



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών
ΜΠΣ Βιοϊατρικές μέθοδοι και τεχνολογία στη διάγνωση

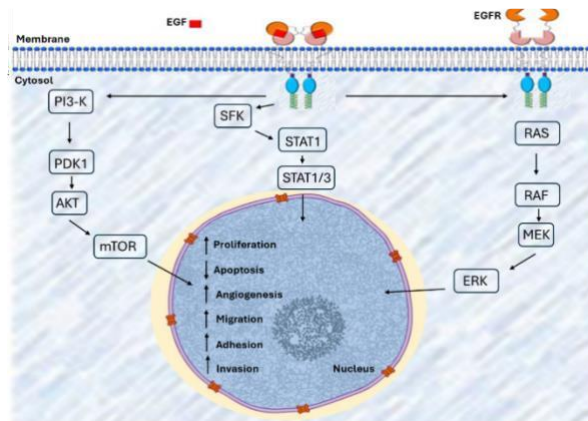


ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Η προγνωστική αξία της ανοσοέκφρασης του υποδοχέα επιδερμικού αυξητικού παράγοντα EGFR/ErbB σε ασθενείς με μελάνωμα

POST GRADUATE THESIS

The prognostic value of epidermal growth factor receptor EGFR/ErbB immunoexpression in melanoma patients



ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ(ΤΩΝ)/NAME OF STUDENTS

Γεωργία Σαλαγιάννη
Georgia Salagianni

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

Δρ Φραγκίσκη Ανθούλη-Αναγνωστοπούλου, PhD
Dr Fragkiski Anthouli-Anagnostopoulou, PhD

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2024



Faculty of Health and Caring Professions
Department of Biomedical Sciences
Postgraduate program:
Biomedical methods and technology in diagnosis



POST GRADUATE THESIS

**The prognostic value of epidermal growth factor receptor EGFR/ErbB
immunoexpression in melanoma patients**

GEORGIA SALAGIANNI

22029

dml22029@uniwa.gr

FIRST SUPERVISOR

FRAGKISKI ANTHOULI-ANAGNOSTOPOULOU

SECOND SUPERVISOR

NIKOLAOS THALASSINOS

AIGALEO 2024

Επιτροπή εξέτασης

Ημερομηνία εξέτασης: 01/10/2024

| | Ονόματα εξεταστών | Υπογραφή |
|---------------------------|---------------------------------------|----------|
| 1 ^{ος} Εξεταστής | Φραγκίσκη Ανθούλη- Αναγνωστοπούλου | |
| 2 ^{ος} Εξεταστής | Νικόλαος Θαλασσινός | |

Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Γεωργία Σαλαγιάννη του Σταύρου, με αριθμό μητρώου 22029 φοιτήτρια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών Βοϊατρικές μέθοδοι και Τεχνολογία στη Διάγνωση του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Η Δηλούσα

Γεωργία Σαλαγιάννη



Ευχαριστίες

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλαν στην εκπόνηση αυτής της επιστημονικής προσπάθειας. Ιδιαίτερως, εκφράζω τη βαθύτατη ευγνωμοσύνη μου στους επιβλέποντες καθηγητές μου, την καθηγήτρια Φραγκίσκη Ανθούλη και τον επίκουρο καθηγητή Νικόλαο Θαλασσινό, για την καθοδήγησή τους και την πολύτιμη βοήθειά τους όποτε αυτή απαιτήθηκε. Επιπλέον, θέλω να ευχαριστήσω τα αξιόλογα μέλη της επιτροπής εξέτασης που με τίμησαν με τη συμμετοχή τους στην παρούσα διπλωματική. Τέλος, εκφράζω την ειλικρινή μου ευγνωμοσύνη στο ακλόνητο σύστημα υποστήριξής μου – τον σύζυγο μου και τα παιδιά μου.

Περίληψη

Στον τομέα της ογκολογικής έρευνας, ο προσδιορισμός προγνωστικών δεικτών είναι κρίσιμη διαδικασία, προσφέροντας πολύτιμες πληροφορίες για την εξέλιξη της νόσου, τη θεραπευτική ανταπόκριση και την έκβαση των ασθενών. Το μελάνωμα, μια από τις πιο συχνές και επιθετικές δερματικές κακοήθειες, χαρακτηρίζεται από την πρώιμη μετάσταση και αποτελεί τον πιο θανατηφόρο καρκίνο του δέρματος. Ο υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR), επίσης γνωστός ως ErbB-1, είναι μια κινάση τυροσίνης που ανήκει στην οικογένεια ErbB. Τα τελευταία χρόνια, οι μοριακές μελέτες έχουν ρίξει φως στα περίπλοκα μονοπάτια που διέπουν την ανάπτυξη και την εξέλιξη του μελανώματος, μεταξύ των οποίων ο EGFR έχει αναδειχθεί να παίζει σημαντικό ρόλο.

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν η ανασκόπηση και σύνθεση της υπάρχουσας βιβλιογραφίας σχετικά με την προγνωστική σημασία του EGFR στο μελάνωμα. Μέσω συστηματικής ανάλυσης και κριτικής αξιολόγησης πειραματικών δεδομένων, η εργασία εστίασε στη διερεύνηση των μοριακών μηχανισμών που εμπλέκονται στις προγνωστικές επιπτώσεις του EGFR, καθώς και στη χρησιμότητά του ως βιοδείκτη για τη θεραπευτική ανταπόκριση.

Τα ευρήματα δείχνουν ότι η έκφραση του EGFR στο μελάνωμα παίζει σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη, κινητικότητα και πρωτεολυτική ικανότητα των καρκινικών κυττάρων, προάγοντας τη μετάσταση και επηρεάζοντας αρνητικά την πρόγνωση. Ο EGFR σχετίζεται με το πάχος του όγκου, τη μετάσταση και την επιθετικότητα του μελανώματος, ενώ ρυθμίζει την ανοσολογική απόκριση. Επιπλέον, κρίσιμοι μηχανισμοί που επηρεάζουν την εξέλιξη του μελανώματος και προσφέρουν νέες θεραπευτικές δυνατότητες αναδεικνύονται από την ανασκόπηση. Συγκεκριμένα, η μείωση της πρωτεΐνης KIF22 καταστέλλει τον πολλαπλασιασμό και τη γλυκόλυση, ενώ προάγει την απόπτωση μέσω απενεργοποίησης του EGFR/STAT3. Η IGFBP2 ρυθμίζει το PD-L1 μέσω του άξονα EGFR-STAT3, ενώ ο NRF2 είναι απαραίτητος για την ενεργοποίηση του EGFR/AKT. Επιπλέον, η ανασκόπηση αποκαλύπτει τη σύνθετη επίδραση του EGFR στην ανθεκτικότητα του μελανώματος, καθώς κύτταρα με υψηλή έκφραση EGFR δείχνουν ανθεκτικότητα στη βεμουραφενίμπη, συσχετιζόμενη με αυξημένη ενεργοποίηση των Erk, FRA-1 και PD-L1. Η απώλεια της ACK1 και του MITF ενισχύει την σηματοδότηση του EGFR, ενώ μη

αναστρέψιμοι EGFR-TKIs, κουρκουμίνη, ροσμαρινικό οξύ και αναστολείς BET προτείνονται ως νέες θεραπευτικές στρατηγικές για την αντιμετώπιση της ανθεκτικότητας.

Συμπερασματικά, ο EGFR στο μελάνωμα έχει σημαντική προγνωστική αξία, επηρεάζοντας την εξέλιξη, την επιθετικότητα και την ανθεκτικότητα του καρκίνου.

Λέξεις κλειδιά: Υποδοχέας επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR), πρόγνωση, μελάνωμα, βιοδείκτες, θεραπεία.

Abstract

In oncology research, the identification of prognostic markers is a critical process that provides valuable information about disease progression, treatment response, and patient outcome. Melanoma, one of the most common and aggressive skin malignancies, is characterized by early metastasis and is the most lethal form of skin cancer. The epidermal growth factor receptor (EGFR), also known as ErbB-1, is a tyrosine kinase belonging to the ErbB family. In recent years, molecular studies have shed light on the complex pathways underlying the development and progression of melanoma, in which EGFR has been shown to play an important role.

The aim of this work was to review and synthesise the existing literature on the prognostic significance of EGFR in melanoma. Through systematic analysis and critical appraisal of experimental data, the thesis focused on investigating the molecular mechanisms involved in the prognostic impact of EGFR, as well as its utility as a biomarker for therapeutic response.

The results suggest that EGFR expression in melanoma plays an important role in the progression, motility, and proteolytic capacity of cancer cells, promoting metastasis and adversely affecting prognosis. EGFR is associated with tumor thickness, metastasis and aggressiveness of melanoma and regulates the immune response. In addition, the review highlights critical mechanisms that influence melanoma progression and offer new therapeutic opportunities. In particular, KIF22 depletion suppresses proliferation and glycolysis while promoting apoptosis through EGFR/STAT3 inactivation. IGFBP2 regulates PD-L1 through the EGFR-STAT3 axis, while NRF2 is required for EGFR/AKT activation. The review also highlights the complex effect of EGFR on melanoma resistance, as cells with high EGFR expression show resistance to vemurafenib, which is associated with increased activation of Erk, FRA-1, and PD-L1. Loss of ACK1 and MITF enhances EGFR signaling and irreversible EGFR TKIs, curcumin, rosmarinic acid and BET inhibitors are proposed as novel therapeutic strategies to overcome resistance.

In conclusion, EGFR in melanoma has significant prognostic value and influences cancer progression, aggressiveness and resistance.

Key words: Epidermal growth factor receptor (EGFR), prognosis, melanoma, biomarkers, therapy.

Περιεχόμενα

| | |
|---|------|
| | i |
| Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας..... | iv |
| Ευχαριστίες | v |
| Περίληψη | vi |
| Abstract | viii |
| Συνομογραφίες | xi |
| Πρόλογος..... | 1 |
| Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή | 3 |
| 1.1. Επιδημιολογία του μελανώματος..... | 3 |
| 1.2. Παράγοντες κινδύνου | 4 |
| 1.2.1. Έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία | 4 |
| 1.2.2. Μελανοκυτταρικοί σπίλοι | 5 |
| 1.2.3. Φύλο και Ηλικία | 6 |
| 1.2.4. Οικογένεια και γενετικοί παράγοντες | 6 |
| 1.3. Διάγνωση | 7 |
| 1.4. Μελανογένεση..... | 8 |
| Κεφάλαιο 2. Η έκφραση του EGFR στο μελάνωμα..... | 11 |
| 2.1. Δομή και τρόπος ενεργοποίησης του EGFR | 11 |
| 2.2. Μελέτες..... | 13 |
| 2.2.1. Η ανοσοέκφραση του EGFR στο μελάνωμα και η συσχέτιση με τη πρόοδο της νόσου | 14 |
| 2.2.2. Αλληλεπίδραση διαφορετικών δεικτών στο μελάνωμα μέσω της σηματοδότησης του EGFR..... | 21 |
| 2.2.3. Η συμμετοχή του EGFR στην ανάπτυξη αντίστασης στους BRAF αναστολείς .. | 23 |
| 2.2.4. Τελευταίες εξελίξεις στη θεραπεία του μελανώματος με στόχο τον EGFR | 26 |
| Κεφάλαιο 3. Συμπεράσματα..... | 31 |
| Κεφάλαιο 4. Μελλοντικές Κατευθύνσεις | 34 |
| Αναφορές | 38 |
| Πηγές Εικόνων..... | 45 |

Συντομογραφίες

| Abbreviation | Αγγλική Ορολογία | Ελληνική Ορολογία |
|---------------------|---|---|
| ACK1 | Activated CDC42 kinase 1 | CDC42 ενεργοποιημένη κινάση 1 |
| ADAM17 | A disintegrin and metalloprotease 17 | ADAM17 |
| AKT | Protein Kinase B | Πρωτεΐνη Κινάσης B |
| Bcl-2 | B-cell lymphoma 2 | Bcl-2 |
| BLM | BRO Lung Metastasis | Κυτταρική Σειρά BLM |
| BM | Brain Metastasis | Μετάσταση εγκεφάλου |
| BRAF | v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B | BRAF |
| BRAFis | BRAF inhibitors | Αναστολείς BRAF |
| BRD4 | Bromodomain-containing protein 4 | Πρωτεΐνη BRD4 |
| CAAs | Cancer-associated adipocytes | Λιποκύτταρα που σχετίζονται με καρκίνο |
| CAFs | Cancer-Associated Fibroblasts | Ινοβλάστες που σχετίζονται με καρκίνο |
| CDK4 | Cyclin-Dependent Kinase 4 | Κυκλινο-εξαρτώμενη κινάση 4 |
| CDKN2A | Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A | Αναστολέας κυκλινοεξαρτώμενης κινάσης 2A |
| DFS | Disease Free Survival | Επιβίωση χωρίς νόσο |
| ECM | Extracellular Matrix | Εξωκυττάρια μήτρα |
| EGFR | Epidermal Growth Factor Receptor | Υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα |
| Eph2A | Ephrin Type-A Receptor 2 | Υποδοχέας Eph2A |

| | | |
|--------|---|---|
| Erk | Extracellular signal-regulated kinases | Ρυθμιζόμενες από εξωκυτταρικό σήμα κινάσες |
| FAMMM | Familial Atypical Multiple Mole Melanoma Syndrome | Σύνδρομο οικογενούς μελανώματος – δυσπλαστικών σπίλων |
| FISH | Fluorescence In Situ Hybridization | Φθορίζων In Situ Υβριδισμός |
| FRA-1 | Fos-related antigen 1 | Πρωτεΐνη FRA-1 |
| GSK3β | Glycogen Synthase Kinase 3 Beta | Κινάση της συνθάσης γλυκογόνου-3 βήτα |
| IC50 | Half maximal inhibitory concentration | Το ήμισυ της μέγιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης |
| ICIs | Immune Checkpoint Inhibitors | Αναστολείς Ανοσολογικών Σημείου Ελέγχου |
| IGFBP2 | Insulin-like Growth Factor Binding Protein 2 | Πρωτεΐνη IGFBP2 |
| IL1B | Interleukin 1 Beta | Ιντερλευκίνη 1 Βήτα |
| KIF22 | Kinesin Family Member 22 | Πρωτεΐνη KIF22 |
| LNM | Lymph Node Metastasis | Λεμφαδενική Μετάσταση |
| MAGEC1 | Melanoma Antigen Gene C1 | Γονίδιο MAGEC1 |
| MAPK | Mitogen-Activated Protein Kinase | Πρωτεϊνική Κινάση Ενεργοποιημένη από Μιτογόνο |
| MDSC | Myeloid-Derived Suppressor Cells | Μυελοειδή Κατασταλτικά Κύτταρα |
| MEK | Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase | Μιτογόνο-Ενεργοποιημένη Κινάση Μιτογόνου |
| MET | Mesenchymal-Epithelial Transition | Μεσεγχυματική-Επιθηλιακή Μετάβαση |

| | | |
|--------|--|---|
| MITF | Microphthalmia-Associated Transcription Factor | Μεταγραφικός Παράγοντας MITF |
| MMP2 | Matrix Metalloproteinase 2 | Μεταλλοπρωτεΐνάση Μήτρας-2 |
| MMP9 | Matrix Metalloproteinase 9 | Μεταλλοπρωτεΐνάση Μήτρας-9 |
| mTOR | Mammalian Target of Rapamycin | Στόχος Ραπαμυκίνης των Θηλαστικών |
| NF1 | Neurofibromin 1 | Νευροϊνωμάτωση 1 |
| NRAS | Neuroblastoma RAS Viral (V-Ras) Oncogene Homolog | Ογκογονίδιο NRAS |
| NRF2 | Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2 | Πυρηνικός Παράγοντας Ερυθροειδούς 2 |
| OS | Overall Survival | Συνολική Επιβίωση |
| PD-L1 | Programmed Death-Ligand 1 | Πρωτεΐνη PD-L1 |
| PFS | Progression Free Survival | Επιβίωση Χωρίς Εξέλιξη της Νόσου |
| PI3K | Phosphoinositide 3-Kinase | Φωσφοϊνοσιτιδική 3-Κινάση |
| PM | Plasma Membrane | Πλασματική Μεμβράνη |
| PTEN | Phosphatase and Tensin Homolog | Φωσφατάση και Το Ομόλογο Τενσίνης |
| RA | Rosmarinic Acid | Ροσμαρινικό Οξύ |
| ROS | Reactive Oxygen Species | Δραστικές Μορφές Οξυγόνου |
| RT-PCR | Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction | Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης με Αντίστροφη Μεταγραφή |
| SFK | Src Family Kinases | Κινάσες της Οικογένειας Src |
| SPINK6 | Serine Peptidase Inhibitor Kazal Type 6 | Αναστολέας Πρωτεάσης Σερινών Kazal Type 6 |

| | | |
|-------|--|--|
| SRC | Proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src | Πρωτο-ογκογονίδιο SRC |
| STAT3 | Signal Transducer and Activator of Transcription 3 | Μετατροπέας Σήματος και Ενεργοποιητής της Μεταγραφής 3 |
| TGFA | Transforming Growth Factor Alpha | Παράγοντας Μετασηματισμού Αυξητικού Παράγοντα Άλφα |
| TKI | Tyrosine Kinase Inhibitors | Αναστολείς Κινάσης Τυροσίνης |
| TPD | Targeted Protein Degradation | Στοχευμένη Αποικοδόμηση Πρωτεϊνών |
| WT | Wild Type | Άγριου Τύπου |

Πρόλογος

Στον τομέα της ογκολογικής έρευνας, ο προσδιορισμός και η επικύρωση προγνωστικών δεικτών αποτελεί κομβική προσπάθεια, παρέχοντας πληροφορίες για την εξέλιξη της νόσου, τη θεραπευτική ανταπόκριση και τη συνολική έκβαση των ασθενών. Το μελάνωμα είναι ένας τύπος καρκίνου του δέρματος που προκαλείται από κακοήγη ανάπτυξη των μελανοκυττάρων, με τη συχνότητα εμφάνισης του να αυξάνεται ραγδαία παγκοσμίως. Σύμφωνα με τα στατιστικά δεδομένα έρευνας στις Ηνωμένες Πολιτείες, το μελάνωμα αποτελεί την κύρια αιτία θανάτου από καρκίνο σε νεαρές γυναίκες ηλικίας 25-30 ετών και τη δεύτερη αιτία θανάτου από καρκίνο σε γυναίκες ηλικίας 30-35 ετών. Τα πρωτοπαθή εξωδερμικά μελανώματα μπορεί να είναι οφθαλμικά, γαστρεντερικά, βλεννογονικά, ουρογεννητικά και λεμφικά. Το μελάνωμα θεωρείται ένας από τους πιο επιθετικούς καρκίνους του δέρματος, επιδεικνύοντας ταχεία εξάπλωση και υψηλό επίπεδο ανθεκτικότητας σε παραδοσιακές θεραπείες, αποτελώντας έτσι πρόκληση για τους επιστήμονες και τους κλινικούς γιατρούς που αναζητούν αποτελεσματικές θεραπευτικές προσεγγίσεις. Έτσι, η διερεύνηση νέων προγνωστικών βιοδεικτών για τη βελτίωση της πρόγνωσης και τη λήψη θεραπευτικών αποφάσεων καθίσταται σημαντική.

Ο υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR), είναι μια διαμεμβρανική κινάση τυροσίνης (170 kda) που ανήκει στην οικογένεια πρωτεϊνών HER/ErbB. Διαδραματίζει βασικό ρόλο στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση, τη διαίρεση και την ανάπτυξη. Έχει δείξει επίσης ότι συμβάλλει στην ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων και στις διαδικασίες που οδηγούν στην ανθεκτικότητα στα φάρμακα. Ο EGFR συχνά υπερεκφράζεται στα ανθρώπινα καρκινώματα και μελέτες *in vitro* και *in vivo* έχουν δείξει ότι οι πρωτεΐνες αυτές είναι ικανές να επάγουν τον κυτταρικό μετασχηματισμό. Η υπερέκφραση αυτή έχει συσχετιστεί με την εξέλιξη του όγκου και την κακή έκβαση σε πολλά ανθρώπινα νεοπλάσματα, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού, των επιθηλιακών γαστρεντερικών κακοηθειών, των γλοιωμάτων, του μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα και του ακανθοκυτταρικού καρκινώματος της κεφαλής και του τραχήλου. Επιπλέον, ο EGFR έχει λάβει σημαντική προσοχή στο πλαίσιο της παθογένειας και της πρόγνωσης του μελανώματος. Ωστόσο, η έκφραση του EGFR σε ασθενείς με μελάνωμα παρουσιάζει αντιφατικά δεδομένα. Οι πολλαπλοί του ρόλοι στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την επιβίωση και τη μετάσταση υπογραμμίζουν τη

δυνατότητά του ως προγνωστικού δείκτη στο μελάνωμα. Μέσω ανώμαλων σηματοδοτικών μονοπατιών και απορυθμισμένων προτύπων έκφρασης, ο EGFR επηρεάζει βασικές ογκογενετικές διαδικασίες, γεγονός που υποδηλώνει τη συμμετοχή του στην εξέλιξη της νόσου και τη θεραπευτική αντίσταση.

