	
Wynik histopatologiczny zmiany pierwotnej	DCOPiH	5	6,0	11	12,5	0,146
	szpital rejonowy	78	94,0	77	87,5	
Faza wzrostu	horyzontalna	46	54,8	48	53,9	0,913
	wertykalna	38	45,2	41	46,1	
Ogniska satelitarne	tak	12	14,3	10	11,4	0,564
	nie	60	71,4	69	78,4	
	brak oceny	12	14,3	9	10,2	
Obecność owrzodzenia zmiany pierwotnej	obecne	64	76,2	65	73,0	0,634
	nieobecne	20	23,8	24	27,0	
	nieobecne	11	13,1	11	12,4	
Obecność i nasilenie nacieku limfocytarnego	średnioobfite non brisk TILs	40	47,6	48	53,9	0,225
	obfite brisk TILs	8	9,5	2	2,2	
	brak oceny	25	29,8	28	31,5	
	tak	12	14,2	22	24,7	
Naciekanie naczyń chłonnych	nie	57	67,9	53	59,6	0,225
	brak oceny	15	17,9	14	15,7	
	nie	13	15,5	22	24,7	
Naciekanie naczyń krwionośnych	nie	56	66,6	53	59,6	0,318
	brak oceny	15	17,9	14	15,7	
	obecne	8	9,5	10	11,2	
Naciekania pni nerwowych	nieobecne	63	75,0	65	73,0	0,930
	brak oceny	13	15,5	14	15,8	

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; Q1 – kwartyl pierwszy; Q3 – kwartyl trzeci; Min – wartość minimalna; Max – wartość maksymalna; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób; % – procent osób; \*test U Manna-Whitneya; \*\* test chi-kwadrat; DCOPiH – Dolnośląskie Centrum Onkologii, Pulmonologii i Hematologii

### 4.7.3 Ocena porównawcza wyników histopatologicznych z zabiegu biopsji węzła wartowniczego w dwóch podgrupach: z dodatnim oraz ujemnym statusem mutacji *BRAF*

Porównując wyniki biopsji węzła wartowniczego w grupie z dodatnim oraz ujemnym statusem mutacji *BRAF* nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie ( $p > 0,05$ ) (tabela 14).

**Tabela 14.** Porównanie raportów histopatologicznego z biopsji węzła wartowniczego w podgrupie z dodatnim oraz ujemnym statusem mutacji *BRAF*.

Zmienna	Mutacja <i>BRAF</i>														Wartość p*
	Nieobecna							Obecna							
	$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD	$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD	
Ilość zajętych węzłów wartowniczych	0,7	1,0	0,0	3,0	0,0	1,0	0,8	0,6	0,0	0,0	3,0	0,0	1,0	0,8	0,551
Grubość nacieku w węzle wartowniczym [mm]	3,7	2,0	0,0	25,0	2,0	3,0	5,1	3,1	2,0	1,0	13,0	2,0	3,0	2,8	0,915
Zmiana	Kategoria	n		%	n		%								Wartość p**
SLNB	tak	50		59,5	50		56,2								0,656
	nie	34		40,5	39		43,8								
Nacieki na torebkę węzła	tak	3		11,1	2		8,3								0,739
	nie	24		88,9	22		91,7								

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; Q1 – kwartyl pierwszy; Q3 – kwartyl trzeci; Min – wartość minimalna; Max – wartość maksymalna; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób; % – procent osób; \*test U Manna-Whitneya; \*\* test chi-kwadrat



#### 4.7.4 Ocena porównawcza wartości układu leukocytnego oraz wskaźnika neutrofilowo-limfocytnego w dwóch podgrupach: z dodatnim oraz ujemnym statusem mutacji *BRAF*

Ocenie porównawczej poddano wartości parametrów układu leukocytnego oraz wartości wskaźnika neutrofilowo-limfocytnego w podgrupie z dodatnim lub ujemnym statusem mutacji *BRAF*. Dane zestawiono w tabeli 11. Średnia wartość wskaźnika NLR na wysokości 3 kursu leczenia wśród osób bez mutacji *BRAF* wyniosła 3,6 (min-max: 0,9-13,0; SD=2,3) i była istotnie statystycznie ( $p<0,05$ ) wyższa, w porównaniu do osób z wykrytą mutacją *BRAF* ( $\bar{x}=2,9$ ; min-max: 0,3-8,9; SD=1,9). Wykazano istotne statystycznie ( $p<0,05$ ) wyższe wartości NLR po 3 miesiącach terapii u osób z ujemny statusem mutacji *BRAF* w stosunku do pacjentów z obecną mutacją *BRAF* (6,3; min-max: 0,1-103,0; SD=16,4 vs. 4,2; min-max: 0,6-102,0; SD=11,3) (tabela 15). W pozostałych przypadkach nie wykazano różnic istotnych statystycznie ( $p>0,05$ ) (tabela 15).

**Tabela 15.** Porównanie wyników analizowanych parametrów układu leukocytnego pod względem obecności mutacji *BRAF*.

Zmienna	Mutacja <i>BRAF</i>												Wartość p*		
	Nieobecna						Obecna								
	$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD	$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD	
Bezwzględna liczba neutrofilów ANC ( $10^3/\mu\text{l}$ )	6,0	4,6	1,9	37,2	3,5	7,1	4,7	5,9	4,8	2,1	16,8	3,5	7,1	3,3	0,682
Bezwzględna liczba limfocytów ALC ( $10^3/\mu\text{l}$ )	1,7	1,6	0,6	3,4	1,3	2,1	0,6	1,7	1,7	0,5	3,9	1,2	2,2	0,7	0,860
NLR – 1 kurs	4,0	3,0	1,1	18,8	2,0	4,4	3,3	4,3	2,9	1,2	26,7	2,1	4,7	4,1	0,696
NLR – 2 kurs	4,0	2,8	0,8	30,6	2,0	4,7	4,1	3,0	2,5	0,6	10,8	1,6	3,5	1,9	0,082
NLR – 3 kurs	3,6	2,9	0,9	13,0	2,3	4,1	2,3	2,9	2,5	0,3	8,9	1,6	3,4	1,9	<b>0,016</b>
NLR po 3 miesiącach	6,3	3,2	0,1	103,0	2,4	4,9	16,4	4,2	2,5	0,6	102,0	1,6	3,6	11,3	<b>0,004</b>
NLR przy progresji	5,4	4,7	1,1	30,6	3,0	6,5	4,4	5,8	3,7	1,4	101,0	2,6	5,9	11,3	0,159

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; Q1 – kwartył pierwszy; Q3 – kwartył trzeci; Min – wartość minimalna; Max – wartość maksymalna; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób; % - procent osób; \*test U Manna-Whitneya; NLR – wskaźnik neutrofilowo-limfocytny

#### 4.7.5 Ocena porównawcza zastosowanych leków oraz uzyskanych efektów leczenia pierwszej linii w dwóch podgrupach: z dodatnim oraz ujemnym statusem mutacji *BRAF*

Analiza dotyczyła porównania zastosowanych leków oraz wyników leczenia pierwszej linii wśród pacjentów z dodatnim oraz ujemnym statusem mutacji *BRAF* (tabela 16). Średni czas trwania pierwszej linii leczenia pacjentów wild-type *BRAF* wynosił 204,3 dnia (min-max: 6,0-947,0 dni; SD=238,8 dni) i był niższy, w porównaniu z grupą z dodatnią mutacją *BRAF* - 232,1 dnia (min-max: 12,0-1231,0 dni; SD=217,6 dni). Wyniki różniły się istotnie statystycznie ( $p < 0,05$ ) (tabela 16).

Wykazano różnice istotne statystycznie dotyczące rodzaju zastosowanej terapii w grupie wild-type *BRAF* oraz *BRAF* dodatniej ( $p < 0,05$ ). Leki z grupy anty-PD-1 zastosowano u 100% ( $n=84$ ) chorych bez potwierdzonej mutacji *BRAF* w pierwszej linii. Pembrolizumab otrzymało 45 osób (46,4%), niwolumab 39 pacjentów (46,4%). 91% ( $n=81$ ) osób z potwierdzonym statusem mutacji *BRAF* w pierwszej linii leczenia otrzymało terapię celowaną. Do najczęściej stosowanych leków należał dabrafenib z trametynibem ( $n=29$ , 32,6%). 8 chorych (8,7%) z dodatnim statusem mutacji *BRAF* otrzymało terapię anty-PD-1 w pierwszej linii (tabela 16).

46 osób (55%) bez mutacji *BRAF* nie uzyskało odpowiedzi na pierwszą linię leczenia z następową szybką progresją. Najczęstszą odpowiedzią na 1 linię leczenia wśród osób z obecną mutacją *BRAF* była częściowa remisja ( $n=49$ ; 55%). Odnotowano istotną statystycznie ( $p < 0,05$ ) niższą ilość zgonów w grupie z dodatnim statusem mutacji *BRAF* ( $n=14$ ; 16,7% vs.  $n=5$ ; 5,6%) (tabela 16).

**Tabela 16.** Porównanie wyników dotyczących 1 linii leczenia pacjentów względem obecności mutacji *BRAF*.

Zmienna	Mutacja <i>BRAF</i>														Wartość $p^*$
	Nieobecna							Obecna							
	$\bar{x}$	Me	M in	M ax	Q 1	Q3	SD	$\bar{x}$	Me	M in	Ma x	Q1	Q3	SD	
Czas trwania 1 linii [dni]	204,3	104,0	6,0	947,0	81,0	21,0	23,8	23,1	16,0	12,0	123,6	10,0	29,0	21,6	<b>0,010</b>
Ilość cykli w 1 linii	13,1	5,5	1,0	59,0	4,0	22,0	14,4	11,0	6,0	1,0	76,0	4,0	12,0	14,1	0,661

**Tabela 16 (c.d.).** Porównanie wyników dotyczących 1 linii leczenia pacjentów względem obecności mutacji BRAF.

Zmienna	Kategoria zmiennej	Mutacja BRAF				Wartość p**
		Nieobecna		Obecna		
		n	%	n	%	
Grupa leków	iBRAF	0	0,0	30	37,0	<0,001
	iBRAF+ iMek	0	0,0	51	63,0	
	anty-PD-1	84	91,3	8	8,7	
Rodzaj terapii	immunoterapia	84	91,3	8	8,7	<0,001
	leczenie celowane	0	0	81	100	
Leki	niwolumab	39	46,4	3	3,4	<0,001
	pembro	45	53,6	5	5,6	
	wem	0	0,0	21	23,6	
	wem+kobi	0	0,0	22	24,7	
	dabrafenib	0	0,0	9	10,1	
	dabra+tram	0	0,0	29	32,6	
BOR	CR	8	9,5	10	11,2	0,002
	PR	25	29,8	49	55,1	
	SD	5	6,0	1	1,1	
	PD	46	54,7	29	32,6	
PD na 1 linię	tak	65	77,4	79	89,8	0,028
	nie	19	22,6	9	10,2	
Zgon	tak	7	8,3	1	1,1	0,024
	nie	77	91,7	88	98,9	

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; Q1 – kwartył pierwszy; Q3 – kwartył trzeci; Min – wartość minimalna; Max – wartość maksymalna; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób; % – procent osób; \*test U Manna-Whitneya; \*\* test chi-kwadrat; pembro – pembrolizumab; wem – wemurafenib; wem+kobi – wemurafenib + kobimetynib; dabra+tram – dabrafenib + trametynib; BOR – best objective response, najlepsza uzyskana odpowiedź; CR – całkowita remisja, PR – częściowa remisja; SD – stabilizacja; PD – progresja choroby

#### 4.7.6 Ocena porównawcza zastosowanych leków oraz wyników leczenia w drugiej linii w dwóch podgrupach: z dodatnim oraz ujemnym statusem mutacji *BRAF*

W tabeli 17 przedstawiono porównanie wyników dotyczących 2 linii leczenia pacjentów w dwóch podgrupach, z dodatnim oraz ujemnym statusem mutacji *BRAF*. Najczęściej stosowaną grupą leków w 2 linii wśród chorych wild-type *BRAF* było przeciwciało anti-CTLA-4 (n=25; 31%). W grupie *BRAF* dodatniej dominowała terapia anti-PD-1 (n=22; 26%). Drugiej linii leczenia nie otrzymały 44 osoby (55%) bez mutacji *BRAF* oraz 55 osób (64,3%) z wykrytą mutacją *BRAF*. W zdecydowanej większości wynikało to ze złego stanu ogólnego pacjentów w następstwie czego nastąpił szybki zgon. 3 osoby nie wyraziły zgody na zastosowanie kolejnej linii leczenia. Wyniki różniły się istotnie statystycznie ( $p < 0,05$ ) (tabela 17).

Obok najczęściej stosowanego ipilimumabu (n=25, 69%), w 2 linii leczenia chorych z ujemnym statusem mutacji *BRAF*, zastosowano u 11 pacjentów dakarbazynę (DTIC) (31%). Wśród chorych z obecną mutacją *BRAF* najczęściej stosowano pembrolizumab oraz niwolumab i było to odpowiednio po 11 badanych (37%). Stwierdzono różnice istotne statystycznie ( $p < 0,05$ ) (tabela 17). W pozostałych przypadkach nie osiągnięto istotności statystycznej ( $p > 0,05$ ) (tabela 17). W drugiej linii leczenia 66,7% chorych wild-type *BRAF* nie osiągnęło odpowiedzi na leczenie oraz 73,3% z obecną mutacją *BRAF* ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 17.** Porównanie wyników drugiej linii leczenia pacjentów względem obecności mutacji *BRAF*.

Zmienna	Mutacja <i>BRAF</i>												Wartość $P^*$		
	Nieobecna						Obecna								
	$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD	$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD	
Czas trwania 2 linii [dni]	80,5	63,0	7,0	347,0	28,0	87,0	76,2	110,3	69,0	10,0	519,0	24,0	141,0	120,1	0,371
Ilość cykli w 2 linii	5,6	4,0	1,0	34,0	2,0	4,0	7,6	7,3	4,0	1,0	45,0	3,0	5,0	10,3	0,257

**Tabela 17 (c.d.).** Porównanie wyników drugiej linii leczenia pacjentów względem obecności mutacji BRAF.

Zmienna	Kategoria zmiennej	Mutacja BRAF				Wartość p**
		Nieobecna		Obecna		
		n	%	n	%	
Grupa leków	anty-PD-1	0	0,0	22	26,2	<0,001
	anty-CTLA-4	25	31,3	8	9,5	
	chth	11	13,8	0	0,0	
	brak	44	55	54	64,3	
Leki	pembro	0	0,0	11	36,7	<0,001
	niwo	0	0,0	11	36,7	
	ipi	25	69,4	8	26,7	
	DTIC	11	30,6	0	0,0	
BOR	CR	1	2,8	0	0,0	0,606
	PR	6	16,7	6	20,0	
	SD	5	13,8	2	6,7	
	PD	24	66,7	22	73,3	
PD na 2 linię	tak	27	77,1	24	80,0	0,780
	nie	8	22,9	6	20,0	

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; Q1 – kwartył pierwszy; Q3 – kwartył trzeci; Min – wartość minimalna; Max – wartość maksymalna; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób; % – procent osób; \*test U Manna-Whitneya; \*\* test chi-kwadrat; chth- chemioterapia; pembro – pembrolizumab; niwo- niwolumab; ipi- ipilimumab; DTIC – dakarbazyna; CR- całkowita remisja; PR – częściowa regresja; SD- stabilizacja; PD- progresja;

#### 4.8 Ocena wyników leczenia w całej grupie badanej: odsetek odpowiedzi na leczenie, czasu wolnego od progresji oraz czasu przeżycia całkowitego

Dokonano analizy odpowiedzi na leczenie w grupie badanej. Na dzień ostatniej obserwacji przyjęto 1 grudnia 2021. Do analizy OS i PFS włączono 172 pacjentów zamiast 173 z powodu braku dokładnej daty zgonu jednego chorego. Średni czas, który minął od początku leczenia do jego końca wynosił 219 dni (min-max: 6,0-1231,0 dni; SD=227,5 dnia), średni czas od początku leczenia do ostatniej obserwacji lub zgonu wynosił 580,2 dnia (min-max: 12,0-2739,0 dni; SD=526,3 dnia), natomiast średni czas od początku leczenia do progresji wyniósł 257,6 dnia (min-max: 6,0-1531,0 dni; SD=526,3 dnia). 92 pacjentów (n=53%) uzyskało całkowitą remisję lub częściową odpowiedź na zastosowane leczenie (tabela 18).

**Tabela 18.** Charakterystyka czasowa leczenia oraz odsetka obiektywnych odpowiedzi.

	$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD
<b>Czas od początku leczenia do końca leczenia [dni]</b>	219,0	133,0	6,0	1231,0	84,0	273,00	227,5
<b>Czas od początku leczenia do zgonu/ostatniej obserwacji [dni]</b>	580,2	337,5	12,0	2739,0	187,0	907,5	526,3
<b>Czas od początku leczenia do progresji</b>	257,6	141,0	6,0	1531,0	187,0	907,5	526,3
				<b>n</b>			<b>%</b>
<b>ORR</b>	Inne			81			46,8
	CR/PR			92			53,2

**n** – liczba osób; **%** – procent;  $\bar{x}$  – średnia; **Me** – mediana; **Q1** – kwartył pierwszy; **Q3** – kwartył trzeci; **Min** – wartość minimalna; **Max** – wartość maksymalna; **SD** – odchylenie standardowe;

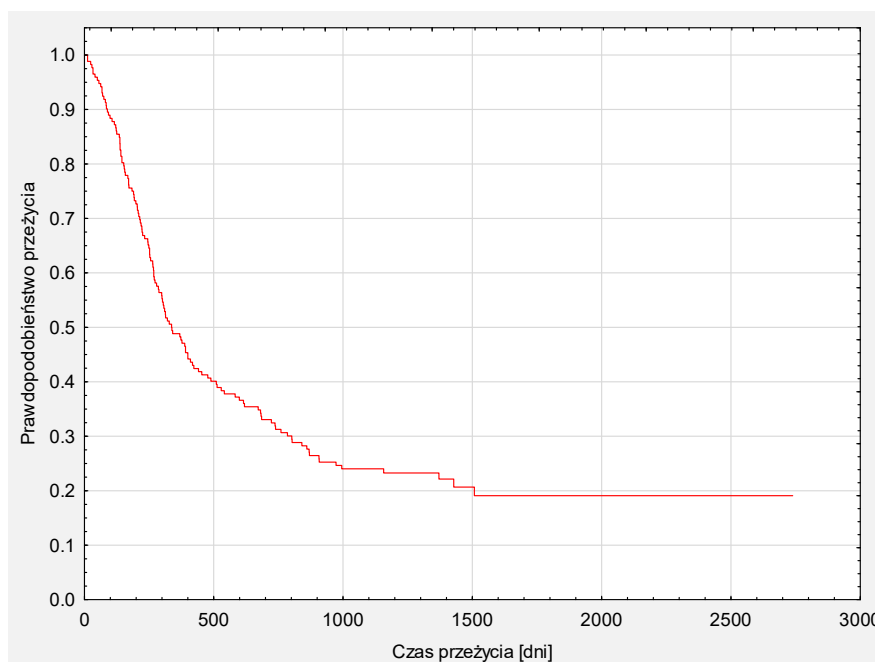
W tabeli 19 przedstawiono statystyki opisowe dla czasu leczenia z uwzględnieniem wystąpienia zgonów i uciętych obserwacji. Mediana czasu od początku leczenia do ostatniej obserwacji wyniosła 337,5 dnia (średnio 580,2 dnia; SD=526,3 dnia). Zgon nastąpił u 134 (77%) badanych. W przypadku czasu od początku leczenia do stwierdzenia progresji mediana wyniosła 140,5 dnia (średnio 258,0 dnia; SD=301,9 dnia) a progresję stwierdzono u 144 (94%) badanych (tabela 19).

**Tabela 19.** Wyniki czasu leczenia z uwzględnieniem czasu wystąpienia zgonu lub ucięcia obserwacji.

	Me	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	Zgon/Progresja	Ucięte obserwacje	n
<b>Czas od początku leczenia do zgonu/ostatniej obserwacji [dni]</b>	337,5	580,2	526,3	12,0	2739,0	134 (77,9%)	38 (22,1%)	172
<b>Czas od początku leczenia do progresji [dni]</b>	140,5	258,0	301,9	6,0	1531,0	144 (93,5%)	10 (6,49%)	154
$\bar{x}$ – średnia; Me – mediana; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób								

Analizę prawdopodobieństwa przeżycia i progresji przedstawiono na krzywych przeżycia Kaplana – Meiera (ryciny 6– 7). Odsetek przeżyć 12-miesięcznych dotyczył 48% pacjentów, natomiast w 5 roku wskaźnik ten wynosił 19% (rycina 6, tabela 20). Mediana czasu przeżycia wynosi 337 dni (tabela 20).

**Rycina 6.** Krzywa Kaplana-Meiera ukazująca czas przeżycia (OS).



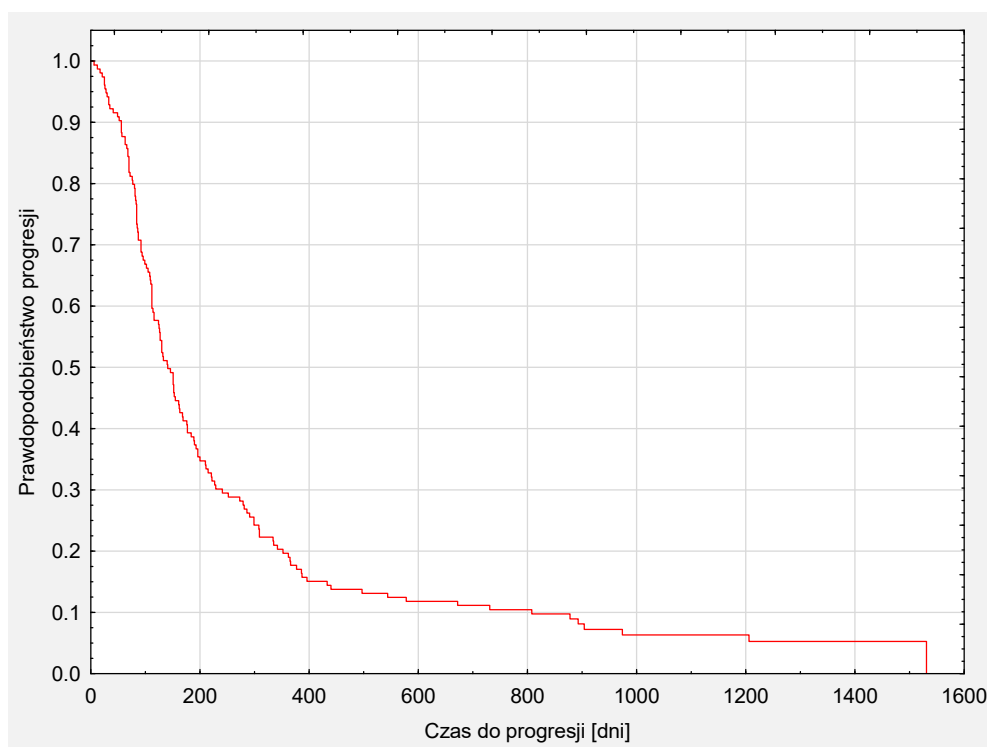
**Tabela 20.** Przeżycie wyrażone w procentach w każdym roku w okresie 5-letnim.

Czas obserwacji	1 rok	2 rok	3 rok	4 rok	5 rok
Przeżycie [%]	48%	32%	23%	21%	19%
	<b>Dolny kwartył</b>	<b>Mediana</b>	<b>Górny kwartył</b>		
Czas przeżycia [dni]	184	337	935		



W ciągu 1 roku wśród 18 % pacjentów nie odnotowano progresji, w 5 roku wskaźnik ten wyniósł 0% (rycina 7, tabela 21). Mediana czasu do wystąpienia progresji wyniosła 140 dni (tabela 21).

**Rycina 7.** Krzywa Kaplana-Meiera ukazująca czas do progresji (PFS).



**Tabela 21.** Odsetek chorych wolnych od progresji w każdym roku w okresie 5-letnim.

<b>Czas obserwacji</b>	<b>1 rok</b>	<b>2 rok</b>	<b>3 rok</b>	<b>4 rok</b>	<b>5 rok</b>
<b>Brak progresji [%]</b>	18%	11%	5%	5%	0%
	<b>Dolny kwartyl</b>	<b>Mediana</b>	<b>Górny kwartyl</b>		
<b>Czas do progresji [dni]</b>	84	141	297,8		

## 4.9 Wpływ poszczególnych parametrów na przeżycie całkowite w grupie badanej - analiza Coxa

### 4.9.1 Wpływ czynników charakteryzujących grupę na czas przeżycia całkowitego

Do oceny wpływu badanych zmiennych na przeżycie wykorzystano analizę regresji proporcjonalnego hazardu Coxa (model jednoczynnikowy oraz wieloczynnikowy). Wyniki zmiennych w modelach jednoczynnikowych zostały przedstawione w tabelach 22, 23 i 24. Wśród analizowanej grupy zwiększone ryzyko zgonu stwierdzono u osób z większą ilością przerzutów odległych (HR=1,27;  $p<0,001$ ). Stan sprawności pacjenta ECOG 2 skutkowało dwukrotnie większym ryzykiem zgonu w porównaniu do pacjentów w stanie sprawności ECOG 1 (HR=2,11;  $p=0,005$ ). Analizie poddano wartość dehydrogenazy mleczanowej w surowicy przy rozpoczęciu terapii. Pacjenci, u których wartość LDH oscylowała w przedziale pomiędzy 2 a 5 razy wyższym od górnej granicy normy, mają ponad trzykrotnie większe ryzyko zgonu (HR=3,46;  $p=0,041$ ). Nie bez znaczenia pozostawała lokalizacja przerzutów odległych. Zmiany w wątrobie oraz w ośrodkowym układzie nerwowym zwiększały ryzyko śmierci, odpowiednio (HR=1,69;  $p=0,004$ ) oraz (HR=1,90;  $p<0,001$ ). Przerzuty do innych lokalizacji (czyli zmiany w narządach innych niż: skóra, tkanka podskórna, pozaregionalne węzły chłonne, płuca, wątroba, ośrodkowy układ nerwowy) wiązały się również z większym ryzykiem zgonu (HR=1,55;  $p=0,013$ ). W przeprowadzonej analizie nie stwierdzono takiego wpływu wśród innych parametrów charakteryzujących grupę badaną (tabela 22).

**Tabela 22.** Ocena wpływu zmiennych charakteryzujących grupę na śmiertelność (regresja proporcjonalnego hazardu Coxa, model jednoczynnikowy).

		Beta	Błąd standardowy	Chi-kwadrat	Wartość p	HR	95%PU HR (dolny)	95%PU HR (górnny)
Wiek		0,01	0,01	0,68	0,411	1,01	0,99	1,02
Ilość lokalizacji przerzutów		0,24	0,06	14,37	<b>&lt;0,001</b>	1,27	1,12	1,44
Płeć	K	Ref.						
	M	-0,08	0,09	0,75	0,387	0,86	0,60	1,22
Stan sprawności ECOG	1	Ref.						
	2	0,37	0,13	7,81	<b>0,005</b>	2,11	1,25	3,57
Mutacja BRAF	obecna	Ref.						
	nieobecna	0,03	0,09	0,14	0,713	1,07	0,76	1,50

**Tabela 22 (c.d.).** Ocena wpływu zmiennych charakteryzujących grupę na śmiertelność (regresja proporcjonalnego hazardu Coxa, model jednoczynnikowy).

		Beta	Błąd standardowy	Chi-kwadrat	Wartość p	HR	95%PU HR (dolny)	95%PU HR (górnny)
<b>LDH ratio grupy</b>	w normie	Ref.						
	do 2xGGN	-0,38	0,20	3,79	0,052	0,74	0,30	1,80
	2-5xGGN	0,47	0,23	4,18	<b>0,041</b>	3,46	2,04	5,87
	>5xGGN	0,69	0,39	3,17	0,075	4,34	1,56	12,09
<b>Lokalizacja zmiany pierwotnej</b>	skóra	Ref.						
	błony śluzowe	-0,21	0,43	0,23	0,629	0,71	0,23	2,24
	FPI	0,08	0,43	0,03	0,857	0,95	0,30	2,98
<b>Przerzuty do skóry</b>	nie	Ref.						
	tak	-0,06	0,10	0,43	0,510	0,88	0,60	1,28
<b>Przerzuty do tkanki podskórnej</b>	nie	Ref.						
	tak	0,00	0,09	0,00	0,990	1,00	0,69	1,44
<b>Przerzuty do węzłów chłonnych</b>	nie	Ref.						
	tak	-0,03	0,09	0,11	0,745	0,94	0,66	1,34
<b>Przerzuty do płuc</b>	nie	Ref.						
	tak	0,16	0,09	3,19	0,074	1,39	0,97	1,99
<b>Przerzuty do wątroby</b>	nie	Ref.						
	tak	0,26	0,09	8,35	<b>0,004</b>	1,69	1,18	2,42
<b>Przerzuty do OUN</b>	nie	Ref.						
	tak	0,32	0,09	12,67	<b>&lt;0,001</b>	1,90	1,33	2,70
<b>Przerzuty do innych lokalizacji</b>	nie	Ref.						
	tak	0,22	0,09	6,14	<b>0,013</b>	1,55	1,10	2,20
<b>Stadium zaawansowania</b>	III	Ref.						
	nieresekcyjny							
	IVA	1,92	82,77	0,00	0,98	558,24	0,00	
	IVB	2,49	82,77	0,00	0,98	17071,49	0,00	
	IVC	2,84	82,77	0,00	0,97	588680,25	0,00	
	IVD	3,19	82,77	0,00	0,97	838031,31	0,00	

**HR – hazard względny; PU – przedział ufności**

#### 4.9.2 Wpływ czynników, określonych w badaniu histopatologicznym usunięcia zmiany pierwotnej, na czas przeżycia całkowitego

Oceniono wpływ cech, określonych w badaniu histopatologicznym usunięcia zmiany pierwotnej, na ryzyko zgonu. Udowodniono prawie dwukrotne zwiększenie wyżej wymienionego ryzyka w przypadku występowania nacieku naczyń chłonnych (HR=1,87; p=0,011) oraz krwionośnych (HR=2,08; p=0,003). Obecność neuroinwazji zwiększała

również ryzyko zgonu (HR 1,76), jednak czynnik ten nie osiągnął istotności statystycznej (p=0,06) (tabela 23).

**Tabela 23.** Ocena wpływu czynników określonych w wyniku histopatologicznym usunięcia zmiany pierwotnej na śmiertelność (regresja proporcjonalnego hazardu Coxa, model jednoczynnikowy).

		Beta	Błąd standardowy	Chi-kwadrat	Wartość p	HR	95%PU HR (dolny)	95%PU HR (górny)
<b>Grubość nacieku według Breslowa [mm]</b>		0,03	0,03	1,15	0,284	1,03	0,98	1,08
<b>Liczba figur podziału na 1 mm<sup>2</sup></b>		0,02	0,02	1,36	0,244	1,02	0,99	1,06
<b>Najmniejszy margines obwodowy [mm]</b>		-0,01	0,02	0,40	0,527	0,99	0,94	1,03
<b>Wynik histopatologiczny zmiany pierwotnej</b>	szpital rejonowy	Ref.						
	DCOPIH	0,07	0,14	0,26	0,612	1,15	0,66	2,01
<b>Faza wzrostu</b>		Ref.						
	horyzontalna	-0,06	0,09	0,54	0,462	0,88	0,63	1,24
<b>Ogniska satelitarne</b>	nie	Ref.						
	tak	0,06	0,18	0,11	0,745	1,29	0,78	2,14
	brak oceny	0,14	0,18	0,63	0,429	1,41	0,85	2,33
<b>Obecność owrzodzenia zmiany pierwotnej</b>	nieobecne							
	obecne	0,05	0,10	0,29	0,589	1,11	0,75	1,64
<b>Obecność i nasilenie nacieku limfocytarnego</b>	nieobecne							
	średnioobfite TILs non brisk	-0,27	0,15	3,25	0,071	0,63	0,37	1,09
	obfite TILs brisk	0,09	0,29	0,09	0,768	1,09	0,45	2,61
	brak oceny	0,18	0,16	1,34	0,247	1,20	0,70	2,07
<b>Naciekanie naczyń chłonnych</b>	nie							
	tak	0,37	0,14	6,54	<b>0,011</b>	1,87	1,24	2,83
	brak oceny	-0,11	0,16	0,44	0,505	1,17	0,73	1,87
<b>Naciekanie naczyń krwionośnych</b>	nie							
	tak	0,43	0,14	9,03	<b>0,003</b>	2,08	1,38	3,13
	brak oceny	-0,12	0,16	0,62	0,432	1,20	0,74	1,92
<b>Naciekanie pni nerwowych</b>	nieobecne							
	obecne	0,35	0,19	3,55	0,060	1,76	1,04	3,00
	brak oceny	-0,14	0,17	0,61	0,435	1,08	0,67	1,75

HR – hazard względny; PU – przedział ufności

#### 4.9.3 Wpływ czynników, określonych w badaniu histopatologicznym biopsji węzła wartowniczego, na czas przeżycia całkowitego

Tabela 24 przedstawia wpływ cech, określonych w wyniku histopatologicznym biopsji węzła wartowniczego, na przeżycie. Wraz ze wzrostem ilości zajętych węzłów chłonnych wartowniczych wzrasta ryzyko zgonu (HR=1,43; p=0,013). W analizie nie potwierdzono wpływu innych badanych parametrów (tabela 24).

**Tabela 24.** Ocena wpływu czynników określonych w wyniku histopatologicznym biopsji węzła wartowniczego na śmiertelność (regresja proporcjonalnego hazardu Coxa, model jednoczynnikowy).

	Beta	Błąd standardowy	Chi-kwadrat	Wartość p	HR	95%PU HR (dolny)	95%PU HR (górnny)
Ilość zajętych węzłów wartowniczych	0,36	0,14	6,24	<b>0,013</b>	1,43	1,08	1,90
Grubość nacieku węzła wartowniczego [mm]	0,02	0,04	0,17	0,677	1,02	0,95	1,09
SLNB	Nie	Ref.					
	Tak	0,03	0,09	0,09	0,770	1,05	0,75
Naciek na torebkę węzła wartowniczego	Nie	Ref.					
	Tak	0,07	0,27	0,06	0,799	1,14	0,40

**HR – hazard względny; PU – przedział ufności;**

#### 4.9.4 Ocena wpływu parametrów morfotycznych oraz odpowiedzi na pierwszą linię leczenia na czas przeżycia całkowitego

Przeanalizowano wpływ parametrów układu leukocytnego oraz rodzaju zastosowanej pierwszej linii leczenia a także osiągniętej odpowiedzi na czas przeżycia całkowitego (tabela 25). Pacjenci z wyższą bezwzględną liczbą neutrofilii obciążeni byli zwiększonym ryzykiem zgonu (HR=1,07; p<0,001). Zwiększone ryzyko śmierci związane było także z wyższą wartością wskaźnika NLR na wysokości pierwszego kursu (HR=1,06; p=0,001), drugiego kursu (HR=1,07; p=0,011), po trzech miesiącach terapii (HR=1,15; p=0,003) oraz przy progresji choroby (HR=1,06; p<0,001) (tabela 25). Pacjenci, którzy osiągnęli stabilizację lub regresję choroby charakteryzowali się zwiększonym ryzykiem zgonu w porównaniu do chorych, którzy uzyskali całkowitą remisję, odpowiednio (HR=14,16; p=0,040) oraz (HR 17,86; p<0,001). Natomiast dłuższy czas trwania 1. linii (HR=0,997; p<0,001), związana z tym większa ilość cykli w 1. linii (HR=0,91; p<0,001)

wpływała na zmniejszenie ryzyka śmierci. W analizie nie potwierdzono takiego wpływu innych badanych parametrów (tabela 25).

**Tabela 25.** Ocena wpływu wyników analizowanych parametrów układu leukocytarnego oraz rodzaju 1 linii leczenia na śmiertelność (regresja proporcjonalnego hazardu Coxa, model jednoczynnikowy).

	Beta	Błąd standardowy	Chi-kwadrat	Wartość p	HR	95%PU HR (dolny)	95%PU HR (górnny)
<b>Bezwzględna liczba neutrofilii ANC (10<sup>3</sup>/μl)</b>	0,07	0,02	18,93	<b>&lt;0,001</b>	1,07	1,04	1,10
<b>Bezwzględna liczba limfocytów ALC (10<sup>3</sup>/μl)</b>	0,07	0,15	0,25	0,618	1,08	0,81	1,43
<b>NLR – 1 kurs</b>	0,06	0,02	10,43	<b>0,001</b>	1,06	1,02	1,10
<b>NLR – 2 kurs</b>	0,07	0,03	6,54	<b>0,011</b>	1,07	1,02	1,14
<b>NLR – 3 kurs</b>	0,04	0,04	0,79	0,373	1,04	0,96	1,12
<b>NLR po 3 miesiącach</b>	0,14	0,05	8,98	<b>0,003</b>	1,15	1,05	1,26
<b>NLR przy progresji</b>	0,06	0,02	12,68	<b>&lt;0,001</b>	1,06	1,03	1,09
<b>Czas trwania 1 linii [dni]</b>	-0,003	0,001	30,559	<b>&lt;0,001</b>	0,997	0,996	0,998
<b>Ilość cykli w 1 linii</b>	-0,10	0,01	48,57	<b>&lt;0,001</b>	0,91	0,88	0,93
<b>Grupa leków</b>	Ref.						
iBRAF	0,08	0,15	0,29	0,587	1,15	0,72	1,83
iBRAF+iMEK	-0,02	0,13	0,03	0,860	1,04	0,70	1,53
<b>Rodzaj terapii</b>	Ref.						
terapia celowana	Ref.						
immunoterapia	-0,04	0,09	0,18	0,669	0,93	0,66	1,30
<b>Leki</b>	Ref.						
niwolumab	-0,10	0,18	0,31	0,579	0,82	0,38	1,78
pembrolizumab	0,00	0,16	0,00	0,989	1,00	0,45	2,21
wemurafenib	0,11	0,22	0,23	0,629	1,12	0,46	2,76
wemurafenib+kobimetynib	0,01	0,22	0,00	0,965	1,10	0,58	2,06
dabrafenib	0,07	0,32	0,04	0,833	1,16	0,50	2,72
<b>BOR</b>	Ref.						
CR	Ref.						
PR	0,13	0,21	0,37	0,545	2,77	1,07	7,18
SD	0,76	0,37	4,22	<b>0,040</b>	14,16	3,34	60,03
PD	1,00	0,21	23,04	<b>&lt;0,001</b>	17,86	5,58	57,13
<b>PD na 1 linię</b>	Ref.						
nie	Ref.						
tak	0,98	0,20	25,22	<b>&lt;0,001</b>	7,13	3,31	15,35

**HR – hazard względny; PU – przedział ufności;  
CR – całkowita remisja, PR częściowa remisja, SD stabilizacja; PD, progresja choroby; BOR – best objective response (najlepsza obiektywna odpowiedź)**

## 4.10 Wpływ poszczególnych parametrów na czas wolny od progresji w grupie badanej – analiza Coxa

### 4.10.1 Wpływ czynników charakteryzujących grupę na czas wolny od progresji

Do oceny wpływu badanych zmiennych na czas wolny od progresji wykorzystano analizę regresji proporcjonalnego hazardu Coxa (model jednoczynnikowy oraz wieloczynnikowy). Wyniki zmiennych w modelach jednoczynnikowych zostały przedstawione w tabelach 22, 23, 24. Osoby w stanie sprawności gorszym (ECOG 2) mają prawie dwukrotnie zwiększone ryzyko progresji (HR=1,96; p=0,016), względem osób w stanie ogólnym dobrym (ECOG 1). W analizie pozostałe zmienne nie uzyskały istotności statystycznej (tabela 26). Uwagę zwraca dwukrotnie zwiększone ryzyko progresji wśród chorych z wartością LDH w surowicy krwi pomiędzy 2 a 5 razy wyższą od górnej granicy normy. Pacjenci z przerzutami do wątroby, ośrodkowego układu nerwowego oraz do innych lokalizacji (czyli zmiany umiejscowione w innych narządach niż: skóra, tkanka podskórna, pozaregionalne węzły chłonne, płuca, wątroba, ośrodkowy układ nerwowy) posiadali większe ryzyko progresji, odpowiednio (HR=1,2; p=0,3), (HR=1,19; p=0,3), (HR=1,27; p=0,17), ale bez istotności statystycznej (tabela 26).

**Tabela 26.** Ocena wpływu zmiennych charakteryzujących grupę na progresję (regresja proporcjonalnego hazardu Coxa, model jednoczynnikowy).

		Beta	Błąd standardowy	Chi-kwadrat	Wartość p	HR	95%PU HR (dolny)	95%PU HR (górny)
<b>Wiek</b>		0,00	0,01	0,37	0,544	1,00	0,99	1,02
<b>Ilość lokalizacji przerzutów</b>		0,09	0,07	1,60	0,206	1,09	0,95	1,26
<b>Płeć</b>	K	Ref.						
	M	- 0,04	0,09	0,23	0,634	0,92	0,65	1,30
<b>Stan sprawności ECOG</b>	1	Ref.						
	2	0,34	0,14	5,78	<b>0,016</b>	1,96	1,13	3,38
<b>Mutacja BRAF</b>	nieobecna	Ref.						
	obecna	- 0,01	0,09	0,01	0,930	0,99	0,71	1,38
	w normie	Ref.						
<b>LDH ratio grupy</b>	< 2xGGN	- 0,04	0,20	0,03	0,852	1,19	0,50	2,86
	2-5xGGN	0,25	0,24	1,09	0,296	1,78	1,03	3,09
	>5xGGN	0,12	0,39	0,09	0,759	1,57	0,57	4,29

**Tabela 26 (c.d.).** Ocena wpływu zmiennych charakteryzujących grupę na progresję (regresja proporcjonalnego hazardu Coxa, model jednoczynnikowy).

		Beta	Błąd standardowy	Chi-kwadrat	Wartość p	HR	95%PU HR (dolny)	95%PU HR (górnny)
<b>Lokalizacja zmiany pierwotnej</b>	skóra	Ref.						
	błony śluzowe	-	0,51	1,98	0,159	0,34	0,08	1,37
	FPI	0,35	0,45	0,61	0,436	0,99	0,31	3,11
<b>Przerzuty do skóry</b>	nie	Ref.						
	tak	0,02	0,09	0,07	0,789	1,05	0,73	1,51
<b>Przerzuty do tkanki podskórnej</b>	nie	Ref.						
	tak	-	0,09	2,06	0,151	0,77	0,53	1,10
<b>Przerzuty do węzłów chłonnych</b>	nie	Ref.						
	tak	-	0,09	0,01	0,939	0,99	0,70	1,39
<b>Przerzuty do płuc</b>	nie	Ref.						
	tak	-	0,09	0,12	0,729	0,94	0,67	1,32
<b>Przerzuty do wątroby</b>	nie	Ref.						
	tak	0,09	0,09	1,07	0,300	1,20	0,85	1,70
<b>Przerzuty do OUN</b>	nie	Ref.						
	tak	0,09	0,09	1,03	0,309	1,19	0,85	1,68
<b>Przerzuty do innych lokalizacji</b>	nie	Ref.						
	tak	0,12	0,09	1,89	0,170	1,27	0,90	1,78
<b>Stadium zaawansowania</b>	III nieresekcyjny	Ref.						
	IVA	0,08	0,28	0,09	0,765	0,93	0,24	3,68
	IVB	-	0,25	0,90	0,342	0,79	0,15	4,08
	IVC	0,16	0,25	0,42	0,518	1,44	0,20	10,56
	IVD	0,20	0,24	0,71	0,399	1,50	0,21	10,89

HR – hazard względny; PU – przedział ufności

#### 4.10.2 Wpływ czynników, określonych w badaniu histopatologicznym usunięcia zmiany pierwotnej, na czas wolny od progresji

Korelację istotną statystycznie z ryzykiem progresji wykazywały: większa liczba figur podziału, obecność naciekania naczyń chłonnych oraz naczyń krwionośnych. W analizie nie potwierdzono takiego wpływu innych badanych parametrów (tabela 27). Zaobserwowano wzrost ryzyka progresji wraz ze wzrostem ilości figur podziału (HR=1,05; 95% CI: 1,01-1,10; p=0,009). Zarówno naciekanie naczyń chłonnych jak i naczyń



krwionośnych prawie dwukrotnie zwiększało ryzyko progresji, odpowiednio (HR 1,84; 95% CI: 1,21-2,82; p=0,020) oraz (HR 1,94; 95% CI: 1,28-2,95; p=0,010).

**Tabela 27.** Ocena wpływu czynników określonych w wyniku histopatologicznym usunięcia zmiany pierwotnej na progresję (regresja proporcjonalnego hazardu Coxa, model jednoczynnikowy).

		Beta	Błąd standardowy	Chi-kwadrat	Wartość p	HR	95%PU HR (dolny)	95%PU HR (górnny)
<b>Grubość nacieku według Breslowa [mm]</b>		0,04	0,03	2,30	0,129	1,04	0,99	1,10
<b>Liczba figur podziału na 1 mm<sup>2</sup></b>		0,05	0,02	6,79	<b>0,009</b>	1,05	1,01	1,10
<b>Najmniejszy margines obwodowy [mm]</b>		0,00	0,02	0,02	0,896	1,00	0,96	1,03
<b>Wynik histopatologiczny zmiany pierwotnej</b>	szpital rejonowy	Ref.						
	DCOPiH	0,11	0,14	0,64	0,425	1,25	0,72	2,19
<b>Faza wzrostu</b>		Ref.						
	horyzontalna	-0,16	0,08	3,55	0,060	0,73	0,52	1,01
<b>Ogniska satelitarne</b>	nie	Ref.						
	tak	0,03	0,17	0,03	0,857	1,14	0,71	1,82
	brak oceny	0,07	0,18	0,13	0,714	1,18	0,70	1,97
<b>Obecność owrzodzenia zmiany pierwotnej</b>	nieobecne							
	obecne	0,03	0,10	0,08	0,773	1,06	0,73	1,54
<b>Obecność i nasilenie nacieku limfocytarnego</b>	nieobecne							
	średnioobfite TILs non brisk	-0,10	0,15	0,48	0,490	0,68	0,40	1,16
	obfite TILs brisk	-0,18	0,29	0,37	0,541	0,75	0,31	1,78
	brak oceny	0,17	0,16	1,09	0,296	1,06	0,62	1,82
<b>Naciekanie naczyń chłonnych</b>	nie							
	tak	0,34	0,15	5,44	<b>0,020</b>	1,84	1,21	2,82
	brak oceny	-0,07	0,15	0,19	0,666	1,23	0,79	1,93
<b>Naciekanie naczyń krwionośnych</b>	nie							
	tak	0,37	0,14	6,61	<b>0,010</b>	1,94	1,28	2,95
	brak oceny	-0,07	0,15	0,22	0,640	1,25	0,80	1,96
<b>Naciekania pni nerwowych</b>	nieobecne							
	obecne	0,18	0,18	1,02	0,314	1,40	0,83	2,36
	brak oceny	-0,03	0,16	0,03	0,870	1,14	0,72	1,79

HR – hazard względny; PU – przedział ufności; DCOPiH – Dolnośląskie Centrum Onkologii, Pulmonologii i Hematologii

#### 4.10.3 Wpływ czynników, określonych w badaniu histopatologicznym biopsji węzła wartowniczego, na czas wolny od progresji

Tabela 28 przedstawia wpływ parametrów, określonych w wyniku histopatologicznym biopsji węzła wartowniczego, na progresję. Wyniki nie były istotne statystycznie.

**Tabela 28.** Ocena wpływu cech określonych w wyniku histopatologicznym biopsji węzła wartowniczego na progresję (regresja proporcjonalnego hazardu Coxa, model jednoczynnikowy).

	Beta	Błąd standardowy	Chi-kwadrat	Wartość p	HR	95%PU HR (dolny)	95%PU HR (górnny)
Ilość zajętych węzłów wartowniczych	0,11	0,13	0,70	0,404	1,12	0,86	1,45
Grubość nacieku węzła wartowniczego [mm]	0,00	0,04	0,01	0,909	1,00	0,93	1,09
SNLB	Nie	Ref.					
	Tak	- 0,03	0,09	0,15	0,700	0,94	0,67 1,31
Naciek na torebkę węzła wartowniczego	Nie	Ref.					
	Tak	- 0,57	0,47	1,47	0,225	1,10	0,42 2,88

HR – hazard względny; PU – przedział ufności;

#### 4.10.4 Wpływ parametrów morfotycznych oraz rodzaju zastosowanej pierwszej linii leczenia na czas wolny od progresji

Wśród przeanalizowanych danych istotną statystycznie korelację z czasem wolnym od progresji wykazywały: wyższa bezwzględna liczba neutrofilii, wyższa wartość NLR na wysokości drugiego kursu oraz po trzech miesiącach terapii, większa ilość cykli w pierwszej linii terapii (tabela 29).

Wyższa bezwzględna wartość neutrofilii wiązała się ze zwiększonym ryzykiem progresji choroby (HR=1,05; 95% CI: 1,01-1,10; p=0,021). Ryzyko progresji wzrastało przy wyższych wartościach wskaźnika neutrofilowo-limfocytarnego na wysokości 2 kursu (HR=1,11; 95% CI: 1,04-1,19; p=0,003) oraz po 3 miesiącach terapii (HR=1,23; 95% CI: 1,13-1,35; p<0,001).

