



Konjonktiva Melanomuna Güncel Yaklaşım 2. Bölüm: Tedavi ve Gelecek Yaklaşımlar

Current Management of Conjunctival Melanoma Part 2: Treatment and Future Directions

İrem Koç, Hayyam Kıratlı

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Oküler Onkoloji Servisi, Ankara, Türkiye

Öz

Konjonktiva melanomu, çoğu olguda, olguya özel yaklaşım gerektiren nadir bir hastalıktır. Başlıca tedavi seçenekleri, cerrahi, topikal kemoterapi, radyoterapi, kriyoterapi ve güncel tedaviler başlıkları altında sınıflandırılabilir. Bu derleme konjonktiva melanomuna klasik tedavi yaklaşımları ile birlikte, yeni tedavi seçeneklerini ve hastalığın moleküler biyolojisi hakkındaki güncel bilgileri sunmayı amaçlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Konjonktiva melanomu, prognoz, tedavi

Abstract

Conjunctival melanoma is a rare disease which requires tailored management in most cases. The mainstays of treatment can be classified as surgery, topical chemotherapy, radiotherapy, cryotherapy, and other emerging treatment modalities. Herein we review conventional approaches as well as more recently introduced treatment options, together with advances in molecular biology in this particular disease.

Keywords: Conjunctival melanoma, prognosis, management

Giriş

Konjonktiva melanomu (KM), konjonktiva epitelinin bazal tabakasındaki atipik melanositlerden kaynaklanan nadir görülen malign bir tümördür ve nadir görülmesi nedeniyle tedavisi sınırlı sayıda serilerden elde edilen verilere dayanmaktadır. Bilinen klinik ve cerrahi prognostik faktörlerin sayısı giderek artmaktadır. Sınırlı KM'nin altın standart tedavisi, adjuvan tedavinin eklenebildiği cerrahi eksizyon olarak özetlenebilir. Adjuvan tedavi topikal kemoterapi, radyoterapi ve kriyoterapi olarak alt sınıflara ayrılabilir. Tümör tohumlaması ve iatrojenik tümör nüksünden kaçınmak için insizyonel biyopsi önerilmemektedir.¹ Kişiye özel tedavi hastalığın yerleşimine ve düzeyine bağlıdır. Ancak, bazı çalışmalar, adjuvan tedavi olmadan

sadece eksizyonel biyopsi ile tedavi edilen hastaların lokal nüks ve uzak metastaz riskinin yüksek olduğu veya diğer nedenlere ve hastalığa bağlı sağkalım oranlarının daha düşük olduğunu ortaya koymuştur.^{2,3,4} Ayrıca, büyük, diffüz veya multifokal tümörlerin, kriyoterapi veya radyoterapi kombinasyonu ile bile lokal kontrolü daha zordur.⁵

Cerrahi

KM'de limbal tümör ≤ 4 mm veya bazal tümör boyutu ≤ 15 mm ise temel tedavi cerrahi sınırları tümör sınırlarının 2-4 mm dışından geçecek şekilde geniş primer eksizyondur.⁶ Ana cerrahi prensip, literatürde tarif edildiği gibi, irritasyonu önlemek için kuru oküler yüzey ile "no touch" tekniğidir.⁶ Frozen kesit biyopsisi de yapılabilir.⁷ Tüm KM olgularında

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: İrem Koç, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Oküler Onkoloji Servisi, Ankara,

Türkiye E-posta: kocirem@gmail.com **ORCID-ID:** orcid.org/0000-0001-9370-6173

Geliş Tarihi/Received: 04.03.2020 **Kabul Tarihi/Accepted:** 07.04.2020

Cite this article as: Koç İ, Kıratlı H. Current Management of Conjunctival Melanoma Part 2: Treatment and Future Directions. Turk J Ophthalmol 2020;50:362-370

cerrahi aletler ile tümöre doğrudan temas en aza indirilir ve cerrahi implantasyondan daha fazla kaçınmak için eksizyon ve kapatmak için farklı aletler kullanılır. Limbal KM, kornea ve ön kamaradan sklerayı invaze etme potansiyeline sahip olduğundan, limbal KM için dört aşamalı ek bir yöntem tarif edilmiştir. Birinci aşama, alkol ile lokalize epitel oreksisi takiben epitektomi ile tümörün korneal bileşenini çıkarmak ve kornea lezyonunun 2 mm çevresindeki vital olmayan hücreleri uzaklaştırmaktan oluşur. İkinci aşama, tümörün 5 mm dışından alttaki Tenon fasyası ile geniş rezeksiyonu ve Bowman membranına zarar vermeden 0,2 mm derinlikte parsiyel lameller sklere kerato konjonktivektomidir. Üçüncü ve 4. aşama, konjonktival kenarlara kriyoterapiyi takiben sklera tabanına alkol uygulanması ve transpozisyonel konjonktival flep oluşturacak şekilde kısmi veya tam peritomi ile kapatılmasından oluşur.⁶ Bazı merkezler sadece tümörün altta yatan skleraya yapışık olduğu tespit edilirse sklerektomi yapmaktadır. Diğer olgularda ise eksize edilen tüm KM'lere 1 mm derinliğe 100 Gy rutenyum plak brakiterapi şeklinde post eksizyonel radyoterapi yapılmaktadır. Bunun nedeni sklerektomi sonrası skar gelişmesi ve sklerektomi ile nüks veya göz içi infiltrasyon oluşması olasılığıdır.⁸ Bu yaklaşımla forniks veya karünkül tümörlerde adjuvan proton ışını tedavisi uygulanmaktadır.⁸ Yakın zamanda, Cohen ve O'Day⁹, sınırlı KM'ye cerrahi yaklaşımlarını "no touch" tekniği ve tümörün 2 mm dışından tam rezeksiyonunu takiben konjonktival sınırlara kriyoterapi olarak netleştirmişlerdir. Ayrıca cerrahi sınırların küçültülmesi ve daha düşük oküler morbidite için postoperatif stronsiyum aplikatörlerinin kullanımının yaygınlaştırılmasını önermişlerdir. Stronsiyum aplikatörünün cerrahiye gerek olmadan kolayca yerleştirildiğini ve çıkarıldığını ve stronsiyum radyoterapisinin diğer radyoterapi yöntemlerine göre daha az yan etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir.⁹ Bu yaklaşımla bildirilen nüks oranı medyan 59 ay sonra %10'dur.⁹ Yazarlar ayrıca limbal kriyoterapiyi aderen lezyonlara ve lamellar sklerektomiye ise skleraya yapışık lezyonlara uygulamıştır.⁹ Korneaya uzanan KM'lerde, stroma invazyonu şüphesi varsa penetran keratoplasti riskleri göz önüne alınarak yapılabilir ancak daha ileri gidilmemelidir.¹⁰ KM eksizyonu sonrası geriye kalan geniş konjonktiva defekti bukkal mukozal veya konjonktival greft, semblefaron halkaları gibi forniksi derinleştiren amniyotik membran transplantasyonu yapılmasını gerektirebilir.¹¹ Bu olgularda amniyotik membran greftleri, konjonktiva epitelinin migrasyonu ve iyileşme için iskele görevi görerek enflamasyonu ve fibrozisi azaltır.¹² Daha geniş KM olguları için kullanılan daha ileri yöntemler arasında, nadiren yapılan KM enükleasyonu bulunur, çünkü bu yöntem ile geride hastalıklı konjonktiva bırakma riski bulunmaktadır.¹³ Tam konjonktivektomi sağlayan orbita ekzenterasyonu, şu anda diğer cerrahi yöntemlerle tedavi edilemeyen yayılım görülen olgularda yapılmaktadır ancak orbita invazyonu olduğunda bu yöntemin genel sağkalım üzerindeki etkisi ihmal edilebilir düzeydedir. Bir mm'den kalın tümörlerde melanoma bağlı mortalite oranı orbita ekzenterasyonu yapılmasına rağmen %33 ile %50 arasındadır ve bu nedenle palyatif bir seçenek olarak ayrılır.¹⁴