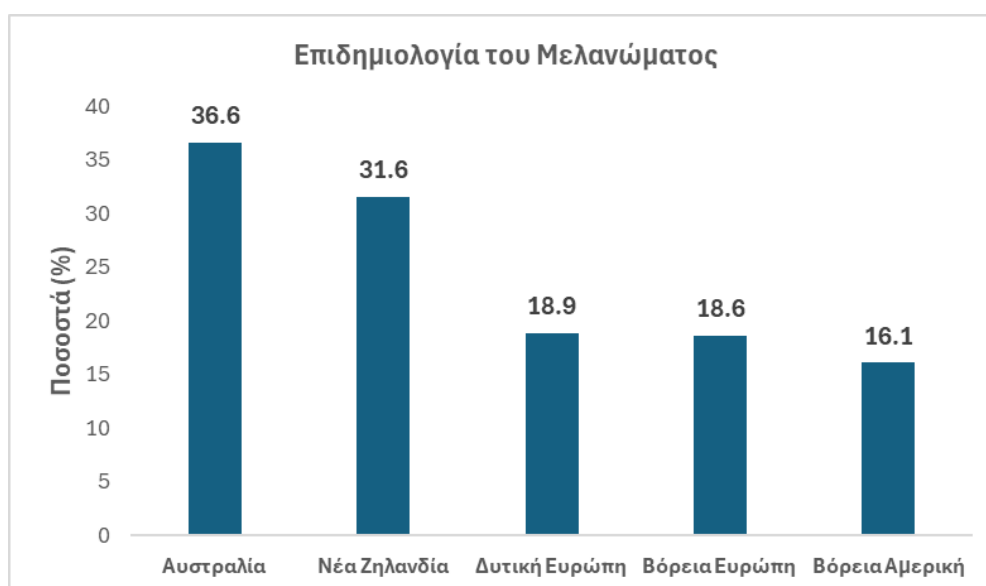
Η διερεύνηση της προγνωστικής αξίας του EGFR στο μελάνωμα εντάσσεται στο ευρύτερο πλαίσιο της μοριακής ογκολογίας, στο οποίο η αλληλεπίδραση μεταξύ γενετικών μεταλλάξεων, σηματοδοτικών μονοπατιών και μικροπεριβαλλοντικών παραγόντων διαμορφώνει τη συμπεριφορά της νόσου και τα κλινικά αποτελέσματα. Με την αποσαφήνιση της μοριακής βάσης της απορρύθμισης του EGFR στο μελάνωμα, οι ερευνητές επιδιώκουν να διαλευκάνουν τον πολύπλοκο ιστό των αλληλεπιδράσεων που καθορίζουν την εξέλιξη της νόσου και τη θεραπευτική ανταπόκριση.

Η παρούσα διπλωματική εργασία αποτελεί μια ολοκληρωμένη ανασκόπηση και σύνθεση της υπάρχουσας βιβλιογραφίας σχετικά με την προγνωστική σημασία του EGFR στο μελάνωμα. Μέσω της συστηματικής ανάλυσης και της κριτικής αξιολόγησης των πειραματικών στοιχείων, η εργασία αυτή στοχεύει να σκιαγραφήσει τους μοριακούς μηχανισμούς που διέπουν τις προγνωστικές επιπτώσεις που μεσολαβεί ο EGFR, να διερευνήσει τη χρησιμότητά του ως προγνωστικού βιοδείκτη για τη θεραπευτική ανταπόκριση και να προσδιορίσει τους δρόμους για μελλοντική έρευνα και κλινική μετάφραση.

Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή

1.1. Επιδημιολογία του μελανώματος

Το μελάνωμα είναι μια από τις πιο συχνές δερματικές κακοήθειες, που χαρακτηρίζεται από την τάση να κάνει μεταστάσεις νωρίς κατά την ανάπτυξή του, και αποτελεί τον πιο επιθετικό και θανατηφόρο καρκίνο του δέρματος. Η εμφάνιση του παρουσιάζει σημαντική διακύμανση στους διάφορους πληθυσμούς, με ιδιαίτερα υψηλά ποσοστά να παρατηρούνται στη Νέα Ζηλανδία, όπου τα εκτιμώμενο ποσοστό αποτιμάται σε 31,6% ανά 100.000 (βλ. Εικ. 1). Ακολουθούν οι περιοχές της Δυτικής και Βόρειας Ευρώπης και της Βόρειας Αμερικής, με σημαντικά ποσοστά επίπτωσης 18,9%, 18,6% και 16,1% ανά 100.000, αντίστοιχα (1). Η εμφάνιση του μελανώματος παρουσιάζει σταθερή αυξητική τάση και στα δύο φύλα σε διάφορες χώρες, με αξιοσημείωτη εξαίρεση την Αυστραλία, όπου τα ποσοστά εμφάνισής του έχουν μειωθεί από το 2005. Ενώ έχει παρατηρηθεί ανησυχητική αύξηση των ποσοστών σε νεότερες ηλικίες στις Ηνωμένες Πολιτείες (2–4), τα ποσοστά θνησιμότητας δεν ακολουθούν την ίδια αυξητική πορεία (4,5), εν μέρει λόγω της αυξημένης έμφασης στις πρακτικές έγκαιρης διάγνωσης και των αξιοσημείωτων εξελίξεων στις θεραπευτικές μεθόδους (2,5). Αντιθέτως, στην Ευρώπη (6–8) και την Ασία (9,10) τα ποσοστά θνησιμότητας έχουν αυξηθεί.



Εικόνα 1: Ποσοστά εμφάνισης του μελανώματος ανά 100.000 άτομα στους διάφορους πληθυσμούς.

Το θεραπευτικό τοπίο για το ανεγχείρητο μελάνωμα σταδίου III και IV έχει υποστεί σημαντικές αλλαγές με την έλευση της ανοσοθεραπείας και των στοχευμένων θεραπειών. Και οι δύο προσεγγίσεις έχουν επιδείξει σημαντική βελτίωση της επιβίωσης των ασθενών σε σύγκριση με τα παραδοσιακά σχήματα χημειοθεραπείας (11). Μετά την έγκριση του ipilimumab από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA) το 2011, η οποία σηματοδότησε την εισαγωγή των αναστολέων των ανοσολογικών σημείων ελέγχου (ICIs) στο προχωρημένο μελάνωμα (12,13), παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της θνησιμότητας από μελάνωμα. Αυτή η μείωση συνέβη παράλληλα με τη χρήση βεμουραφενίμπης (vemurafenib), ενός πρωτοποριακού αναστολέα της BRAF κινάσης σερίνης-θρεονίνης (14,15).

1.2. Παράγοντες κινδύνου

Σήμερα το μελάνωμα θεωρείται μια πολυπαραγοντική ασθένεια που προκύπτει από την αλληλεπίδραση μεταξύ γενετικής ευαισθησίας και περιβαλλοντικής έκθεσης (16). Επιπρόσθετα, στους κύριους παράγοντες κινδύνου για το μελάνωμα ανήκουν η παρουσία μελανοκυτταρικών σπύλων, το οικογενειακό ιστορικό, η ηλικία και το φύλο. Η γενετική έρευνα για το μελάνωμα υποδηλώνει την παρουσία δύο διαφορετικών πληθυσμιακών ομάδων που είναι επιρρεπείς στη νόσο. Η πρώτη ομάδα περιλαμβάνει άτομα με φυσιολογικά χαμηλό ρυθμό πολλαπλασιασμού των μελανοκυττάρων, γεγονός που απαιτεί παρατεταμένη έκθεση στον ήλιο για να οδηγήσει σε κλωνική επέκταση (16). Η δεύτερη ομάδα περιλαμβάνει ασθενείς με υψηλή τάση για πολλαπλασιασμό των μελανοκυττάρων λόγω γενετικών ή φαινοτυπικών παραγόντων ή υψηλού αριθμού σπύλων, σε συνδυασμό με λιγότερη πρώιμη έκθεση στον ήλιο (16). Η πιθανότητα νόσησης επηρεάζεται από τις κληρονομικές μεταλλάξεις, τα γονίδια ευαισθησίας στο μελάνωμα, καθώς και από την έκταση της οξείας ή χρόνιας έκθεσης στον ήλιο (16).

1.2.1. Έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία

Το μελάνωμα προέρχεται από τα δερματικά μελανοκύτταρα που βρίσκονται στη βασική στιβάδα της επιδερμίδας. Η υπεριώδης ακτινοβολία ξεχωρίζει ως πρωταρχικός καταλύτης της δερματικής μελανογένεσης λόγω των βλαβερών επιπτώσεών της στην υγεία του δέρματος και της άμεσης πρόκλησης βλάβης στο DNA (17), ευνοώντας έτσι ένα

περιβάλλον που προωθεί την καρκινογένεση. Η παρατεταμένη και σποραδική έκθεση στον ήλιο, καθώς και η έκθεση σε τεχνητά εκπεμπόμενες ακτίνες UV-A, έχουν επίσης συσχετιστεί με αυξημένη ευαισθησία στην ανάπτυξη μελανώματος (18). Οι Elwood et al. (19) πραγματοποίησαν μια λεπτομερή ανασκόπηση της πολύπλοκης σχέσης μεταξύ μελανώματος και έκθεσης στον ήλιο. Τα ευρήματά τους υποδηλώνουν ότι η συχνή έκθεση στον ήλιο αναδεικνύεται σε πρωταρχικό παράγοντα που αυξάνει τον κίνδυνο μελανώματος. Ειδικότερα, το ιστορικό ηλιακών εγκαυμάτων μπορεί να χρησιμεύσει ως δείκτης έντονης έκθεσης στον ήλιο, με τα παιδικά ηλιακά εγκαύματα να έχουν την ισχυρότερη συσχέτιση με αυξημένο κίνδυνο (19). Αντίθετα, το πρότυπο διαλείπουσας έκθεσης στον ήλιο συνδέεται στενότερα με καταστάσεις όπως η ακτινική κεράτωση και οι μη μελανωματικοί καρκίνοι του δέρματος (20). Η τεχνητή έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία είναι ένας σημαντικός πιθανός παράγοντας που συμβάλλει στην ανάπτυξη μελανώματος. Ειδικότερα, το επίπεδο της UVA ακτινοβολίας που εκπέμπεται κατά τη διάρκεια μιας τυπικής συνεδρίας σε ηλιοθεραπευτήριο υπερβαίνει αυτό που συναντάται κατά τη διάρκεια συνήθων υπαίθριων δραστηριοτήτων ή ακόμη και κατά την ηλιοθεραπεία (21). Επιπλέον, η χρήση φωτοχημειοθεραπείας PUVA (Ψωραλένιο + ακτινοβολία UVA) για τη θεραπεία της ψωρίασης έχει συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης μελανώματος (22).

1.2.2. Μελανοκυτταρικοί σπίλοι

Οι μελανοκυτταρικοί σπίλοι, που χαρακτηρίζονται από καλοήθεις συστάδες μελανοκυττάρων ή σπίλων, μπορεί να είναι εγγενείς ή επίκτητοι (16). Οι γενετικοί παράγοντες, η ανοσολογική απόκριση και η έκθεση στον ήλιο εικάζεται ότι επηρεάζουν τον πολλαπλασιασμό των σπίλων (16). Συνήθως, οι σπίλοι δεν εμφανίζονται μετά την ηλικία των 50 ετών (16). Υπάρχει συζήτηση σχετικά με το αν οι σπίλοι χρησιμεύουν ως πραγματικοί πρόδρομοι του μελανώματος ή απλώς ως δείκτες αυξημένου κινδύνου μελανώματος (16). Περίπου το ένα τέταρτο των μελανωμάτων θεωρείται ότι δημιουργούνται μέσα σε προϋπάρχοντες σπίλους και αναδρομικές μελέτες δείχνουν ότι σχεδόν το 80% των ασθενών με μελάνωμα παρατηρούν αλλαγές σε προϋπάρχοντες σπίλους (23,24). Ο συνολικός αριθμός σπίλων που έχει ένα άτομο αποτελεί τον υψηλότερο κίνδυνο για την ανάπτυξη μελανώματος. Γενικά, ένας μεγαλύτερος αριθμός άτυπων σπίλων συσχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο μελανώματος (16). Ασθενείς με

περισσότερους από 100 σπίλους, με ή χωρίς ατυπία, ή 50 σπίλους με έναν ή περισσότερους άτυπους, θεωρούνται αυξημένου κινδύνου. Όσοι έχουν περισσότερους από 100 σπίλους αντιμετωπίζουν σχεδόν επταπλάσιο σχετικό κίνδυνο μελανώματος (16). Η παρουσία κλινικά άτυπων σπίλων, ανεξαρτήτως του συνολικού αριθμού σπίλων, προβλέπει ισχυρά τη μελλοντική ανάπτυξη μελανώματος (25).

1.2.3. Φύλο και Ηλικία

Η πιθανότητα εμφάνισης μελανώματος στους άνδρες είναι 1,5 φορά μεγαλύτερη από εκείνη των γυναικών, με το μελάνωμα να κατατάσσεται ως ο πέμπτος πιο συχνός καρκίνος μεταξύ των ανδρών (26). Μέχρι την ηλικία των 75 ετών, οι άνδρες αντιμετωπίζουν σχεδόν τριπλάσια επίπτωση δερματικού μελανώματος σε σύγκριση με τις γυναίκες (27). Ιδιαίτερα μεταξύ των ηλικιωμένων ανδρών, η πρόγνωση τείνει να είναι λιγότερο ευνοϊκή απ' ό,τι για τις γυναίκες. Ενώ οι ακριβείς λόγοι για αυτή τη διαφορά μεταξύ των δύο φύλων παραμένουν ασαφείς, προκρίνεται ότι συμπεριφορικοί παράγοντες, όπως οι συνήθειες προστασίας από τον ήλιο και ο τύπος του δέρματος, μπορεί να παίζουν ρόλο (24). Για τις γυναίκες, το μελάνωμα κατατάσσεται ως ο έκτος συχνότερος καρκίνος, με υψηλότερα ποσοστά εμφάνισης σε σύγκριση με τους άνδρες μέχρι την ηλικία των 40 ετών (16). Η αύξηση των κρουσμάτων μελανώματος στις νεότερες γυναίκες αποδίδεται στις αυξημένες πρακτικές μαυρίσματος σε εσωτερικούς χώρους (16). Η εγκυμοσύνη προκαλεί συχνά αυξημένη μελανοκυτταρική δραστηριότητα, οδηγώντας σε συχνή υπερμελάγχρωση (16). Ωστόσο, ελεγχόμενες μελέτες δεν δείχνουν αυξημένο κίνδυνο μελανώματος, παχύτερους όγκους, αυξημένο κίνδυνο μετάστασης ή χειρότερη πρόγνωση για τις έγκυες γυναίκες (28). Οι μεσήλικοι ασθενείς, ανεξαρτήτως φύλου, έχουν συνήθως ιστορικό υπερβολικής διαλείπουσας έκθεσης στον ήλιο και ηλιακών εγκαυμάτων. Τα μελανώματα σε αυτή την ηλικιακή ομάδα τείνουν να είναι λεπτότερα και μπορεί να συνδέονται με δυσπλαστικούς σπίλους. Αντίθετα, οι νεότεροι ασθενείς είναι πιθανότερο να έχουν οικογενειακό ιστορικό μελανώματος (16).

1.2.4. Οικογένεια και γενετικοί παράγοντες

Το οικογενειακό ιστορικό μελανώματος αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με τη νόσο. Περίπου 5% έως 10% των μελανωμάτων εκδηλώνονται σε οικογένειες με κληρονομική προδιάθεση (16). Το μελάνωμα

παρουσιάζει ένα από τα υψηλότερα ποσοστά μεταλλάξεων μεταξύ των καρκίνων, με τη μετάλλαξη BRAF να υπάρχει στο 60% των περιπτώσεων και μεταλλάξεις NRAS στο 15% έως 20% (29). Ενώ η μετάλλαξη BRAF από μόνη της μπορεί να μην προκαλεί άμεσα μελάνωμα, ο συνδυασμός της με περιβαλλοντικούς παράγοντες αυξάνει τον κίνδυνο. Οι μεταλλάξεις BRAF ανιχνεύονται κυρίως σε μελανώματα που προκύπτουν από δέρμα που εκτίθεται κατά διαστήματα στον ήλιο και λιγότερο συχνά σε περιοχές που εκτίθενται χρονίως (30). Οι μεταλλάξεις της γεννητικής σειράς στα γονίδια CDKN2A ή CDK4, που είναι ζωτικής σημασίας για τη ρύθμιση της κυτταρικής διαίρεσης, είναι σχετικά σπάνιες αλλά αυξάνουν σημαντικά τον κίνδυνο μελανώματος (29). Καταστάσεις όπως το σύνδρομο οικογενούς μελανώματος και άτυπων σπίλων (FAMMM) συνδέονται με αυξημένο αριθμό δυσπλαστικών σπίλων και αυξημένο κίνδυνο μελανώματος (16). Αυτά τα σύνδρομα, που κληρονομούνται με αυτοσωμικό επικρατούντα τρόπο με ατελή διεισδυτικότητα, μπορεί να σχετίζονται με ανωμαλίες στο χρωμόσωμα 1P (16). Η συχνότητα εμφάνισης μελανώματος σε ασθενείς με FAMMM μπορεί να φθάσει το 85% μέχρι τη μέση ηλικία (16). Η ύπαρξη ενός γονέα με μελάνωμα αυξάνει τον σχετικό κίνδυνο κατά 2,4%, ενώ το ιστορικό μελανώματος ενός αδελφού αυξάνει τον σχετικό κίνδυνο σε 2,98% (16).

1.3. Διάγνωση

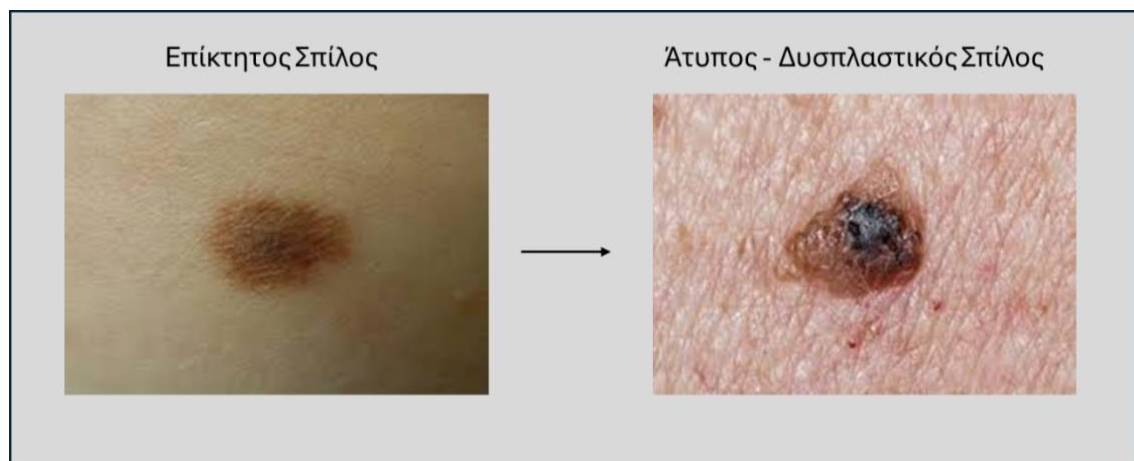
Η έγκαιρη ανίχνευση του κακοήθους μελανώματος είναι ο βασικός παράγοντας για τη μείωση της θνησιμότητας που σχετίζεται με αυτή τη νόσο. Η πρόγνωση του μελανώματος συσχετίζεται άμεσα με το βάθος του νεοπλασματος, μια παράμετρος που συνήθως αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου (24). Ως εκ τούτου, η έγκαιρη αναγνώριση, η επαγρύπνηση και η άμεση θεραπεία του μελανώματος είναι υψίστης σημασίας στην κλινική πρακτική. Ειδικότερα, το κακοήθες μελάνωμα επωφελείται από τη δερματική του εντόπιση, η οποία διευκολύνει την έγκαιρη ανίχνευση με μη επεμβατικές μεθόδους. Ωστόσο, παρά τις προόδους στις διαγνωστικές τεχνικές, η παθολογοανατομική εξέταση παραμένει ο χρυσός κανόνας για την οριστική διάγνωση του μελανώματος (24).

Η αυτοεξέταση του δέρματος είναι μια πολλά υποσχόμενη οδός για τον έλεγχο του μελανώματος και των προκαρκινικών αλλοιώσεων λόγω της απλότητας και της ευκολίας της. Πριν από τη δεκαετία του 1980, τα μελανώματα εντοπίζονταν κυρίως με την παρατήρηση των μακροσκοπικών κλινικών χαρακτηριστικών, που συχνά οδηγούσαν στην

ανίχνευσή τους σε προχωρημένα στάδια που χαρακτηρίζονταν από σημαντικό μέγεθος, εξέλκωση και μυκητίαση.