Większa ilość cykli w 1. linii (HR=0,90; 95% CI: 0,88-0,92; p<0,001) wpływała na zmniejszenie ryzyka progresji. W analizie nie potwierdzono takiego wpływu innych badanych parametrów (tabela 29).

**Tabela 29.** Ocena wpływu analizowanych parametrów układu leukocytarnego oraz zastosowanej 1 linii leczenia na progresję (regresja proporcjonalnego hazardu Coxa, model jednoczynnikowy).

	Beta	Błąd standardowy	Chi-kwadrat	Wartość p	HR	95%PU HR (dolny)	95%PU HR (górnny)	
Bezwzględna liczba neutrofilii ANC (10 <sup>3</sup> /μl)	0,05	0,02	5,33	<b>0,021</b>	1,05	1,01	1,10	
Bezwzględna liczba limfocytów ALC (10 <sup>3</sup> /μl)	0,12	0,14	0,75	0,387	1,13	0,86	1,49	
NLR – 1 kurs	0,02	0,02	0,81	0,368	1,02	0,98	1,06	
NLR – 2 kurs	0,10	0,03	9,08	<b>0,003</b>	1,11	1,04	1,19	
NLR – 3 kurs	0,00	0,04	0,00	0,983	1,00	0,92	1,08	
NLR po 3 miesiącach	0,21	0,05	20,03	<b>&lt;0,001</b>	1,23	1,13	1,35	
NLR przy progresji	0,03	0,02	2,54	0,111	1,03	0,99	1,06	
Czas trwania 1 linii [dni]	0,00	0,00	47,80	<b>&lt;0,001</b>	1,00	0,99	1,00	
Ilość cykli w 1 linii	- 0,11	0,01	64,06	<b>&lt;0,001</b>	0,90	0,88	0,92	
	Ref.							
Grupa leków	iBRAF	0,05	0,15	0,11	0,746	1,06	0,67	1,68
	iBRAF+iMEK	- 0,03	0,12	0,07	0,791	0,98	0,67	1,43
Rodzaj terapii	terapia celowana	Ref.						
	immunoterapia	0,00	0,09	0,00	0,957	0,99	0,71	1,38
		Ref.						
Leki	niwolumab	0,10	0,17	0,36	0,550	1,06	0,50	2,22
	pembrolizumab	- 0,15	0,16	0,82	0,365	0,76	0,36	1,63
	wemurafenib	- 0,07	0,21	0,11	0,736	0,85	0,36	1,96
	wemurafenib+cobimetynib	0,02	0,21	0,01	0,908	1,14	0,63	2,06
	dabrafenib	0,20	0,29	0,48	0,491	1,36	0,63	2,90

**HR – hazard względny; PU – przedział ufności;**

## 4.11 Analiza czasu przeżycia całkowitego oraz czasu wolnego od progresji w zależności od wybranych parametrów

### 4.11.1 Analiza czasu przeżycia całkowitego w zależności od zastosowanego leku w pierwszej linii

Przedstawiono statystyki opisowe dla czasu przeżycia z uwzględnieniem wystąpienia zgonu i uciętych obserwacji dla poszczególnych leków (tabela 30). Mediana czasu od początku leczenia do ostatniej obserwacji u osób, u których zastosowano niwolumab wyniosła 305,0 dni (średnio 601,2 dni; SD=531,9 dnia). Zgon nastąpił u 30 badanych (73%). Mediana czasu od początku leczenia do ostatniej obserwacji u osób, u których zastosowano pembrolizumab wyniosła 353,5 dnia (średnio 556,4 dnia; SD=475,9 dnia). Zgon dotyczył 40 badanych (80%). Mediana czasu od początku leczenia do ostatniej obserwacji u osób leczonych wemurafenibem wyniosła 341,0 dni (średnio 651,1 dnia; SD=725,8 dnia). Zgon nastąpił u 18 badanych (86%). Mediana czasu od początku leczenia do ostatniej obserwacji wśród chorych leczonych wemurafenibem i kobimetynibem wyniosła 332,5 dnia (średnio 516,7 dnia; SD=435,1 dnia) a zgon nastąpił u 17 badanych (77%). Mediana czasu od początku leczenia do ostatniej obserwacji osób leczonych dabrafenibem wyniosła 270,0 dni (średnio 567,6 dnia; SD=633,7 dnia). Zgon dotyczył 7 badanych (78%). Mediana czasu od początku leczenia do ostatniej obserwacji u osób, u których zastosowano dabrafenib i trametynib wyniosła 388,0 dni (średnio 591,9 dnia; SD=499,4 dnia). Zgon wystąpił u 22 badanych (76%) (tabela 30).

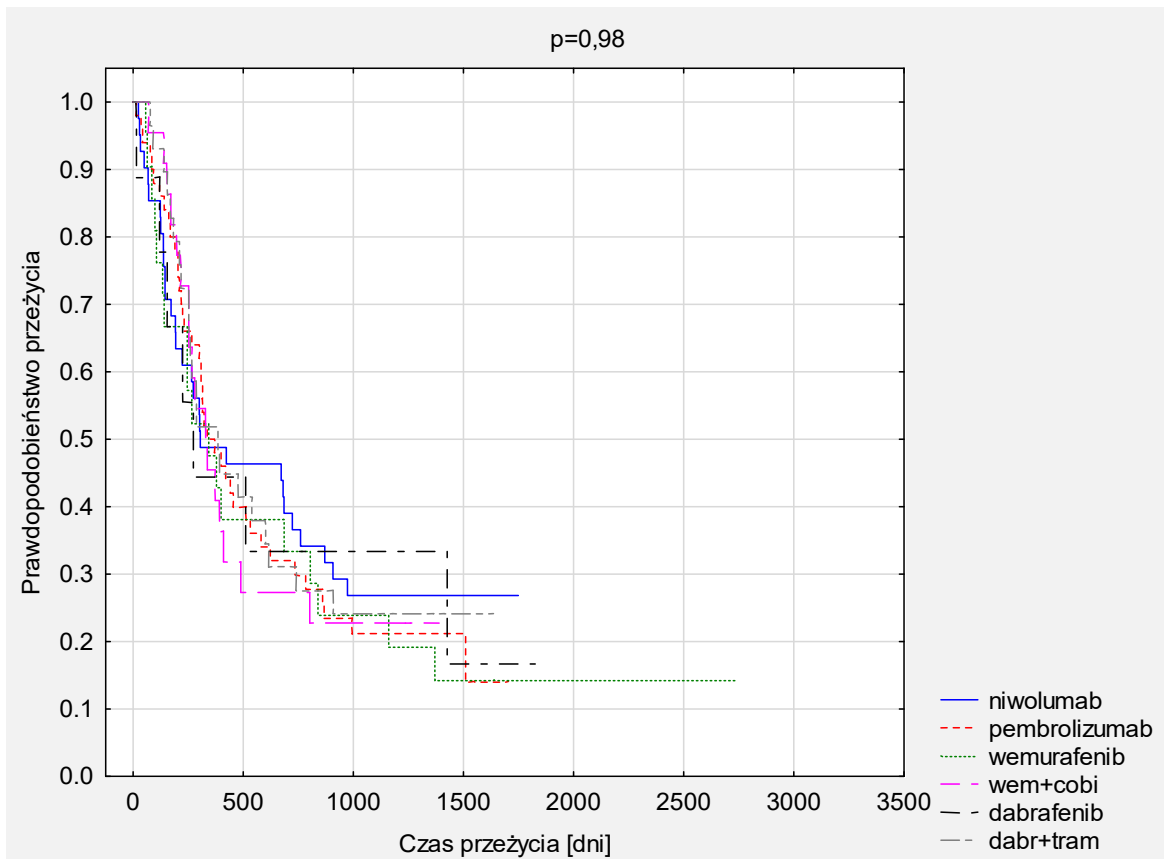
**Tabela 30.** Czas przeżycia [dni] w zależności od zastosowanego leku.

	Me	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	Zgon	Ucięte obserwacje	n
<b>Niwolumab</b>	305,0	601,2	531,9	24	1749	30 (73,2%)	11 (26,8%)	41
<b>Pembrolizumab</b>	353,5	556,4	475,9	12	1704	40 (80,0%)	10 (20,0%)	50
<b>Wemurafenib</b>	341,0	651,1	725,8	56	2739	18 (85,7%)	3 (14,3%)	21
<b>Wemurafenib+kobimetynib</b>	332,5	516,7	435,1	68	1389	17 (77,3%)	5 (22,7%)	22
<b>Dabrafenib</b>	270,0	567,6	633,7	12	1826	7 (77,8%)	2 (22,2%)	9
<b>Dabrafenib+trametynib</b>	388,0	591,9	499,4	75	1636	22 (75,9%)	7 (24,1%)	29

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób

Analizę prawdopodobieństwa przeżycia w zależności od zastosowanych leków przedstawiono na krzywych przeżycia Kaplana-Meiera (rycina 8). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic czasu przeżycia w zależności od poszczególnych leków.

**Rycina 8.** Krzywa Kaplana-Meiera ukazująca czas przeżycia (OS) dla poszczególnych leków.



#### 4.11.2 Analiza czasu wolnego od progresji choroby w zależności od zastosowanego leku w pierwszej linii

Najdłuższy czas wolny od progresji odnotowano wśród chorych leczonych dabrafenibem oraz trametynibem (tabela 31). Mediana czasu wolnego od progresji u osób, u których zastosowano niwolumab wynosiła 104,0 dni (średnio 234,5 dnia; SD=318,6 dnia). Wśród chorych leczonych pembrolizumabem mediana czasu wolnego od progresji wyniosła 124,0 dni (średnio 306,5 dnia; SD=391,2 dnia). Mediana czasu wolnego od progresji chorych leczonych wemurafenibem wynosiła 176,0 dni (średnio 241,4 dnia; SD=212,3 dnia). Wśród pacjentów leczonych wemurafenibem oraz kobimetynibem mediana czasu do stwierdzenia progresji wynosiła 146 dni (średnio 250,2 dnia; SD=285,7 dnia). W przypadku

pacjentów leczonych dabrafenibem mediana czasu wolnego od progresji to 151,0 dni (średnio 167,3 dnia; SD=96,8 dnia). Natomiast mediana czasu wolnego od progresji u osób leczonych dabrafenibem i tramety nibem wyniosła 192,5 dnia (średnio 256,1 dnia; SD=209,6 dnia) (tabela 31).

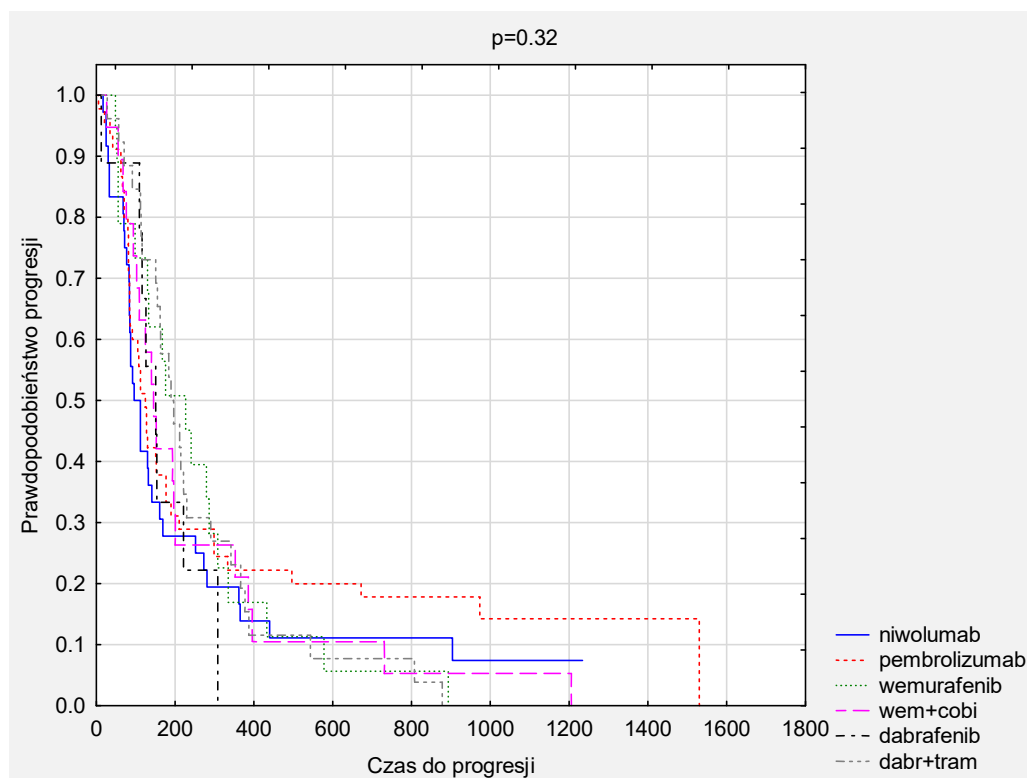
**Tabela 31.** Czas wolny od progresji [dni] w zależności od zastosowanego leku.

	Me	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	Progresja	Ucięte obserwacje	n
<b>Niwolumab</b>	104,0	234,5	318,6	17	1234	33 (73,2%)	3 (26,8%)	36
<b>Pembrolizumab</b>	124,0	306,5	391,2	6	1531	39 (80,0%)	6 (20,0%)	45
<b>Wemurafenib</b>	176,0	241,4	212,3	49	893	18 (85,7%)	1 (14,3%)	19
<b>Wemurafenib+kobimety nib</b>	146,0	250,2	285,7	26	1206	19 (77,3%)	0 (0 %)	19
<b>Dabrafenib</b>	151,0	167,3	96,8	12	309	9 (77,8%)	0 (0 %)	9
<b>Dabrafenib+tramety nib</b>	192,5	256,1	209,6	28	878	26 (75,9%)	0 (0 %)	26

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób

Porównanie prawdopodobieństwa progresji w zależności od zastosowanych leków przedstawiono na krzywych przeżycia Kaplana-Meiera (rycina 9). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic czasu wolnego od progresji w zależności od zastosowanych leków.

**Rycina 9.** Porównanie krzywych Kaplana-Meiera ukazująca czas wolny od progresji (PFS) dla poszczególnych leków.



#### 4.11.3 Analiza parametrów układu leukocytarnego pod względem wystąpienia zgonu

Nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie, analizując parametry układu leukocytarnego pod względem wystąpienia zgonu ( $p > 0,05$ ) (tabela 32). Średnia bezwzględna liczba neutrofilów oraz limfocytów wśród pacjentów, u których stwierdzono zgon wynosiła odpowiednio  $6,2 \times 10^3/\mu\text{l}$  oraz  $1,7 \times 10^3/\mu\text{l}$  natomiast u pacjentów, wśród których zgon nie wystąpił  $4,8 \times 10^3/\mu\text{l}$  oraz  $1,7 \times 10^3/\mu\text{l}$  ( $p = 0,069$ ). Wartości NLR były porównywalne w dwóch podgrupach. Nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie (tabela 32).

**Tabela 32.** Porównanie wyników analizowanych parametrów układu leukocytarnego pod względem wystąpienia zgonu.

Zmienna	Zgon															Wartość p*
	Tak							Nie								
	$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD	$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD		
Bezwzględna liczba neutrofilii ANC ( $10^3/\mu\text{l}$ )	6,2	4,9	1,9	37,2	3,8	7,4	4,3	4,8	4,5	2,2	10,3	3,2	6,2	2,1	0,069	
Bezwzględna liczba limfocytów ALC ( $10^3/\mu\text{l}$ )	1,7	1,6	0,5	3,9	1,2	2,1	0,7	1,7	1,5	0,7	3,3	1,3	2,0	0,6	0,773	
NLR – 1 kurs	4,4	3,4	1,1	26,7	2,1	4,7	4,1	3,2	2,6	1,4	9,9	1,9	3,8	1,8	0,111	
NLR – 2 kurs	3,6	2,8	0,6	30,6	1,9	4,1	3,3	3,2	2,4	0,7	17,1	1,5	3,2	2,9	0,156	
NLR – 3 kurs	3,3	2,7	0,3	13,0	2,0	4,0	2,1	3,1	2,5	0,6	10,2	1,6	4,2	2,2	0,483	
NLR po 3 miesiącach	3,3	2,6	0,1	10,6	1,9	4,2	2,1	2,8	2,7	0,9	8,2	1,5	3,7	1,7	0,265	
NLR przy progresji	5,1	4,2	1,4	31,0	2,7	6,2	4,3	3,8	2,8	1,1	11,3	2,3	4,1	2,6	0,061	

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; Q1 – kwartył pierwszy; Q3 – kwartył trzeci; Min – wartość minimalna; Max – wartość maksymalna; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób; % - procent osób; \*test U Manna-Whitneya; NLR – wskaźnik neutrofilowo-leukocytarny

#### 4.11.4 Analiza parametrów układu leukocytarnego pod względem wystąpienia progresji

Analizując parametry układu leukocytarnego pod względem wystąpienia progresji nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie ( $p > 0,05$ ) (tabela 33).

**Tabela 33.** Porównanie wyników analizowanych parametrów układu leukocytarnego pod względem wystąpienia progresji.

Zmienna	Progresja															Wartość p*
	Tak							Nie								
	$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD	$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD		
Bezwzględna liczba neutrofilii ANC ( $10^3/\mu\text{l}$ )	6,1	4,8	1,9	37,2	3,5	7,3	4,2	5,1	4,4	2,1	11,2	3,2	6,3	2,5	0,243	
Bezwzględna liczba limfocytów ALC ( $10^3/\mu\text{l}$ )	1,7	1,6	0,5	3,9	1,2	2,1	0,7	1,8	1,6	0,7	3,2	1,3	2,1	0,7	0,709	
NLR – 1 kurs	4,3	3,1	1,2	26,7	2,1	4,7	4,0	3,2	2,7	1,1	9,9	2,0	4,0	1,9	0,267	
NLR – 2 kurs	3,6	2,7	0,6	30,6	2,0	4,1	3,3	3,1	2,2	0,8	17,1	1,4	3,9	3,1	0,114	
NLR – 3 kurs	3,3	2,7	0,3	13,0	2,0	4,1	2,1	3,1	2,3	0,9	10,2	1,4	3,9	2,4	0,209	



**Tabela 33 (c.d.).** Porównanie wyników analizowanych parametrów układu leukocytarnego pod względem wystąpienia progresji.

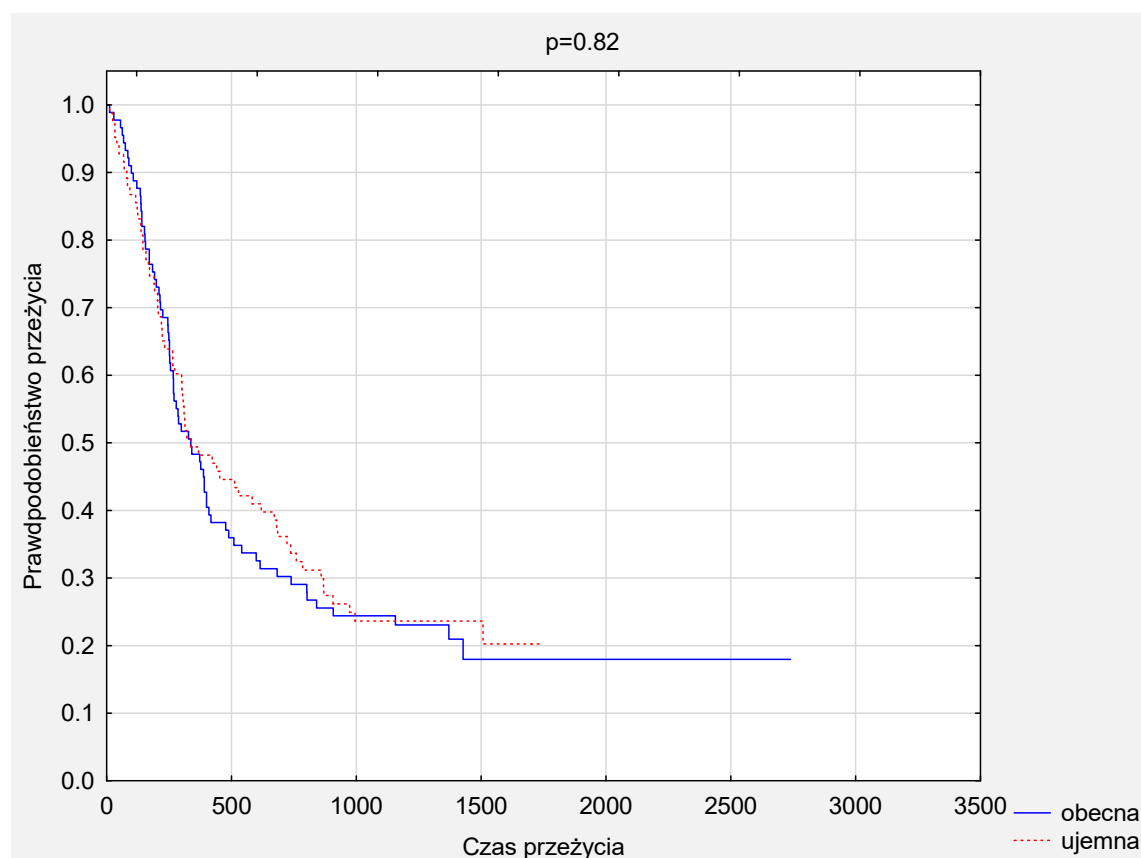
Zmienna	Progresja														Wartość p*
	Tak							Nie							
	$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD	$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD	
NLR po 3 miesiącach	3,4	2,6	0,6	10,6	1,8	4,5	2,0	2,6	2,6	0,1	8,2	1,4	3,3	1,6	0,091
NLR przy progresji	5,0	4,1	1,1	31,0	2,6	5,9	4,2	4,4	3,6	2,6	7,1	2,6	7,1	2,3	0,995

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; Q1 – kwartył pierwszy; Q3 – kwartył trzeci; Min – wartość minimalna; Max – wartość maksymalna; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób; % – procent osób; \*test U Manna-Whitneya; NLR – wskaźnik neutrofilowo-limfocytarny

#### 4.11.5 Porównanie prawdopodobieństwa przeżycia w zależności od statusu mutacji *BRAF*

Porównanie prawdopodobieństwa przeżycia w zależności od statusu mutacji *BRAF* przedstawiono na krzywych przeżycia Kaplana-Meiera (rycina 10). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic czasu przeżycia w zależności od statusu mutacji *BRAF* ( $p=0.08$ ).

**Rycina 10.** Porównanie krzywych przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od statusu mutacji *BRAF*.



Mediana czasu przeżycia wśród osób z niepotwierdzoną mutacją *BRAF* wyniosła 338,0 dni (średnio 583,7 dnia; SD=502,2 dnia). Zgon wystąpił u 64 (77%) badanych. Mediana czasu przeżycia u osób z dodatnim statusem mutacji *BRAF* wyniosła 337 dni (średnio 576,9 dnia; SD=550,7 dnia). Zgon odnotowano u 70 (79%) badanych (tabela 34).

**Tabela 34.** Czas do zgonu [dni] w zależności od statusu mutacji *BRAF*.

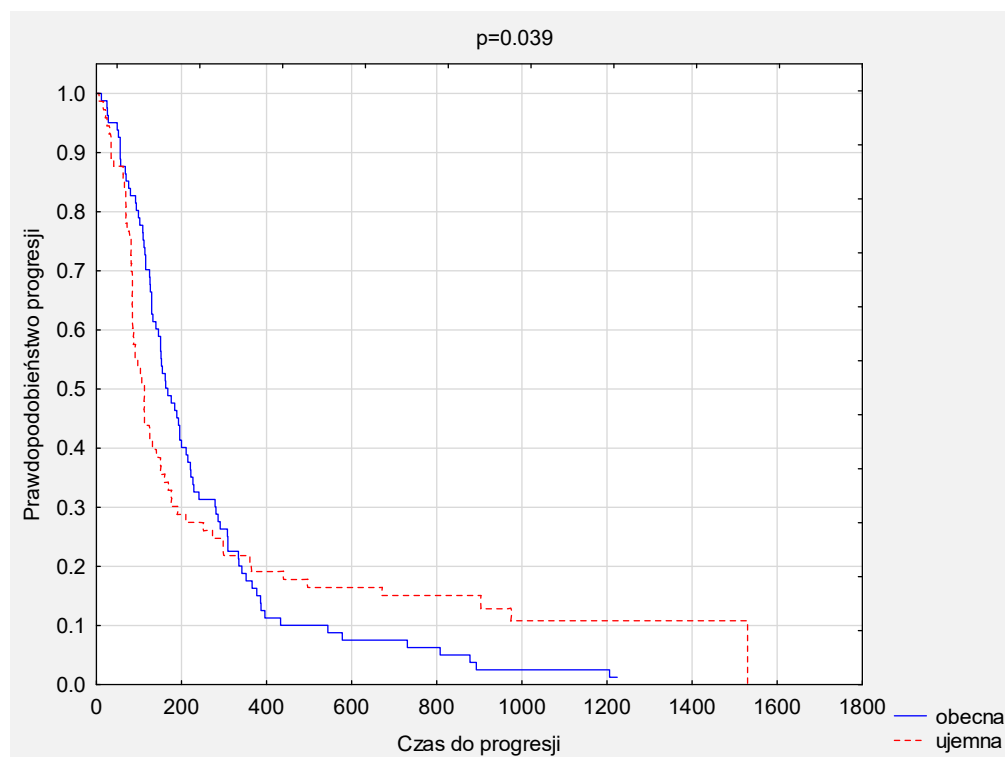
Mutacja <i>BRAF</i>	Grupa badana							
	Me	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	Zgon	Ucięte obserwacje	n
Obecna	337	576,9	550,7	12	2739	70 (79%)	19 (21%)	89
Ujemna	338	583,7	502,2	12	1749	64 (77%)	19 (23%)	83

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób

#### 4.11.6 Porównanie prawdopodobieństwa progresji w zależności od statusu mutacji *BRAF*

Porównanie prawdopodobieństwa progresji w zależności od statusu *BRAF* przedstawiono na krzywych przeżycia Kaplana-Meiera (rycina 11). Wykazano istotne statystycznie różnice czasu do progresji w zależności od statusu mutacji *BRAF* ( $p=0.039$ ).

**Rycina 11.** Porównanie czasu do progresji w zależności od statusu mutacji *BRAF*.



Mediana czasu do progresji u osób, u których stwierdzono występowanie mutacji *BRAF*, wyniosła 163 dni (średnio 244,9 dni; SD=239,7 dni). Mediana czasu do progresji u chorych z ujemnym statusem mutacji *BRAF* wyniosła 112 dni (średnio 272,6 dnia; SD=359,8 dnia) (tabela 35).

**Tabela 35.** Czas do progresji [dni] w zależności od statusu mutacji BRAF.

Mutacja BRAF	Grupa badana							
	Me	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	Progresja	Ucięte obserwacje	n
Obecna	163	244,9	239,7	12	1224	79 (89 %)	2 (11%)	81
Ujemna	112	272,6	359,8	6	1531	65 (78 %)	8 (22 %)	73

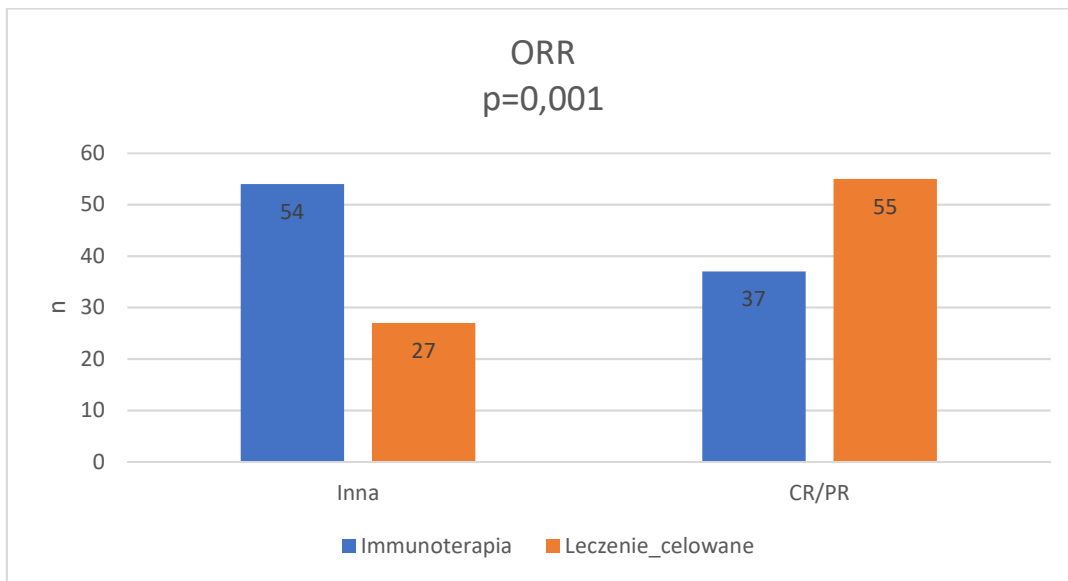
$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób

## 4.12 Analiza porównawcza odsetka obiektywnych odpowiedzi w zależności od wybranych parametrów

### 4.12.1 Analiza porównawcza odsetka obiektywnych odpowiedzi w zależności od rodzaju leczenia

Porównanie odsetka obiektywnych odpowiedzi (ORR) w zależności od rodzaju leczenia przedstawiono na rycinie 11. Odpowiedź częściowa lub całkowita wystąpiła u 55 osób (60%) poddanych leczeniu celowanemu i u 37 osób (40%) poddanych immunoterapii. Stabilizacja lub progresja (na wykresie zmienna „inna”) dotyczyła 27 osób (33%) poddanych leczeniu celowanemu i 54 osób (67%) poddanych immunoterapii. Wyniki różnią się istotnie statystycznie ( $p < 0,05$ ) (rycina 12).

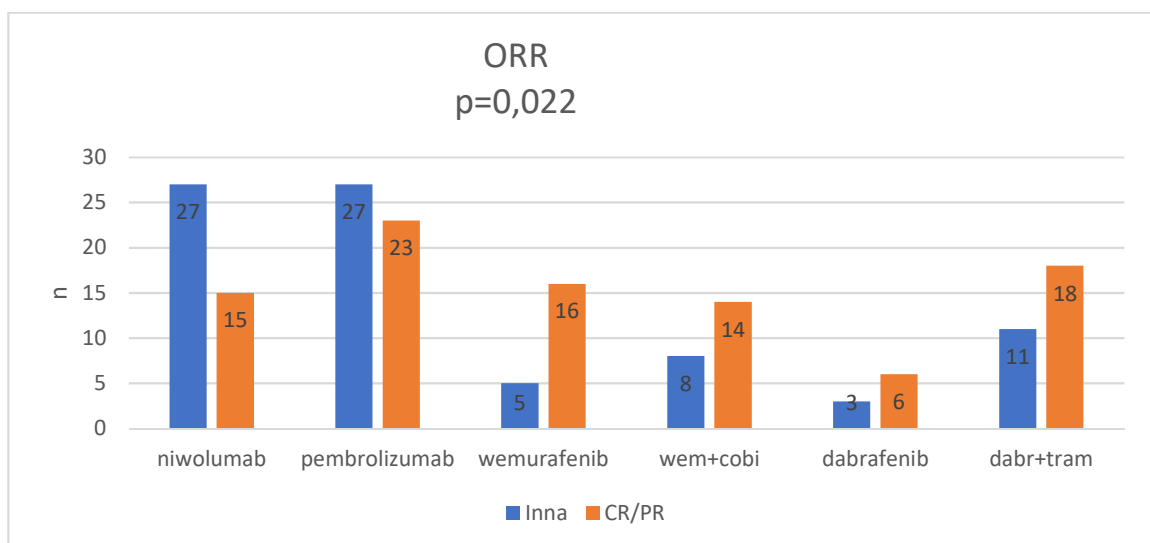
**Rycina 12.** Porównanie odsetka obiektywnych odpowiedzi (ORR) w zależności od rodzaju leczenia.



#### 4.12.2 Analiza porównawcza odsetka obiektywnych odpowiedzi w zależności od zastosowanego leku w pierwszej linii

Rycina 13 przedstawia porównanie odsetka obiektywnych odpowiedzi w zależności od zastosowanego leku w pierwszej linii. W przypadku zastosowania niwolumabu i pembrolizumabu częściej obserwowano stabilizacje lub progresję w stosunku do całkowitej remisji lub częściowej odpowiedzi. Odwrotną odpowiedź zaobserwowano wśród pacjentów otrzymujących *iBRAF* lub *iBRAF* oraz *iMEK* (rycina 13).

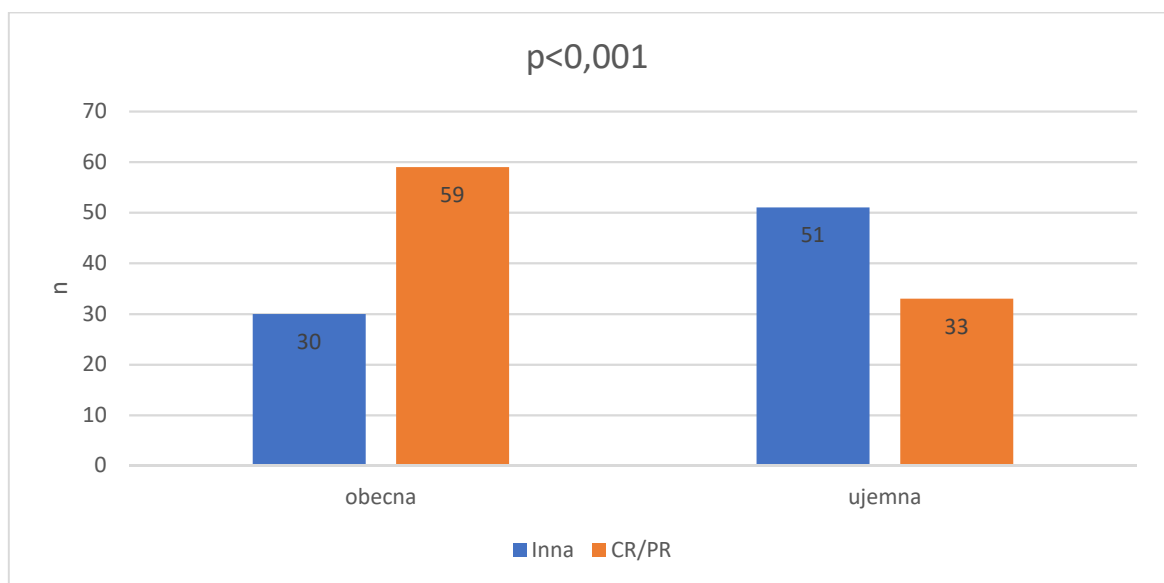
**Rycina 13.** Porównanie odsetka obiektywnych odpowiedzi (ORR) w zależności od zastosowanego leku w pierwszej linii.



#### 4.12.3 Analiza porównawcza odsetka obiektywnych odpowiedzi w zależności od statusu mutacji *BRAF*

Analiza odsetka obiektywnych odpowiedzi w dwóch podgrupach, z dodatnim lub ujemnym statusem mutacji *BRAF*, została przedstawiona na rycinie 14. Częściej odpowiedź częściową lub całkowitą zaobserwowano u osób z obecną mutacją *BRAF* (n=59; 64%) w stosunku do chorych bez potwierdzonej mutacji *BRAF* (n=33; 36%). Wyniki różnią się istotnie statystycznie ( $p < 0,05$ ) (rycina 14).

**Rycina 14.** Porównanie odsetka obiektywnych odpowiedzi (ORR) ze względu na wystąpienie mutacji *BRAF*.

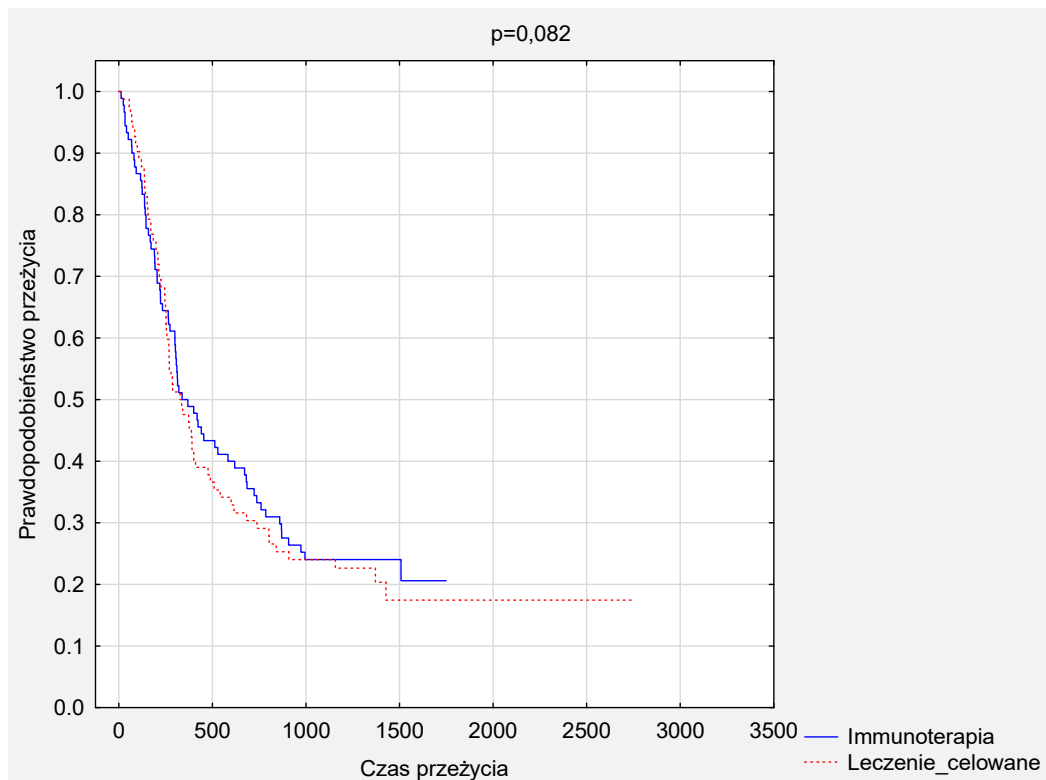


## 4.13 Analiza prawdopodobieństwa przeżycia oraz progresji w zależności od rodzaju zastosowanego leczenia w pierwszej linii

### 4.13.1 Analiza prawdopodobieństwa przeżycia w zależności od rodzaju zastosowanego leczenia w pierwszej linii

Porównanie prawdopodobieństwa przeżycia w zależności od rodzaju leczenia w pierwszej linii (immunoterapia vs. leczenie celowane) przedstawiono na krzywych przeżycia Kaplana – Meiera - rycina 15. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic czasu przeżycia w zależności od rodzaju leczenia ( $p=0,082$ ).

**Rycina 15.** Porównanie krzywych przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od rodzaju leczenia.



Mediana czasu przeżycia osób, u których stosowano inhibitory punktów kontrolnych wyniosła 338,0 dni (średnio 576,6 dnia; SD=499,6 dnia) a zgon wystąpił u 70 (77%) osób. Mediana czasu przeżycia osób stosujących terapię celowaną wyniosła 337,0 dni (średnio 584,2 dnia; SD=558,0 dni) natomiast zgon odnotowano u 64 chorych (79%) (tabela 36).

**Tabela 36.** Czas do zgonu [dni] w zależności od rodzaju leczenia.

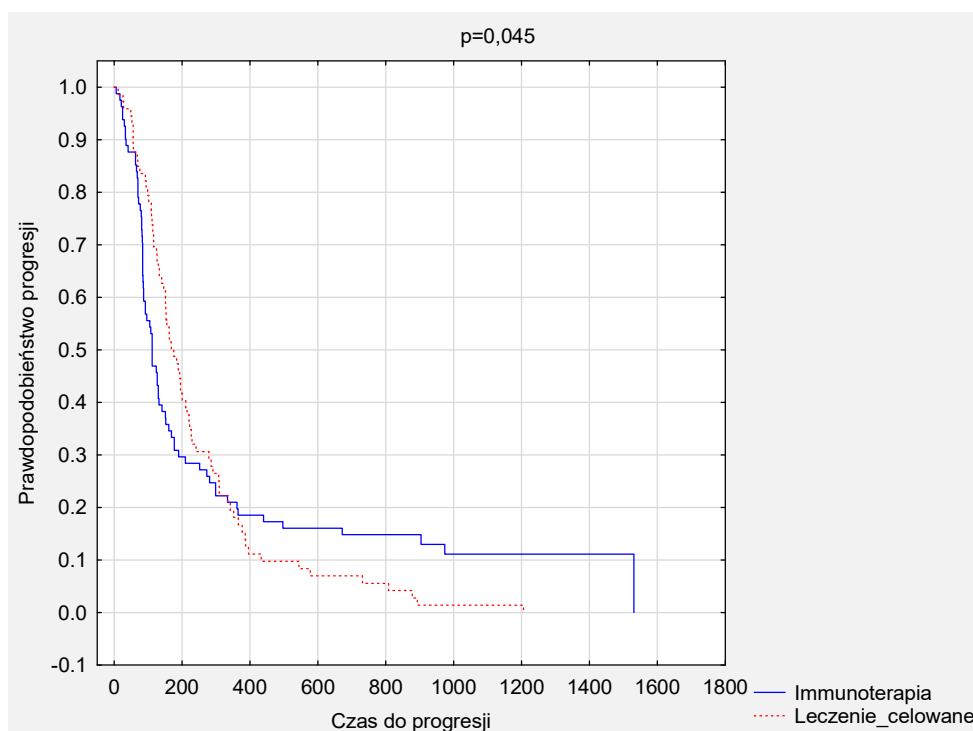
Rodzaj leczenia	Grupa badana						Zgon	Ucięte obserwacje	n
	Me	$\bar{x}$	SD	Min	Maks				
<b>Immunoterapia</b>	338,0	576,6	499,6	12,0	1749,0	70	21	91	
<b>Leczenie celowane</b>	337,0	584,2	558,0	12,0	2739,0	64	17	81	

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób

#### 4.13.2 Analiza prawdopodobieństwa progresji w zależności od rodzaju zastosowanego leczenia w pierwszej linii

Porównanie prawdopodobieństwa progresji w zależności od rodzaju leczenia (immunoterapia vs. leczenie celowane) przedstawiono na krzywych Kaplana – Meiera - rycina 16. Wykazano istotne statystycznie różnice czasu do progresji w zależności od rodzaju leczenia ( $p=0,045$ ).

**Rycina 16.** Porównanie krzywych czasu do progresji Kaplana-Meiera w zależności od rodzaju leczenia.



Mediana czasu do progresji u osób, u których stosowano immunoterapię wyniosła 112 dni (średnio 274,5 dnia; SD=360,4 dnia) a zgon nastąpił u 72 (89%) pacjentów. Mediana czasu do progresji wśród pacjentów leczonych terapią celowaną wyniosła 168,0 dni (średnio 239,8 dnia; SD=220,8 dnia) a zgon stwierdzono u 72 (99%) osób (tabela 37).

**Tabela 37.** Czas do progresji [dni] w zależności od rodzaju leczenia.

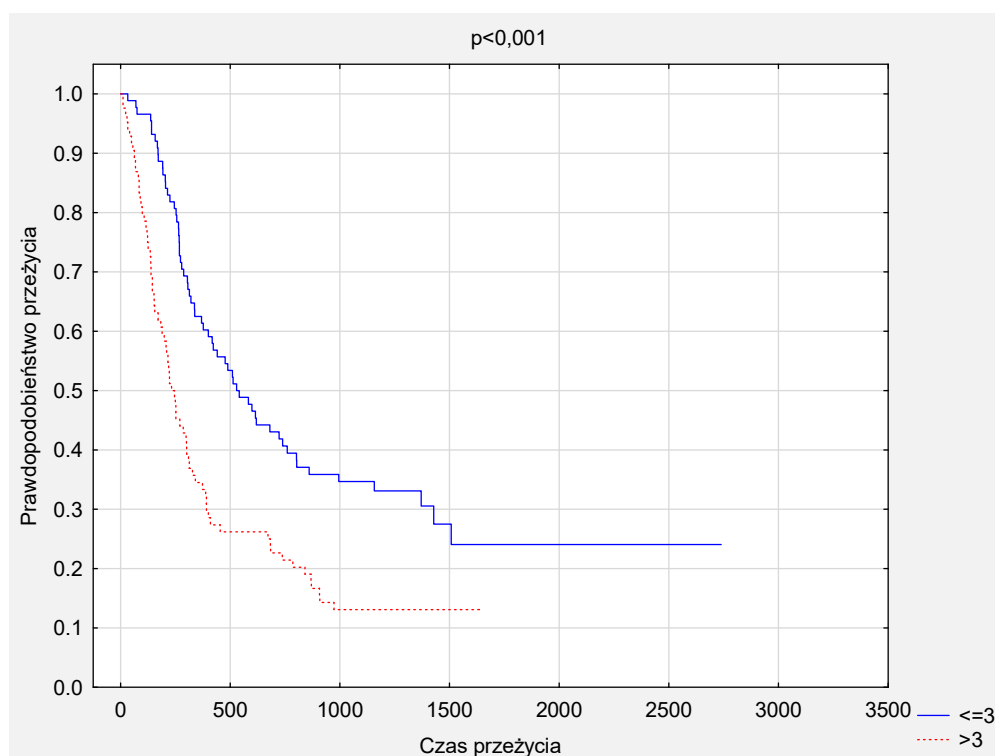
Rodzaj leczenia	Grupa badana						Ucięte obserwacje	n
	Me	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	Progresja		
Immunoterapia	112,0	274,5	360,4	6,0	1531,0	72	9	81
Leczenie celowane	168,0	239,8	220,8	12,0	1206,0	72	1	73

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób

#### 4.13.3 Analiza prawdopodobieństwa przeżycia w zależności od wartości NLR

Porównanie prawdopodobieństwa przeżycia w zależności od wartości NLR (>3 vs ≤3) na wysokości 1 kursu leczenia przedstawiono na krzywych przeżycia Kaplana – Meiera (rycina 17). Wykazano istotne statystycznie różnice czasu przeżycia w zależności od poziomu NLR (p=0,039). Dłużej żyli chorzy, u których wartość NLR była mniejsza od 3.

**Rycina 17.** Porównanie krzywych przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od wartości NLR (>3 vs ≤3) na wysokości 1 kursu leczenia.





Wyniki dotyczące czasu przeżycia z uwzględnieniem wystąpienia zgonu i uciętych obserwacji w zależności od wartości NLR ( $>3$  vs  $\leq 3$ ) na wysokości pierwszego kursu leczenia przedstawiono w tabeli 38. Stwierdzono dłuższą medianę czasu przeżycia chorych, u których wartość NLR była równa lub mniejsza od 3. Dodatkowo w tej grupie stwierdzono mniejszą ilość zgonów (61 vs. 73) oraz większą ilość obserwacji uciętych (27 vs. 11). Mediana czasu przeżycia u osób, u których stwierdzono poziom NLR  $\leq 3$  wyniosła 535,0 dni (średnio 724,2 dnia; SD=553,2 dnia). Zgon odnotowano u 61 (69%) badanych. Mediana czasu przeżycia u osób, u których stwierdzono poziom NLR  $>3$  wyniosła 239,5 dnia (średnio 429,3 dnia; SD=452,7 dnia) a zgon nastąpił u 73 (87%) chorych.

**Tabela 38.** Czas do zgonu [dni] w zależności od wartości NLR ( $>3$  vs  $\leq 3$ ) – pierwszy kurs.

NLR – 1 kurs	Grupa badana						Zgon	Ucięte obserwacje	n
	Me	$\bar{x}$	SD	Min	Maks				
$\leq 3$	535,0	724,2	553,2	33,0	2739,0	61	27	88	
$>3$	239,5	429,3	452,7	12,0	1639,0	73	11	84	

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób

Porównanie prawdopodobieństwa przeżycia w zależności od wartości NLR ( $>3$  vs  $\leq 3$ ) na wysokości 2 kursu przedstawiono na krzywych przeżycia Kaplana-Meiera – rycina 18. Wykazano istotne statystycznie różnice czasu przeżycia w zależności od poziomu NLR ( $p=0,039$ ).

**Rycina 18.** Porównanie krzywych przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od wartości NLR (>3 vs ≤3) – 2 kurs.