Topikal Kemoterapi

Oküler yüzey, titre edilebilir, tekrarlanabilir ve yüksek konsantrasyonlarda topikal kemoterapinin doğrudan uygulanabilmesi açısından avantajlı bir konumdadır ve kemoterapötik ilaçlara sistemik maruziyet sınırlıdır. KM'de topikal kemoterapi, özellikle sınırları belirsiz multifokal veya diffüz lezyonlarda olduğu gibi tüm oküler yüzeyin tedavi edilmesi gereken olgularında da yararlıdır.¹⁵ Ayrıca; klinik olarak ve tümör kenarı olarak belirlenen pigmentli sınır, amelanotik kenarları içeren patolojik sınırlar ile korele olmayabilir. Bununla birlikte, topikal kemoterapinin birincil edinilmiş melanozun (PAM) aksine KM'de primer tedavi olarak kullanılması, yüzeyel ve intraepitelyal melanomu içeren bir alt grupla sınırlıdır ve nodülerite veya subepitelyal odaklar olduğunda kullanımının sınırlı olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, KM'de topikal kemoterapiden genellikle cerrahi öncesi veya sonrası adjuvan tedavi olarak yararlanılır.^{5,15} Topikal mitomisin C bazal membranı kolay geçmez ve invaziv konjonktiva lezyonlarında primer tedavi olarak kontrendikedir. KM'de topikal antiproliferatif tedavi hakkındaki literatürün özeti Tablo 1'de yer almaktadır.^{5,16,17,18,19}

Westekemper ve ark.²⁰ CRMM-1 ve CRMM-2 rekürren KM hücre hatlarının kemoterapötik ajanlara ve bu ajanların kombinasyonlarına olan duyarlılıklarını değerlendirmiştir. Test edilen ajanlar arasında sadece mitomisin C ve sisplatinin tümör hücrelerinin büyümesini inhibe edici etkisi olduğu bulunmuştur. Aynı çalışma grubunun detaylı sonuçları, CRMM-1 ve CRMM-2 hücre hatlarının 24 saat boyunca aynı ajana maruz kalmasından sonra, mitomisin C ve imatinib kombinasyonunun tümör büyümesi üzerindeki inhibitör etkilerinin kümülatif olduğunu, imatinibin fotemustin veya sisplatin ile kombinasyonlarının ise antagonist etkili olduğunu göstermiştir.²⁰ All-trans retinoik asit, CRMM-2'de mitomisin veya imatinib ile sinerjistik bir etkiye sahiptir, ancak CRMM-1'de antagonist etkilidir. Klinik ortamda 24 saatlik maruziyet pratik olmasa da yazarlar mitomisin C'nin imatinib veya all-trans retinoik asit ile kombinasyonunun konjonktivayı mitomisin ile ilişkili yan etkilerden koruyabileceğini ileri sürmüşlerdir.²⁰ Yakın zamanda elde edilen bu sonuçlar, KM'de lokal tedavinin bir parçası olarak kombinasyon tedavisinin veya yeni potansiyel ajanların kullanımını desteklemektedir.

Mitomisin C (MMC): Mitomisin C, *Streptomyces caespitosus*'tan izole edilen, hücre döngüsünün tüm aşamalarında antiproliferatif etki gösteren, hem çoğalan hem de çoğalmayan hücrelere karşı etkili alkilleyici bir ajandır. Etkisini primer olarak DNA ile kovalent bağ oluşturarak ve DNA sentezine müdahale ederek gösterir. Sekonder olarak, aerobik koşullarda topikal uygulama ile serbest radikaller üretir ve lipid peroksidasyonuna neden olur. Ayrıca, immünohistokimyasal düzeyde, KM ve bir dereceye kadar PAM'de, mitomisin C'nin biyoaktivasyonunu teşvik eden NAD (P)H: kinon oksidoredüktazı eksprese eder.²¹ KM'de primer veya adjuvan tedavi olarak mitomisin C'nin kullanıldığı çalışmalar Tablo 1'de listelenmiştir.^{5,16,17,18,19}

Topikal mitomisin C'nin oküler yüzey maligniteleri için bildirilen geçici veya uzun süreli yan etkileri arasında limbal kök hücre yetmezliği, punktum stenoza, oküler irritasyon,

Tablo 1. Konjonktiva melanomunda (KM) topikal kemoterapi ile ilgili literatürün özeti. Beşten az sayıda KM hastasının dahil edildiği çalışmalar ve olgu sunumları dışlanmıştır

Çalışma grubu	Yıl	İlaç	Doz	KM'li göz sayısı	Primer veya adjuvan	Sonuçlar	Yan etkiler
Kurli ve Finger ⁵	2005	MMC	Günde 4 kez, %0,04 MMC: • Primer tedavi olarak 28 gün, 2 hafta tedavi, 2 hafta ara • Adjuvan tedavi olarak 7 gün	8	2 Primer 6 Adjuvan	• Primer tedavi edilen KM'de lokal kontrol yok, adjuvan grupta %50 nüks oranı • İzlem: 13-144 ay • Melanomun nodüler ve subepitelyal odakları topikal MMC'ye dirençliydi • Nüks substantia propria ve orbital dokuların daha derin tabakalarından kaynaklandı	• Kısa dönem: geçici keratokonjonktivit (14 göz), şiddetli keratokonjonktivit (1 göz), kornea skarı (1 göz) • Uzun dönem: pannus (2 göz), kornea bulanıklığı (1 göz)
Russell ve ark. ¹⁶	2010	MMC	Günde 4 kez, %0,04 MMC, 3 hafta tedavi, 3 hafta ara, 3 hafta tedavi	22	1 Primer Nüks için 3 primer tedavi 18 Adjuvan	• KM nüks oranı %25 • Ortalama izlem: Tüm gözler için 36 ay	• Alerji ve keratokonjonktivitten oluşan %52 kısa süreli komplikasyon • Korneal erozyonlar/limbal kök hücre yetmezliği ve punktal stenozu içeren %31 uzun dönem komplikasyon
Ditta ve ark. ¹⁷	2011	MMC	Günde 4 kez, %0,04 MMC, 3 hafta tedavi, 1 hafta ara	15	Adjuvan	• Ortalama izlem süresi: 23,8 ay • Gözlerin %33,3'ünde en az 1 nüks gelişti	Enjeksiyon (13 göz), sulanma (10 göz), iritasyon (9 göz), ağrı (9 göz), keratopati limbal kök hücre yetmezliği (4 göz)
Finger ve ark. ¹⁸	2008	IFN-α2b	1 milyon ünite/mL, 3 ay boyunca günde 4 kez	5	2 Adjuvan Nüks için 3 primer tedavi	• İzlem: 8-17 ay • Hastaların 4/5'i tam regresyon gösterdi	Sistemik yan etki yok 1 kemozis 1 iritasyon 1 kornea ödemi ve yüzeyel noktalı keratopati
Benage ve ark. ¹⁹	2019	IFN-α2b	1 milyon ünite/mL, 3-6 ay boyunca günde 4 kez	5	Adjuvan	• Cerrahi sınırda daha önce PAM olan 2 olguda remisyon görüldü • Cerrahi sınırda daha önce invaziv melanom olan 3 olguda nüks izlendi • İzlem: 12-54 ay	Belirtilmemiş

MMC: Mitomisin C, IFN-α2b: İnterferon-alfa-2B

konjonktival hiperemi, sulanma, punktat keratopati, blefarospazm, kornea bulanıklığı ve oküler ağrı sayılabilir. Bunlardan ilk iki yan etki ilacın kullanımını sınırlandıran en ciddi komplikasyonlardır.¹⁶ Keratokonjonktivit ve punktat keratopatinin çoğunlukla geçici olması, birkaç ay içinde gerilemesi ve uzun süreli tedavide gelişmesi beklenir.¹⁷ Akut oküler yüzey toksisitesine karşı bir önlem olarak sikluslar arasında 1-2 hafta ara verilir ve tedavi sırasında, arasında veya boyunca yapay gözyaşı veya hafif topikal kortikosteroid damlalar kullanılır.^{16,17} Daha ileri komplikasyonlardan kaçınmak için skleraya doğrudan maruziyet önlenmelidir. Yan etkileri tahmin etmek için kullanılabilecek net bir doz-yanıt eğrisi mevcut değildir. Tek bir damla mitomisin C bile konjonktivada bilinmeyen bir mekanizma ile kronik doku değişikliklerine

neden olabilir. Postoperatif tedaviye sadece yara iyileştikten sonra ve invaziv melanom için cerrahi sınırların negatif olduğu kanıtlandığında başlanmalıdır.^{5,15}