1.4. Μελανογένεση

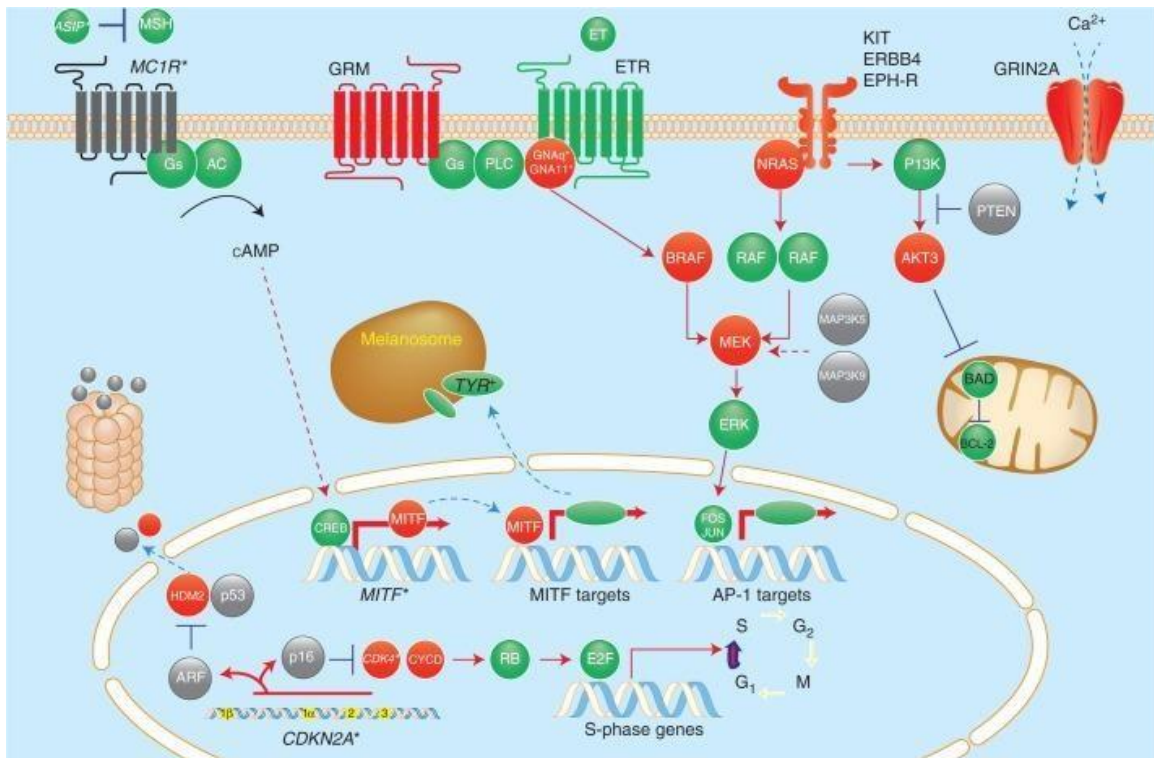
Τα ακριβή εναρκτήρια γεγονότα που διέπουν την παθοφυσιολογία του μελανώματος παραμένουν άγνωστα. Με την πάροδο του χρόνου, τα μελανοκύτταρα μπορούν να συσσωρευτούν και να σχηματίσουν χαρακτηριστικές "φωλιές", οδηγώντας στην ανάπτυξη ενός σπίλου (31). Παραδοσιακά, πιστεύεται ότι αυτοί οι σπίλοι μεταβάλλονται, αποκτούν δυσπλαστικά χαρακτηριστικά και δυνητικά εξελίσσονται σε μελάνωμα (βλ. Εικ. 2). Ωστόσο, είναι αξιοσημείωτο ότι στην πλειονότητα των μελανωμάτων δεν υπάρχουν ενδείξεις προ υπάρχοντος σπίλου. Η ιστοπαθολογική εξέταση περιπτώσεων μελανώματος δείχνει μια μεταβλητή συχνότητα στη παρουσία προ υπαρχόντων σπύλων, που κυμαίνεται από 10,8% έως 57,6%, όπως αναφέρεται στη βιβλιογραφία (32,33). Ωστόσο, το μεγάλο εύρος των αναφερόμενων συχνοτήτων υποδηλώνει πιθανούς περιορισμούς στις μεθόδους δειγματοληψίας ή αξιολόγησης και όχι πραγματική αναπαράσταση του επιπολασμού. Το μοριακό έναυσμα που είναι υπεύθυνο για την έναρξη του μελανώματος, είτε με *de novo* σχηματισμό είτε με μετασχηματισμό, παραμένει απροσδιόριστο (31).



Εικόνα 2: Μακροσκοπική απεικόνιση ενός επίκτητου σπίλου και ενός άτυπου-δυσπλαστικού σπίλου.

Η εξέλιξη του μελανώματος εξαρτάται από τους περίπλοκους μηχανισμούς ελέγχου της ανάπτυξης, οι οποίοι παρέχουν ένα παράθυρο στην κυτταρική δυναμική.

Μελετώντας αυτές τις διαδικασίες σε μοριακό επίπεδο, αποκτούμε σημαντικές γνώσεις σχετικά με τις γενετικές μεταλλάξεις και τις δυσλειτουργίες των μονοπατιών που διέπουν το μελάνωμα. Πολυάριθμα γονίδια και μονοπάτια σηματοδότησης ενορχηστρώνουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την ανάπτυξη και είναι περίπλοκα συνυφασμένα με τον ιστό της παθοφυσιολογίας του μελανώματος. Αυτή η αλληλεπίδραση περιγράφεται σχολαστικά παρακάτω και απεικονίζεται οπτικά στην Εικόνα 3.



Εικόνα 3: Ένας μοριακός χάρτης του μελανώματος. Τα κληρονομικά γονίδια με αλληλόμορφα κινδύνου ή πολυμορφισμούς ενός νουκλεοτιδίου εμφανίζονται με πλάγια γράμματα και αστερίσκους(π.χ. *CDKN2A**). Το κόκκινο και το γκρι χρώμα υποδεικνύουν σωματικές μεταλλάξεις που οδηγούν σε αύξηση της λειτουργίας (π.χ. ογκογονίδια όπως το *BRAF*) ή απώλεια της λειτουργίας (π.χ. ογκοκατασταλτικά γονίδια όπως το *PTEN*), αντίστοιχα. Πηγή: (31).

Οι υποδοχείς των αυξητικών παραγόντων βρίσκονται στην επιφάνεια των μελανοκυττάρων και είναι προετοιμασμένοι να ανταποκρίνονται σε διάφορα ερεθίσματα, πυροδοτώντας τον πολλαπλασιασμό και τη διαίρεση των κυττάρων (31). Αυτοί οι υποδοχείς, που συχνά ενεργοποιούνται από διάφορους αυξητικούς παράγοντες ή προσδέτες, ξεκινούν έναν καταρράκτη μοριακών γεγονότων. Μεταξύ αυτών, τα μέλη της οικογένειας των τυροσινικών κινασών διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο,

ενορχηστρώνοντας σηματοδοτικά μονοπάτια όπως τα NRAS, BRAF και PI3K, τα οποία με τη σειρά τους ενεργοποιούν σήματα κρίσιμα για την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων (31). Αντίθετα, ρυθμιστικοί μηχανισμοί όπως η p16 λειτουργούν ως φρένο στον πολλαπλασιασμό, ενώ σημεία ελέγχου βλάβης όπως η p53 λειτουργούν ως φύλακες κατά της ανεξέλεγκτης ανάπτυξης. Ωστόσο, οι μεταλλάξεις σε αυτά τα σημεία ελέγχου μπορούν να διαταράξουν τη ρυθμιστική ισορροπία, ανοίγοντας το δρόμο για ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό και ανάπτυξη (31).

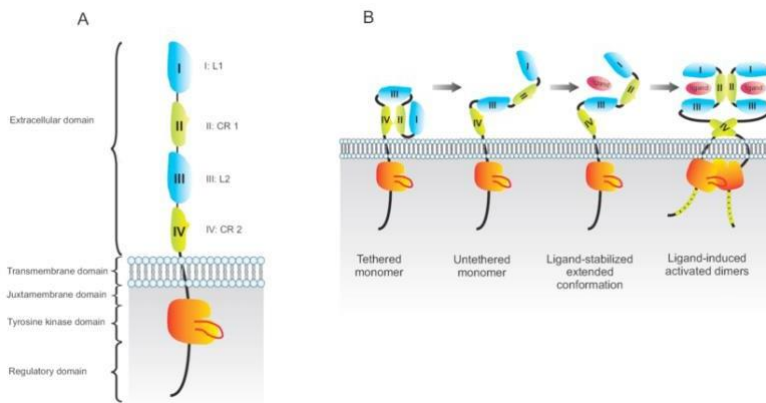
Σε επίπεδο ιστού, η ανάπτυξη και η κλινική έκβαση ενός μελανώματος συνδέεται στενά με το μικροπεριβάλλον του, το οποίο περιλαμβάνει παράγοντες όπως ινοβλάστες που σχετίζονται με τον καρκίνο (CAFs), λιποκύτταρα (CAAs), κερατινοκύτταρα (CAKs) και κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, καθώς και από στοιχεία της εξωκυττάριας μήτρας (ECM) και φυσικοχημικές ιδιότητες της περιοχής αυτής, π.χ. κατάσταση υποξίας και αυξημένη εξωκυττάρια οξίνιση. Η αγγειογένεση, απαραίτητη για την αιμάτωση του όγκου, διαδραματίζει κεντρικό ρόλο, όπως και η τοπική μήτρα και τα στρωματικά κύτταρα, τα οποία μπορούν είτε να διευκολύνουν είτε να αναστείλουν την ανάπτυξη, την εισβολή και τη μετάσταση (31). Επιπλέον, η αλληλεπίδραση με τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, ιδίως τα λεμφοκύτταρα, είναι υψίστης σημασίας. Τα κύτταρα αυτά περιηγούνται στην κυκλοφορία του αίματος, εντοπίζουν και εμπλέκονται με τους όγκους, με τη δυνατότητα τόσο να τους στοχεύουν όσο και να τους εξοντώνουν (31). Το μικροπεριβάλλον του όγκου είναι επίσης ένας από τους παράγοντες που συμβάλλει στην ανθεκτικότητα του μελανώματος στα φάρμακα αποτελώντας φυσικό φραγμό, ο οποίος εμποδίζει την είσοδο φαρμάκων στα καρκινικά κύτταρα.

Κεφάλαιο 2. Η έκφραση του EGFR στο μελάνωμα

Ο υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR), επίσης γνωστός ως ErbB-1, είναι μια κινάση τυροσίνης που ανήκει στην οικογένεια ErbB. Παίζει βασικό ρόλο στη διαφοροποίηση, τη διαίρεση και την ανάπτυξη των κυττάρων. Συμβάλλει επίσης στην ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων και στις διαδικασίες που οδηγούν στην αντίσταση από φάρμακο σε φάρμακο (34,35). Τα τελευταία χρόνια, οι μοριακές μελέτες έχουν ρίξει φως στα περίπλοκα μονοπάτια που διέπουν την ανάπτυξη και την εξέλιξη του μελανώματος, μεταξύ των οποίων ο EGFR έχει αναδειχθεί να παίζει σημαντικό ρόλο.

2.1. Δομή και τρόπος ενεργοποίησης του EGFR

Η ανακάλυψη και η αλληλούχιση του αρχέτυπου ανθρώπινου EGFR αποτέλεσε σημαντικό ορόσημο στην επιστημονική έρευνα. Αναγνωρισμένος από τους Carpenter, King και συνεργάτες το 1978 (36) και στη συνέχεια αλληλουχημένος από τους Downward, Yarden, Ullrich, Coussens και άλλους (37) στις αρχές της δεκαετίας του 1980, ο EGFR αποτελεί το ιδρυτικό μέλος της οικογένειας των διαμεμβρανικών υποδοχέων κινάσης τυροσίνης. Με την πάροδο των ετών, οι έρευνες σχετικά με τον EGFR και τα μονοπάτια του, τα οποία ρυθμίζουν την κυτταρική ανάπτυξη και διαφοροποίηση τόσο κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη όσο και κατά τη διατήρηση των ιστών των ενηλίκων, ήταν εκτεταμένες, καθιστώντας τον ένα από τα πιο διεξοδικά μελετημένα συστήματα σηματοδότησης μέχρι σήμερα (38). Επιπλέον, ο EGFR κατέχει τη διάκριση του πρώτου υποδοχέα κυτταρικής επιφάνειας που σχετίζεται με τον καρκίνο, όπως αναφέρθηκε από τους de Larco και Todaro το 1978 (39). Η απορρύθμιση του EGFR, είτε μέσω μετάλλαξης, υπερέκφρασης ή διέγερσης μέσω αυτοκρινών βρόχων, έχει ενοχοποιηθεί για πολυάριθμους ανθρώπινους καρκίνους. Δομικά, οι υποδοχείς EGF είναι ολοκληρωμένες μεμβρανικές πρωτεΐνες με διακριτές περιοχές, συμπεριλαμβανομένης μιας εξωκυττάριας περιοχής, μιας διαμεμβρανικής περιοχής, μιας ενδοκυττάριας παραμεμβρανικής περιοχής (juxtamembrane domain), μιας περιοχής τυροσίνης-κινάσης και μιας C-τελικής ρυθμιστικής περιοχής (βλ. Εικ. 4). Αυτές οι περιοχές, που καλύπτουν ένα εύρος καταλοίπων αμινοξέων, διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στη λειτουργία και τη ρύθμιση του υποδοχέα, ιδίως στη δέσμευση προσδέτη και στον ολιγοδιμερισμό (39–41).



Εικόνα 4: Δομή και τρόπος ενεργοποίησης του EGFR. (Α) Συνολική δομή του EGFR που περιλαμβάνει την εξωκυτταρική, τη διαμεμβρανική, την παραμεμβρανική (juxtamembrane domain), την κινάση τυροσίνης και την C-τελική ρυθμιστική περιοχή. Η εξωκυτταρική περιοχή περιλαμβάνει τέσσερις υποπεριοχές, I έως IV, που αναφέρονται επίσης ως μεγάλη περιοχή πρόσδεσης του EGFR 1 (L1), περιοχή πλούσια σε κυστεΐνη 1 (CR1), L2 και CR2. (Β) Διαφορετικά στάδια ενεργοποίησης του EGFR: αυτοανασταλτική διαμόρφωση προσδεμένου μονομερούς, μη προσδεμένο μονομερές, παρατεταμένη διαμόρφωση σταθεροποιημένου από τον προσδέτη και διαμόρφωση ενεργοποιημένου διμερούς που προκαλείται από τον προσδέτη. Πηγή: (42)

Οι υποπεριοχές I και III παρουσιάζουν ομολογία και σχηματίζουν από κοινού τον θύλακα δέσμευσης προσδέτη, ενώ οι υποπεριοχές II και IV, πλούσιες σε κυστεΐνη, εμπλέκονται στον διμερισμό του υποδοχέα. Μελέτες που χρησιμοποιούν αναλύσεις κρυσταλλικής δομής συμπλόκων της εξωτερικής επιφάνειας του EGFR, είτε με EGF είτε με TGFA, οι οποίες διεξήχθησαν από τους Garrett et al. (43), αποκάλυψαν τους μοριακούς μηχανισμούς που διέπουν τη μετάβαση της εξωκυτταρικής περιοχής του EGFR (sEGFR) από μια διαμόρφωση που αναστέλλει τον διμερισμό, γνωστή ως προσδεμένη διαμόρφωση, σε μια διαμόρφωση που ευνοεί τον προκαλούμενο από τον προσδέτη διμερισμό, η οποία αναφέρεται ως εκτεταμένη διαμόρφωση. Στη προσδεμένη διαμόρφωση, ο βραχίονας διμερισμού στην υποπεριοχή II προστατεύεται από ενδομοριακές αλληλεπιδράσεις με την υποπεριοχή IV. Ωστόσο, η δέσμευση προσδέτη εντός του θύλακα δέσμευσης προσδέτη, που σχηματίζεται από τις υποπεριοχές I και III, προκαλεί αναδιάταξη των υποπεριοχών, εκθέτοντας τον βραχίονα διμερισμού στην υποπεριοχή II, που είναι ζωτικής σημασίας για τον διμερισμό του EGFR (44). Πρόσφατες κρυσταλλογραφικές και βιοχημικές έρευνες σε εγγενείς και μεταλλαγμένες μορφές του EGFR από διάφορες περιοχές έχουν υποδείξει ότι η ενδοκυττάρια παραμεμβρανική περιοχή (juxtamembrane domain) επηρεάζει επίσης σημαντικά τον διμερισμό του υποδοχέα και μπορεί να παίζει ρόλο στην αλλοστερική ρύθμιση της δέσμευσης του

προσδέτη (45). Συνολικά, ο διμερισμός του EGFR κατά τη δέσμευση του προσδέτη πιστεύεται ότι επανατοποθετεί τις δύο κυτταροπλασματικές περιοχές κινάσης τυροσίνης για να διευκολύνει την αποτελεσματική trans-φωσφορλίωση καταλοίπων τυροσίνης στο βρόχο ενεργοποίησης της κινάσης, την ενδοκυττάρια παραμεμβρανική περιοχή (juxtamembrane domain) και την κυτταροπλασματική περιοχή (46).

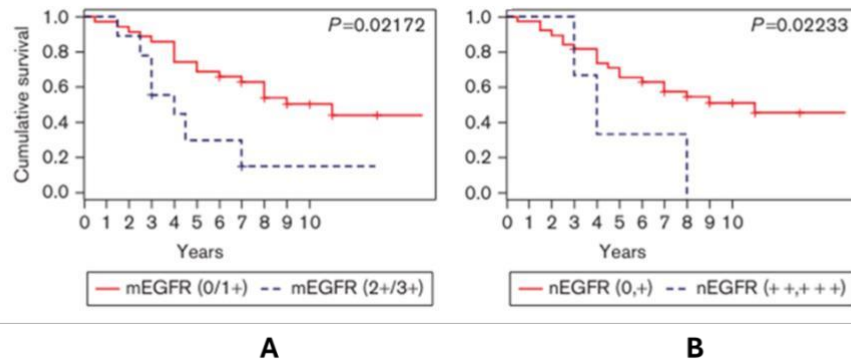
2.2. Μελέτες

Ο EGFR εκφράζεται ευρέως (47,48). Ωστόσο, αναδυόμενα στοιχεία δείχνουν ότι η έκφρασή του στο δέρμα εξαρτάται από την κυτταρική θέση και τις παθολογικές συνθήκες, με αυξημένα επίπεδα που παρατηρούνται συνήθως σε καταστάσεις όπως το βασικοκυτταρικό καρκίνωμα και το δερματικό ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα (49–52). Η έκφραση του EGFR στα φυσιολογικά μελανοκύτταρα παρουσιάζει ποικιλομορφία, με ορισμένες μελέτες να αναφέρουν αμελητέα ή πολύ χαμηλά επίπεδα (53,54) και άλλες να υποδηλώνουν αυξημένη έκφραση (55). Έχουν καταγραφεί διαφορές στην κυτταροπλασματική (56) ή μεμβρανική έκφραση του υποδοχέα μεταξύ καλοήθων σπίλων και κακοήθους μελανώματος (57). Ωστόσο, οι Katunarić et al. (55) προτείνουν ότι οι διαφορές στα αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται σε διαφορές στην ειδικότητα των αντισωμάτων και στα όρια βαθμολόγησης, υποδεικνύοντας ότι δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές στη μεμβρανική έκφραση. Είναι ενδιαφέρον ότι στη μελέτη τους διαπιστώθηκε ότι τα οζώδη μελανώματα εμφάνιζαν μεμβρανική έκφραση EGFR στο 50% των περιπτώσεων, συχνά ταυτόχρονα με έκφραση πυρηνικού υποδοχέα. Τα επίπεδα έκφρασης του EGFR έχουν αναδειχθεί ως σημαντικός παράγοντας στην παθογένεση και πρόοδο του μελανώματος. Μελέτες έχουν αποδείξει τη συσχέτιση μεταξύ της υψηλής έκφρασης του EGFR και της δυσμενούς πρόγνωσης των ασθενών με μελάνωμα. Ως αποτέλεσμα, η κατανόηση του ρόλου της ανοσοέκφρασης του EGFR στην πρόοδο της νόσου έχει γίνει αντικείμενο έντονης έρευνας. Παρακάτω, θα εξετάσουμε τις πρόσφατες εξελίξεις στον τομέα αυτό, επισημαίνοντας τη συσχέτιση μεταξύ της ανοσοέκφρασης του EGFR και της εξέλιξης του μελανώματος.

2.2.1. Η ανοσοέκφραση του EGFR στο μελάνωμα και η συσχέτιση με τη πρόοδο της νόσου
Η έρευνα που διεξήχθη από τους Boone et al. (58) κατέδειξε μια αξιοσημείωτη συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης του EGFR και της παρουσίας θετικού φρουρού λεμφαδένα μεταξύ των ασθενών. Είναι ενδιαφέρον ότι, παρά τη συσχέτιση αυτή, η ανοσοαποτύπωση του EGFR δεν είχε προγνωστική αξία. Επιπλέον, αποκαλύφθηκε μια σημαντική σχέση μεταξύ της πολυσωμίας του EGFR και του πάχους του όγκου, υποδεικνύοντας έναν πιθανό ρόλο του EGFR στην εξέλιξη του όγκου (58). Περαιτέρω έρευνα με τη χρήση της κυτταρικής σειράς μελανώματος BLM αποκάλυψε ενδιαφέροντα ευρήματα σχετικά με το cetuximab, ένα φάρμακο που στοχεύει τον EGFR. Ενώ η θεραπεία με cetuximab σε διάφορες συγκεντρώσεις μετρίασε αποτελεσματικά την ικανότητα διείσδυσης των κυττάρων, δεν επηρέασε τη βιωσιμότητα ή την ανάπτυξή τους (58). Τα αποτελέσματα αυτά υπογράμμισαν την εμπλοκή του EGFR στη μεταστατική ικανότητα ορισμένων μελανωμάτων.

