



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

« ΜΕΛΑΝΩΜΑ ΚΑΙ ΑΝΟΣΟΘΕΡΑΠΕΙΑ »

ΒΑΣΙΛΙΚΗ ΛΙΑΝΟΥ

ΙΑΤΡΟΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΤΣΕΖΟΥ ΑΣΠΑΣΙΑ, Καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής Παν/μίου Θεσσαλίας (Επιβλέπουσα)

ΤΡΑΧΑΝΑ ΒΑΡΒΑΡΑ, Επίκουρη Καθηγήτρια Κυτταρικής Βιολογίας Παν/μίου Θεσσαλίας
(Μέλος Τριμελούς Επιτροπής)

ΔΗΜΑΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ, Επίκουρος Καθηγητής Φαρμακολογίας Παν/μίου Θεσσαλίας
(Μέλος Τριμελούς Επιτροπής)

ΛΑΡΙΣΑ, 2018



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»

“IMMUNOTHERAPY IN MELANOMA”

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το μελάνωμα αποτελεί μια από τις πλέον συχνές κακοήθειες παγκοσμίως και γνωρίζει αξιοσημείωτη αύξηση της επίπτωσής του τα τελευταία χρόνια. Πρόκειται μάλιστα για μία νεοπλασία που προσβάλλει συχνά και νεότερες ηλικίες σε αντίθεση με άλλους συμπαγείς όγκους. Το μελάνωμα μεθίσταται εξαιρετικά εύκολα και από την στιγμή που θα εξαπλωθεί η πρόγνωση του πέφτει κατακόρυφα με την θνησιμότητα να ανέρχεται σε υψηλά ποσοστά. Στα πλαίσια αυτά λοιπόν γίνεται εντατική έρευνα στο τομέα της θεραπείας του. Η χειρουργική εξαίρεση της βλάβης αποτελεί τον χρυσό κανόνα στη θεραπεία του, ωστόσο αυτό αφορά τα μελανώματα αρχικών σταδίων. Σε πιο προχωρημένες περιπτώσεις με λεμφαδενικές ή πιο απομακρυσμένες μεταστάσεις η χειρουργική εξαίρεση δεν είναι πάντα εφικτή και ενδεχομένως ούτε επαρκής. Δεδομένου επίσης ότι το μελάνωμα είναι ένας σχετικά ακτινοανθεκτικός όγκος καθώς επίσης και ότι η χημειοθεραπεία δεν έχει δείξει να συμβάλλει ιδιαίτερα στην αύξηση της επιβίωσης, η έρευνα γύρω από τη θεραπεία του επικεντρώνεται πλέον σε νεότερες μεθόδους. Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η διερεύνηση της πρόσφατης βιβλιογραφίας όσον αφορά στην ανοσοθεραπεία στο μελάνωμα. Η εφαρμογή της αποτέλεσε πραγματική επανάσταση στο μελάνωμα. Το μελάνωμα χαρακτηρίζεται από τεράστιο αριθμό μεταλλάξεων και συνιστά έναν από τους πιο ανοσογόνους όγκους, γεγονός που το καθιστά υπόδειγμα για την εφαρμογή της ανοσοθεραπείας. Περιγράφεται ο ρόλος της ιντερφερόνης, της ιντερλευκίνης, των εμβολίων αλλά και της πιο πρόσφατης κυτταρικής ανοσοθεραπείας και των αναστολέων σημείων ελέγχου anti-CTLA-4 και anti-PD-1 και αναδεικνύεται η συμβολή τους στην μακροχρόνια ύφεση της νόσου σε πολλές περιπτώσεις ασθενών με προχωρημένο μελάνωμα που δεν είχαν ανταπόκριση σε άλλες θεραπείες. Παράλληλα οι εξελίξεις που σημειώνονται στο εν λόγω πεδίο δημιουργούν υψηλές προσδοκίες για το μέλλον της ανοσοθεραπείας στο μελάνωμα. Αναφέρονται επίσης και οι πιο πρόσφατες κλινικές δοκιμές στην ανοσοθεραπεία του μελανώματος.

ABSTRACT

Melanoma is one of the most common types of cancer worldwide and its incidence has risen rapidly in the last decades. It is notably common among young people in comparison to other solid tumors which rarely affect young patients. Melanoma metastasizes extremely easily and once this happens its prognosis decreases remarkably and becomes lethal. In this context considerable research is being conducted in the field of melanoma treatment. Surgical excision remains the gold standard, however it is only possible in the first stages of the disease. In advanced melanomas with nodal involvement or distant metastases surgical excision is not always possible or adequate. Furthermore, melanoma appears to be a rather radioresistant tumor while chemotherapy has showed little impact on the survival rates. Therefore, research focuses on new types of treatment. The present work aims to investigate the recent bibliography on melanoma immunotherapy. Immunotherapy has changed dramatically the treatment landscape of melanoma. Melanoma is one of the most highly mutated malignancies and one of the most immunogenic tumors. Because of this, melanoma is considered to be a model cancer for the application of immunotherapy. The roles of interferon, interleukin, cancer vaccines and the recent adoptive cell therapy and immune checkpoint blockade are being described in this work, highlighting their contribution to long lasting responses in patients who had not responded to other kinds of treatment. Alongside, the rapid progress noted in this field makes immunotherapy a very promising pathway in the future of melanoma creating great expectations. The most recent clinical trials concerning the immunotherapy of melanoma are also being mentioned.

Περιεχόμενα

	Σελίδα
Περίληψη	1
Abstract	2
1. Εισαγωγή	5-6
2. Επιδημιολογικά στοιχεία	6-8
3. Παράγοντες κινδύνου	8-11
3.1 Ηλιακή ακτινοβολία	8
3.2 Τεχνητό μαύρισμα (solarium)	8-9
3.3 Τύπος δέρματος	9
3.4 Σπίλοι	9-10
3.5 Ιστορικό μελανώματος	10-11
3.6 Ανοσοκαταστολή	11
4. Χαρακτηριστικά και διάγνωση του μελανώματος	11-14
4.1 Κλινική εξέταση	11-12
4.2 Ιστοπαθολογική εξέταση	13-14
5. Κλινική και ιστολογική κατάταξη του μελανώματος	14-16
6. Σταδιοποίηση του μελανώματος	16-18
7. Γενετική και επιγενετική στο μελάνωμα	18-29
8. Θεραπεία κακοήθους μελανώματος	29-37
8.1 Χειρουργική αντιμετώπιση	29-30
8.2 Ακτινοθεραπεία	30-31
8.3 Χημειοθεραπεία	31-33

8.4 Στοχεύουσα θεραπεία	33-37
8.4.1 Αναστολείς BRAF	33-35
8.4.2 Αναστολείς MEK	35-36
8.4.3 Συνδυασμός BRAF και MEK αναστολέων	36-37
9.Ανοσοθεραπεία	37-45
9.1 Ανοσοθεραπεία του καρκίνου	37-39
9.2 Ανοσιακό σύστημα και βιολογία μελανώματος	39-42
9.3 Ανοσολογική απάντηση στο μελάνωμα	42-44
9.4 Ανοσοδιαφυγή του μελανώματος	44-45
10. Ανοσοθεραπεία στο μελάνωμα	45-64
10.1 Ιντερφερόνη-α	45-46
10.2 Πεγκυλιωμένη ιντερφερόνη α-2b	47
10.3 Ιντερλευκίνη -2	47-48
10.4 Βιοχημειοθεραπεία	48
10.5 Εμβόλια κατά του καρκίνου	48-51
10.6 Κυτταρική ανοσοθεραπεία (Adoptive cell therapy-ACT)	51-53
10.7 Αναστολείς σημείων ελέγχου	53-63
10.8 Μελλοντικές ανοσοθεραπείες	63-64
11 Συμπεράσματα	65
12 Βιβλιογραφία	66-71

1.Εισαγωγή

Το δέρμα αποτελεί το μεγαλύτερο όργανο του ανθρώπινου σώματος. Πρόκειται για ελαστικό περίβλημα που προστατεύει τον οργανισμό από τις βλαπτικές επιδράσεις του περιβάλλοντος. Αποτελεί φραγμό που εμποδίζει την είσοδο ξένων ουσιών , προστατεύει από την ηλιακή ακτινοβολία , τους τραυματισμούς, ενώ έχει και θερμορρυθμιστική δράση. Παράλληλα, αποτελεί αισθητήριο όργανο ενώ συμμετέχει ενεργά και στο ανοσοποιητικό σύστημα του οργανισμού.

Το δέρμα αποτελείται από την επιδερμίδα, το χόριο και τον υποδόριο ιστό. Έχει εξαρτήματα όπως οι τρίχες, τα νύχια, οι ιδρωτοποιοί και σμηγματογόνοι αδένες καθώς επίσης διαθέτει αγγείωση και νεύρωση.¹

Η επιδερμίδα αποτελείται από τις εξής 4 στιβάδες: βασική, ακανθωτή, κοκκώδης, κερατίνη. Το 95% της επιδερμίδας το αποτελούν τα κερατινοκύτταρα, ενώ άλλοι κυτταρικοί πληθυσμοί που απαντώνται σε αυτή είναι τα μελανοκύτταρα, τα κύτταρα του Langerhans και τα κύτταρα του Merkel.

Το χόριο αποτελείται από το θηλώδες χόριο που βρίσκεται σε επαφή με την επιδερμίδα και το δικτυωτό χόριο που μεταπίπτει στον υποδόριο ιστό. Αποτελείται κατά βάση από συνδετικό ιστό, κολλαγόνες και ελαστικές ίνες και θεμέλιο ουσία. Όσον αφορά τους υπόλοιπους κυτταρικούς πληθυσμούς που το απαρτίζουν, πρόκειται για μαστοκύτταρα και μακροφάγα.

Ο υποδόριος ιστός αποτελείται από λιπώδη ιστό που διαμορφώνεται σε λόβια μέσω των προσεκβολών του χορίου.¹

Το μελάνωμα είναι νεοπλασία που προέρχεται από τον ανώμαλο πολλαπλασιασμό των μελανοκυττάρων. Τα μελανοκύτταρα προέρχονται από τους μελανοβλάστες οι οποίοι δημιουργούνται κατά την εμβρυογένεση από το εξώδερμα. Η πορεία των κυττάρων του εξωδέρματος σε κύτταρα της επιδερμίδας βασίζεται στην Wnt σηματοδότηση. Επί απουσίας αυτής τα κύτταρα του εξωδέρματος δεσμεύονται να εξελιχθούν σε νευρικά κύτταρα. Εκτός της Wnt σηματοδότησης , πολλά γονίδια εμπλέκονται στην εξέλιξη των μελανοκυττάρων: το γονίδιο MITF του οποίου η έκφραση προάγεται από τα SOX10 , PAX3 και β-κατενίνη, το γονίδιο SLUG, το

γονίδιο KIT και οι ενδοθηλίνες.^{2 34 5}

Οι μελανοβλάστες μεταναστεύουν από την νευρική ακρολοφία κατά βάση στην βασική στιβάδα της επιδερμίδας και σε μικρότερο βαθμό στον οφθαλμό, τις μήνιγγες και άλλους ιστούς. Τα ακολούθως σχηματιζόμενα μελανοκύτταρα είναι δενδριτικά κύτταρα που παράγουν την χρωστική μελανίνη και μέσω των δενδριτών τους την μεταφέρουν στα παρακείμενα κερατινοκύτταρα. Η μελανίνη απορροφά την επικίνδυνη υπεριώδη ακτινοβολία και προστατεύει από τις βλαπτικές επιδράσεις της. Οι νεοπλασίες των μελανοκυττάρων μπορούν να δημιουργηθούν οπουδήποτε υπάρχουν μελανοκύτταρα, η συντριπτική πλειοψηφία τους όμως ανευρίσκεται στην επιδερμίδα με το κακόηθες μελάνωμα του δέρματος να αποτελεί περισσότερο από το 90% των περιπτώσεων.^{6 7 8 9}

2.Επιδημιολογικά στοιχεία

Το μελάνωμα είναι μια συχνή νεοπλασία η επίπτωση της οποίας βρίσκεται σε συνεχή αύξηση με την θνησιμότητά της να παραμένει υψηλή παρά τις προσπάθειες για προσυμπτωματικούς ελέγχους. Παρότι το μελάνωμα αντιστοιχεί σε λιγότερο από το 5% όλων των κακοηθειών του δέρματος, συνοδεύεται όμως από την μεγαλύτερη θνησιμότητα.¹⁰

Η παγκόσμια επίπτωση του μελανώματος υπολογίζεται περί τα 3 ανά 100.000 άτομα. Το μελάνωμα προσβάλλει κυρίως την λευκή φυλή και λιγότερο την μαύρη και την κίτρινη. Ιστορικά το μελάνωμα αποτελούσε μια σπάνια κακοήθεια, αλλά τα τελευταία 50 έτη η επίπτωσή του αυξήθηκε δραματικά με ρυθμό γρηγορότερο από σχεδόν οποιαδήποτε άλλη κακοήθεια. Ενδεικτικό της ραγδαίας αύξησης της επίπτωσής του είναι ότι το 2005 αναφέρθηκαν περίπου 225.000 νέα περιστατικά παγκοσμίως, ενώ το 2015 ο αριθμός αυτός ανήλθε στα 352.000 συνιστώντας μια αύξηση της τάξης του 56%. Η μεγαλύτερη επίπτωση του μελανώματος παρατηρείται στην Αυστραλία και την Νέα Ζηλανδία, ενώ στην Ασία παρατηρούνται τα χαμηλότερα ποσοστά. Στις ΗΠΑ η επίπτωση του μελανώματος έχει υπερδιπλασιαστεί τα τελευταία 20 χρόνια με την χώρα να κατέχει την 4^η θέση παγκοσμίως. Όσον αφορά την Ευρώπη οι πληθυσμοί της βόρειας Ευρώπης συγκαταλέγονται επίσης σε αυτούς με την δραματική αύξηση στην επίπτωση του μελανώματος. Αξίζει να σημειωθεί πως το

μελάνωμα στις Σκανδιναβικές χώρες είναι 3 έως 6 φορές συχνότερο σε σχέση με τις νότιες χώρες της Ευρώπης όπως η Ιταλία και η Ισπανία. Στην Ελλάδα όπως και στις υπόλοιπες μεσογειακές χώρες τα ποσοστά που απαντώνται είναι πιο χαμηλά της τάξης των περίπου 5 περιστατικών ανά 100.000 κατοίκους.^{69 10 11}

Όσον αφορά στην αύξηση της επίπτωσης του μελανώματος ορισμένοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι ενδεχομένως να οφείλεται σε αύξηση της διάγνωσης του, λόγω πιο συστηματικού screening και συχνότερων βιοψιών. Αυτό υποστηρίζεται εν μέρει από το γεγονός ότι η αύξηση στην επίπτωσή του δεν συνοδεύτηκε πάντα από αντίστοιχη αύξηση σε ποσοστά θνησιμότητας και σε μεγάλο ποσοστό η διάγνωση αφορούσε in situ μελανώματα. Σε αντιδιαστολή με αυτήν την κατηγορία ερευνητών βρίσκεται εκείνη που υποστηρίζει ότι η δραματική αύξηση στην επίπτωση του μελανώματος δεν μπορεί να αποδοθεί αποκλειστικά στην πιο ενδελεχή διαλογή και τις συχνότερες βιοψίες. Παράδειγμα προς αυτή την κατεύθυνση είναι ότι στις ΗΠΑ η αύξηση του μελανώματος παρατηρήθηκε σε όλα τα κοινωνικοοικονομικά στρώματα, γεγονός που υποδεικνύει ότι ήταν ανεξάρτητη από το screening καθώς η ιατροφαρμακευτική πρόσβαση ήταν ποικίλη στις διάφορες αυτές τάξεις. Σε άλλες έρευνες επίσης έχει φανεί ότι η αύξηση της επίπτωσης δεν αφορούσε μόνο τα in situ μελανώματα αλλά και άλλες κατηγορίες αυτού καθώς επίσης και πιο προχωρημένα στάδια στην εξέλιξη του. Επομένως μπορεί η μεγαλύτερη πλέον ικανότητα διάγνωσης του μελανώματος να συμβάλλει στην αύξηση των ποσοστών του, υπάρχει όντως όμως μια πραγματική και σημαντική αύξηση στην επίπτωση του παγκοσμίως.¹²

Το μελάνωμα μπορεί να εμφανιστεί σε κάθε ηλικία με την μέση ηλικία εμφάνισης του να είναι η 6^η δεκαετία της ζωής. Πρόκειται δηλαδή για μικρότερη μέση ηλικία εμφάνισης σε σχέση με άλλους συμπαγείς όγκους όπου κατά μέσο όρο είναι τα 65 έτη. Αξίζει να σημειωθεί ότι το μελάνωμα είναι μια από τις πιο συχνές κακοήθειες που διαγιγνώσκονται σε εφήβους και νεαρούς ενήλικες. Στις ΗΠΑ είναι η δεύτερη συχνότερη νεοπλασία σε γυναίκες μεταξύ 20 και 29 ετών.^{610 1314}

Όσον αφορά στο φύλο σε γενικές γραμμές η επίπτωση είναι μεγαλύτερη στους άνδρες. Λαμβάνοντας βέβαια υπόψιν την ηλικία, οι νεαρές γυναίκες είναι πιο επιρρεπείς από τους άνδρες της ίδιας ηλικίας κάτι το οποίο αντιστρέφεται μετά την ηλικία των 40. Το φύλο φαίνεται να επηρεάζει και την εντόπιση του μελανώματος.

Έτσι στους άνδρες η συχνότερη εντόπιση είναι η ράχη και οι ώμοι, ενώ στις γυναίκες τα κάτω άκρα.¹⁰

Όσον αφορά στη θνησιμότητα, το μελάνωμα αποτελεί την πιο θανατηφόρα νεοπλασία του δέρματος. Πρόκειται για έναν όγκο που μεθίσταται εξαιρετικά εύκολα με αποτέλεσμα πολλές φορές κατά την διάγνωση να υπάρχουν ήδη μεταστάσεις και η πρόγνωση να είναι φτωχή. Στις υψηλού κινδύνου περιοχές όπως η Νέα Ζηλανδία, η Αυστραλία, η βόρεια Αμερική και η Σκανδιναβία τα ποσοστά θνησιμότητας αυξήθηκαν σημαντικά μέχρι την δεκαετία του 1980 φτάνοντας στο αποκορύφωμα την διετία 1988-1990 και έκτοτε σταδιακά διατήρησαν μια μικρή αύξηση.^{10 13}

3. Παράγοντες κινδύνου

Στους παράγοντες κινδύνου συγκαταλέγονται τόσο περιβαλλοντικοί παράγοντες όσο και γενετικοί καθώς και συνδυασμός αυτών¹⁰

3.1 Ηλιακή ακτινοβολία

Η έκθεση στην υπεριώδη ηλιακή ακτινοβολία (UVA-UVB) είναι ένας από τους παράγοντες που έχουν κατεξοχήν ενοχοποιηθεί για την εμφάνιση του μελανώματος. Η UVA ακτινοβολία φθάνει στις βαθύτερες στιβάδες του δέρματος και ευθύνεται για την φωτογήρανση, ενώ η UVB είναι το πιο καρκινογόνο τμήμα της υπεριώδους ακτινοβολίας και αυτή στην οποία οφείλονται τα ηλιακά εγκαύματα. Το είδος της έκθεσης στην ηλιακή ακτινοβολία είναι μείζονος σημασίας για τον κίνδυνο μελανώματος. Η διαλείπουσα έκθεση σε υψηλής έντασης υπεριώδη ακτινοβολία, συνήθως για λόγους αναψυχής είναι η πιο επικίνδυνη για την ανάπτυξη μελανώματος, σε αντίθεση με άλλες νεοπλασίες του δέρματος που σχετίζονται με χρόνια έκθεση στον ήλιο. Έχει επίσης αποδειχθεί ότι το ιστορικό ηλιακών εγκαυμάτων αυξάνει τον κίνδυνο μελανώματος, ιδίως όταν πρόκειται για ηλιακά εγκαύματα στην παιδική ηλικία που συνοδεύονται από φυσαλίδες. Στην περίπτωση αυτή ο κίνδυνος ανάπτυξης της εν λόγω κακοήθειας διπλασιάζεται.^{10 11 15 16}

3.2 Τεχνητό μαύρισμα (solarium)

Η τεχνητή ακτινοβολία UV με στόχο το μαύρισμα έχει συσχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης μελανώματος. Μεγαλύτερη είναι μάλιστα η συσχέτιση όταν η ηλικία έκθεσης σε αυτή είναι μικρότερη των 30. Ενδεικτικά, η ποσότητα της UVA

ακτινοβολίας κατά την διάρκεια μιας συνεδρίας τεχνητού μαυρίσματος είναι σημαντικά μεγαλύτερη από αυτή που λαμβάνει κανείς από την καθημερινή δραστηριότητα σε εξωτερικούς χώρους ακόμη και από αυτή που δέχεται κατά την ηλιοθεραπεία.^{6 17}

Η UVA φωτοθεραπεία και το ψωραλένιο που χρησιμοποιούνται για την θεραπεία της ψωρίασης και άλλων δερματικών παθήσεων επίσης βρέθηκε ότι αυξάνει τον κίνδυνο για μελάνωμα.¹¹

3.3 Τύπος δέρματος

Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά όπως είναι το ανοιχτό χρώμα δέρματος, τα ξανθά ή κόκκινα μαλλιά, το ανοιχτό χρώμα των οφθαλμών και η παρουσία εφηλίδων συνδέονται επίσης με προδιάθεση για ανάπτυξη μελανώματος.^{1 10}

3.4 Σπίλοι

Οι περισσότεροι σπίλοι αποτελούν καλοήθεις βλάβες που δεν θα μετατραπούν ποτέ σε καρκίνο. Ωστόσο, ο μεγάλος αριθμός σπίλων, οι συγγενείς σπίλοι και οι άτυποι σπίλοι ενέχουν τον κίνδυνο εξέλιξης σε καρκίνο.^{1 18}

Πιο συγκεκριμένα, αν ο αριθμός των σπίλων ξεπερνά τους 100, τότε ο κίνδυνος μετατροπής σε νεόπλασμα σύμφωνα με μια πρόσφατη μετανάλυση επταπλασιάζεται.¹¹

Οι συγγενείς σπίλοι σχετίζονται επίσης με μεγαλύτερο κίνδυνο για μελάνωμα. Συνήθως είναι μεγαλύτεροι του 1,5 εκατοστού και είναι δυνατό να υπερβούν τα 20 εκατοστά οπότε και καλούνται γιγάντιοι σπίλοι. Μάλιστα όσο μεγαλύτερος είναι ο συγγενής σπίλος τόσο μεγαλύτερος και ο κίνδυνος κακοήθους εξαλλαγής. Τα άτομα με μεγάλους συγγενείς σπίλους (>5 εκ) πρέπει να παρακολουθούνται τακτικά και ενδεχομένως να χρειαστεί και προληπτική αφαίρεσή τους.^{1 11}

Οι άτυποι (ή δυσπλαστικοί) σπίλοι ιστολογικά χαρακτηρίζονται από αρχιτεκτονική διαταραχή και ατυπία των μελανοκυττάρων. Κλινικά παρουσιάζουν ασυμμετρία στο σχήμα, ανώμαλη περιφέρεια, ποικιλοχρωμία και δυναμική εξέλιξη σε ό, τι αφορά το σχήμα, το χρώμα ή το μέγεθος. Συνήθως είναι μεγαλύτεροι από 5 εκατοστά και εντοπίζονται συχνότερα στον κορμό. Δεν είναι απαραίτητο να συνυπάρχουν όλα αυτά τα χαρακτηριστικά για να χαρακτηριστεί άτυπος ένας σπίλος. Η παρουσία

ακόμη και ενός μόνο άτυπου σπίλου ελλοχεύει τον κίνδυνο μελανώματος, ενώ αν αυτοί φθάσουν τους πέντε σε αριθμό ο κίνδυνος εξαπλασιάζεται.^{1 11 18}

3.5 Ιστορικό μελανώματος

Το ατομικό ιστορικό μελανώματος αυξάνει τον κίνδυνο υποτροπής ή εμφάνισης νέου πρωτοπαθούς μελανώματος με άλλη εντόπιση.

Το οικογενειακό ιστορικό μελανώματος συνιστά ένα ακόμη παράγοντα κινδύνου. Ο κίνδυνος μάλιστα είναι μεγαλύτερος αν πρόκειται για συγγενή πρώτου βαθμού.

Είναι γνωστές επίσης και κάποιες γονιδιακές μεταλλάξεις οι οποίες ευθύνονται για αυξημένη πιθανότητα ανάπτυξης μελανώματος στα πλαίσια γενετικών συνδρόμων που προκαλούν. Πιο συγκεκριμένα το σύνδρομο FAMMM(familial atypical multiple moles and melanoma)(ή αλλιώς σύνδρομο δυσπλαστικού σπίλου) οφείλεται σε μεταλλάξεις στο γονίδιο CDKN2A στους γαμέτες και κληρονομείται με αυτοσωμικό επικρατή τύπο αλλά χαρακτηρίζεται από ατελή διεισδυτικότητα. Το γονίδιο CDKN2A εδράζεται στο χρωμόσωμα 9p21. Στο σύνδρομο αυτό παρατηρείται μεγάλος αριθμός μελανοκυτταρικών σπλών (>100), ένας ή περισσότεροι σπίλοι με μέγιστη διάμετρο μεγαλύτερη από 8 εκατοστά και ένας ή περισσότεροι άτυποι σπίλοι. Η υποψία τίθεται όταν τουλάχιστον δύο πρώτου βαθμού συγγενείς εμφανίζουν μελάνωμα σε συνδυασμό με πολλαπλούς δυσπλαστικούς σπίλους. Συνήθως σε αυτούς τους ασθενείς το μελάνωμα παρουσιάζεται σε νεαρότερη από τον μέσο όρο ηλικία. Μεταλλάξεις του CDKN2A σχετίζονται και με παγκρεατικό καρκίνο, επομένως οι ασθενείς αυτοί θα πρέπει να ελέγχονται και για άλλες κακοήθειες.^{1 10 11 19}

Η μελαγχρωματική ξηροδερμία (xeroderma pigmentosum) είναι μια σπάνια κληρονομική κατά τον αυτοσωματικό υπολειπόμενο τρόπο νόσος, στην οποία ανεπαρκούν οι μηχανισμοί επιδιόρθωσης του DNA που επιδιορθώνουν βλάβες που οφείλονται στην υπεριώδη ακτινοβολία. Στα άτομα αυτά η πιθανότητα ανάπτυξης μελανώματος είναι έως και 1000 φορές μεγαλύτερη από αυτή του γενικού πληθυσμού.^{10 11}

Αυξημένη πιθανότητα ανάπτυξης μελανώματος παρουσιάζουν και ασθενείς με κληρονομούμενα καρκινικά σύνδρομα όπως το σύνδρομο Li-Fraumeni, το σύνδρομο Lynch τύπου 2, το οικογενές ρετινοβλάστωμα. Επιπρόσθετα, οι μεταλλάξεις του γονιδίου BRCA2 οι οποίες όπως είναι ευρέως γνωστό, σχετίζονται κυρίως με τον

κληρονομούμενο καρκίνο του μαστού και ωοθηκών, σχεδόν τριπλασιάζουν τον κίνδυνο για ανάπτυξη μελανώματος. Και σε αυτήν την περίπτωση οι μεταλλάξεις οδηγούν σε βλάβη στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA.^{10 11 20}

3.6 Ανοσοκαταστολή

Η χρόνια ανοσοκαταστολή αποτελεί έναν ακόμη παράγοντα κινδύνου για το μελάνωμα. Η ανοσοκαταστολή μπορεί να οφείλεται σε μια ήδη προϋπάρχουσα νεοπλασία. Αξίζει να σημειωθεί πως περίπου 5% των ασθενών με ιστορικό μελανώματος θα διαγνωσθούν με ένα δεύτερο μελάνωμα, ενώ ασθενείς με καρκίνο του δέρματος διαφορετικό από το μελάνωμα κινδυνεύουν με τετραπλάσιο σχετικό κίνδυνο ανάπτυξης μελανώματος. Άλλα αίτια ανοσοκαταστολής που αυξάνουν τον κίνδυνο μελανώματος είναι το AIDS και η μεταμόσχευση οργάνων.^{10 21}

4. Χαρακτηριστικά και διάγνωση του μελανώματος

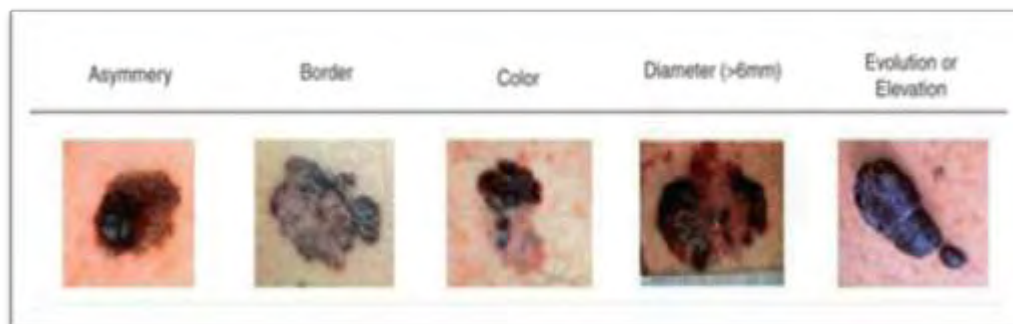
Η έγκαιρη διάγνωση του μελανώματος είναι ζωτικής σημασίας για την μείωση της θνησιμότητας των πασχόντων. Η πρόγνωσή του είναι ανάλογη του βάθους της βλάβης το οποίο με την σειρά του αυξάνεται με τον χρόνο. Δεδομένης της δερματικής του εντόπισης, το μελάνωμα είναι μια κακοήθεια που είναι εφικτό να διαγνωσθεί έγκαιρα συγκριτικά με άλλα νεοπλάσματα. Συνήθως διαγιγνώσκεται όταν ένας ύποπτος σπίλος γίνεται αντιληπτός από τον ίδιο τον ασθενή ή τον γιατρό.