İnterferon-alfa-2B (IFN- α2b): İnterferonlar (IFN), antitümör aktivitelerini hücre döngüsünü uzatarak, esansiyel metabolitleri tüketerek, doğrudan sitotoksosite ile, hücre yüzey antijenlerinin ekspresyonunu değiştirerek ve tümör hücrelerine karşı antikörlerin indüklenmesini sağlayarak gösteren bir glikoprotein grubudur. IFN-α2b'nin oküler malignitelerde kullanımı hakkındaki veriler esas olarak topikal damlalar veya subkonjonktival/perilezyonel enjeksiyonlar şeklinde uygulanan oküler yüzey skuamöz neoplazisi çalışmalarından elde edilmiştir, KM'de kullanımı ve etkinliği ile ilgili çalışma sayısı sınırlıdır. IFN'ler oküler yüzey neoplazilerinde topikal kullanıldığında

oküler yüzeyde yan etki göstermez veya hafif konjonktival hiperemi veya foliküler keratokonjonktivit gibi sınırlı, iyi tolere edilen yan etkiler gösterirler. Perilezyonel enjeksiyonlar, grip benzeri semptomlar, gecelik ateşler ve miyaljiler gibi sistemik yan etkilere neden olabilir ve bu semptomlar asetaminofene yanıt verir. Yakın zamanda, cerrahi sınırların daha iyi belirlenebilmesi ve lokal nüks oranının azaltılması amacıyla KM'nin immünoresüksiyonu için Kim ve Salvi²² tarafından neoadjuvan intralezyonel IFN- α 2b uygulaması önerilmiştir. KM'de topikal IFN- α 2b göz damlaları hakkındaki literatür Tablo 1'de özetlenmiştir.^{5,16,17,18,19}

Diğerleri: Eksizyon sırasında peroperatif sodyum hipoklorit veya alkol kullanımı bazı merkezlerde disseminasyon riskini azaltmak için uygulanmaktadır. %0,5 konsantrasyonda sodyum hipokloritin 1/4'e kadar dilüsyon ile en az 3 dakika uygulanmasının *in vitro* olarak KM hücre hattında (CM2005.1) sitotoksik olduğu gösterilmiştir ve bu sitotoksiste %99 etanol ile elde edilen düzeye eşdeğerdir.²³ Bu uygulamanın yan etkileri insanda test edilmelidir.

Adjuvan lokal girişimi açısından, CRMM1, CRMM2 ve normal konjonktiva epiteli hücre hatlarının 2D ve 3D hücre kültürlerinin çalışıldığı yakın tarihli bir araştırmada elektrokemoterapi, bleomisinin antitümör aktivitesini artıran bir tedavi yöntemi olarak önerilmiştir ancak mitomisin C ve 5-florourasil için bu etki izlenmemiştir.²⁴

Radyoterapi

KM'de radyoterapi, uygulama şekline bağlı olarak dahili ve harici olarak sınıflandırılabilir. Radyoterapi günümüzde KM'nin cerrahi eksizyonuna adjuvan tedavi olarak tamamlayıcı bir yaklaşımdır. Sadece ekzentereasyonu tolere edemeyen, cerrahi olarak rezeksiyonu yapılamayan lezyonları olan veya diğer tedavilere yanıt vermeyen en ileri olgularda palyatif yöntem olarak kullanılabilir.^{25,26} Postoperatif adjuvan, tedavide yara tamamen iyileştikten sonra yapılmalıdır.²⁷

İnternal radyoterapi (brakiterapi): Epibulber tümörlerde plak brakiterapi I-125 ve Ru-106 izotopları ile veya Sr-90 ile yapılabilir.²⁷ KM'de brakiterapi hakkındaki en son çalışmalarda Sr-90 ve I-125 kullanıldığı bildirilmiştir.^{3,28,29,30,31} Ayrıca, Kenawy ve ark.⁸, sklerektomi veya kriyoterapi yerine 2006'ya kadar 2 mm'de 100 Gy ve 2006'dan sonra 1 mm'de 100 Gy doz ile adjuvan Ru-106 plak kullandıklarını ve lokal nüks oranlarında iyileşme olduğunu bildirmişlerdir. Korneoskleral tutulum olan KM'de I-125 ile plak brakiterapi de adjuvan tedavi seçeneklerinden biridir. Skleral ve/veya korneal stroma tutulumu histopatolojik olarak gösterilmiş 5 KM olgusundan oluşan bir çalışmada, rezidüel hastalık 1,5-2,5 mm derinlikte 100 Gy 15 mm I-125 plak kullanılarak tedavi edilmiş ve 23,4 aylık takip sonunda yeni lokal nüks izlenmemiş ve intraoküler komplikasyon gelişmemiştir. Tüm hastalarda brakiterapi bölgesinde vaskülarite ve enflamasyonun daha da azalması sekonder bir kazanç olarak izlenmiştir.³¹

TNM evresi pT1c ve altında olan 19 bulber KM'den oluşan bir hasta serisinde tedavi sklerektomiden kaçınılarak cerrahi eksizyon olarak gerçekleştirilmiş ve bunu 1,5-3,0 mm derinlikte

100 Gy dozda adjuvan I-125 plak brakiterapi izlemiştir. Ortalama 41,3 aylık takip sonunda sadece perioperatif dönemde yan etki görülmüş ve tedavi bölgesinde lokal nüks gözlenmemiştir.³⁰

Palpebral konjonktiva veya forniks gibi anatomik açıdan daha zor konumdaki KM'ler için eksternal ışın radyoterapi, proton ışın terapisi ve hatta I-125 plak uygulaması bildirilmiştir.²⁷ Bu yöntemle, paslanmaz çelik kalkan perilimbal pozisyonunda yerleştirildikten sonra 5 gün boyunca 55-60 Gy doz verilmiş ve 11-227 aylık takipten (medyan: 13 ay) 14 hastanın 13'ünde lokal kontrolde başarı sağlanmıştır.²⁷

Lommatzsch ve ark.²⁸, lezyonun kalınlığına bağlı olarak uygulanan toplam doz 150-200 Gy olana kadar 10 Gy'lik tedavilerle Sr-90/Y-90 brakiterapi yapmışlardır. Hastaların 46'sının adjuvan veya primer plak brakiterapi, 3'ünün adjuvan eksternal ışın radyoterapi aldığı bu KM kohortunda lokal nüks oranı 19/81 bulunmuştur. Bu hasta serisinde ortalama 66 ay sonra tedavi şekline bakılmaksızın lokal nüks oranı %23,5 olarak bildirilmiştir.²⁸ Missotten ve ark.³ 194 KM hastasından oluşan ülke çapındaki çalışmalarında hastaları medyan 6,8 yıl takip etmişler ve lokal nüks oranlarını sadece eksizyonla %67 ve cerrahi ile kombine Sr-90/Y-90 brakiterapi ile ise %26 olarak bildirmişlerdir. Adjuvan tedavi olarak sklera yüzeyine el aplikatörü ile 5 seansta 50 Gy doz Sr-90 beta ışını uygulanan 20 bulber KM hastasında da başarılı sonuçlar alınmış, medyan 59 ay sonunda %90 oranında lokal kontrol sağlanmış, hafif lokal komplikasyonlar görülmüş ancak katarakt gelişmediği bildirilmiştir.²⁹ Yazarlar derin cerrahi sınırlar pozitif olduğunda bu tedavinin endike olduğunu ileri sürmüşlerdir.²⁹

Eksternal radyoterapi: KM'de eksternal ışın radyoterapisinin (EBRT) yaşlılık ve genel sağlık durumunun iyi olmaması nedeniyle cerrahiye tolere edemeyen hastalarda adjuvan tedavisi olarak ve rezeksiyon için çok büyük lezyonları olan hastalarda kullanıldığı bildirilmiştir.^{26,27} Bazı çalışmalarda, agresif histoloji, mikroskobik perinöral invazyon, ileri evre hastalık veya konjonktiva ve göz kapağının malign lezyonlarında sınırlar pozitif olduğunda medyan 60 Gy dozda postoperatif EBRT yapılabileceği ileri sürülmüştür.