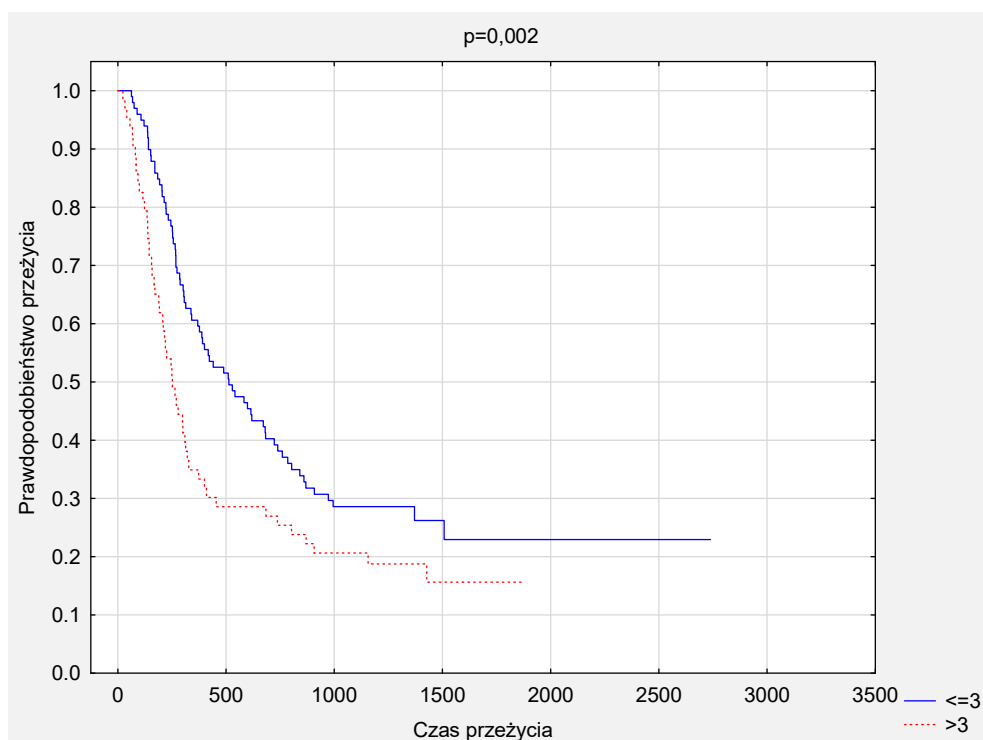


Tabela 39 przedstawia statystyki opisowe dla czasu przeżycia z uwzględnieniem wystąpienia zgonu i uciętych obserwacji w zależności od wartości NLR (>3 vs ≤3) na wysokości 2 kursu. Podobnie, jak w przypadku pierwszego kursu mediana czasu przeżycia była dłuższa wśród osób, u których wartość NLR była niższa lub równa 3. Mediana czasu przeżycia u osób, u których stwierdzono poziom NLR ≤3 wyniosła 513,0 dni (średnio 676,8 dnia; SD=529,7 dnia) a zgon nastąpił u 72 (73%) badanych. Mediana czasu przeżycia u osób, u których stwierdzono poziom NLR >3 wyniosła 252,0 dni (średnio 493,9 dnia; SD=515,7 dnia) i nastąpił zgon u 52 (83%) badanych.

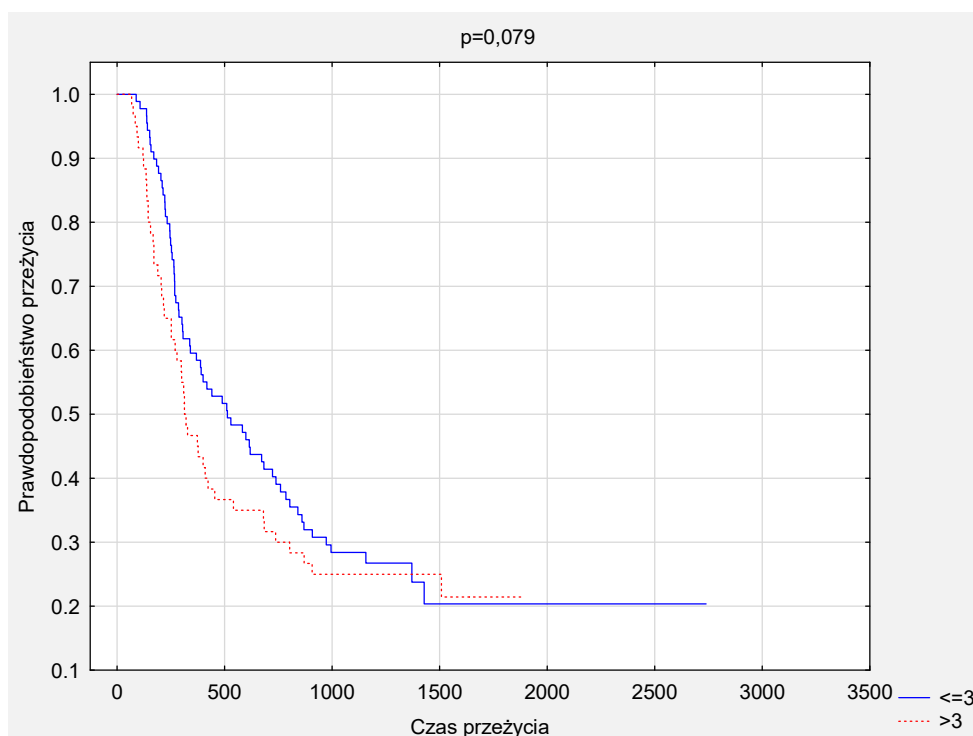
**Tabela 39.** Czas do zgonu [dni] w zależności od NLR (>3 vs ≤3) – 2 kurs.

NLR – 2 kurs	Grupa badana							
	Me	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	Zgon	Ucięte obserwacje	n
≤3	513,0	676,8	529,7	63,0	2739,0	72	27	99
>3	252,0	493,9	515,7	24,0	1879,0	52	11	63

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób

Porównanie prawdopodobieństwa przeżycia w zależności od wartości NLR przy rozpoczęciu 3 kurs ( $>3$  vs  $\leq 3$ ) przedstawiono na krzywych przeżycia Kaplana-Meiera – rycina 19. Wykazano istotne statystycznie różnice czasu przeżycia w zależności od poziomu NLR ( $p=0,039$ ).

**Rycina 19.** Porównanie krzywych przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od wartości NLR ( $>3$  vs  $\leq 3$ ) – 3 kurs.



Chorzy z wartością NLR  $\leq 3$  na wysokości 3 kursu żyli dłużej. Mediana czasu przeżycia u osób, u których stwierdzono poziom NLR  $\leq 3$  wyniosła 513,0 dni (średnio 676,5 dnia; SD=518,4 dnia) a zgon nastąpił u 66 (74%) badanych. Mediana czasu przeżycia u osób, u których stwierdzono poziom NLR  $>3$  wyniosła 317,5 dnia (średnio 592,6 dnia; SD=540,4 dnia) a zgon stwierdzono u 46 (77%) badanych (tabela 40).

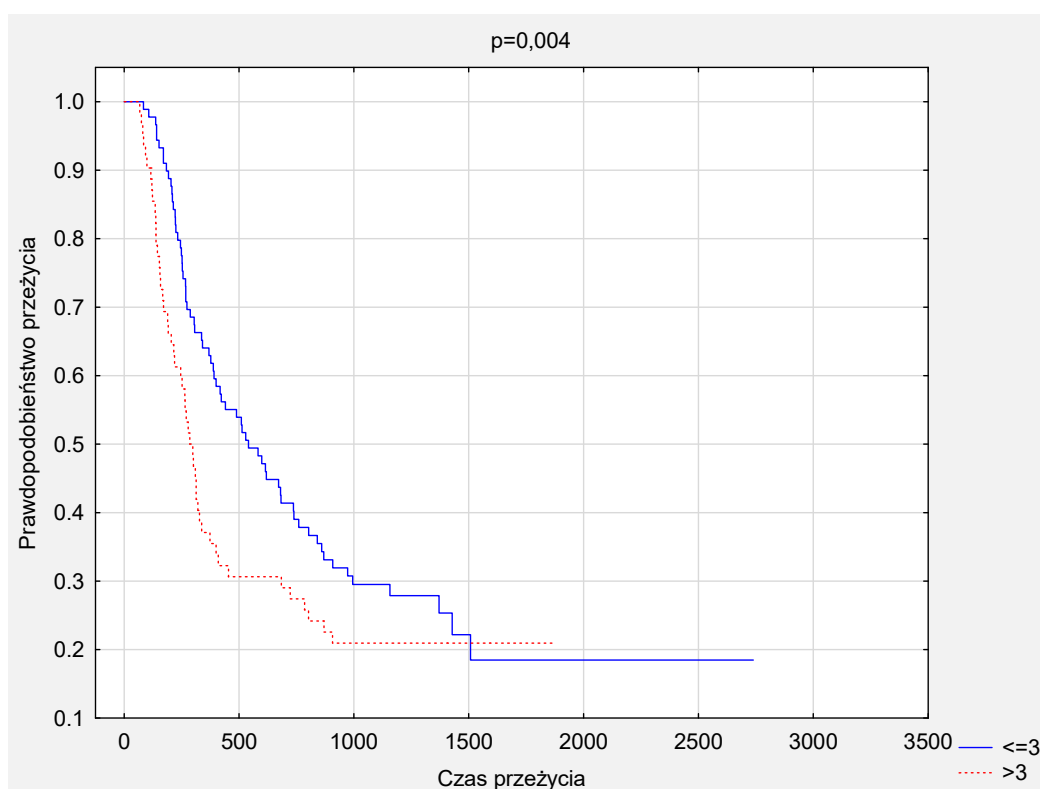
**Tabela 40.** Czas do zgonu [dni] w zależności od wartości NLR ( $>3$  vs  $\leq 3$ ) – 3 kurs.

NLR – 3 kurs	Grupa badana							n
	Me	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	Zgon	Ucięte obserwacje	
$\leq 3$	513.0	676.5	518.4	89,0	2739,0	66	23	89
$>3$	317.5	592.6	540.4	68,0	1879,0	46	14	60

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób

Dodatkowo oceniono również wartość NLR po 3 miesiącach leczenia. Porównanie prawdopodobieństwa przeżycia w zależności od poziomu NLR ( $>3$  vs  $\leq 3$ ) odnotowanego po 3 miesiącach przedstawiono na krzywych przeżycia Kaplana-Meiera – rycina 20. Wykazano istotne statystycznie różnice czasu przeżycia w zależności od poziomu NLR ( $p=0,039$ ). Czas przeżycia pacjentów z wartością NLR  $\leq 3$  również był dłuższy.

**Rycina 20.** Porównanie krzywych przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od wartości NLR ( $>3$  vs  $\leq 3$ ) – po 3 miesiącach terapii.



Mediana czasu przeżycia u osób, u których stwierdzono poziom NLR  $\leq 3$  po 3 miesiącach leczenia wyniosła 541,0 dni (średnio 690,3 dnia; SD=510,7 dnia) natomiast zgon nastąpił u 66 (74%) badanych. Mediana czasu przeżycia u osób, u których stwierdzono poziom NLR  $>3$  wyniosła 292,5 dnia (średnio 534,7 dnia; SD=528,2 dnia). Zgon dotyczył 49 (79%) badanych (tabela 41).

**Tabela 41.** Czas do zgonu [dni] w zależności od NLR ( $>3$  vs  $\leq 3$ ) – po 3 miesiącach terapii.

NLR – po 3 miesiącach	Grupa badana						Zgon	Ucięte obserwacje	n
	Me	$\bar{x}$	SD	Min	Maks				
$\leq 3$	541,0	690,3	510,7	84,0	2739,0	66	23	89	
$>3$	292,5	534,7	528,2	68,0	1879,0	49	13	62	

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób

Kolejną analizą było porównanie prawdopodobieństwa przeżycia w zależności od wartości NLR ( $>3$  vs  $\leq 3$ ) – przy progresji. Dane przedstawiono na krzywych przeżycia Kaplana-Meiera (rycina 21). Wykazano istotne statystycznie różnice czasu przeżycia w zależności od poziomu NLR ( $p=0,039$ ).

**Rycina 21.** Porównanie krzywych przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od wartości NLR – przy progresji ( $>3$  vs  $\leq 3$ ).

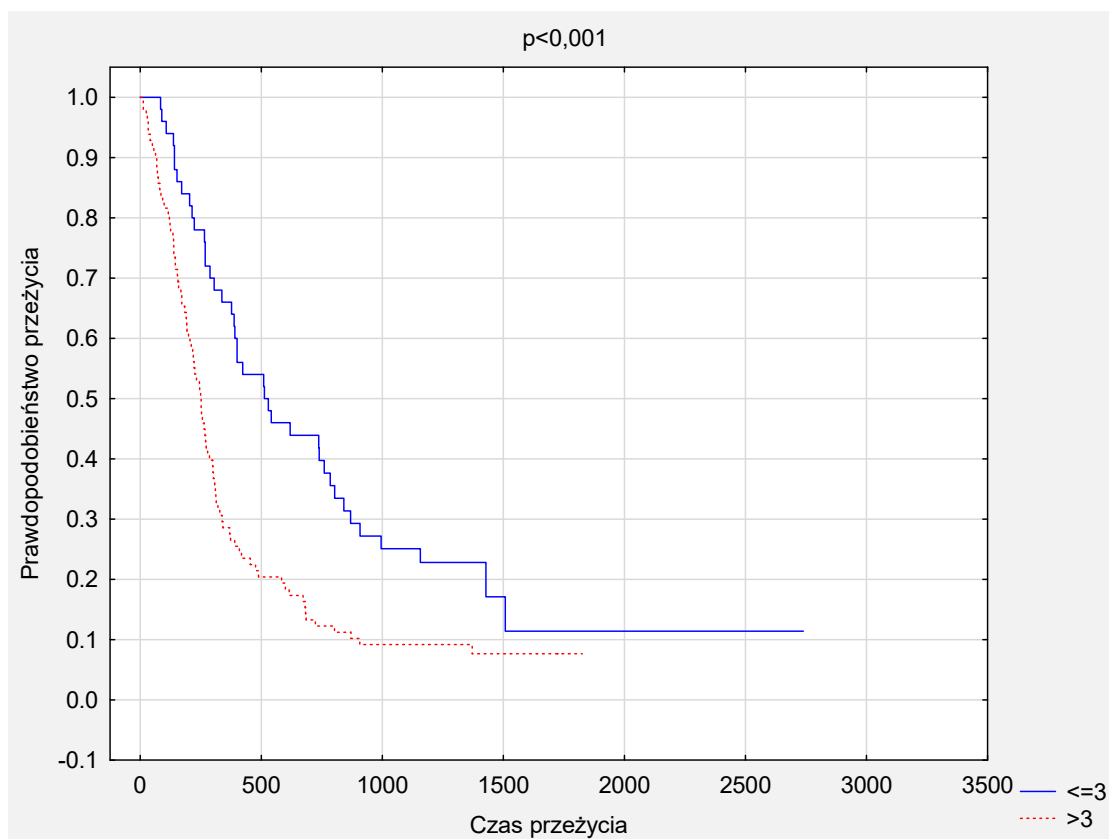


Tabela 42 przedstawia statystyki opisowe dla czasu przeżycia z uwzględnieniem wystąpienia zgonu i uciętych obserwacji w zależności od wartości NLR ( $>3$  vs  $\leq 3$ ) przy progresji. Mediana czasu przeżycia u osób, u których stwierdzono poziom NLR  $\leq 3$  wyniosła 521,0 dni (średnio 678,1 dnia; SD=537,4 dnia). Zgon odnotowano u 40 (80%) pacjentów. Mediana czasu przeżycia u osób, wśród których stwierdzono poziom NLR  $> 3$  wyniosła 250,5 dnia (średnio 376,3 dnia; SD=398,7 dnia) a zgon nastąpił u 90 (92%) badanych.

**Tabela 42.** Czas do zgonu [dni] w zależności od NLR (>3 vs ≤3) – przy progresji.

NLR – przy progresji	Grupa badana						Zgon	Ucięte obserwacje	n
	Me	$\bar{x}$	SD	Min	Maks				
≤3	521,0	678,1	537,4	84,0	2739,0	40	10	50	
>3	250,5	376,3	398,7	12,0	1826,0	90	8	98	

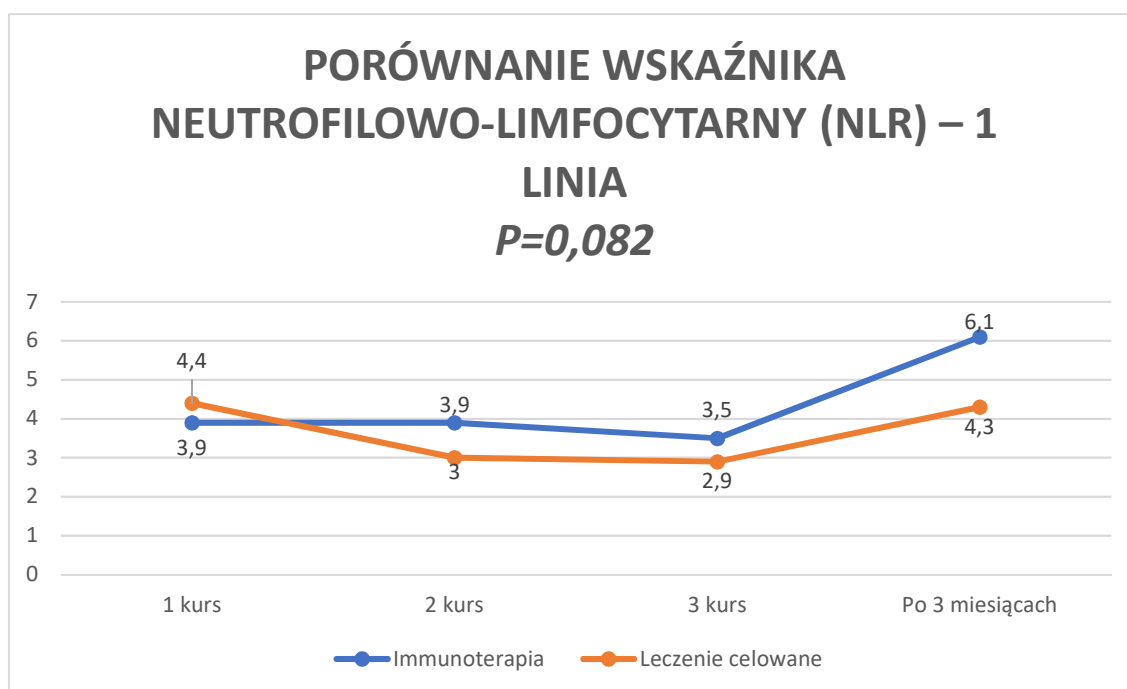
$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób

## 4.14 Analiza wartości NLR w zależności od wybranych parametrów

### 4.14.1 Analiza wartości NLR w zależności od rodzaju prowadzonego leczenia

Na rycinie 22 przedstawiono porównanie wartości NLR w zależności od rodzaju prowadzonego leczenia (immunoterapia vs. terapia celowana). Podczas pierwszego kursu średnia wartość wskaźnika NLR była wyższa u osób leczonych terapią celowaną i wyniosła 4,4, a u osób poddanych immunoterapii wyniosła 3,9. Podczas drugiego i trzeciego kursu oraz po trzech miesiącach wyższe wyniki wskaźnika NLR wykazano u osób poddanych immunoterapii. Wyniki nie różnią się istotnie statystycznie ( $p > 0,05$ ) (rycina 22).

**Rycina 22.** Porównanie wskaźnika neutrofilowo – limfocytarnego (NLR) względem rodzaju leczenia.

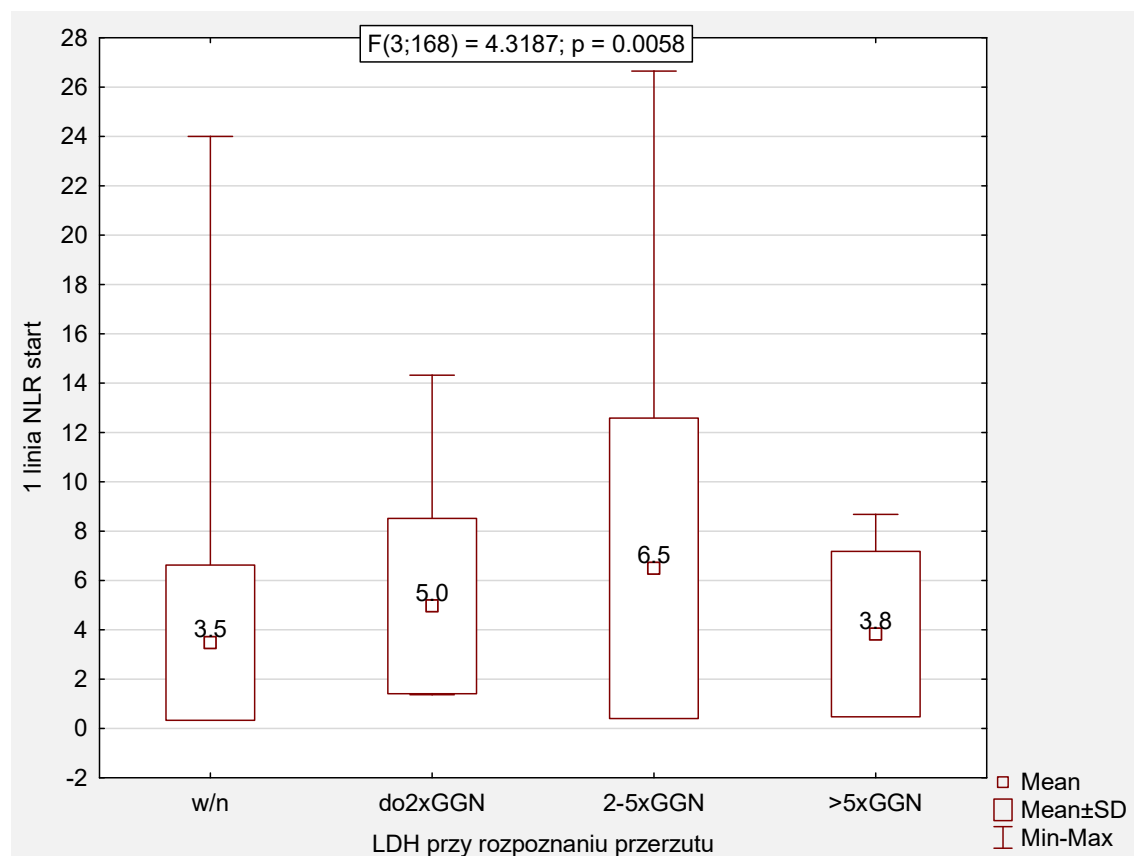


#### 4.14.2 Analiza wartości NLR w zależności od wartości LDH

##### 4.14.2.1 Analiza wartości NLR w zależności od wartości LDH – 1 kurs

Przedstawiono porównanie wyników wskaźnika neutrofilowo – limfocytarnego (NLR) podczas 1 kursu względem wartości LDH (rycina 23). Najwyższa średnia wartości NLR wystąpiła wśród osób z 2 do 5 razy przekroczoną górną granicą normy LDH i wyniosła 6,5 (min-max: 1,9-26,7; SD=6,1), a najniższa wystąpiła u osób z wartością LDH w normie i wyniosła 3,5 (min-max: 1,1-24,0; SD=3,1). Wyniki różnią się istotnie statystycznie ( $p < 0,05$ ) (rycina 23).

**Rycina 23.** Porównanie wyników wskaźnika neutrofilowo – limfocytarnego (NLR) podczas 1 kursu względem wartości LDH.

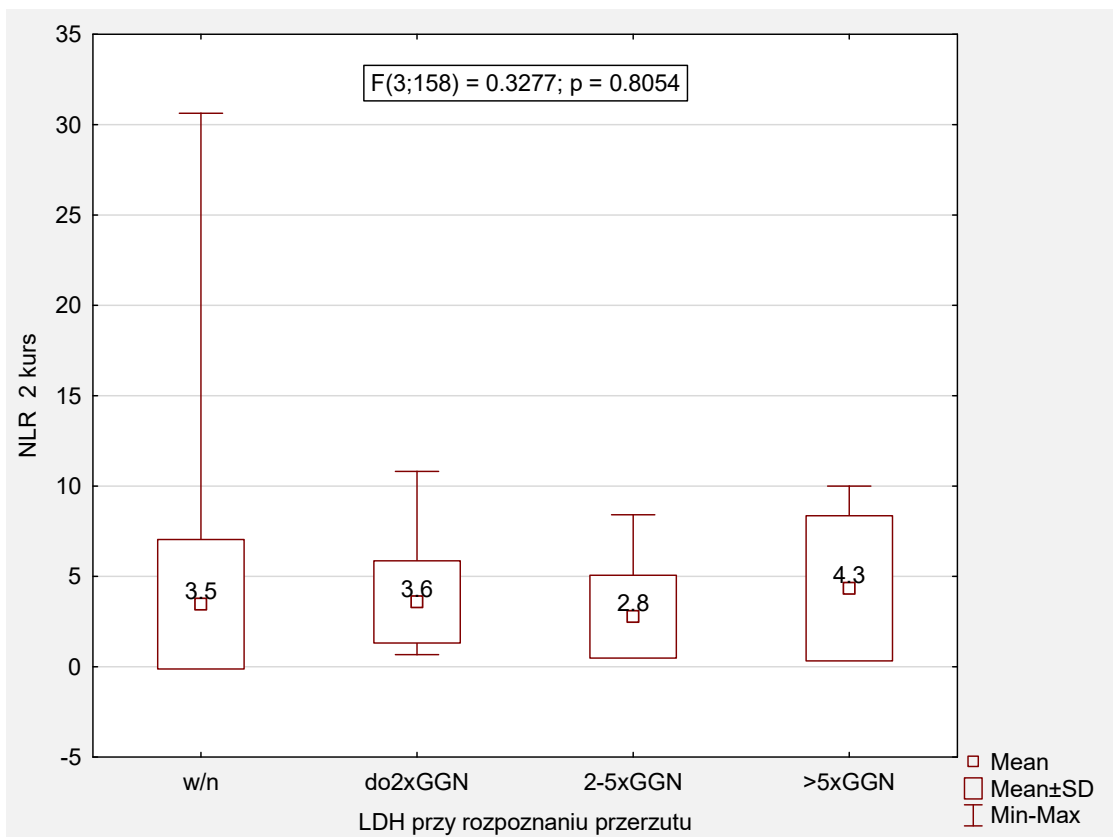


Powyższą analizę przeprowadzono również na wysokości drugiego, trzeciego kursu, po trzech miesiącach leczenia. W żadnym z powyższych przypadków nie wykazano istotności statystycznej. Dane przedstawiono poniżej.

#### 4.14.2.2 Analiza wartości NLR w zależności od wartości LDH – 2 kurs

Najwyższa średnia wartości NLR, na wysokości 2 kursu, wystąpiła u osób z ponad 5 razy przekroczoną górną granicą normy LDH i wyniosła 4,3 (min-max: 0,6-10,0; SD=4,0), a najniższa wystąpiła u osób z 2 do 5 razy przekroczoną górną granicą normy LDH i wyniosła 2,8 (min-max: 0,8-8,4; SD=2,3). Wyniki nie różnią się istotnie statystycznie ( $p > 0,05$ ) (rycina 24).

**Rycina 24.** Porównanie wyników wskaźnika neutrofilowo – limfocytarnego (NLR) podczas 2 kursu względem wartości LDH.

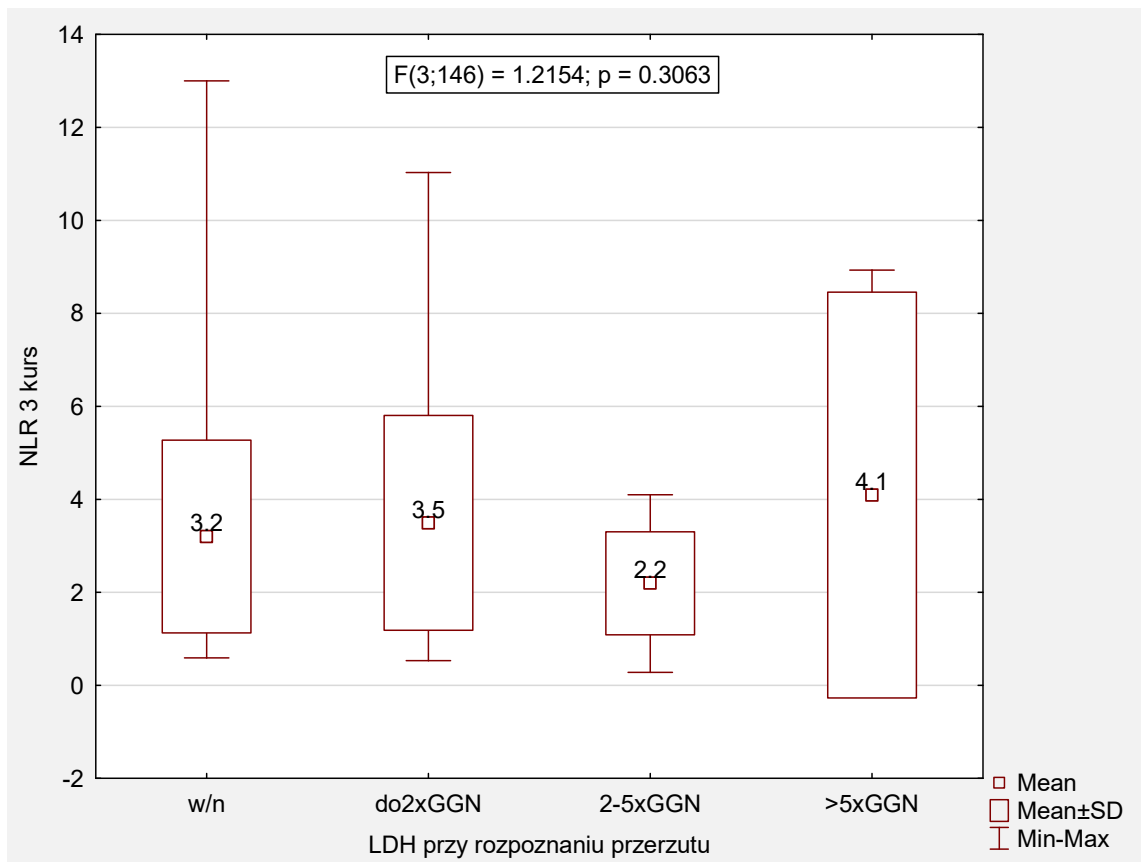




#### 4.14.2.3 Analiza wartości NLR w zależności od wartości LDH – 3 kurs

Na rycinie 25 przedstawiono porównanie wyników wskaźnika neutrofilowo–limfocytarnego (NLR) podczas 3 kursu względem wartości LDH. Najwyższa średnia wartości NLR wystąpiła u osób z ponad 5 razy przekroczoną górną granicą normy LDH i wyniosła 4,1 (min-max: 0,3-8,9; SD=4,4), a najniższa wystąpiła u osób z 2 do 5 razy przekroczoną górną granicą normy LDH i wyniosła 2,2 (min-max: 0,3-4,1; SD=1,1). Wyniki nie różnią się istotnie statystycznie ( $p > 0,05$ ) (rycina 25).

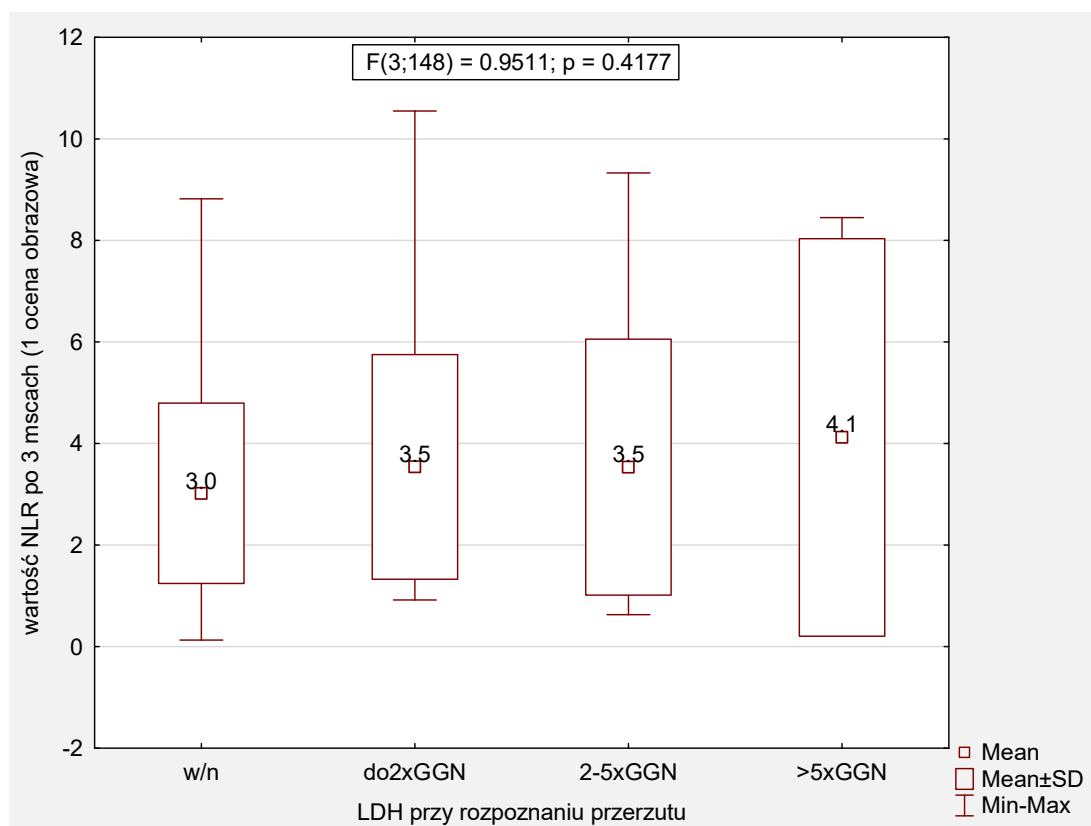
**Rycina 25.** Porównanie wyników wskaźnika neutrofilowo – limfocytarnego (NLR) podczas 3 kursu względem wartości LDH.



#### 4.14.2.4 Analiza wartości NLR w zależności od wartości LDH – po 3 miesiącach leczenia

Analizę wyników po 3 miesiącach leczenia przedstawiono na rycinie 26. Najwyższa średnia wartości NLR wystąpiła u osób z ponad 5 razy przekroczoną górną granicą normy LDH i wyniosła 4,1 (min-max: 0,8-8,5; SD=3,9), a najniższa wystąpiła u osób z poziomem LDH w normie i wyniosła 3,0 (min-max: 0,1-8,8; SD=1,8). Wyniki nie różnią się istotnie statystycznie ( $p > 0,05$ ) (rycina 26).

**Rycina 26.** Porównanie wyników wskaźnika neutrofilowo – limfocytarnego (NLR) po 3 miesiącach leczenia względem wartości LDH.

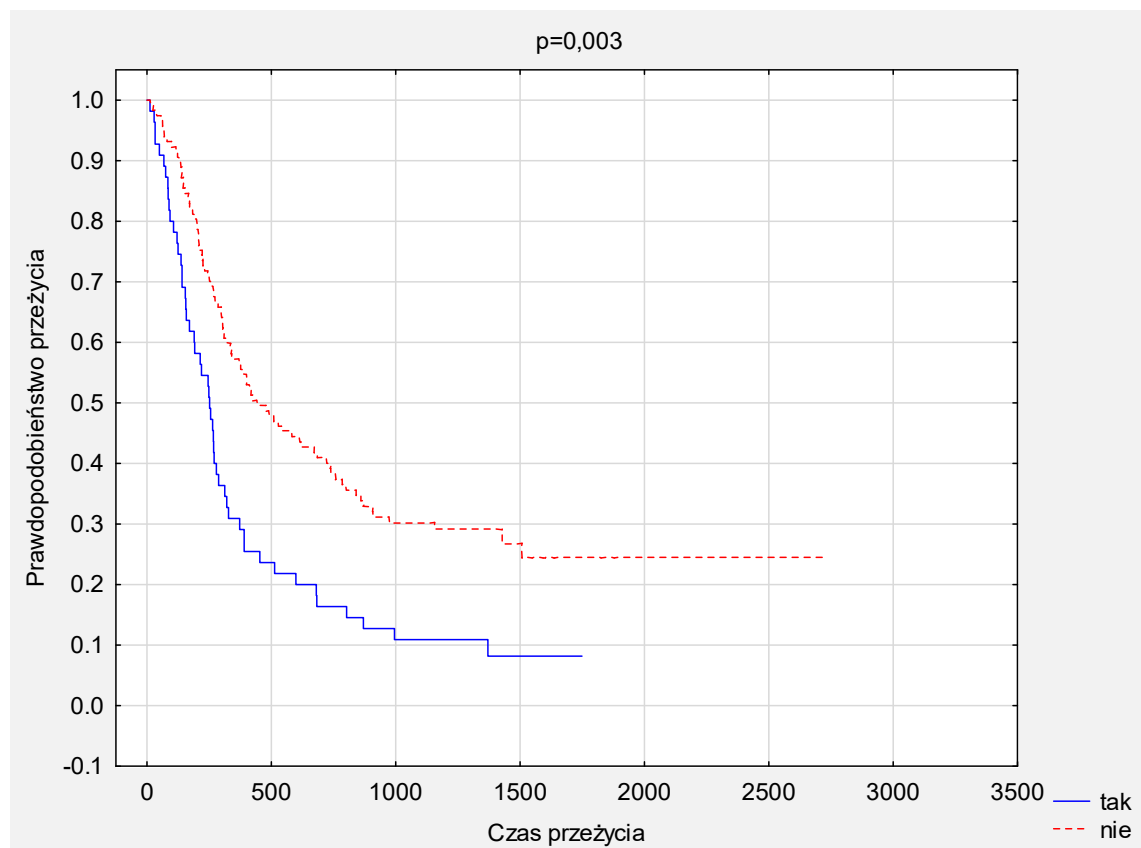


## 4.15 Dodatkowa analiza przeżycia całkowitego w zależności od wybranych zmiennych

### 4.15.1 Analiza przeżycia całkowitego w zależności od obecności przerzutów do ośrodkowego układu nerwowego

Porównanie prawdopodobieństwa przeżycia w zależności od obecności przerzutów do ośrodkowego układu nerwowego przedstawiono na krzywych przeżycia Kaplana-Meiera – rycina 27. Wykazano istotne statystycznie różnice czasu przeżycia w zależności od obecności przerzutów do ośrodkowego układu nerwowego ( $p=0,003$ ).

**Rycina 27.** Porównanie krzywych przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od obecności przerzutów do ośrodkowego układu nerwowego.



Mediana czasu przeżycia u osób, u których nie stwierdzono przerzutów do ośrodkowego układu nerwowego wyniosła 459,0 dni (średnio 674,8 dnia; SD=548,4 dnia). Zgon nastąpił u 83 (72%) badanych. Mediana czasu przeżycia osób, u których stwierdzono przerzuty do ośrodkowego układu nerwowego wyniosła 250,5 dnia (średnio 384,1 dnia; SD=417,6 dnia) a zgon nastąpił u 50 (91%) badanych (tabela 43).

**Tabela 43.** Czas do zgonu [dni] w zależności od obecności przerzutów do ośrodkowego układu nerwowego.

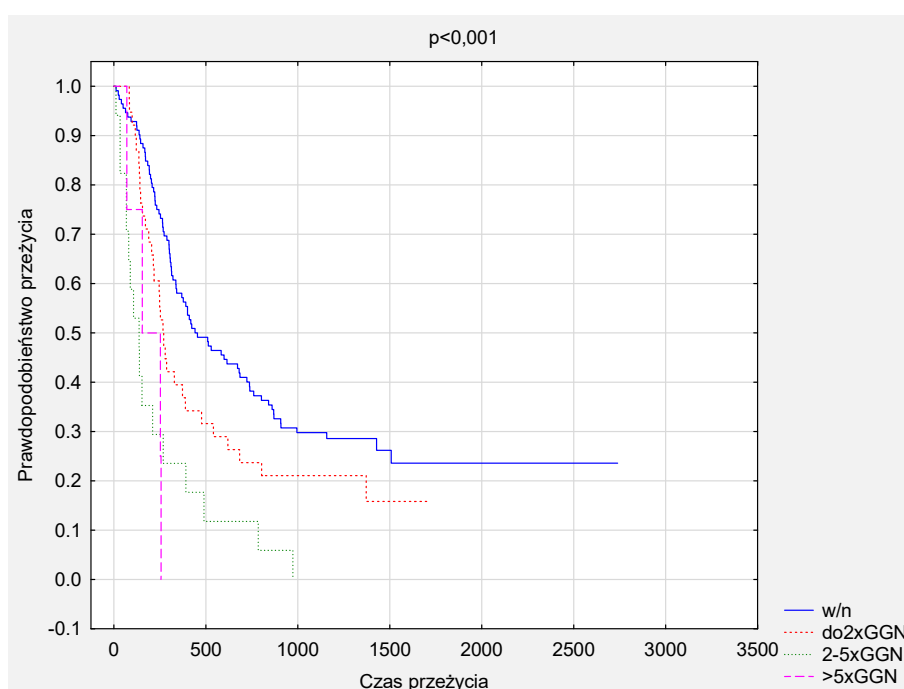
Przerzuty do ośrodkowego układu nerwowego	Grupa badana							
	Me	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	Zgon	Ucięte obserwacje	n
Nie	459,0	674,8	548,4	12,0	2739,0	83	33	116
Tak	250,5	384,1	417,6	12,0	1749,0	51	5	56

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób

#### 4.15.2 Analiza przeżycia całkowitego w zależności od wartości LDH

Porównanie prawdopodobieństwa przeżycia w zależności od wartości LDH przedstawiono na krzywych przeżycia Kaplana-Meiera - rycina 28. Wykazano istotne statystycznie różnice czasu przeżycia w zależności wartości LDH ( $p < 0,001$ ).

**Rycina 28.** Porównanie krzywych przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od wartości LDH.



Mediana czasu przeżycia osób, u których stwierdzono poziom LDH wyjściowo w normie wyniosła 447,5 dnia (średnio 673,3 dnia; SD=541,6 dnia). Zgon wystąpił u 81 (72%) badanych. Mediana czasu przeżycia u osób, u których stwierdzono przekroczonego poziomu LDH do 2 razy górnej granicy normy wyniosła 268,5 dnia (średnio 514,8 dnia; SD=507,9 dnia). Zgon dotyczył 31 (82%) osób. Mediana czasu przeżycia osób, u których stwierdzono przekroczonego poziomu LDH od 2 do 5 razy górnej granicy normy wyniosła 137,0 dni (średnio 237,3 dnia; SD=275,2 dnia). Zgon nastąpił u 17 (100%) badanych. Mediana czasu przeżycia u osób, u których stwierdzono przekroczonego poziomu LDH ponad 5 razy górnej granicy normy wyniosła 203,0 dni (średnio 183,0 dni; SD=88,9 dnia) a zgon dotyczył 5 (100%) chorych (tabela 44).

**Tabela 44.** Czas do zgonu [dni] w zależności od wartości LDH.

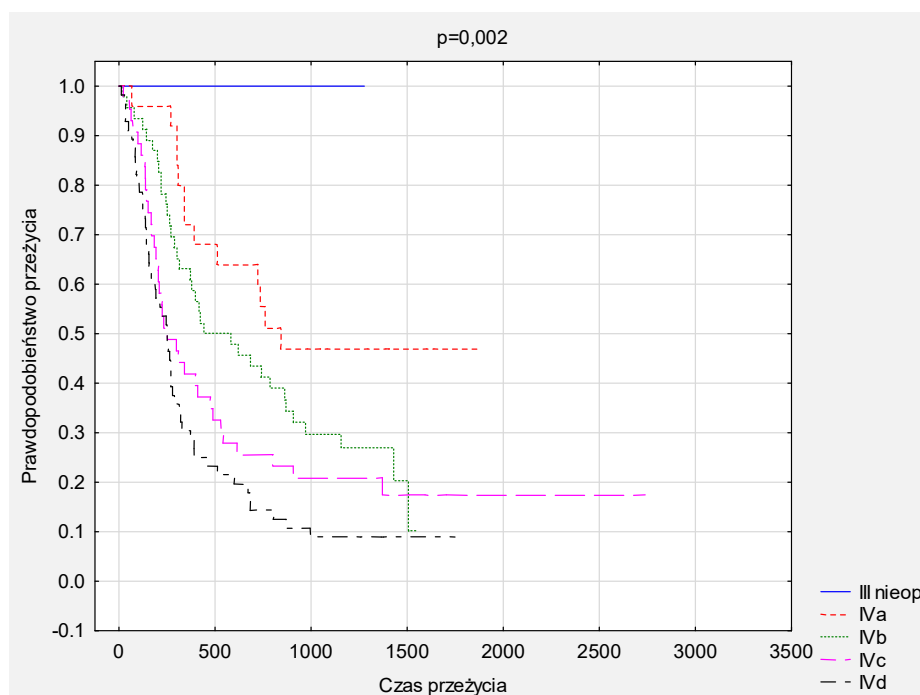
Wartość LDH	Grupa badana							n
	Me	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	Zgon	Ucięte obserwacje	
w/n	447,5	673,3	541,6	12,0	2739,0	81	32	113
do 2xGGN	268,5	514,8	507,9	84,0	1722,0	31	6	37
2-5xGGN	137,0	237,3	275,2	12,0	973,0	17	0	17
>5xGGN	203,0	183,0	88,9	70,0	256,0	5	0	5

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób

#### 4.15.3 Analiza przeżycia całkowitego w zależności od stopnia zaawansowania

Porównanie prawdopodobieństwa przeżycia w zależności od stopnia zaawansowania przedstawiono na krzywych przeżycia Kaplana- Meiera - rycina 29. Wykazano istotne statystycznie różnice czasu przeżycia w zależności od stopnia zaawansowania ( $p=0,002$ ).

**Rycina 29.** Porównanie krzywych przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od stopnia zaawansowania.



Statystyki opisowe dla czasu przeżycia z uwzględnieniem wystąpienia zgonu i uciętych obserwacji w zależności od stopnia zaawansowania wg klasyfikacji AJCC z 2017 roku przedstawiono w tabeli 45. Mediana czasu przeżycia u osób z nieoperacyjnym czerniakiem w III stopniu zaawansowania wyniosła 1213,0 dni (średnio 1213,0 dni; SD=90,5 dnia). Nie odnotowano żadnego zgonu ( $n=0$ , 100%). Mediana czasu przeżycia wśród osób w IVA stopniu zaawansowania wyniosła 760,0 dni (średnio 866,3 dnia; SD=539,0 dnia). Zgon dotyczył 13 (52%) pacjentów. Mediana czasu przeżycia u osób w stopniu zaawansowania IVB wyniosła 512,0 dnia (średnio 667,8 dnia; SD=482,0 dnia). Zgon dotyczył 35 (76%) osób. W kolejnym stopniu zaawansowania IVC mediana czasu przeżycia wyniosła 253,0 dni (średnio 545,9 dnia; SD=596,5 dnia) a zgon dotyczył 35 (76%) chorych. Mediana czasu przeżycia w stopniu IVD wyniosła 250,5 dni (średnio 384,1 dnia; SD=417,6 dnia) a zgon nastąpił u 51 (91%) pacjentów.

**Tabela 45.** Czas do zgonu [dni] w zależności od stopnia zaawansowania.

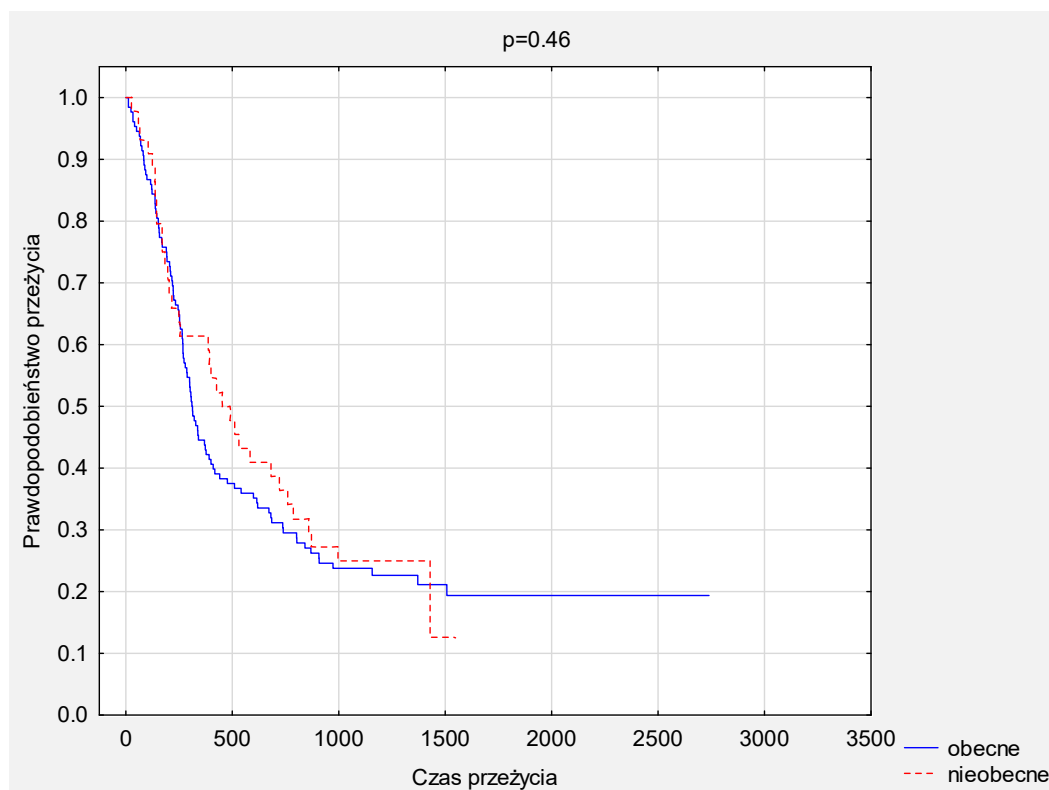
Stopień zaawansowania	Grupa badana							
	Me	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	Zgon	Ucięte obserwacje	n
III nieoperacyjny	1213,0	1213,0	90,5	1149,0	1277,0	0	2	2
IVA	760,0	866,3	539,0	68,0	1879,0	13	12	25
IVB	512,0	667,8	482,0	12,0	1549,0	35	11	46
IVC	253,0	545,9	596,5	24,0	2739,0	35	8	43
IVD	250,5	384,1	417,6	12,0	1749,0	51	5	56

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób

#### 4.15.4 Analiza przeżycia całkowitego w zależności od obecności owrzodzenia zmiany pierwotnej

Porównanie prawdopodobieństwa przeżycia w zależności od obecności owrzodzenia przedstawiono na krzywych przeżycia Kaplana- Meiera - rycina 30. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic czasu przeżycia w zależności od obecności owrzodzenia ( $p=0,46$ ).