4.1 Κλινική εξέταση

Μία μελαγχρωματική βλάβη η οποία μεταβάλλεται σχετικά γρήγορα και δεν έχει τα τυπικά χαρακτηριστικά των κοινών σπύλων εγείρει υποψίες. Για διευκόλυνση στην έγκαιρη διάγνωση περιγράφηκε το 1985 ο μνημοτεχνικός κανόνας ABCD, όπου τα γράμματα αντιστοιχούν στα αρχικά των λέξεων asymmetry, border irregularity, color variegation, diameter.

A= ασυμμετρία	Τα ημιμόρια της βλάβης διαφέρουν μεταξύ τους
B=ακανόνιστα όρια	Το περίγραμμα της βλάβης είναι ανώμαλο ή ασαφές
C=διαφορά στο χρώμα	Η βλάβη παρουσιάζει ποικιλία χρωμάτων
D=διάμετρος	Η διάμετρος της βλάβης είναι μεγαλύτερη από 6mm

Αργότερα προστέθηκε στο ακρωνύμιο το γράμμα E που αντιστοιχεί στην λέξη *enolving* δηλαδή τονίζει την σημασία της εξέλιξης της βλάβης, της μεταβολής της δηλαδή με τον χρόνο. Ο ABCD(E) κανόνας δημιουργήθηκε με σκοπό να κάνει πιο εύκολο τον εντοπισμό ύποπτων βλαβών για τους μη γιατρούς ή για γιατρούς μη δερματολόγους.¹



Εικόνα 1. Σύστημα ABCD(E) για την διάγνωση του μελανώματος Natalie H. Matthews et al (2017)

Υπάρχει επίσης η λίστα 7 σημείων της Γλασκώβης με 3 μείζονα χαρακτηριστικά (αλλαγή μεγέθους, σχήματος, χροιάς) και 4 ελάσσονα χαρακτηριστικά (διάμετρος μεγαλύτερη των 6 mm, φλεγμονή, ορόρροια ή αιμορραγία, ήπιος κνησμός ή αλλοίωση αισθητικότητας).¹

Ένα άλλο παράδειγμα είναι το σημείο του “ασχημόπαπου” (“ugly duckling” sign) που τονίζει την σημασία του να είναι μια βλάβη διαφορετική από τις γειτονικές της.¹¹

Προκειμένου να γίνει η διάγνωση του μελανώματος, εκτός από την επισκόπηση της ύποπτης βλάβης αυτής καθεαυτής, εξετάζεται και το υπόλοιπο δέρμα καθώς επίσης γίνεται και ψηλάφηση λεμφαδένων ανάλογα και με την θέση που εντοπίζεται η βλάβη. Απαιτείται επίσης ένα πολύ καλό ιστορικό του ασθενούς προς αναζήτηση παραγόντων κινδύνου και αν αυτό κρίνεται απαραίτητο διερεύνηση συμπτωμάτων που να υποδηλώνουν τυχόν μετάσταση όπως για παράδειγμα αλλαγές στην όραση, δύσπνοια, κεφαλαλγίες ή συστηματικά συμπτώματα κ.α.^{10 11}

Διαγνωστική βοήθεια στον ιατρό παρέχει και η δερματοσκόπηση. Πρόκειται για μια μη επεμβατική εξέταση που γίνεται με την χρήση μιας μικρής συσκευής που ονομάζεται δερματοσκόπιο η οποία φωτίζει και μεγεθύνει τις δερματικές βλάβες για μια πιο λεπτομερή εξέταση αποκαλύπτοντας στοιχεία μη ορατά με γυμνό οφθαλμό. Είναι σημαντικό βέβαια ο ιατρός που την εφαρμόζει να έχει εμπειρία και εξειδίκευση στην χρήση της εν λόγω τεχνικής.¹¹

4.2 Ιστοπαθολογική εξέταση

Η βιοψία και ο ιστολογικός έλεγχος αποτελούν τον χρυσό κανόνα για την επιβεβαίωση της διάγνωσης του μελανώματος. Κάθε ύποπτη βλάβη θα πρέπει να αφαιρείται σε υγιή όρια και να αποστέλλεται στον παθολογοανατόμο για ιστολογική εξέταση. Τα βασικά ιστολογικά χαρακτηριστικά του μελανώματος είναι τα εξής ¹:

A) κακοήθη μελανοκύτταρα στην επιδερμίδα που καλύπτει την βλάβη αλλά και σε αυτή στα πλάγια της βλάβης

B) άτυπα και άωρα μελανοκύτταρα στο χόριο με απουσία τάσης ωρίμανσης

Γ) άτυπες μιτώσεις των μελανοκυττάρων

Δ) παρουσία λεμφοκυτταρικής διήθησης στη βάση της βλάβης

E) εμφανής παρουσία νεόπλαστων αγγείων

Ιστολογικά προγνωστικά χαρακτηριστικά του μελανώματος είναι τα ακόλουθα ¹:

A) το πάχος του όγκου (πάχος κατά Breslow) : η επιβίωση μειώνεται με την αύξηση του δείκτη Breslow. Η μέτρηση γίνεται με προσοφθάλμιο μικρόμετρο στο μικροσκόπιο σε τομή από το φαινομενικά παχύτερο σημείο της βλάβης και υπολογίζεται από την υπερκείμενη κοκκώδη στιβάδα μέχρι τα βαθύτερα ευρισκόμενα κύτταρα του μελανώματος. Μετράται σε χιλιοστά (mm) Οι κατηγορίες που προκύπτουν είναι 4 (<1mm, 1-2 mm, 2-4 mm, >4mm).

B) το βάθος διήθησης του πρωτογενούς μελανώματος στους ιστούς (επίπεδα κατά Clark): στο επίπεδο 1 τα κύτταρα του μελανώματος περιορίζονται στην επιδερμίδα και τα εξαρτήματά της (in situ), στο επίπεδο 2 υπάρχει επέκταση στην θηλώδη μοίρα του χορίου (μικροδιηθητικό), στο επίπεδο 3 υπάρχει κατάληψη όλης της θηλώδους μοίρας από τα καρκινικά κύτταρα και επέκταση μέχρι το δικτυωτό χόριο χωρίς όμως διήθηση αυτού, στο επίπεδο 4 διηθείται και το δικτυωτό χόριο και στο επίπεδο 5 η καρκινική διήθηση φθάνει μέχρι το υποδόριο λίπος ή και στους υποκείμενους ιστούς. Κάθε επίπεδο κατά Clark συσχετίζεται με μια αντίστοιχη πρόγνωση η οποία ελαττώνεται με την αύξηση του επιπέδου.

Γ) παρουσία έλκωσης, έστω και μικροσκοπικής. Η ύπαρξή της είναι κακό προγνωστικό σημείο.

Δ)μιτωτική δραστηριότητα : υπολογίζεται ο αριθμός των μιτώσεων ανά τετραγωνικό χιλιοστό. Αυξημένος αριθμός μιτώσεων σχετίζεται με φτωχότερη πρόγνωση.

Ε)διήθηση των αγγείων : είναι κακό προγνωστικό σημάδι, καθώς υποδεικνύει υψηλή πιθανότητα να έχουν δημιουργηθεί μεταστάσεις σε λεμφαδένες ή και σε άλλα όργανα.

Στ)λεμφοκυτταρική διήθηση : η ύπαρξη λεμφοκυττάρων στον όγκο είναι ενδεικτική έντονης ανοσολογικής απάντησης του οργανισμού ενάντια στον όγκο. Η έντονη ανοσολογική απάντηση κατά του όγκου θεωρείται σημείο καλύτερης πρόγνωσης.

5.Κλινική και ιστολογική κατάταξη του μελανώματος

Το κακόηθες μελάνωμα κατατάσσεται σε 4 κύριες κατηγορίες με βάση κλινικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά. Ωστόσο , δεδομένης της μεγάλης ποικιλομορφίας του, υπάρχουν βλάβες που δεν μπορούν να καταταχθούν απόλυτα σε καμία από τις 4 κατηγορίες. Ακολουθούν οι 4 βασικοί υπότυποι του μελανώματος ^{1 6 10 11}:

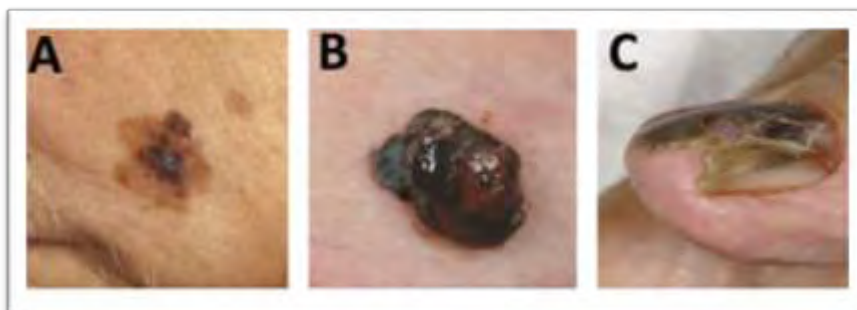
Α) Επιπολής επεκτεινόμενο μελάνωμα (superficial spreading melanoma) : πρόκειται για τον πιο συχνό υπότυπο (σχεδόν 70% όλων των περιστατικών μελανώματος). Μπορεί να αναπτυχθεί de novo ή επί προϋπάρχοντος σπίλου. Εμφανίζεται σαν μια επίπεδη ή ελαφρώς επηρμένη βλάβη με ποικιλοχρωμία και απαντάται σε σχετικά νεότερους ασθενείς (4^η ή 5^η δεκαετία της ζωής). Σε προχωρημένο στάδιο μπορεί να παρατηρηθούν οζίδια πάνω στην βλάβη, αιμορραγία ή ορόρροια.

Β) Οζώδες μελάνωμα (nodular melanoma) : το οζώδες μελάνωμα αντιστοιχεί στο 5% περίπου των περιστατικών μελανώματος. Εντοπίζεται συχνότερα στον κορμό και συνήθως εμφανίζεται περί την 5^η-6^η δεκαετία της ζωής. Πρόκειται για επηρμένο, ημισφαιρικό ογκίδιο με χροιά ερυθρωπή, φαιά, μελαγχρωματική ή και αχρωμική. Πολλές φορές υπάρχει εξέλκωση της βλάβης και αιμορραγία. Η πρόγνωση του είναι χειρότερη από αυτή του επιφανειακώς επεκτεινόμενου.

Γ) Μελάνωμα τύπου κακοήθους φακής (lentigo maligna melanoma) :η μορφή αυτή συνιστά το 4-15% του συνόλου των μελανωμάτων και προσβάλλει συνηθέστερα ηλικιωμένα άτομα με χρόνια, συνεχή έκθεση στον ήλιο. Η πιο κοινή εντόπισή του είναι το πρόσωπο, ενώ περιστασιακά μπορεί να εμφανιστεί στις κνήμες και τα αντιβράχια. Τυπικά παρουσιάζεται σαν μια κηλίδα ή πλάκα χρώματος φαιού έως

μαύρου με ανώμαλη περιφέρεια που μεγεθύνεται περιφερικά σιγά σιγά. Όταν παρουσιαστεί επηρμένο ογκίδιο στο κέντρο της βλάβης σημαίνει την μετάβαση στην κάθετη φάση ανάπτυξης. Η εξέλιξη αυτή σε διηθητικό καρκίνωμα συμβαίνει σε ένα ποσοστό περίπου 5% στο οποίο πλέον ο όγκος αναπτύσσεται ταχέως.

Δ) Φακοειδές μελάνωμα των άκρων (acral lentiginous melanoma): αυτή η μορφή αντιστοιχεί στο 5% περίπου των περιστατικών μελανώματος. Ενώ πρόκειται για μια σπάνια κακοήθεια της λευκής φυλής, είναι η πιο συχνή μορφή μελανώματος στην κίτρινη και μαύρη φυλή. Αναπτύσσεται στις παλάμες, στα πέλματα καθώς και υπωνύχια. Στις παλάμες και στα πέλματα εμφανίζεται σαν μελαγχρωματική πλάκα με ανώμαλη περιφέρεια γύρω από ένα επηρμένο κέντρο.



Εικόνα 2. Α) Επιφανειακώς επεκτεινόμενο μελάνωμα Β) Οζώδες μελάνωμα C) Φακοειδές μελάνωμα των άκρων Hassan Sadozai, et al. Front Immunol. 2017;8:1617.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω αυτές είναι οι 4 βασικές κατηγορίες κατάταξης του μελανώματος. Τα τελευταία χρόνια έχουν εμφανιστεί όμως καινούριες μορφές που δεν κατατάσσονται σε κάποια από αυτές τις κατηγορίες, όπως είναι το δεσμοπλαστικό μελάνωμα, το αμελανωτικό, το πολυποειδές, το βλεννογόνιο, το μυξοειδές, το μελάνωμα με κύτταρα δίκην σφραγιστήρα κ.α. Στην συνέχεια θα περιγραφούν τα συχνότερα από αυτά δηλαδή το δεσμοπλαστικό και το αμελανωτικό.

1622

Δεσμοπλαστικό μελάνωμα (desmoplastic melanoma): αποτελεί ένα ποσοστό της τάξης του 4% στο σύνολο των μελανωμάτων και προσβάλλει κυρίως ηλικιωμένους στην κεφαλή και στο πρόσωπο. Παρουσιάζει συχνά διήθηση στα νεύρα και χαρακτηρίζεται από έντονα διηθητικό τρόπο ανάπτυξης. Έχει μεγάλη πιθανότητα τοπικής επανεμφάνισης, σπάνια μεθίσταται όμως σε λεμφαδένες.⁶²²

Αμελανωτικό μελάνωμα (amelanotic melanoma) : στην μορφή αυτή του μελανώματος η μελανίνη σπανίζει ή απουσιάζει πλήρως από τα κύτταρα του όγκου

δεικνύοντας φτωχή διαφοροποίηση. Εμφανίζεται ως οζώδης, πολυποειδής βλάβη με εξέλκωση, άχρωμη ή ελαφρώς ερυθρή χωρίς ιδιαίτερα χαρακτηριστικά. Η διάγνωση τυπικά καθυστερεί να τεθεί και η πρόγνωση είναι κακή.^{6 22}

6. Σταδιοποίηση του μελανώματος

Η σταδιοποίηση του μελανώματος γίνεται με σκοπό την αξιολόγηση της επέκτασής του και την πρόγνωση του ασθενούς με στόχο την λήψη των κατάλληλων θεραπευτικών αποφάσεων. Τυπικά χρησιμοποιείται το σύστημα TNM συνδυάζοντας τα αποτελέσματα της κλινικής εξέτασης, της ιστοπαθολογικής εξέτασης και του απεικονιστικού ελέγχου. Ο απεικονιστικός έλεγχος γίνεται όταν υπάρχουν ενδείξεις ότι τα καρκινικά κύτταρα έχουν επεκταθεί πέραν του σημείου της αρχικής ανάπτυξης του όγκου. Το σύστημα TNM βασίζεται στα χαρακτηριστικά του όγκου (T), στην παρουσία και το μέγεθος των μεταστάσεων σε λεμφαδένες (N) και στην παρουσία και τις θέσεις απομακρυσμένων μεταστάσεων (M).^{1 10}

Το μελάνωμα που δεν παρουσιάζει λεμφαδενικές ή απομακρυσμένες μεταστάσεις ταξινομείται ως σταδίου 1 ή 2, αναλόγως του βάθους της κάθετης διείσδυσης. Στο στάδιο 3 περιλαμβάνονται τα μελανώματα με επέκταση στους λεμφαδένες είτε πρόκειται για μεγάλη μετάσταση είτε για μικροσκοπική. Ως σταδίου 4 χαρακτηρίζονται τα μελανώματα που εμφανίζουν απομακρυσμένες μεταστάσεις.

ΣΤΑΔΙΟ	ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ	ΣΕΤΗΣ ΕΠΙΒΙΩΣΗ
ΣΤΑΔΙΟ 0 ΣΤΑΔΙΟ I (A/B)	Tis: μελάνωμα <i>in situ</i> T1a: <0.8 mm και χωρίς εξέλκωση T1b: ≥0.8 mm or <0.8 mm με εξέλκωση T2a: >1.0–2.0 mm χωρίς εξέλκωση	98% 97–92%
ΣΤΑΔΙΟ II (A, B, C)	T2b: >1.0–2.0 mm με εξέλκωση T3a: >2.0–4.0 mm χωρίς εξέλκωση T3b: >2.0–4.0 mm με εξέλκωση T4a: >4.0 mm χωρίς εξέλκωση T4b: >4.0 mm με εξέλκωση	81–53%
ΣΤΑΔΙΟ III (A, B, C, D)	IN1a: 1 λεμφαδένας κλινικά αφανής (θετική βιοψία) IN1b: 1 λεμφαδένας θετικός IN1c: παρουσία in-transit, δορυφόρων, και/ή μικροδορυφορικές μεταστάσεις IN2a: 2–3 θετικοί λεμφαδένες κλινικά αφανείς (θετική βιοψία) IN2b: 2–3 θετικοί λεμφαδένες με 1 τουλάχιστον ανιχνεύσιμο κλινικά IN2c: 1 θετικός λεμφαδένας με παρουσία in-transit, δορυφόρων, και/ή μικροδορυφορικές	78–40%

μεταστάσεις
 IN3a: 4 θετικοί λεμφαδένες κλινικά αφανείς
 (θετική βιοψία)
 IN3b: 4 ή περισσότεροι θετικοί λεμφαδένες με 1
 τουλάχιστον ανιχνεύσιμο κλινικά ή παρουσία
 τακέντων λεμφαδένων
 IN3c: 2 ή περισσότεροι θετικοί λεμφαδένες με in-
 transit, δορυφόρες, και/ή μικροδορυφόρες
 μεταστάσεις

ΣΤΑΔΙΟ IV	M1a: μεταστάσεις σε απομακρυσμένο δέρμα ή μαλακό ιστό, περιλαμβανομένου των μυών, με ή χωρίς περιφερικούς λεμφαδένες. LDH απροσδιόριστη M1a(0): LDH όχι αυξημένη M1a(1): LDH αυξημένη M1b: μετάσταση σε πνεύμονα με ή χωρίς M1a εντοπίσεις. LDH απροσδιόριστη M1b(0): LDH όχι αυξημένη M1b(1): LDH αυξημένη M1c: απομακρυσμένη μετάσταση στα σπλάγχνα με ή χωρίς M1a ή M1b σημεία εντόπισης. LDH απροσδιόριστη M1c(0): LDH όχι αυξημένη M1c(1): LDH αυξημένη M1d: μετάσταση στο ΚΝΣ με ή χωρίς M1a, M1b, ή M1c σημεία εντόπισης. LDH απροσδιόριστη M1d(0): LDH όχι αυξημένη M1d(1) LDH αυξημένη	0–15%
-----------	---	-------

Πίνακας 1. Σταδιοποίηση μελανώματος σύμφωνα με την American Joint Committee of Cancer (AJCC) (2017) ¹⁰

Ακολουθεί επεξήγηση κάποιων από τους όρους που αναφέρονται στην παραπάνω ταξινόμηση.

Λεμφαδένας κλινικά αφανής, αλλά θετικός στην βιοψία: ορίζεται και ως μικρομετάσταση και αφορά λεμφαδένες χωρίς κλινικά ή απεικονιστικά ευρήματα συμμετοχής, που αναγνωρίζεται η διήθησή τους μόνο παθολογοανατομικά. Η διάγνωση τίθεται μετά την βιοψία του λεμφαδένα φρουρού και του πλήρη λεμφαδενικού καθαρισμού. ¹⁰

Βιοψία λεμφαδένα φρουρού: εγχύεται μια ουσία- δείκτης κοντά στον όγκο η οποία φυσιολογικά θα εξαπλωθεί προς τα λεμφαγγεία και τους λεμφαδένες που παροχετεύουν τον όγκο. Με την βοήθεια καθετήρα ανιχνεύονται οι λεμφαδένες που εντοπίζεται ο δείκτης. Με την ίδια λογική, τα καρκινικά κύτταρα αν έχουν εξαπλωθεί, θα είχαν εξαπλωθεί πρώτα σε αυτούς τους λεμφαδένες. Οπότε ο χειρουργός αφαιρεί τον λεμφαδένα (εξ) για να γίνει έλεγχος για καρκινικά κύτταρα με ταχεία βιοψία όσο ο ασθενής είναι ακόμη στο χειρουργείο. Αν η βιοψία είναι θετική, τότε ο χειρουργός θα αφαιρέσει και άλλους λεμφαδένες της ίδιας περιοχής.

Η βιοψία του λεμφαδένα φρουρού βοηθά στην σταδιοποίηση της νόσου, αλλά δεν έχει αποδειχθεί να έχει θεραπευτικό ρόλο.¹⁰

Δορυφόρες μεταστάσεις : οι δορυφόρες μεταστάσεις είναι ξεχωριστές εστίες μελανοκυττάρων, σαφώς διαχωριζόμενες από την αρχική καρκινική εστία και σε απόσταση εντός 2 cm από αυτή . Αυτές μπορούν να είναι κλινικά εμφανείς μακροσκοπικά (macrosatellites) ή να εντοπισθούν μικροσκοπικά (microsatellites).

In transit μεταστάσεις : οι μεταστάσεις αυτές αφορούν το δέρμα ή τον υποδόριο ιστό, απέχουν περισσότερο από 2 cm από την αρχική καρκινική εστία, δεν επεκτείνονται όμως πέρα από τους περιοχικούς λεμφαδένες.^{10 23}

Τόσο οι δορυφόρες όσο και οι in transit μεταστάσεις συνιστούν ενδολεμφαγγειακή νόσο στο TNM σύστημα και ταξινομούνται μαζί.¹⁰

LDH : Η γαλακτική αφυδρογονάση (LDH) είναι ένα κυτταροπλασματικό ένζυμο που καταλύει την μετατροπή του πυροσταφυλικού οξέος σε γαλακτικό οξύ σε αναερόβιες συνθήκες και σε συνθήκες υποξίας. Η υποξία είναι συνήθης σε ταχέως αναπτυσσόμενους όγκους με υψηλή κατανάλωση θρεπτικών συστατικών και οξυγόνου. Για την American Joint Committee on Cancer (AJCC) η LDH ορού είναι ο μόνος βιοδείκτης του ορού που αναγνωρίζεται σαν ισχυρός προγνωστικός παράγοντας στην καθημερινή ιατρική πράξη σε ό, τι αφορά το μελάνωμα. Ασθενείς με μελάνωμα με υψηλές συγκεντρώσεις LDH στον ορό θεωρούνται ασθενείς με κακή πρόγνωση και μειωμένη συνολική επιβίωση. Η AJCC λοιπόν κατατάσσει τους ασθενείς με υψηλή LDH στο στάδιο 4 του συστήματος ταξινόμησης TNM.^{10 24 25}

Πρωτεΐνη S100: Αξίζει να αναφερθεί και η πρωτεΐνη S100 ως ένας ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας για την επιβίωση ασθενών με μελάνωμα. Πρόκειται για μια οικογένεια πρωτεϊνών , δώδεκα μέλη της οποίας εκφράζονται στο μελάνωμα. Κάποια από αυτά χρησιμοποιούνται σαν προγνωστικοί δείκτες του μελανώματος με τα υψηλά επίπεδα να συνηγορούν για φτωχή πρόγνωση. Μάλιστα σύμφωνα με την European Society of Medical Oncology (ESMO) και τις Γερμανικές και Σουηδικές κατευθυντήριες οδηγίες για το μελάνωμα, η S100B είναι ο πιο αξιόπιστος δείκτης για το follow-up των ασθενών με μεγαλύτερη ειδικότητα για την προχωρημένη νόσο από την LDH.^{10 26}

7.Γενετική και επιγενετική στο μελάνωμα

A) Γενετική

Το μελάνωμα είναι από τις κακοήθειες με το μεγαλύτερο φορτίο μεταλλάξεων. Ενδεικτικά, υπολογίζεται ότι ο μέσος αριθμός μεταλλάξεων στο μελάνωμα είναι >10 μεταλλάξεις ανά MB και σε πολλές περιπτώσεις ο αριθμός αυτός δεκαπλασιάζεται. Αν το συγκρίνει μάλιστα κανείς με όγκους όπως οι αιματολογικές κακοήθειες όπου ο μέσος αριθμός μεταλλάξεων είναι <1 μετάλλαξη ανά MB ή άλλους συχνούς συμπαγείς όγκους (όπως ο καρκίνος του στήθους ή του προστάτη) όπου ανευρίσκονται κατά μέσο όρο <5 μεταλλάξεις ανά MB, αντιλαμβάνεται πως πρόκειται για ένα πραγματικά υψηλό φορτίο μεταλλάξεων. Καθοριστική είναι η συμβολή της ηλιακής ακτινοβολίας στον υψηλό αυτό ρυθμό μεταλλαξιγένεσης στο μελάνωμα. Συγκεκριμένα η UV ακτινοβολία ευθύνεται για ένα συγκεκριμένο πρότυπο μεταλλάξεων που αφορά σε αντικαταστάσεις C>T και CC>TT. Οι υπεύθυνες μεταλλάξεις μπορεί να είναι σε ογκοκατασταλτικά γονίδια όπως το CDKN2A ή να πρόκειται για gain of function μεταλλάξεις όπως αυτές που επηρεάζουν τον καταρράκτη RAS-RAF-MAPK. Με την εξέλιξη του NGS έχει γίνει πλέον δυνατή η ανάλυση του μοριακού προφίλ του όγκου και η ανίχνευση των μεταλλάξεων. Από αυτές οι περισσότερες είναι passenger μεταλλάξεις, δηλαδή μεταλλάξεις χωρίς ιδιαίτερη συμβολή στην εξέλιξη της καρκινογένεσης και διαφέρουν από ασθενή σε ασθενή. Υπάρχουν όμως και οι driver μεταλλάξεις που δίνουν το πλεονέκτημα επιβίωσης στα μεταλλαγμένα κύτταρα και συμβάλλουν καθοριστικά την ανάπτυξη του όγκου. Αυτές, σε αντίθεση με τις passenger μεταλλάξεις που είναι μοναδικές για κάθε ασθενή, απαντώνται οι ίδιες σε πολλούς ασθενείς και αποτελούν αντικείμενο έντονης μελέτης, καθώς σε αυτές βασίζονται οι στοχευόμενες θεραπείες οι οποίες είναι πολλά υποσχόμενες για τους ασθενείς. Με βάση το είδος της μετάλλαξης το μελάνωμα μπορεί να διακριθεί σε τέσσερα μοριακά προφίλ: μελάνωμα με μεταλλαγμένο BRAF, με μεταλλαγμένο NRAS, με μεταλλαγμένο NF1 και το triple-wild-type μελάνωμα όπου δεν ανιχνεύεται καμία από τις προαναφερθείσες μεταλλάξεις. Ο διαχωρισμός αυτός των μοριακών προφίλ έχει να κάνει με το είδος της θεραπείας προς εφαρμογή και με την πρόγνωση του ασθενούς. Παρακάτω παρατίθενται οι κυριότερες γονιδιακές μεταλλάξεις που απαντώνται στο μελάνωμα.^{6 27 28 29 30 31}