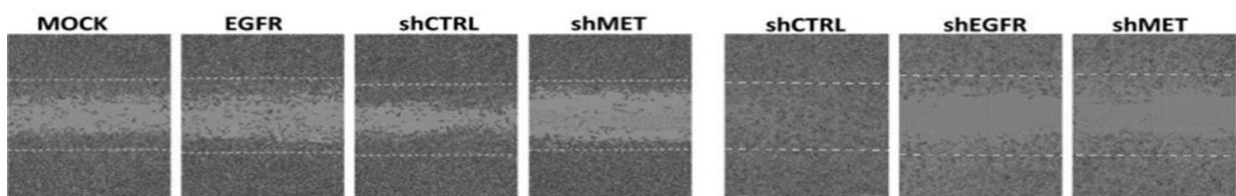
Σε μια άλλη μελέτη, πρωταρχικός στόχος ήταν να διερευνηθούν τα πρότυπα πρωτεϊνικής έκφρασης του μεμβρανικού και πυρηνικού EGFR, μαζί με την κυκλίνη D1 (ρυθμιστής του κυτταρικού κύκλου), και οι αντίστοιχες γονιδιακές καταστάσεις τους σε δείγματα οζώδους μελανώματος (55). Στόχος επίσης ήταν να συσχετιστούν τα ευρήματα αυτά με κλινικοπαθολογικές παραμέτρους και τη συνολική επιβίωση των ασθενών. Χρησιμοποιώντας ανοσοϊστοχημικές αναλύσεις και αναλύσεις φθορίζων *in situ* υβριδισμού (FISH), κατασκευάστηκαν μικροσυστοιχίες ιστών από ένα ολοκληρωμένο σύνολο 110 δειγμάτων οζώδους μελανώματος, μαζί με 30 σύνθετους σπίλους και 38 δυσπλαστικούς σπίλους για σύγκριση. Αξιοσημείωτο είναι ότι η έκφραση του EGFR στη μεμβράνη εντοπίστηκε στο 50% των περιπτώσεων οζώδους μελανώματος, ενώ αύξηση του αριθμού των αντιγράφων του γονιδίου (gene amplification) ανιχνεύθηκε σε μόλις 4% των περιπτώσεων οζώδους μελανώματος (55). Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι πολλά δείγματα οζώδους μελανώματος παρουσίασαν ταυτόχρονη μεμβρανική και πυρηνική έκφραση του EGFR. Είναι σημαντικό ότι προέκυψε αρνητική συσχέτιση μεταξύ του πάχους του όγκου και της μεμβρανικής έκφρασης του EGFR. Επιπλέον, τα δείγματα οζώδους μελανώματος με υψηλή έκφραση EGFR (EGFR 3+) στη μεμβράνη εμφάνισαν σημαντικά υψηλότερη συχνότητα εξέλιξης σε σύγκριση με τα δείγματα με αρνητική μεμβρανική έκφραση EGFR (0). Σε περαιτέρω ανάλυση, η οποία διεξήχθη σε 44 ασθενείς με διαθέσιμα δεδομένα παρακολούθησης, η μονοπαραγοντική (univariate) ανάλυση

υπογράμμισε μια σημαντική συσχέτιση μεταξύ της υπερέκφρασης τόσο του πυρηνικού όσο και του μεμβρανικού EGFR και της μειωμένης συνολικής επιβίωσης (βλ. Εικ. 5) (55).



Εικόνα 5: Διαγράμματα Kaplan-Meier για τη συνολική επιβίωση με βάση τη μεμβρανική (A) και πυρηνική (B) έκφραση της πρωτεΐνης EGFR στην ομάδα ασθενών με οζώδες μελάνωμα. EGFR, υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα - mEGFR, μεμβρανικός EGFR - nEGFR, πυρηνικός EGFR. Πηγή: (55)

Η άμεση συμμετοχή του EGFR και του MET στην εισβολή των κυττάρων μελανώματος εξετάστηκε από τους Pietraszek-Gremplewicz et al. (59), με έμφαση στην πρόκληση μεταβολών στα επίπεδα έκφρασης του EGFR και του MET στα υπό εξέταση κύτταρα. Χρησιμοποιώντας μια ολοκληρωμένη σειρά πειραμάτων που περιλαμβάνουν τη δυναμική της κυτταρικής μετανάστευσης και εισβολής, συμπεριλαμβανομένης της βιοδοκιμής προσομοίωσης τραύματος (scratch wound assay), της μεθόδου με βάση φίλτρα Transwell (Transwell filter-based method) και της παρακολούθησης μεμονωμένων κυττάρων, η μελέτη απέφερε διεισδυτικά αποτελέσματα. Αποκαλύφθηκε ότι η υπερέκφραση του EGFR οδήγησε σε διακριτή αύξηση των κινητικών ικανοτήτων των κυττάρων, ενώ η αποσιώπηση τόσο του EGFR όσο και του MET οδήγησε σε αξιοσημείωτη μείωση της κινητικότητας των κυττάρων.



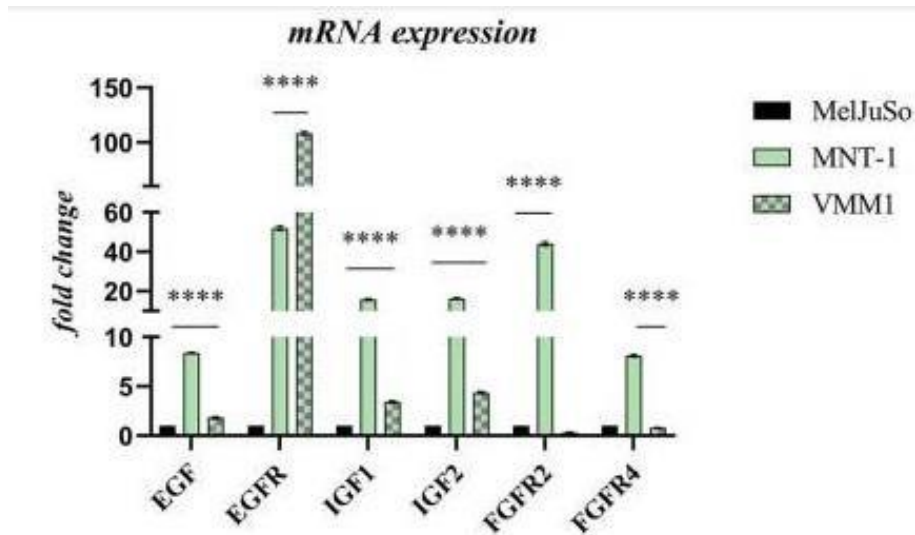
Εικόνα 6: Ικανότητες μετανάστευσης κυττάρων μελανώματος με τροποποιημένα επίπεδα έκφρασης EGFR και MET. Αντιπροσωπευτικές εικόνες της βιοδοκιμής προσομοίωσης τραύματος (scratch wound assay). Πηγή:(59)

Αυτή η παρατηρούμενη τάση συσχετίστηκε στενά με την αύξηση του αριθμού των ινιδίων ακτίνης (invadopodia), που απεικονίστηκαν μέσω ανοσοφθορισμού, όπου η άυξηση της έκφρασης του EGFR αντιστοιχούσε σε αυξημένο αριθμό των ινιδίων, ενώ η μείωση της έκφρασης του EGFR και του MET οδήγησε σε μείωση του σχηματισμού αυτών των δομών της κυτταροπλασματικής μεμβράνης. Επιπλέον, οι αξιολογήσεις των πρωτεολυτικών δραστηριοτήτων των κυττάρων υπογράμμισαν περαιτέρω τον καθοριστικό ρόλο της σηματοδότησης του EGFR και του MET στην εισβολή των κυττάρων μελανώματος. Σε σύγκριση με τα κύτταρα ελέγχου, τα κύτταρα με αυξημένη έκφραση EGFR παρουσίασαν αυξημένες πρωτεολυτικές ικανότητες, ενώ τα κύτταρα με κατεσταλμένα επίπεδα EGFR και MET εμφάνισαν μειωμένη πρωτεολυτική δραστηριότητα. Συνολικά, τα ευρήματα αυτά παρέχουν σημαντικές ενδείξεις για την άμεση εμπλοκή των σηματοδοτικών μονοπατιών EGFR και MET στην προώθηση της εισβολής των κυττάρων μελανώματος.

Σε μια εστιασμένη διερεύνηση της έκφρασης του ERBB1/2/3, της πρόγνωσης και της ανοσολογικής διήθησης στο δερματικό μελάνωμα, μια συγκεκριμένη μελέτη αποκάλυψε ενδιαφέρουσες πληροφορίες (60). Ειδικότερα, τα επίπεδα έκφρασης του ERBB1/2 στο δερματικό μελάνωμα βρέθηκαν χαμηλότερα από εκείνα του φυσιολογικού δερματικού ιστού, ενώ αντίθετα, τα επίπεδα έκφρασης του ERBB3 ήταν αυξημένα στο δερματικό μελάνωμα σε σύγκριση με τον φυσιολογικό δερματικό ιστό (60). Η σημασία αυτών των προτύπων έκφρασης έγινε εμφανής από τη συσχέτισή τους με την επιβίωση των ασθενών. Η χαμηλή έκφραση του ERBB1/2 και η υψηλή έκφραση του ERBB3 αναδείχθηκαν ως δυσμενείς προγνωστικοί δείκτες για την 5ετή επιβίωση των ασθενών με δερματικό μελάνωμα (ERBB1: log-rank p : 0,03- ERBB2: log-rank p : 0,008- ERBB3: log-rank p : 0,039). Ενδιαφέρον είναι ότι η έκφραση του ERBB4 δεν φάνηκε να επηρεάζει την πρόγνωση των ασθενών σε περιπτώσεις δερματικού μελανώματος. Ενώ οι ERBB δεν φάνηκε να επηρεάζουν το στάδιο του όγκου και την επιβίωση χωρίς νόσο (DFS) σε ασθενείς με δερματικό μελάνωμα, εμφάνισαν ενδιαφέρουσες συσχετίσεις με τα πρότυπα ανοσολογικής διήθησης. Ο ERBB2 ενοχοποιήθηκε για την πρόκληση διήθησης των CD8+ T κυττάρων και των B κυττάρων, ενώ ο ERBB3 συσχετίστηκε με τη διήθηση των CD4+ T κυττάρων, των CD8+ T κυττάρων και των ουδετερόφιλων κυττάρων (60). Επιπλέον, οι ERBB παρουσίασαν σημαντικές συσχετίσεις με διάφορους ανοσολογικούς δείκτες, συμπεριλαμβανομένων των μακροφάγων M1, των δενδριτικών κυττάρων και διαφόρων υποομάδων T κυττάρων. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσίασε η σχέση μεταξύ του ERBB2/3

και των κατασταλτικών κυττάρων που προέρχονται από τα μυελοειδή κύτταρα (MDSC), γεγονός που υποδηλώνει μια πιθανή επίδραση στην εξέλιξη του δερματικού μελανώματος μέσω της διαμόρφωσης της δραστηριότητας των MDSC. Συμπερασματικά, η παρούσα μελέτη υπογράμμισε τον διττό ρόλο των ERBB1/2/3 όχι μόνο ως δυνητικών πρώιμων προγνωστικών δεικτών αλλά και ως υποσχόμενων θεραπευτικών στόχων στο πλαίσιο του δερματικού μελανώματος, αναδεικνύοντας την πολύπλευρη συμμετοχή τους τόσο στην πρόγνωση όσο και στη διαμόρφωση της ανοσολογικής απόκρισης.

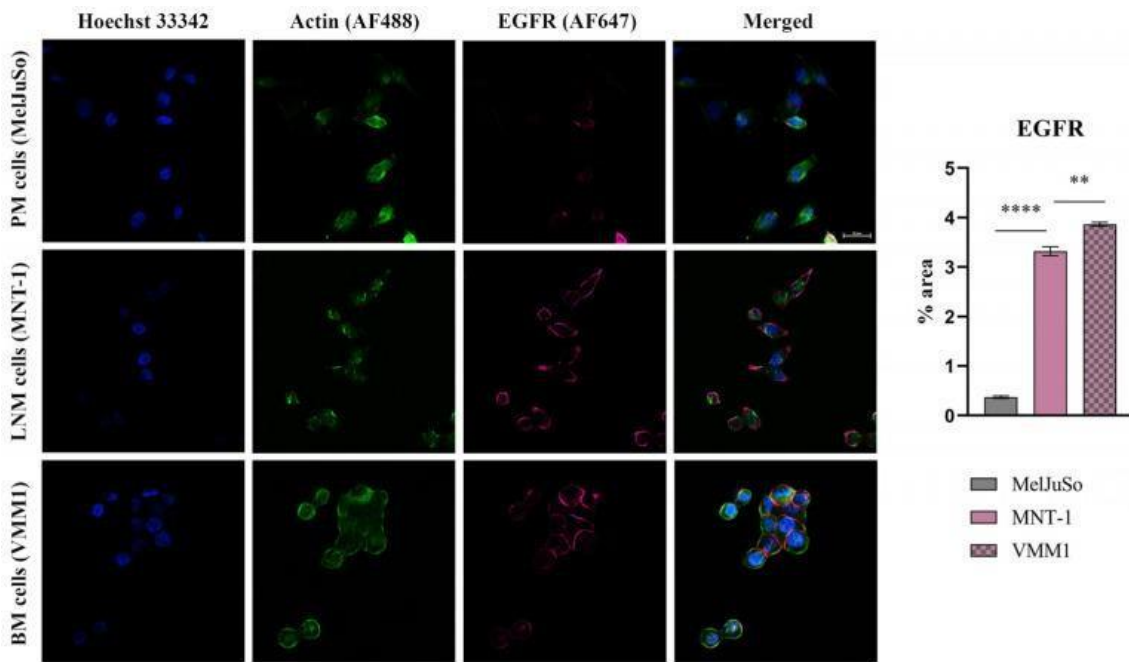
Κυτταρικές σειρές πρωτογενούς μελανώματος (PM), λεμφαδενικής μετάστασης (LNM) και εγκεφαλικής μετάστασης (BM) (MeIuSo, MNT-1 και VMM1, αντίστοιχα) χρησιμοποιήθηκαν πρόσφατα στα πλαίσια μια μελέτης η οποία επιχείρησε να εξετάσει σε επίπεδο γονιδίων και miRNA με τη χρήση qPCR με σκοπό να αναδειχθούν οι διαφορές μεταξύ αυτών των αντιπροσωπευτικών κυττάρων για διακριτά στάδια όγκου του καρκίνου (61). Συνολικά, αξιολογήθηκαν 252 γονίδια και με βάση την ανάλυση δεδομένων GeneCopia, αναδείχθηκαν διάφορα γονίδια που σχετίζονται κυρίως με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την επιβίωση, την εισβολή, τη φλεγμονή, την αγγειογένεση και τη διαμόρφωση της ανοσολογικής απόκρισης. Τα γονίδια που επιλέχθηκαν παρουσίασαν διαφορά έκφρασης ≥ 2 φορές και $p < 0,05$ (61). Η ανάλυση γονιδιακής έκφρασης εντόπισε περίπου 200 γονίδια που παρουσίασαν σημαντική διαφορετική έκφραση. Οι περισσότερες διαφορές αντανάκλυσαν αυξημένη γονιδιακή έκφραση στις μεταστάσεις σε σχέση με τα πρωτογενή δείγματα. Μεταξύ αυτών τα επίπεδα έκφρασης του EGFR ήταν σημαντικά αυξημένα σε μεταστατικά κύτταρα (βλ. Εικ.7). Συγκεκριμένα, τα επίπεδα έκφρασης ήταν αυξημένα και στις δύο μεταστατικές σειρές (50-πλάσια μεταβολή στο MNT-1 και 110-πλάσια μεταβολή στο VMM1).



Εικόνα 7: Έκφραση γονιδίων που εμπλέκονται στην επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό.

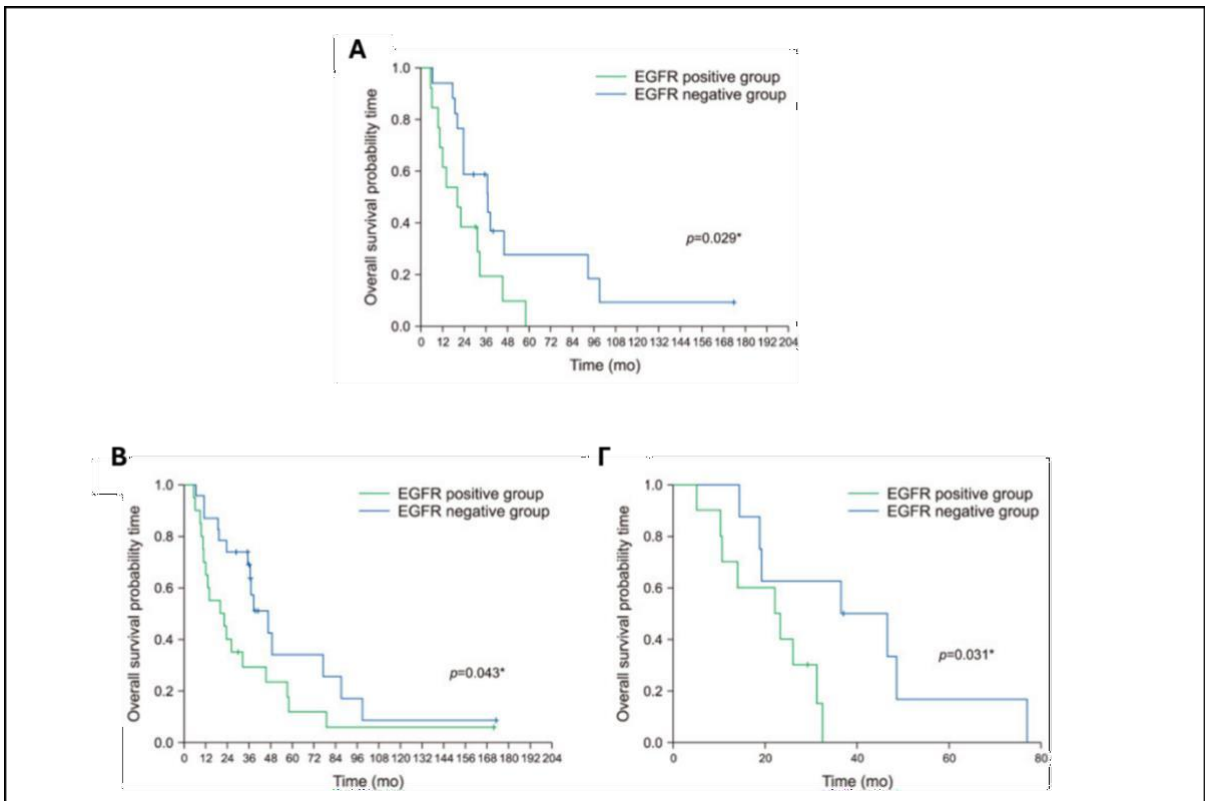
Στατιστική σημαντικότητα: Χρησιμοποιήθηκε το σύμβολο (*) για στατιστικές συγκρίσεις μεταξύ των κυτταρικών σειρών (MeljuSo, MNT-1 και VMM1). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ και **** $p < 0,0001$ ($n=3$, πειραματικές επαναλήψεις). Πηγή: (61).

Για να επιβεβαιωθεί η αξιοπιστία και η ακρίβεια των αποτελεσμάτων, η διαφορετική έκφραση επιλεγμένων γονιδίων (EGFR, MMP2, IL1B και MAGEC1), τα οποία μπορούν να θεωρηθούν παράγοντες μετάστασης λόγω του υψηλού επιπέδου έκφρασής τους τόσο στις κυτταρικές σειρές LNM όσο και στις κυτταρικές σειρές BM, αξιολογήθηκε επίσης σε πρωτεϊνικό επίπεδο μέσω ανοσοφθορισμού σε συνδυασμό με συνεστιακή μικροσκοπία (61). Οι εικόνες αναλύθηκαν με τη χρήση του λογισμικού Nikon NIS Elements (έκδοση 5.21 64-bit) και επεξεργάστηκαν με τη χρήση του ImageJ προκειμένου να ποσοτικοποιηθούν τα επίπεδα φθορισμού. Όπως παρατηρείται στην Εικ. 8, η έκφραση του EGFR ήταν πολύ υψηλότερη στα κύτταρα που προέρχονται από μεταστάσεις, σε σύγκριση με τα κύτταρα του πρωτογενούς μελανώματος.



Εικόνα 8: Εικόνες συνεστιακής μικροσκοπίας που αποκαλύπτουν την έκφραση της πρωτεΐνης EGFR σε διάφορα στάδια εξέλιξης του μελανώματος (γραμμή κλίμακας 20 μm). Ο EGFR απεικονίζεται με ιώδες χρώμα (AF647), τα νημάτια ακτίνης με πράσινο χρώμα (phalloidin-FITC) και οι κυτταρικοί πυρήνες με μπλε χρώμα (Hoechst 33342). Η ποσοτική μέτρηση της έντασης του φθορισμού πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό Imagej. ** $p < 0,01$ και **** $p < 0,0001$. Πηγή: (61).