Proton tedavisi, EBRT'den daha az kollateral hasara neden olur ve hedef dokuya daha seçici olan bir başka eksternal ışınlama yöntemidir. Günümüzde bazı merkezler KM'de, kalınlığı 1,5 mm'den büyük olan tümörler, diffüz veya multifokal hastalık, PAM'nin eşlik ettiği olgular, forniks veya karüncül lezyonlar ve sınırları histopatolojik olarak pozitif olan hastalarda eksizyonel cerrahiden 2 hafta sonra 6 seansta toplam 36 Gy proton radyoterapi kullanılmaktadır. Bu yöntemle 5 yıllık nüksüz sağkalımın %81 olduğu bildirilmiştir.³²

Wuestemeyer ve ark.²⁵ orbita ekzentereasyonuna alternatif olarak 20 hastada proton tedavisini değerlendirmişlerdir. Tümörlerin çoğu T3 evresindeydi ve 2 bulber tümör dışında hepsi forniks veya karüncül yerleşimliydi. Eksizyonel biyopsi ve konjonktival haritalama sonrası 6 seansta toplam 31 Gy doza ek olarak 2 seansta toplam 45 Gy ek doz tedavi yapıldı. Medyan izlem süresi 34 aydı. Nüks oranının %30 olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak, T3 veya diffüz T1 ve T2 tümörler için ekzentereasyona alternatif olarak proton radyoterapisi önerilmiştir. En sık görülen

komplikasyonlar kuru göz (%95), fokal katarakt (%35) ve limbal kök hücre yetmezliği (%20) olmuştur.²⁵

Proton radyoterapisinin daha serbestçe kullanıldığı evre T1c/d ile T3 arasında 89 KM hastasının dahil edildiği daha geniş bir kohortta, 5 yıllık kümülatif göz koruma oranı %69 ve tahmini genel 5 yıllık sağkalım %71 olmuştur. Bu nedenle, T2 ve T3 tümörlerde orbita ekzentasyonuna alternatif olarak proton radyoterapi önerilmiştir.³³ Otuz altı (%41) hasta daha önce tedavi görmüştü ve 29 hastada (%33) lokal nüks gelişmişti.³³ En sık görülen yan etkiler 27 hastada sikka sendromu, 10 hastada sekonder glokom ve 7 hastada limbal kök hücre yetmezliği idi.³³

Kriyoterapi

Şu anda, adjuvan kriyoterapi, daha önce belirtildiği gibi, KM eksizyonunun aşamalarından biri olarak tarif edilmektedir. Kriyoterapideki dondurma işlemi ultra yapısal olarak termal yanığın hasarına benzerdir. Tümör hücrelerinde buz kristalleri oluşturarak doğrudan hücre lizisine neden olmanın yanı sıra yüzeyel epitelin yüzeyel atipik melanositlerle birlikte substantia propriadan dökülmesine neden olur. Yüzeyel melanositlerin veya eksizyondan sonra potansiyel olarak konjonktivanın daha derin tabakalarında kalan az sayıda melanositin hedef alınmaması ve nodüler kısmın sadece kriyoterapi ile tedavi edilmemesi tavsiye edilmektedir.³⁴ Kriyoterapi, unifokal KM'de ekzentasyon oranlarının azalmasına yardımcı olur, ancak multinodüler KM'de cerrahi kriyoterapi ile kombine edildiğinde metastaz oranları %45'e varmaktadır. Ayrıca çıplak skleraya kriyoterapi yapılmaması, skleranın erime olasılığını önlemek için alkol uygulamasının tercih edilmesi önerilir. İstenmeyen doku hasarını önlemek ve kriyoterapinin etkinliğini artırmak için Finger³⁵, "finger-tip" kriyoterapi problemlerini geliştirmiştir. Bu problemler ile daha geniş alanlarda daha homojen yanıklar oluşturulabilir. Düz alanlar daha efektif ve daha az tümör atlama riski ile hedeflenebilir.

De Potter ve ark.³⁶ tarafından yapılan bir seride kriyoterapi uygulamasının lokal nüks oranlarını etkili bir şekilde azalttığı gösterilmiştir. Histolojik olarak kanıtlanmış 68 KM hastasından oluşan kohortlarında lokal tümör nüksü ile ilişkili bulunan tek faktör tedavi modalitesi olmuştur. Bu çalışmada nüks oranları ortalama 7,5 yıllık izlem sonunda sadece cerrahi eksizyon ile %68 iken cerrahi ile kriyoterapi kombine edildiğinde bu oran %18'e düşmüştür. Bu nedenle, günümüzde halen klinik pratikte en etkili adjuvan yöntemlerinden biri kriyoterapi olmaya devam etmektedir.

Diğer

KM'nin moleküler biyolojisi ve kutanöz melanoma ile biyolojik benzerlikleri, tedavide önemlidir. Vemurafenib, metastatik hastalığın tedavisinde önerilen, V600E mutasyonuna özgü bir BRAF inhibitörüdür.³⁷ Vemurafenib, dabrafenib, bir MEK inhibitörü (MEK162) ve bir AKT inhibitörü (MK2206) ile yapılan *in vitro* çalışmalar, bu son iki ilacın kombinasyonunun hücre proliferasyonunu inhibe etmede sinerjistik bir etkiye sahip olduğunu, ancak BRAF yabanıl tip ve NRAS mutant hücre hattının BRAF inhibisyonuna yanıt vermediğini göstermiştir.³⁸

Kutanöz melanom için metastatik melanomda BRAF mutasyonu potansiyel hedefe yönelik tedavi için ilgi çekici bir nokta olmuştur; ancak KM'de MEK inhibisyonu ile birlikte veya tek başına BRAF ile ilgili tek olgu sunumlarından oluşan az sayıda yayın bulunmaktadır. Bunlardan birinde, başlangıçta metastatik olan 70 yaşında bir hastanın trametinib (MEK 1 ve 2 inhibitörü) ve dabrafenib (BRAF inhibitörü) ile tedavi edildiğini ve 12 aylık izlemde nüks gelişmediği ve stabil seyrettiği bildirilmiştir.³⁹ Diğer iki olgu sunumunun birinde metastatik, diğerinde ise metastatik olmayan KM, trametinib ile kombine sırasıyla vemurafenib veya dabrafenib ile tedavi edilmiş ve tam regresyon sağlandığı bildirilmiştir.^{40,41} Kiyohara ve ark.⁴² metastatik KM'li iki olgu bildirmiştir. Bu olgulardan biri başlangıçta metastaz için vemurafenib ile tedavi edilmiş, daha sonra vemurafenibin neden olduğu düşünülen keratoakantom benzeri döküntüler nedeniyle trametinib ile kombine dabrafenib tedavisine geçilmiştir, ancak hasta 24 aylık takipten sonra kaybedilmiştir. Diğer hasta trametinib ve dabrafenib kombinasyonu ile 6 ay boyunca başarılı bir şekilde izlenmiş ve lokal nüks gelişmemiştir. Bu veriler ve uniform olmayan sonuçlar, genel varsayımlar yapılmasını kolaylaştırmasa da BRAF mutasyonlu olgularda, özellikle MEK inhibitörleri ile BRAF inhibisyonunun, KM'de en umut verici hedefli tedavilerden biri olduğu açıktır.

İmmün kontrol noktası inhibitörleri, kutanöz veya rezeke edilemeyen kutanöz melanomlarda da kullanılan hedefe yönelik tedavinin yeni ilaçlarıdır ve etkilerini aktive T lenfositlerin reseptörleri üzerinden, konak bağışıklık sisteminin tümör hücrelerinin tanınmasını kolaylaştırarak gösteriler. Yakın zamanda yapılan ve metastatik KM'li 5 hastanın dahil edildiği bir çalışmada, programlanmış hücre ölümü-1 (PD-1) inhibitörleri ile immünoterapi sonuçları değerlendirilmiştir. Bu çalışmada dört hastaya nivolumab ve bir hastaya D-1 inhibitörü olan pembrolizumab verilmiştir. Nivolumab ile tedavi edilen hastalarda 36 ay sonra hastalık izlenmemiştir. Pembrolizumab ile tedavi edilen hasta 11 ay sonra progresyon göstermiş ve farklı bir tedaviye geçilmiştir.⁴³ Cao ve ark.⁴⁴ tarafından yapılan ve primer KM olgularının %19'unda PD-ligand-1 saptanan yakın tarihli bir analiz göz önüne alındığında, immünoterapi, sistemik hastalık için potansiyel bir tedavi seçeneğidir. Bu çalışmada ayrıca bu ekspresyonun uzak metastaz ve melanom ilişkili daha kötü sağkalım ile ilişkili olduğunu ileri sürülmüştür.⁴⁴ PD-1 inhibitörlerinin başarısını öngörmek için, KM'de PD-1/PD-L1 ekspresyonundan bağımsız olduğu bulunduğu için, HLA Sınıf I antijen ekspresyonunun ayrıca belirlenmesi önerilir.⁴⁵

Beş hastadan oluşan yakın tarihli bir olgu serisinde, orbita ekzentasyonunu reddeden lokal ileri KM'li 3 hasta ve metastatik hastalığı olan 2 hastaya ipilimumab veya nivolumab ile kombine bir anti-PD-1 ajan tedavisi verilmiş ve tedavi birden çok kez döngü şeklinde tekrar edilmiştir.⁴⁶ Tüm olgularda lokal ve metastatik KM'de iyileşme izlenmiş ve 2 hastada tam yanıt görülmüştür.⁴⁶ Bu hastalardan birinin başlangıçta sistemik hastalığı olduğu belirtilmiştir.