Μεταλλάξεις του BRAF γονιδίου

Το γονίδιο BRAF κωδικοποιεί για μια κινάση σερίνης – θρεονίνης η οποία αποτελεί κομμάτι του σηματοδοτικού μονοπατιού RAS –RAF- MAPK. Το μονοπάτι αυτό που ενεργοποιείται από την πρόσδεση αυξητικών παραγόντων σε υποδοχείς κινάσης τυροσίνης, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο σε διεργασίες που αφορούν την κυτταρική επιβίωση και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Μετά την ενεργοποίηση του εν λόγω μονοπατιού μια σειρά από φωσφορυλιώσεις λαμβάνουν χώρα. Το BRAF είναι μια από τις τρεις ισομορφές των RAF και είναι αυτή που βρίσκεται συχνότερα από τις άλλες μεταλλαγμένη σε διάφορα είδη καρκίνου. Σχεδόν στο 50% των μελανωμάτων ανευρίσκονται μεταλλάξεις στο BRAF. Η πιο συχνή από αυτές είναι η V600E που οδηγεί σε αντικατάσταση της βαλίνης από γλουταμικό οξύ και αντιπροσωπεύει το 80% περίπου των ενεργοποιητικών μεταλλάξεων του BRAF στο μελάνωμα. Στο υπόλοιπο 20% περιλαμβάνονται οι μεταλλάξεις V600K(βαλίνη-λυσίνη), V600R (βαλίνη –αργινίνη) κ.α. Η V600E μετάλλαξη αυξάνει την δράση του BRAF κατά περίπου 500 φορές με αποτέλεσμα την ανεξέλεγκτη ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού που οδηγεί σε υπέρμετρο πολλαπλασιασμό και επιβίωση των κυττάρων. Η μετάλλαξη V600E συναντάται συχνά σε μελανώματα που οφείλονται σε διαλείπουσα έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία, καθώς επίσης απαντάται συχνότερα σε νέους ασθενείς και έχει συνδεθεί περισσότερο με το επιφανειακώς επεκτεινόμενο και το οζώδες μελάνωμα. Δεδομένου ότι η V600E μετάλλαξη του BRAF συναντάται και σε καλοήθεις σπίλους, η μετάλλαξη αυτή καθ' αυτή από μόνη της δεν αρκεί για την κακοήθη εξαλλαγή. Χρειάζεται επομένως επίδραση και άλλων παραγόντων και εμπλοκή και άλλων σηματοδοτικών μονοπατιών, ώστε ο καλοήθης σπίλος με την μετάλλαξη V600E να εξελιχθεί σε μελάνωμα.^{2 6 27 32 33 34 35}

Μεταλλάξεις του NRAS γονιδίου

Η δεύτερη πιο συχνή σωματική μετάλλαξη που απαντάται στο μελάνωμα είναι αυτή του NRAS γονιδίου που αντιπροσωπεύει ένα ποσοστό της τάξης του 15 -20 % των ασθενών με μελάνωμα. Το NRAS είναι πρωτοογκογονίδιο που ανήκει στην οικογένεια των πρωτεϊνών RAS που ρυθμίζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την απόπτωση. Η πιο κοινή μετάλλαξη του NRAS είναι η αντικατάσταση του γλουταμικού από λυσίνη ή αργινίνη στην θέση 61 που δημιουργεί μια διαρκώς ενεργοποιημένη πρωτεΐνη RAS. Αυτή με την σειρά της οδηγεί σε συνεχή ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού MAPK αλλά και του μονοπατιού PI3K

επιφέροντας ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επιβίωση. Τα μελανώματα με την εν λόγω μετάλλαξη είναι αυξημένου πάχους βλάβες και παρουσιάζουν ιδιαίτερα υψηλό αριθμό μιτώσεων. Χαρακτηρίζονται από επιθετική πορεία και κακή πρόγνωση. Η μετάλλαξη NRAS συναντάται συνηθέστερα σε μελανώματα σε μη ηλιοεκτεθειμένα δέρματα. Μεταλλάξεις του NRAS συναντώνται και σε καλοήθεις συγγενείς σπίλους. Τονίζεται ότι οι δύο μεταλλάξεις BRAF και NRAS σπανίως συνυπάρχουν στο ίδιο μελάνωμα. Όταν παρατηρούνται NRAS μεταλλάξεις σε προχωρημένους BRAF όγκους στους οποίους είχε αποτύχει η θεραπεία με BRAF αναστολείς, θεωρείται ότι συμβάλλουν στην ανθεκτικότητα στην BRAFi θεραπεία.²
6 27 32 35 36 37

Μεταλλάξεις γονιδίου NF1

Το γονίδιο της NF1 κωδικοποιεί μια μεγάλη πρωτεΐνη η οποία ανήκει στην κατηγορία των ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Η NF1 ρυθμίζει αρνητικά την RAS πρωτεΐνη μετατρέποντάς την από την ενεργό RAS-GTP μορφή της στην ανενεργό RAS-GDP. Σωματικές μεταλλάξεις στο γονίδιο της NF1 ανευρίσκονται σε πολλά είδη καρκινικών όγκων και στην περίπτωση του μελανώματος κατέχει την θέση της 3^{ης} πιο συχνής μετάλλαξης εντοπιζόμενη στο 14% των μελανωμάτων. Οι μεταλλάξεις του NF1 οδηγούν σε απώλεια λειτουργικότητας της πρωτεΐνης με αποτέλεσμα να χάνει το ρυθμιστικό της ρόλο πάνω στην RAS η οποία λόγω αυτού μένει συνέχεια ενεργοποιημένη. Στο 80% πρόκειται για μη νοηματική μετάλλαξη, μια προσθήκη ή απαλοιφή βάσης που οδηγεί σε μια κολοβή πρωτεΐνη. Η NF1 μετάλλαξη κυριαρχεί σε μελανώματα που αναπτύσσονται σε έδαφος χρόνιας ηλιακής έκθεσης. Η μετάλλαξη του NF1 μπορεί να συνυπάρχει με μετάλλαξη στο BRAF. Συγκεκριμένα παρατηρείται στο 46% των περιστατικών μελανώματος με μεταλλαγμένο BRAF και wild – type NRAS.^{6 27 32 38 39 40}

Μεταλλάξεις MITF

Ο MITF (microphthalmia associated transcription factor) είναι μεταγραφικός παράγοντας που συμμετέχει στην διαφοροποίηση, τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση των μελανοκυττάρων. Απορρύθμιση του παράγοντα αυτού μπορεί να συμβάλλει στην παθογένεση του μελανώματος. Ενίσχυση του γονιδίου MITF παρατηρείται στο 20% των περιστατικών μεταστατικού μελανώματος και σχετίζεται με φτωχότερη πρόγνωση. Παράλληλα, φαίνεται ότι ο MITF συμβάλλει στην

αντίσταση στην θεραπεία με αναστολείς BRAF μέσω ρύθμισης που ασκεί στο αντιαποπτωτικό γονίδιο BCL2A1. Σε κλινικές μελέτες ερευνάται η αποτελεσματικότητα του panobinostat σε συνδυασμό με άλλες θεραπείες για το μεταστατικό μελάνωμα. Πρόκειται για έναν αναστολέα της αποακετυλίωσης των ιστονών που μειώνει την έκφραση του MITF.^{2 6 41 42}

Μεταλλάξεις του KIT

Η KIT είναι μια κινάση τυροσίνης που δρα ως υποδοχέας αυξητικών παραγόντων και έχει ρόλο πρωτοογκογονιδίου. Ενεργοποίηση της KIT πρωτεΐνης μέσω σύνδεσης με τον προσδέτη SCF (stem cell factor) έχει σαν αποτέλεσμα την ενεργοποίηση πολλαπλών σηματοδοτικών μονοπατιών που εμπλέκονται στην κυτταρική αύξηση, τον πολλαπλασιασμό και την κυτταρική μετανάστευση. Τα κυριότερα από αυτά είναι τα PI3K-AKT-m TOR, RAS-RAF-MAPK και το μονοπάτι του STAT3. Μεταλλάξεις του KIT γονιδίου συμβαίνουν συχνότερα στα εξόνια 11 και 13 και είναι πιο συνήθεις σε μελάνωμα των άκρων και σε μελάνωμα των βλεννογόνων. Υπάρχει επίσης συσχέτιση της μετάλλαξης αυτής με την χρόνια έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία.^{2 27 43 44}

Μεταλλάξεις της PTEN

Η PTEN είναι μια φωσφατάση που συμμετέχει στο σηματοδοτικό μονοπάτι PI3K/AKT αναστέλλοντας την ενεργοποίησή του. Μεταλλάξεις του μονοπατιού αυτού συναντώνται πολύ συχνά σε κακοήθειες και στην περίπτωση του μελανώματος η πιο συνήθης μετάλλαξη είναι αυτή που αφορά την PTEN. Χάνοντας λοιπόν την ανασταλτική δράση της PTEN στο PI3K/AKT, το μονοπάτι βρίσκεται σε μόνιμα ενεργή κατάσταση προκαλώντας απορρύθμιση στην κυτταρική απόπτωση, συνεχή πρόοδο του κυτταρικού κύκλου και κυτταρική μετανάστευση, συμβάλλοντας κατ' αυτόν τον τρόπο στην καρκινογένεση. Η απώλεια του PTEN απαντάται συχνότερα σε μεταστατικά μελανώματα, ενώ σε ένα μικρό ποσοστό ανευρίσκονται μεταλλάξεις στο PIK3CA που συνιστά την καταλυτική υπομονάδα του PI3K/AKT. Αξίζει ακόμη να αναφερθεί ότι μεταλλάξεις στο PTEN συνυπάρχουν αρκετά συχνά με μεταλλάξεις BRAF, γεγονός που υποδηλώνει πιθανή συνέργεια στις δράσεις των δύο αυτών μεταλλάξεων στο μελάνωμα.^{6 27 41}

Μετάλλαξη του CDKN2A

Το CDKN2A locus που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 9p21 ρυθμίζει δύο ογκοκατασταλτικές πρωτεΐνες τις INK4a-p16 και ARF-p14 οι οποίες δρουν ως CDK4 αναστολείς. Η πρωτεΐνη ARF έχει ρόλο σταθεροποιητή του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53. Η INK4a από την άλλη αναστέλλει απευθείας τις κυκλινοεξαρτώμενες κινάσες CDK4 και CDK6 επιφέροντας φωσφορυλίωση της Rb και διακοπή του κυτταρικού κύκλου στην φάση G1-S. Μεταλλάξεις λοιπόν του CDKN2A locus έχουν σαν αποτέλεσμα την απώλεια της ρυθμιστικής δράσης των INK4 και ARF οδηγώντας σε υπέρμετρο κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Αυτού του είδους οι μεταλλάξεις είναι συχνές στο μελάνωμα και στους δυσπλαστικούς σπίλους, δεν απαντώνται όμως σε κοινούς μελανοκυτταρικούς σπίλους. Οι μεταλλάξεις του CDKN2A είναι υπεύθυνες για το κληρονομικό σύνδρομο FAMMM το οποίο περιγράφηκε παραπάνω.
2 27 43 45

Μεταλλάξεις του TP53

Το ογκοκατασταλτικό γονίδιο p53 απαντάται μεταλλαγμένο σε ένα ποσοστό περίπου 15% των μελανωμάτων και φαίνεται πως οι μεταλλάξεις του λαμβάνουν χώρα σε μεταγενέστερο στάδιο κατά την εξέλιξη της κακοήθειας. Μεταλλάξεις του p53 συνυπάρχουν συχνά με μεταλλάξεις οποιασδήποτε από τις τρεις κύριες κατηγορίες μεταλλάξεων BRAF, NRAS και NF1. Αντίθετα στους triple-wild-type όγκους παρατηρείται συχνά ενίσχυση του MDM2 γονιδίου. Το MDM2 γονίδιο κωδικοποιεί την αντίστοιχη πρωτεΐνη που είναι υπεύθυνη για την αποδόμηση του p53.²⁵

Μεταλλάξεις του TERT

Οι μεταλλάξεις του TERT γονιδίου έχουν την ιδιομορφία ότι συνήθως συμβαίνουν στον υποκινητή και όχι στην κωδικοποιούσα περιοχή του γονιδίου και αυξάνουν την έκφρασή του. Υπάρχει έντονη συσχέτιση με την έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία. Η ύπαρξη μεταλλάξεων στο TERT επιβαρύνει την πρόγνωση της νόσου παρότι δεν φαίνεται να σχετίζεται με το μήκος των τελομερών.²⁷

Μεταλλάξεις του RAC1

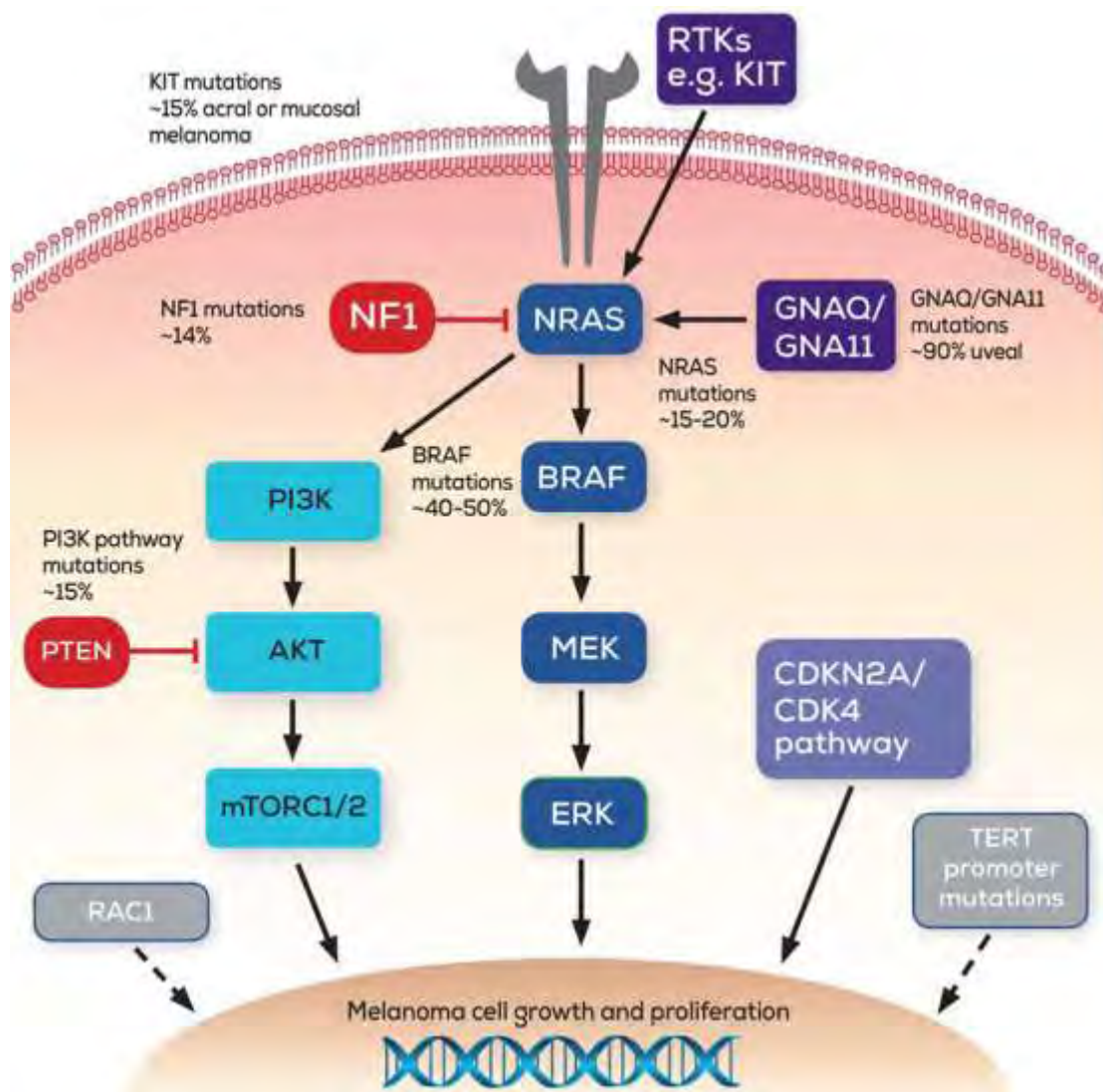
Η RAC1 είναι μια μικρή GTPάση της οικογένειας RAC που βρίσκεται μεταλλαγμένη στο 10% των μελανωμάτων που οφείλονται σε ηλικιακή έκθεση και συχνά συνυπάρχει με μεταλλάξεις του BRAF ή του NRAS. Η αρχική μετάλλαξη (RAC1 P29S) θεωρείται ότι ενεργοποιεί σηματοδοτικά μονοπάτια που καταλήγουν σε αυξημένο

πολλαπλασιασμό και μετανάστευση. Σύμφωνα μάλιστα με κάποιες μελέτες εμπλέκεται και στην έκφραση του PD-L1 μορίου και στην εμφάνιση αντίστασης στις θεραπείες με BRAF και MEK αναστολείς. ^{27 46}

Μετάλλαξη των GNAQ/GNA11

Πρόκειται για πρωτείνες G των οποίων οι μεταλλάξεις ενεργοποιούν τα μονοπάτια MAPK και PI3K/AKT. Οι μεταλλάξεις αυτές απαντώνται κατά βάση στα μελανώματα του οφθαλμού(στο 90% αυτών) και περιστασιακά σε μελανώματα που εντοπίζονται αλλού.

Άλλες μεταλλάξεις που απαντώνται στο μελάνωμα είναι οι μεταλλάξεις του WNT/κατενίνη β 1 μονοπατιού και ενισχύσεις του MYC γονιδίου, ενώ έχουν περιγραφεί και μεταλλάξεις στα ARID2, PPP6C, MAP2K1, RB1 και IDH1. ²⁷



Εικόνα 3. Τα σηματοδοτικά μονοπάτια που εμπλέκονται στην ανάπτυξη του μελανώματος και η συχνότητα των μεταλλάξεων σε αυτά. Davis et al. 2018 Cancer ²⁷

B) Επιγενετική

Οι επιγενετικές τροποποιήσεις διαδραματίζουν και αυτές τον ρόλο τους στην ανάπτυξη του μελανώματος και αποτελούν ένα πεδίο εντατικής έρευνας τα τελευταία χρόνια. Η πρόοδος σε αυτό το πεδίο της έρευνας μπορεί να συμβάλλει σημαντικά τόσο στην θεραπεία της νόσου, όσο και στην κατηγοριοποίηση των ασθενών με βάση την πρόγνωση.

Ως επιγενετικές τροποποιήσεις ορίζονται οι κληρονομήσιμες μέσω μείωσης ή μίτωσης αλλαγές στην γονιδιακή έκφραση που δεν κωδικοποιούνται από την αλληλουχία των βάσεων του DNA. Αυτές συνίστανται στην μεθυλίωση του DNA, στην τροποποίηση των ιστονών και στην τροποποίηση της γονιδιακής έκφρασης μέσω μη κωδικών μορίων RNA. ^{47 48}

Μεθυλίωση του DNA

Η μεθυλίωση του DNA συνιστά την ευρύτερα μελετημένη επιγενετική τροποποίηση στον καρκίνο. Πρόκειται για την προσθήκη μιας μεθυλομάδας σε κυτοσίνη που προηγείται γουανίνης από ένζυμα που ονομάζονται μεθυλοτρανσφεράσες. Αυτό συμβαίνει σχεδόν αποκλειστικά στις CpG νησίδες που είναι περιοχές με υψηλή συγκέντρωση των δινουκλεοτιδίων CpG και εντοπίζονται συνηθέστερα στους υποκινητές των γονιδίων. Η απουσία μεθυλίωσης των CpG νησίδων του υποκινητή ενός γονιδίου ενισχύει την έκφρασή του, ενώ η μεθυλίωση αυτών επιφέρει μεταγραφική απενεργοποίηση και άρα καταστέλλει την έκφραση του γονιδίου. Ανώμαλα πρότυπα μεθυλίωσης παρατηρούνται συχνά στον καρκίνο. Σε γενικές γραμμές στα καρκινικά κύτταρα παρατηρείται μία καθολική υπομεθυλίωση του DNA και υπερμεθυλίωση των υποκινητών σε συγκεκριμένα ρυθμιστικά γονίδια ιδίως στα ογκοκατασταλτικά. ⁴⁸

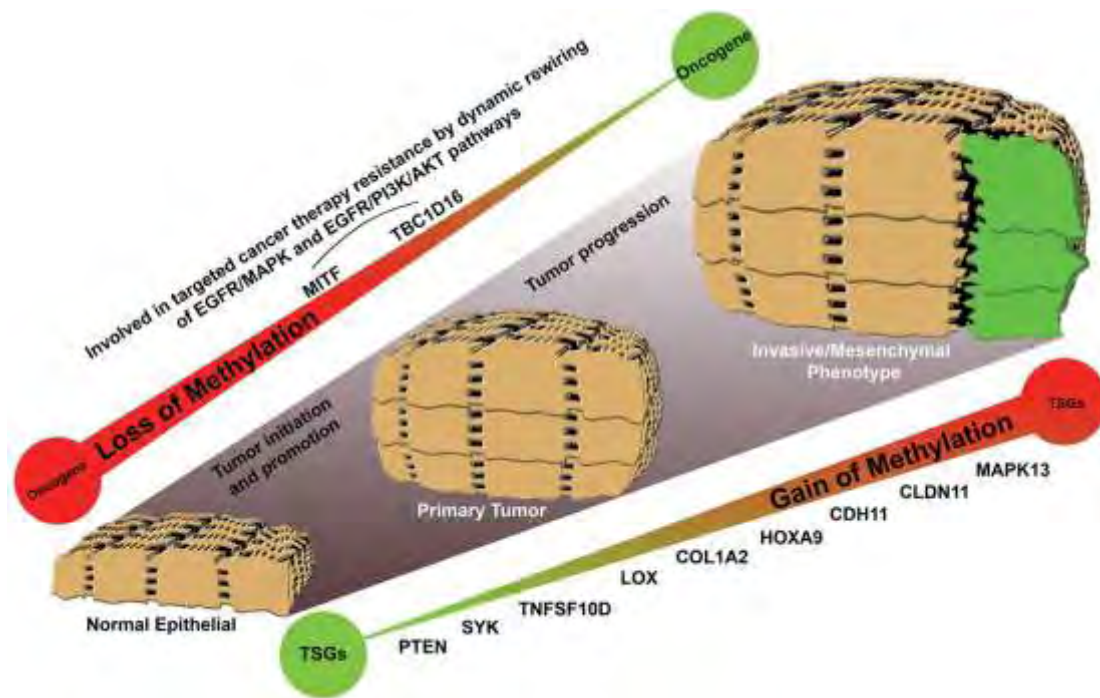
Τα γονίδια που συνήθως βρίσκονται υπερμεθυλιωμένα στο μελάνωμα είναι τα ακόλουθα :MGMT, p14, p16, PTEN, RAR-β2, RASSF1A. Πρόκειται δηλαδή κυρίως για γονίδια που ενέχονται στην επιδιόρθωση του DNA, στην διακοπή του κυτταρικού κύκλου και στην απόπτωση. Όπως έχει προκύψει από έρευνες οι γονιδιακές μεταλλάξεις μπορούν είτε να ευθύνονται για τις επιγενετικές τροποποιήσεις είτε να

συμπληρώνουν την δράση τους. Παράλληλα φαίνεται ότι η υπερμεθυλίωση μπορεί να υφίσταται τόσο στην πρωτοπαθή νόσο όσο και στις μεταστάσεις.⁴⁸

Η υπομεθυλίωση του DNA μπορεί να οφείλεται τόσο σε αποτυχία των μεθυλοτρανσφερασών να διατηρήσουν το πρότυπο μεθυλίωσης όσο και στην απομάκρυνση των μεθυλομάδων από πρωτείνες της οικογένειας TET. Στην αλυσίδα αυτή ενδιάμεσος είναι η 5-υδροξυμεθυλκυτοσίνη (5hmC) η οποία στο μελάνωμα φαίνεται να απουσιάζει μερικώς ή πλήρως, σε σχέση με τα περισσότερα φυσιολογικά κύτταρα όπου υπάρχει έστω και σε σχετικά χαμηλά επίπεδα. Τα σχεδόν ανύπαρκτα επίπεδα της 5hmC στο μελάνωμα φαίνεται να σχετίζονται και με τον δείκτη Breslow, άρα τα επίπεδά της θα μπορούσαν να αποτελέσουν και προγνωστικό δείκτη. Πιθανότατα η μείωση της έκφρασης των πρωτεϊνών TET και του καταλυτικού συμπαραγόντα IDH2 είναι αυτή που οδηγεί σε απώλεια της 5hmC. Από την άλλη η επανεισαγωγή των TET2 πρωτεϊνών σε PDX μοντέλα φαίνεται να επαναφέρει τα επίπεδα της 5hmC. Άρα η TET2 θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σαν βιοδείκτης ή και σαν θεραπευτικός στόχος. Έχουν παρατηρηθεί επίσης και μεταλλάξεις στις πρωτείνες TET ή στον συμπαραγόντα IDH2 που επιφέρουν απώλεια της δράσης τους.

35 48

Η υπομεθυλίωση στα καρκινικά κύτταρα συνήθως συμβαίνει σε επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες επιφέροντας γενετική αστάθεια, αλλά μπορεί να συμβεί και σε υποκινητές πρωτοογκογονιδίων με αποτέλεσμα την ενεργοποίησή τους. Ένα τέτοιο παράδειγμα υπομεθυλίωσης του υποκινητή είναι το γονίδιο TBC1D16 με επακόλουθη υπερέκφρασή του στα μεταστατικά κύτταρα του μελανώματος σε αντίθεση με τα κύτταρα πρωτοπαθούς μελανώματος όπου είναι υπερμεθυλιωμένος και δεν εκφράζεται. Φαίνεται λοιπόν ότι το γονίδιο TBC1D16 προάγει την μεταστατικότητα του μελανώματος και η ανεύρεση του υπομεθυλιωμένου υποκινητή συνεπάγεται κακή πρόγνωση.⁴⁸



Εικόνα 4. Η εξέλιξη του μελανώματος από πλευράς επιγενετικής με έμφαση στην ανώμαλη μεθυλίωση που συμβάλλει στην κακοήγη εξαλλαγή των μελανοκυττάρων. Martinez-Cardus et al 2015 Ann Transl Med ⁴⁷

Τροποποίηση των ιστονών

Η χρωματίνη υπάρχει σε δύο μορφές, την ετεροχρωματίνη που είναι συμπυκνωμένη και δεν εκφράζεται και την ευχρωματίνη που είναι σε ανοιχτή μορφή και εκφράζεται. Η τροποποίηση των ιστονών λαμβάνει χώρα στο N-τελικό άκρο και υπάρχουν διάφορα είδη αυτής μεταξύ των οποίων η ακετυλίωση, η μεθυλίωση, η φωσφορυλίωση κ.α. ^{48 49}

Κάποια από τα προγονικά κύτταρα της νευρικής ακρολοφίας (NCP) φαίνεται να έχουν τροποποιηθεί επιγενετικά ώστε να γίνουν καρκινικά. Ενισχυτές που χαρακτηρίζονται από ανοιχτή μορφή της χρωματίνης και την H3k27ac (τροποποίηση της ιστόνης H3 μέσω ακετυλίωσης που ενεργοποιεί την μεταγραφή) καθώς και ο μεταγραφικός παράγοντας SOX10 οδηγούν στην μεταγραφή των NCP κυττάρων. Φαίνεται επίσης ότι η έκφραση του SOX10 και κατ'επέκταση του MITF ρυθμίζεται επιγενετικά από την H3k27ac, προωθώντας έτσι έναν μεταστατικό φαινότυπο. ⁴⁸

Ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον υπάρχει λοιπόν για τους αναστολείς της αποακετυλίωσης των ιστονών (HDACi) καθώς μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν θεραπευτικά μόρια. Για παράδειγμα η χρήση του αναστολέα SAHA σε κυτταρικές σειρές μελανώματος οδήγησε σε ακετυλίωση των H3 και H4 ιστονών στο

ογκοκατασταλτικό γονίδιο CDKN2A προάγοντας εκ νέου την έκφραση του p14 που συχνά είναι σε καταστολή στο μελάνωμα.