Η μελέτη των Lee et al. (62) είχε ως στόχο να αξιολογήσει την έκφραση του EGFR στο μεταστατικό μελάνωμα και να αναλύσει τη σχέση της με τα ιστοπαθολογικά και κλινικά χαρακτηριστικά, καθώς και τα αποτελέσματα της επιβίωσης των ασθενών. Συνολικά 55 περιπτώσεις μεταστατικού μελανώματος από πρωτοπαθές δερματικό μελάνωμα συμπεριλήφθηκαν σε αυτή την αναδρομική ανασκόπηση μεταξύ Ιανουαρίου 2000 και Δεκεμβρίου 2017. Σύμφωνα με τα ευρήματά τους, η ανοσοέκφραση του EGFR είχε προγνωστική αξία για την έκβαση της επιβίωσης. Η έκφραση του EGFR στο μεταστατικό μελάνωμα σε άνδρες, χωρίς έλκος ή πάχος Breslow $\leq 4,0$ mm φάνηκε να εμπλέκεται στην εξέλιξη της νόσου. Συγκεκριμένα, όταν αναλύθηκε ανά υποομάδες, η έκφραση του EGFR στο μεταστατικό μελάνωμα στην περίπτωση ανδρών (Εικ. 9Α; $n=30$, $p=0,029$), δερματικού μελανώματος χωρίς εξέλκωση (Εικ. 9Β; $n=43$, $p=0,043$) ή πάχους Breslow $\leq 4,0$ mm (Εικ. 9Γ; $n=18$, $p=0,031$) συσχετίστηκε σημαντικά με κακή πρόγνωση με βάση τα δεδομένα επιβίωσης.



Εικόνα 9: Ανάλυση επιβίωσης Kaplan-Meier στο μεταστατικό μελάνωμα για σύγκριση ανάλογα με την έκφραση του EGFR. Τα αποτελέσματα της συνολικής επιβίωσης στο μεταστατικό μελάνωμα μεταξύ θετικής ομάδας EGFR και της αρνητικής ομάδας EGFR ήταν σημαντικά διαφορετικά υπό την προϋπόθεση (Α) άνδρας, (Β) χωρίς έλκος ή (Γ) πάχος Breslow <4,0mm. Στατιστική σημαντικότητα ($p<0,05$). Πηγή: (62).

Σε μια ταυτόχρονη διερεύνηση των αλλοιώσεων του γονιδίου EGFR και του αριθμού αντιγράφων του χρωμοσώματος 7 σε 81 δερματικά κακοήγη μελανώματα με την ανάλυση FISH και τη συσχέτιση των δεδομένων με τις κλινικοπαθολογικές παραμέτρους των ασθενών (63), η πολυσωμία 7 συσχετίστηκε με την ενίσχυση του γονιδίου EGFR. Διαπιστώθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ των αλλοιώσεων EGFR και των ιστολογικών υποτύπων, του πάχους του όγκου, της εξέλκωσης και του σχηματισμού μεταστάσεων. Η ενίσχυση ήταν σημαντικά υψηλότερη σε βλάβες που εμφάνισαν μεταστάσεις εντός 2 ετών μετά τη χειρουργική αφαίρεση του πρωτοπαθούς όγκου. Συμπερασματικά, η μελέτη έδειξε ότι η ενίσχυση του γονιδίου EGFR και η πολυσωμία 7 είναι συχνές αλλοιώσεις στα πρωτοπαθή μελανώματα και σχετίζονται με κακή πρόγνωση.

Σε μια παρόμοια μελέτη, η διαφορετική έκφραση του γονιδίου EGFR διερευνήθηκε με αντίστροφη RT-PCR σε δείγματα ιστών φυσιολογικού δέρματος, σπύλων,

πρωτοπαθών μελανωμάτων και μεταστάσεων μελανώματος (64). Η υψηλότερη συχνότητα έκφρασης του γονιδίου EGFR βρέθηκε στις μεταστάσεις του μελανώματος. Με την ανάλυση FISH το υψηλότερο κλάσμα κυτταρικών πυρήνων με περισσότερα από δύο χρωμοσώματα 7 ανιχνεύθηκε στην ομάδα των μεταστάσεων. Τα αποτελέσματα αυτά υπέδειξαν ότι η υπερέκφραση του γονιδίου EGFR μπορεί να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη μετάσταση του κακοήθους μελανώματος. Αυτό αντικατοπτρίζεται καλά από την πολυσωμία 7, που πιθανόν να ευθύνεται για αυξημένο αριθμό αντιγράφων του γονιδίου EGFR.

2.2.2. Αλληλεπίδραση διαφορετικών δεικτών στο μελάνωμα μέσω της σηματοδότησης του EGFR

Ο KIF22 αναδεικνύεται σε κεντρικό παράγοντα στην εισβολή των κυττάρων μελανώματος, ωστόσο η συμμετοχή του στον πολλαπλασιασμό του μελανώματος και στη γλυκόλυση παραμένει άγνωστη. Οι Zhong et al. έριξαν φως σε αυτό το μυστήριο αποκαλύπτοντας έναν πολύπλευρο ρόλο και μηχανισμό δράσης του KIF22 στην εξέλιξη του μελανώματος (65). Η έρευνά τους αποκάλυψε μια σημαντική ρύθμιση της έκφρασης του KIF22 τόσο στους ιστούς όσο και στα κύτταρα του μελανώματος, με τα υψηλά επίπεδα του KIF22 να συσχετίζονται στενά με δυσμενή πρόγνωση (65). Ειδικότερα, η ανεπάρκεια του KIF22 άσκησε βαθιά επίδραση, διαταράσσοντας τον πολλαπλασιασμό και επιταχύνοντας την απόπτωση στα κύτταρα μελανώματος. Επιπλέον, η μελέτη αποκάλυψε ότι οι επιπτώσεις της μείωσης του KIF22 στην εξέλιξη του μελανώματος μετριάστηκαν εν μέρει μετά από θεραπεία με EGF ή Colivelin. Συνοπτικά, η μείωση του KIF22 αναδεικνύεται ως ισχυρός καταστολέας του πολλαπλασιασμού του μελανώματος και της γλυκόλυσης, ενώ ταυτόχρονα προάγει την απόπτωση στα κύτταρα μελανώματος. Οι επιδράσεις αυτές διαμεσολαβούνται, τουλάχιστον εν μέρει, μέσω της απενεργοποίησης του σηματοδοτικού μονοπατιού EGFR/STAT3. Η μελέτη αυτή αποκαλύπτει έναν νέο ρυθμιστικό άξονα που περιλαμβάνει τον KIF22 και τη σηματοδότηση EGFR/STAT3, προσφέροντας πολλά υποσχόμενες ιδέες για πιθανές θεραπευτικές παρεμβάσεις για τη διαχείριση του μελανώματος.

Πρόσφατες έρευνες αποκάλυψαν μια σημαντική συσχέτιση μεταξύ της πρωτεΐνης IGFBP2 και της PD-L1 (Programmed Death-Ligand 1), ρίχνοντας φως σε έναν νέο ρόλο της IGFBP2 στη βιολογία του μελανώματος που σχετίζεται με το ανοσοποιητικό

σύστημα (66). Η μελέτη αυτή περιέγραψε πώς η IGFBP2 διευκολύνει την πυρηνική μετατόπιση του EGFR και υποκινεί την ενεργοποίηση του σηματοδοτικού καταρράκτη EGFR/STAT3/PD-L1 στα κύτταρα μελανώματος (66). Επιπλέον, η έρευνα πρότεινε ότι η συνδυασμένη έκφραση των IGFBP2 και PD-L1 υπόσχεται την πρόγνωση της ανταπόκρισης στη θεραπεία anti-PD-1 σε περιπτώσεις κακοήθους μελανώματος. Αυτή η προγνωστική δυνατότητα προκύπτει από την παρατήρηση ότι τα αυξημένα επίπεδα IGFBP2 παράλληλα με την PD-L1 συσχετίζονται με μειωμένα ποσοστά συνολικής επιβίωσης σε ασθενείς με μελάνωμα, συσχετιζόμενα ταυτόχρονα με ένα πιο ευνοϊκό ανοσολογικό μικροπεριβάλλον. Τα ευρήματα αυτά έχουν επικυρωθεί μέσω πειραμάτων τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*. Η μελέτη θέτει την IGFBP2 ως ρυθμιστή της έκφρασης του PD-L1 μέσω της ενεργοποίησης του σηματοδοτικού άξονα EGFR-STAT3, υποδεικνύοντας καινοτόμες θεραπευτικές οδούς για τη διαχείριση του μελανώματος. Ειδικότερα, η συμμετοχή της IGFBP2 στην πυρηνική μετατόπιση του EGFR και η επακόλουθη έναρξη του μονοπατιού EGFR/STAT3/PD-L1 υπογραμμίζει τον καθοριστικό ρόλο της ανοσοέκφρασης του EGFR ως δυναμικού βιοδείκτη για την ενεργοποίηση του μονοπατιού. Τα αυξημένα επίπεδα έκφρασης του EGFR μπορεί να σηματοδοτούν αυξημένη δραστηριότητα του STAT3, φαινόμενο που συνδέεται στενά με την εξέλιξη του όγκου και την ανοσολογική αποφυγή. Κατά συνέπεια, οι ασθενείς που παρουσιάζουν αυξημένη ανοσοέκφραση του EGFR ενδέχεται να αντιμετωπίζουν σοβαρότερα προγνωστικά αποτελέσματα λόγω της ενεργοποίησης αυτής της οδού. Στην ουσία, τα ευρήματα αυτά όχι μόνο αποκαλύπτουν την περίπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ IGFBP2, EGFR και PD-L1 στην παθογένεια του μελανώματος, αλλά υπογραμμίζουν επίσης τις κλινικές επιπτώσεις της στόχευσης αυτού του άξονα για θεραπευτική παρέμβαση. Με τη διαλεύκανση των μηχανιστικών υποβάθρων της ρύθμισης του PD-L1 με τη μεσολάβηση της IGFBP2 και την ανάδειξη της δυναμικής προγνωστικής σημασίας της ανοσοέκφρασης του EGFR, η παρούσα μελέτη θέτει τις βάσεις για εξατομικευμένες στρατηγικές θεραπείας με στόχο τον μετριασμό των επιζήμιων επιπτώσεων των απορρυθμισμένων σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος σε ασθενείς με μελάνωμα.

Από τη διερεύνηση των Kreß et al. (67), αποκαλύφθηκε ο καθοριστικός ρόλος του μεταγραφικού παράγοντα NRF2, γνωστού ως κύριου ενορχηστρωτή της απόκρισης στο οξειδωτικό και ηλεκτροφιλικό στρες, στη διαμεσολάβηση για την έκφραση και την ενεργοποίηση του EGFR στο μελάνωμα. Ο NRF2 ενορχηστρώνει αυτή τη διαδικασία

ρυθμίζοντας τα επίπεδα έκφρασης του EGFR και των προσδετών του, EGF και TGF α . Ειδικότερα, η αναγκαιότητα του NRF2 για την πλήρη ενεργοποίηση του μονοπατιού EGFR υπογραμμίζεται από τις παρατηρήσεις όπου τα κύτταρα που δεν διαθέτουν NRF2 παρουσίαζαν μειωμένη ενεργοποίηση AKT μετά από διέγερση με EGF σε σύγκριση με τα κύτταρα ελέγχου. Είναι αξιοσημείωτο ότι αποκαλύφθηκε μια αμοιβαία σχέση μεταξύ του EGF και του NRF2, όπου ο EGF επάγει την πυρηνική μετατόπιση και ενεργοποίηση του NRF2, δημιουργώντας έτσι έναν θετικό βρόχο ανατροφοδότησης μεταξύ του NRF2 και του EGFR στο μελάνωμα. Στην ουσία, τα ευρήματά της μελέτης αυτής υπογραμμίζουν τον κρίσιμο ρόλο του NRF2 στην ενίσχυση του φαινότυπου του EGFR-θετικού μελανώματος, αποκαλύπτοντας έτσι έναν νέο μηχανισμό που ευθύνεται για τη διατήρηση αυτού του κλινικά δύσκολου υποπληθυσμού μελανώματος.

2.2.3. Η συμμετοχή του EGFR στην ανάπτυξη αντίστασης στους BRAF αναστολείς
Όσον αφορά τη μοριακή παθολογία, τα κακοήθη μελανώματα μπορούν να ταξινομηθούν σε τέσσερις υποομάδες με βάση τις μεταλλάξεις που εντοπίζονται στα κύτταρα: μελάνωμα με μεταλλάξεις στο πρωτοογκογονίδιο B-Raf ή v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B (BRAF), στο γονίδιο του σαρκώματος του αρουραίου (RAS) ή της νευροϊνωμίνης 1 (NF1) και τα λεγόμενα τριπλά αρνητικά μελανώματα (68). Μεταλλάξεις BRAF ανακαλύφθηκαν σε περίπου 50-60% των μεταστατικών περιπτώσεων μελανώματος (69,70). Το μελάνωμα με μετάλλαξη BRAF (BRAF+) χαρακτηρίζεται από συγκεκριμένα κλινικά χαρακτηριστικά, συμπεριλαμβανομένης της πιο επιθετικής βιολογικής συμπεριφοράς σε σχέση με το μελάνωμα άγριου τύπου BRAF (WT). Το μελάνωμα BRAF(+) είναι γνωστό για βραχύτερη OS σε ασθενείς με νόσο σταδίου IV, βραχύτερη από ό,τι σε εκείνους με νόσο BRAF WT. Σε σύγκριση με τους ασθενείς με μελάνωμα BRAF WT, εκείνοι με BRAF(+) είναι συχνά νεότεροι και παρουσιάζουν επιφανειακά εξαπλωμένους όγκους ή όγκους με οζώδη ιστολογία, που αναπτύσσονται σε ανατομικές περιοχές χωρίς χρόνια ηλιακή βλάβη (68). Η κλινική εφαρμογή των θεραπειών με αναστολείς του BRAF και της MEK (κινάση της πρωτεϊνικής κινάσης που ενεργοποιείται από το μιτογόνο) έχει οδηγήσει σε δραματικές βελτιώσεις των ποσοστών OS και επιβίωσης χωρίς εξέλιξη της νόσου (PFS) σε ασθενείς με BRAF(+) προχωρημένες περιπτώσεις μελανώματος τα τελευταία χρόνια (71–74). Η βεμουραφενίμπη, ο πρώτος ειδικός αναστολέας που δρα στο μονοπάτι BRAF/MEK, εγκρίθηκε από τον FDA το 2011. Μαζί με τη βεμουραφενίμπη (vemurafenib),

η δαμπραφενίμπη (dabrafenib) και η ενοραφενίμπη (encorafenib) ανήκουν επίσης σε μια ομάδα φαρμάκων που ονομάζονται αναστολείς της πρωτεΐνης BRAF (BRAFi). Ωστόσο, η εμφάνιση ανθεκτικότητας αποτελεί σημαντικό εμπόδιο για τη μακροπρόθεσμη αποτελεσματικότητα, περιορίζοντας τη διάρκεια της ανταπόκρισης και οδηγώντας τελικά σε εξέλιξη της νόσου. Το φαινόμενο της αντίστασης στους αναστολείς BRAF είναι πολύπλευρο, περιλαμβάνοντας διάφορους μοριακούς μηχανισμούς που συμβάλλουν στην προσαρμογή και την επιβίωση του όγκου. Η αντίσταση στους BRAFi έχει αποδειχθεί ότι σχετίζεται κυρίως με την επανενεργοποίηση της οδού σηματοδότησης MAPK (BRAF-MEK-ERK-BRAF-MAPK/ERK κινάση-εξωκυτταρικού σήματος ρυθμιζόμενη κινάση). Ωστόσο, έχει επίσης αποδειχθεί ότι εμπλέκονται και άλλοι μηχανισμοί, όπως η ρύθμιση της σηματοδότησης PI3K-AKT-mTOR και η αυξημένη έκφραση των υποδοχέων των αυξητικών παραγόντων στην κυτταρική μεμβράνη (75,76). Οι Rizos et al. (77) ανέφεραν ότι έως και το 40% των ασθενών με μελάνωμα εμφανίζουν μη αναγνωρισμένους μηχανισμούς αντίστασης. Η ενεργοποίηση του EGFR έχει αναδειχθεί ως επαναλαμβανόμενο χαρακτηριστικό σε ένα υποσύνολο μελανωμάτων ανθεκτικών στη βεμουραφενίμπη, ωστόσο, οι ακριβείς μηχανισμοί που διέπουν την ενεργοποίηση του EGFR, και ενδεχομένως την ενεργοποίηση άλλων υποδοχών κινασών τυροσίνης, παραμένουν ελάχιστα κατανοητοί.

Οι Molnar et al. (78) επικεντρώθηκαν στη διερεύνηση του πολλαπλασιασμού του μελανώματος, της κυτταρικής μετανάστευσης και των μοριακών αλλαγών κατά τη μακροχρόνια θεραπεία με βεμουραφενίμπη. Για τον σκοπό αυτό, διερευνήθηκαν απομονωμένες κυτταρικές καλλιέργειες από βιοψίες που ελήφθησαν από ασθενείς πριν και κατά τη διάρκεια της θεραπείας τους, καθώς και κυτταρικές σειρές που δεν είχαν λάβει θεραπεία προηγουμένως και έλαβαν μακροχρόνια θεραπεία με βεμουραφενίμπη *in vitro*. Στα ταχέως μεταναστευτικά κύτταρα, τα επίπεδα mRNA του EGFR ήταν σημαντικά υψηλότερα. Είναι ενδιαφέρον ότι η υψηλή έκφραση του EGFR σχετιζόταν με αυξημένη μετανάστευση αλλά όχι με πολλαπλασιασμό. Τα κύτταρα με υψηλή έκφραση EGFR παρουσίασαν σημαντικά μειωμένη ευαισθησία στη θεραπεία με βεμουραφενίμπη και είχαν υψηλότερη ενεργοποίηση του Erk και έκφραση του FRA-1. Είναι σημαντικό ότι τα κύτταρα μελανώματος με υψηλότερη έκφραση EGFR ήταν πιο ανθεκτικά στη θεραπεία με τον αναστολέα EGFR erlotinib από ό,τι τα κύτταρα με χαμηλότερη έκφραση, όσον αφορά την αναστολή τόσο του πολλαπλασιασμού όσο και της μετανάστευσης. Τέλος, τα κύτταρα

μελανώματος με υψηλό EGFR χαρακτηρίζονταν από υψηλότερη έκφραση του PD-L1, γεγονός που μπορεί με τη σειρά του να υποδηλώνει ότι η ανοσοθεραπεία μπορεί να είναι μια αποτελεσματική προσέγγιση σε αυτές τις περιπτώσεις.

Η μελέτη στα επίπεδα έκφρασης της ACK1, μιας πρωτεϊνικής κινάσης που έχει ρυθμιστικό ρόλο στο μονοπάτι του EGFR, ανέφερε ότι αυτά είναι μειωμένα σε κύτταρα μελανώματος ανθεκτικά στη βεμουραφενίμη (79). Διαπιστώθηκε επίσης ότι η εξάντληση της ACK1 με Short hairpin RNA (shRNA) μείωσε την αποικοδόμηση του EGFR όταν ενεργοποιήθηκε από τον επιδερμικό αυξητικό παράγοντα, αύξησε την έκφραση της πρωτεΐνης EGFR και προσέδωσε ανθεκτικότητα στους BRAFis τόσο in vitro όσο και in vivo. Η αντίσταση στη βεμουραφενίμη που διαμεσολαβείται από την αναστολή της ACK1 μπορεί να αντιστραφεί από τον αναστολέα EGFR gefitinib. Τα δεδομένα της μελέτης αυτής υπέδειξαν ότι η απώλεια της ACK1 μπορεί να είναι ένας μετα-μεταγραφικός μηχανισμός που αυξάνει τη σηματοδότηση του EGFR και συμβάλλει στην αντίσταση στα φάρμακα.

Οι Ji et al. (80) έδειξαν ότι η αντίσταση στη βεμουραφενίμη που συνδέεται με τον EGFR, εξαρτάται από πολύπλοκους παράγοντες. Στη διάρκεια αυτής της έρευνας, η ολοκληρωμένη έκφραση γονιδιωμάτων εξετάστηκε και ανακαλύφθηκε ότι η αντίσταση στη βεμουραφενίμη συσχετίζεται με την απώλεια του μεταγραφικού παράγοντα MITF (Microphthalmia-Associated Transcription Factor) και με την ενεργοποίηση της σηματοδότησης του EGFR. Περαιτέρω παρατηρήθηκε μια αντίστροφη σχέση ανάμεσα στον MITF, την αντοχή στη βεμουραφενίμη και τον EGFR σε δείγματα από ασθενείς με μελάνωμα. Αυτή η σχέση διατηρήθηκε σε όλες τις κυτταρικές σειρές μελανώματος και σε δείγματα όγκων από τους ασθενείς. Λειτουργικές μελέτες αποκάλυψαν ότι η απώλεια του MITF ενεργοποίησε τη σηματοδότηση του EGFR, η οποία αναδείχθηκε ως κρίσιμος παράγοντας στην ανακατασκευή του φαινοτύπου αντίστασης στη θεραπεία.