**Rycina 30.** Porównanie krzywych przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od obecności owrzodzenia.



Dane opisowe dla czasu przeżycia z uwzględnieniem wystąpienia zgonu i uciętych obserwacji w zależności od obecności owrzodzenia zostały przedstawione w tabeli 46. Mediana czasu przeżycia osób, u których stwierdzono owrzodzenie wyniosła 311,5 dnia (średnio 567,7 dnia; SD=540,6 dnia). Zgon dotyczył 100 (78%) badanych. Mediana czasu przeżycia osób, u których nie stwierdzono owrzodzenia wyniosła 471,5 dnia (średnio 616,4 dnia; SD=486,6 dnia) a zgon nastąpił u 34 badanych (77%).

**Tabela 46.** Czas do zgonu [dni] w zależności od obecności owrzodzenia.

Obecność owrzodzenia	Grupa badana							
	Me	$\bar{x}$	SD	Min	Maks	Zgon	Ucięte obserwacje	n
Obecne	311,5	567,7	540,6	12,0	2739,0	100	28	128
Nieobecne	471,5	616,4	486,6	29,0	1549,0	34	10	44
$\bar{x}$ – średnia; Me – mediana; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób								

#### **4.16 Analiza własności predykcyjnych NLR dla wystąpienia zgonu od rozpoczęcia leczenia w grupie otrzymującej inhibitory punktów kontrolnych oraz terapię celowaną**

Parametr NLR oceniono pod kątem znaczenia predykcyjnego dla przewidywania zgonu od rozpoczęcia immunoterapii i leczenia celowanego. Analizę przeprowadzono dla 81 chorych otrzymujących terapię celowaną i 92 chorych leczonych inhibitorami punktów kontrolnych. Jako zmienną przewidywaną przyjęto wystąpienie zgonu od rozpoczęcia leczenia.

##### **4.16.1 Analiza własności predykcyjnych NLR dla wystąpienia zgonu od rozpoczęcia leczenia w grupie otrzymującej inhibitory punktów kontrolnych**

Wartość NLR przy progresji była istotnie statystycznie wyższa w grupie chorych, którzy zmarli od rozpoczęcia leczenia ( $p=0,003$ ) (tabela 47, rycina 35). Poziom NLR przy progresji wykazywał istotną statystycznie korelację z wzrastającym ryzykiem zgonu w ciągu roku (AUC=0,786; 95% CI: 0,65-0,92) (tabela 48, rycina 40). Dla parametru NLR przy progresji ustalono wartość punktu odcięcia wg indeksu Youdena jako 4,65. Wartości równe lub większe zniżyły ryzyko wystąpienia ocenianego punktu końcowego (tabela 49, 50) (OR=12,59).

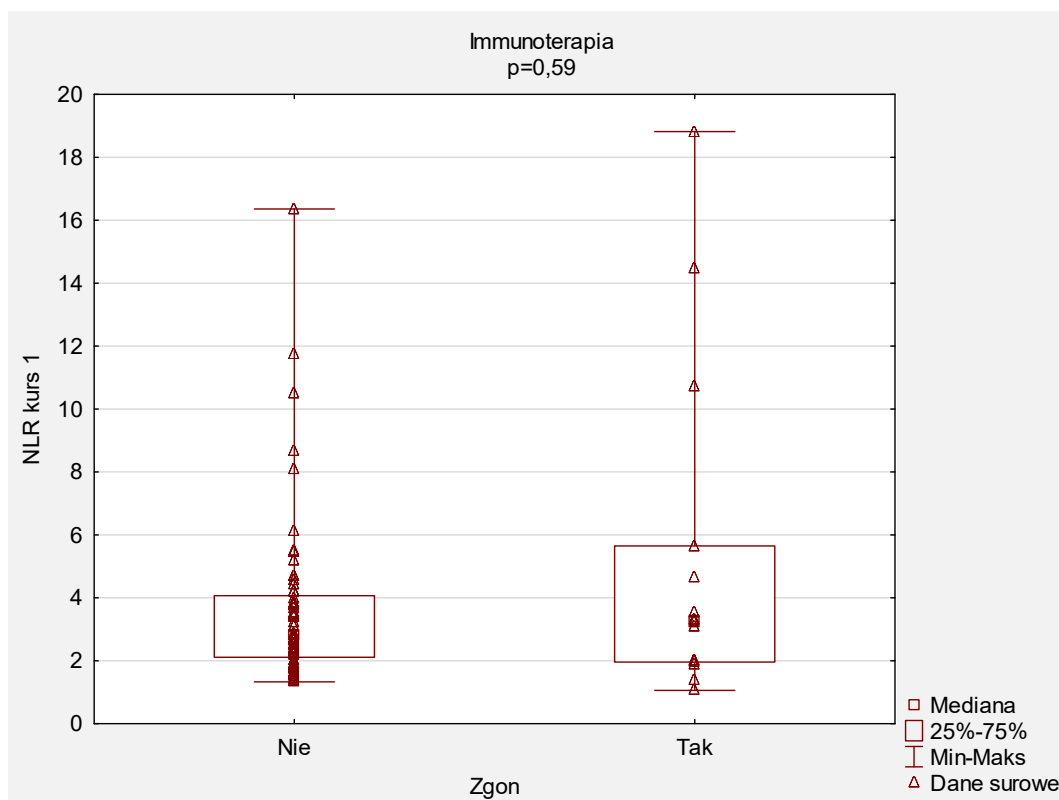


**Tabela 47.** Charakterystyka rozkładu NLR w zależności od wystąpienia zgonu wśród osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych.

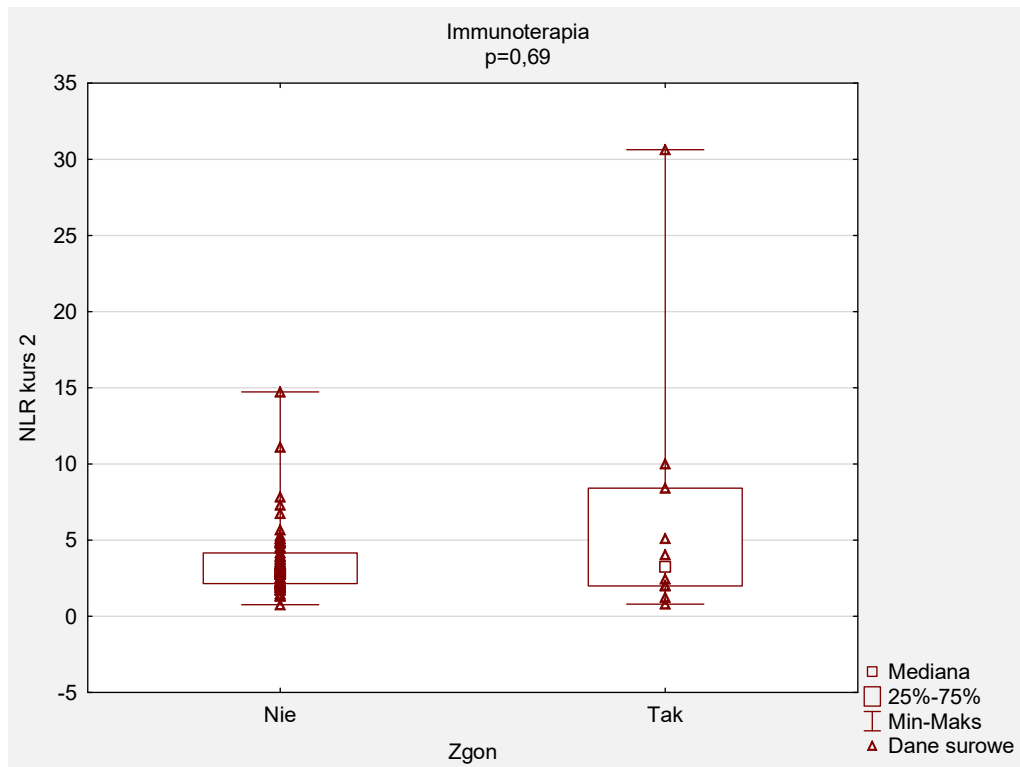
Zmienna	Zgon														Wartość p*
	Nie							Tak							
	$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD	$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD	
NLR – 1 kurs	3,61	2,82	1,33	16,4	2,11	4,07	2,60	5,4	3,26	1,06	18,8	1,96	5,7	5,41	0,59
NLR– 2 kurs	3,46	2,78	0,76	14,7	2,15	4,16	2,29	6,7	3,25	0,80	30,6	1,99	8,4	8,96	0,69
NLR– 3 kurs	3,47	2,87	0,92	13,0	2,37	4,07	2,11	2,5	1,31	0,97	7,2	1,24	1,9	2,63	0,050
NLR po 3 miesiącach	3,67	3,25	1,13	10,6	2,40	4,78	1,85	3,1	2,02	0,13	6,9	1,00	6,4	2,86	0,31
NLR przy progresji	4,46	4,21	1,10	10,6	2,81	5,50	2,12	10,3	6,40	3,20	30,6	5,00	15,0	8,28	<b>0,003</b>

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; Q1 – kwartył pierwszy; Q3 – kwartył trzeci; Min – wartość minimalna; Max – wartość maksymalna; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób; % – procent osób; \*test U Manna-Whitneya

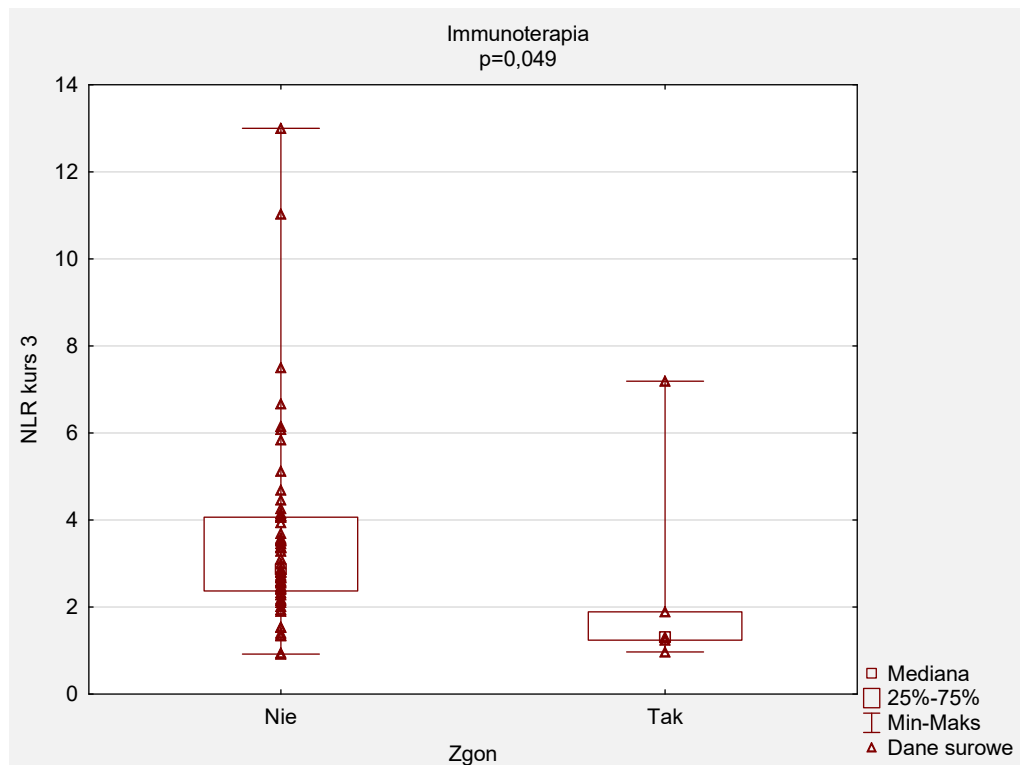
**Rycina 31.** Rozkład NLR - kurs 1 - w zależności od zmiennej: wystąpienie zgonu u osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych.



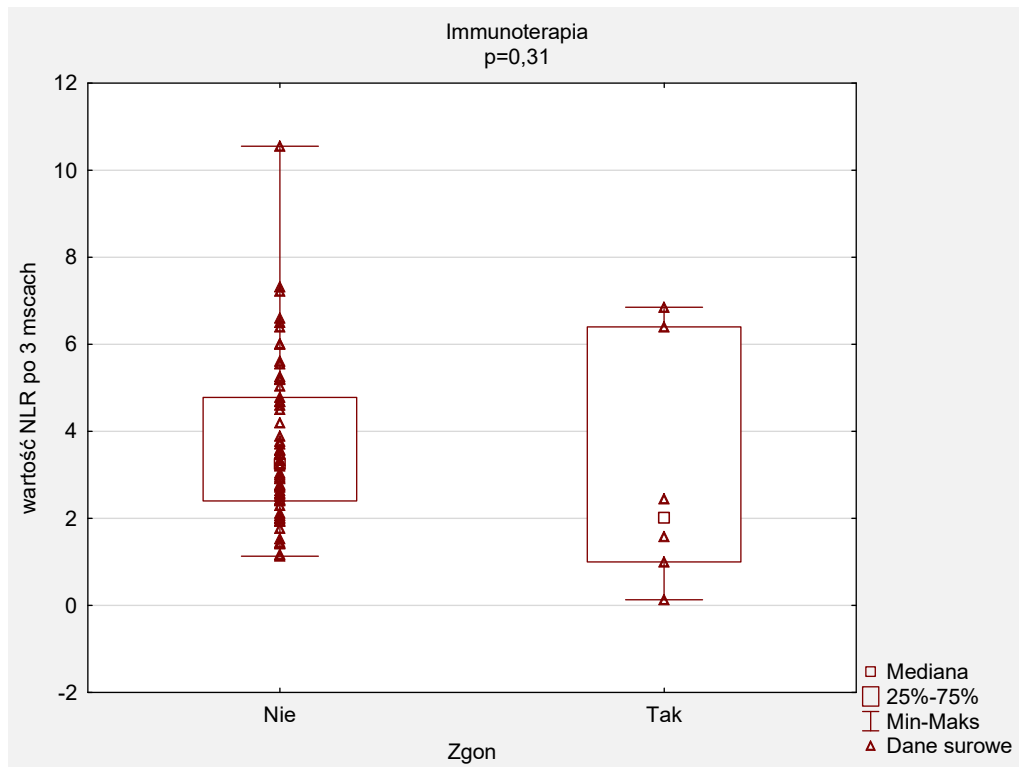
**Rycina 32.** Rozkład NLR - kurs 2 - w zależności od zmiennej: wystąpienie zgonu u osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych.



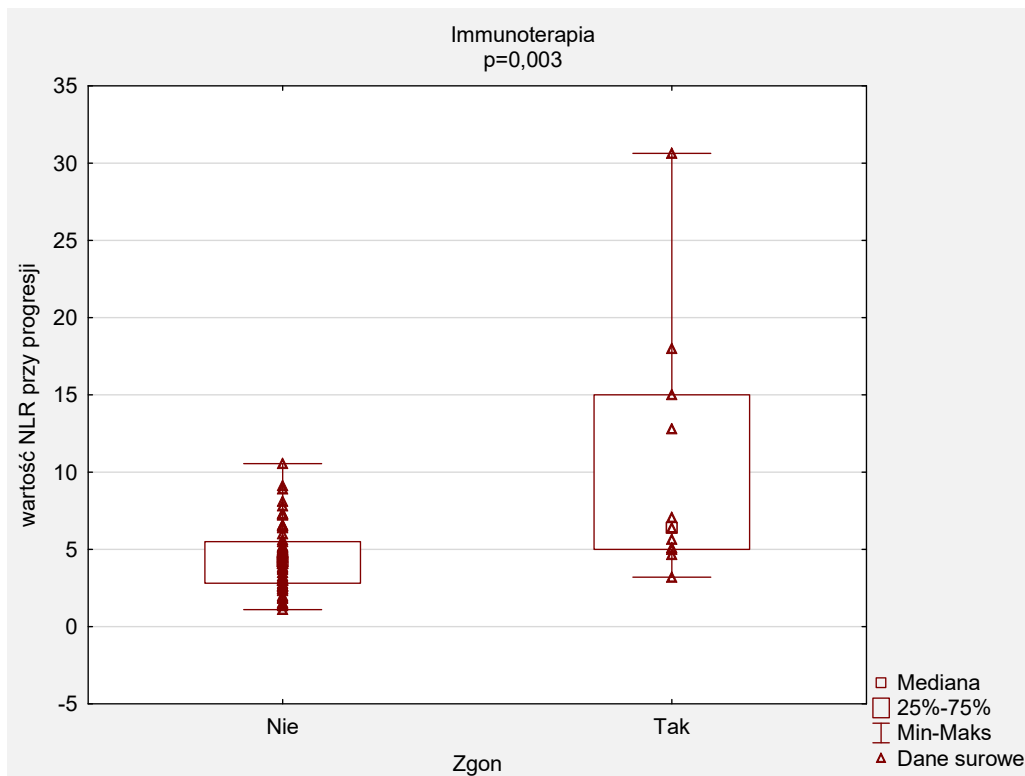
**Rycina 33.** Rozkład NLR - kurs 3 - w zależności od zmiennej: wystąpienie zgonu u osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych.



**Rycina 34.** Rozkład NLR - po 3 miesiącach - w zależności od zmiennej: wystąpienie zgonu u osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych.



**Rycina 35.** Rozkład NLR - przy progresji - w zależności od zmiennej: wystąpienie zgonu u osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych.

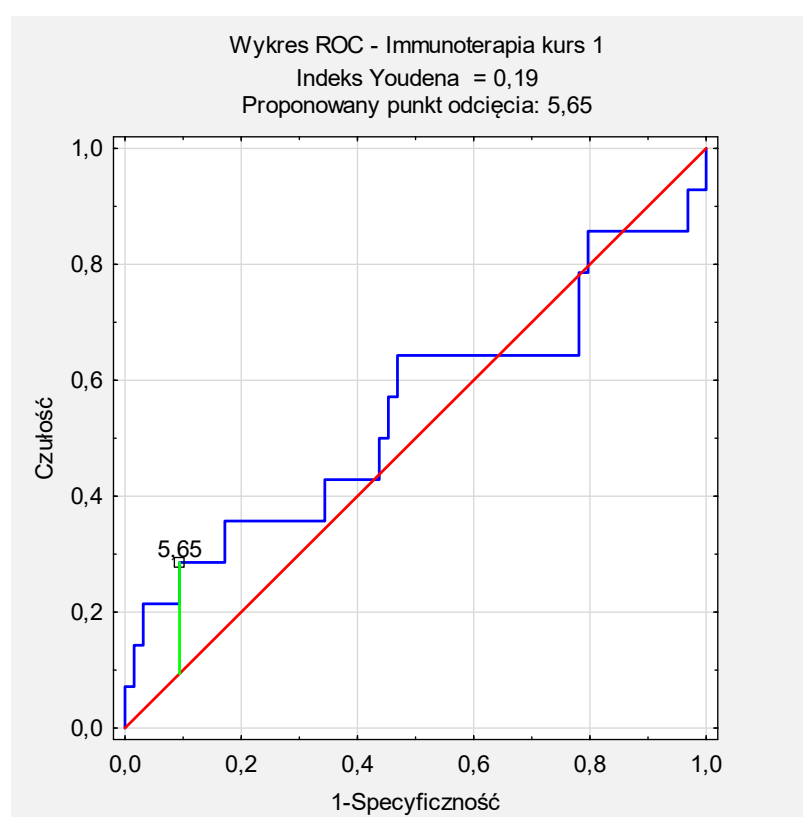


**Tabela 48.** Wynik analizy ROC dla możliwości przewidywania zgonu od rozpoczęcia leczenia na podstawie NLR u osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych.

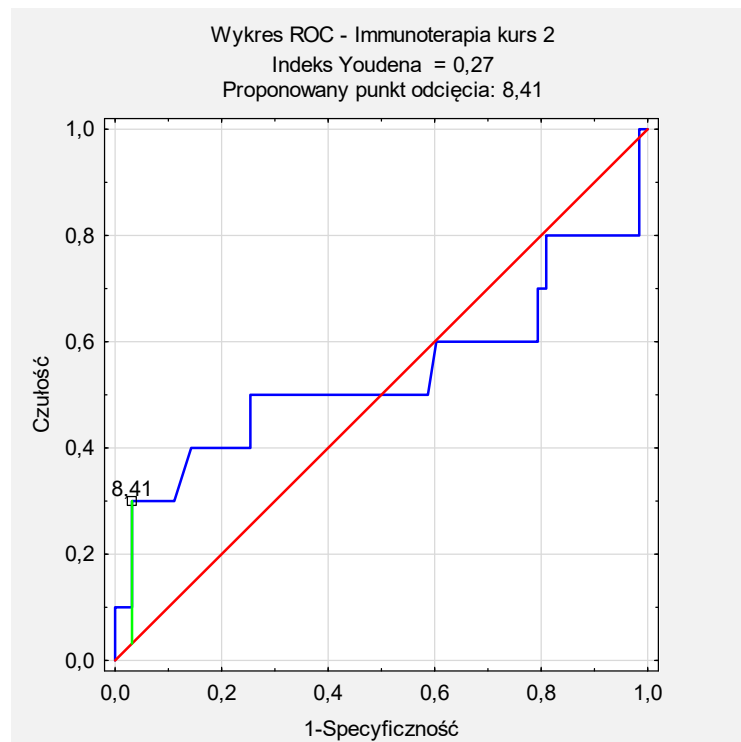
Zmienna	AUC	SE	AUC Dolny 95%	AUC Górny 95%	z	p
NLR – 1 kurs	0,547	0,10	0,36	0,74	0,48	0,632
NLR – 2 kurs	0,539	0,13	0,29	0,79	0,31	0,758
NLR – 3 kurs	0,233	0,16	-0,09	0,55	-1,64	0,101
NLR po 3 miesiącach	0,374	0,17	0,05	0,70	-0,76	0,449
NLR przy progresji	0,786	0,07	0,65	0,92	4,10	<0,001

AUC – pole pod krzywą; SE – błąd standardowy

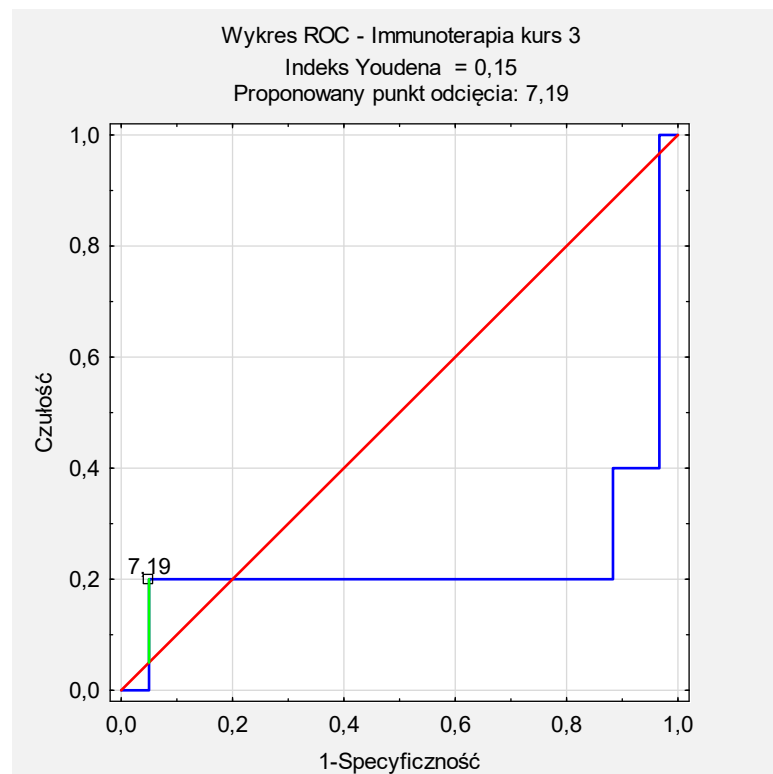
**Rycina 36.** Krzywa ROC dla NLR - kurs 1- dla przewidywania zgonu osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych.



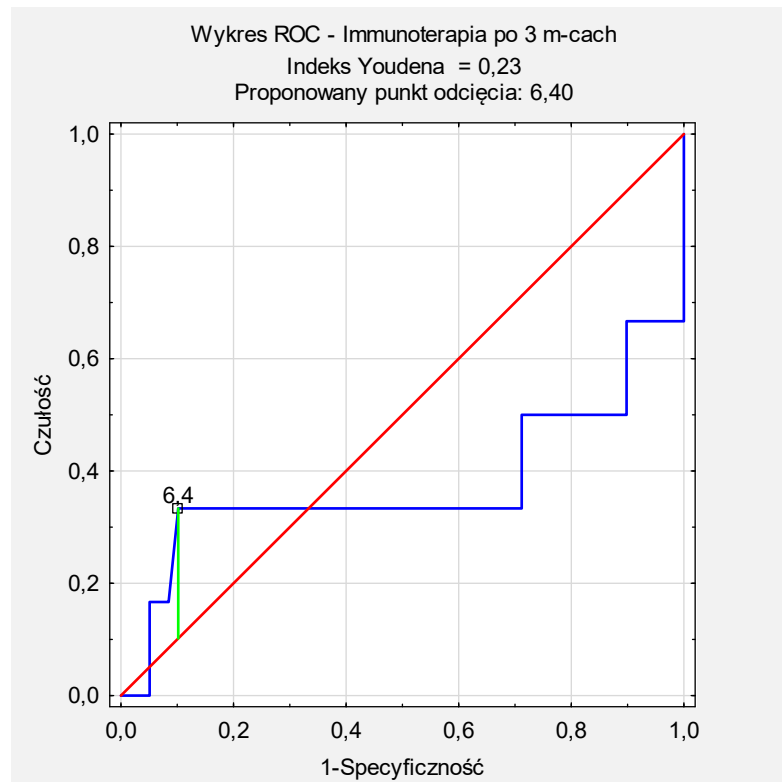
**Rycina 37.** Krzywa ROC dla NLR - kurs 2 - dla przewidywania zgonu osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych.



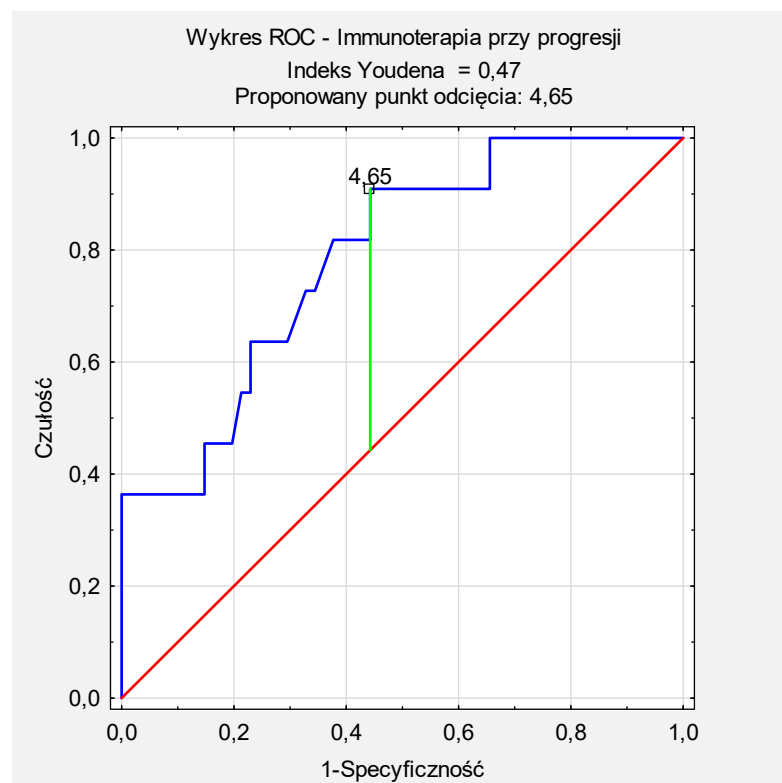
**Rycina 38.** Krzywa ROC dla NLR - kurs 3 - dla przewidywania zgonu osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych.



**Rycina 39.** Krzywa ROC dla NLR po 3 m-cach dla przewidywania zgonu osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych.



**Rycina 40.** Krzywa ROC dla NLR przy progresji dla przewidywania zgonu osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych.



**Tabela 49.** Punkt odcięcia wyznaczony według indeksu Youdena oraz ocena czułości, specyficzności i dokładności dla badanej zmiennej osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych.

Zmienna	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Wartość NLR przy progresji	4,65	0,47	0,611	0,557	0,909	10	1	27	34	≥4,65

**Legenda:** 1: Optymalny punkt odcięcia; 2: Wartość indeksu Youdena; 3: Dokładność; 4: Czułość; 5: Specyficzność; 6. Prawdziwie dodatnie; 7: Falszywie ujemne; 8: Falszywie dodatnie; 9: Prawdziwie ujemne; 10: Reguła predykcyjna dla Zgon = tak.

**Tabela 50.** Związek między ocenianą zmienną (dychotomizowaną według wyżej wyznaczonego punktu odcięcia) oraz ryzykiem zgonu u osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych.

Zmienna	Zgon		Wartość p	OR	95%CI
	Nie	Tak			
Wartość NLR przy progresji	<4,65	34	1	0,004	12,59
	≥4,65	27	10		

OR – iloraz szans; CI – przedział ufności

Na podstawie przeprowadzonej analizy wykazano 12-krotnie większe ryzyko zgonu wśród chorych z wartością NLR przy progresji wyższą lub równą 4,65, w porównaniu do pacjentów, u których wynik był poniżej tej wartości.

#### 4.16.2 Analiza własności predykcyjnych NLR dla wystąpienia zgonu od rozpoczęcia leczenia w grupie otrzymującej terapię celowaną

Poziom NLR nie różnił się istotnie statystycznie pomiędzy osobami, które zmarły i przeżyły w grupie osób leczonych terapią celowaną (tabela 51, rycina 41-45). Poziom NLR na wysokości 2 kursu, 3 kursu oraz NLR po 3 miesiącach terapii wykazywał istotną statystycznie korelację z wzrastającym ryzykiem zgonu od początku leczenia (tabela 52, rycina 46-50). Dla wyżej wymienionych parametrów NLR ustalono wartość punktu odcięcia wg indeksu Youdena jako 2,5. Wartości równe lub większe znamienne zwiększały ryzyko wystąpienia ocenianego punktu końcowego (tabela 53, 54). W związku z faktem, iż zmarli wszyscy analizowani pacjenci z wartością NLR poniżej 2,5, niemożliwe było wyliczenie wskaźnika ryzyka OR (zerowa liczebność w tabeli kontyngencji) (tabela 54).

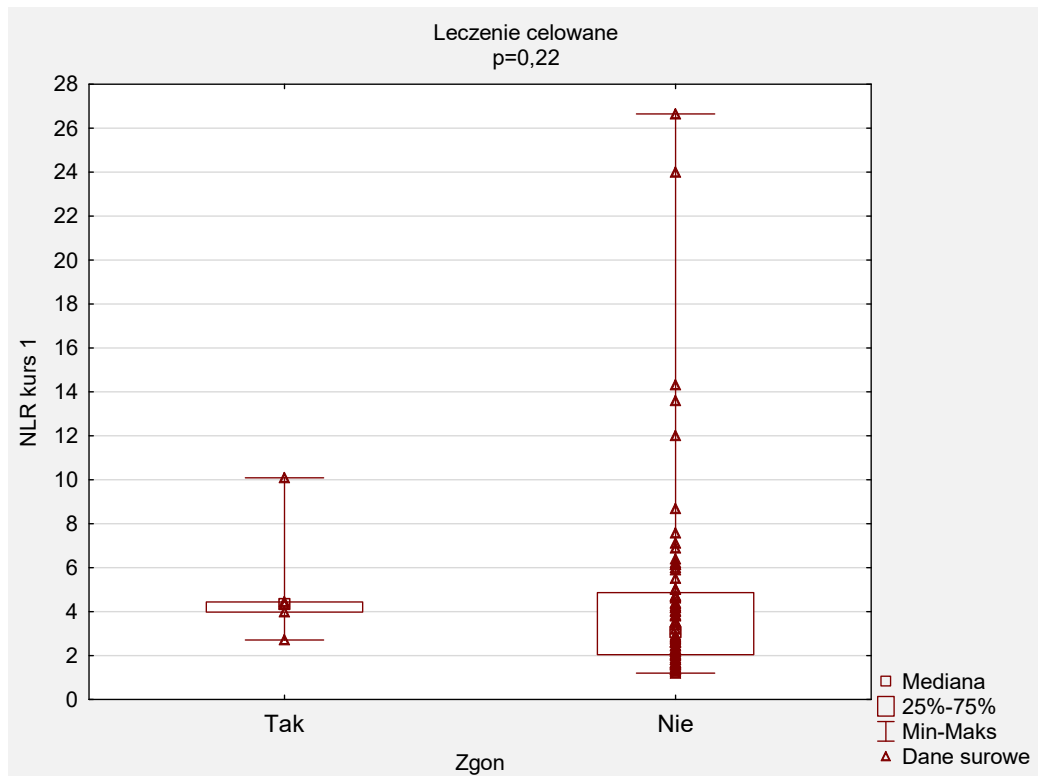
**Tabela 51.** Charakterystyka rozkładu NLR w zależności od wystąpienia zgonu u osób leczonych terapią celowaną.

Zmienna	Zgon															Wartość p*
	Nie							Tak								
	$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD	$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD		
NLR – 1 kurs	4,79	3,38	1,20	26,7	2,19	5,04	4,87	3,78	3,83	1,37	10,1	2,24	4,34	2,27	0,22	
NLR – 2 kurs	3,21	2,50	0,57	10,8	1,62	4,00	2,20	2,47	2,12	0,77	5,3	1,54	3,25	1,31	0,16	
NLR – 3 kurs	3,20	2,56	0,45	8,9	1,68	4,26	2,13	2,34	1,97	0,59	5,2	1,47	2,72	1,46	0,11	
NLR po 3 miesiącach	3,17	2,46	0,81	8,8	1,71	4,00	2,08	1,95	1,83	0,90	3,1	1,28	2,58	0,78	0,17	
NLR przy progresji	5,15	4,20	1,41	31,0	2,80	6,00	4,48	3,06	2,60	1,47	10,1	1,79	3,05	2,40	0,26	

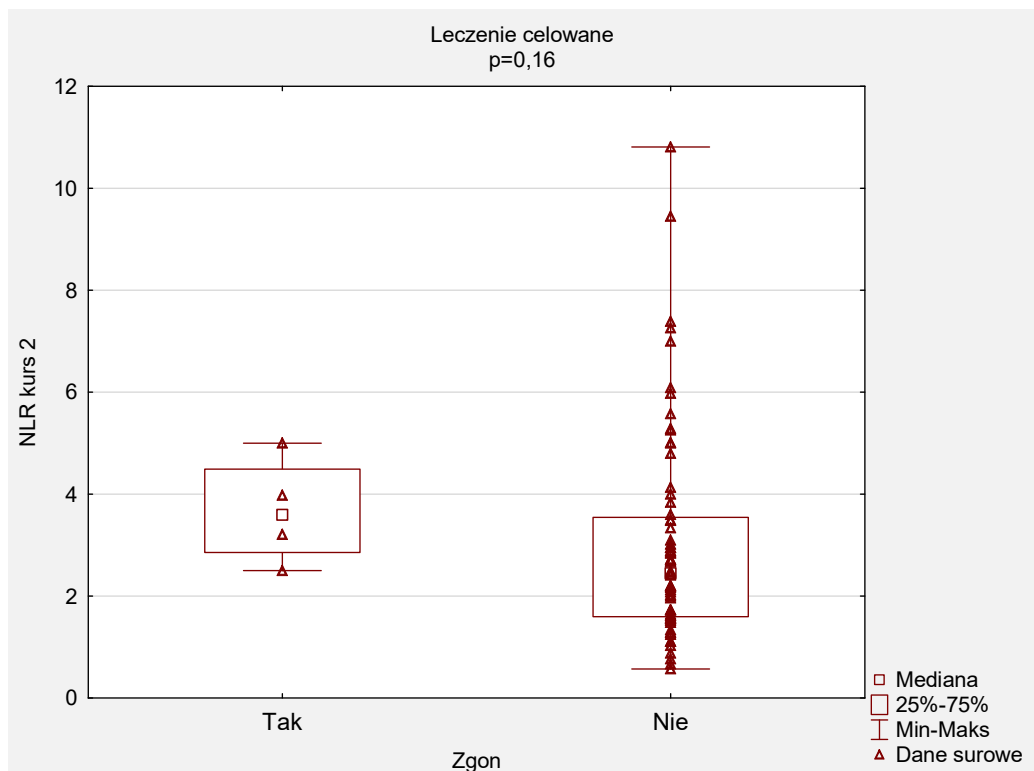
$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; Q1 – kwartył pierwszy; Q3 – kwartył trzeci; Min – wartość minimalna; Max – wartość maksymalna; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób; % – procent osób; \*test U Manna-Whitneya



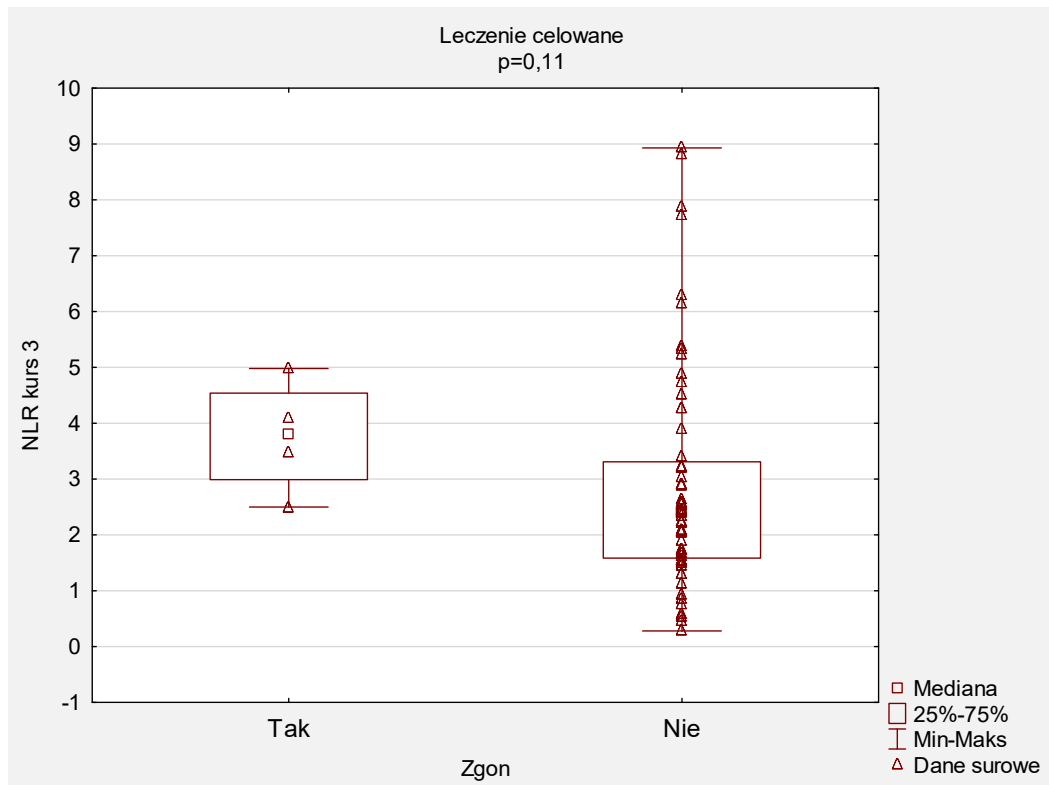
**Rycina 41.** Rozkład NLR kurs 1 w zależności od zmiennej: wystąpienie zgonu u osób leczonych terapią celowaną.



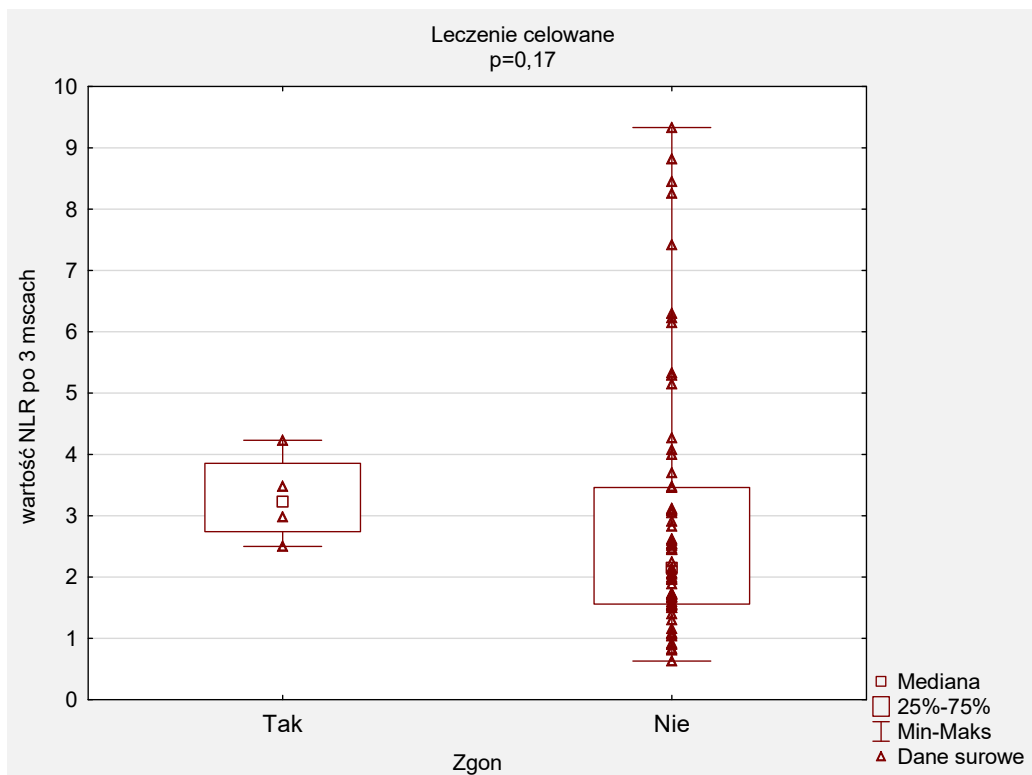
**Rycina 42.** Rozkład NLR kurs 2 w zależności od zmiennej: wystąpienie zgonu u osób leczonych terapią celowaną.



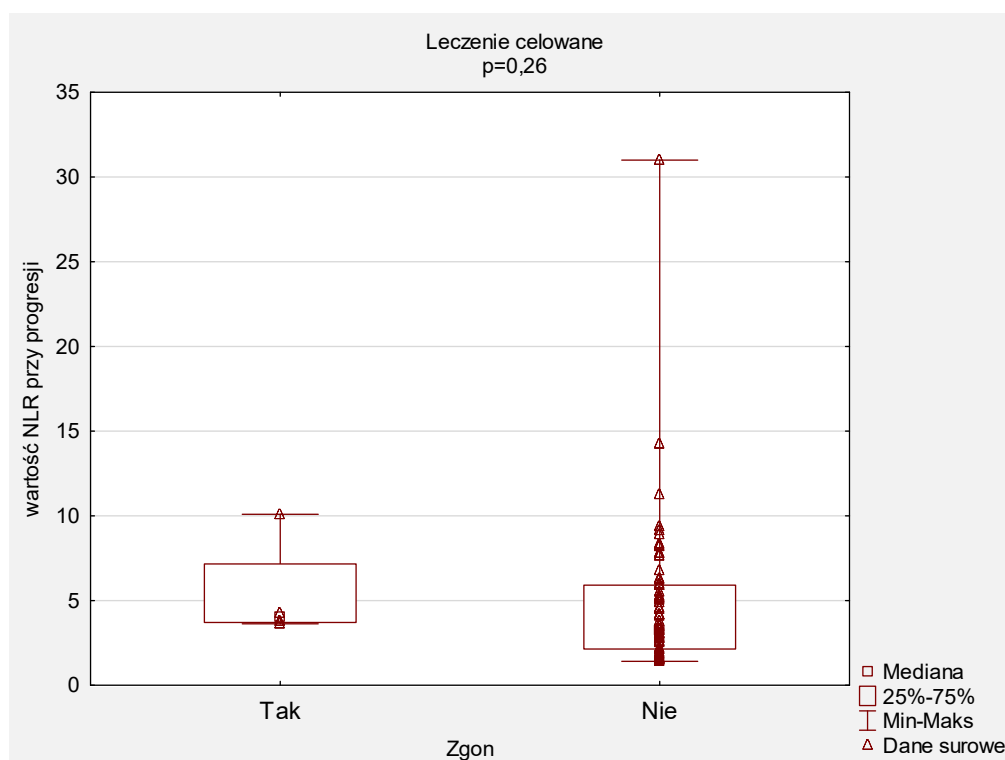
**Rycina 43.** Rozkład NLR kurs 3 w zależności od zmiennej: wystąpienie zgonu u osób leczonych terapią celowaną.



**Rycina 44.** Rozkład NLR po 3 miesiącach leczenia w zależności od zmiennej: wystąpienie zgonu u osób leczonych terapią celowaną.



**Rycina 45.** Rozkład NLR przy progresji w zależności od zmiennej: wystąpienie zgonu u osób leczonych terapią celowaną.

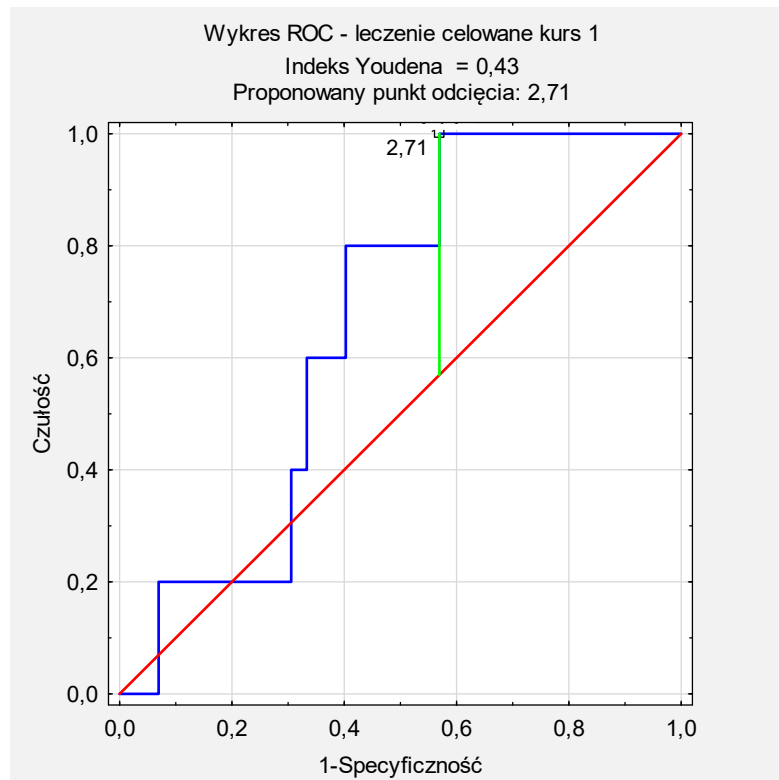


**Tabela 52.** Wynik analizy ROC dla możliwości przewidywania zgonu od rozpoczęcia leczenia na podstawie NLR u osób leczonych leczeniem celowanym.