Ερευνητικό ενδιαφέρον παρουσιάζουν όμως και οι παραλλαγές των ιστονών. Για παράδειγμα η ιστόνη H2A έχει τις ισομορφές H2A.Z και mH2A οι οποίες εναλλάσσονται κατά την εξέλιξη του μελανώματος επηρεάζοντας την δομή της χρωματίνης. Έχει βρεθεί ότι στο 80% των προχωρημένων μελανωμάτων υπάρχει απώλεια της mH2A η οποία φαίνεται να ενισχύει την μεταστατική ικανότητα των καρκινικών κυττάρων. Από την άλλη η H2A.Z έχει την αντίθετη επίδραση στα μελανωματικά κύτταρα ευνοώντας τον πολλαπλασιασμό τους μέσω των μεταγραφικών παραγόντων E2F. Η μείωση της H2A.Z σε διάφορες δοκιμές συνδέθηκε με βελτιωμένη δράση των στοχευουσών θεραπειών πράγμα που την καθιστά πιθανά χρήσιμη κλινικά.⁴⁸

Τα σύμπλοκα αναδιάταξης της χρωματίνης αποτελούν ένα ακόμη αντικείμενο μελέτης σε ό, τι αφορά την παθογένεση του μελανώματος. Σωματικές μεταλλάξεις σε γονίδια που κωδικοποιούν υπομονάδες αυτών των συμπλόκων ανευρίσκονται σε ποσοστό 30% των μελανωμάτων. Το πιο χαρακτηριστικό παράδειγμα αυτού είναι το γονίδιο ARID2 που βρίσκεται μεταλλαγμένο στο 12% των μελανωμάτων.^{35 48}

Το σύμπλοκο PRC2 και η υπομονάδα του EZH2 διαδραματίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στο μελάνωμα, καθώς συμβάλλουν στην γονιδιακή αποσιώπηση μέσω μεθυλίωσης των ιστονών με αποτέλεσμα την συμπύκνωση της χρωματίνης και μέσω αλληλεπίδρασης με τις DNA μεθυλοτρανσφεράσες με αποτέλεσμα την υπερμεθυλίωση των υποκινητών. Μεταλλάξεις της EZH2 που αυξάνουν την δράση της έχουν ενοχοποιηθεί για την επιθετικότητα και μεταστατικότητα του μελανώματος και συνδέονται με φτωχή πρόγνωση. Επίσης μεταλλάξεις που οδηγούν σε απώλεια της λειτουργικότητας του PRC2 έχουν ογκογόνο δράση ενισχύοντας την έκφραση των RAS πρωτεϊνών. Στην παρούσα φάση λοιπόν η έρευνα εστιάζεται στους αναστολείς της EZH2 (EZH2i) που σε δοκιμές σε κυτταρικές σειρές μελανώματος δείχνουν ενθαρρυντικά αποτελέσματα.⁴⁸

Μη κωδικά μόρια RNA

Από τα μεγάλα μη κωδικά μόρια RNA αυτό που παρουσιάζει μεγαλύτερο ενδιαφέρον σχετικά με το μελάνωμα είναι το lncRNA SAMMSON, το γονίδιο του οποίου

παρουσιάζει μεγάλη ομοιότητα με αυτό του MITF. Η μεταγραφή του ρυθμίζεται από τον SOX-10 και η έκφρασή του ανιχνεύεται στην πλειονότητα των μελανωμάτων. Knockdown του SAMMSON μείωσε την επιβίωση των μελανωματικών κυττάρων ασχέτως του προφίλ των μεταλλάξεων. Πρόκειται λοιπόν για μια πολλά υποσχόμενη προοπτική στην θεραπεία του μελανώματος.

Τέλος η έρευνα γύρω από το μελάνωμα εστιάζεται και στα μικρά μη κωδικά μόρια RNA και συγκεκριμένα στην χρήση τους ως βιοδείκτες ή και σαν θεραπευτικούς στόχους. Παρότι φαίνεται ελπιδοφόρα προοπτική, η έρευνα βρίσκεται ακόμη σε πρώιμα στάδια και απαιτεί δουλειά ακόμη.⁴⁸

8.Θεραπεία κακοήθους μελανώματος

Οι θεραπευτικές επιλογές του κακοήθους μελανώματος περιλαμβάνουν την χειρουργική επέμβαση, την ακτινοθεραπεία και την συστηματική θεραπεία. Στην συστηματική θεραπεία ανήκουν η χημειοθεραπεία, η στοχεύουσα θεραπεία και η ανοσοθεραπεία. Η επιλογή της θεραπείας εξαρτάται από το στάδιο της νόσου, τα χαρακτηριστικά του όγκου και τους κινδύνους για τον ασθενή.

8.1 Χειρουργική αντιμετώπιση

Η χειρουργική εξαίρεση της πρωτογενούς βλάβης αποτελεί την θεραπεία εκλογής για το μελάνωμα. Για τους ασθενείς με μελάνωμα σταδίου 0 ,σταδίου 1 και τους περισσότερους ασθενείς με μελάνωμα σταδίου 2 αποτελεί και την μόνη θεραπεία. Όταν η διάγνωση έχει επιβεβαιωθεί από την βιοψία, γίνεται μια ευρεία εκτομή του όγκου η οποία να εξασφαλίζει ασφαλή όρια. Από την βιοψία καθορίζεται ο δείκτης Breslow σύμφωνα με τον οποίο ορίζονται τα ασφαλή όρια της ευρείας εκτομής.^{6 10}

Πάχος όγκου	Προτεινόμενα όρια εκτομής
In situ	0,5-1cm
<1mm	1cm
1-2mm	1-2cm
2-4mm	2cm
>4mm	2cm

Τα παραπάνω όρια για τους όγκους που έχουν πάχος μεγαλύτερο από 2 mm μπορεί να είναι μικρότερα από τα αναφερόμενα όταν ο όγκος εντοπίζεται στο πρόσωπο ή σε μέρη όπως η παλάμη και τα πέλματα για λόγους αισθητικούς καθώς και για λόγους επούλωσης.

Όσον αφορά τα στάδια 1 και 2 ανάλογα με τα ευρήματα που προκύπτουν από την κλινική εξέταση μπορεί να πραγματοποιηθεί και βιοψία του λεμφαδένα φρουρού, ώστε να επιβεβαιωθεί ή να αποκλειστεί η εξάπλωση στους λεμφαδένες. Συνήθως αυτή συνίσταται στους όγκους που ξεπερνάνε το 1mm σε πάχος κατά Breslow. Σε περίπτωση που επιβεβαιωθεί καρκινική διήθηση των λεμφαδένων πραγματοποιείται και εκτεταμένη αφαίρεση των επιχώριων λεμφαδένων.¹⁰

Χειρουργική εκτομή εφαρμόζεται επίσης και στις περιπτώσεις των δορυφόρων και in transit μεταστάσεων, όταν δεν υπάρχουν άλλες μεταστάσεις και αυτό είναι εφικτό.

Στις περιπτώσεις απομακρυσμένων μεταστάσεων η χειρουργική εξαίρεση αυτών αποφασίζεται κατά περίπτωση αξιολογώντας την εντόπιση και τον αριθμό καθώς και τα πιθανά οφέλη και κινδύνους για τον ασθενή.^{1 10}

8.2 Ακτινοθεραπεία

Παρότι το μελάνωμα θεωρείται ένας σχετικά ακτινοανθεκτικός όγκος, η ακτινοθεραπεία βρίσκει εφαρμογή σε αρκετές περιπτώσεις στην θεραπεία του είτε ως θεραπεία πρώτης γραμμής είτε ως επικουρική θεραπεία.

Στην περίπτωση του μελανώματος ως επί κακοήθους φακής και όταν η χειρουργική εξαίρεση δεν είναι εφικτή, εφαρμόζεται σαν θεραπεία εκλογής η ακτινοβολία. Η μεγάλη ηλικία των ασθενών που συνήθως προσβάλλει αυτό το είδος μελανώματος τους καθιστά συχνά μη ιδανικούς ασθενείς για να υποβληθούν σε χειρουργείο. Αν προσθέσει κανείς σε αυτό και την συνήθη εντόπιση της βλάβης (πρόσωπο, κεφαλή) και την συχνά μεγάλη έκτασή της, η χειρουργική εξαίρεση αν και θεραπεία εκλογής δίνει την θέση της στην ακτινοθεραπεία. Η μετέπειτα πορεία είναι συνήθως ικανοποιητική με καλό μακροχρόνιο έλεγχο της νόσου και αποδεκτό αισθητικό αποτέλεσμα.¹⁰

Επικουρικά η ακτινοθεραπεία εφαρμόζεται μετεγχειρητικά σε αρκετές περιπτώσεις μελανωμάτων. Η επικουρική ακτινοθεραπεία της πρωταρχικής βλάβης είναι χρήσιμη

στις περιπτώσεις του δεσμοπλαστικού- νευροτροπικού μελανώματος, στις βλάβες που εντοπίζονται στην κεφαλή και στον λαιμό, στις βλάβες με πάχος μεγαλύτερο από 4mm ,στις εξελκωμένες βλάβες, βλάβες με θετικά όρια και στην περίπτωση των δορυφόρων μεταστάσεων. Στις περιπτώσεις αυτές, η ακτινοθεραπεία μειώνει την πιθανότητα της τοπικής υποτροπής της νόσου.¹⁰

Σε ασθενείς με θεραπευτική λεμφαδενεκτομή η επικουρική ακτινοθεραπεία μετεγχειρητικά έχει αποδειχθεί πως ελαττώνει τον κίνδυνο της υποτροπής στην περιοχή. Ιδιαίτερα ασθενείς με πολλαπλούς θετικούς λεμφαδένες, μεγάλους ψηλαφητούς κλινικά λεμφαδένες, εξωκαψική επέκταση των καρκινικών κυττάρων ή επανεμφάνιση της νόσου μετά τον λεμφαδενικό καθαρισμό αποτελούν ομάδα υψηλού κινδύνου για υποτροπή και ιδανική ομάδα για εφαρμογή επικουρικής ακτινοθεραπείας.^{10 50 51}

Η ακτινοθεραπεία χρησιμοποιείται επίσης ως παρηγορητική θεραπεία σε ασθενείς με ανεγχείρητες μεταστάσεις ανακουφίζοντας σημαντικά από τα συμπτώματα. Ενδείξεις για την περίπτωση αυτή αποτελούν ο πόνος, η αιμορραγία, συμπτώματα πίεσης παρακείμενων ιστών από την καρκινική μάζα και η νευρολογική συμπτωματολογία.⁵¹

Οι εγκεφαλικές μεταστάσεις αποτελούν ακόμη μία ένδειξη για χρήση της ακτινοθεραπείας. Μπορεί να εφαρμοσθεί είτε ολοκρανιακή ακτινοθεραπεία επικουρικά μετά από χειρουργική εξαίρεση ή ως ριζική θεραπεία σε ανεγχείρητη νόσο στον εγκέφαλο, είτε στερεοτακτική ακτινοθεραπεία σε επιλεγμένες περιπτώσεις ασθενών.¹⁰

8.3 Χημειοθεραπεία

Η χημειοθεραπεία ήταν η πρώτη θεραπεία που χρησιμοποιήθηκε για το προχωρημένο μελάνωμα. Τις τελευταίες δεκαετίες πολλά χημειοθεραπευτικά φάρμακα έχουν μελετηθεί για την αντιμετώπιση του μελανώματος με πτωχά όμως αποτελέσματα. Η χρήση της χημειοθεραπείας στο μελάνωμα περιορίζεται επικουρικά στην αντιμετώπιση της προχωρημένης νόσου με σκοπό να πετύχει κάποιο βαθμό υποστροφής της νόσου και μείωση των συμπτωμάτων.^{6 52}

Η ντακαρβαζίδη είναι το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο χημειοθεραπευτικό σε αυτήν την περίπτωση, ενώ και το ανάλογό της η τεμοζολαμίδη χρησιμοποιείται επίσης

συχνά. Ανήκουν στην κατηγορία των αλκυλιωτικών παραγόντων. Η ντακαρβαζίδη δεν έχει δείξει να βελτιώνει την συνολική επιβίωση των ασθενών. Παρ' όλα αυτά συνδέεται με ένα ποσοστό ανταπόκρισης της τάξης του 10- 20% και επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου για τρεις έως έξι μήνες. Ναυτία, έμετος και καταστολή του νωτιαίου μυελού είναι οι πιο συχνές παρενέργειες της ντακαρβαζίδης , ενώ η ναυτία και ο έμετος στα πλαίσια της χορήγησης της τεμοζολαμίδης αντιμετωπίζονται σχετικά ικανοποιητικά με τα νεότερα αντιεμετικά φάρμακα. Και οι δυο αυτοί αλκυλιωτικοί παράγοντες διέρχονται τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και μπορούν να χορηγηθούν στις περιπτώσεις μετάστασης στον εγκέφαλο.^{52 53}

Μια άλλη κατηγορία αλκυλιωτικών παραγόντων με αναφερόμενη δραστικότητα στο μεταστατικό μελάνωμα είναι οι νιτροζουρίες όπως η φοτεμουστίνη και η καρμουστίνη. Η δράση τους αναφέρεται σχεδόν ισοδύναμη με αυτή της ντακαρβαζίδης και της τεμοζολαμίδης με βαρύτερες όμως παρενέργειες.⁵³

Ανάλογα της πλατίνας (σισπλατίνη) και αντιμικροσωληνιακά φάρμακα (βινμπλαστίνη, πακλιταξέλη) έχουν επίσης δοκιμαστεί, η δράση τους ωστόσο ήταν μέτρια ως μονοθεραπείες συγκριτικά με την ντακαρβαζίνη και την τεμοζολαμίδα.⁵³

Λόγω της μη ικανοποιητικής αντιμετώπισης του μεταστατικού μελανώματος με χρήση χημειοθεραπευτικών σε σχήματα μονοθεραπείας, έχουν δοκιμαστεί συνδυασμοί χημειοθεραπευτικών φαρμάκων στην προσπάθεια ενός καλύτερου αποτελέσματος . Ο συνδυασμός πακλιταξέλης-καρβοπλατίνης ή σισπλατίνης-βιντεσίνης-ντακαρβαζίνης χρησιμοποιούνται σε μια προσπάθεια αναχαίτισης της προχωρημένης νόσου. Όπως είναι αναμενόμενο βέβαια ο συνδυασμός των διαφόρων χημειοθεραπευτικών επιφέρει πολύ περισσότερες και βαρύτερες παρενέργειες συγκριτικά με τις μονοθεραπείες.⁵³

Η χημειοθεραπεία στα πλαίσια της επικουρικής θεραπείας του προχωρημένου μελανώματος συνδυάζεται και με ανοσοθεραπευτικούς παράγοντες (βιοχημειοθεραπεία) καθώς και με την στοχεύουσα θεραπεία.

Στην περίπτωση των μη εξαιρέσιμων, υποτροπιάζοντων δερματικών ή και υποδόριων βλαβών, η έγχυση των χημειοθεραπευτικών μπορεί να γίνει περιοχικά στο άκρο που εμφανίζει τις βλάβες. Γίνεται περιοχική απομόνωση της αιμάτωσης του άκρου με χειρουργική επέμβαση που διακόπτει προσωρινά την αιμάτωση από και προς το άκρο

και εγχέονται σε αυτό υψηλές δόσεις χημειοθεραπείας. Με την τεχνική αυτή επιτυγχάνονται πολύ υψηλές συγκεντρώσεις του φαρμάκου στο άκρο που φέρει τον όγκο με πολύ περιορισμένη όμως διάχυση του φαρμάκου στον υπόλοιπο οργανισμό.

10 51

Σε γενικές γραμμές πάντως η χρήση της χημειοθεραπείας στο μελάνωμα είναι περιορισμένη καθώς τα αποτελέσματά της δεν είναι ιδιαίτερω ενθαρρυντικά.

8.4 Στοχεύουσα θεραπεία

Σημαντική πρόοδος στην αντιμετώπιση του προχωρημένου μελανώματος έχει σημειωθεί με την στοχεύουσα θεραπεία. Το μελάνωμα είναι μια από τις κακοήθειες με το μεγαλύτερο φορτίο μεταλλάξεων. Αυτό οφείλεται εν μέρει στην μεταλλαξιγόνο υπεριώδη ακτινοβολία που αποτελεί και έναν βασικό εκλυτικό παράγοντα της κακοήθους εξαλλαγής, αλλά και σε άλλες μεταλλαξιγόνες διαδικασίες. Παραπάνω έγινε αναφορά στις πιο συχνές μεταλλάξεις που απαντώνται στο μελάνωμα. Οι μεταλλάξεις αυτές συμβάλλουν στην γένεση και εξέλιξη της νόσου, επομένως η στόχευση και εξουδετέρωση αυτών των μεταλλαγμένων πρωτεϊνών μπορεί να επιφέρει σημαντική πρόοδο στην αντιμετώπιση της νόσου.

Η στοχεύουσα θεραπεία βασίζεται σε μικρά μόρια αναστολείς και αντισώματα που στοχεύουν αυτές τις μεταλλαγμένες πρωτεΐνες. Να σημειωθεί ότι η εφαρμογή των στοχευουσών θεραπειών γίνεται σε επιλεγμένους ασθενείς με βάση το προφίλ μεταλλάξεων του όγκου. Για παράδειγμα, μόνο ασθενείς με επιβεβαιωμένη μετάλλαξη στο BRAF γονίδιο θα λάβουν αναστολείς του BRAF και ασθενείς με γνωστή NRAS μετάλλαξη δεν πρέπει να υποβληθούν σε αυτή την θεραπεία.⁵²

8.4.1 Αναστολείς BRAF

Ο πρώτος αναστολέας BRAF για την θεραπεία του προχωρημένου μελανώματος που φέρει μεταλλάξεις BRAF εγκρίθηκε από τον FDA το 2011 και είναι η βεμουραφενίμη (vemurafenib). Δεδομένου ότι οι BRAF μεταλλάξεις παρουσιάζονται σε περίπου 60% των περιστατικών μελανώματος, ένα μεγάλο ποσοστό ασθενών πληροί τις προδιαγραφές για την θεραπεία αυτή. Η βεμουραφενίμη χορηγείται από το στόμα και είναι ένα μικρό μόριο αναστολέας της BRAF κινάσης που ανταγωνίζεται τη σύνδεση του ATP.

Σε μια τυχαιοποιημένη μελέτη φάσης 3 (BRIM-3) οι ασθενείς που λάμβαναν βεμουραφενίμη είχαν ποσοστό απόκρισης στην θεραπεία 57% , σε αντίθεση με ένα ποσοστό 9% των ατόμων που ήταν σε αγωγή με ντακαρβαζίνη. Η μέση επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου των ασθενών υπό βεμουραφενίμη ήταν 6,9 μήνες , ενώ αυτών υπό ντακαρβαζίνη μόλις 1,6. Επίσης οι ασθενείς υπό βεμουραφενίμη είχαν μεγαλύτερη μέση διάρκεια συνολικής επιβίωσης σε σχέση με το control group (13,6 έναντι 9,7 μήνες)³²

Οι κυριότερες ανεπιθύμητες ενέργειες της βεμουραφενίμης περιλαμβάνουν φωτοευαισθησία, εξάνθημα, μυαλγίες, αρθραλγίες, καταβολή και μια σειρά από άλλες δερματικές βλάβες από καλοήθειες μέχρι προκαρκινοματώδεις (κερατοακάνθωμα) και καρκινοματώδεις (πλακώδες καρκίνωμα δέρματος). Οι εν λόγω δερματικές βλάβες είναι ορατές και αντιμετωπίζονται είτε με τοπική θεραπεία είτε με αφαίρεση και ως τώρα δεν έχει σημειωθεί θάνατος οφειλόμενος σε αυτές. Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι η βεμουραφενίμη μπορεί να χορηγηθεί σε ασθενείς με υψηλό φορτίο νόσου και κακή κλινική κατάσταση οι οποίοι δεν θα ήταν κατάλληλοι για χορήγηση χημειοθεραπείας, προσφέροντας τους μια ανάκαμψη της κλινικής κατάστασης και μερικούς επιπλέον μήνες βελτιωμένης υγείας.^{32 51 52}

Το 2013 εγκρίθηκε από τον FDA η νταμπραφενίμη (dabrafenib), ο δεύτερος αναστολέας BRAF κινάσης για την θεραπεία ασθενών με προχωρημένο μελάνωμα θετικό σε μετάλλαξη BRAFV600E. Χορηγείται και αυτός από το στόμα. Η έγκριση ήρθε μετά τα αποτελέσματα μιας τυχαιοποιημένης μελέτης φάσης 3 (BREAK-3) σε ασθενείς με μετάλλαξη στο BRAF κατά την οποία οι ασθενείς υπό νταμπραφενίμη είχαν ποσοστό απόκρισης στην θεραπεία 50% έναντι 6% αυτών υπό ντακαρβαζίνη. Η μέση επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου ήταν 6,9 μήνες στους ασθενείς υπό νταμπραφενίμη, ενώ μόλις 2,7 σε αυτούς υπό ντακαρβαζίνη. Τέλος, η μέση συνολική επιβίωση ήταν 18,2 μήνες στην ομάδα υπό νταμπραφενίμη σε αντιδιαστολή με τους 15,6 μήνες της ομάδας υπό ντακαρβαζίνη.³²

Οι ανεπιθύμητες ενέργειες της νταμπραφενίμης περιλαμβάνουν υπερκεράτωση, εξάνθημα , αλωπεκία, αρθραλγίες, καταβολή και κεφαλαλγία και από τις πιο επικίνδυνες συχνότερες είναι το πλακώδες καρκίνωμα δέρματος και η πυρεξία.^{32 51 52}

Η διάρκεια της θεραπείας εξαρτάται από την ανοχή στις ανεπιθύμητες ενέργειες. Ασθενείς με ανεπιθύμητες ενέργειες grade 1 και grade 2, μπορούν να συνεχίσουν

στην συνήθη δόση, αλλά στις πιο σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες πιθανότατα η θεραπεία πρέπει να ανασταλεί.⁵²

Παρά την αρχική εντυπωσιακή ανταπόκριση των ασθενών στις θεραπείες με τους αναστολείς της BRAF κινάσης, όλοι οι ασθενείς που λαμβάνουν την αγωγή θα αναπτύξουν τελικά ανθεκτικότητα στην θεραπεία και εξέλιξη της νόσου, συνήθως μέσα σε διάστημα 6 έως 12 μηνών. Για την απόκτηση αυτής της αντοχής μπορεί να ευθύνονται διάφοροι μηχανισμοί όπως η ενεργοποίηση παράπλευρων μονοπατιών (για παράδειγμα το PI3K/AKT/ mTOR), νέες ενεργοποιητικές μεταλλάξεις του BRAF ή μεταλλάξεις στο MEK και στο NRAS.^{32 51 52 54}

Στην κατηγορία των BRAF αναστολέων η ενκοραφενίμη (encorafenib) εγκρίθηκε τον Ιούνιο του 2018 από τον FDA για την θεραπεία του ανεγχείρητου ή μεταστατικού μελανώματος θετικού για την μετάλλαξη BRAFV600E ή V600K σε συνδυασμό με την μινιμετινίμη (binimetinib) που είναι MEK1/2 αναστολέας⁵²

8.4.2 Αναστολείς MEK

Στο σηματοδοτικό μονοπάτι MAPK η κινάση MEK1/2 βρίσκεται downstream του BRAF. Επομένως αναστολή της σηματοδότησης στο σημείο αυτό θεωρητικά έχει δράση και σε μεταλλαγμένο BRAF. Οι αναστολείς MEK είναι η επόμενη κατηγορία φαρμάκων των στοχευουσών θεραπειών που εγκρίθηκε για το προχωρημένο μελάνωμα.^{51 52}

Η τραμετινίμη (trametinib) είναι ένα μικρό μόριο εκλεκτικός αναστολέας των MEK1 και MEK2, διαθέσιμο για χορήγηση από το στόμα που εγκρίθηκε το 2013 από τον FDA ως μονοθεραπεία για τους ασθενείς με ανεγχείρητο ή μεταστατικό μελάνωμα θετικό για μετάλλαξη BRAFV600E ή K . Σε μελέτες φάσης 3 η τραμετινίμη έδειξε βελτιωμένο μέσο χρόνο επιβίωσης χωρίς εξέλιξη της νόσου συγκριτικά με την ντακαρβαζίνη (4,8 έναντι 1,5 μήνες). Σε άλλη μελέτη που περιελάμβανε ασθενείς με μετάλλαξη BRAF κάποιοι από τους οποίους είχαν λάβει θεραπεία με αναστολέα BRAF, ενώ οι υπόλοιποι δεν είχαν λάβει την συγκεκριμένη θεραπεία, φάνηκε ότι οι μη προθεραπευόμενοι σε ποσοστό 25% ανταποκρίθηκαν στην τραμετινίμη με μέσο χρόνο επιβίωσης χωρίς εξέλιξη της νόσου 4 μήνες και συνολική επιβίωση 14,2 μήνες. Στον αντίποδα, αυτοί που είχαν λάβει προηγουμένως θεραπεία με αναστολέα BRAF δεν έδειξαν απόκριση στην τραμετινίμη.^{32 55}

Η κομπιμετινίμη (cobimetinib) είναι ένα από του στόματος διαθέσιμο μικρό μόριο εκλεκτικός αναστολέας της MEK1 που έλαβε έγκριση το 2015 από τον FDA για χρήση στην θεραπεία του προχωρημένου μελανώματος σε συνδυασμό με την βεμουραφενίμη. Ο συνδυασμός BRAF και MEK αναστολέων θα αναλυθεί παρακάτω.³²

Η μπινιμετινίμη (binimetinib) όπως ήδη αναφέρθηκε εγκρίθηκε τον Ιούνιο του 2018 σε συνδυασμό με την ενκοραφενίμη από τον FDA για την θεραπεία του ανεγχείρητου ή μεταστατικού μελανώματος θετικού για την μετάλλαξη BRAFV600E ή V600K. Αξίζει να αναφερθεί ότι εκτιμήθηκε και σε μια μελέτη φάσης 3 (NEMO) σε ασθενείς με μετάλλαξη του NRAS. Η μέση επιβίωση χωρίς εξέλιξη νόσου σε αυτούς του ασθενείς ήταν 2,8 μήνες έναντι 1,5 μήνα των ατόμων που έλαβαν ντακαρβαζίνη.³²

Οι ανεπιθύμητες ενέργειες των αναστολέων MEK διαφέρουν από αυτές των αναστολέων BRAF. Οι πιο συχνά αναφερόμενες περιλαμβάνουν την διάρροια (43%) και το περιφερικό οίδημα (26%). Ναυτία, αλωπεκία, δυσκοιλιότητα και οφθαλμική τοξικότητα έχουν αναφερθεί επίσης. Από τις ανεπιθύμητες ενέργειες grade 3 και 4 πιο συχνά αναφέρονται η υπέρταση(12%), το εξάνθημα (8%) και η καταβολή(4%).^{32 52}

8.4.3 Συνδυασμός BRAF και MEK αναστολέων

Όπως περιγράφηκε, η αναστολή του μονοπατιού MAPK επιφέρει αρχικά σημαντικό κλινικό όφελος για τους πάσχοντες από προχωρημένο μελάνωμα με BRAFV600E ή K μετάλλαξη, σύντομα όμως αποκτάται αντίσταση και η θεραπεία παύει να έχει αποτέλεσμα. Για τον λόγο αυτό δοκιμάστηκε η συνδυασμένη θεραπεία αναστολέων BRAF και MEK.³²

Νταμπραφενίμη και τραμετινίμη: ο συνδυασμός έλαβε έγκριση από τον FDA τον Απρίλιο του 2018. Σε μια τυχαίοποιημένη μελέτη φάσης 3 (COMBI-d) ο συνδυασμός υπερέιχε έναντι της μονοθεραπείας με νταμπραφενίμη σε ασθενείς με προχωρημένο θετικό για BRAF μετάλλαξη μελάνωμα με ποσοστό απόκρισης 69% έναντι 53%. Η μέση επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου ήταν επίσης μεγαλύτερη στους λαμβάνοντες τον συνδυασμό όπως επίσης και η συνολική επιβίωση συγκριτικά με τους υπό μονοθεραπεία ασθενείς. Η μελέτη COMBI-v που σύγκρινε τον ίδιο συνδυασμό σε σχέση με την μονοθεραπεία με βεμουραφενίμη κατέληξε επίσης σε αποτελέσματα

που επιβεβαιώναν την υπεροχή του συνδυασμού έναντι της μονοθεραπείας. Εκτιμήθηκε μάλιστα πως η ποιότητα ζωής των ατόμων υπό νταμπραφενίμη και τραμετινίμη ήταν σημαντικά καλύτερη συγκριτικά με αυτών υπό βεμουραφενίμη μόνο.^{32 56}

Βεμουραφενίμη και κομπιμετινίμη: ο συνδυασμός εγκρίθηκε το 2015. Σε μελέτη φάσης 3 (coBRIM) συγκρίθηκαν η συνδυασμένη θεραπεία με βεμουραφενίμη και κομπιμετινίμη και η μονοθεραπεία με βεμουραφενίμη. Η συνδυασμένη θεραπεία είχε εμφανώς καλύτερα αποτελέσματα σε ό, τι αφορούσε το ποσοστό απόκρισης των ασθενών, την μέση επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου, αλλά και την μέση συνολική επιβίωση συγκριτικά με την μονοθεραπεία.³²

Ενκοραφενίμη και μπινιμετινίμη: ο συνδυασμός εγκρίθηκε τον Ιούνιο του 2018 για την θεραπεία του ανεγχείρητου ή μεταστατικού μελανώματος με μετάλλαξη BRAFV600E ή BRAFV600K.³²

Οι πιο συχνά αναφερόμενες ανεπιθύμητες ενέργειες της συνδυασμένης θεραπείας με BRAF και MEK αναστολείς περιλαμβάνουν πυρεξία, ρίγος, διάρροια, ναυτία, έμετο και καταβολή.⁵²

Συνολικά η συνδυασμένη θεραπεία με αναστολείς BRAF και MEK παρατείνει την ζωή των ασθενών περισσότερο από την μονοθεραπεία με αναστολείς και αυτή όμως κάποια στιγμή αναχαιτίζεται από την ανάπτυξη αντίστασης.