Οι Girotti et al. (81) δημιούργησαν κυτταρικές σειρές ανθεκτικές στους αναστολείς BRAF και κατέδειξαν την ρύθμιση του σηματοδοτικού μονοπατιού του EGFR, της κινάσης της οικογένειας SRC (SFK) και της STAT3 σε αυτά τα κύτταρα. Συγκεκριμένα, δείχτηκε ότι ο πολλαπλασιασμός, η εισβολή και η μετάσταση διεγείρονται από αυτό το μονοπάτι στα ανθεκτικά κύτταρα. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι οι αναστολείς του EGFR συνεργάστηκαν με τους αναστολείς του BRAF για την αναστολή της ανάπτυξης των ανθεκτικών κυττάρων τόσο in vitro όσο και in vivo. Διαπιστώθηκε επίσης ότι η μονοθεραπεία με τον αναστολέα τυροσινικής κινάσης ευρέος φάσματος dasatinib ανέστειλε την ανάπτυξη και τη

μετάσταση *in vivo*. Τέλος, αναλύθηκαν όγκοι από ασθενείς με εγγενή ή επίκτητη αντίσταση στη βεμουραφενίμη και έδειξαν αυξημένη δραστηριότητα EGFR και SFK. Παρόμοια ευρήματα παρουσίασε και η μελέτη των Wang et al.(82). Η μελέτη αυτή περιλάμβανε την ανάπτυξη κυτταρικών σειρών μελανώματος ανθεκτικών στον BRAFi, αποκαλύπτοντας μια σημαντική ενίσχυση των ιδιοτήτων της επιθηλιο-μεσεγχυματικής μετατροπής που σχετίζονται με τη μετάσταση μεταξύ των ανθεκτικών στον BRAFi κυττάρων. Η παρατήρηση της αύξησης στα επίπεδα έκφρασης του EGFR τόσο στις ανθεκτικές στον BRAFi κυτταρικές σειρές όσο και στους όγκους των ασθενών αποδόθηκε στην απομεθυλίωση των ρυθμιστικών στοιχείων του DNA του EGFR. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι ο EGFR επάγει την ενεργοποίηση του μονοπατιού PI3K/AKT σε κύτταρα ανθεκτικά στον BRAFi- μέσω επιγενετικής ρύθμισης. Η θεραπεία με αναστολείς του EGFR κατέδειξε αποτελεσματικότητα σε κυτταρικές σειρές μελανώματος ανθεκτικές στον BRAFi. Συνολικά, αυτή η μελέτη υπογραμμίζει τον κρίσιμο ρόλο της επιγενετικής ενεργοποίησης του EGFR στη διαμεσολάβηση της αντοχής στον BRAFi στο μελάνωμα.

2.2.4. Τελευταίες εξελίξεις στη θεραπεία του μελανώματος με στόχο τον EGFR

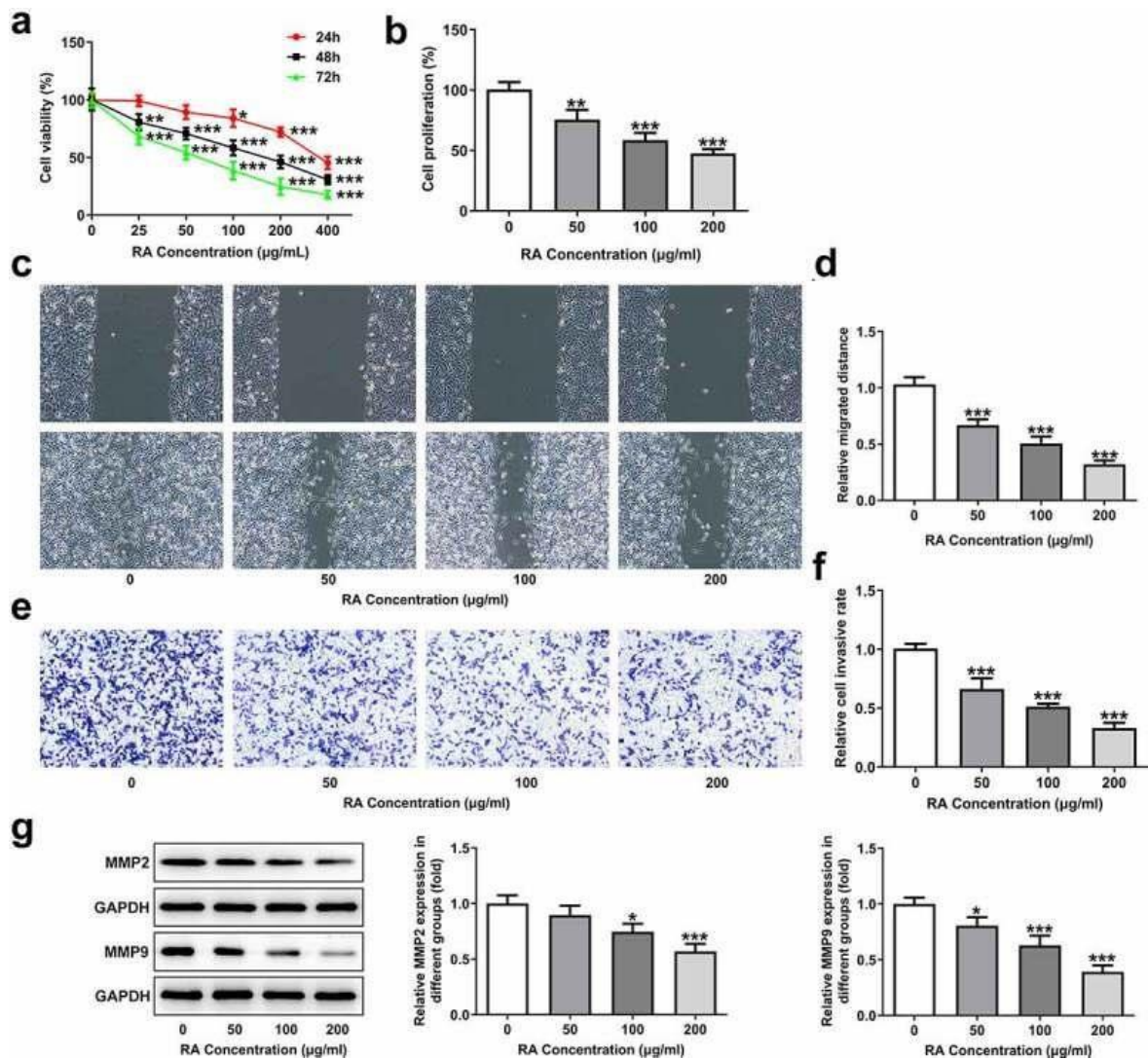
Πρόσφατα, οι ερευνητικές προσπάθειες έχουν στραφεί προς τον EGFR, έναν σημαντικό στόχο στις αντικαρκινικές θεραπείες λόγω του ρόλου του στην κυτταρική ανάπτυξη και επιβίωση. Η κατανόηση των μηχανισμών δράσης και των μοριακών μονοπατιών που σχετίζονται με τον EGFR έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη καινοτόμων θεραπευτικών στρατηγικών. Σε αυτήν την ενότητα, θα εξετάσουμε τις τελευταίες εξελίξεις στη θεραπεία του μελανώματος που στοχεύουν τον EGFR, αναλύοντας τις νέες φαρμακευτικές προσεγγίσεις που υπόσχονται βελτιωμένα αποτελέσματα για τους ασθενείς.

Οι Kenessey et al. (83) διεξήγαγαν έρευνα με στόχο τη διερεύνηση του πιθανού ρόλου του EGFR σε διάφορες ανθρώπινες κυτταρικές σειρές μελανώματος που φέρουν μεταλλάξεις BRAF, μεταλλάξεις NRAS ή άγριου τύπου NRAS-BRAF. Η μελέτη τους περιελάμβανε τη δοκιμή κλινικά διαθέσιμων αναστρέψιμων αναστολέων της τυροσινικής κινάσης (TKI) όπως η gefitinib και η erlotinib, καθώς και μιας μη αναστρέψιμης EGFR-TKI που ονομάζεται pelitinib, και μιας αναστρέψιμης πειραματικής ένωσης PD153035. Οι ενώσεις αυτές αξιολογήθηκαν ως προς τις επιδράσεις τους στον πολλαπλασιασμό *in vitro*, την απόπτωση, τη μετανάστευση και τον μεταστατικό αποικισμό *in vivo* με τη χρήση ενός μοντέλου σπλήνα-ήπατος. Η μελέτη διαπίστωσε την παρουσία της ενδοκυτταρικής

περιοχής της πρωτεΐνης EGFR και τη συνεχή της δραστηριότητα σε όλες τις εξεταζόμενες κυτταρικές σειρές. Η αποτελεσματικότητα των EGFR-TKIs διέφερε σημαντικά, με τη μη αναστρέψιμη αναστολή να επιδεικνύει την ισχυρότερη αντικαρκινική επίδραση. Επιπλέον, σε σύγκριση με τα κύτταρα με μετάλλαξη BRAF, εκείνα με BRAF άγριου τύπου εμφάνισαν σχετική αντίσταση στη gefitinib. Ο συνδυασμός της gefitinib με τον αναστολέα της μεταλλαγμένης BRAF βεμουραφενίμπης παρουσίασε προσθετική δράση σε όλες τις κυτταρικές σειρές με μετάλλαξη BRAF. Η θεραπεία των κυττάρων με μετάλλαξη BRAF με gefitinib ή relitinib οδήγησε σε μειωμένη in-vitro κυτταρική μετανάστευση και αποικισμό in-vivo. Αυτά τα προκλινικά ευρήματα υποδηλώνουν ότι ο EGFR θα μπορούσε να αποτελέσει έναν πολλά υποσχόμενο στόχο στη θεραπεία του κακοήθους μελανώματος με μετάλλαξη BRAF. Ωστόσο, μεγαλύτερα οφέλη μπορεί να επιτευχθούν με μη αναστρέψιμες EGFR-TKIs και συνδυασμένες θεραπευτικές προσεγγίσεις.

Η αποτελεσματικότητα της κουρκουμίνης στην αναστολή διαφόρων τύπων καρκίνου έχει τεκμηριωθεί επαρκώς. Ωστόσο, δεν έχει διερευνηθεί η πιθανή συσχέτισή της με κύτταρα μελανώματος ανθεκτικά στη βεμουραφενίμπη. Κατά τη μελέτη των Chiu et al. (84), δημιουργήθηκαν ανθεκτικά στη βεμουραφενίμπη κύτταρα A375.S2 (A375.S2/VR) και επίσης διερευνήθηκε ο λειτουργικός μηχανισμός των επαγόμενων από την κουρκουμίνη σηματοδοτικών μονοπατιών που περιλαμβάνουν τον EGFR, την κινάση σερίνης-θρεονίνης (AKT) και την ERK κινάση in vitro. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα κύτταρα A375.S2/VR παρουσίασαν υψηλότερη συγκέντρωση IC50 της βεμουραφενίμπης σε σύγκριση με τα γονικά κύτταρα A375.S2. Επιπλέον, η θεραπεία με κουρκουμίνη είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της βιωσιμότητας και της συμβολής των κυττάρων A375.S2/VR. Η επαγόμενη από την κουρκουμίνη απόπτωση σε αυτά τα κύτταρα διαμεσολαβείται από τη δημιουργία δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS), τη διαταραχή του μιτοχονδριακού δυναμικού μεμβράνης ($\Delta\Psi_m$) και την ενεργοποίηση ενδογενών σηματοδοτικών μονοπατιών. Επιπλέον, το σηματοδοτικό μονοπάτι EGFR έπαιξε ρόλο στην επαγόμενη από την κουρκουμίνη απόπτωση. Ο συνδυασμός κουρκουμίνης με gefitinib, έναν αναστολέα του EGFR, ενίσχυσε συνεργιστικά την ανασταλτική επίδραση στην κυτταρική βιωσιμότητα σε κύτταρα A375.S2/VR. Τα ευρήματα αυτά παρέχουν νέες γνώσεις σχετικά με τη θεραπεία του ανθεκτικού στη βεμουραφενίμπη μελανώματος και υποδηλώνουν ότι η κουρκουμίνη είναι ένας πολλά υποσχόμενος θεραπευτικός υποψήφιος για την αντιμετώπιση της ανθεκτικότητας στα φάρμακα στη θεραπεία του μελανώματος.

Το ροσμαρινικό οξύ (RA), μια φυσική πολυφαινολική ένωση, διαθέτει διάφορες βιολογικές ιδιότητες, συμπεριλαμβανομένων των αντικαρκινικών επιδράσεων. Η πρωτεΐνη ADAM17, μπορεί να ενεργοποιήσει τους προσδέτες του EGFR και να συμβάλει στην εξέλιξη του όγκου. Η μελέτη των Huang et al. (85) είχε ως στόχο να διερευνήσει κατά πόσον το RA θα μπορούσε να ασκήσει αντικαρκινικές επιδράσεις σε κύτταρα μελανώματος μέσω της μείωσης της ADAM17. Χρησιμοποιώντας τα ανθρώπινα κύτταρα μελανώματος A375, πραγματοποιήθηκε επίδραση με RA και αξιολογήθηκε η βιωσιμότητα των κυττάρων, η μετανάστευση, η εισβολή, η απόπτωση, η περιεκτικότητα σε μελανίνη και η έκφραση των ADAM17/EGFR/AKT/GSK3β. Η βιωσιμότητα των κυττάρων αξιολογήθηκε επίσης σε κύτταρα που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με RA παρουσία σισπλατίνης (Cis). Επιπλέον, η ADAM17 υπερεκφράστηκε σε κύτταρα και παρατηρήθηκαν οι επιδράσεις της ταυτόχρονης θεραπείας με RA και τον αναστολέα της ADAM17 (TACE prodomain- TPD) στις προαναφερθείσες κυτταρικές διεργασίες. Τα ευρήματα της μελέτης έδειξαν ότι τα κύτταρα A375 που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με RA παρουσίασαν σημαντικά χαμηλότερη κυτταρική βιωσιμότητα, πολλαπλασιασμό, μετανάστευση, εισβολή, περιεκτικότητα σε μελανίνη και έκφραση σχετικών πρωτεϊνών, συμπεριλαμβανομένων των MMP2 και MMP9, σε σύγκριση με τα μη επεξεργασμένα κύτταρα (βλ. Εικ. 10).

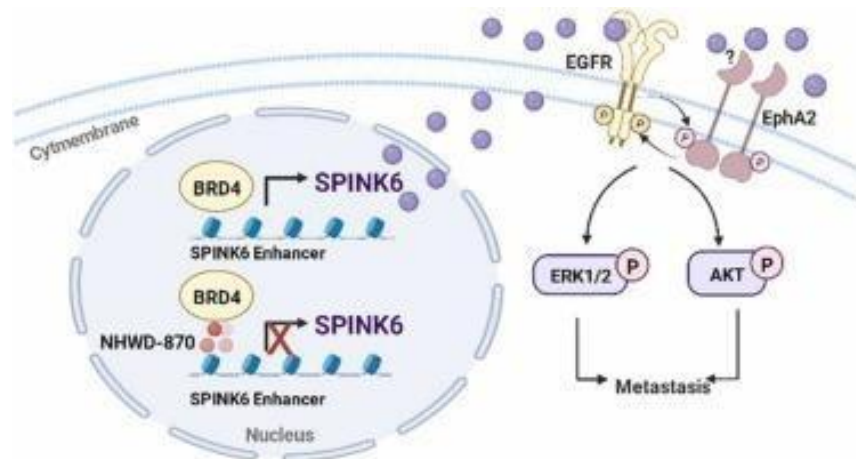


Εικόνα 10: Επιδράσεις του RA στον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και την εισβολή κυττάρων μελανώματος. (α), τα κύτταρα A375 εκτέθηκαν σε διαφορετικές συγκεντρώσεις RA για 24, 48 και 72 ώρες, και στη συνέχεια μετρήθηκε η βιωσιμότητα των κυττάρων με τη μέθοδο CCK-8, B-G, τα κύτταρα A375 εκτέθηκαν σε 0, 50, 100 και 200 µg/ml RA για 48 ώρες, στη συνέχεια ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός μετρήθηκε με τη μέθοδο CCK-8 (b), η κυτταρική μετανάστευση ανιχνεύθηκε μέσω της μεθόδου επούλωσης τραύματος (c και d), η κυτταρική εισβολή ανιχνεύθηκε μέσω της δοκιμασίας transwell (e και f), η πρωτεϊνική έκφραση των MMP2 και MMP9 ανιχνεύθηκε με την μέθοδο Western Blot (g). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ και *** $p < 0.001$ έναντι της ομάδας 0. Πηγή: (85)

Το RA ενίσχυσε την έκφραση των προ-αποπτωτικών πρωτεϊνών, ενώ μείωσε την έκφραση της Bcl-2. Η ταυτόχρονη θεραπεία με RA αύξησε την ανασταλτική επίδραση της Cis στη βιωσιμότητα των κυττάρων. Το RA ανέστειλε επίσης την έκφραση της ADAM17/EGFR/AKT/GSK3β, η οποία καταστέλλεται περαιτέρω από την TPD. Επιπλέον, η υπερέκφραση της ADAM17 μπλόκαρε όλες τις επιδράσεις του RA, ενώ η θεραπεία με TPD

άσκησε αντίθετη λειτουργία. Συμπερασματικά, το RA επέδειξε σημαντική ανασταλτική επίδραση στον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και την εισβολή των κυττάρων μελανώματος, ενώ προήγαγε την απόπτωση. Αυτές οι επιδράσεις του RA μπορούν να αποδοθούν στην αναστολή του άξονα ADAM17/EGFR/AKT/GSK3β.

Η έρευνα που διεξήχθη από τους Hu et al. (86) αποκάλυψε μια νέα οδό μέσω της οποίας η αναστολή του BRD4 μπορεί να εμποδίσει την εξάπλωση του μελανώματος διακόπτοντας την άμεση αλληλεπίδρασή του με τον ενισχυτή SPINK6. Επιπλέον, η μελέτη τους κατέδειξε ότι το SPINK6 ενεργοποιεί τον EGFR, ξεκινώντας μια σύνθετη αλληλεπίδραση μεταξύ EGFR και EphA2, με αποτέλεσμα την αυξημένη φωσφορυλίωση και των δύο υποδοχέων και την ενεργοποίηση των μονοπατιών AKT και ERK (βλ. Εικ. 11).



Εικόνα 11: Απεικόνιση της αλληλεπίδρασης του BRD4 με τον ενισχυτή SPINK6 και η διακοπή αυτής της αλληλεπίδρασης με τη χρήση αναστολέων BET που εμποδίζει την εξάπλωση του μελανώματος. Πηγή: (86)

Κατά συνέπεια, τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν μια πολλά υποσχόμενη οδό για τη χρησιμοποίηση αναστολέων BET ως πιθανή θεραπευτική προσέγγιση για ασθενείς που πάσχουν από μεταστατικό μελάνωμα του πνεύμονα, ιδίως σε περιπτώσεις όπου οι τρέχουσες θεραπευτικές επιλογές είναι περιορισμένες.

Κεφάλαιο 3. Συμπεράσματα

Όσον αφορά την ανοσοέκφραση του EGFR στο μελάνωμα, οι διαφορετικές μελέτες υπογραμμίζουν τη σημαντική συμβολή του EGFR στην εξέλιξη και την πρόγνωση του μελανώματος. Συγκεκριμένα, η συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης του EGFR και της παρουσίας θετικού φρουρού λεμφαδένα αναδεικνύει τον πιθανό ρόλο του EGFR στην προώθηση της μετάστασης ενώ η σημαντική σχέση της πολυσωμίας του EGFR με το πάχος του όγκου και η αρνητική συσχέτιση με τη μεμβρανική έκφραση του EGFR υποδεικνύουν τον πολύπλευρο ρόλο του στη δυναμική του όγκου. Η υψηλή έκφραση του EGFR σε δείγματα οζώδους μελανώματος συνδέεται με αυξημένη συχνότητα εξέλκωσης, γεγονός που ενισχύει την κακοήθεια του όγκου. Παράλληλα, η υπερέκφραση του EGFR φαίνεται να ενισχύει τις κινητικές και πρωτεολυτικές ικανότητες των καρκινικών κυττάρων, προάγοντας τη μετάσταση μέσω αύξησης του αριθμού των ινιδίων ακτίνης (invadopodia) και την αλληλεπίδραση με το κυτταροσκελετικό δίκτυο. Αντίθετα, η αποσιώπηση του EGFR αλλά και του MET μειώνει δραστικά αυτές τις ικανότητες, επιβεβαιώνοντας τον ρόλο τους στην επιθετικότητα του μελανώματος. Επιπλέον, ευρήματα έδειξαν ότι η δυσμενής πρόγνωση των ασθενών με δερματικό μελάνωμα σχετίζεται με τη χαμηλή έκφραση των ERBB1/2 και την υψηλή έκφραση του ERBB3 καθώς επίσης υπογράμμισαν τη σημασία των ERBB στη ρύθμιση της ανοσολογικής απόκρισης (CD8+ T κύτταρα, B κύτταρα, CD4+ T κύτταρα, ουδετερόφιλα, μακροφάγα M1, δενδριτικά κύτταρα) και της δραστηριότητας των κατασταλτικών κυττάρων της Μυελικής Σειράς (MDSC). Τέλος, η υψηλότερη έκφραση του EGFR σε μεταστατικά κύτταρα σε σύγκριση με τα πρωτογενή, καθώς και η αρνητική προγνωστική σημασία της υπερέκφρασής του σε άνδρες, σε μελανώματα χωρίς εξέλκωση ή με μικρό πάχος Breslow, καταδεικνύουν τον καθοριστικό ρόλο του EGFR στη μετάσταση και την κακή πρόγνωση του κακοήθους μελανώματος. Συνοψίζοντας, τα ευρήματα των συγκεκριμένων μελετών αποκαλύπτουν την κρίσιμη σημασία του EGFR στην εξέλιξη, την κινητικότητα, την πρωτεολυτική ικανότητα και την προγνωστική έκβαση του μελανώματος, ανοίγοντας νέους δρόμους για την κατανόηση και την αντιμετώπιση της νόσου.