Yeni önerilen bir diğer potansiyel hedef, primer KM ve lenf nodu metastazlarında yüksek oranda eksprese edilen (sırasıyla %50 ve %88) ancak normal konjonktiva dokusunda bulunmayan,

bir epigenetik dönüştürücü olan EZH2'dir ("enhancer of zeste homolog 2").⁴⁷ EZH2'nin GSK503 ile farmakolojik inhibisyonu veya genetik "knock-down" yapılması *in vitro* ve zebra balığı ksenogreftlerinde hücre büyümesinin azalmasını sağlamıştır.⁴⁷

KM'de tümör ilişkili lenf anjiyogenez bir diğer potansiyel tedavi hedefidir. Lenfatik vasküler endotelial hiyalüronan reseptör-1 ve podoplaninin lenfatik endotel belirteçleri olarak boyandığı ve intratümöral lenfatik damar dansitesinin araştırıldığı bir çalışmada, intratümöral lenfatik damar dansitesindeki artışın tümör kalınlığı ve çapında artış ile ilişkili olduğu, ayrıca nüksüz geçen sürenin düşük ve melanoma bağlı ölüm oranlarının ise daha yüksek olduğu gösterilmiştir.⁴⁸ Atipili ve atipisiz K-MIN ve KM'de intratümöral ve peritümöral lenfatik damar dansitesini karşılaştırmak için aynı belirteçler kullanılmıştır. En yüksek intratümöral ve peritümöral lenfatik damar dansitesi KM'de izlenirken atipisiz K-MIN lezyonlarının hiçbirinde intratümöral ve peritümöral olarak bu belirteçler için pozitif boyanma görülmemiştir. Bu bulgu, invaziv evrelerden bile önce malignite gelişiminde lenf anjiyogenezin erken bir adım olduğunu göstermektedir.⁴⁸ Ayrıca, tars veya forniks tutulumu olan limbal olmayan tümörlerin limbal tümörlere göre lenfatik damar dansitesinin yüksek olma eğilimi olduğu gösterilmiştir. Bu da limbal olmayan tümörlerin olasılıkla anti-lenf anjiyojenik tedaviden daha fazla yarar göreceği anlamına gelmektedir.⁴⁹ KM ve üvea melanomu hücre hatlarının lenf ve hemanjiyojenik profili karşılaştırıldığında, KM ve üvea melanomu hücre hatlarında vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF)-A, -C ve -D mRNA ve VEGF-A ve -D protein ekspresyonlarının olduğu görüldü. Bu sonuç lenf ve hemanjiyojenik potansiyel açısından arada farklılık olmadığına işaret etmektedir. Bu, KM'nin lenfatik ve üvea melanomunun ise hematojen yayılım göstermesinde tümör mikroçevresine etki eden *in vivo* mekanizmalar olduğunu düşündürmektedir.⁵⁰

Inhibisyon için olası son hedef mTOR (memelilerde rapamisin hedefi) yolağıdır, çünkü PTEN'nin mTOR yolağının down regülasyonundan sorumlu olduğu üvea melanomunun aksine, fosforile m-TOR efektörleri KM'de yüksek oranda eksprese edilir.⁵¹ Olası bir tedavi olarak mTOR yolağının inhibisyonu, 3 hücre hattının (CRMM1, CRMM2, T1527A), bir BRAF inhibitörü (vemurafenib), iki MEK inhibitörü (trametinib, selumetinib), bir PI3K inhibitörü (piktilisib) ve PI3K/mTOR yolaklarının ortak bir inhibitörüne (dactolisib) maruz bırakıldığı *in vitro* çalışmanın bir bölümünü oluşturmuştur.⁵² Hücre hatları mutasyon profilleri farklılık göstermektedir. CRMM1'de BRAF V600E mutasyonu, CRMM2'de NRAS Q61L mutasyonu ve T1527A'da BRAFG466E mutasyonu mevcuttur. Sonuç olarak, CRMM1'in her iki MAPK inhibitörüne (trametinib ve sınırlı düzeyde vemurafenib) duyarlı olduğu, CRMM2'nin piktilisibe orta derecede duyarlı olduğu ve T1527A'nın test edilen tüm ajanlara dirençli olduğu bulunmuştur. Sadece CRMM1'in vemurafenib duyarlılığı olduğu gözlenmiştir.⁵² Bu nedenle, en sık karşılaşılan mutasyonları barındıran üç hücre hattından ikisinde, CRMM1 ve CRMM2, piktilisib (PI3K inhibitörü) ile büyümede anlamlı inhibisyon izlenmiştir. Ancak, ilginç bir

şekilde, mTOR'nin alt basamaklarının inhibitörü olan dactolisib ile kombine edildiğinde piktilisibin bu etkisi azalmıştır.⁵²

Moleküler Biyoloji

KM'de en sık çalışılan ve bildirilen mutasyonlar arasında BRAF, NRAS ve KIT mutasyonları bulunur. Üstelik, genetik değişikliklerdeki benzerlikler, son yıllarda KM ve kutanöz melanom arasında biyolojik bir akrabalık olduğunu düşündürmektedir. Bu nedenle potansiyel yeni tedavilerin geliştirilmesine olan ilgi artmıştır.^{53,54}

BRAF (v-Raf murin sarkomu viral onkogen homologue B) geni, mitojen ile aktive edilen protein kinaz (MAPK) yolağında sinyal iletiminde rol oynayan bir serin/treonin kinazı kodlar. BRAF mutasyonlarının aktivasyonu KM'de %50'ye kadar görülebilir ve BRAF mutasyonu taşıyan örnekler arasında BRAF V600E'nin BRAF V600K'ye oranı yaklaşık 4:1'dir.^{37,53,54} BRAF mutasyonlarının prognostik öneme sahip olup olmadığı tartışmalıdır, ancak Danimarka'da yapılan popülasyon bazlı bir çalışmada BRAF mutasyonu durumu erkek cinsiyet, genç yaş, güneşe maruz kalan tümörler (bulber konjonktiva veya karüinkül dahil), mikst veya pigmentsiz renk, PAM yokluğu ve nevüs kaynaklı KM ile ilişkili bulunmuştur.²

NRAS nöroblastom v-Ras onkogen homologue anlamına gelir ve bu gen hücrenin proliferatif döngüsünü destekleyen bir GTPaz'ı kodlar. Aktive edici NRAS mutasyonlarının sıklığı %18'dir ve BRAF mutasyonları ile birbirini dışlayan mutasyonlardır.³⁸ KM'de GNAQ ve GNA11 mutasyonlarının görülmemesi dikkat çekicidir ve üvea melanomundan farklıdır.⁵⁴ KIT geni, hücre sağkalımını ve büyümesini destekleyen ve KM'nin yaklaşık %2'sinde mutasyona uğradığı tespit edilen bir reseptör tirozin kinazı kodlar.⁵⁵ KIT mutasyonu görülen melanomların c-kit dahil tirozin kinaz inhibitörü imatinibe duyarlı olduğu gösterilmiştir. CD117 ekspresyonu ve c-kit immün boyaması KIT mutasyon durumu veya kopya sayısı ile korele değildir; bu nedenle, imatinib tedavisine başlamadan önce mutasyon durumunun belirlenmesi önerilir.^{56,57}

Altmış üç KM'den oluşan yeni büyük kohortlu bir çalışmada, KM'de en sık görülen mutasyonun NF1 mutasyonları (%33) olduğu bulunmuş, bunu BRAF ve RAS genlerinde aktive edici mutasyonların izlediği ve hepsinin MAPK yolağının aktivasyonunu indüklediği bildirilmiştir.⁵⁸ Yazarlar, BRAF, RAS, NF1 mutasyonlu ve üçü de yabancı tip KM'leri de içeren ve kutanöz melanoma benzer bir KM genetik sınıflandırması önermişlerdir.⁵⁸ Bu öneri mutasyonların birbirini dışlar özellikle olduğunu düşündüklerini göstermektedir.