Άλλα είδη στοχευουσών θεραπειών ερευνώνται και βρίσκονται υπό κλινικές δοκιμές όπως είναι οι αναστολείς KIT, αντιαγγειογενετικοί παράγοντες, αναστολείς m TOR και αναστολείς PI3K για την εφαρμογή τους στο μελάνωμα και αναμένονται με αγωνία τα αποτελέσματά τους.⁵²

9.Ανοσοθεραπεία

9.1 Ανοσοθεραπεία του καρκίνου

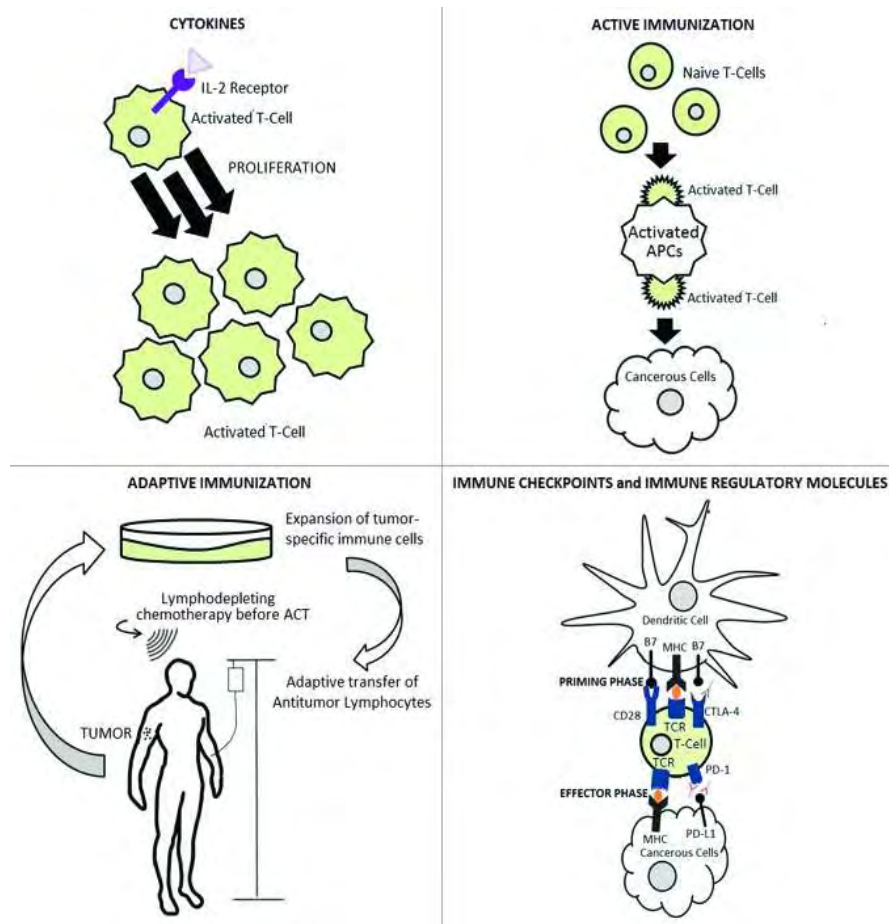
Προτού αναλυθεί η πρόοδος της ανοσοθεραπείας του μελανώματος και οι εφαρμογές της σε αυτό, κρίνεται χρήσιμο να αναφερθούμε στην έννοια και τις αρχές της ανοσοθεραπείας γενικότερα.

Ανοσοθεραπεία του καρκίνου είναι η χρήση του ανοσοποιητικού συστήματος για την επίθεση ενάντια στα καρκινικά κύτταρα και την καταστροφή αυτών. Η ανοσοθεραπεία έχει ως στόχο είτε την τροποποίηση της δραστηριότητας του ανοσοποιητικού συστήματος με σκοπό να το ενεργοποιήσει και να το κατευθύνει να καταπολεμήσει την ανάπτυξη των νεοπλασματικών κυττάρων είτε την ενίσχυση της ανοσιακής απάντησης . Μπορεί να είναι η μόνη θεραπεία ή να συνδυαστεί με άλλα είδη θεραπείας.

Όπως φαίνεται από τις έως τώρα κλινικές μελέτες η ανοσοθεραπεία πλεονεκτεί σε σχέση με άλλες συμβατικές θεραπείες στο γεγονός ότι παρατηρείται μεγάλη διάρκεια ανταπόκρισης της νόσου σε αυτή. Η αποτελεσματικότητα της ανοσοθεραπείας αφορά ένα ποσοστό ασθενών το οποίο ποικίλει ανάλογα με τα χαρακτηριστικά των ίδιων των ασθενών, την ένδειξη εφαρμογής της καθώς και την χρονική επιλογή χορήγησής της. Για τον λόγο αυτό διεξάγονται μελέτες με σκοπό την ανεύρεση βιοδεικτών που θα βελτιώσουν περαιτέρω την επιλογή των ανοσοθεραπευτικών φαρμάκων στους κατάλληλους ασθενείς.^{6 51 57}

Η παρατήρηση ότι η ανοσολογική απάντηση επηρεάζει την βιολογία του καρκινικού όγκου έγινε για πρώτη φορά στο τέλος του 19^{ου} αιώνα, όταν ο William B. Coley χρησιμοποίησε ένα μίγμα νεκρών βακτηρίων των ειδών *Streptococcus pyogenes* και *Serratia marcescens* (Coley's toxins) για να θεραπεύσει καρκινικούς όγκους. Ο πρώτος ασθενής του ήταν ένας 21χρονος με έναν μεγάλο ανεγχείρητο όγκο, πιθανότατα κακόηθες σάρκωμα. Μετά την θεραπεία με το μίγμα του Coley, ο ασθενής παρουσίασε πλήρη ύφεση η οποία διήρκεσε μέχρι το τέλος της ζωής του 26 χρόνια αργότερα από άλλη αιτία.^{57 58}

Η ανοσοθεραπεία του καρκίνου κατά την τρέχουσα περίοδο βασίζεται σε 4 σκέλη: 1)μη ειδική διέγερση της ανοσιακής απάντησης ενάντια στον όγκο ενεργοποιώντας ενδογενή εκτελεστικά κύτταρα με κυτοκίνες 2) ενεργητική ανοσοποίηση 3) παθητική ανοσοποίηση 4) στόχευση των σημείων ανοσιακού ελέγχου ή των ανοσορυθμιστικών μορίων⁵⁹



Εικόνα 5: μέθοδοι στην ανοσοθεραπεία του καρκίνου (Martina Sanlorenzo et al.melanoma immunotherapy Canc Biol Ther)

9.2 Ανοσιακό σύστημα και βιολογία μελανώματος

Το μελάνωμα θεωρείται ένα από τα καλύτερα παραδείγματα ανοσογόνου όγκου. Το γεγονός αυτό βασίζεται στις εξής παρατηρήσεις :

Α)οι πρωτοπαθείς μελανωματικές βλάβες πολύ συχνά παρουσιάζουν έντονη λεμφοκυτταρική διήθηση η οποία είναι σε θέση να επιφέρει μερική ή πλήρη υποστροφή της βλάβης.

Β)η ανάπτυξη λεύκης αποτελεί θετικό προγνωστικό παράγοντα για τους ασθενείς με μελάνωμα

Γ)η εφαρμογή της ανοσοθεραπείας στο μελάνωμα έδειξε εντυπωσιακή απόκριση και μάλιστα με μεγάλη διάρκεια ⁵⁹

Ως εκ τούτου η σχέση του με το ανοσολογικό σύστημα του ξενιστή αποτελεί αντικείμενο έντονης μελέτης τα τελευταία χρόνια. Έχουν βρεθεί ποικίλοι

ανοσοτροποποιητικοί μηχανισμοί που υποβοηθούν την γένεση και εξέλιξη του μελανώματος, οι οποίοι εμπλέκονται στην αδυναμία των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος να αναγνωρίσουν τα νεοπλασματικά κύτταρα του μελανώματος και να τα εξουδετερώσουν. Παρουσιάζεται λοιπόν ένα είδος ανθεκτικότητας του μελανώματος απέναντι στους ανοσολογικούς μηχανισμούς του οργανισμού και μια προοδευτική ανοσοκαταστολή. Αυτοί λοιπόν οι μηχανισμοί αποτελούν στόχο της ανοσοθεραπείας.

Η διαδικασία της γένεσης του μελανώματος περιλαμβάνει 3 διαδοχικά στάδια: το στάδιο της εξάλειψης (elimination), της ισορροπίας (equilibrium) και της διαφυγής (escape). Κατά το πρώτο στάδιο της εξάλειψης η ανοσοεπιτήρηση που ασκείται από τον οργανισμό εξουδετερώνει τα καρκινικά κύτταρα πριν αυτά γίνουν κλινικά ανιχνεύσιμοι όγκοι. Αυτό γίνεται μέσω της κυτταροτοξικής δράσης που ασκείται από τα δενδριτικά κύτταρα (DCs), τα κύτταρα φυσικούς φονείς (NK), τα T και B λεμφοκύτταρα πάνω στα μελανωματικά κύτταρα μέσα στο μικροπεριβάλλον του όγκου ή και σε περιφερικούς ιστούς. Το δεύτερο στάδιο της ισορροπίας που είναι και η μεγαλύτερη σε χρονική διάρκεια φάση από τις τρεις, χαρακτηρίζεται από μια ισορροπία μεταξύ των κυττάρων του ανοσοποιητικού και των κυττάρων του όγκου. Αρχικά τα καρκινικά κύτταρα καταστέλλονται διαρκώς μέχρι που κάποια στιγμή κάποιοι ανθεκτικοί τους κλώνοι αποκτούν πλεονέκτημα επιβίωσης. Σε αυτή την φάση τα T-λεμφοκύτταρα έχουν τον πρωταγωνιστικό ρόλο και σε μικρότερο βαθμό και η ιντερφερόνη-γ (IFN-γ). Αυτοί οι ανθεκτικοί κλώνοι που προαναφέρθηκαν αρχίζουν σιγά-σιγά να χάνουν τα μόρια του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας 1 και 2 (MHC). Η τρίτη φάση της διαφυγής χαρακτηρίζεται από την εξάντληση της ανοσοεπιτήρησης καθώς και από γεγονότα που οδηγούν σε αδυναμία του ανοσοποιητικού συστήματος να αναγνωρίσει τα καρκινικά κύτταρα. Η συνεχής έκθεση του ανοσοποιητικού συστήματος του οργανισμού στα αντιγόνα του μελανώματος επιφέρει την εξάντλησή του. Ενεργοποιούνται μάλιστα υπέρμετρα αρνητικά σημεία ανοσιακού ελέγχου που καταλήγουν σε αρνητική ανατροφοδότηση των κυτταροτοξικών T-λεμφοκυττάρων. Επίσης η απώλεια των μορίων του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας από τα καρκινικά κύτταρα συμβάλλει στην διαφυγή τους από τα κύτταρα του ανοσοποιητικού. Παράλληλα αναπτύσσεται ένα μικροπεριβάλλον στον όγκο το οποίο ευνοεί την ανάπτυξη των κακοήθων κυττάρων χάρη στην παρουσία των ρυθμιστικών T-λεμφοκυττάρων (T-reg), των

ογκοσυσχετιζόμενων μακροφάγων (TAMs) και των myeloid derived suppressor cells (MDSCs) που δυσχεραίνουν την κυτταροτοξικότητα των T-κυττάρων. Τέλος, τα ίδια τα καρκινικά κύτταρα του μελανώματος παράγουν ουσίες που ευνοούν την επιβίωσή τους μερικές από τις οποίες είναι ο αγγειογενετικός αυξητικός παράγων (VEGF), η αδενοσίνη, ο TGF- β και η ινδολαμίνη 2,3 διοξυγενάση (IDO).^{43 58 60 61 62}

Νωρίτερα έγινε αναφορά στην ανοσογονικότητα του μελανώματος, δηλαδή στην ικανότητά του να προκαλεί ανοσιακή απόκριση του οργανισμού που μπορεί να το καταστείλει. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω των αντιγόνων τα οποία εκφράζει ο όγκος και τα οποία αναγνωρίζονται από το ανοσοποιητικό σύστημα ως μη ίδια και τους επιτίθεται. Ωστόσο και παρά την συνεχή αλληλεπίδραση των κυττάρων του μελανώματος με τα δενδριτικά κύτταρα και με τα T-λεμφοκύτταρα στο αίμα και στους λεμφαδένες, κάποια στιγμή αυτή η ικανότητα πρόκλησης ανοσολογικής αντίδρασης χάνεται. Αυτό ακριβώς το γεγονός είναι καθοριστικής σημασίας για τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των κακοήθων κυττάρων και της μεταστατικής τους ικανότητας.^{43 60}

Τα αντιγόνα που εκφράζονται από τα κύτταρα του μελανώματος μπορούν να χωριστούν σε 3 κατηγορίες: τα ογκοσυσχετιζόμενα αντιγόνα (TAAs), καρκινικά-ορχικά αντιγόνα και τα προερχόμενα από τον όγκο νεοαντιγόνα. Οι δύο πρώτες κατηγορίες αφορούν ίδια αντιγόνα του οργανισμού που εκφράζονται σε καρκινικούς ιστούς αλλά σε μικρότερο βαθμό και σε φυσιολογικούς ιστούς. Η διέγερση ανοσολογικής απάντησης των T-λεμφοκυττάρων απέναντι σε αυτές τις δύο κατηγορίες αντιγόνων αποτελεί μια πρόκληση, αφού τα αυτοαντιδρώντα T-λεμφοκύτταρα υπόκεινται σε αρνητική επιλογή στον θύμο αδένα. Ωστόσο αυτή η κεντρική ανοχή στα αυτοαντιγόνα μπορεί να υπερνικηθεί κατά τρόπο ανάλογο με αυτό που συμβαίνει στα αυτοάνοσα νοσήματα. Θετικά αποτελέσματα έχουν επιτευχθεί μετά από στόχευση είτε των ογκοσυσχετιζόμενων αντιγόνων (όπως το gp100 και το MART-1) είτε των καρκινικών-ορχικών αντιγόνων (για παράδειγμα το MAGE-A3 και το NY-ESO-1), ωστόσο οι παρενέργειες λόγω έκφρασης των εν λόγω αντιγόνων και σε υγιείς ιστούς ήταν ποικίλες και ούτε μπόρεσε να επιβεβαιωθεί το όφελος για την επιβίωση των ασθενών.^{6 57 60 63}

Η τρίτη κατηγορία αφορά αντιγόνα τα οποία προκύπτουν από μη συνώνυμες σωματικές μεταλλάξεις οι οποίες αλλάζουν την αλληλουχία των αμινοξέων στην

παραγόμενη πρωτεΐνη και τα οποία απουσιάζουν από φυσιολογικούς ιστούς. Είναι εξορισμού ογκοειδικά αντιγόνα. Θεωρητικά λοιπόν αποτελούν ιδανικούς στόχους για ανοσοθεραπεία, αφού η στόχευσή τους δεν θα προκαλεί αυτοαντιδράσεις έναντι υγιών ιστών, ενώ ούτε θα παράγονται κλώνοι T- λεμφοκυττάρων με ανοχή ως προς αυτά. Η συσσώρευση σωματικών μεταλλάξεων είναι ένα από τα ορόσημα του καρκίνου, όμως μόνο ένα μικρό ποσοστό αυτών υπόκεινται σε θετική επιλογή και άρα απαντώνται επανειλημμένα σε διαφορετικούς ασθενείς. Οι περισσότερες σωματικές μεταλλάξεις των όγκων είναι passenger μεταλλάξεις που είναι πολύ μεταβλητές μεταξύ διαφορετικών ασθενών, συμβάλλοντας έτσι σε ένα εξατομικευμένο προφίλ καρκινικών μεταλλάξεων για τον κάθε ασθενή. Με την αλληλούχιση επόμενης γενιάς (NGS) είναι πλέον εφικτή η αλληλούχιση όλου του γονιδιώματος προς ανίχνευση πιθανών νεοαντιγόνων σε ένα λογικό χρονικό πλαίσιο.

6 57 60

Προφανώς αυτή η εξατομικευμένη προσέγγιση για κάθε ασθενή φαντάζει χρονοβόρα και απαιτητική διαδικασία. Θα σκεφτόταν λοιπόν κανείς την στόχευση των driver μεταλλάξεων οι οποίες επαναλαμβάνονται σε μεγάλο ποσοστό των ασθενών όπως είναι οι BRAF και RAS μεταλλάξεις. Τα στοιχεία όμως δείχνουν ότι αυτές οι μεταλλάξεις είναι σπάνια ανοσογόνες κάτι που είναι αναμενόμενο. Θα ήταν παράδοξο ανοσογόνες μεταλλάξεις να ευνοούνται τόσο συχνά κατά την επιλογή των κλώνων στην διάρκεια της καρκινογένεσης.⁵⁷

Ένας άλλος παράγοντας που περιπλέκει την διαδικασία χρήσης των νεοαντιγόνων στην ανοσοθεραπεία είναι η μεγάλη ετερογένεια των νεοαντιγόνων μέσα στον ίδιο τον όγκο. Δεδομένου ότι για την ανίχνευση των νεοαντιγόνων χρησιμοποιείται δείγμα καρκινικού ιστού, είναι πολύ πιθανό σε αυτό το κομμάτι να απαντώνται μόνο κάποια από τα νεοαντιγόνα. Μια επιτυχημένη θεραπεία όμως έναντι του καρκίνου απαιτεί στόχευση κλωνικών μεταλλάξεων που είναι παρούσες σε όλη την μάζα του όγκου.⁵⁷

9.3 Ανοσολογική απάντηση στο μελάνωμα

Η απάντηση του ανοσολογικού συστήματος του οργανισμού στο μελάνωμα αποτελείται από δύο φάσεις: προηγείται μια γρήγορη, μη ειδική φάση κατά την οποία ενεργοποιείται η φυσική ανοσία και έπεται η ειδική απάντηση μέσω της επίκτητης ανοσίας. Και στις δύο αυτές φάσεις κεντρικό ρόλο στην εξουδετέρωση των κυττάρων του μελανώματος κατέχουν τα T- κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα. Είναι

σαφές βέβαια ότι για να είναι επιτυχημένη η κυτταροτοξική τους δράση χρειάζεται μια εξίσου λειτουργική αντιγονοπαρουσίαση και στρατολόγηση και άλλων κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος στο μικροπεριβάλλον του όγκου.

Στην πρώτη φάση της ανοσολογικής απάντησης, η μη ειδική ανοσιακή απόκριση μεσολαβείται μέσω δενδριτικών κυττάρων (DCs), των κυττάρων φυσικών φονέων (NK), των μακροφάγων και των κοκκιοκυττάρων. Η δεύτερη, ειδική φάση διεξάγεται από τα εκτελεστικά CD4+ και CD8+ T-λεμφοκύτταρα. Αυτά έχουν στρατολογηθεί ενάντια στα κύτταρα του μελανώματος μέσω της δράσης της ιντερφερόνης γ (IFN- γ) και της αλληλεπίδρασης του υποδοχέα τους TCR με τα μόρια του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας και τα αντιγόνα που αυτά παρουσιάζουν.^{6 60}

Κύτταρα φυσικοί φονείς (NK) : αναγνωρίζουν και καταστρέφουν τα κύτταρα του μελανώματος με μειωμένη έκφραση των MHC και μάλιστα σε αυτήν την περίπτωση είναι πιο δραστικά από τα T- λεμφοκύτταρα. Αλληλεπιδρούν με τα καρκινικά κύτταρα μέσω των NK υποδοχέων τους και των ανάλογων προσδετών στην επιφάνεια των καρκινικών κυττάρων. Στην δράση των NK κυττάρων κατά των κυττάρων του μελανώματος προστίθεται και η έκκριση κυτταροκινών από τα NK κύτταρα στο μικροπεριβάλλον του όγκου όπως η IFN γ . Επίσης τα NK κύτταρα συμβάλλουν στην ωρίμανση των δενδριτικών κυττάρων. Μέσω των περφορινών και των πρωτεασών που απελευθερώνουν παρουσία των καρκινικών αντιγόνων βοηθούν στην ενεργοποίηση των δενδριτικών και των T- κυττάρων έναντι των καρκινικών.^{6 60}

Δενδριτικά κύτταρα (DCs): τα δενδριτικά κύτταρα κυκλοφορούν στο αίμα και φθάνοντας στους λεμφαδένες αλληλεπιδρούν με τα T- λεμφοκύτταρα, τόσο τα παρθένα όσο και τα μνημονικά. Ρυθμίζουν τόσο την μη ειδική όσο και την ειδική ανοσία έναντι του μελανώματος. Μέσω της συνδιεγερτικής σηματοδότησης μέσω των CD40, CD80, CD86 και OX40L προωθούν την ενεργοποίηση των T-κυττάρων. Η ωρίμανση των δενδριτικών κυττάρων απαιτεί 1)αλληλεπίδραση μεταξύ TCR και MHC μορίων 2) σύνδεση του CD80/CD86 στο CD28 στην επιφάνεια των T-κυττάρων 3) την κατάλληλη σηματοδότηση από κυτοκίνες 4) την μετάβαση από τους λεμφαδένες σε απομακρυσμένους ιστούς πυροδοτούμενη από τις ανάλογες χημειοκίνες . Σχετικά με τις κυτταροκίνες στο μικροπεριβάλλον του μελανώματος αυτές απαρτίζονται από ανοσοκατασταλτικές κυτταροκίνες όπως η IL-6 και η IL-10 οι οποίες υποβοηθούν την επιβίωση των μελανωματικών κυττάρων σε βάρος των

δενδριτικών. Από την άλλη οι T-h1 κυτταροκίνες συντηρούν την κυτταροτοξική δράση των CD8+ κυττάρων και ρυθμίζουν και την μέσω των T βοηθητικών κυττάρων ανοσία.^{6 60}

T-κύτταρα: τόσο τα βοηθητικά όσο και τα κυτταροτοξικά T- λεμφοκύτταρα διαδραματίζουν κυρίαρχο ρόλο στην προσπάθεια του ανοσοποιητικού να καταστείλει το μελάνωμα. Η ειδική TCR σηματοδότηση έναντι των αντιγόνων που εκφράζουν τα κύτταρα του μελανώματος είναι καθοριστική για την εξέλιξη της ανοσιακής απόκρισης και ενισχύεται από την IFN- γ και τον TNF- α . Απαραίτητη προϋπόθεση βέβαια για την σηματοδότηση αυτή είναι η αλληλεπίδραση του υποδοχέα με τα μόρια του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας που συνδέονται με τα αντιγόνα. Το μελάνωμα χαρακτηρίζεται από μεγάλη παραγωγή κλωνικών T-κυττάρων. Εξάλλου η σημασία της T-κυτταρικής ανοσίας στο μελάνωμα υπογραμμίζεται και από το γεγονός ότι όσο πιο μεγάλη T- κυτταρική διήθηση παρατηρείται στις μελανωματικές βλάβες, τόσο πιο καλή είναι η πρόγνωση. Η κυτταροτοξική δράση των T-κυττάρων οδηγεί στην απόπτωση των μελανωματικών κυττάρων τα οποία με την λύση του απελευθερώνουν νέα αντιγόνα στο μικροπεριβάλλον του όγκου, πυροδοτώντας έτσι εκ νέου την ανοσολογική αντίδραση του οργανισμού στον όγκο.^{6 57 58 60}

9.4 Ανοσοδιαφυγή του μελανώματος

Η ανοσοδιαφυγή του μελανώματος επιτυγχάνεται χάρη στα εξής:

α)προοδευτική εξάντληση του ανοσοποιητικού συστήματος από την χρόνια δράση έναντι των ταχέως πολλαπλασιαζόμενων καρκινικών κυττάρων

β)ελαττωματική αναγνώριση των καρκινικών κυττάρων από τα κύτταρα του ανοσοποιητικού

γ)αποφυγή της απόπτωσης από τα κύτταρα του μελανώματος

δ)ανάπτυξη ενός ανοσοκατασταλτικού μικροπεριβάλλοντος στον όγκο^{60 64}

Η όλη διαδικασία ξεκινά με την ανεπαρκή επεξεργασία των καρκινικών αντιγόνων που έχει σαν αποτέλεσμα να μην αναγνωρίζονται σωστά τα καρκινικά κύτταρα από τα T. Επιπλέον αναχαιτίζεται η ωρίμανση των δενδριτικών κυττάρων που όπως περιγράφηκε παραπάνω είναι ζωτικής σημασίας στην ανοσιακή μάχη κατά του μελανώματος. Ο VEGF και οι ιντερλευκίνες 8 και 10 που εκκρίνουν τα

μελανωματικά κύτταρα στο μικροπεριβάλλον του όγκου, καθηλώνουν τα δενδριτικά κύτταρα στις πιο ανώριμες μορφές τους που επιδεικνύουν και μεγαλύτερη ανοχή στα καρκινικά αντιγόνα. Παράλληλα η ελαττωματική έκφραση από αυτά των CD80 και CD86 συνδιεγερτικών μορίων αναστέλλει την ενεργοποίηση των T-κυττάρων. Σε αυτά έρχεται να προστεθεί και η εμφάνιση ρυθμιστικών T-κυττάρων και κατασταλτικών κυττάρων με προέλευση από τον μυελό (MDSCs) στο μικροπεριβάλλον του όγκου που ανταγωνίζονται την δράση των T και NK κυττάρων. TGF-β, IL-10, IDO, νιτρικό οξείδιο (NO) και αντιδραστικές ρίζες οξυγόνου (ROS) είναι μερικοί μόνο από τους παράγοντες που εκκρίνουν τα κύτταρα αυτά αποδυναμώνοντας την ανοσιακή απάντηση. Τέλος τα T- κύτταρα εμφανίζουν ελαττωματική έκφραση υποδοχέων των σημείων ελέγχου (immune checkpoint receptors) και ελαττωματική σύνδεση με τους αντίστοιχους προσδέτες, ώστε δεν οδηγούνται σε ενεργοποίηση. Τα εξαντλημένα πλέον T- λεμφοκύτταρα παράγουν μικρότερες ποσότητες κυτταροκινών και εμφανίζουν μειωμένη κυτταροτοξικότητα. Στην επιφάνειά τους εκφράζονται πλέον ανασταλτικοί υποδοχείς όπως οι CTLA-4 και PD-1. Μεταξύ άλλων αυτοί οι υποδοχείς ευθύνονται για μείωση των IL-2, IFN-γ και TNF-α και διακοπή του κυτταρικού κύκλου.⁶⁰

10 Ανοσοθεραπεία στο μελάνωμα

Η ανοσοθεραπεία αποτέλεσε μια επανάσταση στην θεραπεία του μελανώματος, καθώς όπως περιγράφηκε παραπάνω το μελάνωμα είναι ένας όγκος που προσφέρεται για να δοκιμαστούν τέτοιου είδους θεραπείες λόγω της ανοσογονικότητάς του. Ιδιαίτερα σε ό,τι αφορά το προχωρημένο μελάνωμα η ανοσοθεραπεία έχει προσφέρει σημαντικά οφέλη στο προσδόκιμο των ασθενών στους οποίους μπορεί να εφαρμοσθεί, αλλά και στην ποιότητα ζωής τους. Πρόκειται μάλιστα για μια θεραπεία η οποία προσφέρει ανθεκτικές απαντήσεις με διάρκεια στο χρόνο. Παράλληλα πρόκειται για έναν τομέα που ακόμη βρίσκεται υπό έρευνα και διαφαίνεται πολλά υποσχόμενος για το μέλλον.⁶⁵⁹

10.1 Ιντερφερόνη-α

Οι ιντερφερόνες είναι γλυκοπρωτείνες που ανήκουν στην οικογένεια των κυτταροκινών. Εκκρίνονται από τα λευκοκύτταρα ως απάντηση στην εισβολή ιών στον οργανισμό ή παρουσία καρκινικών κυττάρων και διαμεσολαβούν σε ανοσολογικές διαδικασίες με σκοπό την εξάλειψη των μολυσμένων από ιούς ή των

καρκινικών κυττάρων. Ενεργοποιούν πληθώρα κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος όπως τα T- και B-λεμφοκύτταρα, τα κύτταρα φυσικούς φονείς και τα δενδριτικά κύτταρα, ενώ αναστέλλουν άλλα μεταξύ των οποίων τα T-ρυθμιστικά και τα MDSCs. Η ιντερφερόνη-α αναχαιτίζει τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων, ενώ αυξάνει την έκφραση των μορίων του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας τάξης 1, προωθώντας με αυτόν τον τρόπο την αναγνώριση των καρκινικών αντιγόνων. Επιπρόσθετα καταστέλλει την έκφραση ογκογονιδίων και προάγει την έκφραση ογκοκατασταλτικών γονιδίων, ενώ σημαντική είναι και η αντιαγγειογενετική της δράση. Η ανοσορυθμιστική της δράση περιλαμβάνει εκτός των όσων αναφέρθηκαν και την επαγωγή έκκρισης χημειοκινών. Το JAK- STAT μονοπάτι είναι ένα κεντρικό σηματοδοτικό μονοπάτι μέσω του οποίου ασκείται η δράση της.^{6 52 59 65}

Η ιντερφερόνη-α έλαβε έγκριση το 1995 από τον FDA σαν επικουρική θεραπεία στο χειρουργηθέν μελάνωμα σταδίου 2 και 3. Το SITC (Society for Immunotherapy for Cancer) συστήνει στους ασθενείς με μελάνωμα σταδίου 3 και μακροσκοπική λεμφαδενική νόσο η χορήγηση της ιντερφερόνης-α 2b να γίνεται για έναν χρόνο. Στις περιπτώσεις της μικροσκοπικής λεμφαδενικής συμμετοχής προτείνεται είτε η χορήγησή της για έναν χρόνο, αλλά επίσης και καμία περαιτέρω θεραπεία ή προτείνονται μικρότερες σε διάρκεια σειρές θεραπειάς με ιντερφερόνη α-2b.