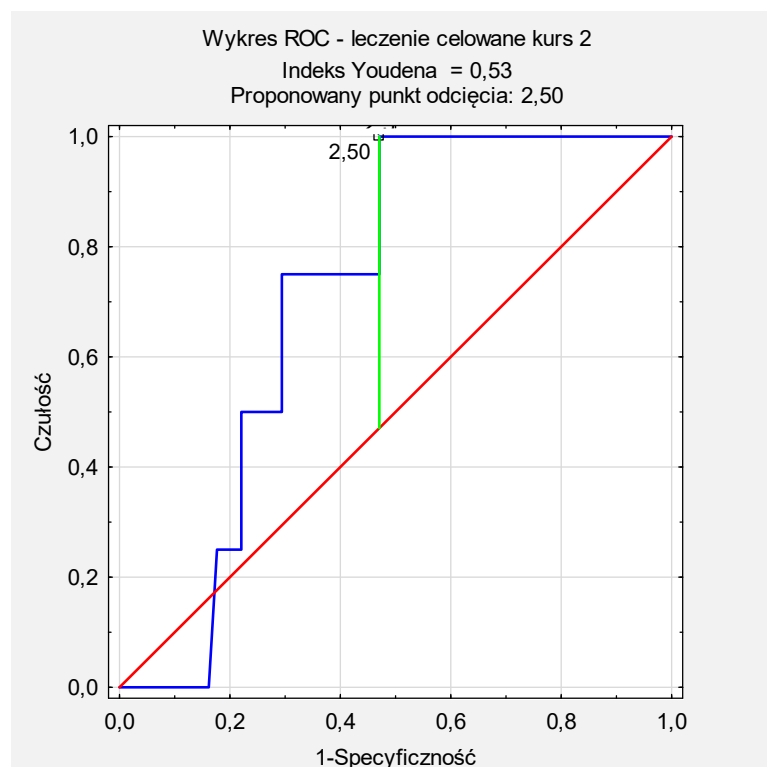
Zmienna	AUC	SE	AUC Dolny 95%	AUC Górny 95%	z	p
NLR – 1 kurs	0,664	0,09	0,50	0,83	1,92	0,054
NLR – 2 kurs	0,711	0,07	0,57	0,86	2,84	0,005
NLR – 3 kurs	0,742	0,07	0,60	0,89	3,33	0,001
NLR po 3 miesiącach	0,706	0,10	0,57	0,84	2,99	0,003
NLR przy progresji	0,669	0,10	0,48	0,86	1,75	0,080

AUC – pole pod krzywą; SE – błąd standardowy

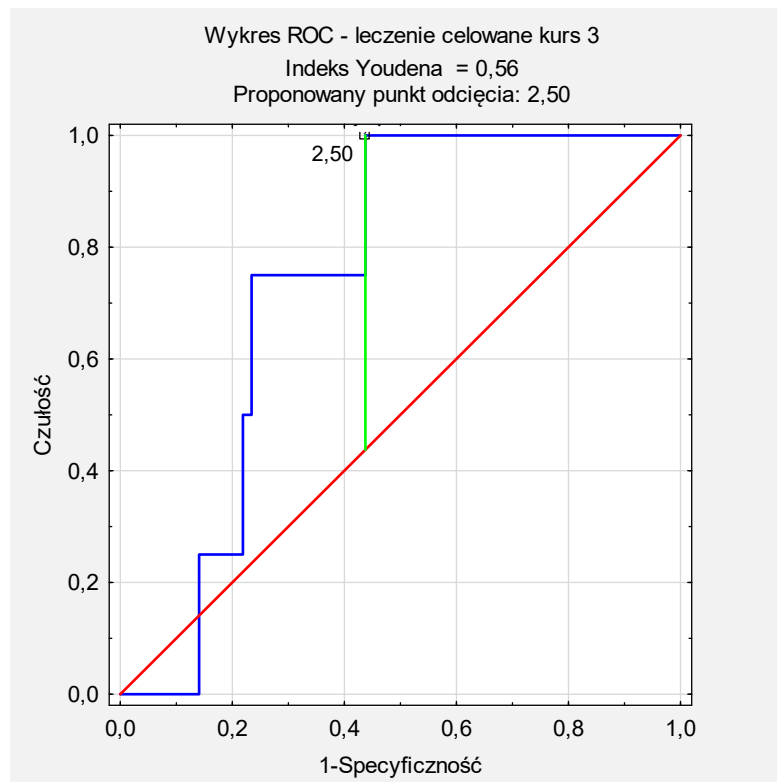
**Rycina 46.** Krzywa ROC dla NLR kurs 1 dla przewidywania zgonu osób leczonych leczeniem celowanym.



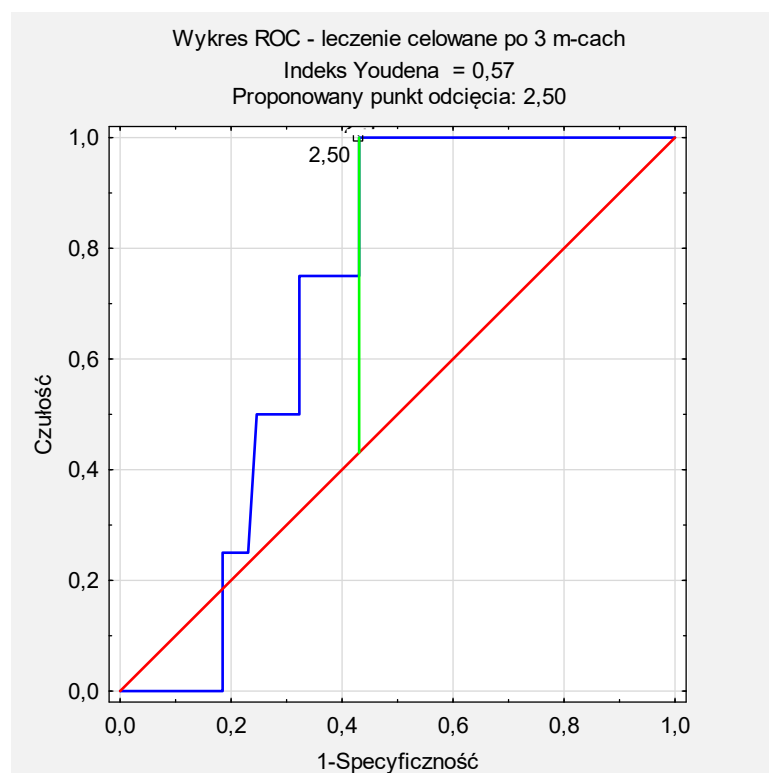
**Rycina 47.** Krzywa ROC dla NLR kurs 2 dla przewidywania zgonu osób leczonych leczeniem celowanym.



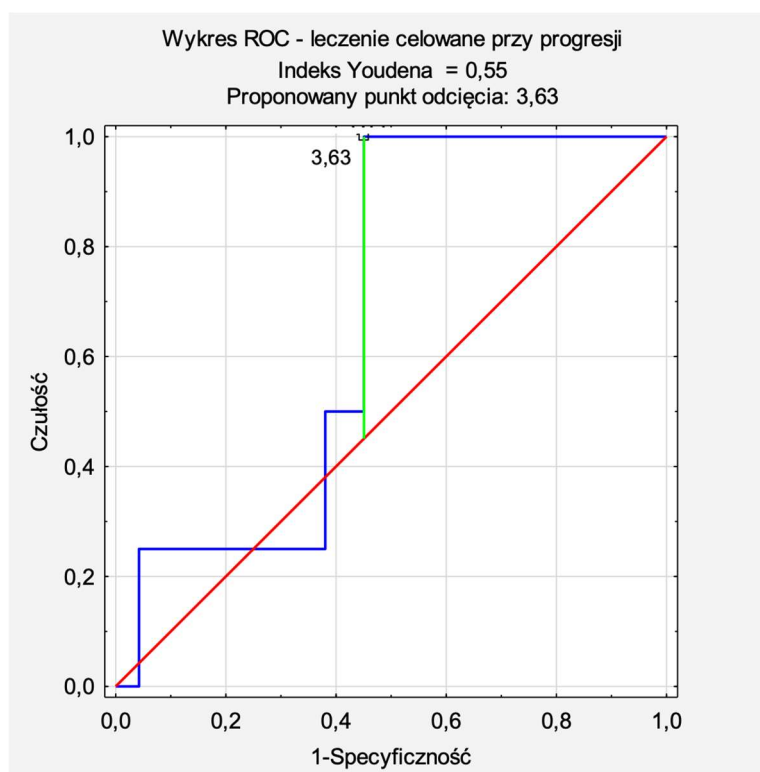
**Rycina 48.** Krzywa ROC dla NLR kurs 3 dla przewidywania zgonu osób leczonych leczeniem celowanym.



**Rycina 49.** Krzywa ROC dla NLR po 3 m-cach dla przewidywania zgonu osób leczonych leczeniem celowanym.



**Rycina 50.** Krzywa ROC dla NLR przy progresji dla przewidywania zgonu osób leczonych leczeniem celowanym.



**Tabela 53.** Punkt odcięcia wyznaczony według indeksu Youdena oraz ocena czułości, specyficzności i dokładności dla badanej zmiennej osób leczonych leczeniem celowanym.

Zmienna	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
NLR – 2 kurs	2,50	0,53	0,500	0,471	1,00	4	0	36	32	≥ 2,50
NLR – 3 kurs	2,50	0,56	0,500	0,471	1,00	4	0	36	32	≥ 2,50
NLR po 3 miesiącach	2,50	0,57	0,551	0,523	1,00	4	0	31	34	≥ 2,50

**Legenda:** 1: Optymalny punkt odcięcia; 2: Wartość indeksu Youdena; 3: Dokładność; 4: Czulość; 5: Specyficzność; 6. Prawdziwie dodatnie; 7: Falszywie ujemne; 8: Falszywie dodatnie; 9: Prawdziwie ujemnie; 10: Reguła predykcyjna dla Zgon = tak.

**Tabela 54.** Związek między ocenianą zmienną (dychotomizowaną według wyżej wyznaczonego punktu odcięcia) oraz ryzykiem zgonu u osób leczonych leczeniem celowanym.

Zmienna	Zgon		Wartość p	OR*	95%CI
	Nie	Tak			
Wskaźnik neutrofilowo-limfocytarny (NLR) – 2 kurs	<2,50	32	0	0,065	-
	≥2,50	26	4		
Wskaźnik neutrofilowo-limfocytarny (NLR) – 3 kurs	<2,50	32	0	0,065	-
	≥2,50	26	4		
Wartość NLR po 3 miesiącach	<2,50	34	0	0,042	-
	≥2,50	31	4		
<i>*nie wyznaczono (zerowa liczebność w tabeli kontyngencji)</i>					

#### 4.17 Analiza własności predykcyjnych bezwzględnej liczby neutrofilów oraz limfocytów dla wystąpienia progresji od rozpoczęcia leczenia w grupie otrzymującej inhibitory punktów kontrolnych oraz terapię celowaną

Bezwzględną wartość neutrofilów oraz limfocytów oceniono pod kątem znaczenia predykcyjnego dla przewidywania progresji od rozpoczęcia leczenia inhibitorami punktów kontrolnych i leczenia celowanego. Jako zmienną przewidywaną przyjęto wystąpienie progresji od rozpoczęcia leczenia.

##### 4.17.1 Analiza własności predykcyjnych bezwzględnej liczby neutrofilów oraz limfocytów dla wystąpienia progresji od rozpoczęcia leczenia w grupie otrzymującej inhibitory punktów kontrolnych

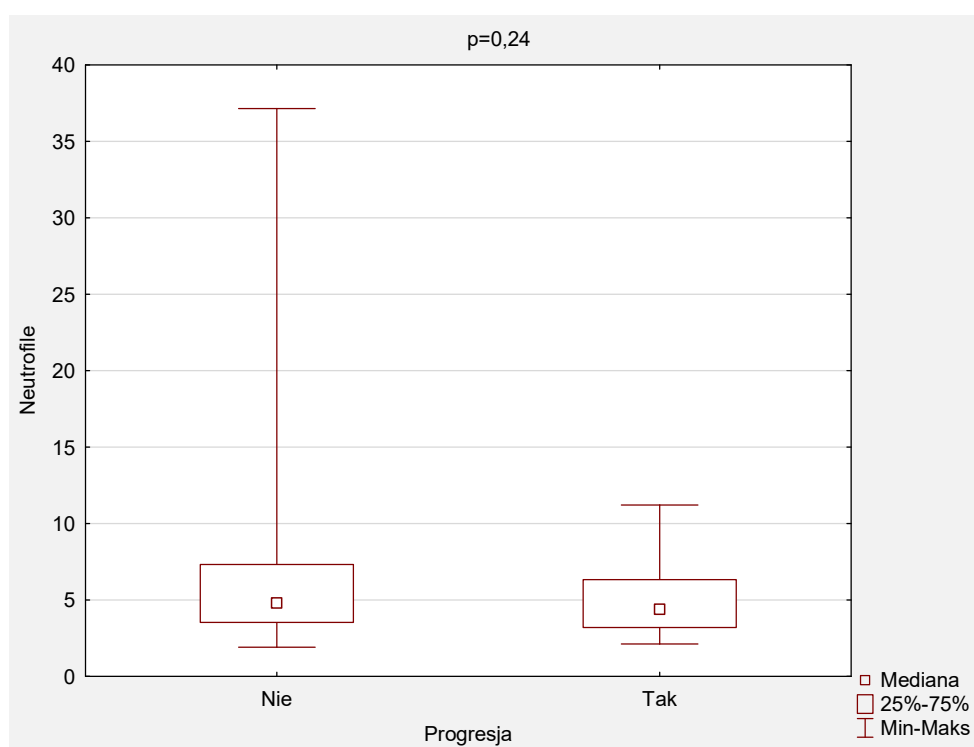
Poziom bezwzględnej liczby neutrofilów oraz limfocytów nie różnił się istotnie statystycznie pomiędzy osobami otrzymującymi inhibitory punktów kontrolnych, u których wykryto progresję lub nie (tabela 55, ryciny 51-52). Dla tych parametrów ustalono wartość punktu odcięcia wg indeksu Youdena, jednak wyniki były nieistotne statystycznie (tabela 56, ryciny 53-54).

**Tabela 55.** Charakterystyka rozkładu neutrofilii i limfocytów w zależności od wystąpienia progresji u osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych.

Zmienna	Progresja															Wartość p*
	Nie							Tak								
	$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD	$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD		
Bezwzględna liczba neutrofilii ANC ( $10^3/\mu\text{l}$ )	5,1	4,4	2,1	11,2	3,2	6,3	2,5	6,1	4,8	1,9	37,2	3,5	7,3	4,2	0,24	
Bezwzględna liczba limfocytów ALC ( $10^3/\mu\text{l}$ )	1,8	1,6	0,7	3,2	1,3	2,1	0,7	1,7	1,6	0,5	3,9	1,2	2,1	0,7	0,71	

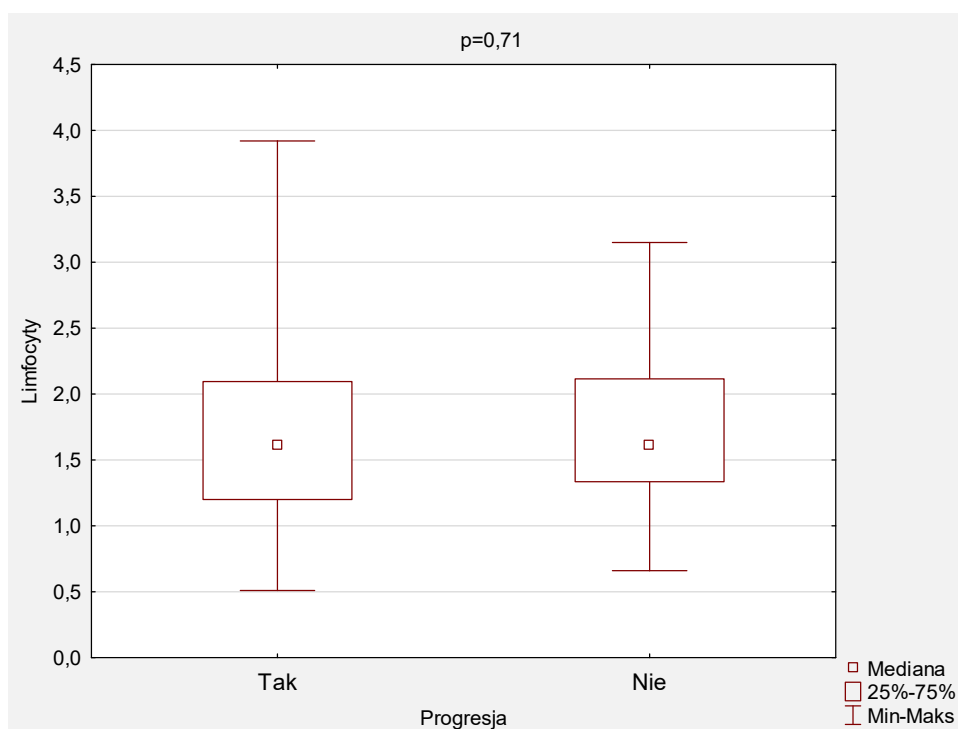
$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; Q1 – kwartył pierwszy; Q3 – kwartył trzeci; Min – wartość minimalna; Max – wartość maksymalna; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób; % – procent osób; \*test U Manna-Whitneya

**Rycina 51.** Rozkład bezwzględnej liczby neutrofilii w zależności od zmiennej: wystąpienie progresji u osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych.





**Rycina 52.** Rozkład bezwzględnej liczby limfocytów w zależności od zmiennej: wystąpienie progresji u osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych.

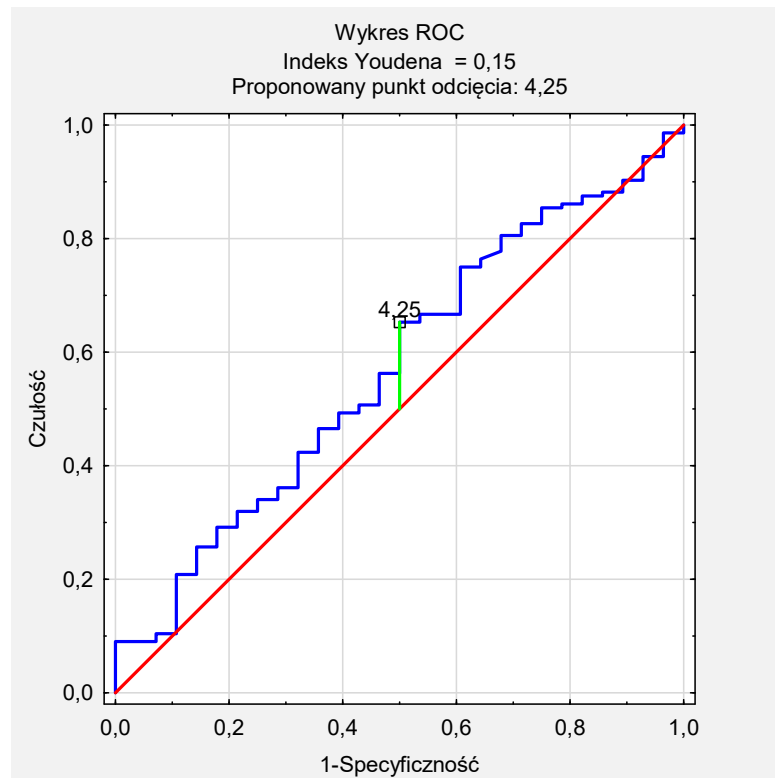


**Tabela 56.** Wynik analizy ROC dla możliwości przewidywania progresji od rozpoczęcia leczenia na podstawie poziomu bezwzględnej liczby neutrofilii i limfocytów u osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych.

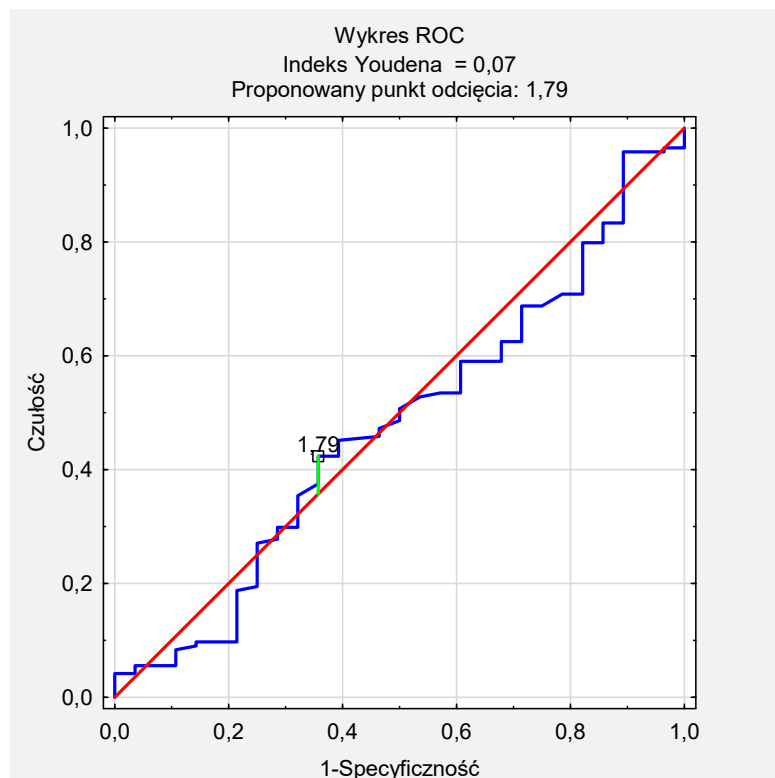
Zmienna	AUC	SE	AUC Dolny 95%	AUC Górny 95%	z	p
<b>Bezwzględna liczba neutrofilii ANC (<math>10^3/\mu\text{l}</math>)</b>	0,57	0,06	0,46	0,68	1,20	0,23
<b>Bezwzględna liczba limfocytów ALC (<math>10^3/\mu\text{l}</math>)</b>	0,49	0,06	0,36	0,59	-0,38	0,71

AUC – pole pod krzywą; SE – błąd standardowy

**Rycina 53.** Krzywa ROC dla neutrofilii dla przewidywania progresji osób leczonych immunoterapią.



**Rycina 54.** Krzywa ROC dla limfocytów dla przewidywania progresji osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych.



#### 4.17.2 Analiza własności predykcyjnych bezwzględnej liczby neutrofilii oraz limfocytów dla wystąpienia progresji od rozpoczęcia leczenia w grupie otrzymującej terapię celowaną

Poziom bezwzględnej liczby neutrofilii oraz limfocytów nie różnił się istotnie statystycznie pomiędzy osobami leczonymi lekami celowanymi, u których stwierdzono progresję lub nie (tabela 57, ryciny 55-56).

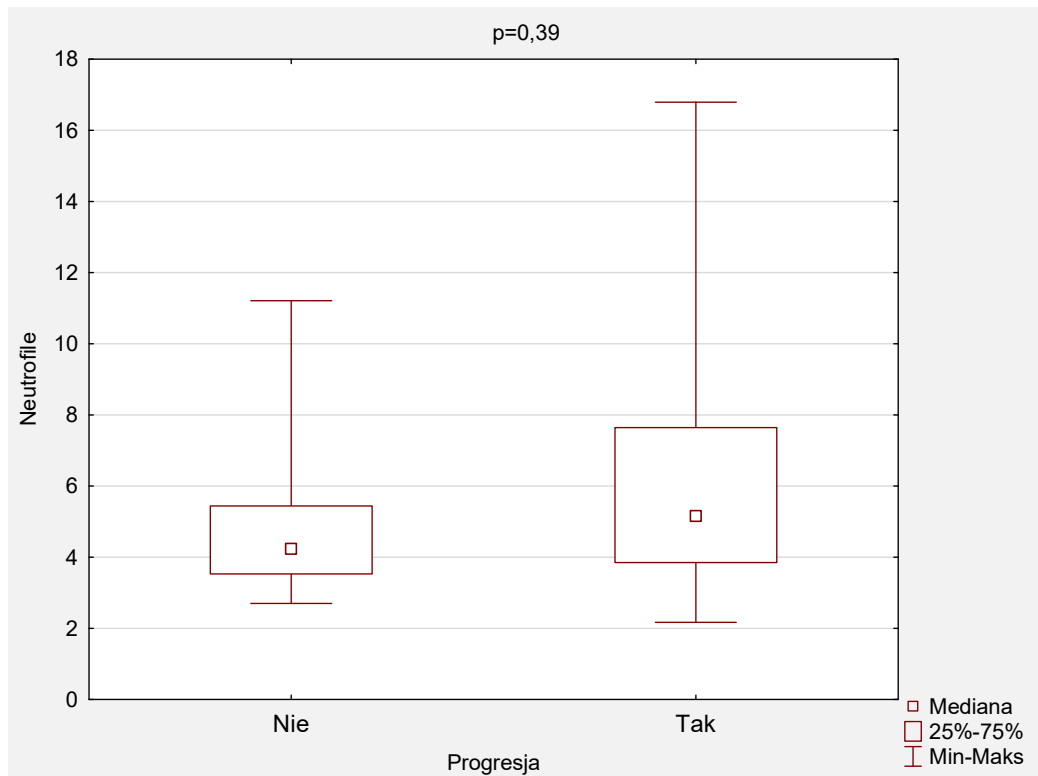
Dla wyżej wymienionych parametrów ustalono wartość punktu odcięcia wg indeksu Youdena, jednak wyniki nie były istotne statystycznie (tabela 58, ryciny 57-58).

**Tabela 57.** Charakterystyka rozkładu neutrofilii i limfocytów w zależności od wystąpienia progresji u osób leczonych terapią celowaną.

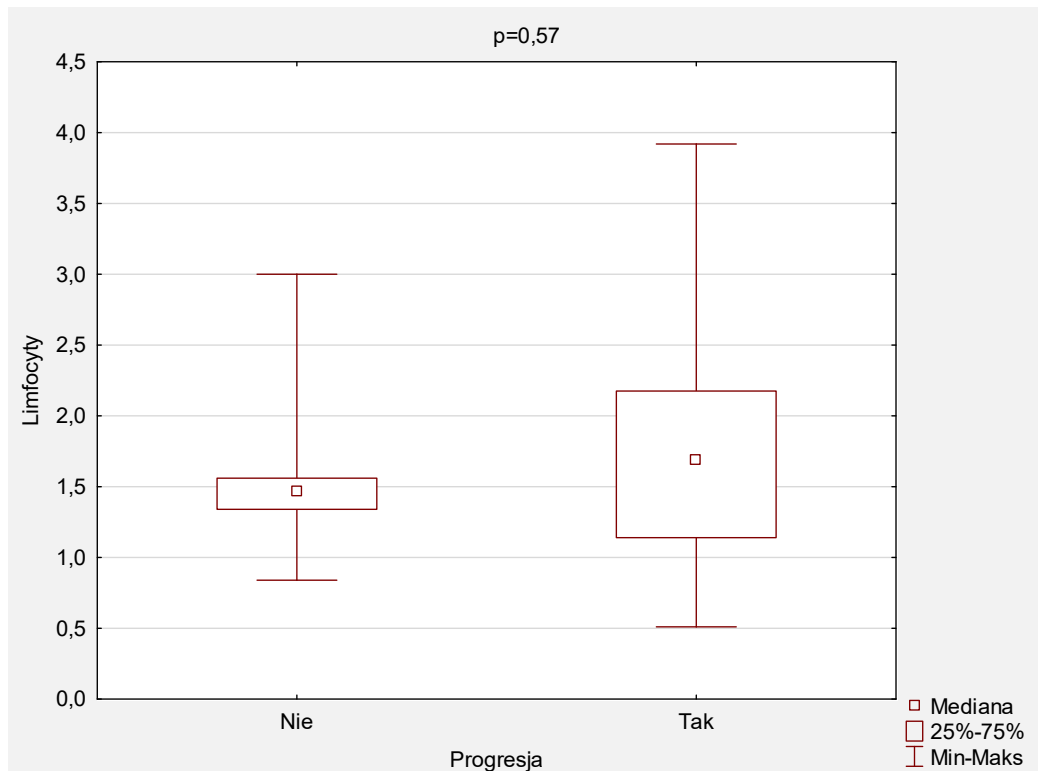
Zmienna	Progresja															Wartość p*
	Nie							Tak								
	$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD	$\bar{x}$	Me	Min	Max	Q1	Q3	SD		
Bezwzględna liczba neutrofilii ANC ( $10^3/\mu\text{l}$ )	5,1	4,2	2,7	11,2	3,5	5,4	2,6	6,2	5,2	2,2	16,8	3,9	7,6	3,3	0,39	
Bezwzględna liczba limfocytów ALC ( $10^3/\mu\text{l}$ )	1,6	1,5	0,8	3,0	1,3	1,6	0,7	1,7	1,7	0,5	3,9	1,1	2,2	0,8	0,57	

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; Q1 – kwartył pierwszy; Q3 – kwartył trzeci; Min – wartość minimalna; Max – wartość maksymalna; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób; % – procent osób; \*test U Manna-Whitneya

**Rycina 55.** Rozkład bezwzględnej liczby neutrofilów w zależności od zmiennej: wystąpienie progresji u osób leczonych terapią celowaną.



**Rycina 56.** Rozkład bezwzględnej liczby limfocytów w zależności od zmiennej: wystąpienie progresji u osób leczonych terapią celowaną.

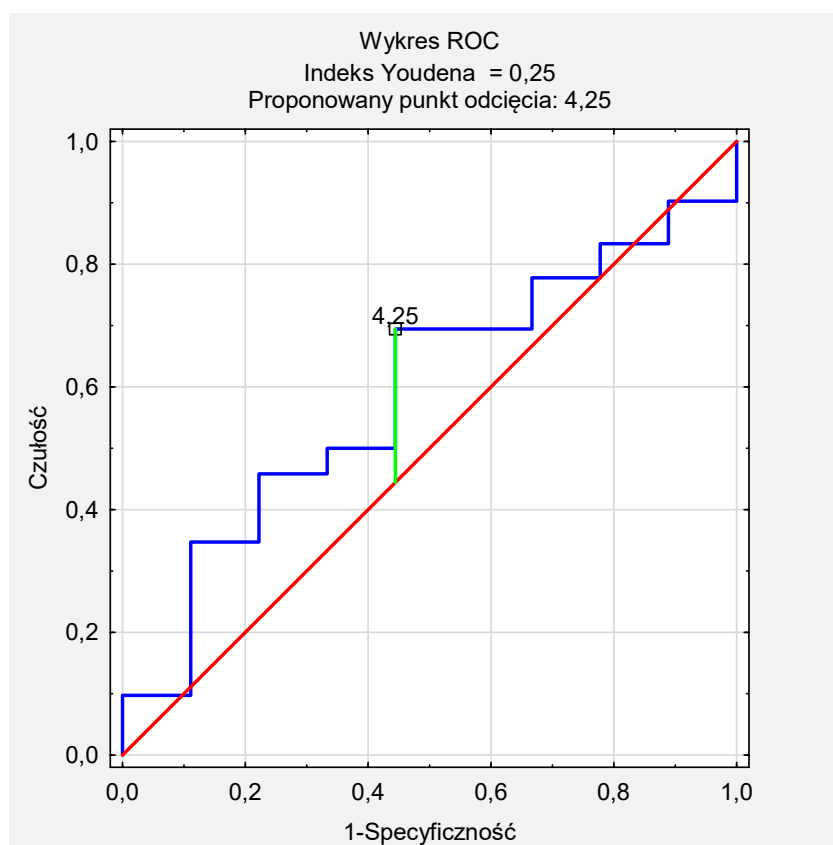


**Tabela 58.** Wynik analizy ROC dla możliwości przewidywania progresji od rozpoczęcia leczenia na podstawie poziomu bezwzględnej liczby neutrofilów i limfocytów u osób leczonych terapią celowaną.

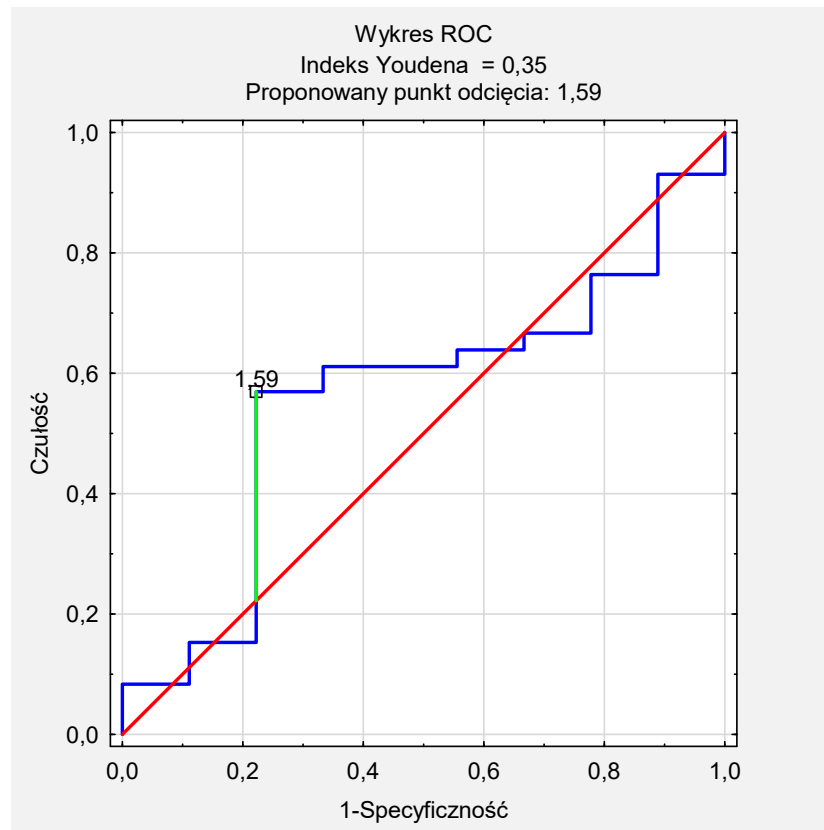
Zmienna	AUC	SE	AUC Dolny 95%	AUC Górny 95%	z	p
Bezwzględna liczba neutrofilów ANC ( $10^3/\mu\text{l}$ )	0,59	0,09	0,41	0,77	0,98	0,33
Bezwzględna liczba limfocytów ALC ( $10^3/\mu\text{l}$ )	0,56	0,10	0,37	0,75	0,62	0,54

AUC – pole pod krzywą; SE – błąd standardowy

**Rycina 57.** Krzywa ROC dla bezwzględnej liczby neutrofilów dla przewidywania progresji osób leczonych terapią celowaną.



**Rycina 58.** Krzywa ROC dla bezwzględnej liczby limfocytów dla przewidywania progresji osób leczonych terapią celowaną.

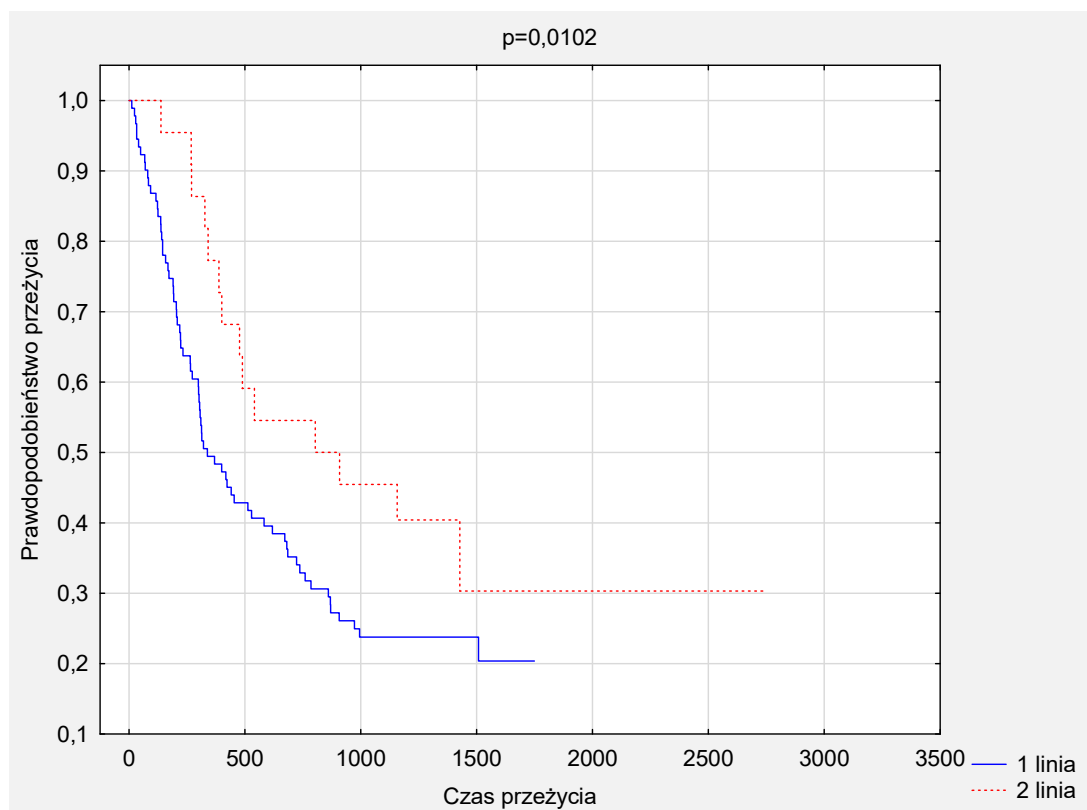


## 4.18 Analiza prawdopodobieństwa przeżycia oraz progresji w zależności od zastosowanej sekwencji leczenia

### 4.18.1 Analiza prawdopodobieństwa przeżycia w zależności od zastosowanej sekwencji leczenia

Analizie poddano prawdopodobieństwo przeżycia w zależności od linii (linia 1 vs. linia 2), w której zastosowano inhibitory punktów kontrolnych (niwolumab lub pembrolizumab). Porównanie prawdopodobieństwa przeżycia przedstawiono na krzywych przeżycia Kaplana-Meiera (rycina 59). Wykazano istotne statystycznie różnice czasu przeżycia w zależności od linii leczenia, w której podano pembrolizumab lub niwolumab ( $p=0,0102$ ).

**Rycina 59.** Porównanie krzywych przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od linii leczenia, w której zastosowano inhibitory punktów kontrolnych.



Statystyki opisowe dla czasu przeżycia z uwzględnieniem wystąpienia zgonu i uciętych obserwacji w zależności od linii leczenia, w której zastosowano inhibitory punktów kontrolnych przedstawia tabela 59. Mediana czasu przeżycia osób, u których stosowano pembrolizumab lub niwolumab w 1 linii wyniosła 338,0 dni (średnio 576,6 dnia; SD=499,6 dnia) a zgon nastąpił u 70 (77%) badanych. Mediana czasu przeżycia chorych, wśród których zastosowano pembrolizumab lub niwolumab w 2 linii wyniosła 855,5 dnia (średnio 934,1 dnia; SD=651,1 dnia). Zgon odnotowano u 14 (64%) badanych.

**Tabela 59.** Czas do zgonu [dni] w zależności od linii leczenia, w której zastosowano inhibitory punktów kontrolnych.

Linia leczenia	Grupa badana					
	Me	$\bar{x}$	SD	Zgon	Ucięte obserwacje	n
1 linia	338,0	576,6	499,6	70	21	91
2 linia	855,5	934,1	651,1	14	8	22

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób



#### 4.18.2 Analiza prawdopodobieństwa progresji w zależności od zastosowanej sekwencji leczenia

Kolejnym etapem analizy było porównanie prawdopodobieństwa progresji w zależności od czasu, w którym zastosowano inhibitory punktów kontrolnych (1 linia vs. 2 linia). Porównanie prawdopodobieństwa progresji w zależności od linii leczenia przedstawiono na krzywych Kaplana-Meiera – rycina 60). Wykazano istotne statystycznie różnice czasu do progresji w zależności od linii, w której zastosowano niwolumab lub pembrolizumablinii ( $p=0,045$ ).

**Rycina 60.** Porównanie krzywych do progresji Kaplana-Meiera w zależności od linii leczenia, w której zastosowano inhibitory punktów kontrolnych.

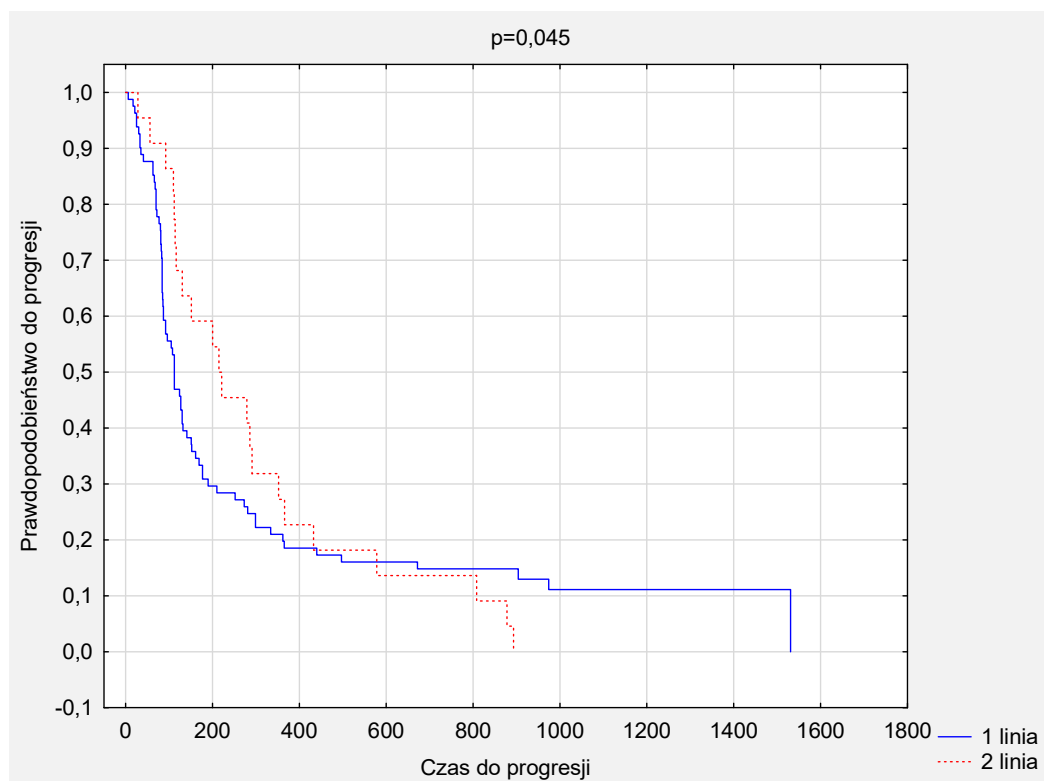


Tabela 60 przedstawia statystyki opisowe dla czasu do progresji z uwzględnieniem wystąpienia progresji i uciętych obserwacji w zależności od linii leczenia, w której zastosowano inhibitory punktów kontrolnych. Mediana czasu do progresji wśród osób, u których zastosowano pembrolizumab lub niwolumab w pierwszej linii wyniosła 112 dni (średnio 274,5 dnia; SD=360,4 dnia) a zgon nastąpił u 72 (89%) badanych. Mediana czasu do progresji u osób, u których wyżej wymienione leczenie zastosowano w 2 linii wyniosła 218,0 dni (średnio 305,0 dni; SD=261,6 dnia). Zgon odnotowano u 22 (100%) badanych.

**Tabela 60.** Czas do progresji [dni] w zależności od linii leczenia, w której zastosowano inhibitory punktów kontrolnych.

Linia leczenia	Grupa badana					
	Me	$\bar{x}$	SD	Zgon	Ucięte obserwacje	n
<b>1 linia</b>	112,0	274,5	360,4	72	9	81
<b>2 linia</b>	218,0	305,0	261,6	22	0	22

$\bar{x}$  – średnia; Me – mediana; SD – odchylenie standardowe; n – liczba osób

## 5. Dyskusja

Dyskusja składa się z czterech części. Podział został dokonany ze względu na poruszaną tematykę. Część pierwsza dotyczy omówienia zastosowanych leków, osiągniętych wyników terapii oraz porównania ich z danymi z literatury. W części drugiej porównano dwie podgrupy z dodatnią oraz ujemną mutacją *BRAF*. Podrozdział trzeci dotyczy oceny optymalnej sekwencji leczenia. Ostatnia, czwarta część została poświęcona analizie parametrów układu leukocytarnego, ich znaczenia rokowniczego oraz predykcyjnego.

### Część 1

Badaną grupę stanowiło 173 pacjentów, którzy w latach 2013-2018 zostali zakwalifikowani do leczenia systemowego w ramach programu lekowego z powodu rozsialego lub zaawansowanego miejscowo nieresekcyjnego czerniaka. Do analizy czasowej włączono 172 chorych z powodu braku dokładnej daty zgonu jednego pacjenta. Dzień ostatniej obserwacji to 1 grudzień 2021 rok. Mediana czasu od początku leczenia do ostatniej obserwacji lub zgonu wyniosła 11 miesięcy (337,5 dnia) (średnio 580,2 dnia; SD=526,3 dnia). Zgon dotyczył 134 badanych (77%). Ucięte obserwacje odnotowano u 38 osób. Mediana czasu od początku leczenia do stwierdzenia progresji wynosiła 4,6 miesiąca (140,5 dnia) (średnio 258 dni; SD=301,9 dnia). 92 pacjentów (n=53%) uzyskało całkowitą remisję lub częściową odpowiedź na zastosowane leczenie. Odsetek przeżyć 12-miesięcznych wyniósł 48%, 2-letnich 32%, 3-letnich 23%, 4-letnich 21% a 5-letnich 19%. 12-miesięczny PFS dotyczył 18% pacjentów, 2-letni PFS 11%, 3-letni 5%, 4-letni 5%, 5-letni PFS 0%.

Na podstawie przeprowadzonej analizy stwierdzono dłuższy czas całkowitego przeżycia oraz czas wolny od progresji w przypadku pacjentów, którzy otrzymali inhibitory punktów kontrolnych czyli pembrolizumab lub niwolumab w drugiej linii leczenia po zastosowaniu terapii celowanej. Mediany czasu przeżycia różniły się istotnie statystycznie (338,0 dni vs. 855,5 dni). Również mediana PFS była dłuższa w przypadku zastosowania immunoterapii anty-PD-1 w drugiej linii (112,0 dni vs. 218,0 dni).

W grupie badanej zidentyfikowano negatywne czynniki rokownicze, które należą do powszechnie uznanych w literaturze czynników prognostycznych dla zaawansowanego czerniaka. Krótsza mediana czasu przeżycia charakteryzowała pacjentów w gorszym stanie ogólnym. Chorzy w stanie sprawności ECOG 2 posiadali dwukrotnie większe ryzyko zgonu

w porównaniu do pacjentów ECOG 1. Wyższe ryzyko związane było także z większą ilością przerzutów. Istotny statystycznie wpływ na śmiertelność miała wartość dehydrogenazy mleczanowej. Pacjenci z wartością dehydrogenazy w surowicy przekraczającą od 2 do 5 razy górną granicę normy obciążeni byli 3-krotnie większym ryzykiem zgonu. Złe rokowanie dotyczyło pacjentów z przerzutami do ośrodkowego układu nerwowego, wątroby oraz do tzw. innych lokalizacji (zmiany przerzutowe usytuowane poza: węzłami chłonnymi, skórą, tkanką podskórną, płucami, wątrobą).

Wśród czynników rokowniczych uzyskanych z wyniku histopatologicznego usunięcia zmiany pierwotnej obecność inwazji naczyń krwionośnych oraz chłonnych związana była z prawie dwukrotnie większym ryzykiem zgonu. Udowodniono również wzrost ryzyka śmierci wraz z większą ilością dodatnich węzłów wartowniczych.

Wyższa bezwzględna liczba neutrofilii oraz wyższa wartość NLR korelowała z większym ryzykiem zgonu.

Korelację wykazywał także rodzaj osiągniętej odpowiedzi radiologicznej na zastosowane leczenie. Pacjenci, u których stwierdzono stabilizację lub progresję choroby charakteryzowali się odpowiednio 14-krotnie ( $HR=14,16$ ;  $p=0,040$ ) oraz prawie 18-krotnie ( $HR=17,86$ ;  $p<0,001$ ) zwiększonym ryzykiem zgonu w stosunku do pacjentów, którzy uzyskali całkowitą remisję choroby.

Tylko dwa czynniki wpływały na zmniejszenie ryzyka zgonu: czas trwania leczenia ( $HR=0,997$ ;  $p<0,001$ ) oraz związana z tym ilość cykli terapii ( $HR=0,91$ ;  $p<0,001$ ). W przeprowadzonej analizie nie potwierdzono istotnego statystycznie wpływu innych badanych parametrów. Zarówno grubość nacieku wg Breslowa ( $p=0,28$ ) jak i obecność owrzodzenia ( $p=0,46$ ) nie miały istotnego statystycznie wpływu na OS i PFS w zaawansowanym czerniaku.

Analizując czynniki mające istotny statystycznie negatywny wpływ na czas wolny od progresji wykazano: stan ogólny pacjenta, ilość mitoz w polu widzenia, naciekanie naczyń krwionośnych oraz chłonnych, wyższą bezwzględną liczbę neutrofilii oraz wyższą wartość NLR.

Pacjenci w stanie sprawności ECOG 2 charakteryzowali się dwukrotnie zwiększonym ryzykiem progresji ( $HR=1,96$ ;  $p=0,016$ ), względem osób w stanie ogólnym dobrym (ECOG 1).

Wzrost ryzyka progresji korelował z większą ilością figur podziału ( $HR=1,05$ ; 95% CI: 1,01-1,10;  $p=0,009$ ) w badaniu histopatologicznym zmiany pierwotnej. Dodatkowo naciekanie naczyń chłonnych oraz krwionośnych prawie dwukrotnie zwiększało ryzyko

progresji, odpowiednio (HR 1,84; 95% CI: 1,21-2,82; p=0,020) oraz (HR 1,94; 95% CI: 1,28-2,95; p=0,010).

Wśród parametrów układu leukocytarnego wymienić należy wpływ bezwzględnej liczby neutrofilów na wzrost ryzyka progresji (HR=1,05; 95% CI: 1,01-1,10; p=0,021). Tę samą korelację stwierdzono dla wyższych wartości NLR na wysokości 2 kursu (HR=1,11; 95% CI: 1,04-1,19; p=0,003) i po 3 miesiącach terapii (HR=1,23; 95% CI: 1,13-1,35; p<0,001).

Większa ilość cykli w 1 linii (HR=0,90; 95% CI: 0,88-0,92; p<0,001) wpływała na zmniejszenie ryzyka progresji choroby. W przeprowadzonej analizie nie potwierdzono istotnego statystycznie wpływu innych parametrów na progresję.