Η παρούσα βιβλιογραφική ανασκόπηση αποκαλύπτει επίσης κρίσιμους μηχανισμούς και μονοπάτια που σχετίζονται με τον EGFR και επηρεάζουν την εξέλιξη και την επιθετικότητα του μελανώματος, προσφέροντας νέες δυνατότητες για θεραπευτικές

παρεμβάσεις. Η μείωση του KIF22 αναδεικνύεται ως ισχυρός καταστολέας του πολλαπλασιασμού και της γλυκόλυσης του μελανώματος, ενώ ταυτόχρονα προάγει την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων. Αυτές οι επιδράσεις διαμεσολαβούνται μέσω της απενεργοποίησης του σηματοδοτικού μονοπατιού EGFR/STAT3. Επιπλέον, η πρωτεΐνη IGFBP2 αναδεικνύεται ως ρυθμιστής της έκφρασης του PD-L1 μέσω της ενεργοποίησης του άξονα EGFR-STAT3, προτείνοντας νέες θεραπευτικές στρατηγικές για τη διαχείριση του μελανώματος. Η IGFBP2 συμβάλλει στην πυρηνική μετατόπιση του EGFR και την ενεργοποίηση του μονοπατιού EGFR/STAT3/PD-L1, υπογραμμίζοντας τον ρόλο της ανοσοέκφρασης του EGFR ως βιοδείκτη. Μια άλλη σημαντική ανακάλυψη αφορά τον καθοριστικό ρόλο του μεταγραφικού παράγοντα NRF2 στην έκφραση και ενεργοποίηση του EGFR στο μελάνωμα. Ο NRF2 ρυθμίζει τα επίπεδα έκφρασης του EGFR και των προσδετών του, δημιουργώντας έναν θετικό βρόχο ανατροφοδότησης μεταξύ του EGF και του NRF2. Η απουσία του NRF2 οδηγεί σε μειωμένη ενεργοποίηση του μονοπατιού EGFR/AKT, υπογραμμίζοντας την αναγκαιότητά του για την πλήρη ενεργοποίηση αυτού του μονοπατιού. Συνολικά, τα αποτελέσματα των ερευνών υπογραμμίζουν τον κρίσιμο ρόλο συγκεκριμένων μονοπατιών στην εξέλιξη του μελανώματος, προσφέροντας νέες προοπτικές για την ανάπτυξη στοχευμένων θεραπειών. Η κατανόηση αυτών των μηχανισμών μπορεί να συμβάλει στην αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση του μελανώματος, ιδίως για υποπληθυσμούς ασθενών με EGFR-θετικό φαινότυπο.

Επιπρόσθετα, η παρούσα βιβλιογραφική ανασκόπηση αναδεικνύει τη σύνθετη και καθοριστική επίδραση του EGFR στη δυναμική και την ανθεκτικότητα του μελανώματος στις θεραπείες. Σύμφωνα με πρόσφατα ευρήματα μελετών, τα κύτταρα με υψηλή έκφραση EGFR εμφανίζουν σημαντική ανθεκτικότητα στη βεμουραφενίμπη, συνοδευόμενη από αυξημένη ενεργοποίηση του Erk και υψηλότερα επίπεδα FRA-1. Αυτή η αυξημένη έκφραση του EGFR συνδέεται επίσης με υψηλότερα επίπεδα PD-L1, υποδεικνύοντας ότι η ανοσοθεραπεία μπορεί να αποτελέσει μια αποτελεσματική προσέγγιση για αυτούς τους ασθενείς. Η ανθεκτικότητα στη βεμουραφενίμπη φαίνεται να συνδέεται επίσης με την απώλεια της ACK1, μιας πρωτεϊνικής κινάσης που ρυθμίζει το μονοπάτι του EGFR. Η μείωση της ACK1 οδήγησε σε μειωμένη αποικοδόμηση του EGFR, αυξημένη έκφραση της πρωτεΐνης EGFR και ανθεκτικότητα στους BRAFis, υποδεικνύοντας έναν μετα-μεταγραφικό μηχανισμό που ενισχύει τη σηματοδότηση του EGFR. Επιπλέον, η ανθεκτικότητα στη βεμουραφενίμπη συνδέεται με την απώλεια του μεταγραφικού

παράγοντα MITF και την ενεργοποίηση της σηματοδότησης του EGFR. Η απώλεια του MITF ενεργοποιεί το μονοπάτι EGFR, καθιστώντας το κρίσιμο για την ανάπτυξη ανθεκτικού φαινοτύπου. Η ρύθμιση του μονοπατιού του EGFR, της κινάσης SRC και της STAT3 διεγείρει τον πολλαπλασιασμό, την εισβολή και τη μετάσταση στα ανθεκτικά κύτταρα, ενώ ενισχύει τις ιδιότητες της επιθηλιο-μεσεγχυματικής μετατροπής που συνδέονται με τη μετάσταση. Αποκαλύπτεται επίσης ότι η αύξηση των επιπέδων έκφρασης του EGFR σε ανθεκτικά κύτταρα και όγκους οφείλεται στην απομεθυλίωση των ρυθμιστικών στοιχείων του DNA του EGFR, προάγοντας την ενεργοποίηση του μονοπατιού PI3K/AKT μέσω επιγενετικής ρύθμισης. Συνολικά, τα ευρήματα υπογραμμίζουν τον κρίσιμο ρόλο του EGFR στην ανθεκτικότητα στη θεραπεία με βεμουραφενίμη και τη σημασία της στοχευμένης θεραπείας για την αντιμετώπιση του μελανώματος, αναδεικνύοντας την ανάγκη για νέες στρατηγικές που να στοχεύουν μονοπάτια όπως τα EGFR/STAT3 και PI3K/AKT.

Τέλος, η παρούσα ανασκόπηση αποκαλύπτει σημαντικές εξελίξεις στη θεραπεία του μελανώματος με στόχο τον EGFR, αναδεικνύοντας νέες προσεγγίσεις και συνδυαστικές θεραπείες που μπορεί να βελτιώσουν την αποτελεσματικότητα των υφιστάμενων θεραπειών και να αντιμετωπίσουν την ανθεκτικότητα στα φάρμακα. Πρώτον, η χρήση μη αναστρέψιμων EGFR-TKIs, όπως η relitinib, έδειξε ισχυρότερη αντικαρκινική δράση σε σύγκριση με άλλους αναστολείς. Αυτό υποδηλώνει ότι οι μη αναστρέψιμες EGFR-TKIs, σε συνδυασμό με άλλες θεραπευτικές προσεγγίσεις, μπορεί να προσφέρουν σημαντικά οφέλη στους ασθενείς με μελάνωμα. Δεύτερον, η κOURKΟΥΜΙΝΗ αποδείχθηκε αποτελεσματική στη μείωση της βιωσιμότητας των κυττάρων μελανώματος ανθεκτικών στη βεμουραφενίμη, μέσω της δημιουργίας δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS), της διαταραχής του μιτοχονδριακού δυναμικού μεμβράνης ($\Delta\Psi_m$) και της ενεργοποίησης ενδογενών σηματοδοτικών μονοπατιών. Ο συνδυασμός της κOURKΟΥΜΙΝΗΣ με τον αναστολέα EGFR, gefitinib, ενίσχυσε συνεργιστικά την ανασταλτική επίδραση στην κυτταρική βιωσιμότητα, καθιστώντας την κOURKΟΥΜΙΝΗ πολλά υποσχόμενη θεραπευτική επιλογή για την αντιμετώπιση της ανθεκτικότητας στα φάρμακα. Τρίτον, το ροσμαρινικό οξύ (RA) επέδειξε σημαντική ανασταλτική επίδραση στον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και την εισβολή των κυττάρων μελανώματος, ενώ προήγαγε την απόπτωση. Το RA ανέστειλε το μονοπάτι ADAM17/EGFR/AKT/GSK3 β , το οποίο καταστέλλεται περαιτέρω από τον αναστολέα της ADAM17 (TPD), επιδεικνύοντας την αποτελεσματικότητα της συνδυαστικής θεραπείας στη βελτίωση της απόκρισης του

μελανώματος στη θεραπεία. Τέλος, η αναστολή του BRD4 μέσω της διακοπής της αλληλεπίδρασής του με τον ενισχυτή SPINK6 αποδείχθηκε αποτελεσματική στη μείωση της εξάπλωσης του μελανώματος. Το SPINK6 ενεργοποιεί τον EGFR και ξεκινά μια σύνθετη αλληλεπίδραση με τον EphA2, ενεργοποιώντας τα μονοπάτια AKT και ERK. Αυτά τα ευρήματα προτείνουν την χρήση αναστολέων BET ως πιθανή θεραπευτική προσέγγιση για το μεταστατικό μελάνωμα, ειδικά σε περιπτώσεις όπου οι τρέχουσες θεραπείες είναι περιορισμένες. Συνοψίζοντας, οι πρόσφατες εξελίξεις υπογραμμίζουν την αναγκαιότητα και τις δυνατότητες των στοχευμένων θεραπειών που επηρεάζουν τον EGFR στο μελάνωμα. Η χρήση μη αναστρέψιμων EGFR-TKIs, η συνδυαστική θεραπεία με κουρκουμίνη και gefitinib, η εφαρμογή του ροσμαρινικού οξέος και οι αναστολείς BET προσφέρουν μερικά παραδείγματα νέων ελπιδοφόρων κατευθύνσεων για την αντιμετώπιση του μελανώματος και της ανθεκτικότητάς του στις θεραπείες.

Κεφάλαιο 4. Μελλοντικές Κατευθύνσεις

Η μελέτη της ανοσοέκφρασης του EGFR σε ασθενείς με μελάνωμα έχει δώσει σημαντικές πληροφορίες για την προγνωστική του αξία. Ωστόσο, ο τομέας αυτός εξελίσσεται συνεχώς και υπάρχουν πολυάριθμοι δρόμοι για μελλοντική έρευνα που θα μπορούσαν να

διαφωτίσουν περαιτέρω το ρόλο του EGFR στο μελάνωμα και ενδεχομένως να βελτιώσουν την έκβαση των ασθενών.

Η μελλοντική έρευνα θα πρέπει να επικεντρωθεί στην προηγμένη μοριακή σκιαγράφηση του EGFR στο μελάνωμα. Με την έλευση της αλληλούχισης επόμενης γενιάς (NGS) και άλλων τεχνολογιών υψηλής απόδοσης, είναι δυνατόν να επιτευχθεί λεπτομερέστερη κατανόηση των γενετικών και επιγενετικών τροποποιήσεων που σχετίζονται με την έκφραση του EGFR. Αυτό θα μπορούσε να βοηθήσει στον εντοπισμό νέων βιοδεικτών και θεραπευτικών στόχων. Επιπλέον, η ενσωμάτωση του προφίλ του EGFR με άλλα ογκογενετικά μονοπάτια θα μπορούσε να παρέχει μια πιο ολοκληρωμένη εικόνα της βιολογίας του όγκου και να βοηθήσει στην ανάπτυξη συνδυαστικών θεραπειών που είναι πιο αποτελεσματικές από τις μονοθεραπείες.

Για να επικυρωθεί η προγνωστική αξία του EGFR στο μελάνωμα, είναι απαραίτητες διαχρονικές μελέτες μεγάλης κλίμακας. Οι μελέτες αυτές θα πρέπει να περιλαμβάνουν ποικίλους πληθυσμούς ασθενών και εκτεταμένες περιόδους παρακολούθησης, ώστε να αξιολογηθεί η μακροπρόθεσμη επίδραση της έκφρασης του EGFR στην επιβίωση και την εξέλιξη της νόσου. Τέτοια δεδομένα θα ήταν ανεκτίμητα για τη βελτίωση των προγνωστικών μοντέλων και θα μπορούσαν να οδηγήσουν στην ανάπτυξη πιο εξατομικευμένων θεραπευτικών σχεδίων.

Παρά την καθιερωμένη συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης του EGFR και της πρόγνωσης του μελανώματος, οι ακριβείς μηχανισμοί με τους οποίους ο EGFR επηρεάζει τη συμπεριφορά του όγκου παραμένουν ασαφείς. Η μελλοντική έρευνα θα πρέπει να στοχεύει στη διαλεύκανση αυτών των μηχανισμών μέσω μελετών *in vitro* και *in vivo*. Η διερεύνηση των μεταγενέστερων σηματοδοτικών μονοπατιών που ενεργοποιούνται από τον EGFR και οι αλληλεπιδράσεις τους με άλλες κυτταρικές διεργασίες θα μπορούσαν να αποκαλύψουν κρίσιμες γνώσεις σχετικά με την παθογένεια του μελανώματος και τους μηχανισμούς αντίστασης.

Δεδομένης της επιτυχίας της ανοσοθεραπείας στη θεραπεία του μελανώματος, είναι ζωτικής σημασίας η διερεύνηση της αλληλεπίδρασης μεταξύ της έκφρασης του EGFR και του ανοσοποιητικού μικροπεριβάλλοντος. Η έρευνα θα πρέπει να διερευνήσει κατά πόσον η έκφραση του EGFR επηρεάζει την αποτελεσματικότητα των αναστολέων των ανοσολογικών σημείων ελέγχου και άλλων ανοσοθεραπειών. Επιπλέον, η κατανόηση του τρόπου με τον οποίο η διαμόρφωση του EGFR επηρεάζει τη διήθηση και τη δραστηριότητα

των ανοσοποιητικών κυττάρων εντός του όγκου θα μπορούσε να οδηγήσει στην ανάπτυξη στρατηγικών που ενισχύουν την ανοσολογική απόκριση κατά του μελανώματος.

Η ταυτοποίηση του EGFR ως προγνωστικού δείκτη ανοίγει την πόρτα για την ανάπτυξη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων. Μελλοντικές μελέτες θα μπορούσαν να διερευνήσουν την αποτελεσματικότητα των αναστολέων του EGFR, είτε μόνοι τους είτε σε συνδυασμό με άλλες θεραπείες, σε ασθενείς με μελάνωμα με υψηλή έκφραση του EGFR. Οι κλινικές δοκιμές είναι απαραίτητες για τον προσδιορισμό της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητας αυτών των θεραπειών και τα προκλινικά μοντέλα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη βελτιστοποίηση των στρατηγικών δοσολογίας και συνδυασμού.

Ο απώτερος στόχος της ενσωμάτωσης των προγνωστικών πληροφοριών του EGFR στην κλινική πρακτική είναι η ενίσχυση των προσεγγίσεων εξατομικευμένης ιατρικής για τους ασθενείς με μελάνωμα. Η μελλοντική έρευνα θα πρέπει να επικεντρωθεί στην ενσωμάτωση των δεδομένων έκφρασης του EGFR με άλλους κλινικούς και μοριακούς δείκτες για την ανάπτυξη ισχυρών, πολυπαραμετρικών προγνωστικών μοντέλων. Αυτά τα μοντέλα θα μπορούσαν να καθοδηγήσουν τις θεραπευτικές αποφάσεις, συμβάλλοντας στον εντοπισμό των ασθενών που είναι πιθανό να ωφεληθούν από συγκεκριμένες θεραπείες και να γλιτώσουν τους υπόλοιπους από περιττές παρενέργειες.

Η γεφύρωση του χάσματος μεταξύ της βασικής έρευνας και της κλινικής εφαρμογής είναι ζωτικής σημασίας. Οι μελλοντικές κατευθύνσεις θα πρέπει να δώσουν έμφαση στις προσπάθειες μεταφραστικής έρευνας που μεταφέρουν τα ευρήματα από το εργαστήριο στη κλινική. Αυτό περιλαμβάνει την ανάπτυξη αξιόπιστων μεθόδων για την ανίχνευση του EGFR σε κλινικά δείγματα, την επικύρωση αυτών των μεθόδων σε κλινικά περιβάλλοντα και την ενσωμάτωση της εξέτασης του EGFR στα συνήθη διαγνωστικά και θεραπευτικά πρωτόκολλα.

Η ενημέρωση των ασθενών σχετικά με τη σημασία της έκφρασης του EGFR και τον πιθανό αντίκτυπό της στη θεραπεία τους μπορεί να τους δώσει τη δυνατότητα να λαμβάνουν τεκμηριωμένες αποφάσεις σχετικά με τη φροντίδα τους. Οι μελλοντικές πρωτοβουλίες θα πρέπει να επικεντρωθούν στη δημιουργία εκπαιδευτικού υλικού και προγραμμάτων που βοηθούν τους ασθενείς να κατανοήσουν την πρόγνωση και τις θεραπευτικές επιλογές τους με βάση την κατάσταση του EGFR.

Συμπερασματικά, η προγνωστική αξία της ανοσοέκφρασης EGFR/ErbB σε ασθενείς με μελάνωμα παρουσιάζει πολλές ευκαιρίες για μελλοντική έρευνα. Με την

προώθηση της κατανόησης του ρόλου του EGFR στο μελάνωμα, την ανάπτυξη στοχευμένων θεραπειών και την ενσωμάτωση αυτής της γνώσης στην κλινική πρακτική, μπορούμε να βελτιώσουμε τα αποτελέσματα για τους ασθενείς με αυτή τη δύσκολη ασθένεια.

Αναφορές

1. Hernández-Morales A, González-López BS, Scougall-Vilchis RJ, Bermeo-Escalona JR, Velázquez-Enríquez U, Islas-Zarazúa R, et al. Lip and oral cavity cancer incidence and mortality rates associated with smoking and chewing tobacco use and the human development index in 172 countries worldwide: an ecological study 2019–2020. In: Healthcare. MDPI; 2023. p. 1063.
2. Dimitriou F, Krattinger R, Ramelyte E, Barysch MJ, Micaletto S, Dummer R. SM Goldinger The world of melanoma: Epidemiologic, genetic, and anatomic differences of melanoma across the globe., 2018, 20. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11912-018-0732-8> PMID: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30250984>. :87.
3. Schadendorf D, Van Akkooi ACJ, Berking C, Griewank KG, Gutzmer R, Hauschild A, et al. Melanoma. The Lancet. 2018;392(10151):971–84.
4. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer statistics, 2022. CA Cancer J Clin. 2022;72(1).
5. Prado G, Svoboda RM, Rigel DS. What’s new in melanoma. Dermatol Clin. 2019;37(2):159–68.
6. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Dyba T, Randi G, Bettio M, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries and 25 major cancers in 2018. Eur J Cancer. 2018;103:356–87.
7. Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JWW, Comber H, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. Eur J Cancer. 2013;49(6):1374–403.
8. Forsea AM. Melanoma epidemiology and early detection in Europe: diversity and disparities. Dermatol Pract Concept. 2020;10(3).
9. Chen L, Jin S. Trends in mortality rates of cutaneous melanoma in East Asian populations. PeerJ. 2016;4:e2809.
10. Nishi M. Epidemiology of skin cancer in Japan. Journal of Tumor. 2016;4(2):369–73.
11. Michielin O, Van Akkooi ACJ, Ascierto PA, Dummer R, Keilholz U. Cutaneous melanoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Annals of Oncology. 2019;30(12):1884–901.
12. Hodi FS, O’day SJ, McDermott DF, Weber RW, Sosman JA, Haanen JB, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. New England Journal of Medicine. 2010;363(8):711–23.
13. Fellner C. Ipilimumab (yervoy) prolongs survival in advanced melanoma: serious side effects and a hefty price tag may limit its use. Pharmacy and Therapeutics. 2012;37(9):503.