Οι ασθενείς με μελάνωμα σταδίου 2 το οποίο παρουσιάζει εξέλκωση ή διάμετρο μεγαλύτερη από 4 χιλιοστά ή με μιτωτικό δείκτη μεγαλύτερο από μία μίτωση ανά τετραγωνικό χιλιοστό, θεωρούνται υψηλού κινδύνου για υποτροπή και έχουν επίσης ένδειξη για χορήγηση ιντερφερόνης σύμφωνα με μερίδα ειδικών. Σε μία πρόσφατη μεταανάλυση αποδείχθηκε ότι η επικουρική θεραπεία με ιντερφερόνη μειώνει σημαντικά τον κίνδυνο υποτροπής και αυξάνει το προσδόκιμο επιβίωσης για τους ασθενείς με μελάνωμα. Παρ' όλα αυτά, ένα μικρό ποσοστό των ασθενών δείχνει τελικά να αποκρίνεται στην θεραπεία αυτή. Αξίζει να σημειωθεί ότι η παρουσία εξέλκωσης στην πρωτοπαθή βλάβη αποτελεί έναν θετικό προγνωστικό δείκτη για την ευαισθησία στην ιντερφερόνη. Αν και όλο και αναδύονται καινούριες θεραπείες στον τομέα της ανοσοθεραπείας και ενδεχομένως πιο αποτελεσματικές από την ιντερφερόνη, εξακολουθεί να αποτελεί μέρος των κλινικών δοκιμών σε συνδυασμό με άλλες θεραπείες.^{52 59}

10.2 Πεγκυλιωμένη ιντερφερόνη α-2b

Η πεγκυλιωμένη ιντερφερόνη είναι ιντερφερόνη συζευγμένη με πολυαιθυλενογλυκόλη. Η σύζευξη αυτή έχει ως στόχο να παρατείνει την παραμονή της στο αίμα, αυξάνοντας έτσι το θεραπευτικό της αποτέλεσμα. Η μορφή αυτή δείχνει επίσης να μειώνει την ανοσογονικότητα της πρωτεΐνης και πιθανώς χαρακτηρίζεται από ένα καλύτερο προφίλ ανεπιθύμητων αντιδράσεων. Από την άλλη η πεγκυλίωση υπάρχουν ενδείξεις ότι μειώνει την ικανότητα της πρωτεΐνης να συνδεθεί στον υποδοχέα της ελαττώνοντας επομένως την βιολογική της δράση. Συνεπώς η δράση της τελικά είναι μια συνιστώσα αυτών των πλεονεκτημάτων και μειονεκτημάτων της.

Εγκρίθηκε το 2011 από τον FDA για χορήγηση σε ασθενείς με μελάνωμα σταδίου 3 ως επικουρική θεραπεία. Συνήθως δίδεται σε αυτούς τους ασθενείς στους οποίους δεν γίνεται καλά ανεκτή η κλασική μορφή της ιντερφερόνης -α. Οι πιο συχνές ανεπιθύμητες δράσεις της είναι ουδετεροπενία, εξάνθημα, αναιμία και ηπατοτοξικότητα πρώτου βαθμού. Οι μόνες σοβαρές (βαθμού 3 ή 4) ανεπιθύμητες ενέργειές της που έχουν αναφερθεί είναι η λεμφοπενία και η υπονατρίαμια.^{52 59}

10.3 Ιντερλευκίνη -2

Η ιντερλευκίνη-2 εγκρίθηκε το 1998 από τον FDA για την θεραπεία του μεταστατικού μελανώματος. Είναι μια κυτταροκίνη η οποία ενεργοποιεί τα T-λεμφοκύτταρα και τα κύτταρα φυσικούς φονείς και διεγείρει την κυτταροτοξική τους δράση η οποία στρέφεται έναντι των καρκινικών κυττάρων.

Η ιντερλευκίνη -2 υψηλής δόσης (HD IL-2) χορηγείται σε εύρος 600.000 έως 720.000 IU/kg/i.v. κάθε 8 ώρες σε έως 14 διαδοχικές δόσεις μέσα σε 5 ημέρες και ακολουθεί ένας δεύτερος θεραπευτικός κύκλος μετά από 6 έως 9 ημέρες. Η θεραπεία με HD IL-2 σε ασθενείς με προχωρημένο μελάνωμα οδήγησε σε πλήρη απόκριση το 6% των ασθενών, ενώ ένα ποσοστό 10% είχε μερική απόκριση στην θεραπεία. Από αυτούς με την πλήρη απόκριση πολλοί παρουσιάζουν μακροχρόνια ύφεση. Σημαντικό μειονέκτημα της θεραπείας με ιντερλευκίνη-2 αποτελεί η μεγάλη τοξικότητά της. Η ιντερλευκίνη-2 έχει μικρό θεραπευτικό παράθυρο και συνήθως όσο μεγαλύτερη είναι η δόση στην οποία χορηγείται τόσο πιο βαριές είναι και οι ανεπιθύμητες ενέργειες. Ανάμεσα σε αυτές συγκαταλέγονται ο πυρετός με ρίγος, η γριπώδης συνδρομή, το δερματικό εξάνθημα και η κόπωση. Πιο σοβαρή παρενέργεια συνιστά το σύνδρομο

τριχοειδικής διαφυγής το οποίο παρουσιάζεται κλινικά με υπόταση, οιδήματα, ολιγουρία, πυρετό, νευροτοξικότητα, αρρυθμίες και δύσπνοια. Λόγω λοιπόν της σοβαρής τοξικότητάς της η θεραπεία με ιντερλευκίνη χορηγείται ενδονοσοκομειακά. Επίσης η θεραπεία αυτή χορηγείται σε γενικές γραμμές σε ασθενείς σε σχετικά καλή κλινική κατάσταση. Το γενετικό προφίλ του όγκου ενδέχεται να επηρεάζει την απόκριση στην ιντερλευκίνη. Υπάρχουν στοιχεία που υποστηρίζουν ότι μελανώματα με την μετάλλαξη NRAS έχουν περισσότερες πιθανότητες να απαντήσουν στην θεραπεία.^{52 59 66}

Τοπική χορήγηση IL-2 στις in transit βλάβες: η θεραπεία εκλογής για τις in transit βλάβες του μελανώματος είναι η χειρουργική εξαίρεση. Όταν όμως αυτό δεν είναι εφικτό, τότε μπορεί να ενεθεί τοπικά στις βλάβες ιντερλευκίνη-2. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνονται πολύ υψηλές συγκεντρώσεις της κυτταροκίνης στο σημείο της βλάβης, χωρίς όμως την συστηματική τοξικότητα.^{59 67}

Η ιντερλευκίνη όπως και η ιντερφερόνη που αναφέρθηκε προηγουμένως εξακολουθεί να αποτελεί κομμάτι κλινικών δοκιμών σε συνδυασμό με άλλα είδη θεραπείας.

10.4 Βιοχημειοθεραπεία

Η βιοχημειοθεραπεία (BCT) είναι ο συνδυασμός της χημειοθεραπείας με την ανοσοθεραπεία. Η πιο συνηθισμένη εφαρμογή της είναι ο συνδυασμός σισπλατίνης, βινμπλαστίνης και ντακαρβαζίνης με ιντερλευκίνη-2 και ιντερφερόνη 1-2b. Η λογική του συνδυασμού έγκειται στο γεγονός ότι η χημειοθεραπεία με την κυτταροτοξική της δράση οδηγεί σε απόπτωση των καρκινικών κυττάρων απελευθερώνοντας έτσι καρκινικά αντιγόνα, την αναγνώριση των οποίων από το ανοσοποιητικό θα ενισχύσουν οι χορηγούμενες κυτταροκίνες. Η βιοχημειοθεραπεία συγκρινόμενη με την χημειοθεραπεία ως μονοθεραπεία είχε μεγαλύτερο ποσοστό απόκρισης και κατά μέσο όρο μεγαλύτερο διάστημα χωρίς εξέλιξη της νόσου. Δεν υπήρξε όμως διαφοροποίηση στην συνολική επιβίωση, ενώ συνοδεύεται και από πολύ μεγάλη τοξικότητα.^{52 53 59}

10.5 Εμβόλια κατά του καρκίνου

Σκοπός των αντικαρκινικών εμβολίων είναι να προκαλέσουν την αναγνώριση των καρκινικών κυττάρων από τα T- κύτταρα, ώστε να ξεκινήσει η επίθεση του ανοσοποιητικού συστήματος ενάντια σε αυτά. Τα εμβόλια μπορεί να περιέχουν ένα

μόνο αντιγόνο στόχο ή να περιέχουν ολόκληρα κύτταρα. Παράλληλα είναι απαραίτητη και η παρουσία ανοσοενισχυτικών παραγόντων ικανών να διεγείρουν μια ανοσολογική απάντηση, καθώς τα εμβόλια που κατασκευάστηκαν περιέχοντας μόνο τα καρκινικά αντιγόνα στόχους δεν επέδειξαν μεγάλη ανοσογονικότητα και αδυνατούσαν να προκαλέσουν μια ισχυρή ανοσολογική απόκριση. Τέτοιοι ανοσοενισχυτικοί παράγοντες είναι και η ιντερλευκίνη-2 και ο GM-CSF (granulocyte –macrophage colony stimulating factor).⁶

Μέχρι στιγμής τα αποτελέσματα των δοκιμών που αφορούν τα εμβόλια δεν ήταν ιδιαίτερα ενθαρρυντικά. Σε κάποιες μελέτες παρατηρήθηκε μια μέτρια αποτελεσματικότητα όπως σε αυτή του Schwartzentruber et al. το 2011 όπου ασθενείς με προχωρημένο μελάνωμα έλαβαν εμβόλιο με συνδυασμό IL-2 και πεπτιδίου gp100 (μια γλυκοπρωτεΐνη που εκφράζουν τα κύτταρα του μελανώματος) και είχαν καλύτερη κλινική πορεία από άλλους που τους χορηγήθηκε μόνο IL-2. Για την ακρίβεια η μέση συνολική επιβίωση ήταν 18 μήνες έναντι 11 μηνών αντίστοιχα. Αντικείμενο μελέτης αποτελεί επίσης και η χρήση δενδριτικών κυττάρων στα εμβόλια, αφού κατέχουν σημαντικό ρόλο στην ανοσολογική απάντηση κατά του καρκίνου. Η αντιγονοπαρουσίαση και η ικανότητά τους να προκαλούν την έκκριση κατάλληλων κυτταροκινών καθιστά την χρήση τους σε εμβόλια μεγάλη πρόκληση. Η προσέγγιση αυτή βασίζεται στην απομόνωση των δενδριτικών κυττάρων από το περιφερικό αίμα του ασθενή, την φόρτισή τους με το αντιγόνο και την έγχυσή τους πίσω στον ασθενή. Όσον αφορά το πρωτόκολλο ωρίμανσης των δενδριτικών κυττάρων που χρειάζεται, διάφορα έχουν προταθεί χωρίς να υπάρχει gold standard και ακόμη δοκιμάζονται καινούρια.⁶

Το GVAX είναι ένα εμβόλιο περιέχον αυτόλογα ή αλλογενή καρκινικά κύτταρα τα οποία ακτινοβολήθηκαν και υπέστησαν επεξεργασία ώστε να παράγουν GM-CSF. Στο μελάνωμα το συγκεκριμένο εμβόλιο αν και έγινε καλά ανεκτό και ήταν ασφαλές, δεν έδειξε να ενεργοποιεί σημαντικές αντικαρκινικές δράσεις στον οργανισμό. Προς το παρόν το μόνο εμβόλιο βασισμένο σε κύτταρα που έχει εγκριθεί από τον FDA είναι το Sipuleucel-T για τον καρκίνο του προστάτη. Κάτι παρόμοιο στην παρούσα φάση για το μελάνωμα δεν έχει εγκριθεί. Γενικά παρότι τα εμβόλια κατά του καρκίνου δίνουν μια καλή προοπτική στην ανοσοθεραπεία του, εγείρουν και προβληματισμούς. Ο κυριότερος είναι ότι τα καρκινικά κύτταρα υφίστανται συχνές μεταλλάξεις και αναπτύσσουν νέους επιτόπους και στην προσπάθεια να διαφύγουν

του ανοσοποιητικού συστήματος μπορεί να εξαλείψουν το αντιγόνο- στόχο, κάνοντας έτσι το εμβόλιο άχρηστο.^{6 68 69}

Για τον λόγο αυτό η έρευνα επικεντρώθηκε σε μεγάλο βαθμό σε εμβόλια περιέχοντα ογκολυτικούς ιούς οι οποίοι καταστρέφουν απευθείας τα καρκινικά κύτταρα. Οι ογκολυτικοί ιοί είναι ιοί οι οποίοι κατά προτίμηση μολύνουν και καταστρέφουν καρκινικά κύτταρα. Πέρα από την άμεση δράση τους στα καρκινικά κύτταρα, ενεργοποιούν και το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή για αντικαρκινική δράση.

Το 2015 εγκρίθηκε από τον FDA το talimogene laherparepvec (T-VEC) για την θεραπεία του προχωρημένου μελανώματος σταδίου 3 ή 4. Πρόκειται για τον γενετικά τροποποιημένο ιό του απλού έρπητα 1(HSV-1) από τον οποίο αφαιρέθηκαν τα γονίδια ICP34.5 και ICP47 και προστέθηκε το γονίδιο που εκφράζει τον ανθρώπινο GM-CSF. Ο T-VEC ενίεται τοπικά στην βλάβη και πολλαπλασιάζεται μέσα στα κύτταρα του μελανώματος επιφέροντας την λύση τους. Έχει μάλιστα το πλεονέκτημα ότι τα υγιή κύτταρα μένουν ανέπαφα. Η λύση των καρκινικών κυττάρων ακολουθείται από απελευθέρωση αντιγόνων του όγκου τα οποία αναγνωρίζονται από το ανοσοποιητικό σύστημα και πυροδοτούν την ανοσολογική αντίδραση του οργανισμού ενάντια στο μελάνωμα. Ο GM-CSF που παράγεται από τον T-VEC ενισχύει την αντίδραση αυτή.^{6 52 70}

Στην OPTiM, μια κλινική μελέτη φάσης 3, χορηγήθηκε σε 436 ασθενείς με μελάνωμα σταδίου 3 ή 4 το T-VEC ή μόνο ο GM-CSF. Το συνολικό ποσοστό απόκρισης με διάρκεια μεγαλύτερη των 6 μηνών (durable response rate-DRR) ήταν 16,3% σε αυτούς που χορηγήθηκε ο ιός έναντι 2,1% αυτών που έλαβαν μόνο τον αυξητικό παράγοντα. Η μέση συνολική επιβίωση ήταν 23,3 μήνες στους ασθενείς που έλαβαν T-VEC και 18,9 σε αυτούς με τον GM-CSF (η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική).⁷⁰

Οι ανεπιθύμητες ενέργειες του T-VEC περιλαμβάνουν κόπωση, ρίγος, πυρεξία, ναυτία, τοπικό άλγος στο σημείο της ένεσης, γριπώδη συνδρομή. Σε σπάνιες περιπτώσεις προκάλεσε κυτταρίτιδα 3^{ου} ή μεγαλύτερου βαθμού. Γενικά πάντως μέχρι στιγμής έχει δείξει να είναι μια ασφαλής θεραπεία χωρίς σοβαρή τοξικότητα.⁷⁰

Στην παρούσα φάση ο T-VEC συνεχίζει να αποτελεί κομμάτι πολλών κλινικών δοκιμών είτε ως μονοθεραπεία είτε σε συνδυασμό με άλλες θεραπείες. Άλλοι

ογκολυτικοί ιοί που δοκιμάζονται σε μελέτες είναι ο Coxsackie virus (CVA21), Herpes simplex virus HF10, adenovirus ICOVIR-5 και ο reovirus Reolysin.⁷⁰

10.6 Κυτταρική ανοσοθεραπεία (Adoptive cell therapy-ACT)

Η κυτταρική ανοσοθεραπεία συνίσταται στην *ex vivo* επεξεργασία αυτόλογων κυττάρων και μετέπειτα μεταφορά τους στον ασθενή, ώστε να προκαλέσουν ανοσολογική αντίδραση κατά του όγκου. Μέχρι στιγμής σε ό, τι αφορά το μελάνωμα, η συγκεκριμένη θεραπεία βασίζεται στην χρήση αυτόλογων T-λεμφοκυττάρων που διηθούν τον όγκο (TIL) τα οποία συλλέγονται από την αφαιρεθείσα μελανωματική βλάβη. Τα κύτταρα αυτά τα οποία είναι ήδη ενεργοποιημένα κατά του όγκου, καλλιεργούνται *ex vivo* απαλλαγμένα από τις ανοσοκατασταλτικές επιδράσεις του μικροπεριβάλλοντος του όγκου και είναι δυνατόν να δημιουργηθούν μεγάλοι πληθυσμοί οι οποίοι χορηγούμενοι μετά στον ασθενή δύνανται να προκαλέσουν υποστρόφη του όγκου. Πριν την θεραπεία οι ασθενείς λαμβάνουν ειδική χημειοθεραπεία με σκοπό την ελάττωση των λεμφοκυττάρων τους. Δεν έχει εξακριβωθεί πώς, αλλά φαίνεται να αυξάνει την απάντηση στην θεραπεία ACT. Πιθανότατα βελτιστοποιεί το περιβάλλον υποδοχής του ξενιστή για τα μεταφερόμενα T-λεμφοκύτταρα μειώνοντας κύτταρα που θα μπορούσαν να τα βλάψουν όπως είναι τα T-ρυθμιστικά και τα μυελοειδή κύτταρα.^{6 57 59}

Στο μεταστατικό μελάνωμα αυτό το είδος ανοσοθεραπείας έδειξε πολύ ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Υπήρξαν ασθενείς με πλήρη και ανθεκτική απόκριση καθώς και ασθενείς με μερική απόκριση και παρατεταμένη σταθεροποίηση της νόσου. Ένα ποσοστό της τάξης του 24% των μελετώμενων ασθενών με μεταστατικό μελάνωμα που έκαναν την θεραπεία ACT παρουσίασε πλήρη και ανθεκτική υποστρόφη του όγκου με μια αναφερόμενη μέση επιβίωση που ξεπερνούσε τα 3 έτη. Και ο συνδυασμός θεραπειών είναι επίσης αποτελεσματικός. Η αφαίρεση των μεταστάσεων σε ασθενείς με προχωρημένο μελάνωμα που υποβάλλονται σε κυτταρική ανοσοθεραπεία οδήγησε σε επιβίωση χωρίς πρόοδο της νόσου (PFS) 11 μηνών και πενταετή επιβίωση 57% σύμφωνα με κάποιες μελέτες. Γενικά πρόκειται για μια θεραπεία χωρίς ιδιαίτερα σοβαρές παρενέργειες και η μεγαλύτερη τοξικότητα προέρχεται από την χημειοθεραπεία που προηγείται για την μείωση των λεμφοκυττάρων. Αυτή μπορεί να προκαλέσει αιματολογικά προβλήματα όπως αναιμία ή θρομβοκυτταροπενία οι οποίες θα χρειαστούν μετάγγιση.^{6 52}

Μέχρι στιγμής η κυτταρική ανοσοθεραπεία με TIL αποτελεί την κυρίαρχη εφαρμογή της κυτταρικής ανοσοθεραπείας στο μελάνωμα. Η πρόοδος που έχει σημειωθεί όμως στην μοριακή βιολογία επέτρεψε τον προσδιορισμό ποικίλων καρκινικών αντιγόνων και την κατασκευή γενετικά τροποποιημένων T-κυττάρων με ειδικούς για τον όγκο υποδοχείς (TCR) ή χιμαιρικούς αντιγονικούς υποδοχείς (CARs). Όσον αφορά τα T-κύτταρα με ειδικούς για τον όγκο TCR, πρόκειται για ειδικούς έναντι του όγκου κλώνους που επιλέγονται και επεκτείνονται *in vitro* και τροποποιούνται ώστε οι υποδοχείς τους να αναγνωρίζουν συγκεκριμένα αντιγόνα του όγκου. Η πρώτη proof-of-concept μελέτη με ανασυνδυασμένους TCR για το μελάνωμα έγινε το 2006 χρησιμοποιώντας T-κύτταρα με TCR ειδικούς για το MART-1 αντιγόνο του μελανώματος. Η μελέτη αυτή βέβαια δεν έδειξε ενθαρρυντικά αποτελέσματα, αφού φαίνεται να είχε αποτέλεσμα μόνο σε 2 από τους 17 ασθενείς. Πιο πρόσφατη μελέτη όμως που συνδύασε ειδικά για το MART-1 τροποποιημένα T-κύτταρα με εμβόλιο δενδριτικών κυττάρων φορτισμένων με το MART-1, έδειξε υποστροφή του όγκου σε 9 από τους 13 ασθενείς της μελέτης. Ως εκ τούτου είναι πολύ πιθανό ο συνδυασμός της κυτταρικής ανοσοθεραπείας με άλλες ανοσοθεραπείες να έχει συνεργειακή δράση που θα υπερνικήσει τους τρέχοντες περιορισμούς. Επί του παρόντος αρκετές κλινικές μελέτες ερευνούν την δράση του συνδυασμού κυτταρικής ανοσοθεραπείας και στοχεύουσας θεραπείας ή κυτταρικής ανοσοθεραπείας και αναστολέων των σημείων ελέγχου.^{6 43 71}

Οι υποδοχείς CAR είναι τεχνητοί υποδοχείς που σχεδιάστηκαν ώστε να παρακάμψουν την ανάγκη αλληλεπίδρασης των αντιγονικών υποδοχέων με τα μόρια του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας, καθώς σε πολλά είδη όγκων τα καρκινικά κύτταρα μειώνουν την έκφραση των μορίων MHC και διαφεύγουν του ανοσοποιητικού συστήματος. Ο υποδοχέας CAR αποτελείται από μια εξωκυττάρια περιοχή που αναγνωρίζει το ειδικό αντιγόνο και είναι η μεταβλητή περιοχή βαριών και ελαφριών αλυσίδων ανοσοσφαιρίνης, μια διαμεμβρανική περιοχή και μια ενδοκυττάρια σηματοδοτική περιοχή που είναι συνήθως η CD3 ζήτα αλυσίδα του TCR. Ακόμη απαρτίζεται και από συνδιεγερτικά μόρια όπως CD28 ή CD137 για την πλήρη ενεργοποίηση των T-κυττάρων. Προς το παρόν οι υποδοχείς CAR χρησιμοποιούνται μόνο στην θεραπεία των αιματολογικών κακοηθειών από B-κύτταρα με αξιόλογα μάλιστα αποτελέσματα. Διεξάγονται όμως πολλές έρευνες για την χρήση τους και στους συμπαγείς όγκους.^{6 43 52 71}

Παρά το γεγονός ότι τα είδη αυτά της κυτταρικής ανοσοθεραπείας φαίνονται πολλά υποσχόμενα, δεν είναι λίγοι οι προβληματισμοί που απορρέουν όσον αφορά την εφαρμογή τους. Για αρχή, η τροποποίηση των T-κυττάρων στο εργαστήριο είναι μια διαδικασία πολύπλοκη και μεγάλου κόστους. Επομένως μέχρι στιγμής περιορίζεται σε ολιγάριθμα εξειδικευμένα κέντρα. Ένα άλλο πρόβλημα είναι ότι τα τροποποιημένα T-κύτταρα προκαλούν πολύ μεγαλύτερη τοξικότητα σε σχέση με τα συμβατικά T-κύτταρα που διηθούν τον όγκο. Αυτό καθίσταται επικίνδυνο όταν οι τροποποιημένοι TCR σχεδιάζονται ώστε να αναγνωρίζουν αντιγόνα τα οποία εκφράζονται τόσο σε καρκινικούς όσο και σε υγιείς ιστούς. Αυτό μπορεί να έχει σαν αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος ενάντια στο αντιγόνο-στόχο, όχι όμως απαραίτητα και ενάντια στον όγκο (on target, off tumor toxicity). Αυτό παρατηρήθηκε σε ποικίλες δοκιμές. Για παράδειγμα, υπήρξε μελέτη που δοκίμαζε την δράση των τροποποιημένων TCR ειδικών για το MART-1 και το gp-100. Πολλοί ασθενείς αυτής της μελέτης εμφάνισαν τοξικότητα στο δέρμα, στα αυτιά και στους οφθαλμούς, σε ιστούς δηλαδή που περιείχαν μελανοκύτταρα. Είναι λοιπόν ανάγκη να αναπτυχθούν τρόποι ώστε να αποφεύγεται η δράση τους σε υγιείς ιστούς. Η πρόοδος στην αλληλούχιση του γονιδιώματος και συγκεκριμένα στο WES καθιστά δυνατό τον προσδιορισμό νεοαντιγόνων τα οποία θα εντοπίζονται αποκλειστικά στους καρκινικούς ιστούς και όχι στους φυσιολογικούς, λόγω της προέλευσης τους από τις διάφορες σωματικές μεταλλάξεις. Μια άλλη τοξική δράση στο ανοσοποιητικό που προκύπτει τόσο από την θεραπεία με CAR υποδοχείς όσο και με τα TILs είναι το σύνδρομο απελευθέρωσης κυτοκινών που πρόκειται για σοβαρή συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση με πολυάριθμα συμπτώματα μεταξύ των οποίων ο πυρετός, η πτώση της αρτηριακής πίεσης, η καταβολή και η ταχύπνοια.^{6 71 72}

Συνοπτικά η κυτταρική ανοσοθεραπεία αντιπροσωπεύει μια δελεαστική προοπτική για την αντιμετώπιση του μελανώματος και αναμένεται πρόοδος στις εφαρμογές της στα επόμενα χρόνια.