Dane zebrane w grupie badanej dotyczące zastosowanych leków zostały porównane do danych zaczerpniętych z badań klinicznych oraz danych z codziennej praktyki. Należy pamiętać, że analizowani pacjenci leczeni w DCOPIH w latach 2013-2018 to grupa charakteryzująca się znacznym odsetkiem pacjentów z rozpoznaniem rozsiewem czerniaka do mózgowia w momencie rozpoczęcia terapii (32%).

W Polsce leczenie systemowe (z wyłączeniem chemioterapii) zaawansowanego czerniaka dostępne jest w ramach programów lekowych Ministerstwa Zdrowia [88], które ulegają regularnej aktualizacji. Wszyscy chorzy leczeni w DCOPIH w latach 2013-2018 otrzymali leki w ramach programu lekowego. Pierwszym lekiem celowanym dostępnym w Polsce od 1 marca 2013 roku dla chorych z zaawansowanym czerniakiem był wemurafenib. Następnie pacjenci uzyskali dostęp do terapii dabrafenibem. Od 2017 roku istnieje możliwość stosowania w zaawansowanym czerniaku inhibitorów *BRAF* w połączeniu z inhibitorami *MEK*, natomiast immunoterapia (niwolumab, pembrolizumab) jest dostępna od połowy 2016 roku. W dyskusji mediany OS oraz mediany PFS zostały przeliczone i przedstawione w miesiącach celem łatwiejszego zestawienia z wynikami badań klinicznych, które są podawane w miesiącach.

Analiza własna wykazała krótszy czas całkowitego przeżycia oraz czas wolny od progresji w grupie badanej w porównaniu do randomizowanych badań klinicznych. Badania rejestracyjne zastosowanych leków zostały przedstawione we wstępie pracy. W lipcu 2013 roku po raz pierwszy *iBRAF* (wemurafenib) został podany pacjentowi w DCOPIH. Chorzy otrzymujący wemurafenib osiągnęli medianę przeżycia całkowitego 11,2 miesiąca (341 dni), natomiast mediana czasu wolnego od progresji wyniosła 5,8 miesiąca (176 dni). Odsetek obiektywnych odpowiedzi (CR + PR) wyniósł 76%. Osiągnięte wyniki w zakresie OS i PFS są nieznacznie gorsze od danych uzyskanych w badaniu rejestracyjnym.

W badaniu BRIM-3 mOS wyniosła 13,3 miesiąca natomiast mPFS 6,9 miesiąca [42]. Do badania klinicznego nie zostali zakwalifikowani chorzy z rozsiewem do mózgowia. Odsetek obiektywnych odpowiedzi (CR + PR) dla wemurafenibu wynosił 48%.

Kolejnym lekiem wprowadzonym do terapii był dabrafenib należący do grupy *iBRAF*. mOS w grupie badanej własnej wyniosła 8,8 miesiąca (270 dni) a mPFS 4,9 miesiąca (151 dni). ORR dotyczył 66% chorych. W badaniu rejestracyjnym BREAK-3, należy zwrócić uwagę na możliwość cross-over pacjentów, którzy uzyskali progresję w grupie otrzymującej dakarbazynę. Z wymienionego powodu pierwszorzędnym punktem końcowym była mPFS, która wyniosła 5,1 miesiąca. Mediana czasu całkowitego przeżycia wyniosła 18,2 miesiąca [43]. Wyniki osiągnięte w DCOPiH pokrywały się w zakresie mPFS jednak mOS była prawie dwukrotnie krótsza. Może mieć to związek ze stopniem zaawansowania chorych w grupie badanej własnej.

Inhibitory *BRAF* stosowane w monoterapii powodowały występowanie wtórnych nowotworów skóry łącznie z nowymi pierwotnymi ogniskami czerniaka. Celem zminimalizowania działań ubocznych oraz wydłużenia czasu odpowiedzi do terapii zostały dołączone inhibitory *MEK* (kobimetynib oraz trametynib), powodując m.in. zmniejszenie powikłań skórnych [89]. Pacjenci otrzymujący wemurafenib z kobimetynibem osiągnęli mOS 10,9 miesiąca (332,5 dnia), natomiast mPFS 4,8 miesiąca (146 dni), ORR 63%. Wyniki zastosowania wemurafenibu z kobimetynibem analizowano w odniesieniu do badania rejestracyjnego coBRIM [45]. W badaniu rejestracyjnym chorzy uzyskali mPFS 9,9 miesiąca. Odsetek obiektywnych odpowiedzi dotyczył 68% badanych. W „The Lancet Oncology” w 2016 roku została przedstawiona aktualizacja danych łącznie z mOS [90]. mPFS wyniosła 12,3 miesiąca, natomiast mOS, obliczona po zgonie 52% badanych (sierpień 2015 rok), wyniosła 22,3 miesiąca.

Druga dostępna kombinacja leków ukierunkowanych molekularnie to dabrafenib stosowany z trametynibem. Był to najczęściej stosowany rodzaj terapii celowanej w analizowanej grupie własnej. Chorzy osiągnęli mOS 12,7 miesiąca (388 dni) natomiast mPFS oscylowała na wysokości 6,3 miesiąca (192,5 dnia). ORR wyniósł 62%. Dwa badanie rejestracyjne COMBI-v oraz COMBI-d, różniące się komparatorem, osiągnęły zbliżone do siebie wyniki: mOS 25 miesięcy oraz mPFS 11 miesięcy [48] [49]. W badaniu COMBI-d odsetek obiektywnych odpowiedzi dotyczył 67% pacjentów oraz 64% w przypadku, kiedy komparatorem był wemurafenib.

Enkorafenib oraz binimetynib, leki zarejestrowane na podstawie badania Columbus przedstawionego we wstępie pracy, nie były dostępne w latach 2013-2018 [52]. Patrząc na

wyniki badania rejestracyjnego (mOS 33,6 miesiąca, mPFS 14,9 miesiąca, ORR 64%) słusznym wydaje się przeprowadzenie w przyszłości analizy retrospektywnej stosowania wyżej wymienionych leków w DCOPIH. Potwierdzenie wyników osiągniętych w badaniu rejestracyjnym w praktyce klinicznej byłoby niezwykle pomocne przy wyborze odpowiedniej kombinacji lekowej dla chorych leczonych w Centrum Onkologii.

Znaczna część wyników osiągniętych w codziennej praktyce była zdecydowanie gorsza w porównaniu do randomizowanych badań klinicznych. Najprawdopodobniej wynika to z różnic w charakterystyce grup badanych. W związku z powyższym celowe wydaje się przeanalizowanie danych z literatury, tzw. real-life data.

Publikacja węgierska pochodząca z ośrodka w Budapeszcie przedstawia 43 pacjentów, którzy w latach 2012-2015 otrzymali wemurafenib z powodu zaawansowanego czerniaka. Lek w analizowanej grupie najczęściej był stosowany w drugiej linii leczenia (44%). U 6 osób (14%) rozpoznano rozsiew do mózgowia. Uzyskane efekty były porównywalne z osiągniętymi w analizie własnej. Mediana OS wynosiła 11,4 miesiąca, mPFS 6,4 miesiąca natomiast ORR dotyczył 51,5% chorych [91].

Inna praca opublikowana przez B.M. Lang i wsp. w 2018 roku, pochodząca z ośrodka w Mainz w Niemczech, przedstawia dane dotyczące chorych otrzymujących wemurafenib (n=40) lub ipilimumab (n=40). Pacjenci leczeni wemurafenib uzyskali mOS 8 miesięcy. W przedstawionej publikacji potwierdzono także uznane czynniki złe rokownicze, do których należą: rozsiew do mózgu oraz wątroby, podwyższona wartość LDH [92].

Cocorocchio i wsp. w 2014 roku opublikowali pracę przedstawiającą dane dotyczące leczenia 40 chorych dabrafenibem w ośrodku w Mediolanie w latach 2012-2013 z powodu zaawansowanego czerniaka. Analiza dotyczyła chorych w stanie ogólnym ECOG 0-3. Inhibitor *BRAF* podawany był w większości w pierwszej linii leczenia (n=29). Przerzuty do mózgu nie były czynnikiem wykluczającym. Chorzy otrzymywali dabrafenib w standardowej dawce. Odsetek obiektywnych odpowiedzi dotyczył 82% pacjentów w tym 7% (n=3) osiągnęło CR. mPFS wyniosła 7 miesięcy natomiast mOS 17 miesięcy [93].

Inna analiza pochodząca również z Mediolanu autorstwa S. Cavaliere i wsp. opublikowana w 2016 roku przedstawia dane dotyczące leczenia chorych dabrafenibem oraz trametinibem w latach 2013 – 2016. Ocenianą grupę stanowiło 48 chorych ze średnią wieku 48 lat. ORR dotyczył 70,8% pacjentów w tym 6,2% (n=3) osiągnęło CR. Mediana czasu do progresji wyniosła 6 miesięcy. W momencie publikacji nie została osiągnięta mPFS oraz mOS, 62,5% chorych nadal otrzymywała leczenie. 31,2% (n=15) zmarło z powodu progresji choroby [94].

W 2018 roku opublikowana została retrospektywna analiza wyników leczenia dabrafenibem oraz trametynibem wykonana przez R. Depenni i wsp. na podstawie danych zebranych w ośrodku w Modenie we Włoszech. 76 chorych w latach 2013-2017 otrzymywało dabrafenib oraz trametynib z powodu zaawansowanego czerniaka. Mediana wieku wynosiła 55 lat. Rozsiew do centralnego układu nerwowego dotyczył 20% (n=15). Wcześniejsze leczenie z powodu zaawansowanego czerniaka otrzymało 31% (n=24) chorych. Osiągnięta została mOS 14 miesięcy, natomiast mPFS wynosiła w analizowanej grupie 9 miesięcy [95].

Przedstawione publikacje podobnie jak ocena własnej grupy badanej potwierdzają skuteczność inhibitorów *BRAF* oraz inhibitorów *MEK* stosowanych razem lub inhibitorów *BRAF* w monoterapii. Przedstawione dane pochodzące z codziennej praktyki klinicznej nieznacznie różniły się w porównaniu do badań rejestracyjnych. Osiągnięte zostały głównie krótsze mediany OS, natomiast mediany PFS były zbliżone do wyników badań randomizowanych. Analiza własna przedstawia zastosowanie terapii celowanej w pierwszej linii leczenia, przedstawione publikacje uwzględniały również chorych, którzy otrzymywali leki w kolejnych liniach. Badanie własne obejmowało znaczny odsetek chorych z rozsiewem do mózgowia (32%). Czy rozsiew do mózgu może być głównym czynnikiem powodującym różnice w mOS w badaniach rejestracyjnym i danych z praktyki klinicznej? Publikacja wieloośrodkowa J. Z. Drago i wsp. z 2019 roku przedstawia dane z praktyki klinicznej dotyczące chorych leczonych *iBRAF + iMEK* z aktywnymi przerzutami do mózgowia [96]. Grupa obejmowała 65 pacjentów, średnia wieku wyniosła 49 lat. 53 pacjentów otrzymywało dabrafenib z trametynibem, 10 pacjentów wemurafenib i kobimetynib, 1 osoba otrzymała enkorafenib z binimetynibem oraz 1 pacjent wemurafenib i trametynib. mPFS wyniosła 5,3 miesiąca (95% CI: 3,6-6,1), mOS wyniosła 9,5 miesiąca (95% CI: 7,7-13,5). Mediany PFS były zbliżone do wyników osiągniętych we własnej grupie badanej. Mediana czasu całkowitego przeżycia była nieznacznie krótsza w stosunku do uzyskanych wyników własnych. Dodatkowo w przedstawionym badaniu wieloośrodkowym nie obserwowano nowych działań niepożądanych stosowanych leków, osiągnięto redukcję dawek sterydów oraz leków przeciwdrgawkowych w wyniku prowadzonego leczenia. W przedstawionej analizie jako czynniki prognostyczne stwierdzono: młodszy wiek, lokalizację zmiany pierwotnej oraz podtyp guzkowy czerniaka [96].

Inna praca pochodząca z Amsterdamu opublikowana w 2018 roku przez Marnix H. Geukes Foppen i wsp. przedstawia grupę 146 chorych leczonych wemurafenibem, dabrafenibem oraz dabrafenibem z trametynibem z powodu zaawansowanego czerniaka



z przerzutami do mózgowia w latach 2010-2016 [97]. Pacjenci, którzy otrzymali radioterapię na obszar całego mózgowia osiągają czas całkowitego przeżycia pomiędzy 2 – 6 miesięcy [97]. W analizowanej grupie pacjenci otrzymujący dabrafenib z trametynibem osiągnęli wydłużenie mOS do 11,2 miesiąca (95% CI: 6,8-15,7). W przypadku dabrafenibu mOS wynosiła 8,8 miesiąca (95% CI: 3,9-13,7) a dla wemurafenibu 5,7 miesiąca (95% CI: 4,6-6,8). Mediana dotycząca wewnątrzczaszkowego czasu wolnego od progresji wynosiła dla dabrafenibu z trametynibem 5,8 miesiąca (95% CI: 3,2-8,5), dla dabrafenibu 5,7 miesiąca (95% CI: 3,0-8,4). Najkrótsze mediany przeżycia dotyczyły pacjentów leczonych wemurafenibem. Mediana wewnątrzczaszkowego PFS wyniosła w tej grupie 3,6 miesiąca (95% CI: 3,5-3,8). Średnia PFS dla wszystkich leków to 4,1 miesiąca. W trakcie terapii celowanej osiągnięto również redukcję objawów neurologicznych w przebiegu rozsiewu do mózgu [97]. Przedstawione dane dla dabrafenibu z trametynibu oraz dabrafenibu stosowanego w monoterapii pokrywają się z wynikami osiągniętymi w analizie własnej.

Na podstawie przedstawionych publikacji rozsiew do mózgowia wydaje się być jednym z czynników mającym wpływ na mOS i mPFS w przedstawionych grupach oraz w analizowanej grupie własnej. W badaniu własnym brak jest danych dotyczących terapii miejscowej zmian przerzutowych w mózgowiu. Warty rozważenia byłoby poszerzenie kolejnej analizy o zastosowane leczenie miejscowe z oceną dawek stosowanej sterydoterapii.

Kolejna grupa leków, która były stosowana w DCOPiH to immunoterapia oparta na inhibitorach PD-1: niwolumab oraz pembrolizumab. 100% pacjentów z ujemnym statusem mutacji *BRAF* otrzymało inhibitory PD-1 w pierwszej linii leczenia. Niwolumab jest lekiem zarejestrowanym na podstawie badania CheckMate-066 [60]. Obecnie dostępna jest ocena 5-letnia badania CheckMate-066 [98]. Analizowano również wyniki badania CheckMate-067 [67]. W analizie własnej uzyskano mOS 10 miesięcy (305 dni) oraz mPFS 3,4 miesiąca (104 dni) dla niwolumabu. W badaniu CheckMate-066 mPFS wyniosła 5,1 miesiąca (95% CI: 3,5 - 10,8). W ocenie 5-letniej mOS wyniosła 37,3 miesiąca (95% CI, 25,4 - 51,6 miesiąca). Odsetek przeżyć 5 letnich w grupie z wartością LDH w normie wynosił 48%, a w grupie, gdzie wartość LDH przekraczała górną granicę normy 27%. Odsetek obiektywnych odpowiedzi (całkowita remisja oraz częściowa remisja) w analizie własnej dotyczył 35,7% (n=15) pacjentów. W badaniu rejestracyjnym ORR wynosił 42%. W badaniu CheckMate-067 w kohorcie otrzymującej niwolumab w monoterapii mPFS wyniosła 6,9 miesiąca (95% CI: 4,3 – 9,5), natomiast mOS w analizie 5-letniej wyniosła 36,9 miesiąca.

Pacjenci w grupie leczonej pembrolizumabem w analizie własnej osiągnęli zbliżone wyniki do niwolumabu. Chorzy przyjmujący pembrolizumab w DCOPiH osiągnęli mOS 11,6 miesiąca a mPFS wyniosła 4 miesiące, ORR 46% (n=23). Wyniki te podobnie, jak w przypadku niwolumabu były gorsze w porównaniu do badania rejestracyjnego. W badaniu Keynote-006 mOS wyniosła 32,7 (95% CI: 24,5-41,6) miesiąca, mPFS osiągnęła wartość 8,4 miesiąca (95% CI: 6,6-11,3) [64].

Z uwagi na zdecydowanie krótsze mediany czasu całkowitego przeżycia w analizowanej grupie własnej dokonano przeglądu literatury celem sprawdzenia danych pochodzących z codziennej praktyki klinicznej w innych ośrodkach. W 2021 roku została opublikowana praca autorstwa F. Musicco i wsp. przedstawiająca zastosowanie niwolumabu oraz pembrolizumabu w codziennej praktyce w ośrodku w Rzymie [99]. Analizie poddanych zostało 123 chorych, którzy rozpoczęli leczenie w latach 2016-2018. W przedstawionej pracy oceniono czas do zakończenia leczenia (rwTTD, real world time to treatment discontinuation), który wynosił 11,67 miesiąca (95% CI: 7,93-17,27).

Publikacja francuska pochodząca z Uniwersytetu w Nantes [100] przedstawia analizę leczenia 87 pacjentów otrzymujących niwolumab. Czas obserwacji wynosił 31 miesięcy. Odsetek obiektywnych odpowiedzi dotyczył 33,3% chorych. Mediana PFS wyniosła 13 miesięcy (95% CI: 7-28). Stwierdzono również utrzymywanie się odpowiedzi na leczenie po zaprzestaniu terapii w przypadku osiągnięcia całkowitej remisji u ponad 80% chorych przez 21,7 miesiąca (mediana). Potwierdzono skrócenie czasu wolnego od progresji choroby w przypadku podwyższonych wartości LDH oraz przerzutów do mózgowia.

W publikacji pochodzącej z 2021 roku również z francuskiego ośrodka autorstwa Casarott i wsp. przedstawiono grupę 223 pacjentów ze średnią wieku 67 lat leczonych w pierwszej, drugiej lub trzeciej linii pembrolizumabem [101]. Chorzy leczeni w pierwszej linii pembrolizumabem osiągnęli mOS 32,6 miesiąca (95% CI: 20.3–NR), w drugiej linii 14,4 miesiąca a w trzeciej linii 9,3 miesiąca. Mediana czasu wolnego od progresji dla pierwszej linii wyniosła 7 miesięcy (95% CI: 3.2–7.0), w drugiej 2,7 miesiąca (95% CI: 2,5–3,3), natomiast w trzeciej linii 2,6 miesiąca (95% CI: 2.1–3.1).

Inna praca pochodząca z ośrodka we Włoszech została opublikowana w 2019 roku [102]. Analizowana grupa liczyła 42 osoby leczone pembrolizumabem z powodu zaawansowanego czerniaka. ORR dotyczył 16% chorych (n=7), w tym jedna osoba osiągnęła całkowitą remisję choroby. mPFS wyniosła 2,4 miesiąca a mOS 5,5 miesiąca. W analizowanej grupie zarówno stan ogólny jak i ilość otrzymanych w przeszłości linii

leczenia miały wpływ na PFS i OS. Przedstawione wyniki znacznie różniły się zarówno od badań klinicznych jak i wyników pochodzących z analizy własnej.

Analiza Mosera i wsp. opublikowana w 2020 roku przedstawia analizę 888 pacjentów leczonych w Stanach Zjednoczonych pembrolizumabem lub niwolumabem [103]. Pembrolizumab otrzymało 486 chorych a niwolumab 402 osoby. Mediana OS dla pembrolizumabu wyniosła 22,6 miesiąca, natomiast dla niwolumabu 23,9 miesiąca. Różnice nie były istotne statystycznie ( $p=0,91$ ). Oceniono również czas do kolejnej linii leczenia lub śmierci (TTNTD, time to next treatment or death). TTNTD dla pembrolizumabu wyniósł 15,7 miesiąca a dla niwolumabu 10,8 miesiąca. W tym przypadku również nie osiągnięto istotności statystycznej ( $p=0,16$ ). Przedstawiona analiza jest pomocna przy wyborze leku w codziennej praktyce.

Inna publikacja pochodziła z Polski z ośrodka w Krakowie. Została opublikowana w 2020r. przez B. Cybulską- Stopę i wsp. [104]. Przedstawione dane dotyczą zastosowania inhibitorów punktów kontrolnych, terapii celowanej oraz chemioterapii w praktyce klinicznej. Liczebność analizowanej populacji to 287 osób. Średnia wieku grupy badanej wynosiła 63 lata. Przerzuty do mózgowia dotyczyły 22% populacji ( $n=64$ ). Immunoterapię w pierwszej linii otrzymało 46% chorych ( $n=133$ ). Pacjenci otrzymujący immunoterapię w pierwszej linii osiągnęli mOS 19,2 miesiąca a mPFS 7,5 miesiąca. ORR dotyczył 36% chorych. W drugiej linii leczenia 114 pacjentów było leczonych inhibitorami punktów kontrolnych. mOS wyniosła 7,2 miesiąca, natomiast mPFS 3 miesiące. Odsetek obiektywnych odpowiedzi w drugiej linii to 14%.

W trzeciej linii immunoterapię otrzymały 2 osoby uzyskując mOS 4,6 miesiąca a mPFS 4,3 miesiąca. W pracy zebrano również dane dotyczące leczenia celowanego. Terapię celowaną otrzymało 111 osób. mOS w pierwszej linii to 12,6 miesiąca, ORR dotyczył 64% chorych a mPFS wyniosła 7,3 miesiąca. W drugiej linii terapię celowaną otrzymało 13 osób osiągając mOS 9,9 miesiąca, mPFS 4,5 miesiąca a odsetek obiektywnych odpowiedzi dotyczył 69% chorych. 10 osób otrzymało terapię celowaną w trzeciej linii leczenia uzyskując mOS 6,5 miesiąca, mPFS 4,4 miesiąca. ORR dotyczyły wszystkich pacjentów (100%).

Kolejna publikacja przedstawia dane dotyczące codziennej praktyki klinicznej w Holandii. Praca została opublikowana przez M.C.T van Zeijl w 2020 roku. Analiza dotyczyła 550 osób, którzy w pierwszej linii terapii z powodu zaawansowanego czerniaka otrzymali immunoterapię anty-PD-1 [105]. Średnia wieku grupy badanej wyniosła 65 lat. Większość pacjentów (70%) charakteryzowała się prawidłowymi wartościami LDH.

Przerzuty do mózgowia dotyczyły 19% chorych. mOS wyniosła 24 miesiące. Udowodniono negatywny wpływ czynników prognostycznych takich jak: stan sprawności ECOG > 1, przerzuty do mózgowia, przerzuty do wątroby, podwyższona wartość LDH na czas całkowitego przeżycia.

Na podstawie przeanalizowanej literatury dotyczącej terapii inhibitorami punktów kontrolnych ponownie stwierdzono krótsze mOS i mPFS w analizowanej grupie własnej. W związku z powyższym dokonano przeglądu publikacji dotyczących pacjentów otrzymujących immunoterapię z rozsiewem do mózgowia. 32% chorych w grupie badanej własnej stanowili pacjenci w stopniu zaawansowania IVD.

Jedną z pierwszych prac dotyczącą zastosowania immunoterapii wśród pacjentów z rozsiewem czerniaka do mózgowia była publikacja z 2012 roku przedstawiająca skuteczność ipilimumabu [106]. Było to badanie II fazy NCT00623766. Chorzy zostali przydzieleni do dwóch kohort: pacjenci z bezobjawowymi przerzutami do mózgowia (n=51) oraz z objawowymi przerzutami do mózgowia (n=21). Mediana PFS w grupie bez objawów wynosiła 1,9 miesiąca vs. 1,2 miesiąca w podgrupie wymagającej stosowania steroidów z powodu objawowego rozsiewu do centralnego układu nerwowego. mOS wynosiła odpowiednio 7,0 vs. 3,7 miesiąca.

Inna publikacja to badanie australijskie, wieloośrodkowe, randomizowane, II fazy, przedstawiające zastosowanie niwolumabu lub niwolumabu i ipilimumabu u chorych z rozsiewem do mózgowia w przebiegu czerniaka [107]. Pacjenci bezobjawowi, bez poprzedzającego leczenia miejscowego zostali zakwalifikowani do dwóch kohort: kohorta A (n=36) otrzymująca niwolumab z ipilimumabem oraz kohorta B (n=27) leczona niwolumabem. Kohorta C, nierandomizowana (n=16), obejmowała pacjentów z objawowymi przerzutami. Czas obserwacji wynosił 17 miesięcy. Oceniano odpowiedź wewnątrzczaszkową (IR, intracranial responses), która wyniosła w kohorcie A 46%, (n=16, 95% CI: 29-63), w kohorcie B 20% (n=5, 95% CI: 7-41) oraz w grupie C 6% (n=1, 95% CI: 0-30). Oceniono również całkowitą odpowiedź wewnątrzczaszkową: A – 17% (n=6), B – 12% (n=6), C - 0% (n=0). Przedstawione badanie wskazuje na aktywność immunoterapii anty-PD-1 oraz anty- CTLA-4 zarówno w monoterapii, jak i w kombinacji. Lepsze odpowiedzi uzyskano w przypadku zastosowania dubletu.

Wyniki odległe badania CheckMate-204 zostały przedstawione w Lancet Oncology w 2021 roku [108]. W badaniu ponownie podzielono chorych otrzymujących niwolumab z ipilimumabem na dwie podgrupy: A (n=101) – pacjenci w stanie sprawności ECOG 0-1 z bezobjawowymi przerzutami do mózgowia oraz B (n=18) – ECOG 0-2, chorzy

z objawowymi przerzutami mózgowia. W kohorcie B dopuszczalne było stosowanie małych dawek steroidów. W uzyskanych wynikach w kohorcie A odsetek chorych, którzy uzyskali 36-miesięczny czas wolny od progresji wewnątrzczaszkowej wyniósł 54,1% (95% CI: 42,7-64,1) a w kohorcie B 18,9% (95% CI: 4,6-40,5). mOS wyniosła odpowiednio 71,9% (95% CI: 61,8-79,8) oraz 36,6% (95% CI: 14,0-59,8). Odsetek obiektywnych odpowiedzi dotyczył 53,5% w ramieniu A, 16,7% w ramieniu B. Wewnątrzczaszkową całkowitą remisję uzyskało 33% chorych w ramieniu A i 17% w ramieniu B. Na podstawie przeprowadzonego badania dowiedziono skuteczność niwolumabu oraz ipilimumabu zarówno w przerzutach objawowych oraz bezobjawowych do mózgowia. W przebiegu zastosowanego leczenia pacjenci bezobjawowi mają większą szansę na uzyskanie całkowitej remisji zmian w mózgowiu.

Interesującą pracą jest publikacja z 2020 roku pochodząca z Holandii przedstawiająca terapię chorych, którzy posiadają jedną lub więcej cech, które były przyjęte jako wykluczające z badania Keynote-006, CheckMate-066, CheckMate-067 [109]. Pacjenci otrzymywali inhibitory punktów kontrolnych lub terapię celowaną. Gorszy stan sprawności (ECOG 2), wysoka wartość LDH, przerzuty do mózgowia korelowały ze znacznym skróceniem mediany czasu całkowitego przeżycia (8,8 miesiąca vs. 23 miesiące).

Reasumując, w grupie badanej własnej choroby z przerzutami do mózgowia przy rozpoczęciu leczenia stanowili 32% populacji. Analiza nie zawiera informacji czy zmiany należały do asymptomatycznych bądź objawowych wymagających sterydoterapii. Wartym rozważenia byłoby poszerzenie w przyszłości analizy o wyżej wymienione dane, co pozwoliłoby na lepsze planowanie terapii pacjentów z rozsiewem do mózgowia. Jednoznacznie potwierdzono wpływ zmian przerzutowych w mózgowiu na czas całkowitego przeżycia ( $p=0,03$ ). Mediana czasu przeżycia osób, u których nie stwierdzono przerzutów do ośrodkowego układu nerwowego wyniosła 441,0 dni, czyli 14,5 miesiąca (średnio 664,2 dni; SD=544,4 dni). Zgon nastąpił u 83 (72%) badanych. Mediana czasu przeżycia osób, z rozpoznaniem rozsiewem do ośrodkowego układu nerwowego wyniosła 252,0 dni, czyli 8,3 miesiąca (średnio 401,3 dni; SD=439,0 dni) a zgon nastąpił u 51 (91%) badanych. Potwierdzono rozsiew do mózgu jako negatywny czynnik prognostyczny zwiększający ryzyko zgonu ( $p<0,01$ ; HR 2,7). Wyniki własne były zbliżone do danych z literatury, które również potwierdzają negatywny wpływ rozsiewu do mózgowia na czas przeżycia.

## Część 2

Uznane i potwierdzone licznymi badaniami klinicznymi jest znaczenie predykcyjne mutacji *BRAF* dla odpowiedzi na terapię *iBRAF +/- iMEK*. Nie ma jednoznacznych danych dotyczących znaczenia prognostycznego mutacji *BRAF*. Badaną grupę własną podzielono na dwie podgrupy w zależności od statusu mutacji *BRAF*. Celem pracy było porównanie efektów leczenia oraz dostępnych czynników kliniczno-patologicznych w dwóch podgrupach oraz ocena czy mutacja *BRAF* ma znaczenie prognostyczne w zaawansowanym, nieresekcyjnym czerniaku. Podstawowe informacje dotyczące mutacji *BRAF* zostały przedstawione we wstępie pracy.

W analizowanej grupie własnej obecność mutacji stwierdzono u 89 osób (51%) a jej brak dotyczył 84 chorych (49%). Dane zaczerpnięte z literatury potwierdzają powyższy rozkład mutacji. W ogólnej populacji obecność mutacji genu *BRAF* dotyczy około 50% osób [110]. W badanej grupie średnia wieku osób z potwierdzoną mutacją *BRAF* wynosiła 57 lat i była istotnie statystycznie niższa w porównaniu do grupy bez potwierdzonej mutacji ( $\bar{x}=64,0$  lat; min-max: 24,0-90,0 lat; SD=12,8 lat). Wykazano różnice istotne statystycznie w zakresie wartości LDH w surowicy krwi. Wartości dehydrogenazy mleczanowej były niższe w grupie z ujemnym statusem mutacji *BRAF*. 77% pacjentów wild-type charakteryzowało się poziomem LDH w surowicy w normie w stosunku do 54% chorych z wykrytą mutacją *BRAF*. Następnym czynnikiem różnicującym dwie podgrupy była lokalizacja zmiany pierwotnej. Wszyscy chorzy ze zmianą pierwotną w błonie śluzowej posiadali ujemny status mutacji *BRAF* ( $p<0,05$ ). Różnica dotyczyła także lokalizacji przerzutów. Chorzy z obecną mutacją *BRAF* ujawnili częstszy rozsiew do wątroby oraz do ośrodkowego układu nerwowego. Wśród pacjentów z ujemnym statusem mutacji *BRAF* dominował rozsiew do płuc. Różnice były istotne statystycznie ( $p<0,05$ ). Analiza porównawcza wyników raportów histopatologicznych z usuniętej zmiany pierwotnej oraz biopsji węzła wartowniczego nie wykazała różnic znamienych statystycznie ( $p>0,05$ ) w grupie wild-type oraz z potwierdzoną mutacją w genie *BRAF*. Oceniając wartości parametrów układu leukocytarnego oraz wartości wskaźnika neutrofilowo-limfocytarnego (NLR) w podgrupie z dodatnią oraz ujemną mutacją *BRAF* stwierdzono istotnie statystycznie wyższą średnią wartość wskaźnika NLR na wysokości 3 kursu leczenia u osób bez mutacji *BRAF* w stosunku do chorych z dodatnim statusem mutacji, odpowiednio 3,6 (min-max: 0,9-13,0; SD=2,3) vs. 2,9 (min-max: 0,3-8,9; SD=1,9). Tę samą zależność odnotowano w odniesieniu do wartości NLR po 3 miesiącach terapii (ujemny status mutacji

vs. dodatni status mutacji), odpowiednio 6,3 (min-max: 0,1-103,0; SD=16,4) vs. 4,2 (min-max: 0,6-102,0; SD=11,3).

Mutacja *BRAF* jest znanym czynnikiem predykcyjnym odpowiedzi na terapię celowaną. W latach 2013-2018 w grupie badanej tylko 8 osób z potwierdzoną obecnością mutacji otrzymało w 1 linii immunoterapię w oparciu o leki anty-PD-1. Pozostali chorzy zostali zakwalifikowani do leczenia terapią celowaną a najczęściej stosowanymi lekami były dabrafenib z trametynibem. Wśród chorych z dodatnim statusem mutacji dominującą odpowiedzią na leczenie była częściowa odpowiedź w stosunku do braku odpowiedzi z następującą szybką progresją choroby u chorych z ujemnym statusem mutacji *BRAF*. Odnotowano istotną statystycznie mniejszą ilość zgonów chorych z potwierdzoną mutacją. Najczęstszym zastosowanym rodzajem leczenia w drugiej linii u osób bez mutacji *BRAF* była terapia anty-CTLA-4 (n=25; 31%), natomiast osoby z obecną mutacją *BRAF* najczęściej otrzymały terapię anty-PD-1 (n=22; 26%). Wyniki różniły się istotnie statystycznie ( $p < 0,05$ ).

Reasumując, w analizie własnej stwierdzono różnice istotne statystycznie pomiędzy grupą z dodatnim oraz ujemnym statusem mutacji genu *BRAF*. Grupa z potwierdzoną obecnością mutacji *BRAF* charakteryzowała się: niższą średnią wieku (57 lat), wyższymi wartościami LDH w surowicy krwi, lokalizacją zmiany pierwotnej w skórze, częstszym rozsiewem do wątroby oraz mózgowia a także niższymi średnimi wartościami wskaźnika NLR na wysokości 3 kursu oraz po 3 miesiącach terapii. Najczęściej w pierwszej linii leczenia stosowano dabrafenib oraz trametynib, uzyskując częściową regresję choroby. W drugiej linii leczeniem z wyboru we wskazanej grupie była immunoterapia w oparciu o leki anty-PD-1.

W grupie badanej własnej nie stwierdzono różnic dotyczących czasu przeżycia całkowitego wśród chorych z obecną lub nieobecną mutacją *BRAF* ( $p=0,82$ ). Pacjenci w dwóch podgrupach osiągnęli mOS 11 miesięcy. Różnica dotyczyła 1 dnia na korzyść chorych wild-type (337 dni vs. 338 dni). Wykazano różnice w czasie wolnym od progresji ( $p=0,039$ ). Chorzy z potwierdzoną mutacją *BRAF* charakteryzowali się dłuższym czasem wolnym od progresji. Mediana czasu wolnego od progresji u osób z potwierdzoną mutacją *BRAF* wyniosła 5,3 miesiąca (163 dni). Mediana czasu wolnego od progresji pacjentów wild-type wyniosła 3,7 miesiąca (112 dni). Przedstawiona różnica w zakresie mPFS wynikała z rodzaju zastosowanego leczenia wśród chorych z potwierdzoną mutacją *BRAF*. 91% chorych z dodatnią mutacją *BRAF* otrzymało terapię celowaną w pierwszej linii leczenia.

Czerniaki z potwierdzoną mutacją w genie *BRAF* najczęściej powstają w skórze tułowia nienarażonej przewlekłe na promieniowanie słoneczne u osób młodszych [110]. Obecność mutacji *BRAF* jest charakterystyczna dla typu guzkowego czerniaka oraz podtypu histopatologicznego - *superficial spreading melanoma* [110].

F. Tas i wsp. w 2019 roku opublikowali pracę, dotyczącą grupy pacjentów leczonych w Istambule, której celem było określenie czy mutacja *BRAF* ma znaczenie prognostyczne w czerniaku w stopniu zaawansowania I-III [111]. Potwierdzono uznane w literaturze czynniki charakteryzujące grupę chorych z dodatnią mutacją *BRAF*, takie jak: młodszy wiek, lokalizacja ogniska pierwotnego na skórze tułowia, typ histopatologiczny *superficial spreading melanoma*. W przedstawionej publikacji czas wolny od nawrotu (ang. *relapse free survival*, RFS) był dłuższy w grupie z potwierdzoną mutacją w III stopniu zaawansowania. W stopniu I-II RFS był dłuższy dla chorych *wild-type*. Nie wykazano różnic w czasie przeżycia całkowitego w dwóch grupach.

W 2020 roku ponownie F. Tas i wsp. opublikowali pracę, w której pochyłono się nad tematem mutacji *BRAF*, jako czynnika prognostycznego w stopniach zaawansowania I-IV [112]. Wśród 151 badanych osób 51% posiadało dodatni status mutacji w genie *BRAF*. Pacjenci z potwierdzoną mutacją charakteryzowali się młodszym wiekiem, dłuższym czasem wolnym od progresji oraz dłuższym czasem całkowitego przeżycia w stopniu III i IV. Nie wykazano różnic w OS i PFS w stopniu I i II.

Podobna praca została opublikowana przez S.Y. Kim i wsp. w 2015 roku [113]. Przedstawiono dane dotyczące populacji azjatyckiej. Czynniki kliniczno-patologiczne charakteryzujące grupę z potwierdzoną mutacją *BRAF* pokrywały się z przedstawionymi w poprzednich wymienionych publikacjach (młodszy wiek, lokalizacja zmiany pierwotnej w skórze tułowia nienarażonej przewlekłe na promieniowanie słoneczne, typ histopatologiczny: *superficial spreading melanoma*). Dodatkowo udowodniono występowanie mutacji *BRAF* częściej w zaawansowanym czerniaku.

Na podstawie przeprowadzonego badania własnego oraz przytoczonych publikacji nie można jednoznacznie wykluczyć znaczenia prognostycznego mutacji *BRAF* w zaawansowanym czerniaku. We wszystkich przedstawionych pracach pacjenci z potwierdzoną mutacją *BRAF* w III i IV stopniu zaawansowania wykazywali dłuższy czas wolny od progresji lub czas wolny od nawrotu choroby. Nie zawsze wydłużenie mPFS wiązało się z wydłużeniem mOS. W opisywanych grupach pacjentów pokrywały się czynniki kliniczno-patologiczne charakteryzujące grupę chorych z potwierdzoną mutacją



*BRAF*. Słusznym wydaje się stworzenie badania wielośrodkowego mającego na celu ocenę rokowniczego znaczenia mutacji *BRAF* w poszczególnych stopniach zaawansowania.

### Część 3

W analizowanej grupie 91% (n=81) pacjentów z potwierdzoną mutacją w genie *BRAF* otrzymało w pierwszej linii terapii *iBRAF* +/- *iMEK*. Jedynie u 8 osób (9%) z dodatnim statusem mutacji *BRAF* zastosowano immunoterapię anti-PD-1 w pierwszej linii leczenia. Taka decyzja terapeutyczna w większości przypadków była związana z dostępnością leków w Polsce w czasie, w którym przeprowadzona została analiza. Od 2013 roku w Polsce uzyskano dostęp do terapii celowanej w ramach programu lekowego. Od połowy 2016 roku immunoterapia anti-PD-1 jest leczeniem refundowanym. Obecnie istnieje dostęp do terapii celowanej, immunoterapii anti-PD-1 oraz terapii skojarzonej anti-PD-1 z anti-CTLA-4 w pierwszej linii leczenia.

Każdy pacjent wymaga indywidualnego podejścia celem ustalenia optymalnej sekwencji terapii a w przypadku chorych wild-type wyboru immunoterapii skojarzonej vs. monoterapii anti-PD-1. Czynniki, które mają wpływ na wybór odpowiedniej metody leczenia to: stan ogólny chorego, zaawansowanie choroby, obecność kryzy narządowej, stosowanie sterydoterapii, choroby współistniejące.

Przeprowadzona analiza statystyczna własna obejmowała ocenę prawdopodobieństwa przeżycia w zależności od linii (linia 1 vs. linia 2), w której zastosowano inhibitory punktów kontrolnych (niwolumab lub pembrolizumab). Pacjenci, którzy otrzymali immunoterapię anti-PD-1 w drugiej linii uzyskali istotnie statystycznie dłuższy czas całkowitego przeżycia w stosunku do chorych otrzymujących wyżej wymienione leki w pierwszej linii, odpowiednio (28 miesięcy vs. 11 miesięcy),  $p=0,0102$ . Odsetek zgonów był również wyższy przy zastosowaniu niwolumabu lub pembrolizumabu w pierwszej linii (76,9% vs. 63,6%). Wykazano różnice istotne statystycznie ( $p=0,045$ ) w czasie wolnym od progresji. PFS był krótszy w przypadku zastosowania immunoterapii anti-PD-1 w pierwszej linii i wynosił 3,7 miesiąca (112dni) vs. 7,1 miesiąca (218 dni) w drugiej linii. Ograniczeniem analizy była mała liczebność grupy, która w drugiej linii otrzymała terapię anti-PD-1 (n=22).

W trakcie kongresu ESMO (European Society for Medical Oncology) 2021 zostały przedstawione wyniki badania II fazy SECOMBIT dotyczące optymalnej sekwencji leczenia pacjentów z zaawansowanym czerniakiem [77]. Szczegółowy opis badania został

przedstawiony we wstępie pracy. Badanie składało się z 3 ramion. W ramieniu A pacjenci otrzymali w pierwszej linii terapię celowaną (enkorafenib + binimetynib) do czasu progresji choroby, następnie zastosowano ipilimumab z niwolumabem. W ramieniu B sekwencja stosowania leków została odwrócona w stosunku do ramienia A. Chorzy przydzieleni do ramienia C otrzymali enkorafenib z binimetynibem w pierwszej linii przez 8 tygodni następnie niwolumab z ipilimumabem do czasu progresji. Przy wystąpieniu progresji zastosowano „rechallenge” czyli powrót do terapii celowanej enkorafenib z binimetynibem. Pacjenci we wszystkich ramionach charakteryzowali się podobnymi czynnikami rokowniczymi poza wartością LDH w surowicy. Podwyższony poziom LDH dotyczył 41% chorych w ramieniu A, 48% pacjentów w ramieniu B oraz 36% w ramieniu C. Największy odsetek przeżyć 3-letnich dotyczył ramienia B (ramię A 54%, ramię B 62%, ramię C 60%). Na uwagę zasługuje kombinacja leków w ramieniu C. Odsetek przeżyć w pierwszym roku dla chorych w podgrupie C był najwyższy i wynosił 87% (ramię A 81%, ramię B 81%). Odsetek przeżyć w drugim roku wynosił 69% (ramię A 65%, ramię B 73%). Na tej podstawie wydaje się, że istnieje część wysoko zaawansowanych czerniaków, obciążonych negatywnymi czynnikami rokowniczymi, które wymagają podania terapii celowanej przez krótki okres w pierwszej linii celem redukcji dużej masy nowotworu a następnie należy zastosować immunoterapię, która pozwoli na uzyskanie długotrwałych odpowiedzi. W przedstawionym badaniu uzyskano odsetek 45% odpowiedzi na zastosowaną immunoterapię w 1 linii oraz 25% w drugiej linii. W przypadku terapii celowanej odsetek odpowiedzi dotyczy 87% chorych w 1 linii i 61% w drugiej linii. Wyników przedstawionego badania nie należy traktować jednoznacznie, gdyż jest to badanie drugiej fazy bez ramienia kontrolnego. Jest to trend, którym należy się kierować wybierając optymalną sekwencję leczenia. W Polsce w ramach obecnie obowiązującego programu lekowego immunoterapia skojarzona nie jest dostępna w drugiej linii terapii.

Wyniki badania III fazy DREAMseq (ang. *Doublet, Randomized Evaluation in Advanced Melanoma Sequencing*) zostały przedstawione na konferencji ASCO (ang. *American Society of Clinical Oncology Journal*) w 2021 roku [114]. Celem badania było ustalenie optymalnej sekwencji leczenia pacjentów z zaawansowanym czerniakiem. W jednym ramieniu leczenie zostało rozpoczęte od niwolumabu w połączeniu z ipilimumabem w momencie progresji pacjenci otrzymywali dabrafenib z trametynibem. W drugim ramieniu zmieniono kolejność podawanych leków (dabrafenib + trametynib/ipilimumab + niwolumab). W pierwszej linii uzyskano 46% odpowiedzi dla niwolumabu z ipilimumabem vs. 43% dla dabrafenibu z trametynibem. W drugiej linii 48%

pacjentów uzyskało odpowiedź po zastosowaniu dabrafenibu oraz trametynibu vs. 30% chorych leczonych immunoterapią skojarzoną. Pacjenci, którzy rozpoczęli leczenie od niwolumabu oraz ipilimumabu nie osiągnęli jeszcze maksymalnego czasu trwania odpowiedzi. W przypadku dabrafenibu z trametynibem czas odpowiedzi wynosił 12,7 miesiąca ( $p < 0,01$ ). Długotrwałe odpowiedzi uzyskane w przebiegu leczenia niwolumabem z ipilimumabem wynikają z zastosowania leku anty-CTLA-4. Ipilimumab powoduje zwiększenie liczby klonów limfocytów T pamięci oraz długotrwały nadzór immunologiczny [115]. 2-letni PFS dla ramienia niwolumab + ipilimumab dotyczył 42% chorych vs. 19% dla chorych otrzymujących dabrafenib z trametynibem. mPFS była również na korzyść skojarzonej immunoterapii w pierwszej linii (11,8 miesiąca vs. 8,8 miesiąca) ( $p = 0,054$ ). 2-letni OS osiągnęło 72% pacjentów, którzy rozpoczęli leczenie od immunoterapii skojarzonej vs. 52% dla terapii celowanej w pierwszej linii ( $p = 0,095$ ). Przedstawione wyniki wskazują na przewagę zastosowania immunoterapii skojarzonej w pierwszej linii, a w momencie progresji włączenia terapii celowanej. Uwagę jednak zwraca przecięcie się krzywych na wykresach przedstawiających czas całkowitego przeżycia oraz czas wolny od progresji na wysokości około 6 miesiąca. Wówczas krzywa przedstawiająca immunoterapię skojarzoną zaczyna się ewidentnie separować od krzywej dla terapii celowanej na korzyść immunoterapii. Zjawisko to świadczy o dłuższym czasie niezbędnym do uzyskania pełnego efektu immunoterapii w stosunku do terapii celowanej. Pewien odsetek pacjentów z zaawansowanym czerniakiem z kryzą narządową w przypadku wyboru immunoterapii skojarzonej umrze z powodu progresji choroby przed osiągnięciem efektu działania wynikającego z pobudzenia limfocytów T [116]. Wyniki badania DREAMseq wskazują jako optymalną grupę chorych, która odniesie największą korzyść z rozpoczęcia leczenia od immunoterapii skojarzonej pacjentów w bardzo dobrym stanie ogólnym (ECOG 0), z wartością LDH w surowicy poniżej górnej granicy normy, w stopniu zaawansowania  $< M1c$ .

Puzanov i wsp. w 2020 roku opublikowali pracę będącą analizą post hoc 3 wieloośrodkowych badań (Keynote 001, Keynote 002, Keynote 006) [117]. Łącznie oceniono 1558 chorych, średnia wieku badanych wynosiła 60 lat. 1124 osoby to pacjenci z ujemnym statusem mutacji *BRAF*, a 434 z dodatnim. Pacjenci z dodatnim statusem mutacji *BRAF*, którzy terapię anty-PD-1 otrzymali w drugiej linii po iBRAF+/-iMEK osiągnęli gorsze wyniki leczenia: ORR 28,4% ( $n = 77$ ) vs. 44,2% ( $n = 72$ ), odsetek 4-letnich OS 26,9% vs. 49,3%, odsetek 4-letnich PFS 15,2% vs. 27,8%.

Retrospektywna praca analizująca optymalną sekwencję leczenia została opublikowana przez zespół francuski w 2018 roku [118]. W badaniu wzięło udział 74 pacjentów (*BRAF* dodatni, n=41; *BRAF* ujemni, n=33). Celem badania była ocena efektów leczenia immunoterapią anty-PD-1 po progresji na *iBRAF*, ipilimumabie lub chemioterapii. W grupie z potwierdzoną mutacją *BRAF* odnotowano gorsze odpowiedzi przy zastosowaniu leków anty-PD-1 w drugiej linii w porównaniu do chorych bez mutacji *BRAF*. Wyniki w podgrupach *BRAF* dodatniej vs. *BRAF* ujemnej: ORR (12,2% vs. 45,5%; p = 0,002); PFS (2 miesiące vs. 5 miesięcy; p= 0,001), OS (7 miesięcy vs. 20 miesięcy; p = 0,001). Przedstawiona praca dowodzi mniejszą skuteczności leków anty-PD-1 po progresji na inhibitorach *BRAF*.

Polska praca opublikowana w 2022 roku przez P. Rogala i wsp. przedstawia dane dotyczące terapii inhibitorami punktów kontrolnych po zastosowaniu *iBRAF+iMEK* [119]. Przedstawiona sekwencja leczenia dedykowana była chorym z zaawansowanym czerniakiem, obciążonym licznymi negatywnymi czynnikami rokowniczymi (rozsiew do mózgu, wysoka wartość LDH), którzy wymagali osiągnięcia szybkiej odpowiedzi na zastosowane leczenie. Osiągnięto porównywalne mOS dla niwolumabu i pembrolizumabu w drugiej linii, odpowiednio 6,6 miesiąca i 5 miesięcy. Lepsze efekty terapii osiągnięto u chorych z dłuższą odpowiedzią na 1 linię leczenia, z niższą wartością LDH oraz mniejszą ilością przerzutów odległych.