KM'de saptanan diğer mutasyonlara gelince, beş KM hastasından eksizye edilen materyalin tüm eksom sekanslaması yapılmış ve BRAF, NRAS ve NF1 mutasyonlarına ek olarak, KM'de daha önce bildirilmemiş olan EGFR, APC, TERT ve diğer kanserle ilişkili genlerde mutasyonlar gösterilmiştir. Ayrıca UV kaynaklı DNA hasarını işaret eden C→T mutasyon belirteçleri izlenmiştir. En sık görülen kromozom değişikliği 6p kazancıdır.⁵⁹ KM'de izlenen son moleküler ve genetik/epigenetik değişiklikler ile ilgili çalışmalar Tablo 2'de özetlenmiştir.^{37,44,54,60,61,62,63,64,65}

Tablo 2. Konjonktiva melanomunun (KM) moleküler patolojisi, genetiği ve epigenetiği hakkında yapılmış çalışmalar			
Çalışılan hücre/ protein/molekül/gen	Yöntem	Sonuçlar	Kısıtlılıklar
PD- L1 ligandı ⁴⁴	İmmünohistokimya	Ekspresyon kutanöz melanomdan daha düşüktür.	Küçük örneklem büyüklüğü, olası tümör heterojenitesi.
Tümörü infiltrate eden lenfositler ⁴⁴	İmmünohistokimya	Uvea melanomunun göre KM'de CD4, CD4 yardımcı, Foxp3 hücre dansitesi daha yüksek ve CD8, CD68 ve CD68CD163 hücre dansitesi daha düşüktür.	Küçük örneklem büyüklüğü, olası tümör heterojenitesi.
S100A1, S100A6, S100B, Melan-A, CEA ⁶⁰	İmmünohistokimya	Melan A ifadesi değişken. CEA eksprese edilmiyor. S100A1 ve S100B yüksek oranda eksprese edilir. UM'de S100B ekspresyonu düşük. S100A1 ve S100B1, metastatik KM'nin serum belirteçleri olarak önerilmiş.	Küçük örneklem büyüklüğü.
Kromozoma analizi ⁵⁴	Karşılaştırmalı genomik hibridizasyon	KM kutanöz melanoma benzer paternler gösterdi: 1q, 3p, 7, 17q kazançları; 9p, 10, 11, 12q kayıpları. Uvea melanomunda 1p, 3, 6q kayıpları; 6p, 8q kazançları.	Prognozun belirlenebilmesi için izlem süresi daha uzun olan daha büyük kohortlara ihtiyaç vardır.
HSP-90, PTEN, Bcl-2 ⁶¹	İmmünohistokimya	HSP-90 ekspresyonu ve PTEN kaybı, KM'yi nevüslerden ayırmada yardımcı olabilir. Bcl-2 ekspresyonu KM'de de yüksektir.	Belirtilmemiş.
TERT ⁶²	SNaPshot analizi	TERT promotor mutasyonları KM (% 41) ve atipili PAM'de (%8) sık; uvea melanomunda nadir ve benign konjonktival melanositik lezyonlarda yoktur.	Belirtilmemiş.
Gen kopya sayısı değişiklikleri ³⁷	Multipleks ligasyon bağımlı prob amplifikasyonu	Çoğu primer KM'de CDKN1A ve RUNX2 amplifikasyonu mevcuttur. Metastatik KM'lerde MLH1 ve TIMP2 amplifikasyonu ile MGMT ve ECHS1 delesyonu sıklıkla mevcuttur.	Belirtilmemiş.
KM'de sirküler RNA profili ⁶³	RNA dizileme	CirkMTUS1 KM'de upregüledir ve susturucu sirkMTUS1 KM proliferasyonunu inhibe eder.	Belirtilmemiş.
Metastatik KM'nin mikroRNA profilinin belirlenmesi ⁶⁴	Mikroarray profil analizi	Metastatik potansiyel açısından iki grup miRNA profili belirlendi. KM metastazlarında Hsa-mir-194 downregüledir.	Mikroarray ve qPCR arasında korelasyon zayıf. Küçük örneklem büyüklüğü.
β-katenin ekspresyonu ve aktivasyonu ⁶⁵	İmmünohistokimya, yara iyileşme testleri	Deri melanomundan farklı olarak KM'de β-katenin sınırlı aktivasyonu. KM'de β-katenin motilitesi veya nükleer translokasyonu Wnt5a ile ilişkili değildir.	Belirtilmemiş.

KM'de kopya sayısı değişikliklerinin klinik açıdan yorumlanmasına katkı olarak, kopya sayısı değişiklikleri ile klinik sonuç arasındaki ilişkiyi incelemek için çok merkezli, 59 KM hastasının dahil edildiği bir çalışmada tek nükleotid polimorfizmi dizilime ("SNP-Array") yapılmıştır.⁶⁶ Kromozom 10q24.32-26.2 delesyonlarından etkilenen dört tümör baskılayıcı gen (*NEURL1*, *SUFU*, *PDCD4*, *C10orf90*) ile KM metastazı arasında anlamlı ilişki olduğu bulunmuştur. 10q24.32-26.2 delesyonları aynı zamanda lenfatik invazyon ve tümör kalınlığında artış ile güçlü şekilde ilişkili bulunmuştur.⁶⁶

Sonuç ve Öneriler

KM nadir görülen bir hastalık olmasına rağmen olası mortalite doğru tanı ve uygun tedaviyi zorunlu kılmaktadır. Literatür verileri, hastalığın nadir olması nedeniyle çoğunlukla sınırlı sayıda çalışmadan oluşmaktadır. Günümüzde, daha ileri

hastalık veya adjuvan tedaviye yaklaşımlar merkezler arasında farklılık gösterse de, sınırlı ve fokal hastalık için eksizyonel cerrahi ve kriyoterapiden oluşan neredeyse tek tip bir ilk tedavi yaklaşımı vardır. Adjuvan tedavi ile bile mortalite ancak belli bir oranda azaltılabilmektedir. Bireysel prognoz ve sağkalımın öngörülebilmesi için KM'nin daha detaylı sınıflandırılmasına ihtiyaç vardır. KM ve kutanöz melanom arasında ortak genetik ve moleküler değişiklikler olması, hedefe yönelik moleküler tedavi çalışmalarına uygun zemin hazırlamaktadır. Çok merkezli ve ileriye dönük çalışmalar, hastalığın gelişiminde yer alan moleküler değişiklikler ve buna karşılık gelen hedefe yönelik tedaviler hakkında daha fazla bilgi sağlayarak potansiyel olarak ölümcül olan bu tümörün biyolojik davranışı hakkındaki anlayışımızı geliştirecektir.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu dışında olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: H.K., İ.K., Konsept: H.K., İ.K., Dizayn: İ.K., Veri Toplama veya İşleme: İ.K., Analiz veya Yorumlama: İ.K., Literatür Arama: İ.K., Yazan: H.K., İ.K.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