10.7 Αναστολείς σημείων ελέγχου

CTLA-4 : Το CTLA-4 μόριο είναι ένας βασικός ρυθμιστής της ενεργοποίησης των T-λεμφοκυττάρων. Προκειμένου να ενεργοποιηθούν τα παρθένα T-λεμφοκύτταρα χρειάζονται 3 ειδών σήματα. Πρώτα χρειάζεται την σύνδεση του TCR με τα αντιγόνα στην επιφάνεια των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων όπου βρίσκονται

συνδεδεμένα με τα μόρια MHC, ακολουθεί η σύνδεση του συνδιεγερτικού μορίου CD28 των T-κυττάρων με τα μόρια CD80, CD86 στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα και τέλος η σύνδεση των κυτταροκινών στους υποδοχείς τους στα T-κύτταρα. Λόγω της εξέλιξης δημιουργήθηκε ένα ακόμη σημείο ελέγχου για να ρυθμίσει την αυτοανοσία, η έκφραση του μορίου CTLA-4 στα ενεργοποιημένα T-κύτταρα. Το CTLA-4 συνδέεται στα CD80/86, με τα οποία μάλιστα έχει πολύ μεγαλύτερη συγγένεια από ό,τι το CD28 την δράση του οποίου ανταγωνίζεται. Με την σύνδεση CTLA-4 και CD80/86 διακόπτεται η συνδιεγερτική σηματοδότηση και εμποδίζεται η ενεργοποίηση των T-κυττάρων και διακόπτεται ο κυτταρικός κύκλος. Επίσης προκαλεί καταστολή της παραγωγής ιντερλευκίνης-2. Το CTLA-4 απουσιάζει από τα παρθένα T-κύτταρα και εκφράζεται μόνο μετά την ενεργοποίηση των T-κυττάρων. Λειτουργεί δηλαδή σαν ένας εσωτερικός μηχανισμός των T-κυττάρων αρνητικής ανατροφοδότησής τους που καταστέλλει την μέσω των T-κυττάρων διαμεσολαβούμενη ανοσολογική απάντηση. Το CTLA-4 εκφράζεται επίσης και στα T-ρυθμιστικά κύτταρα. Ο κρίσιμος ρόλος του CTLA-4 στην διατήρηση της ανοσοανοχής φαίνεται και από τα CTLA-4^{-/-} ποντίκια. Τα ποντίκια αυτά αναπτύσσουν διάφορες σοβαρές πολυοργανικές αυτοάνοσες παθολογίες και πεθαίνουν 3-4 εβδομάδες μετά την γέννησή τους. Οι άνθρωποι με ετερόζυγες γαμετικές μεταλλάξεις του CTLA-4 εμφανίζουν απορρύθμιση του ανοσοποιητικού τους συστήματος, ποικίλα αυτοαντισώματα και αυξημένη λεμφοκυτταρική διήθηση των οργάνων τους.^{6 10 59 73 74}

Με βάση τα παραπάνω, θεωρείται ότι το CTLA-4 εμποδίζει και τις μέσω των T-κυττάρων ανοσολογικές αντιδράσεις έναντι των όγκων, προτού τα T-κύτταρα προλάβουν να εξαλείψουν τα καρκινικά κύτταρα. Επομένως η αναστολή του CTLA-4 θα μπορούσε να ενισχύσει την ανοσολογική απάντηση στον καρκίνο αίροντας την αρνητική ανατροφοδότηση.

Ιπιλιμουμάμπη (Ipilimumab): Το ipilimumab είναι αναστολέας του CTLA-4. Πρόκειται για ένα ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα του ισότυπου IgG1 που προσδένεται στο CTLA-4 εμποδίζοντας την αλληλεπίδραση με τους προσδέτες του. Εγκρίθηκε το 2011 για την θεραπεία του μελανώματος. Στην πρώτη μελέτη φάσης 3 συμμετείχαν ασθενείς με ανεγχείρητο μελάνωμα σταδίου 3 ή 4 οι οποίοι είχαν προηγουμένως λάβει άλλη θεραπεία. Στην μελέτη αυτή τους χορηγήθηκε ιπιλιμουμάμπη ή το πεπτιδικό εμβόλιο gp100 ή συνδυασμός αυτών των δύο. Η ολική

επιβίωση ήταν 10,1 μήνες, 6,4 μήνες και 10 μήνες αντίστοιχα. Το συνολικό ποσοστό ανταπόκρισης (είτε πλήρης απόκριση είτε μερική) στην θεραπεία ήταν 10,9% για την ιπιλιμουμάμπη, 5,7% για τον συνδυασμό και 1,5% για το πεπτιδικό εμβόλιο. Σε επόμενη μελέτη όπου συμμετείχαν ασθενείς με μεταστατικό μελάνωμα που δεν είχαν λάβει προηγούμενη θεραπεία χορηγήθηκε ιπιλιμουμάμπη μαζί με ντακαρβαζίνη ή ντακαρβαζίνη μαζί με placebo. Τα αποτελέσματα έδειξαν υπεροχή του συνδυασμού ιπιλιμουμάμπης με ντακαρβαζίνη έναντι της ντακαρβαζίνης με το placebo με την συνολική επιβίωση να είναι 11,2 μήνες και 9,1 μήνες αντιστοίχως και η τριετής επιβίωση 20,8% και 12,2% αντιστοίχως. Το ποσοστό ελέγχου της νόσου από την άλλη δεν διέφερε σημαντικά (33,2% και 30,2 % αντιστοίχως). Σημειώνεται επίσης ότι η ιπιλιμουμάμπη σε μια μελέτη φάσης 2 με ασθενείς με μελάνωμα και εγκεφαλικές μεταστάσεις έδειξε ενθαρρυντικά αποτελέσματα, παρότι οι συγκεκριμένοι ασθενείς είναι γενικά ένας δύσκολος πληθυσμός για θεραπεία.^{6 10 70}

Η ιπιλιμουμάμπη έχει θέση και ως επικουρική θεραπεία ασθενών με μελάνωμα σταδίου 3 όπου εμπλέκονται και οι περιοχικοί λεμφαδένες. Σε μελέτη φάσης 3 ασθενείς με μελάνωμα σταδίου 3 που είχαν υποβληθεί σε ολική χειρουργική αφαίρεση του όγκου και έλαβαν ιπιλιμουμάμπη έδειξαν καλύτερη 5ετή επιβίωση χωρίς υποτροπή της νόσου(40,8% έναντι 30,3% με placebo) και καλύτερη συνολική 5ετή επιβίωση (65,4% έναντι 54,4% με placebo).¹⁰

Τοξικότητα ιπιλιμουμάμπης: δεδομένου ότι οι υποδοχείς των σημείων ελέγχου κατέχουν σημαντική θέση στην ρύθμιση της αυτοανοσίας, οι σημαντικότερες ανεπιθύμητες ενέργειες που προκύπτουν από την αναστολή τους αφορούν ποικίλες αυτοάνοσες αντιδράσεις που γενικά φέρουν τον τίτλο ανοσοσχετιζόμενες ανεπιθύμητες ενέργειες (immune-related adverse events- IRAEs). Στην θεραπεία με αναστολείς CTLA-4 αυτές οι ανοσοσχετιζόμενες ανεπιθύμητες ενέργειες μπορεί να φθάσουν σε ένα ποσοστό έως και 90% των ασθενών.^{6 75}

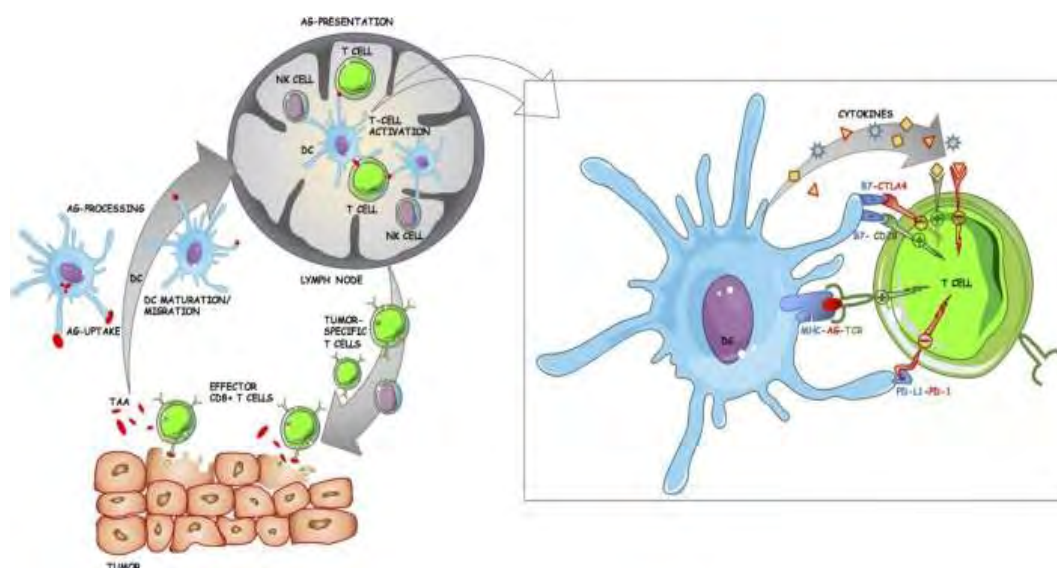
Έτσι λοιπόν σε ασθενείς που λαμβάνουν ιπιλιμουμάμπη παρατηρούνται ανοσοσχετιζόμενες ανεπιθύμητες ενέργειες που αφορούν συνήθως στο δέρμα, στο γαστρεντερικό σύστημα και στους ενδοκρινείς αδένες και σε κάποιες περιπτώσεις μπορεί να επιφέρουν και τον θάνατο. Οι κυριότερες από αυτές είναι διάρροια, κολίτιδα, δερματίτιδα, λεύκη, κνησμός, ανεπάρκεια επινεφριδίων και υποθυρεοειδισμός. Μελέτη φάσης 2 έδειξε ότι η αύξηση στις ανοσοσχετιζόμενες

ανεπιθύμητες ενέργειες είναι δόσοεξαρτώμενη και αυτές αυξάνονται όσο αυξάνεται η δόση της ιπιλιμουμάμπης. Γενικά οι ανοσοσχετιζόμενη τοξικότητα του φαρμάκου ανταποκρίνεται καλά σε συστηματική χορήγηση κορτικοστεροειδών (οι περισσότερες IRAEs υποχωρούν σε 6-12 εβδομάδες θεραπείας με κορτικοστεροειδή) και αν αυτή επιμένει τότε μπορεί να χορηγηθούν και πιο ισχυρά ανοσοκατασταλτικά όπως η αζαθειοπρίνη. Ενδιαφέρον παρουσιάζει πάντως το γεγονός ότι η συστηματική ανοσοκαταστολή για την αντιμετώπιση των IRAEs δεν επηρεάζει την αντικαρκινική δράση που σημαίνει ότι οι ανοσολογικοί μηχανισμοί που ευθύνονται για αυτές τις αυτοάνοσες ανεπιθύμητες ενέργειες είναι ανεξάρτητοι από την ανοσολογική απάντηση κατά του όγκου.^{10,52,75,76}

PD-1 (programmed cell death protein 1): πρόκειται για διαμεμβρανικό υποδοχέα της οικογένειας των Ig πρωτεϊνών που εκφράζεται στα ενεργοποιημένα T- κύτταρα και εμποδίζει την δράση τους. Αυτό συμβαίνει μέσω αρνητικής ρύθμισης στην σηματοδότηση του TCR. Η συνεχής διέγερση των T-κυττάρων που συμβαίνει για παράδειγμα σε χρόνιες ιογενείς λοιμώξεις ή στον καρκίνο, έχει σαν αποτέλεσμα την εξάντληση των T-κυττάρων η οποία περιγράφηκε και παραπάνω. Σε αυτά τα εξαντλημένα T- κύτταρα η έκφραση της PD-1 είναι σημαντικά αυξημένη. Η PD-1 εκφράζεται εκτός από την επιφάνεια των T-κυττάρων και στα μακροφάγα, στα B-κύτταρα και στα κύτταρα φυσικούς φονείς.^{6,10}

Υπάρχουν δύο προσδέτες για την PD-1, ο PD-L1 και ο PD-L2. Από αυτούς ο PD-L1 εκφράζεται σε διάφορα κύτταρα του ανοσοποιητικού όπως είναι τα δενδριτικά κύτταρα, κύτταρα φυσικοί φονείς, B και T-κύτταρα, μακροφάγα αλλά και σε άλλους ιστούς όπως ο επιθηλιακός και το ενδοθήλιο των αγγείων καθώς και σε καρκινικά κύτταρα. Η έκφρασή του σε αυτά ενισχύεται από προφλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως οι ιντερφερόνες, ο VEGF και ο TNF-α. Ο PD-L2 από την άλλη εκφράζεται μόνο σε αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα. Η σύνδεση του PD-1 με τους προσδέτες του εξασθενεί την ενεργοποίηση των T- κυττάρων στρατολογώντας την τυροσινική φωσφατάση SHP-2 που εμπλέκεται στην σηματοδότηση του TCR. Αποτέλεσμα αυτού η καταστολή του πολλαπλασιασμού των T- κυττάρων και της έκκρισης κυτοκινών, καθώς και η μείωση της έκφρασης αντιαποπτωτικών γονιδίων που επιβαρύνει την επιβίωση των T-κυττάρων. Η σηματοδότηση μέσω PD-1 θεωρείται ότι αναστέλλει την ενεργοποίηση των T-κυττάρων στους περιφερικούς ιστούς διαδραματίζοντας έναν κρίσιμο ρόλο στην διατήρηση της ανοσοανοχής στους

περιφερικούς ιστούς. Δεδομένου λοιπόν αυτού του ρόλου του PD-1, ποντίκια που δεν εκφράζουν τον υποδοχέα αυτό, αναπτύσσουν διάφορες αυτοάνοσες παθήσεις όπως σπειραματονεφρίτιδα, μυοκαρδιοπάθεια και αρθρίτιδα. Ο φαινότυπος αυτός όμως είναι λιγότερο βαρύς από αυτόν των CTLA-4 $-/-$ ποντικών, καθώς αφορά λιγότερο σοβαρές παθήσεις που συμβαίνουν λιγότερο συχνά και αργότερα κατά την διάρκεια της ζωής των ποντικών. ^{6 10 73 77 78}



Εικόνα 6. Ο ρόλος των δενδριτικών κυττάρων (DC) στην ανοσιακή απάντηση ενάντια στον όγκο. Τα δενδριτικά κύτταρα συλλέγουν και επεξεργάζονται αντιγόνα του όγκου (TAA/TSA) από αποπίπτοντα καρκινικά κύτταρα, ωριμάζουν και μεταβαίνουν στους λεμφαδένες που παροχετεύουν τον όγκο όπου παρουσιάζουν τα αντιγόνα στα λεμφοκύτταρα. Τα ειδικά για τον όγκο T-λεμφοκύτταρα μεταβαίνουν από τους λεμφαδένες στην περιοχή του όγκου. Τα CD8+ κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα καταστρέφουν τα καρκινικά κύτταρα οδηγώντας σε περαιτέρω απελευθέρωση αντιγόνων τα οποία τα δενδριτικά κύτταρα θα παραλάβουν με την σειρά τους για έναν ακόμη κύκλο αντιγονοπαρουσίασης. Στην σύναψη του T-κυττάρου και του αντιγονοπαρουσιαστικού κυττάρου υπάρχουν συνδιεγερτικά και ανασταλτικά σήματα από τα οποία εξαρτάται η ενεργοποίηση του T-κυττάρου. Ο TCR συνδέεται με το αντιγόνο με την μεσολάβηση των μορίων MHC. Συνδιεγερτικά μόρια όπως τα CD80, CD86 στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα συνδέονται είτε στο CD28 μόριο των T-κυττάρων ενεργοποιώντας το T-κύτταρο είτε στο μόριο CTLA-4 του T-κυττάρου εμποδίζοντας την ενεργοποίησή του. Περαιτέρω ενεργοποίηση των T-κυττάρων επιτυγχάνεται μέσω των κυτοκινών. Ο PD-1 υποδοχέας είναι ένας ακόμη ανασταλτικός υποδοχέας που εκφράζεται στα ενεργοποιημένα T-κύτταρα. Ο βασικός προσδέτης του είναι ο PD-L1 που εκφράζεται στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα και σε κάποια καρκινικά κύτταρα και μετά την σύνδεση του αναστέλλει την ενεργοποίηση των T-κυττάρων. Hassan Sadozai, et al. Front Immunol. 2017;8:1617.

Η σηματοδότηση μέσω PD-1 φαίνεται να αποτελεί έναν βασικό μηχανισμό διαφυγής του καρκίνου από το ανοσοποιητικό σύστημα. Τα ογκοειδικά T- κύτταρα σε ασθενείς με μελάνωμα συχνά εκφράζουν υψηλά επίπεδα PD-1 , ενώ τα T- κύτταρα που διηθούν τον όγκο συχνά δυσλειτουργούν ως επί εξασθένησης. Παράλληλα σε πολλές

περιπτώσεις καρκίνου μεταξύ των οποίων και το μελάνωμα, το PD-L1 είναι αυξημένο σε καρκινικά κύτταρα και σε κύτταρα του ανοσοποιητικού που διηθούν τον όγκο. Με βάση τα παραπάνω λοιπόν, θεωρήθηκε ότι η αναστολή του άξονα PD-1/PD-L1 θα μπορούσε να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην ανοσοθεραπεία του μελανώματος και αποτέλεσε και ακόμη αποτελεί σημαντικό πεδίο ερευνών.^{6 10 79}

Νιβολουμάμπη (nivolumab): πρόκειται για ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα του ισότυπου IgG4 που εγκρίθηκε το 2014 από τον FDA για την θεραπεία του προχωρημένου μελανώματος. Η νιβολουμάμπη προσδένεται στο PD-1 εμποδίζοντας την αλληλεπίδραση του με τους προσδέτες του. Σε δοκιμές φάσης 3 η νιβολουμάμπη δοκιμάστηκε έναντι της χημειοθεραπείας σε ασθενείς που είχαν προηγουμένως λάβει άλλες θεραπείες και αργότερα έγινε η σύγκριση και σε ασθενείς που δεν είχαν ακολουθήσει καμία θεραπεία ως τότε. Σε ασθενείς με μελάνωμα σταδίου 3 ή 4 που προηγουμένως είχαν λάβει ιπιλιμουμάμπη ή αναστολείς BRAF χωρίς επιτυχία, η νιβολουμάμπη έδειξε σαφή υπεροχή έναντι της χημειοθεραπείας με objective response rate 31,7% έναντι 10,7%. Στην μελέτη που συμμετείχαν οι ασθενείς που δεν είχαν λάβει προηγουμένως θεραπεία για το μελάνωμα το οποίο μάλιστα ήταν wild-type BRAF, η νιβολουμάμπη πάλι υπερείχε της χημειοθεραπείας (ντακαρβαζίνη) με πολύ μεγαλύτερες τιμές που αφορούσαν την συνολική επιβίωση 1 έτους, την μέση επιβίωση χωρίς πρόοδο της νόσου και το ποσοστό απόκρισης στην θεραπεία.^{6 10 70}

Πεμπρολιζουμάμπη (pembrolizumab) : είναι ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα IgG4 ισότυπου που εγκρίθηκε το 2015 από τον FDA για την θεραπεία του προχωρημένου μελανώματος. Όπως και η νιβολουμάμπη, ασκεί την δράση του μέσω σύνδεσης στον PD-1 μη επιτρέποντας του έτσι να συνδεθεί στους προσδέτες του. Σε διάφορες δοκιμές η δράση της πεμπρολιζουμάμπης κατά του μελανώματος αποδείχτηκε ισχυρή. Μια από αυτές, φάσης 2, αφορούσε ασθενείς με προχωρημένο μελάνωμα που είχαν λάβει ιπιλιμουμάμπη ή αναστολείς BRAF/MEK και συγκρίθηκε σε αυτούς η δράση της πεμπρολιζουμάμπης έναντι της χημειοθεραπείας, όπου και αποδείχτηκε μεγαλύτερη επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου σε αυτούς που χορηγήθηκε η πεμπρολιζουμάμπη. Παράλληλα η πεμπρολιζουμάμπη φάνηκε να έχει σημαντικά καλύτερη δραστηριότητα σε ασθενείς με προχωρημένο μελάνωμα συγκριτικά με την ιπιλιμουμάμπη, καθώς σε σχετική μελέτη οι ασθενείς υπό πεμπρολιζουμάμπη παρουσίασαν 6μηνη επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου σε ποσοστό 46% έναντι

26,5% αυτών υπό ιπιλιμουμάμπη και τα ποσοστά απόκρισης στην θεραπεία ήταν αντίστοιχα 33% και 11,9%.^{6 10 70}

Οι ανεπιθύμητες ενέργειες από την χορήγηση των αναστολέων PD-1 όπως είναι αναμενόμενο λόγω του μηχανισμού δράσης τους, σχετίζονται κατά βάση με το ανοσοποιητικό σύστημα και την αυτοανοσία. Οι πιο συχνές είναι κόπωση, διάρροια, εξάνθημα, ναυτία και κνησμός. Και σε αυτήν την περίπτωση η πλειοψηφία των βαθμού 3 ή 4 ανεπιθύμητων ενεργειών υποχωρεί σχετικά γρήγορα με την χορήγηση κορτικοστεροειδών συστηματικά. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι ανεπιθύμητες ενέργειες βαθμού 3 ή 4 που προκύπτουν από την θεραπεία με αναστολείς PD-1 είναι αρκετά λιγότερο συχνές σε σχέση με την θεραπεία με ιπιλιμουμάμπη. Αυτό είναι αναμενόμενο αν σκεφτεί κανείς τα knockout ποντίκια για το CTLA-4 και τα knockout ποντίκια για το PD-1, όπου η σοβαρότητα των αυτοάνοσων αντιδράσεων ήταν σημαντικά μικρότερη στα δεύτερα. Σε δοκιμή φάσης 3 συγκρίθηκαν η πεμπρολιζουμάμπη και η ιπιλιμουμάμπη και βρέθηκε ότι η συχνότητα των βαθμού 3-5 ανεπιθύμητων ενεργειών ήταν 10,1-13,3% στους ασθενείς που έλαβαν πεμπρολιζουμάμπη έναντι 19,9% σε αυτούς που χορηγήθηκε η ιπιλιμουμάμπη.^{6 10 75}

80

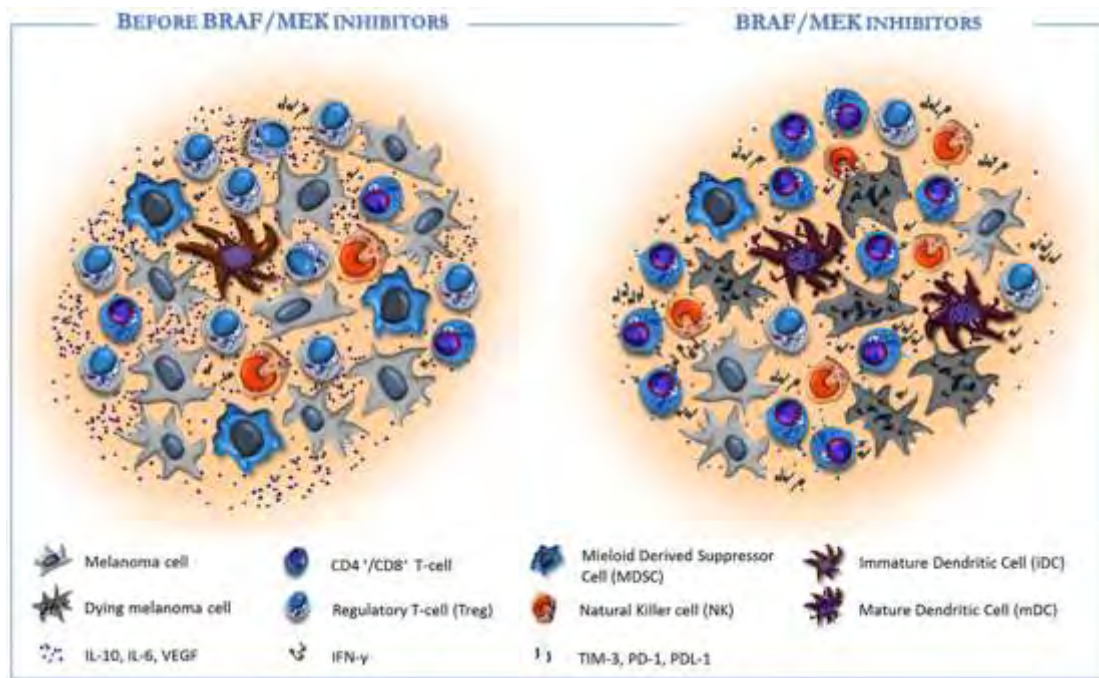
Συνολικά οι αναστολείς PD-1 φαίνεται να υπερέχουν ως προς την δράση και την ασφάλεια σε σχέση με την ιπιλιμουμάμπη. Μένει να αποδειχθεί αν η διάρκεια του θεραπευτικού τους αποτελέσματος είναι το ίδιο μεγάλη με αυτή της ιπιλιμουμάμπης.

Κλινικές δοκιμές γίνονται και για αναστολείς του PD-L1 στην θεραπεία του μελανώματος. Παρότι στην θεραπεία του ουροθηλιακού καρκινώματος της ουροδόχου κύστης και στον καρκίνο του πνεύμονα έχει εγκριθεί ένας αναστολέας του PD-L1, η ατεζολιζουμάμπη (atezolizumab), στο μελάνωμα ακόμη αυτό δεν έχει συμβεί.⁶

Συνδυασμός αναστολέων CTLA-4 και PD-1: οι υποδοχείς CTLA-4 και PD-1 φαίνεται ότι ασκούν την ανασταλτική τους δράση στα T- κύτταρα μέσω μη αλληλοεπικαλυπτόμενων μηχανισμών, επηρεάζοντας διαφορετικούς πληθυσμούς T-κυττάρων και σε διαφορετικές φάσεις της ανοσολογικής απόκρισης. Επομένως, είναι λογική η υπόθεση ότι ο συνδυασμός τους θα μπορούσε να επιφέρει αύξηση της δράσης τους έναντι του μελανώματος. Μία δοκιμή φάσης 3 με 945 ασθενείς με ανεγχείρητο μελάνωμα 3^{ου} ή 4^{ου} σταδίου διεξήχθη το 2015, όπου συγκρίθηκε η

χορήγηση μόνο νιβολουμάμπης, μόνο ιπιλιμουμάμπης και του συνδυασμού των δύο αυτών. Η μέση επιβίωση χωρίς πρόοδο της νόσου ήταν 11,5 μήνες στους ασθενείς που έλαβαν τον συνδυασμό, 6,9 μήνες σε αυτούς που έλαβαν μόνο νιβολουμάμπη και 2,9 σε αυτούς που χορηγήθηκε μόνο ιπιλιμουμάμπη. Βέβαια η τοξικότητα του συνδυασμού των δύο φαρμάκων ήταν σημαντικά αυξημένη σε σχέση με τις μονοθεραπείες με τις σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες (βαθμού 3 ή 5) να φθάνουν σε ποσοστό έως και 55% σε αυτούς που έλαβαν νιβολουμάμπη μαζί με ιπιλιμουμάμπη, ενώ στην μονοθεραπεία με ιπιλιμουμάμπη ήταν 27%. Από αυτή και άλλες μελέτες αναδείχθηκε η υπεροχή της συνδυαστικής θεραπείας συγκριτικά με την μονοθεραπεία οδηγώντας στην έγκριση της συνδυαστικής θεραπείας ιπιλιμουμάμπης με νιβολουμάμπη για το μελάνωμα στις ΗΠΑ. ^{6 10}

Κλινικές δοκιμές γίνονται επίσης για τον συνδυασμό της αναστολής σημείων ελέγχου με άλλες ανοσοθεραπείες, καθώς επίσης και με χημειοθεραπεία, ακτινοβολία και στοχεύουσα θεραπεία. Μάλιστα τα ευρήματα σε ό, τι αφορά τον συνδυασμό τους με στοχεύουσες θεραπείες είναι ιδιαίτερα ενθαρρυντικά. Οι αναστολείς BRAF φαίνεται να αυξάνουν την έκφραση των μορίων του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας, την αντιγονοπαρουσίαση και την T-κυτταρική διήθηση των όγκων και άρα είναι πολύ πιθανή μια συνεργειακή δράση τους με τους αναστολείς σημείων ελέγχου. Παρομοίως οι MEK αναστολείς σε συνδυασμό με αναστολείς PD-1 σε προκλινικά μοντέλα φαίνεται πως βελτιώνουν την δράση των κυτταροτοξικών T-κυττάρων. Να σημειωθεί επίσης ότι όσον αφορά τους αναστολείς σημείων ελέγχου και τους BRAF/MEK αναστολείς ως θεραπεία πρώτης γραμμής για το προχωρημένο μελάνωμα, δεν είναι ακόμη ξεκάθαρο ποια από τις δύο θεραπείες προτιμάται. Σχετικές μελέτες που συγκρίνουν τις δυο θεραπείες βρίσκονται σε εξέλιξη. ^{6 60}



Εικόνα 7. Η στοχεύουσα θεραπεία επηρεάζει το μικροπεριβάλλον του όγκου υπέρ της επανενεργοποίησης του ανοσοποιητικού συστήματος. Αριστερά: κατά την εξέλιξη του μελανώματος καταστέλλεται η ανοσιακή απόκριση ενάντια του όγκου. Ανοσοκατασταλτικές κυτοκίνες (IL-10, IL-6, TGF-β, VEGF κ.α.) προσελκύουν ανοσοκατασταλτικά κύτταρα (Treg και MDSC), ενώ αναχαιτίζουν την αντιγονοπαρουσίαση από τα δενδριτικά κύτταρα και την κυτταροτοξική δράση των T-κυττάρων και των NK-κυττάρων. Δεξιά: Οι BRAF/MEK αναστολείς αποκαθιστούν την ανοσογονικότητα του μελανώματος στο μικροπεριβάλλον του. Οδηγούν στην παραγωγή νεοαντιγόνων και εμποδίζουν την ανοσοκατασταλτική σηματοδότηση με αποτέλεσμα την αποκατάσταση της αντιγονοπαρουσίασης από τα δενδριτικά κύτταρα και την ενίσχυση της κυτταροτοξικότητας των T-κυττάρων. Παράλληλα βλάπτουν την δράση των Treg και MDSC κυττάρων. Η στοχεύουσα θεραπεία συνεπικουρεί την δράση της ανοσοθεραπείας και μέσω έκφρασης μορίων PD-1 στα κύτταρα του ανοσοποιητικού και μορίων PD-L1 στα κύτταρα του μελανώματος.