Na podstawie przeanalizowanych wyników wyżej wymienionych publikacji optymalną sekwencją leczenia chorych z zaawansowanym czerniakiem z potwierdzoną mutacją *BRAF* wydaje się zastosowanie immunoterapii w pierwszej linii a w momencie progresji *iBRAF+iMEK*. Wyniki badania własnego różniły się od przedstawionych publikacji, co może wynikać ze stopnia zaawansowania grupy badanej. Ponad 32% pacjentów posiadało rozsiew do mózgowia przy rozpoczęciu terapii, chorzy w stadium zaawansowania IVC stanowili 24,8% grupy badanej a ponad 34% pacjentów posiadało wartość LDH w surowicy krwi > górnej granicy normy. 10% stanowili pacjenci w złym stanie ogólnym, co wynikało z zaawansowania choroby nowotworowej. Należy zwrócić szczególną uwagę na wyniki badania DREAMseq w ramieniu C (ekorafenib + binimetynib stosowany przez 8 tygodni następnie immunoterapia skojarzona, przy progresji powrót do terapii celowanej). Wydaje się, że może to być optymalna opcja terapii dla pacjentów z: dużą dynamiką czerniaka, dużą masą nowotworu, chorych w gorszym stanie ogólnym obciążonych dużą ilością negatywnych czynników rokowniczych. Pacjenci w dobrym stanie ogólnym bez cech kryzy narządowej z wartością LDH w surowicy w granicach normy

powinni rozpoczynać terapię od immunoterapii. W związku z otrzymanymi wynikami w grupie badanej własnej należy rozważyć w przyszłości poszerzenie retrospektywnej analizy danych z włączeniem pacjentów otrzymujących niwolumab w skojarzeniu z ipilimumabem. Wybór odpowiedniej sekwencji terapii jest jednym z głównych problemów lekarza klinicysty w codziennej praktyce.

## Część 4

Przez ostatnie lata nastąpił ogromny postęp w leczeniu czerniaka. Przed rokiem 2013 w Polsce dostępnym leczeniem systemowym była chemioterapia oraz interferon. Obecnie dysponujemy szerokim dostępem do terapii lekowych oraz innowacyjnych metod leczenia w ramach badań klinicznych. Należy jednak pamiętać o toksycznościach terapii, szczególnie immunoterapii skojarzonej, które mogą prowadzić do zgonu lub utrzymywać się po zakończeniu leczenia oraz o kosztach związanych z zastosowanym leczeniem a także leczeniem ewentualnych powikłań. Powszechnie znane są czynniki prognostyczne czerniaka. Optymalnym byłoby poznanie czynników predykcyjnych odpowiedzi na leczenie, co pozwoliłoby na jeszcze większą efektywność prowadzonej terapii przy jak najmniejszych kosztach. Znanym i potwierdzonym czynnikiem predykcyjnym w czerniaku jest obecność mutacji *BRAF* dla odpowiedzi na leczenie celowane. W przeprowadzonej analizie podjęto próbę oceny czy bezwzględna wartość limfocytów oraz neutrofilii a także wartość wskaźnika neutrofilowo-limfocytarnego mogą być czynnikami prognostycznymi oraz predykcyjnymi.

W pracy oceniano wartość neutrofilii oraz limfocytów, które tworzą wskaźnik neutrofilowo-limfocytarny. Wybrane zostały wyżej wymienione wartości, ponieważ neutrofile i limfocyty są głównymi komórkami, które wchodzi w skład odpowiedzi immunologicznej. Limfocyty pobudzają proces apoptozy, hamują migrację komórek, wywołują efekt supresyjny wobec proliferacji komórek nowotworowych [84]. Neutrofile wspomagają rozwój nowotworu poprzez angiogenezę. Dodatkowo w wyniku uszkodzenia DNA prowadzą do niestabilności DNA. Biorą czynny udział w powstawaniu przerzutów [82] [83]. Iloraz wartości neutrofilii i limfocytów daje wynik wskaźnika neutrofilowo-limfocytarnego. NLR pokazuje zależność pomiędzy ochronnym wpływem limfocytów a pronowotworowym działaniem neutrofilii.

W badaniu własnym analizowano wyniki morfologii, które były wykonane w dniu rozpoczęcia leczenia lub maksymalnie 5 dni przed. U każdego pacjenta dokonano obliczenia

wartości NLR przy rozpoczęciu leczenia, na wysokości drugiego, trzeciego kursu, po trzech miesiącach leczenia oraz przy progresji choroby.

W pierwszej części analizy obliczono średnie wartości badanych parametrów dla całej grupy. Oceniono średnią wartość bezwzględną liczby neutrofilów (ang. *absolute neutrophil count*, ANC), która wyniosła  $6,0 \times 10^3/\mu\text{l}$  (min-max: 1,9-37,2  $10^3/\mu\text{l}$ ; SD= 4,0  $10^3/\mu\text{l}$ ). Średnia bezwzględna liczba limfocytów (ang. *absolute lymphocyte count*, ALC) wyniosła  $1,7 \times 10^3/\mu\text{l}$  (min-max: 0,5-3,9  $10^3/\mu\text{l}$ ; SD=0,7  $10^3/\mu\text{l}$ ). Dokonano również obliczenia średniej wartości wskaźnika NLR na wysokości: pierwszego kursu - 4,1, drugiego kursu - 3,5, trzeciego kursu - 3,2. Obserwowano istotnie statystycznie zmniejszenie wartości NLR w trakcie kolejnych podań leków ( $p=0,0123$ ). Średnia wartość NLR po 3 miesiącach wyniosła 3,2 a przy progresji 5,0 (min-max: 1,1-31,0; SD=4,2).

Kolejnym etapem była ocena badanych parametrów w dwóch podgrupach. Pierwszy podział został dokonany na podstawie statusu mutacji *BRAF*. Nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie w wartościach ANC oraz ALC wśród chorych z dodatnią i ujemną mutacją *BRAF*. Wykazano wyższe wartości NLR na wysokości 3 kursu oraz po 3 miesiącach leczenia w grupie bez potwierdzonej mutacji *BRAF*. Różnice osiągnęły próg istotności statystycznej. Tę samą zależność stwierdzono przy podziale na podgrupę otrzymującą immunoterapię vs. terapię celowaną w pierwszej linii. Chorzy otrzymujący immunoterapię charakteryzowali się wyższą wartością NLR na wysokości 3 kursu oraz po 3 miesiącach leczenia ( $p<0,05$ ).

Na podstawie analizy własnej stwierdzono negatywne znaczenie prognostyczne podwyższonej bezwzględnej liczby neutrofilów oraz wartości NLR. Na podstawie regresji proporcjonalnego hazardu Coxa, model jednoczynnikowy zaobserwowano większe ryzyko zgonu u osób z wyższą bezwzględną liczbą neutrofilów (HR=1,07;  $p<0,001$ ) oraz wyższą wartością NLR na wysokości pierwszego kursu (HR=1,06;  $p=0,001$ ), drugiego kursu (HR=1,07;  $p=0,011$ ), po trzech miesiącach terapii (HR=1,15;  $p=0,003$ ) oraz przy progresji choroby (HR=1,06;  $p<0,001$ ). Podobne negatywne znaczenie prognostyczne wykazano względem ryzyka progresji, co korelowało ze skróceniem czasu wolnego od progresji. Wyższa bezwzględna wartość neutrofilów wiązała się ze zwiększonym ryzykiem progresji choroby (HR=1,05; 95% CI: 1,01-1,10;  $p=0,021$ ). Ryzyko progresji wzrastało przy wyższych wartościach wskaźnika neutrofilowo-limfocytarnego na wysokości 2 kursu (HR=1,11; 95% CI: 1,04-1,19;  $p=0,003$ ) oraz po 3 miesiącach terapii (HR=1,23; 95% CI: 1,13-1,35;  $p<0,001$ ).

Następnym etapem analizy była ocena na podstawie estymatora Kaplana-Meiera prawdopodobieństwa przeżycia w zależności od wartości NLR. Wykazano istotne statystycznie różnice czasu przeżycia w zależności od poziomu NLR ( $>3$  vs  $\leq 3$ ) na wysokości pierwszego kursu ( $p=0,039$ ). Dłuższy czas całkowitego przeżycia wykazano wśród chorych z wartością NLR  $\leq 3$  535,0 dni (średnio 724,2 dni; SD=553,2 dni) vs. 239,5 dnia (średnio 429,3 dnia; SD=452,7 dnia) dla chorych NLR $>3$ . Tę samą istotną statystycznie zależność uzyskano przy ocenie wartości NLR na wysokości 2, 3 kursu, po 3 miesiącach leczenia oraz przy progresji choroby.

Wykonano analizę wartości NLR w korelacji z wartością LDH. Stwierdzono na wysokości pierwszego kursu terapii występowanie najwyższej średniej wartości NLR (6,5) wśród osób z przekroczoną od 2 do 5 razy górną granicą normy LDH, a najniższą u osób z wartością LDH w normie, która wynosiła 3,5. Wyniki różniły się istotnie statystycznie ( $p<0,05$ ).

Ostatnim elementem analizy była ocena znaczenia predykcyjnego NLR, bezwzględnej liczby neutrofilii oraz limfocytów. Parametr NLR oceniono pod kątem znaczenia predykcyjnego dla przewidywania zgonu od rozpoczęcia immunoterapii lub leczenia celowanego. W trakcie leczenia inhibitorami punktów kontrolnych wartość NLR przy progresji była istotnie statystycznie wyższa w grupie chorych, którzy zmarli od rozpoczęcia leczenia ( $p=0,003$ ). Poziom NLR przy progresji wykazywał istotną statystycznie korelację z wzrastającym ryzykiem zgonu w ciągu roku (AUC=0,786; 95% CI: 0,65-0,92). Dla parametru NLR przy progresji ustalono wartość punktu odcięcia wg indeksu Youdena jako 4,65. Wartości równe lub większe znamienne zwiększały ryzyko wystąpienia ocenianego punktu końcowego (OR=12,59). Tej samej analizy dokonano wśród chorych leczonych terapią celowaną. Poziom NLR na wysokości 2 kursu, 3 kursu oraz NLR po 3 miesiącach terapii wykazywał istotną statystycznie korelację z wzrastającym ryzykiem zgonu od początku leczenia. Dla wyżej wymienionych parametrów NLR ustalono wartość punktu odcięcia wg indeksu Youdena jako 2,5. Wartości równe lub większe znamienne zwiększały ryzyko wystąpienia ocenianego punktu końcowego.

Bezwzględną wartość neutrofilii oraz limfocytów oceniono pod kątem znaczenia predykcyjnego dla przewidywania progresji od rozpoczęcia immunoterapii lub leczenia celowanego. Nie wykazano znaczenia predykcyjnego ALC i ANC zarówno w grupie leczonej immunoterapią, jak i terapią celowaną.

Reasumując wyniki analizy własnej, potwierdzono negatywne znaczenie prognostyczne podwyższonej bezwzględnej liczby neutrofilii oraz wyższej wartości NLR.

Wykazano dłuższy czas całkowitego przeżycia chorych z wartością NLR  $\leq 3$ . Udowodniono znaczenie predykcyjne NLR dla wystąpienia zgonu w trakcie leczenia inhibitorami punktów kontrolnych oraz terapią celowaną. Na podstawie przeprowadzonej analizy wykazano 12-krotnie większe ryzyko zgonu chorych leczonych anty-PD-1 z wartością NLR przy progresji wyższą lub równą 4,65 w porównaniu do pacjentów, u których wynik był poniżej tej wartości. W przypadku terapii celowanej wartości NLR równe lub większe od 2,5 wiązały się większym ryzykiem zgonu.

Wyniki własne porównano do danych z literatury. Dostępna jest duża ilość publikacji oceniających parametry morfotyczne oraz wskaźnik neutrofilowo-limfocytarny, jako czynniki prognostyczne.

W 2018 roku została opublikowana japońska praca przez H. Okuhira i wsp., która miała na celu wyróżnienie biomarkerów odpowiedzi dla niwolumabu u chorych z zaawansowanym czerniakiem [120]. Grupę badaną stanowiło 16 pacjentów. Badania krwi zostały przeanalizowane pod kątem bezwzględnej liczby limfocytów (ang. *absolute lymphocyte counts*, ALC), bezwzględnej liczby neutrofilii (ang. *absolute lymphocyte counts*, ANC), ilości leukocytów (ang. *white blood cell count*, WBC), bezwzględnej liczby eozynofili (ang. *absolute eosinophil counts*, AEC), bezwzględnej liczby monocytów (ang. *absolute monocyte counts*, AMC), bezwzględnej liczby bazofili (ang. *absolute basophil counts*, ABC). Dodatkowo oznaczono m.in. wartość białka C-reaktywnego (ang. *C-reactive protein*, CRP) oraz poziom LDH w surowicy krwi. Pacjenci zostali podzieleni na grupę odpowiadającą i nieodpowiadającą na leczenie. Grupa odpowiadająca na leczenie charakteryzowała się wyższą wartością CRP oraz niższymi bezwzględnymi wartościami limfocytów przed rozpoczęciem terapii. Zaobserwowano również wzrost wartości limfocytów oraz spadek wartości neutrofilii i CRP w trakcie leczenia niwolumabem. Wyróżniono CRP jako biomarker najsilniej związany z predykcją odpowiedzi na niwolumab.

Inna praca pochodząca również z Japonii opublikowana przez Y. Nakamura przedstawia analizę 98 chorych leczonych niwolumabem w latach 2014-2016 w Tokyo [121]. Na podstawie przedstawionych wyników stwierdzono dłuższy czas całkowitego przeżycia wśród chorych z niższą bezwzględną liczbą neutrofilii w trakcie leczenia (ANC < 4000/ $\mu$ l) tydzień 3: HR 0,46; p=0,014, tydzień 6: HR 0,51; p=0,046 oraz wyższą bezwzględną liczbą limfocytów (ALC  $\geq$  1000/ $\mu$ l) tydzień 3: HR 0,40; p=0,004, tydzień 6: HR 0,33; p=0,001. Dodatkowo potwierdzono znane czynniki prognostyczne mające



negatywny wpływ na czas całkowitego przeżycia: podwyższona wartość CRP, gorszy stan ogólny, wartość LDH w surowicy krwi powyżej normy, większa masa nowotworu.

Czeski ośrodek opublikował w 2021 roku pracę autorstwa J. Kopecky i wsp. Celem pracy była ocena znaczenia prognostycznego parametrów krwi obwodowej ocenianych przed leczeniem wśród chorych z dodatnim statusem mutacji *BRAF* [122]. Badana grupa dotyczyła 20 chorych leczonych immunoterapią anti-PD-1 oraz 46 pacjentów leczonych terapią celowaną. mPFS wyniosła 8,3 miesiąca, mOS 18,2 miesiąca, nie stwierdzono istotnych różnic w grupie leczonej inhibitorami punktów kontrolnych oraz terapią celowaną ( $p>0,05$ ). Stwierdzono wpływ ocenianych parametrów krwi obwodowej przed leczeniem (ang. *pre-therapeutic blood cell count-derived ratios*, BCDR) na PFS i OS w grupie leczonej inhibitorami punktów kontrolnych. W grupie chorych otrzymujących terapię celowaną tylko wskaźnik płytkowo-limfocytarny (ang. *platelet-to-lymphocyte ratio*, PLR) miał znaczenie prognostyczne dla czasu całkowitego przeżycia oraz czasu wolnego od progresji.

Publikacja E. Chasseuil i wsp. pochodząca z francuskiego ośrodka w Nantes, dotycząca znaczenia prognostycznego wartości parametrów krwi obwodowej dla odpowiedzi na niwolumab została przedstawiona w 2019 roku [123]. Praca dotyczyła chorych leczonych z powodu zaawansowanego czerniaka ( $n=87$ ) inhibitorami punktów kontrolnych (niwolumab). Badana grupa charakteryzowała się średnią wiekiem 71 lat, 28% chorych posiadało owrzodzenie zmiany pierwotnej, średnia grubość nacieku czerniaka wg Breslowa to 4,03mm. Najczęściej występujący podtyp histopatologiczny to superficial spreading melanoma (30%), 26 osób (30%) posiadało dodatni status mutacji *BRAF*. W przedstawionej analizie wykazano korelację pomiędzy badanymi parametrami a czasem całkowitego przeżycia. Wzrost bezwzględnej liczby leukocytów (HR 1,13; 95% CI: 1,06–1,22;  $p=0,01$ ), LLR (leukocyte-lymphocyte ratio) (HR 1,11; 95% CI: 1,04–1,17;  $p=0,01$ ), bezwzględnej liczby neutrofilii (HR 1,16; 95% CI: 1,08–1,26;  $p=0,01$ ), wskaźnika neutrofilowo-limfocytarnego (HR 1,08; 95% CI: 1,02–1,15;  $p=0,01$ ), bezwzględnej liczby monocytów (HR 4,31; 95% CI: 1,46–12,74;  $p=0,01$ ), LDH (HR 1,31; 95% CI: 1,18–1,45;  $p=0,01$ ) oraz CRP (HR 1,01; 95% CI: 1,01–1,02;  $p=0,01$ ) związany był ze skróceniem czasu przeżycia. Tylko wzrost bezwzględnej wartości eozynofili (HR 0,01; 95% CI: 0,01–0,86;  $p=0,04$ ) związany był z wydłużeniem czasu całkowitego przeżycia.

Jedną z największych wieloośrodkowych analiz, dotyczących wskaźników klinicznych oraz wartości morfologicznych w przebiegu zaawansowanego czerniaka, była publikacja B. Weide i wsp. wydana w 2016 roku [124]. Analiza obejmowała 616 pacjentów leczonych pembrolizumabem w 30 ośrodkach z powodu zaawansowanego czerniaka w stopniu III

nieresekcyjnym lub IV. Średnia wieku grupy badanej wynosiła 60 lat. Wykazano pozytywną korelację pomiędzy czasem całkowitego przeżycia a wzrostem wartości bezwzględnej liczby limfocytów (ALC), bezwzględnej liczby eozynofili (AEC), względnej wartości limfocytów (RLC), względnej liczby eozynofili (REC) oraz bazofili (RBC) ( $p < 0,05$ ). Odwrotną zależność (skrócenie OS wraz ze wzrostem wartości) stwierdzono dla: WBC, LDH, bezwzględnej i względnej wartości neutrofilii (ANC, RNC) ( $p < 0,05$ ).

Wykonano także przegląd piśmiennictwa celem uzyskania informacji i porównania z wynikami własnymi dotyczący wskaźnika neutrofilowo-limfocytarnego. Analizowano NLR pod kątem znaczenia prognostycznego oraz predykcyjnego.

Wskaźnik neutrofilowo-limfocytarny jest powszechnie znanym czynnikiem prognostycznym używanym nie tylko w onkologii. NLR jest m.in. czynnikiem rokowniczym w chorobach układu sercowo-naczyniowego [125]. Podwyższona wartość NLR ma znaczenie złe rokowniczo wśród chorych z rozpoznąną sepsą [126].

W 2014 roku A. Templeton i wsp. opublikowali pracę dotyczącą oceny znaczenia rokowniczego wskaźnika neutrofilowo-limfocytarnego w guzach litych [127]. W publikacji zebrano dane ze 100 prac, które dotyczyły łącznie 40559 pacjentów. Ustalony punkt odcięcia dla NLR wynosił 4. Wartość  $NLR > 4$  związana była z gorszym czasem całkowitego przeżycia HR 1,81; (95% CI: 1,6 – 1,97;  $p < 0,001$ ). Efekt był obserwowany we wszystkich nowotworach i stadiach zaawansowania. Dodatkowo przeanalizowano wpływ wartości NLR na czas wolny od progresji (PFS), czas swoisty dla choroby nowotworowej (ang. *cancer-specific survival*, CSS), czas wolny od choroby (ang. *disease-free survival*, DFS). Hazard Ratio dla  $NLR > 4$  wynosił odpowiednio: PFS 1,63; CSS 1,61; DFS 2,27; ( $p < 0,001$ ).

Włoska grupa badaczy w 2018 roku opublikowała pracę opisującą NLR jako czynnik predykcyjny dla czasu przeżycia całkowitego pacjentów leczonych niwolumabem [128]. Praca dotyczyła 97 chorych leczonych z powodu czerniaka w IV stopniu zaawansowania. Wzrost wartości NLR, bezwzględnej liczby neutrofilii oraz LDH wiązał się z gorszym czasem całkowitego przeżycia. Punkt odcięcia dla NLR wynosił 5. Pacjenci z wartością  $NLR \geq 5$  charakteryzowali się krótszym czasem całkowitego przeżycia oraz czasem wolnym od progresji.

Sacalan i wsp. w 2018 roku opublikowali metaanalizę dotyczącą znaczenia prognostycznego NLR wśród chorych leczonych inhibitorami punktów kontrolnych w przebiegu różnych chorób nowotworowych [129]. W skład badania wchodziło 7 publikacji. Wyższa wartość wskaźnika neutrofilowo-limfocytarnego korelowała z gorszym czasem całkowitego przeżycia (HR 1,92; 95% CI: 1,29-2,87;  $p = 0,001$ ). Tę samą zależność

wykazano dla czasu wolnego od progresji (PFS) (HR 1,66; 95% CI: 1,38-2,01;  $p < 0.00001$ ). Wyniki dotyczyły wszystkich analizowanych nowotworów (nowotwory narządów moczowo-płciowych, niedrobnokomórkowy rak płuca, czerniak).

Zdecydowana większość publikacji dotyczy chorych leczonych inhibitorami punktów kontrolnych. Publikacja polska z 2018 roku autorstwa P. Tetrycz i wsp. przedstawia dane dotyczące znaczenia prognostycznego NLR wśród chorych leczonych terapią celowaną [130]. Analiza obejmowała 215 pacjentów leczonych w latach 2015-2017 *iBRAF+iMEK* z powodu nieresekcyjnego czerniaka. Wartość  $NLR > 4$  korelowała z krótszym PFS (odsetek przeżyć 12 miesięcznych 51,6% vs. 26,7%;  $p < 0,001$ ) oraz krótszym OS (odsetek przeżyć 12-miesięcznych 77,3% vs. 53,1%;  $p < 0,001$ ). Przedstawione dane wskazują na możliwość wykorzystania rokowniczego znaczenia NLR również w przebiegu terapii celowanej.

Wśród chorych z czerniakiem w IV stopniu zaawansowania istotną kwestią pozostają pacjenci z rozsiewem do mózgowia. W 2021 roku M. Schneider i wsp. opublikowali pracę analizującą przedoperacyjne znaczenie biomarkerów stanu zapalnego u chorych z rozsiewem do mózgu w przebiegu czerniaka [131]. Grupa badana dotyczyła 30 osób leczonych operacyjnie w latach 2013-2019. Mediana czasu przeżycia chorych z rozsiewem do mózgu wynosiła 7 miesięcy. Udowodniono negatywne znaczenie prognostyczne dla czasu całkowitego przeżycia wśród chorych z:  $NLR \geq 4$ ,  $CRP > 10$  mg/L,  $PLR$  (*platelet-lymphocyte ratio*)  $\geq 145$  oraz  $LMR$  (*lymphocyte-monocyte ratio*)  $< 2$ .

Analizując wartość NLR, szczególnie wśród pacjentów wymagających sterydoterapii w przebiegu rozsiewu do ośrodkowego układu nerwowego lub terapii powikłań immunologicznych, należy pamiętać o wpływie sterydów na układ granulocytarny. W analizie własnej nie brano pod uwagę stosowanych leków dodatkowych w tym sterydoterapii. Należy rozważyć w przyszłości ewentualną analizę wartości wskaźnika neutrofilowo-limfocytarnego wśród chorych leczonych inhibitorami punktów kontrolnych w dwóch podgrupach: stosującej sterydoterapię lub nie. Uzyskane dane pozwoliłyby w odpowiedni sposób stosować NLR również wśród pacjentów wymagających immunosupresji.

Przedstawione dane z literatury korelują z wynikami badania własnego. W analizie własnej zaobserwowano większe ryzyko zgonu wśród osób z wyższą bezwzględną liczbą neutrofilów (HR=1,07;  $p < 0,001$ ) oraz wyższą wartością NLR. Wyższa bezwzględna wartość neutrofilów wiązała się ze zwiększonym ryzykiem progresji choroby (HR=1,05; 95% CI: 1,01-1,10;  $p=0,021$ ). Ryzyko progresji wzrastało przy wyższych wartościach wskaźnika neutrofilowo-limfocytarnego na wysokości 2 kursu (HR=1,11; 95% CI: 1,04-1,19;  $p=0,003$ )

oraz po 3 miesiącach terapii (HR=1,23; 95% CI: 1,13-1,35; p<0,001). Udowodniono również znaczenie predykcyjne wskaźnika neutrofilowo-limfocytarnego dla przewidywania zgonu od rozpoczęcia immunoterapii oraz leczenia celowanego.

## 6. Wnioski

1. Negatywny wpływ na czas całkowitego przeżycia pacjentów z zaawansowanym czerniakiem wykazują: gorszy stan sprawności, większa ilość przerzutów, podwyższona wartość dehydrogenazy mleczanowej w surowicy, przerzuty do ośrodkowego układu nerwowego, wątroby, obecność angioinwazji w zmianie pierwotnej, wyższa wartość wskaźnika neutrofilowo-limfocytarnego, wyższa liczba bezwzględna neutrofilii, obecność większej liczby dodatnich węzłów chłonnych wartowniczych, uzyskanie stabilizacji lub progresji choroby względem całkowitej remisji.
2. Negatywny wpływ na czas wolny od progresji wykazują: gorszy stan ogólny, większa ilość mitoz w polu widzenia, obecność angioinwazji w zmianie pierwotnej, wyższa wartość wskaźnika neutrofilowo-limfocytarnego, wyższa bezwzględna liczba neutrofilii.
3. Pacjenci z potwierdzoną mutacją w genie *BRAF* charakteryzują się: niższą średnią wieku, wyższymi wartościami dehydrogenazy mleczanowej w surowicy krwi, częstszą lokalizacją zmian przerzutowych w wątrobie oraz ośrodkowym układzie nerwowym, niższą wartością wskaźnika neutrofilowo-limfocytarnego na wysokości trzeciego kursu oraz po trzech miesiącach leczenia. Obecność mutacji *BRAF* nie ma wpływu na czas całkowitego przeżycia, ale wiąże się z dłuższym czasem wolnym od progresji choroby.
4. Zastosowanie leczenia przeciwciałami anty-PD-1 w drugiej linii leczenia po *iBRAF*+/-*iMEK* wiąże się z dłuższym czasem przeżycia. Obserwacja nie została potwierdzona w literaturze.
5. Wyniki leczenia osiągnięte w codziennej praktyce klinicznej są gorsze w stosunku do randomizowanych badań klinicznych, co wynika z odmiennej charakterystyki grupy badanej.
6. Pacjenci z wartością wskaźnika neutrofilowo-limfocytarnego  $\leq 3$  wykazują dłuższy czas całkowitego przeżycia. NLR wykazuje znaczenie predykcyjne dla wystąpienia zgonu w trakcie leczenia inhibitorami punktów kontrolnych oraz terapią celowaną.

## 7. Piśmiennictwo

1. O. Urteaga, G. T. Pack, "On the antiquity of melanoma," *Cancer*, vol. 19, no. 5, pp. 607-10, 1966, doi: 10.1002/1097-0142(196605)19:5<607:aid-cncr2820190502>3.0.co;2-8.
2. Krajowy Rejestr Nowotworów, "Czerniak skóry (C43)". Pobrano 12.02.2022 z <http://onkologia.org.pl/czerniak-skory-c43/> - 01.02.2022.
3. Krajowy Rejestr Nowotworów. Pobrano 12.02.2022 z [http://onkologia.org.pl/raporty/#tabela\\_nowotwor](http://onkologia.org.pl/raporty/#tabela_nowotwor) - 01.02.2022.
4. P. Rutkowski *et al.*, "Postępowanie diagnostyczno-terapeutyczne u chorych na czerniaki – zalecenia ekspertów," *Onkologia w praktyce klinicznej*, 2021. Pobrano 01.02.2022 z ["http://journals.viamedica.pl/onkologia\\_w\\_praktyce\\_klin\\_edu/article/view/87693](http://journals.viamedica.pl/onkologia_w_praktyce_klin_edu/article/view/87693) 2021."
5. S. Strashilov, A. Yordanov, P. Ghiorzo, "Molecular Sciences Aetiology and Pathogenesis of Cutaneous Melanoma: Current Concepts and Advances," 2021, doi: 10.3390/ijms22126395.
6. J. M. Elwood, R. P. Gallagher, A. J. Worth, W. S. Wood, J. C. G. Pearson, "Etiological Differences Between Subtypes of Cutaneous Malignant Melanoma: Western Canada Melanoma Study2," *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, vol. 78, no. 1, pp. 37–44, Jan. 1987, doi: 10.1093/jnci/78.1.37.
7. S. del Bino, C. Duval, F. Bernerd, "Molecular Sciences Clinical and Biological Characterization of Skin Pigmentation Diversity and Its Consequences on UV Impact," *Int. J. Mol. Sci.*, 2018, doi: 10.3390/ijms19092668.
8. J. Jassem, M. Krzakowski, P. Rutkowski, "Złośliwe nowotwory skóry; Praktyczny przewodnik dla lekarzy, wydanie II," Gdańsk: Grupa Via Medica; 2014.
9. G. Argenziano, R. Hofmann-Wellenhof, I. Zalaudek, H. P. Soyer, *Dermoskopia*, Wrocław: Wydawnictwo Edra Urban & Partner; 2012.
10. Wytyczne National Comprehensive Cancer Network. Pobrano 01.02.2022 z [https://www.nccn.org/login?ReturnURL=https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/cutaneous\\_melanoma.pdf](https://www.nccn.org/login?ReturnURL=https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/cutaneous_melanoma.pdf). "NCCN Guidelines, Cutaneous melanoma version 1.2022," 2022.
11. O. Michielin, A. C. J. van Akkooi, P. A. Ascierto, R. Dummer, U. Keilholz, "Cutaneous melanoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment

- and follow-up,” *Annals of Oncology*, vol. 30, no. 12, pp. 1884–1901, Dec. 2019, doi: 10.1093/annonc/mdz411.
12. P. A. Ascierto *et al.*, “The role of BRAF V600 mutation in melanoma,” *J Transl Med*, vol. 10, no. 1, May 2012, doi: 10.1186/1479-5876-10-85.
  13. E. Z. Keung, J. E. Gershenwald, “The eighth edition American Joint Committee on Cancer (AJCC) melanoma staging system: implications for melanoma treatment and care”, doi: 10.1080/14737140.2018.1489246.
  14. John, “ONLINE CONTINUING EDUCATION ACTIVITY ARTICLE TITLE: Melanoma Staging: Evidence-Based Changes in the American Joint Committee on Cancer (AJCC) Eighth Edition Cancer Staging Manual CONTINUING MEDICAL EDUCATION ACCREDITATION AND DESIGNATION STATEMENT”, doi: 10.3322/caac.21409.
  15. A. Farhana, S. L. Lappin, “Biochemistry, Lactate Dehydrogenase,” *StatPearls*, May 2021, Accessed: Feb. 03, 2022. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557536/>
  16. M. Deichmann *et al.*, “S100-Beta, melanoma-inhibiting activity, and lactate dehydrogenase discriminate progressive from nonprogressive American Joint Committee on Cancer stage IV melanoma,” *J Clin Oncol*, vol. 17, no. 6, pp. 1891–1896, 1999, doi: 10.1200/JCO.1999.17.6.1891.
  17. A. Płużański, “Słownik terminów onkologicznych Glossary of oncology terms,” *Gastroenterologia Kliniczna*, vol. 2, no. 4, pp. 117–120, 2010. Pobrano 01.02.2022 z [https://journals.viamedica.pl/gastroenterologia\\_kliniczna/article/viewFile/29286/24038](https://journals.viamedica.pl/gastroenterologia_kliniczna/article/viewFile/29286/24038)
  18. P. V. Dickson, J. E. Gershenwald, “Staging and Prognosis of Cutaneous Melanoma,” *Surg Oncol Clin N Am*, vol. 20, no. 1, p. 1, Jan. 2011, doi: 10.1016/J.SOC.2010.09.007.
  19. J. Homsí, M. Kashani-Sabet, J. L. Messina, A. Daud, “Cutaneous melanoma: prognostic factors,” *Cancer Control*, vol. 12, no. 4, pp. 223–229, 2005, doi: 10.1177/107327480501200403.
  20. J. F. Thompson *et al.*, “Prognostic Significance of Mitotic Rate in Localized Primary Cutaneous Melanoma: An Analysis of Patients in the Multi-Institutional American Joint Committee on Cancer Melanoma Staging Database,” *Journal of Clinical Oncology*, vol. 29, no. 16, p. 2199, Jun. 2011, doi: 10.1200/JCO.2010.31.5812.

21. F. C. Wright *et al.*, “Primary excision margins, sentinel lymph node biopsy, and completion lymph node dissection in cutaneous melanoma: A clinical practice guideline,” *Current Oncology*, vol. 26, no. 4, pp. e541–e550, Aug. 2019, doi: 10.3747/co.26.4885.
22. M. B. Faries *et al.*, “The Impact on Morbidity and Length of Stay of Early Versus Delayed Complete Lymphadenectomy in Melanoma: Results of the Multicenter Selective Lymphadenectomy Trial (I)”, doi: 10.1245/s10434-010-1203-0.
23. U. Leiter *et al.*, “Complete lymph node dissection versus no dissection in patients with sentinel lymph node biopsy positive melanoma (DeCOG-SLT): a multicentre, randomised, phase 3 trial,” *Lancet Oncol*, vol. 17, no. 6, pp. 757–767, Jun. 2016, doi: 10.1016/S1470-2045(16)00141-8.
24. A. Testori *et al.*, “Surgery and radiotherapy in the treatment of cutaneous melanoma,” *Ann Oncol*, vol. 20 Suppl 6, no. Suppl 6, 2009, doi: 10.1093/ANNONC/MDP257.
25. A. M. M. Eggermont, M. Gore, “Randomized adjuvant therapy trials in melanoma: surgical and systemic,” *Semin Oncol*, vol. 34, no. 6, pp. 509–515, Dec. 2007, doi: 10.1053/J.SEMINONCOL.2007.09.003.
26. A. M. M. Eggermont *et al.*, “Ulceration and stage are predictive of interferon efficacy in melanoma: results of the phase III adjuvant trials EORTC 18952 and EORTC 18991,” *Eur J Cancer*, vol. 48, no. 2, pp. 218–225, Jan. 2012, doi: 10.1016/J.EJCA.2011.09.028.
27. J. Weber *et al.*, “Adjuvant Nivolumab versus Ipilimumab in Resected Stage III or IV Melanoma,” *New England Journal of Medicine*, vol. 377, no. 19, pp. 1824–1835, Nov. 2017, doi: 10.1056/NEJMOA1709030/SUPPL\_FILE/NEJMOA1709030\_DISCLOSURES.PDF.
28. A. M. M. Eggermont *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*, vol. 16, no. 5, pp. 522–530, 2015, doi: 10.1016/S1470-2045(15)70122-1.
29. A. M. M. Eggermont *et al.*, “Adjuvant ipilimumab versus placebo after complete resection of stage III melanoma: long-term follow-up results of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer 18071 double-blind phase 3 randomised trial,” *Eur J Cancer*, vol. 119, pp. 1–10, Sep. 2019, doi: 10.1016/J.EJCA.2019.07.001.



30. P. A. Ascierto *et al.*, “Adjuvant nivolumab versus ipilimumab in resected stage IIIB-C and stage IV melanoma (CheckMate 238): 4-year results from a multicentre, double-blind, randomised, controlled, phase 3 trial,” *Lancet Oncol*, vol. 21, no. 11, pp. 1465–1477, Nov. 2020, doi: 10.1016/S1470-2045(20)30494-0.
31. A. M. M. Eggermont *et al.*, “Adjuvant Pembrolizumab versus Placebo in Resected Stage III Melanoma,” *N Engl J Med*, vol. 378, no. 19, pp. 1789–1801, May 2018, doi: 10.1056/NEJMOA1802357.
32. A. M. M. Eggermont *et al.*, “Longer Follow-Up Confirms Recurrence-Free Survival Benefit of Adjuvant Pembrolizumab in High-Risk Stage III Melanoma: Updated Results From the EORTC 1325-MG/KEYNOTE-054 Trial,” *J Clin Oncol*, vol. 38, no. 33, pp. 3925–3936, Nov. 2020, doi: 10.1200/JCO.20.02110.
33. G. v. Long *et al.*, “Adjuvant Dabrafenib plus Trametinib in Stage III BRAF-Mutated Melanoma,” *N Engl J Med*, vol. 377, no. 19, pp. 1813–1823, Nov. 2017, doi: 10.1056/NEJMOA1708539.
34. A. Hauschild *et al.*, “Longer Follow-Up Confirms Relapse-Free Survival Benefit With Adjuvant Dabrafenib Plus Trametinib in Patients With Resected BRAF V600-Mutant Stage III Melanoma,” *J Clin Oncol*, vol. 36, no. 35, pp. 3441–3449, Dec. 2018, doi: 10.1200/JCO.18.01219.
35. L. Zimmer *et al.*, “Adjuvant nivolumab plus ipilimumab or nivolumab monotherapy versus placebo in patients with resected stage IV melanoma with no evidence of disease (IMMUNED): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial,” *Lancet*, vol. 395, no. 10236, pp. 1558–1568, May 2020, doi: 10.1016/S0140-6736(20)30417-7.
36. Charakterystyka produktu leczniczego: dakarbazyna. Pobrano 02.02.2022 z [http://chpl.com.pl/data\\_files/detimedac\\_100\\_200.pdf](http://chpl.com.pl/data_files/detimedac_100_200.pdf).
37. M. R. Middleton *et al.*, “Randomized phase III study of temozolomide versus dacarbazine in the treatment of patients with advanced metastatic malignant melanoma,” *J Clin Oncol*, vol. 18, no. 1, pp. 158–166, 2000, doi: 10.1200/JCO.2000.18.1.158.
38. K. Madaan, D. Kaushik, T. VerM.A., “Hydroxyurea: a key player in cancer chemotherapy,” *Expert Rev Anticancer Ther*, vol. 12, no. 1, pp. 19–29, Jan. 2012, doi: 10.1586/ERA.11.175.
39. A. S. Mansfield, S. N. Markovic, “Novel therapeutics for the treatment of metastatic melanoma,” *Future Oncol*, vol. 5, no. 4, pp. 543–557, 2009, doi: 10.2217/FON.09.15.

40. J. Bauer *et al.*, “BRAF mutations in cutaneous melanoma are independently associated with age, anatomic site of the primary tumor, and the degree of solar elastosis at the primary tumor site,” *Pigment Cell & Melanoma Research*, vol. 24, no. 2, pp. 345–351, Apr. 2011, doi: 10.1111/J.1755-148X.2011.00837.X.
41. P. Queirolo, F. Spagnolo, “BRAF plus MEK-targeted drugs: a new standard of treatment for BRAF-mutant advanced melanoma,” *Cancer Metastasis Rev*, vol. 36, no. 1, pp. 35–42, Mar. 2017, doi: 10.1007/S10555-017-9660-6.
42. P. B. Chapman *et al.*, “Improved Survival with Vemurafenib in Melanoma with BRAF V600E Mutation,” *New England Journal of Medicine*, vol. 364, no. 26, pp. 2507–2516, Jun. 2011, doi: 10.1056/NEJMOA1103782/SUPPL\_FILE/NEJMOA1103782\_DISCLOSURES.PDF.
43. A. Hauschild *et al.*, “Dabrafenib in BRAF-mutated metastatic melanoma: a multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial,” *The Lancet*, vol. 380, no. 9839, pp. 358–365, Jul. 2012, doi: 10.1016/S0140-6736(12)60868-X.
44. P. Queirolo, F. Spagnolo, “BRAF plus MEK-targeted drugs: a new standard of treatment for BRAF-mutant advanced melanoma,” *Cancer and Metastasis Reviews 2017 36:1*, vol. 36, no. 1, pp. 35–42, Mar. 2017, doi: 10.1007/S10555-017-9660-6.
45. J. Larkin *et al.*, “Combined Vemurafenib and Cobimetinib in BRAF -Mutated Melanoma,” *New England Journal of Medicine*, vol. 371, no. 20, pp. 1867–1876, Nov. 2014, doi: 10.1056/NEJMOA1408868/SUPPL\_FILE/NEJMOA1408868\_DISCLOSURES.PDF.
46. Charakterystyka produktu leczniczego: vemurafenib. Pobrano 03.02.2022 z [https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2017/20170518137702/anx\\_137702\\_pl.pdf](https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2017/20170518137702/anx_137702_pl.pdf).
47. Charakterystyka produktu leczniczego: kobimetynyb. Pobrano 03.02.2022 z [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/cotellic-epar-product-information\\_pl.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/cotellic-epar-product-information_pl.pdf).
48. G. v. Long *et al.*, “Combined BRAF and MEK Inhibition versus BRAF Inhibition Alone in Melanoma,” *New England Journal of Medicine*, vol. 371, no. 20, pp. 1877–1888, Nov. 2014, doi: 10.1056/NEJMOA1406037/SUPPL\_FILE/NEJMOA1406037\_DISCLOSURES.PDF.

49. C. Robert *et al.*, “Improved Overall Survival in Melanoma with Combined Dabrafenib and Trametinib A BS TR AC T,” *N Engl J Med*, vol. 372, pp. 30–39, 2015, doi: 10.1056/NEJMoa1412690.
50. Charakterystyka produktu leczniczego: dabrafenib. Pobrano 03.02.2022 z [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/tafinlar-epar-product-information\\_pl.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/tafinlar-epar-product-information_pl.pdf).
51. R. Dummer *et al.*, “Overall survival in patients with BRAF-mutant melanoma receiving encorafenib plus binimetinib versus vemurafenib or encorafenib (COLUMBUS): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial,” *The Lancet Oncology*, vol. 19, no. 10, pp. 1315–1327, Oct. 2018, doi: 10.1016/S1470-2045(18)30497-2.
52. R. Dummer *et al.*, “Encorafenib plus binimetinib versus vemurafenib or encorafenib in patients with BRAF-mutant melanoma (COLUMBUS): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial,” *The Lancet Oncology*, vol. 19, no. 5, pp. 603–615, May 2018, doi: 10.1016/S1470-2045(18)30142-6.
53. Charakterystyka produktu leczniczego: enkorafenib. Pobrano 03.02.2022 z [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/braftovi-epar-product-information\\_pl.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/braftovi-epar-product-information_pl.pdf).
54. Charakterystyka produktu leczniczego: binimetytib. Pobrano 03.02.2022 z [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/mektovi-epar-product-information\\_pl.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/mektovi-epar-product-information_pl.pdf).
55. M. Schreuer *et al.*, “Combination of dabrafenib plus trametinib for BRAF and MEK inhibitor pretreated patients with advanced BRAFV600-mutant melanoma: an open-label, single arm, dual-centre, phase 2 clinical trial,” *The Lancet Oncology*, vol. 18, no. 4, pp. 464–472, Apr. 2017, doi: 10.1016/S1470-2045(17)30171-7.
56. S. Valpione *et al.*, “Rechallenge with BRAF-directed treatment in metastatic melanoma: A multi-institutional retrospective study,” *European Journal of Cancer*, vol. 91, pp. 116–124, Mar. 2018, doi: 10.1016/J.EJCA.2017.12.007/ATTACHMENT/7768555B-6112-432F-86DF-56977179280D/MMC1.DOCX.
57. J. Guo *et al.*, “Phase II, open-label, single-arm trial of imatinib mesylate in patients with metastatic melanoma harboring c-Kit mutation or amplification,” *Journal of Clinical Oncology*, vol. 29, no. 21, pp. 2904–2909, Jul. 2011, doi: 10.1200/JCO.2010.33.9275.

58. F. Stephen Hodi *et al.*, “Improved Survival with Ipilimumab in Patients with Metastatic Melanoma A bs tr ac t,” *n engl j med*, vol. 8, pp. 711–734, 2010, doi: 10.1056/NEJMoa1003466.
59. J. N. Gerson, C. Ramamurthy, H. Borghaei, “Managing Adverse Effects of Immunotherapy,” *Clinical Advances in Hematology & Oncology*, vol. 16, no. 5, 2018.
60. C. Robert *et al.*, “Nivolumab in previously untreated melanoma without BRAF mutation,” *N Engl J Med*, vol. 372, no. 4, pp. 320–330, Jan. 2015, doi: 10.1056/NEJMOA1412082.
61. H. Kosęła-Paterczyk, P. Rutkowski, ”Nivolumab — perspectives in cancer treatment,” *Oncol Clin Pract*, vol. 12, no. 2, pp. 52–62, 2016.
62. J. Larkin *et al.*, “Efficacy and safety of nivolumab in patients with BRAF V600 mutant and BRAF wild-type advanced melanoma: A pooled analysis of 4 clinical trials,” *JAMA Oncology*, vol. 1, no. 4, pp. 433–440, Jul. 2015, doi: 10.1001/jamaoncol.2015.1184.
63. C. Robert *et al.*, “Pembrolizumab versus Ipilimumab in Advanced Melanoma,” *N Engl J Med*, vol. 372, no. 26, pp. 2521–2532, Jun. 2015, doi: 10.1056/NEJMOA1503093.
64. C. Robert *et al.*, “Pembrolizumab versus ipilimumab in advanced melanoma (KEYNOTE-006): post-hoc 5-year results from an open-label, multicentre, randomised, controlled, phase 3 study,” *The Lancet Oncology*, vol. 20, no. 9, pp. 1239–1251, Sep. 2019, doi: 10.1016/S1470-2045(19)30388-2.
65. A. C. Tan *et al.*, “FDG-PET response and outcome from anti-PD-1 therapy in metastatic melanoma,” *Ann Oncol*, vol. 29, no. 10, pp. 2115–2120, Oct. 2018, doi: 10.1093/ANNONC/MDY330.
66. D. Szczes, P. Rutkowski, “New dosing schedule of pembrolizumab - Theoretical basis and scientific evidence,” *Oncology in Clinical Practice*, vol. 16, no. 6. Via Medica, pp. 358–363, 2020. doi: 10.5603/OCP.2020.0033.
67. J. Larkin *et al.*, “Combined Nivolumab and Ipilimumab or Monotherapy in Untreated Melanoma,” *New England Journal of Medicine*, vol. 373, no. 1, pp. 23–34, Jul. 2015, doi:10.1056/NEJMOA1504030/SUPPL\_FILE/NEJMOA1504030\_DISCLOSURES.PDF.
68. J. D. Wolchok *et al.*, “Overall Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma,” *New England Journal of Medicine*, vol. 377, no. 14, pp. 1345–1356, Oct. 2017, doi:10.1056/NEJMOA1709684/SUPPL\_FILE/NEJMOA

1709684\_DISCLOSURES.PDF.

69. J. D. Wolchok *et al.*, “Long-Term Outcomes With Nivolumab Plus Ipilimumab or Nivolumab Alone Versus Ipilimumab in Patients With Advanced Melanoma,” *Journal of Clinical Oncology*, vol. 40, no. 2, pp. 127–137, Jan. 2022, doi: 10.1200/jco.21.02229.
70. Charakterystyka produktu leczniczego: niwolumab. Pobrano 04.02.2022 z [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/opdivo-epar-product-information\\_pl.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/opdivo-epar-product-information_pl.pdf).
71. P. Bhave *et al.*, “ARTICLE Melanoma recurrence patterns and management after adjuvant targeted therapy: a multicentre analysis,” *British Journal of Cancer*, doi: 10.1038/s41416-020-01121-y.
72. C. N. Owen *et al.*, “A multicenter analysis of melanoma recurrence following adjuvant anti-PD1 therapy,” *Journal of Clinical Oncology*, vol. 37, no. 15, pp. 9502–9502, May 2019, doi: 10.1200/JCO.2019.37.15\_SUPPL.9502.
73. R. Gutzmer *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,” *Lancet*, vol. 395, no. 10240, pp. 1835–1844, Jun. 2020, doi: 10.1016/S0140-6736(20)30934-X.
74. N. P. Restifo, S. A. Rosenberg, “Use of standard criteria for assessment of cancer vaccines,” *The lancet oncology*, vol. 6, no. 1, p. 3, Jan. 2005, doi: 10.1016/S1470-2045(04)01693-6.
75. M. Kwak, K. M. Leick, M. M. Melsse, C. L. Slingluff, “Vaccine Strategy in Melanoma,” *Surg Oncol Clin N Am*, vol. 28, no. 3, pp. 337–351, Jul. 2019, doi: 10.1016/J.SOC.2019.02.003.
76. “Nadchodzi przełom w leczeniu zaawansowanego czerniaka – szczepionka mRNA wchodzi w II fazę badań klinicznych,” *Serwis onkologiczny dla pacjentów i lekarzy*. Pobrano 05.02.202 z [https://onkonet.pl/n\\_n\\_czerniak\\_szczepionka\\_bnt111.php](https://onkonet.pl/n_n_czerniak_szczepionka_bnt111.php).”
77. “SECOMBIT: The best sequential approach with combo immunotherapy [ipilimumab (I) /nivolumab (N)] and combo target therapy [encorafenib (E)/binimetin... | OncologyPRO.” <https://oncologypro.esmo.org/meeting-resources/esmo-congress/secombit-the-best-sequential-approach-with-combo-immunotherapy-ipilimumab-i-nivolumab-n-and-combo-target-therapy-encorafenib-e-binimetin> (accessed Mar. 05, 2022).