Kaynaklar

- Coupland SE, Barnhill R, Conway RM, Damato BE, Esmaeli B, Albert DM, Auw-Hädrich C, Chévez-Barrios P, Grossniklaus HE, Heegaard S, Holbach LM, Kivelä T, Pavlick AC, Pe'er C, Shields C, Singh AD, Wittekind CW, Williams MD, Prieto VG, Finger PT. Conjunctival melanoma. In: Amin MB, Edge SB, Greene FL, Byrd DR, Brookland RK, Washington MK, Gershenwald JE, Compton CC, Hess KR, Sullivan DC, Jessup JM, Brierley JD, Gaspar LE, Schilsky RL, Balch CM, Winchester DP, Asare EA, Madera M, Gress DM, Meyer LR, eds. *AJCC Cancer Staging Manual*. 8th ed. Switzerland: Springer; 2017:795-803.
- Larsen AC. Conjunctival malignant melanoma in Denmark. Epidemiology, treatment, and prognosis with special emphasis on tumorigenesis and genetic profile. *Acta Ophthalmol*. 2016;94 Thesis 1:1-27.
- Missotten GS, Keijser S, De Keizer RJ, De Wolff-Rouendaal D. Conjunctival melanoma in the Netherlands: a nationwide study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46:75-82.
- Sheng X, Li S, Chi Z, Si L, Cui C, Mao L, Lian B, Tang B, Wang X, Yan X, Kong Y, Dai J, Guo J. Prognostic factors for conjunctival melanoma: a study in ethnic Chinese patients. *Br J Ophthalmol*. 2015;99:990-996.
- Kurli M, Finger PT. Topical mitomycin chemotherapy for conjunctival malignant melanoma and primary acquired melanosis with atypia: 12 years' experience. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2005;243:1108-1114.
- Shields CL, Shields JA. Tumors of the conjunctiva and cornea. *Surv Ophthalmol*. 2004;49:3-24.
- Kocaoglu FA. Biopsy in ocular oncology. *Turk J Ophthalmol*. 2014;44:49-54.
- Kenawy N, Lake SL, Coupland SE, Damato BE. Conjunctival melanoma and melanocytic intra-epithelial neoplasia. *Eye (Lond)*. 2013;27:142-152.
- Cohen VML, O'Day RE. Management issues in conjunctival tumours: conjunctival melanoma and primary acquired melanosis. *Ophthalmol Ther*. 2019;8:501-510.
- Tuomaala S, Aine E, Saari KM, Kivelä T. Corneally displaced malignant conjunctival melanomas. *Ophthalmology*. 2002;109:914-919.
- Agraval U, Rundle P, Rennie IG, Salvi S. Fresh frozen amniotic membrane for conjunctival reconstruction after excision of neoplastic and presumed neoplastic conjunctival lesions. *Eye (Lond)*. 2017;31:884-889.
- Lee SB, Li DQ, Tan DT, Meller DC, Tseng SC. Suppression of TGF-beta signaling in both normal conjunctival fibroblasts and pterygial body fibroblasts by amniotic membrane. *Curr Eye Res*. 2000;20:325-334.
- Seregard S. Conjunctival melanoma. *Surv Ophthalmol*. 1998;42:321-350.
- Paridaens AD, McCartney AC, Minassian DC, Hungerford JL. Orbital exenteration in 95 cases of primary conjunctival malignant melanoma. *Br J Ophthalmol*. 1994;78:520-528.
- Kim JW, Abramson DH. Topical treatment options for conjunctival neoplasms. *Clin Ophthalmol*. 2008;2:503-515.
- Russell HC, Chadha V, Lockington D, Kemp EG. Topical mitomycin C chemotherapy in the management of ocular surface neoplasia: a 10-year review of treatment outcomes and complications. *Br J Ophthalmol*. 2010;94:1316-1321.
- Ditta LC, Shildkrot Y, Wilson MW. Outcomes in 15 patients with conjunctival melanoma treated with adjuvant topical mitomycin C: complications and recurrences. *Ophthalmology*. 2011;118:1754-1759.
- Finger PT, Sedek RW, Chin KJ. Topical interferon alfa in the treatment of conjunctival melanoma and primary acquired melanosis complex. *Am J Ophthalmol*. 2008;145:124-129.
- Benage MJ, Morrow NC, Janson BJ, Greiner MA. Evaluation of interferon alpha 2b as adjunctive therapy for conjunctival melanoma. *Am J Ophthalmol Case Rep*. 2019;15:100467.
- Westekemper H, Freistuehler M, Anastassiou G, Nareyeck G, Bornfeld N, Steuhl KP, Scheulen ME, Hilger RA. Chemosensitivity of conjunctival melanoma cell lines to single chemotherapeutic agents and combinations. *Br J Ophthalmol*. 2012;96:591-596.
- Wilson MW, Scheltonka LP, Siegel D, Meininger A, Ross D. Immunohistochemical localization of NAD(P)H:quinone oxidoreductase in conjunctival melanomas and primary acquired melanosis. *Curr Eye Res*. 2001;22:348-352.
- Kim SE, Salvi SM. Immunoreduction of ocular surface tumours with intralesional interferon alpha-2a. *Eye (Lond)*. 2018;32:460-462.
- Missotten GS, Keijser S, de Keizer RJ. Cytotoxic effect of sodium hypochlorite 0.5% (NaOCl) on ocular melanoma cells in vitro. *Orbit*. 2008;27:31-35.
- Fiorentzis M, Katopodis P, Kalirai H, Seitz B, Viestenz A, Coupland SE. Conjunctival melanoma and electrochemotherapy: preliminary results using 2D and 3D cell culture models in vitro. *Acta Ophthalmol*. 2019;97:e632-e640.
- Wuestemeyer H, Sauerwein W, Meller D, Chauvel P, Schueler A, Steuhl KP, Bornfeld N, Anastassiou G. Proton radiotherapy as an alternative to exenteration in the management of extended conjunctival melanoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2006;244:438-446.
- Kreusel KM, Wiegelt T, Bechrakis NE, Bornfeld N, Foerster MH. Treatment of advanced conjunctival melanoma by external beam irradiation. *Front Radiat Ther Oncol*. 1997;30:150-153.
- Stannard C, Sauerwein W, Maree G, Lecuona K. Radiotherapy for ocular tumours. *Eye (Lond)*. 2013;27:119-127.
- Lommatzsch PK, Lommatzsch RE, Kirsch I, Fuhrmann P. Therapeutic outcome of patients suffering from malignant melanomas of the conjunctiva. *Br J Ophthalmol*. 1990;74:615-619.
- Cohen VM, Papastefanou VP, Liu S, Stoker I, Hungerford JL. The use of strontium-90 Beta radiotherapy as adjuvant treatment for conjunctival melanoma. *J Oncol*. 2013;2013:349162.
- Karim R, Conway RM. Conservative resection and adjuvant plaque brachytherapy for early-stage conjunctival melanoma. *Clin Exp Ophthalmol*. 2011;39:293-298.
- Walsh-Conway N, Conway RM. Plaque brachytherapy for the management of ocular surface malignancies with corneal invasion. *Clin Exp Ophthalmol*. 2009;37:577-583.
- Maschi-Cayla C, Doyen J, Gastaud P, Caujolle JP. Conjunctival melanomas and proton beam therapy. *Acta Ophthalmol*. 2013;91:e647.
- Scholz SL, Héroult J, Stang A, Griewank KG, Meller D, Thariat J, Steuhl KP, Westekemper H, Sauerwein W. Proton radiotherapy in advanced malignant melanoma of the conjunctiva. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2019;257:1309-1318.
- Jakobiec FA, Brownstein S, Albert W, Schwarz F, Anderson R. The role of cryotherapy in the management of conjunctival melanoma. *Ophthalmology*. 1982;89:502-515.
- Finger PT. "Finger-tip" cryotherapy probes: treatment of squamous and melanocytic conjunctival neoplasia. *Br J Ophthalmol*. 2005;89:942-945.
- De Potter P, Shields CL, Shields JA, Mendenhall H. Clinical predictive factors for development of recurrence and metastasis in conjunctival melanoma: a review of 68 cases. *Br J Ophthalmol*. 1993;77:624-630.
- Lake SL, Jmor F, Dopierala J, Taktak AF, Coupland SE, Damato BE. Multiplex ligation-dependent probe amplification of conjunctival melanoma reveals common BRAF V600E gene mutation and gene copy number changes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:5598-5604.
- Cao J, Heijkants RC, Jochemsen AG, Dogrusöz M, de Lange MJ, van der Velden PA, van der Burg SH, Jager MJ, Verdijk RM. Targeting of the MAPK and AKT pathways in conjunctival melanoma shows potential synergy. *Oncotarget*. 2016;8:58021-58036.
- Rossi E, Maiorano BA, Pagliara MM, Sammarco MG, Dosa T, Martini M, Rindi G, Bria E, Blasi MA, Tortora G, Schinzari G. Dabrafenib and trametinib in BRAF mutant metastatic conjunctival melanoma. *Front Oncol*. 2019;9:232.