Παρά το γεγονός ότι η ανοσοθεραπεία με αναστολείς σημείων ελέγχου άνοιξε νέα μονοπάτια στην θεραπεία του μελανώματος και αποτέλεσε μια επανάσταση, στην πραγματικότητα μόνο ένα μικρό ποσοστό ασθενών με προχωρημένο μελάνωμα αποκρίνεται σε αυτήν. Καθίσταται λοιπόν επιτακτική η ανάγκη εύρεσης βιοδεικτών προγνωστικών για την απόκριση στην θεραπεία με αναστολείς σημείων ελέγχου. Έτσι θα προσδιορίζονται ασθενείς που έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να ανταποκριθούν στην θεραπεία αυτή και ασθενείς με μικρή έως μηδενική πιθανότητα ανταπόκρισης θα αποφεύγουν την άσκοπη έκθεση στην σοβαρή τοξικότητα της θεραπείας ή θα λαμβάνουν κατευθείαν πιο επιθετικούς θεραπευτικούς συνδυασμούς. Μέχρι στιγμής έχουν προταθεί 4 προφίλ βιοδεικτών για το μελάνωμα που σχετίζονται με την απόκριση στην θεραπεία και βασίζονται στην παρουσία PD-L1 και TIL στον

όγκο. Οι όγκοι χαρακτηρίζονται ως τύπου 1 (PD-L1+ TIL+), τύπου 2 (PD-L1- TIL-), τύπου 3 (PD-L1+ TIL-) και τύπου 4 (PD-L1- TIL+). Οι πλειοψηφία των ασθενών με μελάνωμα εμφανίζει τον τύπο 1 (38%) ή τον τύπο 2 (41%). Ασθενείς με μελάνωμα τύπου 1 θεωρείται πως έχουν την καλύτερη απόκριση στην αναστολή του PD-1, ενώ αυτοί με μελάνωμα τύπου 2 φαίνεται πως έχουν την χειρότερη πρόγνωση. Άλλοι παράγοντες που φαίνεται να επηρεάζουν την απόκριση στην ανοσοθεραπεία με αναστολείς σημείων ελέγχου είναι το φορτίο μεταλλάξεων του όγκου που φαίνεται να προβλέπει καλύτερη απάντηση στην θεραπεία όταν είναι υψηλό και η χλωρίδα του γαστρεντερικού σωλήνα. Παρ' όλα αυτά χρειάζεται ακόμη πολλή έρευνα στο συγκεκριμένο πεδίο.^{6 10 57 81 82 83}

Αντίσταση στην ανοσοθεραπεία με αναστολείς σημείων ελέγχου: Ένα άλλο πεδίο που χωρά αρκετή έρευνα είναι και αυτό της ανθεκτικότητας στην θεραπεία με αναστολείς σημείων ελέγχου και των μηχανισμών της. Ανθεκτικότητα στην θεραπεία μπορεί να παρουσιάζεται εξ αρχής, μπορεί όμως να προκύψει και στην πορεία. Οι μηχανισμοί περιλαμβάνουν αλλαγές στο μικροπεριβάλλον του όγκου που καταλήγουν σε περιορισμό της δράσης των T- κυττάρων και της διήθησης του όγκου από κύτταρα του ανοσοποιητικού με αποτέλεσμα μειωμένη εξουδετέρωση των καρκινικών κυττάρων. Η μη αποτελεσματική αντιγονοπαρουσίαση αποτελεί μια ευκαιρία των όγκων για ανοσοδιαφυγή. Η απώλεια νεοαντιγόνων ή η τροποποίησή τους ευθύνεται για αυτό, ενώ πρόσφατα διαπιστώθηκαν σε αρκετά μελανώματα ανθεκτικά στην αντι PD-1 θεραπεία μεταλλάξεις στην β2- μικροσφαιρίνη. Αυτή είναι μια πρωτεΐνη απαραίτητη για την αναδίπλωση των μορίων MHC τάξης 1 και την μεταφορά τους στην επιφάνεια των κυττάρων όπου επιτελούν τον ρόλο τους στην αντιγονοπαρουσίαση. Επίσης μεταλλάξεις σε γονίδια που συμμετέχουν στο σηματοδοτικό μονοπάτι της IFN-γ σχετίζονται με την αντίσταση στην θεραπεία με αναστολείς σημείων ελέγχου είτε την εξ αρχής είτε την επίκτητη. Ανοσοκατασταλτικοί παράγοντες εκκρινόμενοι από τα καρκινικά κύτταρα στο μικροπεριβάλλον του όγκου επίσης συνεισφέρουν στην ανάπτυξη αντίστασης στην θεραπεία. Ένα τέτοιο παράδειγμα είναι ο TGF-β που διεγείρει τα T-ρυθμιστικά κύτταρα και βλάπτοντας την T-κυτταρική λειτουργία. Η ύπαρξη επιπρόσθετων σημείων ελέγχου κατά την διάρκεια της ενεργοποίησης της ανοσολογικής απάντησης εκτός των CTLA-4 και PD-1 είναι δεδομένη και είναι πιθανό κατά την διάρκεια της ανοσοθεραπείας με αναστολείς CTLA-4 ή PD-1, η έκφραση αυτών των επιπρόσθετων

σημείων ελέγχου να ρυθμίζεται προς τα πάνω αυξάνοντας την δράση τους, οδηγώντας έτσι σε αντίσταση στην θεραπεία. Τέλος υπάρχουν κυτταρικοί πληθυσμοί του ανοσοποιητικού συστήματος που διηθούν τον όγκο που συμβάλλουν στην ανάπτυξη αντοχής στην θεραπεία με αναστολείς CTLA-4 και PD-1. Ένας τέτοιος είναι τα MDSCs, ο ανοσορυθμιστικός ρόλος των οποίων στον καρκίνο οδηγεί σε ανοσοκαταστολή, προάγει την αγγειογένεση και την μεταστατικότητα του. ^{6 10 84 85}

10.8 Μελλοντικές ανοσοθεραπείες:

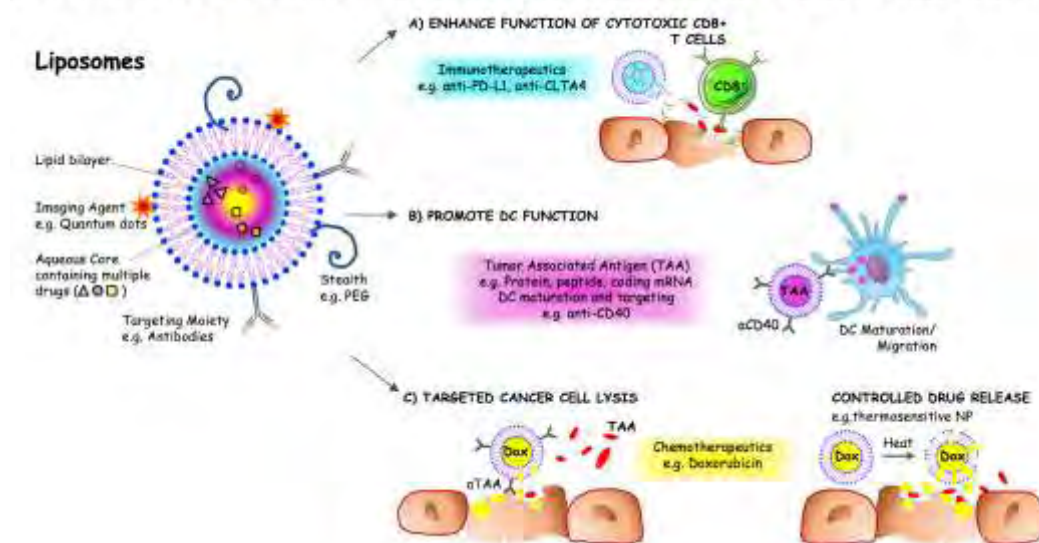
Η επιτυχημένη δράση των αναστολέων CTLA-4 και PD-1 έστρεψε το ενδιαφέρον και σε άλλους αναστολείς σημείων ελέγχου. Τέτοιοι είναι ο LAG-3 που ρυθμίζει αρνητικά τα CD4+ και CD8+ T-λεμφοκύτταρα και απαιτείται για την δράση των T-ρυθμιστικών κυττάρων, ο TIGIT στα ενεργοποιημένα T-κύτταρα, στα κύτταρα φυσικούς φονείς και στα T-ρυθμιστικά, ο TIM-3 και ο VISTA. Αντισώματα που αναστέλλουν την δράση αυτών έχουν ήδη κατασκευαστεί και βρίσκονται σε κλινικές δοκιμές είτε ως μονοθεραπείες είτε σε συνδυασμό με αντι-CTLA-4 ή αντι-PD-1. Παράλληλα αναπτύσσονται και αντισώματα που δρουν ως αγωνιστές για συνδιεγερτικά μόρια της ενεργοποίησης των T-κυττάρων όπως τα CD137, GITR και OX40, πολλά από τα οποία βρίσκονται ήδη σε κλινικές δοκιμές σε συνδυασμό με νιβολουμάμπη. Η είσοδός τους στην ανοσοθεραπεία του μελανώματος αποκαλύπτει μια πληθώρα νέων επιλογών. ^{6 10 59}

Αγωνιστές TLR (toll-like receptor agonists): οι TLR είναι μεμβρανικοί υποδοχείς που ανήκουν στην υπερικογένεια των υποδοχέων IL-1 και επάγουν την παραγωγή κυτοκινών τοπικά όπως η IL-12 και η IFN-α και ενισχύουν την ανοσιακή απόκριση έναντι του όγκου. Οι αγωνιστές TLR μπορούν να δράσουν επικουρικά στην ανοσοθεραπεία με εμβόλια και να ενδυναμώσουν την ανοσιακή απάντηση στο μικροπεριβάλλον του όγκου. Το resiquimod είναι ένας αγωνιστής TLR που φαίνεται να έχει δράση στο προχωρημένο μελάνωμα ενεργοποιώντας τα δενδριτικά κύτταρα. Σε ασθενείς που χρησιμοποιήθηκε επικουρικά της θεραπείας με το εμβόλιο gp-100 παρατηρήθηκε αύξηση της IFN τύπου 1 και IFN-γ και υποστροφή των in transit μεταστάσεων του μελανώματος. Τρέχουσες κλινικές δοκιμές ελέγχουν την δράση των αγωνιστών TLR σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία ή με άλλες ανοσοθεραπείες. ⁵²

Νανομόρια: η πρόοδος που έχει σημειωθεί στον κλάδο της νανοϊατρικής τα τελευταία χρόνια παρέχει την δυνατότητα χρήσης της νανοτεχνολογίας σε συνδυασμό με την

ανοσοθεραπεία με στόχο την επίτευξη καλύτερου θεραπευτικού αποτελέσματος στο μελάνωμα. Τα λιποσώματα και τα πολυμερή νανομόρια μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν φορείς φαρμακευτικών ουσιών ή νουκλεϊκών οξέων με το πλεονέκτημα της μικρότερης τοξικότητας, ενώ παράλληλα ενισχύουν την σταθερότητα των ουσιών αυτών εμποδίζοντας την αποδόμησή τους και παρέχοντας μεγαλύτερης διάρκειας απελευθέρωση του φαρμάκου. Τα πολυμερή νανομόρια μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν και ως φορείς καρκινικών αντιγόνων, ενώ στην επιφάνειά τους μπορούν να προστεθούν μόρια όπως αντισώματα τα οποία θα κάνουν πιο στοχευμένη την δράση τους. Επί του παρόντος πολλά ανοσοθεραπευτικά φάρμακα εισάγονται σε πολυμερή νανομόρια και δοκιμάζονται κλινικά σε δοκιμές φάσης 1-3. Δεδομένου ότι είναι βιοδιασπώμενα, πιο οικονομικά συγκριτικά με άλλες θεραπείες (για παράδειγμα σε σύγκριση με την *ex vivo* τροποποίηση κυττάρων) και με μεγάλο εύρος δράσης, τα πολυμερή νανομόρια φαίνεται να ανοίγουν νέους ορίζοντες στη θεραπεία του μελανώματος.^{6 10}

NANOPARTICLES AS MULTIFUNCTIONAL IMMUNOTHERAPEUTICS IN CANCER TREATMENT



Εικόνα 8: η πολυλειτουργικότητα των νανομορίων στην θεραπεία κατά του καρκίνου. Τα πολυμερή νανομόρια μπορούν να σχεδιαστούν ανάλογα με τις εκάστοτε ανάγκες σε διάφορα μεγέθη, με ποικίλα υλικά και με διάφορες τροποποιήσεις στην επιφάνειά τους ώστε να εφαρμοσθούν στην ανοσοθεραπεία του καρκίνου. Στην επιφάνειά τους μπορούν να προστεθούν συγκεκριμένα αντισώματα, ώστε να εξειδικευθεί η δράση τους έναντι συγκεκριμένου τύπου κυττάρων. Τα λιποσώματα είναι συνθετικοί φορείς που αποτελούνται από φωσφολιπίδια και χοληστερόλη γύρω από έναν υδαρή πυρήνα. Τα νανομόρια όπως τα λιποσώματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν φορείς για την ταυτόχρονη μεταφορά πολλαπλών παραγόντων όπως είναι Α) ανοσοθεραπευτικά μέσα (πχ anti-PD L1, anti-CTLA-4) που ενισχύουν τη δράση των ογκοειδικών T-κυττάρων Β) ογκοσυσχετιζόμενα αντιγόνα (TAA) και ενισχυτές που στοχεύουν τα δενδριτικά κύτταρα για να ενδυναμώσουν τη δράση τους C) χημειοθεραπευτικά μέσα που απελευθερώνονται καταστρέφοντας τα καρκινικά κύτταρα. Hassan Sadozai, et al. Front Immunol. 2017;8:1617.

11 Συμπεράσματα

Συνοψίζοντας τα παραπάνω, η έκρηξη στο πεδίο της ανοσοθεραπείας στο μελάνωμα ανοίγει νέους δρόμους για τους ασθενείς και είναι πολύ πιθανό το μεταστατικό μελάνωμα να μετατραπεί από θανατηφόρο σε μια χρόνια νόσο. Παράλληλα η πρόοδος αυτή που σημειώνεται στην ανοσοθεραπεία του μελανώματος το καθιστά και έναν υποδειγματικό όγκο για την εφαρμογή εξατομικευμένων θεραπειών που θα προσφέρουν ακόμη καλύτερα αποτελέσματα. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω πολλά μόρια βρίσκονται σε κλινικές δοκιμές ώστε να χρησιμοποιηθούν ως ανοσοθεραπεία του μελανώματος. Το a LAG-3 αντίσωμα BMS986016 εξετάζεται σε κλινική δοκιμή (NCT01968109) ως μονοθεραπεία αλλά και σε συνδυασμό με νιβολουμάμπη. Κλινικές δοκιμές σε συνδυασμό με νιβολουμάμπη γίνονται και για αντισώματα – αγωνιστές των συνδιεγερτικών μορίων CD137, OX40 και GITR. Μία ακόμη δοκιμή που βρίσκεται σε εξέλιξη με ενθαρρυντικά αποτελέσματα για το μεταστατικό μελάνωμα αφορά το μόριο epacadostat (αναστολέας IDO) σε συνδυασμό με pembrolizumab και βρίσκεται σε φάση 3 (NCT02752074). Εντατική έρευνα γίνεται και στο πεδίο των CAR υποδοχέων, ώστε να εφαρμοσθούν και στην θεραπεία συμπαγών όγκων μεταξύ των οποίων και το μελάνωμα, μετά τα θετικά τους αποτελέσματα στις αιματολογικές κακοήθειες. Ο συνδυασμός της κυτταρικής ανοσοθεραπείας με αναστολείς σημείων ελέγχου ερευνάται επίσης (με νιβολουμάμπη – NCT02652455), όπως επίσης και με την στοχεύουσα θεραπεία (βεμουρατενίμπη – NCT01659151). Μία άλλη τρέχουσα κλινική δοκιμή (NCT02224781) αφορά την ακολουθία της θεραπείας με αναστολείς σημείων ελέγχου και στοχεύουσα θεραπεία, δηλαδή αν οι αναστολείς σημείων ελέγχου θα πρέπει να προηγούνται ή να έπονται. Η κλινική δοκιμή NCT02263508 συγκρίνει τον συνδυασμό του T-VEC με το pembrolizumab σε αντιδιαστολή με την μονοθεραπεία με pembrolizumab και βρίσκεται σε φάση Ib/3, ενώ η φάσης Ib/2 δοκιμή NCT01740297 αντιπαραθέτει την αποτελεσματικότητα του συνδυασμού T-VEC- ιπιμουμάμπης με αυτήν της μονοθεραπείας με ιπιμουμάμπη. Φαίνεται λοιπόν ότι βρισκόμαστε ακόμη στην αρχή των όσων πρόκειται να δούμε να εξελίσσονται στο πεδίο της ανοσοθεραπείας του μελανώματος.^{6 43 70}

Βιβλιογραφία

1. Δερματολογία Αφροδισιολογία- Χρυσομάλλης και συνεργάτες (2005)
2. Regad T., *Cell. Mol. Life Sci.* (2013) 70:4055–4065
3. Erickson CA, Reedy MV (1998) Neural crest development: the interplay between morphogenesis and cell differentiation. *Curr Top Dev Biol* 40:177–209
4. Jin EJ et al(2001) Wnt and BMP signaling govern lineage segregation of melanocytes in the avian embryo. *Dev Biol* 233(1):22–37
5. Dorsky RI, Moon RT, Raible DW (1998) Control of neural crest cell fate by the Wnt signalling pathway. *Nature* 396(6709):370–373
6. Hassan Sadozai et al (2017) Recent Successes and Future Directions in Immunotherapy of Cutaneous Melanoma. *Frontiers in Immunology* 8: 1617
7. Bandarchi B et al (2013) Molecular biology of normal melanocytes and melanoma cells. *J Clin Pathol* 66(8):644-648
8. Shain AH, Bastian BC. (2016) From melanocytes to melanomas. *Nat Rev Cancer* 16(6):345–358
9. Ali Z et al (2013) Melanoma epidemiology, biology and prognosis. *EJC Suppl* 11(2):81–91
10. Natalie H. Matthews et al (2017) cutaneous melanoma: etiology and therapy Brisbane (AU): Codon Publications
11. Rastrelli M. et al (2014) *in vivo* 28:1005-1012
12. Apalla Z. et al (2017) *Dermatol Ther (Heidelb)* 7 :5-19
13. Garbe C, Leiter U. (2009) Melanoma epidemiology and trends. *Clin Dermatol.*27(1):3–9
14. Siegel RL et al (2017). *Cancer statistics, 2017. CA Cancer J Clin* 67(1):7–30
15. Garibyan L. Fisher DE (2010) How sunlight causes melanoma *Curr Oncol Rep.* 12(5):319–26
16. Sera F. et al (2015)Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: II. Sun exposure. *Eur J Cancer* 41: 45-60
17. Le Clair MZ, Cockburn MG.(2016) Tanning bed use and melanoma: establishing risk and improving prevention interventions. *Prev Med Reports* 14(3):139–44

18. Bevona C. et al (2003) Cutaneous melanomas associated with nevi. *Arch Dermatol* 139: 1620-1624
19. Leachman SA et al (2009) Selection criteria for genetic assessment of patients with familial melanoma. *J Am Acad Dermatol.* ;61(4):677.e1–14
20. Gumaste PV et al (2015) Skin cancer risk in BRCA1/2 mutation carriers. *Br J Dermatol.* 172(6):1498–506
21. Pasty EL et al (2010) Defining the patient at high risk for melanoma. *Int J Dermatol.* 49(4):362–76
22. Scolyver RA et al (2011) Evolving concepts in melanoma classification and their relevance to multidisciplinary melanoma patient care. *Mol Oncol* 5(2):124–36
23. Sloot S. et al (2014) Intralesional therapy for metastatic melanoma. *Exp Opin Pharmacother.*15(18):2629–39
24. Alegre E. et al (2015) Circulating biomarkers in malignant melanoma. *Adv Clin Chem.*69:47–89

25. Vereecken P. et al (2012) A synopsis of serum biomarkers in cutaneous melanoma patients. *Dermatol Res Pract.* 2012:260643
26. Tandler N. et al (2012) Protein and non-protein biomarkers in melanoma: A critical update. *Amino Acids.* 43:2203–30
27. Davis EJ et al (2018) Melanoma: what do all the mutations mean? *Cancer*
28. Alexandrov LB et al (2013) Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature* 500:415-421
29. Hayward NK et al (2017) Whole-genome landscapes of major melanoma subtypes. *Nature* 545:175-180
30. Sample A, He YY (2018) Mechanisms and prevention of UV-induced melanoma. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 34:13-24
31. Martincorena I. et al (2015) Tumor evolution. High burden and pervasive positive selection of somatic mutations in normal human skin. *Science* 348: 880-886
32. Mackiewicz J., Mackiewicz A.(2018) BRAF and MEK inhibitors in the era of immunotherapy in melanoma patients *Contemp Oncol (Pozn)* 22(1A): 68-72
33. Long GV et al (2011) Prognostic and clinicopathologic associations of oncogenic BRAF in metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 29:1239-46

34. Damsky WE, Bosenberg M.(2017) Melanocytic nevi and melanoma: unraveling a complex relationship *Oncogene* 36:5771-5792
35. Akbani R. et al (2015) Genomic classification of cutaneous melanoma. *Cell* 161: 1681-96
36. Mandala M. (2014) NRAS in melanoma: targeting the undruggable target. *Crit Rev Oncol Hematol* 92:107-122
37. Curtin JA et al (2005) Distinct sets of genetic alterations in melanoma. *N Engl J Med* 353:2135-2147
38. Maertens O. et al (2013) Elucidating distinct roles for NF1 in melanomagenesis. *Cancer Discov.* 3:338-349
39. Kiuru M, Busam KJ (2017) The NF1 gene in tumor syndromes and melanoma. *Lab Invest* 97:146-157
40. Larribere L, Utikal J. (2016) Multiple roles of NF1 in the melanocyte lineage. *Pigment Cell Melanoma Res* 29(4):417-425
41. Reddy BY et al (2017) Somatic driver mutations in melanoma. *Cancer* 123(S11) :2104-2117
42. Hartman ML, Czyz M. (2015) MITF in melanoma: mechanisms behind its expression and activity. *Cell Mol Life Sci* 72(7):1249-1260
43. Hildur Helgadóttir et al (2018) Personalized medicine in malignant melanoma: towards patient tailored treatment *Front Oncol* 8:202
44. Shtivelman E et al (2014) Pathways and therapeutic targets in melanoma *Oncotarget* 5:1701-1752
45. Coricovac D. et al (2018) Cutaneous Melanoma- A Long Road from Experimental Models to Clinical Outcome: a Review. *Int J Mol Sci* 19:1566
46. Krauthammer M et al (2012) Exome sequencing identifies recurrent somatic RAC1 mutations in melanoma *Nat Genet.* 44:1006-1014
47. Martinez- Cardus A.et al (2015) Epigenetic mechanisms involved in melanoma pathogenesis and chemoresistance. *Ann Transl Med* 3 (15):209
48. Moran B. et al (2017) Epigenetics of Malignant Melanoma. *Seminars in Cancer Biology*
49. M.A. Dawson, T. Kouzarides (2012) Cancer Epigenetics: From Mechanism to Therapy. *Cell* 150: 12-27
50. Strojjan P. (2010) Role of radiotherapy in melanoma management. *Radiol Oncol* 44(1): 1-12

51. Corrie P. et al (2014) Management of Melanoma. *Br Med Bull* 111(1) :149-162
52. Domingues B. et al (2018) Melanoma treatment in review. *Immunotargets Ther.* 7: 35-49
53. Luke JJ, Schwartz GK (2013) Chemotherapy in the management of advanced cutaneous malignant melanoma. *Clin Dermatol.* 31(3): 290-297
54. Alcalá AM, Flaherty KT (2012) BRAF inhibitors for the treatment of metastatic melanoma: clinical trials and mechanisms of resistance. *Clin Cancer Res* 18: 33-39
55. Kim KB et al (2013) Phase 2 study of the MEK1/MEK2 inhibitor trametinib in patients with metastatic BRAF-mutant cutaneous melanoma previously treated with or without a BRAF inhibitor. *J Clin Oncol* 31: 482-489
56. Robert C. et al (2015) Improved overall survival in melanoma with combined dabrafenib and trametinib. *N Engl J Med* 372: 30-39
57. Van den Bulk j. et al (2018) Cancer immunotherapy: broadening the scope of targetable tumours. *Open Biol* 8
58. Yang Y. (2015) Cancer immunotherapy: harnessing the immune system to battle cancer. *J Clin Invest* 125(9) : 3335-7
59. Martina Sanlorenzo et al. (2014) Melanoma immunotherapy. *Cancer Biol Ther.* 15(6) : 665-674
60. Anna Passarelli et al (2017) Immune system and melanoma biology: a balance between immunosurveillance and immune escape. *Oncotarget* 8(62) : 106132-106142
61. Dunn GP. et al (2002) Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol* 3: 991-998
62. Jacobs JF et al (2012) Regulatory T-cells in melanoma: the final hurdle towards effective immunotherapy? *Lancet Oncol.* 13: e32-42
63. Ilyas S, Yang JC (2015) Landscape of tumor antigens in T-cell immunotherapy. *J Immunol.* 195 : 5117-5122
64. Gajewski TF et al (2013) Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment. *Nat Immunol.* 14: 1014-1022
65. Hervas – Stubbs S. et al (2011) Direct effects of type 1 interferons on cells of the immune system. *Clin Cancer Res.* 17: 2619-2627

66. Bhatia S. et al (2009) Treatment of metastatic melanoma: an overview
Oncology (Williston Park) 23:488-496
67. Boyd KU et al (2011) Intra-lesional interleukin -2 for the treatment of in-transit melanoma. J Surg Oncol 104: 711-717
68. Farkona S. et al (2016) Cancer immunotherapy : the beginning of the end of cancer? BMC Med 14:73
69. Constantino J. et al (2016) Antitumor dendritic cell-based vaccines: lessons from 20 years of clinical trials and future perspectives. Transl Res 168: 74-95
70. Franklin C. et al (2017) Immunotherapy in melanoma: Recent advances and future directions. Eur J Surg Oncol 43: 604-611
71. Baruch EN et al (2017) Adoptive T cell therapy: an overview of obstacles and opportunities. Cancer 123(S11): 2154-2162
72. Rosenberg SA, Restifo NP (2015) Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer. Science 348 (6230) :62-68
73. Baumeister SH et al (2016) Coinhibitory pathways in immunotherapy for cancer. Annu Rev Immunol 34 (1): 539-573
74. Fife BT, Bluestone JA (2008) Control of peripheral T- cell tolerance and autoimmunity via the CTLA-4 and PD-1 pathways. Immunol Rev 224: 166-182
75. Michot JM et al (2016) Immune-related adverse events with immune checkpoint blockade: a comprehensive review. Eur J Cancer 54:139-148
76. Eggermont A.M.M. et al (2015) Immune Checkpoint Inhibitors in Melanoma Provide the Cornerstones for Curative Therapies. Seminars in Oncology 42: 429-435
77. Simon S. and Labarriere N. (2018) PD-1 expression on tumor-specific T cells: Friend or foe for immunotherapy? Oncoimmunology 7 (1):e1364828
78. Sunshine JC et al (2017) PD-L1 expression in melanoma: a quantitative immunohistochemical antibody comparison. Clin Cancer Res 23(16): 4938-4944
79. Baitsch L. et al (2011) Exhaustion of tumor-specific CD8(+) T-cells in metastases from melanoma patients. J Clin Invest 121 (6): 2350-2360
80. Iwai Y. et al (2017) Cancer immunotherapies targeting the PD-1 signaling pathway. J Biomed Sci 24(1): 26

81. Teng MW et al (2015) Classifying cancers based on T cell infiltration and PD-L1. *Cancer Res* 75 (11): 2139-2145
82. Schumacher TN, Schreiber RD (2015) Neoantigens in cancer immunotherapy. *Science* 348(6230):69-74
83. Vetizou M.et al (2015) Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota. *Science* 350(6264):1079-1084
84. Sharma P.et al (2017) Primary, adaptive, and acquired resistance to cancer immunotherapy. *Cell* 168(4):707-723
85. Sucker A. et al (2014) Genetic evolution of T cell resistance in the course of melanoma progression. *Clin Cancer Res* 20(24):6593-6604