78. F. Balkwill, A. Mantovani, "Inflammation and cancer: back to Virchow?," *The Lancet*, vol. 357, no. 9255, pp. 539–545, Feb. 2001, doi: 10.1016/S0140-6736(00)04046-0.
79. H. Gonzalez, C. Hagerling, Z. Werb, "Roles of the immune system in cancer: from tumor initiation to metastatic progression," *Genes & Development*, vol. 32, no. 19–20, pp. 1267–1284, Oct. 2018, doi: 10.1101/GAD.314617.118.
80. L. Beaugerie *et al.*, "Risk of Colorectal High-Grade Dysplasia and Cancer in a Prospective Observational Cohort of Patients With Inflammatory Bowel Disease," *Gastroenterology*, vol. 145, no. 1, pp. 166-175.e8, Jul. 2013, doi: 10.1053/J.GASTRO.2013.03.044.
81. E. Kolaczowska, P. Kubes, "Neutrophil recruitment and function in health and inflammation," *Nature Reviews Immunology*, vol. 13, no. 3, pp. 159–175, 2013, doi: 10.1038/nri3399.
82. E. Uribe-Querol, C. Rosales, "Neutrophils in cancer: Two sides of the same coin," *Journal of Immunology Research*, vol. 2015, 2015, doi: 10.1155/2015/983698.
83. S. Xiong, L. Dong, L. Cheng, "Neutrophils in cancer carcinogenesis and metastasis," *J Hematol Oncol*, vol. 14, no. 1, Dec. 2021, doi: 10.1186/S13045-021-01187-Y.
84. D. Karamitros *et al.*, "Single-cell analysis reveals the continuum of human lymphomyeloid progenitor cells," *Nat Immunol*, vol. 19, no. 1, pp. 85–97, Jan. 2018, doi: 10.1038/S41590-017-0001-2.
85. J. L. Ethier, D. Desautels, A. Templeton, P. S. Shah, E. Amir, "Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in breast cancer: A systematic review and meta-analysis," *Breast Cancer Research*, vol. 19, no. 1, pp. 1–13, Jan. 2017, doi: 10.1186/S13058-016-0794-1/FIGURES/4.
86. P. A. Ascierto *et al.*, "The role of BRAF V600 mutation in melanoma," *J Transl Med*, vol. 10, no. 1, May 2012, doi: 10.1186/1479-5876-10-85.
87. Y. Nakamura, "Biomarkers for immune checkpoint inhibitor-mediated tumor response and adverse events," *Frontiers in Medicine*, vol. 6, pp. 1–18, May 2019, doi: 10.3389/FMED.2019.00119/BIBTEX.
88. "http://www.gov.pl/web/zdrowie/choroby-onkologiczne/Program\_lekowy\_B.59 - 2022.05.01."
89. L. Heinzerling *et al.*, "Tolerability of BRAF/MEK inhibitor combinations: adverse event evaluation and management," *ESMO Open*, vol. 4, no. 3, May 2019, doi: 10.1136/ESMOOPEN-2019-000491.

90. P. A. Ascierto *et al.*, “Cobimetinib combined with vemurafenib in advanced BRAFV600-mutant melanoma (coBRIM): updated efficacy results from a randomised, double-blind, phase 3 trial,” *The Lancet Oncology*, vol. 17, no. 9, pp. 1248–1260, Sep. 2016, doi: 10.1016/S1470-2045(16)30122-X.
91. K. Czirbesz *et al.*, “Efficacy of Vemurafenib Treatment in 43 Metastatic Melanoma Patients with BRAF Mutation. Single-Institute Retrospective Analysis, Early Real-Life Survival Data,” *Pathol Oncol Res*, vol. 25, no. 1, pp. 45–50, Jan. 2019, doi: 10.1007/S12253-017-0324-1.
92. B. M. Lang *et al.*, “Long-term survival with modern therapeutic agents against metastatic melanoma-vemurafenib and ipilimumab in a daily life setting,” *Med Oncol*, vol. 35, no. 3, Mar. 2018, doi: 10.1007/S12032-018-1084-9.
93. E. Cocorocchio *et al.*, “Dabrafenib in metastatic melanoma: a monocentric ‘real life’ experience,” *ecancermedicalscience*, vol. 10, Mar. 2016, doi: 10.3332/ECANCER.2016.624.
94. S. Cavalieri *et al.*, “Combined therapy with dabrafenib and trametinib in BRAF-mutated metastatic melanoma in a real-life setting: the INT Milan experience,” *Tumori*, vol. 102, no. 5, pp. 501–507, Sep. 2016, doi: 10.5301/TJ.5000539.
95. R. Depenni *et al.*, “Dabrafenib-trametinib combination in ‘field-practice’: an Italian experience,” *Future Oncol*, vol. 14, no. 20, pp. 2045–2052, Aug. 2018, doi: 10.2217/FON-2017-0714.
96. J. Z. Drago *et al.*, “Clinical experience with combination BRAF/MEK inhibitors for melanoma with brain metastases: a real-life multicenter study,” *Melanoma Res*, vol. 29, no. 1, pp. 65–69, Feb. 2019, doi: 10.1097/CMR.0000000000000527.
97. M. H. Geukes Foppen, W. Boogerd, C. U. Blank, J. v. van Thienen, J. B. Haanen, D. Brandsma, “Clinical and radiological response of BRAF inhibition and MEK inhibition in patients with brain metastases from BRAF-mutated melanoma,” *Melanoma Res*, vol. 28, no. 2, pp. 126–133, Apr. 2018, doi: 10.1097/CMR.0000000000000429.
98. C. Robert *et al.*, “Five-Year Outcomes With Nivolumab in Patients With Wild-Type BRAF Advanced Melanoma,” *Journal of Clinical Oncology*, vol. 38, no. 33, p. 3937, Nov. 2020, doi: 10.1200/JCO.20.00995.
99. F. Musicco *et al.*, “[Immunotherapy with nivolumab and pembrolizumab in unresectable or metastatic advanced melanoma: real-life observational study of drug

- use],” *Recenti Prog Med*, vol. 112, no. 12, pp. 792–801, Dec. 2021, doi: 10.1701/3710.37002.
100. S. Bocquet-Tremoureux *et al.*, “Efficacy and safety of nivolumab in metastatic melanoma: real-world practice,” *Eur J Dermatol*, vol. 29, no. 3, pp. 315–321, May 2019, doi: 10.1684/EJD.2019.3558.
  101. E. Casarotto *et al.*, “Real-world effectiveness of pembrolizumab in advanced melanoma: analysis of a French national clinicobiological database,” *Immunotherapy*, vol. 13, no. 11, pp. 905–916, Aug. 2021, doi: 10.2217/IMT-2021-0077.
  102. C. Cimminiello *et al.*, “Pembrolizumab in the treatment of advanced/metastatic melanoma: a single-center institution experience,” *Melanoma Res*, vol. 29, no. 3, pp. 289–294, Jun. 2019, doi: 10.1097/CMR.0000000000000539.
  103. J. C. Moser, G. Wei, S. v. Colonna, K. F. Grossmann, S. Patel, J. R. Hyngstrom, “Comparative-effectiveness of pembrolizumab vs. nivolumab for patients with metastatic melanoma,” *Acta Oncol*, vol. 59, no. 4, pp. 434–437, Apr. 2020, doi: 10.1080/0284186X.2020.1712473.
  104. B. C. Stopa *et al.*, “Real-world treatment practice in patients with advanced melanoma,” *Contemporary oncology (Poznan, Poland)*, vol. 24, no. 2, pp. 118–124, 2020, doi: 10.5114/WO.2020.97607.
  105. M. C. T. van Zeijl *et al.*, “Real-world Outcomes of First-line Anti-PD-1 Therapy for Advanced Melanoma: A Nationwide Population-based Study,” *J Immunother*, vol. 43, no. 8, pp. 256–264, Oct. 2020, doi: 10.1097/CJI.0000000000000334.
  106. K. Margolin *et al.*, “Ipilimumab in patients with melanoma and brain metastases: an open-label, phase 2 trial,” *Lancet Oncol*, vol. 13, no. 5, pp. 459–465, May 2012, doi: 10.1016/S1470-2045(12)70090-6.
  107. G. v. Long *et al.*, “Combination nivolumab and ipilimumab or nivolumab alone in melanoma brain metastases: a multicentre randomised phase 2 study,” *The Lancet Oncology*, vol. 19, no. 5, pp. 672–681, May 2018, doi: 10.1016/S1470-2045(18)30139-6.
  108. H. A. Tawbi *et al.*, “Long-term outcomes of patients with active melanoma brain metastases treated with combination nivolumab plus ipilimumab (CheckMate 204): final results of an open-label, multicentre, phase 2 study,” *Lancet Oncol*, vol. 22, no. 12, pp. 1692–1704, Dec. 2021, doi: 10.1016/S1470-2045(21)00545-3.



109. M. C. T. van Zeijl *et al.*, “Real-world outcomes of advanced melanoma patients not represented in phase III trials,” *Int J Cancer*, vol. 147, no. 12, pp. 3461–3470, Dec. 2020, doi: 10.1002/IJC.33162.
110. J. A. Guadarrama-Orozco, A. Ortega-Gómez, E. B. Ruiz-García, H. Astudillo-de la Vega, A. Meneses-García, C. Lopez-Camarillo, “Braf V600E mutation in melanoma: translational current scenario,” *Clin Transl Oncol*, vol. 18, no. 9, pp. 863–871, Sep. 2016, doi: 10.1007/S12094-015-1469-6.
111. F. Tas, K. Erturk, “Clinical and prognostic significance of BRAF V600E mutation in non-metastatic cutaneous melanoma patients,” *Neoplasma*, vol. 66, no. 4, pp. 631–636, 2019, doi: 10.4149/NEO\_2018\_181006N740.
112. F. Tas, K. Erturk, “BRAF V600E mutation as a prognostic factor in cutaneous melanoma patients,” *Dermatol Ther*, vol. 33, no. 2, Mar. 2020, doi: 10.1111/DTH.13270.
113. S. Y. Kim, S. N. Kim, H. J. Hahn, Y. W. Lee, Y. B. Choe, K. J. Ahn, “Metaanalysis of BRAF mutations and clinicopathologic characteristics in primary melanoma,” *J Am Acad Dermatol*, vol. 72, no. 6, pp. 1036-1046.e2, Jun. 2015, doi: 10.1016/J.JAAD.2015.02.1113.
114. “DREAMseq Trial In Advanced Melanoma With BRAF Mutations, Start With Immunotherapy - The ASCO Post.” <https://ascopost.com/issues/december-10-2021/dreamseq-trial-in-advanced-melanoma-with-braf-mutations-start-with-immunotherapy/> (accessed May 12, 2022).
115. V. A. Pedicord, W. Montalvo, I. M. Leiner, J. P. Allison, “Single dose of anti-CTLA-4 enhances CD8+ T-cell memory formation, function, and maintenance,” *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 108, no. 1, pp. 266–271, Jan. 2011, doi: 10.1073/PNAS.1016791108.
116. D. S. Chen, I. Mellman, “Oncology Meets Immunology: The Cancer-Immunity Cycle,” *Immunity*, vol. 39, no. 1, pp. 1–10, Jul. 2013, doi: 10.1016/J.IMMUNI.2013.07.012.
117. I. Puzanov *et al.*, “Association of BRAF V600E/K Mutation Status and Prior BRAF/MEK Inhibition With Pembrolizumab Outcomes in Advanced Melanoma: Pooled Analysis of 3 Clinical Trials,” *JAMA Oncol*, vol. 6, no. 8, pp. 1256–1264, Aug. 2020, doi: 10.1001/JAMAONCOL.2020.2288.

118. M. Amini-Adle, N. Khanafer, M. Le-Bouar, G. Duru, S. Dalle, L. Thomas, “Ineffective anti PD-1 therapy after BRAF inhibitor failure in advanced melanoma,” *BMC Cancer*, vol. 18, no. 1, Jul. 2018, doi: 10.1186/S12885-018-4618-9.
119. P. Rogala *et al.*, “Long Term Results and Prognostic Biomarkers for Anti-PD1 Immunotherapy Used after BRAFi/MEKi Combination in Advanced Cutaneous Melanoma Patients,” *Cancers (Basel)*, vol. 14, no. 9, p. 2123, Apr. 2022, doi: 10.3390/CANCERS14092123.
120. H. Okuhira *et al.*, “Prognostic factors of daily blood examination for advanced melanoma patients treated with nivolumab,” *Biosci Trends*, vol. 12, no. 4, pp. 412–418, 2018, doi: 10.5582/BST.2018.01158.
121. Y. Nakamura *et al.*, “Nivolumab for advanced melanoma: pretreatment prognostic factors and early outcome markers during therapy,” *Oncotarget*, vol. 7, no. 47, pp. 77404–77415, 2016, doi: 10.18632/ONCOTARGET.12677.
122. J. Kopecky, O. Kubecek, P. Priester, H. Vosmikova, E. Cermakova, A. Kyllarova, “Prognostic value of blood cell count-derived ratios in BRAF-mutated metastatic melanoma,” *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia*, Aug. 2021, doi: 10.5507/BP.2021.053.
123. E. Chasseuil *et al.*, “Blood predictive biomarkers for nivolumab in advanced melanoma,” *Acta Dermato-Venereologica*, vol. 98, no. 4, pp. 406–410, Apr. 2018, doi: 10.2340/00015555-2872/.
124. B. Weide *et al.*, “Baseline Biomarkers for Outcome of Melanoma Patients Treated with Pembrolizumab,” *Clin Cancer Res*, vol. 22, no. 22, pp. 5487–5496, Nov. 2016, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0127.
125. J. Kuźniar-Placek, M. Pacyna, A. Jaroszyński, “Znaczenie wskaźnika neutrofilowo-limfocytowego w chorobach układu sercowo-naczyniowego,” *Folia Cardiologica*, vol. 11, no. 6, pp. 525–528, Jan. 2016, doi: 10.5603/FC.2016.0109.
126. Z. Huang, Z. Fu, W. Huang, K. Huang, “Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio in sepsis: A meta-analysis,” *Am J Emerg Med*, vol. 38, no. 3, pp. 641–647, Mar. 2020, doi: 10.1016/J.AJEM.2019.10.023.
127. A. J. Templeton *et al.*, “Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: a systematic review and meta-analysis,” *J Natl Cancer Inst*, vol. 106, no. 6, Jun. 2014, doi: 10.1093/JNCI/DJU124.
128. M. Capone *et al.*, “Baseline neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) and derived NLR could predict overall survival in patients with advanced melanoma treated with

- nivolumab,” *J Immunother Cancer*, vol. 6, no. 1, Jul. 2018, doi: 10.1186/S40425-018-0383-1.
129. D. B. Sacdalan, J. A. Lucero, D. L. Sacdalan, “Prognostic utility of baseline neutrophil-to-lymphocyte ratio in patients receiving immune checkpoint inhibitors: a review and meta-analysis,” *Onco Targets Ther*, vol. 11, pp. 955–965, Feb. 2018, doi: 10.2147/OTT.S153290.
130. P. Teterycz *et al.*, “High baseline neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts worse outcome in patients with metastatic BRAF-positive melanoma treated with BRAF and MEK inhibitors,” *Melanoma Res*, vol. 28, no. 5, pp. 435–441, Oct. 2018, doi: 10.1097/CMR.0000000000000461.
131. M. Schneider *et al.*, “Prognostic Value of Preoperative Inflammatory Markers in Melanoma Patients with Brain Metastases,” *J Clin Med*, vol. 10, no. 4, pp. 1–10, 2021, doi: 10.3390/JCM10040634.

## **8. Streszczenie w wersji polskiej**

### **Retrospektywna ocena wyników leczenia systemowego pacjentów z zaawansowanym czerniakiem w Dolnośląskim Centrum Onkologii, Pulmonologii i Hematologii w latach 2013-2018**

#### **Wstęp**

Czerniak należy do nowotwór rzadkich. Częstość jego występowania wzrasta. W ostatnich latach nastąpił rozwój w zakresie leczenia systemowego czerniaka. Obecnie istnieje dostęp do terapii celowanej oraz immunoterapii opartej na inhibitorach punktów kontrolnych. W wyniku zastosowanego leczenia obserwuje się wydłużenie czasu całkowitego przeżycia oraz czasu wolnego od progresji choroby. Nie wszyscy pacjenci osiągają korzyść z zastosowanej terapii. Należy pamiętać o powikłaniach w wyniku zastosowanych leków. Wśród pacjentów z dodatnim statusem mutacji *BRAF* istotna jest również sekwencja zastosowanego leczenia. W związku z powyższym niezbędne jest poszukiwanie czynników rokowniczych oraz predykcyjnych dla zastosowanego leczenia oraz ustalenie optymalnej sekwencji terapii.

#### **Cel pracy**

1. Ocena wyników leczenia chorych z zaawansowanym czerniakiem w Dolnośląskim Centrum Onkologii, Pulmonologii i Hematologii w latach 2013-2018: odsetek odpowiedzi, czas wolny od progresji, czas przeżycia całkowitego.
2. Analiza czynników rokowniczych.
3. Ocena efektów leczenia w dwóch podgrupach z dodatnim oraz ujemnym statusem mutacji *BRAF*. Porównanie wyników leczenia.
4. Porównanie wyników leczenia chorych z zaawansowanym czerniakiem leczonych w Dolnośląskim Centrum Onkologii, Pulmonologii i Hematologii w latach 2013-2018 z danymi z literatury.
5. Ocena własności rokowniczych oraz predykcyjnych parametrów układu leukocytarnego oraz wskaźnika neutrofilowo-limfocytarnego u chorych z zaawansowanym czerniakiem.

## Material i metody

Grupę badaną stanowiły 173 osoby leczone z powodu nieresekcyjnego czerniaka w III stopniu zaawansowania lub w IV stopniu zaawansowania w DCOPiH w okresie od 1 marca 2013 roku do 31 grudnia 2018 roku. Pacjenci otrzymali leczenie w ramach obowiązującego programu lekowego Ministerstwa Zdrowia. Obserwacja badanej grupy została zakończona 1 grudnia 2021 roku.

Przeanalizowano wpływ czynników kliniczno-histopatologicznych oraz wyników morfologii krwi obwodowej na czas całkowitego przeżycia oraz czas wolny od progresji. Dokonano podziału pacjentów na dwie podgrupy w zależności od statusu mutacji *BRAF*. Porównano te podgrupy celem oceny przebiegu leczenia w zależności od obecności mutacji w genie *BRAF*. Obliczono czas całkowitego przeżycia, czas wolny od progresji oraz odsetek obiektywnych odpowiedzi dla zastosowanych leków w pierwszej linii leczenia. Uzyskane dane zestawiono z wynikami badań klinicznych. Analizie poddano wartość wskaźnika neutrofilowo – limfocytarnego, wartość bezwzględnej liczby limfocytów oraz neutrofilii pod względem znaczenia predykcyjnego.

## Wyniki

Pacjenci leczeni w latach 2013-2018 systemowo z powodu zaawansowanego czerniaka w DCOPiH uzyskali medianę czasu całkowitego przeżycia 11 miesięcy. Zgon dotyczył 134 badanych (77%). Ucięte obserwacje odnotowano u 38 osób. Mediana czasu wolnego od progresji wynosiła 4,6 miesiąca. 92 pacjentów (n=53%) uzyskało obiektywną odpowiedź na zastosowane leczenie (CR+PR). Odsetek przeżyć 12-miesięcznych wyniósł 48%, 2-letnich 32%, 3-letnich 23%, 4-letnich 21% a 5-letnich 19%. 12-miesięczny PFS dotyczył 18% pacjentów, 2-letni PFS 11%, 3-letni 5%, 4-letni 5%, 5-letni PFS 0%.

Zidentyfikowano negatywne czynniki rokownicze wpływające na skrócenie czasu całkowitego przeżycia: gorszy stan ogólny (HR=2,11; p=0,005), większa ilość przerzutów (HR=1,27; p<0,001), podwyższona wartość LDH (HR=3,46; p=0,041), przerzuty do ośrodkowego układu nerwowego (HR=1,9; p<0,001), wątroby (HR=1,69; p=0,004), obecność inwazji naczyń krwionośnych (HR=2,08; p=0,003) oraz chłonnych (HR=1,87; p=0,011) w wyniku histopatologicznym z usunięcia zmiany pierwotnej, większa ilość dodatnich węzłów wartowniczych (HR=1,43; p=0,013), wyższa bezwzględna liczba neutrofilii (HR=1,07; p<0,001) oraz wyższa wartość NLR (HR=1,06; p=0,001). Pacjenci, którzy uzyskali stabilizację lub progresję choroby względem osób, które osiągnęły całkowitą

remisję również charakteryzowały się krótszym czasem przeżycia, odpowiednio (HR=14,16; p=0,04) oraz (HR=17,86; p<0,001).

Negatywny wpływ na czas wolny od progresji wykazały: gorszy stan ogólny (HR=1,96; p=0,016), większa ilość mitoz w polu widzenia (HR=1,05; p=0,009), naciekanie naczyń krwionośnych (HR=1,94; p=0,01) oraz chłonnych (HR=1,84; p=0,02) w wyniku histopatologicznym usunięcia zmiany pierwotnej, wyższa bezwzględna liczba neutrofilii (HR=1,05; p=0,021) oraz wyższa wartość wskaźnika NLR (HR=1,11; p=0,003).

Uzyskano gorsze wyniki (OS i PFS) prowadzonej terapii systemowej w tzw. codziennej praktyce klinicznej w porównaniu do danych pochodzących z randomizowanych badań klinicznych.

W wyniku przeprowadzonej analizy wyselekcjonowano czynniki charakteryzujące pacjentów z dodatnim statusem mutacji *BRAF*. Nie wykazano wpływu obecności mutacji *BRAF* na czas całkowitego przeżycia. Obecność mutacji wiązała się z dłuższym czasem wolnym od progresji choroby, co wynikało z zastosowanego rodzaju leczenia.

Stwierdzono dłuższy czas całkowitego przeżycia oraz czas wolny od progresji w przypadku pacjentów, którzy otrzymali inhibitory punktów kontrolnych w drugiej linii leczenia po zastosowaniu terapii celowanej. Różnice były istotne statystycznie: mOS (11 miesięcy vs. 28 miesięcy) oraz mPFS (3,7 miesiąca vs. 7,1 miesiąca).

Pacjenci z wartością  $NLR \leq 3$  charakteryzowali się dłuższym czasem całkowitego przeżycia. Wśród pacjentów leczonych inhibitorami punktów kontrolnych poziom  $NLR \geq 4,65$  przy progresji wykazywał istotną statystycznie korelację z wzrastającym ryzykiem zgonu w ciągu roku od rozpoczęcia leczenia. Wśród pacjentów leczonych terapią celowaną poziom  $NLR \geq 2,5$  na wysokości 2 kursu, 3 kursu oraz po 3 miesiącach terapii wykazywał istotną statystycznie korelację z wzrastającym ryzykiem zgonu od początku leczenia.

## **Wnioski**

1. Negatywny wpływ na czas całkowitego przeżycia pacjentów z zaawansowanym czerniakiem wykazują: gorszy stan sprawności, większa ilość przerzutów, podwyższona wartość dehydrogenazy mleczanowej w surowicy, przerzuty do ośrodkowego układu nerwowego, wątroby, obecność angioinwazji w zmianie pierwotnej, wyższa wartość wskaźnika neutrofilowo-limfocytarnego, wyższa liczba bezwzględna neutrofilii,

- obecność większej liczby dodatnich węzłów chłonnych wartowniczych, uzyskanie stabilizacji lub progresji choroby względem całkowitej remisji.
2. Negatywny wpływ na czas wolny od progresji wykazują: gorszy stan ogólny, większa ilość mitoz w polu widzenia, obecność angoinwazji w zmianie pierwotnej, wyższa wartość wskaźnika neutrofilowo-limfocytarnego, wyższa bezwzględna liczba neutrofilii.
  3. Pacjenci z potwierdzoną mutacją w genie *BRAF* charakteryzują się: niższą średnią wieku, wyższymi wartościami dehydrogenazy mleczanowej w surowicy krwi, częstszą lokalizacją zmian przerzutowych w wątrobie oraz ośrodkowym układzie nerwowym, niższą wartością wskaźnika neutrofilowo-limfocytarnego na wysokości trzeciego kursu oraz po trzech miesiącach leczenia. Obecność mutacji *BRAF* nie ma wpływu na czas całkowitego przeżycia, ale wiąże się z dłuższym czasem wolnym od progresji choroby.
  4. Zastosowanie leczenia przeciwciałami anti-PD-1 w drugiej linii leczenia po *iBRAF*<sup>±</sup>/*iMEK* wiąże się z dłuższym czasem przeżycia. Obserwacja nie została potwierdzona w literaturze.
  5. Wyniki leczenia osiągnięte w codziennej praktyce klinicznej są gorsze w stosunku do randomizowanych badań klinicznych co wynika z odmiennej charakterystyki grupy badanej.
  6. Pacjenci z wartością wskaźnika neutrofilowo-limfocytarnego  $\leq 3$  wykazują dłuższy czas całkowitego przeżycia. NLR wykazuje znaczenie predykcyjne dla wystąpienia zgonu w trakcie leczenia inhibitorami punktów kontrolnych oraz terapią celowaną.

## **Słowa kluczowe**

Czerniak, immunoterapia, terapia celowana, niwolumab, pembrolizumab, terapia anti-BRAF<sup>±</sup>/*anti*MEK, mutacja BRAF, współczynnik neutrofilowo-limfocytarny

## **9. Streszczenie w wersji angielskiej**

### **Retrospective assessment of the results of systemic treatment of patients with advanced melanoma at the Lower Silesian Oncology, Pulmonology and Hematology Center in the period 2013-2018**

#### **Introduction**

Melanoma is a rare cancer. Its incidence is increasing. In recent years, there has been development in the systemic treatment of melanoma. Currently, there is access to targeted therapy and immunotherapy based on checkpoint inhibitors. Prolonged overall survival and time free from disease progression are observed as a result of treatment. Not all patients achieve benefit from the therapy used. It is important to be aware of complications resulting from the use of medications. Among patients with positive *BRAF* mutation status, the sequence of treatment administered is also important. Therefore, it is necessary to explore prognostic and predictive factors for the applied treatment and to determine the optimal sequence of therapy.

#### **Study aims**

1. Assessment of the outcomes in patients with advanced melanoma at the Lower Silesian Oncology, Pulmonology and Hematology Center (DCOPiH) from 2013 to 2018: response rate, progression-free time, overall survival time.
2. Analysis of prognostic factors.
3. Assessment of treatment effects in two subgroups with positive and negative *BRAF* mutation status. Comparison of treatment outcomes.
4. Comparison of outcomes of patients with advanced melanoma treated at the Lower Silesian Oncology, Pulmonology and Hematology Center from 2013 to 2018 with data from the literature.
5. Evaluation of prognostic and predictive properties of leukocyte system parameters and neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) in patients with advanced melanoma.



## Material and methods

The study group consisted of 173 patients treated for non-resectable stage III or stage IV melanoma at the DCOPiH between March 1, 2013 and December 31, 2018. Patients received treatment under the current drug program of the Ministry of Health. The follow-up observation of the study group was completed on December 1, 2021.

The effects of clinical-histopathological factors and peripheral blood counts on overall survival and progression-free time were analyzed. Patients were divided into two subgroups according to *BRAF* mutation status. These subgroups were compared to evaluate the course of treatment depending on the presence of mutations in the *BRAF* gene. The overall survival time, progression-free time and objective response rate for the drugs used in the first-line treatment were calculated. The obtained data were compared with the results of clinical trials. The NLR, absolute lymphocyte count and neutrophil count were analyzed for predictive significance.

## Results

Patients treated systemically for advanced melanoma from 2013-2018 at the DCOPiH achieved a median overall survival time of 11 months. Death affected 134 subjects (77%). Cut-off observations were noted in 38 patients. The median progression-free time was 4.6 months. There were 92 patients (n=53%) who achieved an objective response to the treatment (CR+PR). The 12-month survival rate was 48%, 2-year survival 32%, 3-year survival 23%, 4-year survival 21% and 5-year survival 19%. The 12-month PFS was 18%, 2-year PFS 11%, 3-year PFS 5%, 4-year PFS 5%, 5-year PFS 0%.

Negative prognostic factors for decreased overall survival were identified: worse general status (HR=2.11; p=0.005), more metastases (HR=1.27; p<0.001), elevated LDH (HR=3.46; p=0.041), metastases to the central nervous system (HR=1.9; p<0.001), liver (HR=1.69; p=0.004), presence of vascular invasion (HR=2.08; p=0.003) and lymphadenopathy (HR=1.87; p=0.011) in the histopathological findings from the removal of the primary lesion, higher number of positive sentinel lymph nodes (HR=1.43; p=0.013), higher absolute neutrophil count (HR=1.07; p<0.001) and higher NLR (HR=1.06; p=0.001). Patients who achieved disease stabilization or progression in comparison to those who achieved complete remission also had shorter survival times, (HR=14.16; p=0.04) and (HR=17.86; p<0.001), respectively.

Negative effects on progression-free time showed: worse general status (HR=1.96; p=0.016), higher number of mitoses in the optic field (HR=1.05; p=0.009), vascular (HR=1.94; p=0.01) and lymphatic (HR=1.84; p=0.02) infiltration on histopathological removal of the primary lesion, higher absolute neutrophil count (HR=1.05; p=0.021) and higher NLR (HR=1.11; p=0.003).

There were worse outcomes (OS and PFS) of systemic therapy in so-called everyday clinical practice compared to data from randomized clinical trials.

As a result of the analysis, factors characterizing patients with positive *BRAF* mutation status were identified. There was no effect of the presence of *BRAF* mutation on overall survival time. The presence of the mutation was associated with a longer progression-free time of the disease, which was due to the type of treatment used.

A longer overall survival and progression-free time was found for patients who received checkpoint inhibitors in the second line of treatment after targeted therapy. The differences were statistically significant: mOS (11 months vs. 28 months) and mPFS (3.7 months vs. 7.1 months).

Patients with NLR values  $\leq 3$  were characterized by longer overall survival. Among patients treated with checkpoint inhibitors, an NLR level  $\geq 4.65$  at progression showed a statistically significant correlation with increasing risk of death within 1 year of treatment. Among patients treated with targeted therapy, an NLR level  $\geq 2.5$  at 2 courses, 3 courses, and after 3 months of therapy showed a statistically significant correlation with an increasing risk of death from the beginning of treatment.

## Conclusions

1. The negative impact on overall survival of patients with advanced melanoma includes: worse performance status, more metastases, elevated serum lactate dehydrogenase, metastases to the central nervous system and liver, presence of angioinvasion in the primary lesion, higher neutrophil-lymphocyte ratio, higher absolute neutrophil count, presence of more positive sentinel lymph nodes, achieving disease stabilization or progression to complete remission.
2. The negative impact on progression-free time includes: worse general condition, more mitoses in the optic field, presence of angioinvasion in the primary lesion, higher neutrophil-lymphocyte ratio, higher absolute neutrophil count.

3. Patients with confirmed mutation in *BRAF* gene are characterized by: lower mean age, higher values of serum lactate dehydrogenase, more frequent localization of metastatic lesions in liver and central nervous system, lower value of neutrophil-lymphocyte ratio at the height of the third course and after three months of treatment. The presence of a *BRAF* mutation does not affect overall survival, but is associated with a longer progression-free time of the disease.
4. The use of anti-PD-1 antibody treatment in second-line therapy after iBRAF+/-iMEK is associated with longer survival time. The observation has not been confirmed in the literature.
5. The treatment outcomes achieved in everyday clinical practice are worse in comparison with randomized clinical trials due to the different characteristics of the study group.
6. Patients with a neutrophil-lymphocyte ratio  $\leq 3$  have a longer overall survival time. NLR shows predictive significance for the occurrence of death during treatment with checkpoint inhibitors and targeted therapy.

### **Key words**

Melanoma, immunotherapy, targeted therapy, nivolumab, pembrolizumab, anti-BRAF+/- anti-MEK therapy, BRAF mutation, neutrophil-to-lymphocyte ratio

## 10. Wykaz tabel

<b>Tabela 1.</b> Fototyp skóry wg Fitzpatricka. ....	12
<b>Tabela 2.</b> System ABCDE. ....	13
<b>Tabela 3.</b> 3-punktowa skala dermatoskopowa wg Argenziano. ....	14
<b>Tabela 4.</b> Podtyp czerniaka w zależności od mutacji. ....	16
<b>Tabela 5.</b> Zalecany margines radykalnego wycięcia ogniska pierwotnego czerniaka.....	20
<b>Tabela 6.</b> Charakterystyka grupy badanej.....	44
<b>Tabela 7.</b> Dane z raportów histopatologicznych usunięcia zmiany pierwotnej.....	46
<b>Tabela 8.</b> Wyniki biopsji węzła wartowniczego (SLNB). ....	47
<b>Tabela 9.</b> Charakterystyka analizowanych parametrów układu leukocytarnego.....	48
<b>Tabela 10.</b> Charakterystyka pierwszej linii leczenia.....	50
<b>Tabela 11.</b> Charakterystyka 2 linii leczenia.....	51
<b>Tabela 12.</b> Charakterystyka podgrup w zależności od statusu mutacji BRAF.....	52
<b>Tabela 13.</b> Porównanie raportów histopatologicznych z usuniętej zmiany pierwotnej w podgrupie z dodatnim oraz ujemnym statusem mutacji BRAF. ....	54
<b>Tabela 14.</b> Porównanie raportów histopatologicznego z biopsji węzła wartowniczego w podgrupie z dodatnim oraz ujemnym statusem mutacji BRAF. ....	56
<b>Tabela 15.</b> Porównanie wyników analizowanych parametrów układu leukocytarnego pod względem obecności mutacji BRAF.....	57
<b>Tabela 16.</b> Porównanie wyników dotyczących 1 linii leczenia pacjentów względem obecności mutacji BRAF. ....	58
<b>Tabela 17.</b> Porównanie wyników drugiej linii leczenia pacjentów względem obecności mutacji BRAF. ....	60
<b>Tabela 18.</b> Charakterystyka czasowa leczenia oraz odsetka obiektywnych odpowiedzi. ..	62
<b>Tabela 19.</b> Wyniki czasu leczenia z uwzględnieniem czasu wystąpienia zgonu lub ucięcia obserwacji. ....	63
<b>Tabela 20.</b> Przeżycie wyrażone w procentach w każdym roku w okresie 5-letnim. ....	64
<b>Tabela 21.</b> Odsetek chorych wolnych od progresji w każdym roku w okresie 5-letnim....	65
<b>Tabela 22.</b> Ocena wpływu zmiennych charakteryzujących grupę na śmiertelność (regresja proporcjonalnego hazardu Coxa, model jednoczynnikowy). ....	66
<b>Tabela 23.</b> Ocena wpływu czynników określonych w wyniku histopatologicznym usunięcia zmiany pierwotnej na śmiertelność (regresja proporcjonalnego hazardu Coxa, model jednoczynnikowy).....	68

<b>Tabela 24.</b> Ocena wpływu czynników określonych w wyniku histopatologicznym biopsji węzła wartowniczego na śmiertelność (regresja proporcjonalnego hazardu Coxa, model jednoczynnikowy).....	69
<b>Tabela 25.</b> Ocena wpływu wyników analizowanych parametrów układu leukocytarnego oraz rodzaju 1 linii leczenia na śmiertelność (regresja proporcjonalnego hazardu Coxa, model jednoczynnikowy). .....	70
<b>Tabela 26.</b> Ocena wpływu zmiennych charakteryzujących grupę na progresję (regresja proporcjonalnego hazardu Coxa, model jednoczynnikowy). .....	71
<b>Tabela 27.</b> Ocena wpływu czynników określonych w wyniku histopatologicznym usunięcia zmiany pierwotnej na progresję (regresja proporcjonalnego hazardu Coxa, model jednoczynnikowy).....	73
<b>Tabela 28.</b> Ocena wpływu cech określonych w wyniku histopatologicznym biopsji węzła wartowniczego na progresję (regresja proporcjonalnego hazardu Coxa, model jednoczynnikowy).....	74
<b>Tabela 29.</b> Ocena wpływu analizowanych parametrów układu leukocytarnego oraz zastosowanej 1 linii leczenia na progresję (regresja proporcjonalnego hazardu Coxa, model jednoczynnikowy). .....	75
<b>Tabela 30.</b> Czas przeżycia [dni] w zależności od zastosowanego leku. ....	76
<b>Tabela 31.</b> Czas wolny od progresji [dni] w zależności od zastosowanego leku. ....	78
<b>Tabela 32.</b> Porównanie wyników analizowanych parametrów układu leukocytarnego pod względem wystąpienia zgonu. ....	80
<b>Tabela 33.</b> Porównanie wyników analizowanych parametrów układu leukocytarnego pod względem wystąpienia progresji. ....	80
<b>Tabela 34.</b> Czas do zgonu [dni] w zależności od statusu mutacji BRAF. ....	82
<b>Tabela 35.</b> Czas do progresji [dni] w zależności od statusu mutacji BRAF.....	83
<b>Tabela 36.</b> Czas do zgonu [dni] w zależności od rodzaju leczenia.....	87
<b>Tabela 37.</b> Czas do progresji [dni] w zależności od rodzaju leczenia. ....	88
<b>Tabela 38.</b> Czas do zgonu [dni] w zależności od wartości NLR (>3 vs ≤3) – pierwszy kurs. ....	89
<b>Tabela 39.</b> Czas do zgonu [dni] w zależności od NLR (>3 vs ≤3) – 2 kurs. ....	90
<b>Tabela 40.</b> Czas do zgonu [dni] w zależności od wartości NLR (>3 vs ≤3) – 3 kurs.....	91
<b>Tabela 41.</b> Czas do zgonu [dni] w zależności od NLR (>3 vs ≤3) – po 3 miesiącach terapii. ....	92
<b>Tabela 42.</b> Czas do zgonu [dni] w zależności od NLR (>3 vs ≤3) – przy progresji.....	94

<b>Tabela 43.</b> Czas do zgonu [dni] w zależności od obecności przerzutów do ośrodkowego układu nerwowego. ....	100
<b>Tabela 44.</b> Czas do zgonu [dni] w zależności od wartości LDH. ....	101
<b>Tabela 45.</b> Czas do zgonu [dni] w zależności od stopnia zaawansowania. ....	103
<b>Tabela 46.</b> Czas do zgonu [dni] w zależności od obecności owrzodzenia. ....	104
<b>Tabela 47.</b> Charakterystyka rozkładu NLR w zależności od wystąpienia zgonu wśród osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych. ....	105
<b>Tabela 48.</b> Wynik analizy ROC dla możliwości przewidywania zgonu od rozpoczęcia leczenia na podstawie NLR u osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych. ....	108
<b>Tabela 49.</b> Punkt odcięcia wyznaczony według indeksu Youdena oraz ocena czułości, specyficzności i dokładności dla badanej zmiennej osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych. ....	111
<b>Tabela 50.</b> Związek między ocenianą zmienną (dychotomizowaną według wyżej wyznaczonego punktu odcięcia) oraz ryzykiem zgonu u osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych. ....	111
<b>Tabela 51.</b> Charakterystyka rozkładu NLR w zależności od wystąpienia zgonu u osób leczonych terapią celowaną. ....	112
<b>Tabela 52.</b> Wynik analizy ROC dla możliwości przewidywania zgonu od rozpoczęcia leczenia na podstawie NLR u osób leczonych leczeniem celowanym. ....	115
<b>Tabela 53.</b> Punkt odcięcia wyznaczony według indeksu Youdena oraz ocena czułości, specyficzności i dokładności dla badanej zmiennej osób leczonych leczeniem celowanym. ....	118
<b>Tabela 54.</b> Związek między ocenianą zmienną (dychotomizowaną według wyżej wyznaczonego punktu odcięcia) oraz ryzykiem zgonu u osób leczonych leczeniem celowanym. ....	119
<b>Tabela 55.</b> Charakterystyka rozkładu neutrofilii i limfocytów w zależności od wystąpienia progresji u osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych. ....	120
<b>Tabela 56.</b> Wynik analizy ROC dla możliwości przewidywania progresji od rozpoczęcia leczenia na podstawie poziomu bezwzględnej liczby neutrofilii i limfocytów u osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych. ....	121
<b>Tabela 57.</b> Charakterystyka rozkładu neutrofilii i limfocytów w zależności od wystąpienia progresji u osób leczonych terapią celowaną. ....	123

<b>Tabela 58.</b> Wynik analizy ROC dla możliwości przewidywania progresji od rozpoczęcia leczenia na podstawie poziomu bezwzględnej liczby neutrofilii i limfocytów u osób leczonych terapią celowaną.....	125
<b>Tabela 59.</b> Czas do zgonu [dni] w zależności od linii leczenia, w której zastosowano inhibitory punktów kontrolnych. ....	128
<b>Tabela 60.</b> Czas do progresji [dni] w zależności od linii leczenia, w której zastosowano inhibitory punktów kontrolnych. ....	130

## 11. Wykaz rycin

<b>Rycina 1.</b> Charakterystyka grypy badanej – podział ze względu na płeć. ....	40
<b>Rycina 2.</b> Charakterystyka grupy badanej – podział ze względu na obecność mutacji BRAF. .....	41
<b>Rycina 3.</b> Charakterystyka grupy badanej – rozkład wartości LDH.....	42
<b>Rycina 4.</b> Charakterystyka grupy badanej – lokalizacja zmiany pierwotnej. ....	43
<b>Rycina 5.</b> Wartości NLR w trakcie leczenia. ....	49
<b>Rycina 6.</b> Krzywa Kaplana-Meiera ukazująca czas przeżycia (OS).....	64
<b>Rycina 7.</b> Krzywa Kaplana-Meiera ukazująca czas do progresji (PFS). ....	65
<b>Rycina 8.</b> Krzywa Kaplana-Meiera ukazująca czas przeżycia (OS) dla poszczególnych leków.....	77
<b>Rycina 9.</b> Porównanie krzywych Kaplana-Meiera ukazująca czas wolny od progresji (PFS) dla poszczególnych leków. ....	79
<b>Rycina 10.</b> Porównanie krzywych przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od statusu mutacji BRAF. ....	81
<b>Rycina 11.</b> Porównanie czasu do progresji w zależności od statusu mutacji BRAF. ....	82
<b>Rycina 12.</b> Porównanie odsetka obiektywnych odpowiedzi (ORR) w zależności od rodzaju leczenia. ....	84
<b>Rycina 13.</b> Porównanie odsetka obiektywnych odpowiedzi (ORR) w zależności od zastosowanego leku w pierwszej linii.....	84
<b>Rycina 14.</b> Porównanie odsetka obiektywnych odpowiedzi (ORR) ze względu na wystąpienie mutacji BRAF. ....	85
<b>Rycina 15.</b> Porównanie krzywych przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od rodzaju leczenia. ....	86
<b>Rycina 16.</b> Porównanie krzywych czasu do progresji Kaplana-Meiera w zależności od rodzaju leczenia. ....	87
<b>Rycina 17.</b> Porównanie krzywych przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od wartości NLR ( $>3$ vs $\leq 3$ ) na wysokości 1 kursu leczenia. ....	88
<b>Rycina 18.</b> Porównanie krzywych przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od wartości NLR ( $>3$ vs $\leq 3$ ) – 2 kurs. ....	90
<b>Rycina 19.</b> Porównanie krzywych przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od wartości NLR ( $>3$ vs $\leq 3$ ) – 3 kurs. ....	91



<b>Rycina 20.</b> Porównanie krzywych przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od wartości NLR (>3 vs ≤3) – po 3 miesiącach terapii.....	92
<b>Rycina 21.</b> Porównanie krzywych przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od wartości NLR – przy progresji (>3 vs ≤3).....	93
<b>Rycina 22.</b> Porównanie wskaźnika neutrofilowo – limfocytarnego (NLR) względem rodzaju leczenia. ....	94
<b>Rycina 23.</b> Porównanie wyników wskaźnika neutrofilowo – limfocytarnego (NLR) podczas 1 kursu względem wartości LDH. ....	95
<b>Rycina 24.</b> Porównanie wyników wskaźnika neutrofilowo – limfocytarnego (NLR) podczas 2 kursu względem wartości LDH. ....	96
<b>Rycina 25.</b> Porównanie wyników wskaźnika neutrofilowo – limfocytarnego (NLR) podczas 3 kursu względem wartości LDH. ....	97
<b>Rycina 26.</b> Porównanie wyników wskaźnika neutrofilowo – limfocytarnego (NLR) po 3 miesiącach leczenia względem wartości LDH. ....	98
<b>Rycina 27.</b> Porównanie krzywych przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od obecności przerzutów do ośrodkowego układu nerwowego. ....	99
<b>Rycina 28.</b> Porównanie krzywych przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od wartości LDH. ....	100
<b>Rycina 29.</b> Porównanie krzywych przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od stopnia zaawansowania. ....	102
<b>Rycina 30.</b> Porównanie krzywych przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od obecności owrzodzenia. ....	103
<b>Rycina 31.</b> Rozkład NLR - kurs 1 - w zależności od zmiennej: wystąpienie zgonu u osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych. ....	105
<b>Rycina 32.</b> Rozkład NLR - kurs 2 - w zależności od zmiennej: wystąpienie zgonu u osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych. ....	106
<b>Rycina 33.</b> Rozkład NLR - kurs 3 - w zależności od zmiennej: wystąpienie zgonu u osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych. ....	106
<b>Rycina 34.</b> Rozkład NLR - po 3 miesiącach - w zależności od zmiennej: wystąpienie zgonu u osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych.....	107
<b>Rycina 35.</b> Rozkład NLR - przy progresji - w zależności od zmiennej: wystąpienie zgonu u osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych.....	107
<b>Rycina 36.</b> Krzywa ROC dla NLR - kurs 1- dla przewidywania zgonu osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych. ....	108

<b>Rycina 37.</b> Krzywa ROC dla NLR - kurs 2 - dla przewidywania zgonu osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych. ....	109
<b>Rycina 38.</b> Krzywa ROC dla NLR - kurs 3 - dla przewidywania zgonu osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych. ....	109
<b>Rycina 39.</b> Krzywa ROC dla NLR po 3 m-cach dla przewidywania zgonu osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych. ....	110
<b>Rycina 40.</b> Krzywa ROC dla NLR przy progresji dla przewidywania zgonu osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych. ....	110
<b>Rycina 41.</b> Rozkład NLR kurs 1 w zależności od zmiennej: wystąpienie zgonu u osób leczonych terapią celowaną. ....	113
<b>Rycina 42.</b> Rozkład NLR kurs 2 w zależności od zmiennej: wystąpienie zgonu u osób leczonych terapią celowaną. ....	113
<b>Rycina 43.</b> Rozkład NLR kurs 3 w zależności od zmiennej: wystąpienie zgonu u osób leczonych terapią celowaną. ....	114
<b>Rycina 44.</b> Rozkład NLR po 3 miesiącach leczenia w zależności od zmiennej: wystąpienie zgonu u osób leczonych terapią celowaną. ....	114
<b>Rycina 45.</b> Rozkład NLR przy progresji w zależności od zmiennej: wystąpienie zgonu u osób leczonych terapią celowaną. ....	115
<b>Rycina 46.</b> Krzywa ROC dla NLR kurs 1 dla przewidywania zgonu osób leczonych leczeniem celowanym. ....	116
<b>Rycina 47.</b> Krzywa ROC dla NLR kurs 2 dla przewidywania zgonu osób leczonych leczeniem celowanym. ....	116
<b>Rycina 48.</b> Krzywa ROC dla NLR kurs 3 dla przewidywania zgonu osób leczonych leczeniem celowanym. ....	117
<b>Rycina 49.</b> Krzywa ROC dla NLR po 3 m-cach dla przewidywania zgonu osób leczonych leczeniem celowanym. ....	117
<b>Rycina 50.</b> Krzywa ROC dla NLR przy progresji dla przewidywania zgonu osób leczonych leczeniem celowanym. ....	118
<b>Rycina 51.</b> Rozkład bezwzględnej liczby neutrofilów w zależności od zmiennej: wystąpienie progresji u osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych. ....	120
<b>Rycina 52.</b> Rozkład bezwzględnej liczby limfocytów w zależności od zmiennej: wystąpienie progresji u osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych. ....	121
<b>Rycina 53.</b> Krzywa ROC dla neutrofilów dla przewidywania progresji osób leczonych immunoterapią. ....	122

<b>Rycina 54.</b> Krzywa ROC dla limfocytów dla przewidywania progresji osób leczonych inhibitorami punktów kontrolnych. ....	122
<b>Rycina 55.</b> Rozkład bezwzględnej liczby neutrofilii w zależności od zmiennej: wystąpienie progresji u osób leczonych terapią celowaną.....	124
<b>Rycina 56.</b> Rozkład bezwzględnej liczby limfocytów w zależności od zmiennej: wystąpienie progresji u osób leczonych terapią celowaną. ....	124
<b>Rycina 57.</b> Krzywa ROC dla bezwzględnej liczby neutrofilii dla przewidywania progresji osób leczonych terapią celowaną.....	125
<b>Rycina 58.</b> Krzywa ROC dla bezwzględnej liczby limfocytów dla przewidywania progresji osób leczonych terapią celowaną.....	126
<b>Rycina 59.</b> Porównanie krzywych przeżycia Kaplana-Meiera w zależności od linii leczenia, w której zastosowano inhibitory punktów kontrolnych.....	127
<b>Rycina 60.</b> Porównanie krzywych do progresji Kaplana-Meiera w zależności od linii leczenia, w której zastosowano inhibitory punktów kontrolnych.....	129