14. Chapman PB, Hauschild A, Robert C, Haanen JB, Ascierto P, Larkin J, et al. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *New England Journal of Medicine*. 2011;364(26):2507–16.
15. Sosman JA, Kim KB, Schuchter L, Gonzalez R, Pavlick AC, Weber JS, et al. Survival in BRAF V600–mutant advanced melanoma treated with vemurafenib. *New England Journal of Medicine*. 2012;366(8):707–14.
16. Dzwierzynski WW. Melanoma Risk Factors and Prevention. Vol. 48, *Clinics in Plastic Surgery*. W.B. Saunders; 2021. p. 543–50.
17. Sample A, He Y. Mechanisms and prevention of UV-induced melanoma. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2018;34(1):13–24.
18. D’Orazio J, Jarrett S, Amaro-Ortiz A, Scott T. UV radiation and the skin. *Int J Mol Sci*. 2013;14(6):12222–48.
19. Elwood JM, Jopson J. Melanoma and sun exposure: an overview of published studies. *Int J Cancer*. 1997;73(2):198–203.
20. Elwood JM, Gallagher RP, Worth AJ, Wood WS, Pearson JCG. Etiological differences between subtypes of cutaneous malignant melanoma: Western Canada Melanoma Study. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 1987;78(1):37–44.
21. Cancer IA for R on CWG on AU (UV) L and S. The association of use of sunbeds with cutaneous malignant melanoma and other skin cancers: a systematic review. *Int J Cancer*. 2007;120(5):1116–22.
22. Stern RS, up Study PF. The risk of melanoma in association with long-term exposure to PUVA. *J Am Acad Dermatol*. 2001;44(5):755–61.
23. Williams ML, Sagebiel RW, Francisco S, St C. *Conferences and Reviews Melanoma Risk Factors and Atypical Moles*.
24. RASTRELLI M, TROPEA S, ROSSI CR, ALAIBAC M. Melanoma: Epidemiology, Risk Factors, Pathogenesis, Diagnosis and Classification. *In Vivo (Brooklyn) [Internet]*. 2014 Nov 1;28(6):1005. Available from: <http://iv.iijournals.org/content/28/6/1005.abstract>
25. Syed DN, Mukhtar H. Botanicals for the prevention and treatment of cutaneous melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2011 Aug;24(4):688–702.
26. O’Neill CH, Scoggins CR. Melanoma. *J Surg Oncol [Internet]*. 2019 Oct 1;120(5):873–81. Available from: <https://doi.org/10.1002/jso.25604>
27. MacKie RM. Incidence, risk factors and prevention of melanoma. *Eur J Cancer*. 1998;34:3–6.
28. Volkovova K, Bilanicova D, Bartonova A, Letašiová S, Dusinska M. Associations between environmental factors and incidence of cutaneous melanoma. Review. *Environmental Health [Internet]*. 2012;11(1):S12. Available from: <https://doi.org/10.1186/1476-069X-11-S1-S12>

29. Sample A, He YY. Mechanisms and prevention of UV-induced melanoma. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* [Internet]. 2018 Jan 1;34(1):13–24. Available from: <https://doi.org/10.1111/phpp.12329>
30. Lipsker D. Growth Rate, Early Detection, and Prevention of Melanoma: Melanoma Epidemiology Revisited and Future Challenges. *Arch Dermatol* [Internet]. 2006 Dec 1;142(12):1638–40. Available from: <https://doi.org/10.1001/archderm.142.12.1638>
31. Hawryluk EB, Tsao H. Melanoma: Clinical features and genomic insights. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2014;4(9).
32. Sagebiel RW. Melanocytic nevi in histologic association with primary cutaneous melanoma of superficial spreading and nodular types: effect of tumor thickness. *Journal of investigative dermatology*. 1993;100(3):S322–5.
33. Crucioli V, Stilwell J. The histogenesis of malignant melanoma in relation to pre-existing pigmented lesions. *J Cutan Pathol*. 1982;9(6):396–404.
34. Kim J, Saito K, Yokoyama S. Chimeric receptor analyses of the interactions of the ectodomains of ErbB-1 with epidermal growth factor and of those of ErbB-4 with neuregulin. *Eur J Biochem*. 2002;269(9):2323–9.
35. Sabbah DA, Hajjo R, Sweidan K. Review on epidermal growth factor receptor (EGFR) structure, signaling pathways, interactions, and recent updates of EGFR inhibitors. *Curr Top Med Chem*. 2020;
36. Carpenter G, King Jr L, Cohen S. Epidermal growth factor stimulates phosphorylation in membrane preparations in vitro. *Nature*. 1978;276(5686):409–10.
37. Downward J, Yarden Y, Mayes E, Scrace G, Totty N, Stockwell P, et al. Close similarity of epidermal growth factor receptor and v-erb-B oncogene protein sequences. *Nature* [Internet]. 1984;307(5951):521–7. Available from: <https://doi.org/10.1038/307521a0>
38. Yarden Y, Shilo BZ. SnapShot: EGFR signaling pathway. *Cell*. 2007;131(5):1018-e1.
39. De Larco JE, Todaro GJ. Epithelioid and fibroblastic rat kidney cell clones: epidermal growth factor (EGF) receptors and the effect of mouse sarcoma virus transformation. *J Cell Physiol*. 1978;94(3):335–42.
40. Ward CW, Hoyne P, Flegg RH. Insulin and epidermal growth factor receptors contain the cysteine repeat motif found in the tumor necrosis factor receptor. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. 1995;22(2):141–53.
41. Burgess AW, Cho HS, Eigenbrot C, Ferguson KM, Garrett TPJ, Leahy DJ, et al. An open-and-shut case? Recent insights into the activation of EGF/ErbB receptors. *Mol Cell*. 2003;12(3):541–52.
42. Laisney J. Characterisation and regulation of the Egfr/Egfr ligand system in fish models for melanoma. 2010 Sep 17;

43. Garrett TPJ, McKern NM, Lou M, Elleman TC, Adams TE, Lovrecz GO, et al. Crystal structure of a truncated epidermal growth factor receptor extracellular domain bound to transforming growth factor α . *Cell*. 2002;110(6):763–73.
44. Ferguson KM, Berger MB, Mendrola JM, Cho HS, Leahy DJ, Lemmon MA. EGF activates its receptor by removing interactions that autoinhibit ectodomain dimerization. *Mol Cell*. 2003;11(2):507–17.
45. Jura N, Endres NF, Engel K, Deindl S, Das R, Lamers MH, et al. Mechanism for activation of the EGF receptor catalytic domain by the juxtamembrane segment. *Cell*. 2009;137(7):1293–307.
46. Hubbard SR. Juxtamembrane autoinhibition in receptor tyrosine kinases. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2004;5(6):464–71.
47. Chen J, Zeng F, Forrester SJ, Eguchi S, Zhang MZ, Harris RC. Expression and function of the epidermal growth factor receptor in physiology and disease. *Physiol Rev*. 2016;96(3):1025–69.
48. Abe Y, Odaka M, Inagaki F, Lax I, Schlessinger J, Kohda D. Disulfide bond structure of human epidermal growth factor receptor. *Journal of Biological Chemistry*. 1998;273(18):11150–7.
49. Lavrijsen APM, Tieben LM, Ponc M, Van der Schroeff JG, Van Muijen GNP. Expression of EGF receptor, involucrin, and cytokeratins in basal cell carcinomas and squamous cell, carcinomas of the skin. *Arch Dermatol Res*. 1989;281:83–8.
50. Krähn G, Leiter U, Kaskel P, Udart M, Utikal J, Bezold G, et al. Coexpression patterns of EGFR, HER2, HER3 and HER4 in non-melanoma skin cancer. *Eur J Cancer*. 2001;37(2):251–9.
51. Bauknecht T, Gross G, Hagedorn M. Epidermal growth factor receptors in different skin tumors. *Dermatology*. 1985;171(1):16–20.
52. Groves RW, Allen MH, MacDonald DM. Abnormal expression of epidermal growth factor receptor in cutaneous epithelial tumours. *J Cutan Pathol*. 1992;19(1):66–72.
53. Grahn JC, Isseroff RR. Human melanocytes do not express EGF receptors. *J Invest Dermatol*. 2004;123(1):244–6.
54. Gross A, Niemetz-Rahn A, Nonnenmacher A, Tucholski J, Keilholz U, Fusi A. Expression and activity of EGFR in human cutaneous melanoma cell lines and influence of vemurafenib on the EGFR pathway. *Target Oncol*. 2015;10:77–84.
55. Katunaric M, Jurišić D, Petkovic M, Grahovac M, Grahovac B, Zamolo G. EGFR and cyclin D1 in nodular melanoma: correlation with pathohistological parameters and overall survival. *Melanoma Res*. 2014;24(6):584–91.

56. Akslen LA, Puntervoll H, Bachmann IM, Straume O, Vuhahula E, Kumar R, et al. Mutation analysis of the EGFR–NRAS–BRAF pathway in melanomas from black Africans and other subgroups of cutaneous melanoma. *Melanoma Res.* 2008;18(1):29–35.
57. De Wit PEJ, Moretti S, Koenders PG, Weterman MAJ, van Muijen GNP, Gianotti B, et al. Increasing epidermal growth factor receptor expression in human melanocytic tumor progression. *Journal of investigative dermatology.* 1992;99(2):168–73.
58. Boone B, Jacobs K, Ferdinande L, Taildeman J, Lambert J, Peeters M, et al. EGFR in melanoma: clinical significance and potential therapeutic target. *J Cutan Pathol [Internet].* 2011 Jun 1;38(6):492–502. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0560.2011.01673.x>
59. Pietraszek-Gremplewicz K, Simiczyjew A, Dratkiewicz E, Podgórska M, Styczeń I, Matkowski R, et al. Expression level of EGFR and MET receptors regulates invasiveness of melanoma cells. *J Cell Mol Med.* 2019 Dec 1;23(12):8453–63.
60. Liu S, Geng R, Lin E, Zhao P, Chen Y. ERBB1/2/3 Expression, Prognosis, and Immune Infiltration in Cutaneous Melanoma. *Front Genet.* 2021;12:602160.
61. Lazăr AD, Dinescu S, Sleiman L, Dumitru A V, Costache M, Costache M. Comparative Expression Profiling Reveals Molecular Markers Involved in the Progression of Cutaneous Melanoma towards Metastasis. *Int J Mol Sci [Internet].* 2023;24(7). Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/7/6565>
62. Lee KH, Suh HY, Lee MW, Lee WJ, Chang SE. Prognostic Significance of Epidermal Growth Factor Receptor Expression in Distant Metastatic Melanoma from Primary Cutaneous Melanoma. *Ann Dermatol [Internet].* 2021 Oct;33(5):432–9. Available from: <https://doi.org/10.5021/ad.2021.33.5.432>
63. Rákósy Z, Vízkeleti L, Ecsedi S, Vokó Z, Bégány Á, Barok M, et al. EGFR gene copy number alterations in primary cutaneous malignant melanomas are associated with poor prognosis. *Int J Cancer [Internet].* 2007 Oct 15;121(8):1729–37. Available from: <https://doi.org/10.1002/ijc.22928>
64. Udart M, Utikal J, Krä GM, Peter RU. Chromosome 7 Aneusomy. A Marker for Metastatic Melanoma? Expression of the Epidermal Growth Factor Receptor Gene and Chromosome 7 Aneusomy in Nevi, Primary Malignant Melanomas and Metastases 1 [Internet]. Available from: www.nature.com/neo
65. Zhong Z, Zhong H. KIF22 promotes the proliferation and glycolysis of melanoma by activating EGFR/STAT3 signaling. *Clinics [Internet].* 2023;78:100307. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1807593223001436>
66. Li T, Zhang C, Zhao G, Zhang X, Hao M, Hassan S, et al. IGFBP2 regulates PD-L1 expression by activating the EGFR–STAT3 signaling pathway in malignant melanoma. *Cancer Lett [Internet].* 2020;477:19–30. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304383520301051>

67. Kreß JKC, Jessen C, Marquardt A, Hufnagel A, Meierjohann S. NRF2 enables EGFR signaling in melanoma cells. *Int J Mol Sci.* 2021;22(8):3803.
68. Czarnecka AM, Bartnik E, Fiedorowicz M, Rutkowski P. Targeted therapy in melanoma and mechanisms of resistance. Vol. 21, *International Journal of Molecular Sciences.* MDPI AG; 2020. p. 1–21.
69. Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature.* 2002;417(6892):949–54.
70. Zaman A, Wu W, Bivona TG. Targeting oncogenic BRAF: past, present, and future. *Cancers (Basel).* 2019;11(8):1197.
71. Robert C, Grob JJ, Stroyakovskiy D, Karaszewska B, Hauschild A, Levchenko E, et al. Five-year outcomes with dabrafenib plus trametinib in metastatic melanoma. *New England Journal of Medicine.* 2019;381(7):626–36.
72. Pasquali S, Hadjinicolaou A V, Sileni VC, Rossi CR, Mocellin S. Systemic treatments for metastatic cutaneous melanoma. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2018;(2).
73. Larkin J, Brown MP, Arance AM, Hauschild A, Queirolo P, Del Vecchio M, et al. An open-label, multicentre safety study of vemurafenib in patients with BRAFV600-mutant metastatic melanoma: final analysis and a validated prognostic scoring system. *Eur J Cancer.* 2019;107:175–85.
74. Hauschild A, Ascierto PA, Schadendorf D, Grob JJ, Ribas A, Kiecker F, et al. Long-term outcomes in patients with BRAF V600-mutant metastatic melanoma receiving dabrafenib monotherapy: Analysis from phase 2 and 3 clinical trials. *Eur J Cancer.* 2020;125:114–20.
75. Obaid NM, Bedard K, Huang WY. Strategies for overcoming resistance in tumours harboring BRAF mutations. *Int J Mol Sci.* 2017;18(3):585.
76. Lim SY, Menzies AM, Rizos H. Mechanisms and strategies to overcome resistance to molecularly targeted therapy for melanoma. *Cancer.* 2017;123(S11):2118–29.
77. Rizos H, Menzies AM, Pupo GM, Carlino MS, Fung C, Hyman J, et al. BRAF inhibitor resistance mechanisms in metastatic melanoma: spectrum and clinical impact. *Clinical cancer research.* 2014;20(7):1965–77.
78. Molnár E, Garay T, Donia M, Baranyi M, Rittler D, Berger W, et al. Long-term vemurafenib exposure induced alterations of cell phenotypes in melanoma: Increased cell migration and its association with EGFR expression. *Int J Mol Sci.* 2019 Sep 2;20(18).
79. Ji Z, Njauw CN, Guhan S, Kumar R, Reddy B, Rajadurai A, et al. Loss of ACK1 Upregulates EGFR and Mediates Resistance to BRAF Inhibition. *Journal of Investigative Dermatology.* 2021 May 1;141(5):1317-1324.e1.
80. Ji Z, Erin Chen Y, Kumar R, Taylor M, Jenny Njauw CN, Miao B, et al. MITF modulates therapeutic resistance through EGFR signaling. *Journal of Investigative Dermatology.* 2015 Jul 18;135(7):1863–72.

81. Girotti MR, Pedersen M, Sanchez-Laorden B, Viros A, Turajlic S, Niculescu-Duvaz D, et al. Inhibiting EGF receptor or SRC family kinase signaling overcomes BRAF inhibitor resistance in melanoma. *Cancer Discov.* 2013;3(2):158–67.
82. Wang J, Huang SK, Marzese DM, Hsu SC, Kawas NP, Chong KK, et al. Epigenetic changes of EGFR have an important role in BRAF inhibitor-resistant cutaneous melanomas. *Journal of Investigative Dermatology.* 2015;135(2):532–41.
83. Kenessey I, Kramer Z, István L, Cserepes MT, Garay T, Hegedűs B, et al. Inhibition of epidermal growth factor receptor improves antitumor efficacy of vemurafenib in BRAF-mutant human melanoma in preclinical model. *Melanoma Res [Internet].* 2018;28(6). Available from: https://journals.lww.com/melanomaresearch/fulltext/2018/12000/inhibition_of_epidermal_growth_factor_receptor.7.aspx
84. Chiu YJ, Yang JS, Tsai FJ, Chiu HY, Juan YN, Lo YH, et al. Curcumin suppresses cell proliferation and triggers apoptosis in vemurafenib-resistant melanoma cells by downregulating the EGFR signaling pathway. *Environ Toxicol [Internet].* 2022 Apr 1;37(4):868–79. Available from: <https://doi.org/10.1002/tox.23450>
85. Huang L, Chen J, Quan J, Xiang D. Rosmarinic acid inhibits proliferation and migration, promotes apoptosis and enhances cisplatin sensitivity of melanoma cells through inhibiting ADAM17/EGFR/AKT/GSK3 β axis. *Bioengineered.* 2021;12(1):3065–76.
86. Hu R, Li Y, Guo Y, Li X, Du S, Liao M, et al. BRD4 inhibitor suppresses melanoma metastasis via the SPINK6/EGFR-EphA2 pathway. *Pharmacol Res [Internet].* 2023;187:106609. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1043661822005552>

Πηγές Εικόνων

| | |
|---|----|
| Εικόνα 1 : Ποσοστά εμφάνισης του μελανώματος ανά 100.000 άτομα στους διάφορους πληθυσμούς..... | 3 |
| Εικόνα 2 : Μακροσκοπική απεικόνιση ενός επίκτητου σπίλου και ενός άτυπου-δυσπλαστικού σπίλου. | 8 |
| Εικόνα 3 : Ένας μοριακός χάρτης του μελανώματος. Τα κληρονομικά γονίδια με αλληλόμορφα κινδύνου ή πολυμορφισμούς ενός νουκλεοτιδίου εμφανίζονται με πλάγια γράμματα και αστερίσκους(π.χ. CDKN2A*). Το κόκκινο και το γκρι χρώμα υποδεικνύουν σωματικές μεταλλάξεις που οδηγούν σε αύξηση της λειτουργίας (π.χ. ογκογονίδια όπως το BRAF) ή απώλεια της λειτουργίας (π.χ. ογκοκατασταλτικά γονίδια όπως το PTEN), αντίστοιχα. Πηγή: (31)..... | 9 |
| Εικόνα 4 : Δομή και τρόπος ενεργοποίησης του EGFR. (Α) Συνολική δομή του EGFR που περιλαμβάνει την εξωκυτταρική, τη διαμεμβρανική, την παραμεμβρανική (juxtamembrane domain), την κινάση τυροσίνης και την C-τελική ρυθμιστική περιοχή. Η εξωκυτταρική περιοχή περιλαμβάνει τέσσερις υποπεριοχές, I έως IV, που αναφέρονται επίσης ως μεγάλη περιοχή πρόσδεσης του EGFR 1 (L1), περιοχή πλούσια σε κυστεΐνη 1 (CR1), L2 και CR2. (Β) Διαφορετικά στάδια ενεργοποίησης του EGFR: αυτοανασταλτική διαμόρφωση προσδεμένου μονομερούς, μη προσδεμένο μονομερές, παρατεταμένη διαμόρφωση σταθεροποιημένου από τον προσδέτη και διαμόρφωση ενεργοποιημένου διμερούς που προκαλείται από τον προσδέτη. Πηγή: (42)..... | 12 |
| Εικόνα 5 : Διαγράμματα Kaplan-Meier για τη συνολική επιβίωση με βάση τη μεμβρανική (Α) και πυρινική (Β) έκφραση της πρωτεΐνης EGFR στην ομάδα ασθενών με οζώδες μελάνωμα. EGFR, υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα - mEGFR, μεμβρανικός EGFR - nEGFR, πυρινικός EGFR. Πηγή: (55)..... | 15 |
| Εικόνα 6 : Ικανότητες μετανάστευσης κυττάρων μελανώματος με τροποποιημένα επίπεδα έκφρασης EGFR και MET. Αντιπροσωπευτικές εικόνες της βιοδομικής προσομοίωσης τραύματος (scratch wound assay). Πηγή:(59)..... | 15 |
| Εικόνα 7 : Έκφραση γονιδίων που εμπλέκονται στην επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό. Στατιστική σημαντικότητα: Χρησιμοποιήθηκε το σύμβολο (*) για στατιστικές συγκρίσεις μεταξύ των κυτταρικών σειρών (Meljuso, MNT-1 και VMM1). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ και **** $p < 0,0001$ ($n=3$, πειραματικές επαναλήψεις). Πηγή: (61)..... | 18 |
| Εικόνα 8 : Εικόνες συνεστιακής μικροσκοπίας που αποκαλύπτουν την έκφραση της πρωτεΐνης EGFR σε διάφορα στάδια εξέλιξης του μελανώματος (γραμμή κλίμακας 20 μm). Ο EGFR απεικονίζεται με ιώδες χρώμα (AF647), τα νημάτια ακτίνης με πράσινο χρώμα (phalloidin-FITC) και οι κυτταρικοί πυρήνες με μπλε χρώμα (Hoechst 33342). Η ποσοτική μέτρηση της έντασης του φθορισμού πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό Imagej. ** $p < 0,01$ και **** $p < 0,0001$. Πηγή: (61)..... | 19 |
| Εικόνα 9 : Ανάλυση επιβίωσης Kaplan-Meier στο μεταστατικό μελάνωμα για σύγκριση ανάλογα με την έκφραση του EGFR. Τα αποτελέσματα της συνολικής επιβίωσης στο μεταστατικό μελάνωμα μεταξύ θετικής ομάδας EGFR και της αρνητικής ομάδας EGFR ήταν σημαντικά διαφορετικά υπό την προϋπόθεση (Α) άνδρας, (Β) χωρίς έλκος ή (Γ) πάχος Breslow $< 4,0\text{mm}$. Στατιστική σημαντικότητα ($p < 0,05$). Πηγή: (62)..... | 20 |

Εικόνα 10 : Επιδράσεις του RA στον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και την εισβολή κυττάρων μελανώματος. (a), τα κύτταρα A375 εκτέθηκαν σε διαφορετικές συγκεντρώσεις RA για 24, 48 και 72 ώρες, και στη συνέχεια μετρήθηκε η βιωσιμότητα των κυττάρων με τη μέθοδο CCK-8, B-G, τα κύτταρα A375 εκτέθηκαν σε 0, 50, 100 και 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ RA για 48 ώρες, στη συνέχεια ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός μετρήθηκε με τη μέθοδο CCK-8 (b), η κυτταρική μετανάστευση ανιχνεύθηκε μέσω της μεθόδου επούλωσης τραύματος (c και d), η κυτταρική εισβολή ανιχνεύθηκε μέσω της δοκιμασίας transwell (e και f), η πρωτεϊνική έκφραση των MMP2 και MMP9 ανιχνεύθηκε με την μέθοδο Western Blot (g). * $p < 0.05$, ** < 0.01 και *** $p < 0.001$ έναντι της ομάδας 0.

Πηγή:(85) 29

Εικόνα 11 : Απεικόνιση της αλληλεπίδρασης του BRD4 με τον ενισχυτή SPINK6 και η διακοπή αυτής της αλληλεπίδρασης με τη χρήση αναστολέων BET που εμποδίζει την εξάπλωση του μελανώματος. Πηγή: (86) 30