40. Pinto Torres S, André T, Gouveia E, Costa L, Passos MJ. Systemic treatment of metastatic conjunctival melanoma. *Case Rep Oncol Med*. 2017;2017:4623964.
41. Kim JM, Weiss S, Sinard JH, Pointdujour-Lim R. Dabrafenib and trametinib for BRAF-mutated conjunctival melanoma. *Ocul Oncol Pathol*. 2020;6:35-38.
42. Kiyohara T, Tanimura H, Miyamoto M, Shijimaya T, Nagano N, Nakamaru S, Makimura K, Iwai H. Two cases of BRAF-mutated, bulbar conjunctival melanoma, and review of the published literature. *Clin Exp Dermatol*. 2020;45:207-211.
43. Sagiv O, Thakar SD, Kandl TJ, Ford J, Sniegowski MC, Hwu WJ, Esmali B. Immunotherapy with programmed cell death 1 inhibitors for 5 patients with conjunctival melanoma. *JAMA Ophthalmol*. 2018;136:1236-1241.
44. Cao J, Brouwer NJ, Richards KE, Marinkovic M, van Duinen S, Hurkmans D, Verdegaaal EME, Jordanova ES, Jager MJ. PD-L1/PD-1 expression and tumor-infiltrating lymphocytes in conjunctival melanoma. *Oncotarget*. 2017;8:54722-54734.
45. Cao J, Brouwer NJ, Jordanova ES, Marinkovic M, van Duinen SG, de Waard NE, Ksander BR, Mulder A, Claas FHJ, Heemskerk MHM, Jager MJ. HLA Class I antigen expression in conjunctival melanoma is not associated with PD-L1/PD-1 status. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018;59:1005-1015.
46. Finger PT, Pavlick AC. Checkpoint inhibition immunotherapy for advanced local and systemic conjunctival melanoma: a clinical case series. *J Immunother Cancer*. 2019;7:83.
47. Cao J, Pontes KC, Heijkants RC, Brouwer NJ, Groenewoud A, Jordanova ES, Marinkovic M, van Duinen S, Teunisse AF, Verdijk RM, Snaar-Jagalska E, Jochemsen AG, Jager MJ. Overexpression of EZH2 in conjunctival melanoma offers a new therapeutic target. *J Pathol*. 2018;245:433-444.
48. Heindl LM, Hofmann-Rummelt C, Adler W, Bosch JJ, Holbach LM, Naumann GO, Kruse FE, Cursiefen C. Tumor-associated lymphangiogenesis in the development of conjunctival melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:7074-7083.
49. Zimmermann P, Dietrich T, Bock F, Horn FK, Hofmann-Rummelt C, Kruse FE, Cursiefen C. Tumour-associated lymphangiogenesis in conjunctival malignant melanoma. *Br J Ophthalmol*. 2009;93:1529-1534.
50. Refaian N, Schlereth SL, Koch KR, Notara M, Hos D, Mescher M, Iden S, Bosch JJ, Jager MJ, Cursiefen C, Heindl LM. Comparing the hem- and lymphangiogenic profile of conjunctival and uveal melanoma cell lines. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56:5691-5697.
51. Populo H, Soares P, Rocha AS, Silva P, Lopes JM. Evaluation of the mTOR pathway in ocular (uvea and conjunctiva) melanoma. *Melanoma Res*. 2010;20:107-117.
52. El Zaoui I, Bucher M, Rimoldi D, Nicolas M, Kaya G, Pescini Gobert R, Bedoni N, Schalenbourg A, Sakina E, Zografos L, Leyvraz S, Riggi N, Rivolta C, Moulin AP. Conjunctival melanoma targeted therapy: MAPK and PI3K/mTOR pathways inhibition. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2019;60:2764-2772.
53. Larsen AC, Dahmcke CM, Dahl C, Siersma VD, Toft PB, Coupland SE, Prause JU, Guldberg P, Heegaard S. A retrospective review of conjunctival melanoma presentation, treatment, and outcome and an investigation of features associated with BRAF mutations. *JAMA Ophthalmol*. 2015;133:1295-1303.
54. Griewank KG, Westekemper H, Murali R, Mach M, Schilling B, Wiesner T, Schimming T, Livingstone E, Sucker A, Grabellus F, Metz C, Süßkind D, Hillen U, Speicher MR, Woodman SE, Steuhl KP, Schadendorf D. Conjunctival melanomas harbor BRAF and NRAS mutations and copy number changes similar to cutaneous and mucosal melanomas. *Clin Cancer Res*. 2013;19:3143-3152.
55. Wallander ML, Layfield LJ, Emerson LL, Mamalis N, Davis D, Tripp SR, Holden JA. KIT mutations in ocular melanoma: frequency and anatomic distribution. *Mod Pathol*. 2011;24:1031-1035.
56. Beadling C, Jacobson-Dunlop E, Hodi FS, Le C, Warrick A, Patterson J, Town A, Harlow A, Cruz F 3rd, Azar S, Rubin BP, Muller S, West R, Heinrich MC, Corless CL. KIT gene mutations and copy number in melanoma subtypes. *Clin Cancer Res*. 2008;14:6821-6828.
57. Alessandrini L, Parrozzani R, Bertorelle R, Valentini E, Candiotto C, Giacomelli L, Midena E, Blandamura S. C-Kit SCF receptor (CD117) expression and KIT gene mutation in conjunctival pigmented lesions. *Acta Ophthalmol*. 2013;91:e641-e645.
58. Scholz SL, Cosgarea I, Süßkind D, Murali R, Möller I, Reis H, Leonardelli S, Schilling B, Schimming T, Hadaschik E, Franklin C, Paschen A, Sucker A, Steuhl KP, Schadendorf D, Westekemper H, Griewank KG. NF1 mutations in conjunctival melanoma. *Br J Cancer*. 2018;118:1243-1247.
59. Swaminathan SS, Field MG, Sant D, Wang G, Galor A, Dubovy SR, Harbour JW, Karp CL. Molecular characteristics of conjunctival melanoma using whole-exome sequencing. *JAMA Ophthalmol*. 2017;135:1434-1437.
60. Keijser S, Missotten GS, Bonfrer JM, de Wolff-Rouendaal D, Jager MJ, de Keizer RJ. Immunophenotypic markers to differentiate between benign and malignant melanocytic lesions. *Br J Ophthalmol*. 2006;90:213-217.
61. Westekemper H, Karimi S, Süßkind D, Anastassiou G, Freistühler M, Steuhl KP, Bornfeld N, Schmid KW, Grabellus F. Expression of HSP 90, PTEN and Bcl-2 in conjunctival melanoma. *Br J Ophthalmol*. 2011;95:853-858.
62. Koopmans AE, Ober K, Dubbink HJ, Paridaens D, Naus NC, Belunek S, Krist B, Post E, Zwarthoff EC, de Klein A, Verdijk RM, Rotterdam Ocular Melanoma Study Group. Prevalence and implications of TERT promoter mutation in uveal and conjunctival melanoma and in benign and premalignant conjunctival melanocytic lesions. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55:6024-6030.
63. Shang Q, Li Y, Wang H, Ge S, Jia R. Altered expression profile of circular RNAs in conjunctival melanoma. *Epigenomics*. 2019;11:787-804.
64. Mikkelsen LH, Andersen MK, Andreasen S, Larsen AC, Tan Q, Toft PB, Wadt K, Heegaard S. Global microRNA profiling of metastatic conjunctival melanoma. *Melanoma Res*. 2019;29:465-473.
65. Larivé E, Nicolas M, Kaya G, Riggi N, Moulin AP. β -catenin expression and activation in conjunctival melanoma. *Dermatopathology (Basel)*. 2019;6:50-62.
66. Kenawy N, Kalirai H, Sacco JJ, Lake SL, Heegaard S, Larsen AC, Finger PT, Milman T, Chin K, Mosci C, Lanza F, Moulin A, Schmitt CA, Caujolle JP, Maschi C, Marinkovic M, Taktak AF, Heimann H, Damato BE, Coupland SE. Conjunctival melanoma copy number alterations and correlation with mutation status, tumor features, and clinical outcome. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2019;32:564-575.